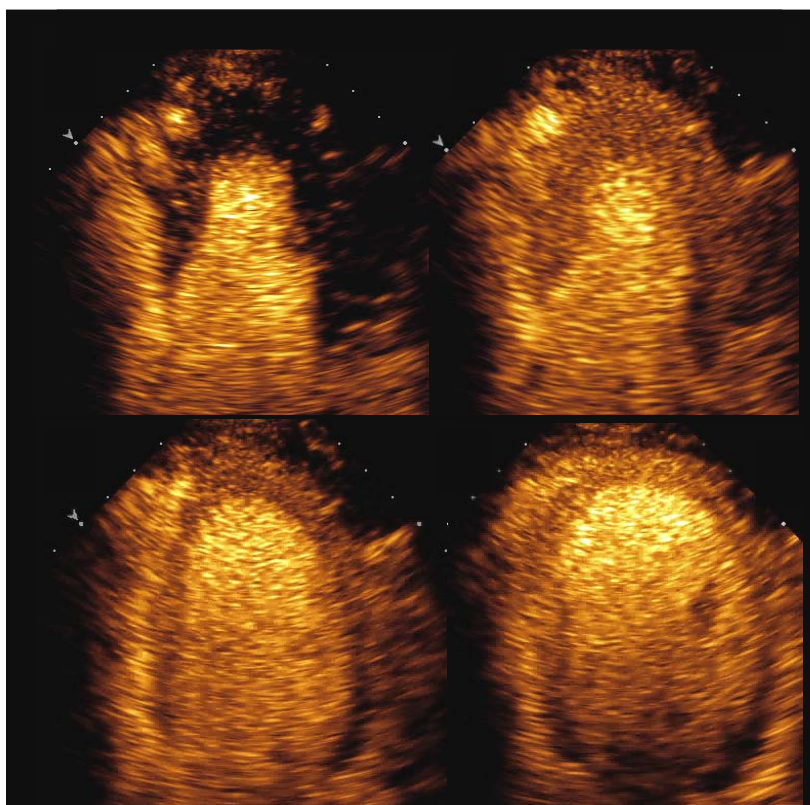


José Augusto Coucello Tito Martins

**Fisiopatologia da Microcirculação Coronária
e Perfusão do Miocárdio
Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio
e Doppler Transtorácico**



**Fisiopatologia da Microcirculação Coronária
e Perfusão do Miocárdio
Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio
e Doppler Transtorácico**

José Augusto Coucello Tito Martins

**Fisiopatologia da Microcirculação Coronária
e Perfução do Miocárdio
Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio
e Doppler Transtorácico**

Lisboa 2007

**Dissertação de Candidatura ao Grau de Doutor em Medicina
apresentada à Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Nova de Lisboa**

**A todos aqueles que me apoiaram neste trabalho
e que ao longo da vida têm sido importantes
na minha formação como pessoa e profissional**

**Aos meus Pais
À minha Mulher
Aos meus Filhos**

ÍNDICE

	Prefácio e Agradecimentos.....	13
1	INTRODUÇÃO.....	15
2	FISIOPATOLOGIA DA CIRCULAÇÃO CORONÁRIA.....	17
2.1	Introdução.....	17
2.2	Anatomia e Arquitectura da Rede Vascular Coronária.....	18
	Vasos epicárdicos ou de condutância.....	18
	Vasos de Resistência.....	18
	Capilares.....	19
	Circulação Colateral.....	19
	Circulação Venosa.....	20
	Compartimentos Vasculares.....	20
2.3	Regulação da Circulação Coronária.....	23
	Factores Mecânicos Extravasculares.....	23
	Regulação do Tónus Vasomotor.....	23
	Endotélio.....	30
2.4	Relação entre Fluxo e Perfusão.....	34
	Vasodilatação e Hiperemia.....	35
	Reserva Coronária.....	35
	Relação entre Fluxo e Função Celular.....	37
2.5	Microcirculação Coronária no Controlo da Perfusão.....	39
	Papel dos Capilares no Controlo da Resistência Coronária.....	40
	Exercício.....	41
	Isquémia Miocárdica.....	42
	Hipertensão Arterial.....	43
	Diabetes.....	44
	Insuficiência Cardíaca.....	45
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.1	Introdução.....	47
	Ecocardiografia de Contraste.....	47
3.2	Agentes de Contraste.....	49
	Características Físicas das Microbolhas.....	49
	Tipos de Microbolhas.....	51
	Microbolhas e Ultrasons.....	52
3.3	Técnicas de Imagem.....	54
	Formação de Imagem.....	55
	Modo de Aquisição de Imagem.....	58
	Modo de Administração do Contraste.....	58
	Procedimentos para Efectuar os Exames.....	59
	Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio.....	60
	Ecocardiografia Doppler Transtorácica.....	66
3.4	População.....	69
3.5	Métodos Estatísticos.....	69
4	RESULTADOS.....	71
4.1	Introdução.....	71
4.2	Comparação dos Métodos de Análise da Microcirculação Coronária.....	72
	- Cálculo da Reserva Coronária da Descendente Anterior por Ecocardiografia Transtorácica e por Doppler Intracoronário.....	72
	- Ecocardiografia de Perfusão do Miocárdio em Tempo Real e Reserva Coronária da Artéria Descendente Anterior.....	78
	- Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio versus Cintigrafia Cardíaca na Análise de Perfusão do Miocárdio.....	85
	Conclusões da Comparação dos Métodos de Análise da Microcirculação Coronária.....	90

4.3 Hipertrofia do Ventrículo Esquerdo.....	93
Introdução.....	93
Objectivos.....	95
- Reserva Coronária Miocárdica em Diferentes Formas Geométricas de Hipertrofia do Ventrículo Esquerdo.....	95
- Caracterização Funcional da Microcirculação Coronária na Hipertensão Arterial Ecocardiografia de Contraste Miocárdio.....	99
- Rarefacção Capilar Coronária na Doença Vascular Arterial Hipertensiva.....	103
- Edema Pulmonar Agudo, Disfunção Diastólica e Microcirculação Coronária.....	108
- Relação do Padrão ECG de Isquemia Sub-Endocárdica com Disfunção da Microcirculação por Ecocardiografia de Contraste.....	111
- Análise Quantitativa Ecocardiográfica Transtorácica Computorizada de Alterações da Função Segmentar Miocárdica na Cardiopatia Hipertensiva.....	114
- Significado da Reserva Coronária na Estenose Aórtica com Coronárias Angiograficamente Normais por Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio.....	116
- Cardiomiopatia Hipertrofica e Heterogeneidade do Padrão de Perfusão do Miocárdio por Ecocardiografia de Contraste.....	121
- Conclusões Gerais dos Trabalhos na Hipertrofia Ventricular Esquerda.....	124
4.4 Diabetes Mellitus Tipo 2.....	126
Introdução.....	126
Objectivos.....	126
- Avaliação da Reserva da Microcirculação Coronária na Diabetes Mellitus por Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio em Tempo Real.....	127
- Disfunção Endotelial Coronária na Diabetes Mellitus Tipo 2 com Coronárias Angiograficamente Normais.....	129
- Defeitos Reversíveis de Perfusão na Diabetes Mellitus Tipo 2 com Coronárias Angiograficamente Normais.....	132
- Conclusões Gerais dos Trabalhos na Diabetes Mellitus Tipo 2.....	135
4.5 Doença Coronária Aterosclerótica.....	138
Introdução.....	139
Objectivos.....	139
- Cascata Isquémica na Doença Coronária da Descendente Anterior por Ecocardiografia de Perfusão e Sobrecarga Farmacológica.....	139
- Doppler de Contraste do Fluxo das Artérias Perforantes Intramiocárdicas na Definição da Patência da Descendente Anterior.....	141
- Ecocardiografia de Contraste Miocárdico e Identificação da Heterogeneidade do Padrão de Perfusão pós Acidente Coronário.....	143
- Reserva Coronária por Ecocardiografia Doppler Transtorácica na Doença Coronária da Descendente Anterior com BCRE.....	146
- Detecção Precoce da Reestenose pós-ACTP pela Avaliação da Reserva Coronária por Ecocardiografia Doppler Transtorácica.....	148
- Análise do Espessamento Sistólico Segmentar Durante Ecocardiografia de Sobrecarga com Contraste.....	152
- Ecocardiografia de Contraste Miocárdica e Análise do Fenómeno de No Reflow nos SCA sem Supra Desnívelamento do Segmento ST.....	154
- Conclusões Gerais dos Trabalhos na Doença Coronária Aterosclerótica.....	157
4.6 Modelo Experimental Animal.....	160
- Estudo da Relação entre Dislipidemia e Disfunção da Microcirculação Coronária por Eco de Contraste do Miocárdio em Modelo Animal.....	160
5 CONCLUSÕES.....	165
6 RESUMO.....	169
7 BIBLIOGRAFIA.....	171

Prefácio e Agradecimentos

Todo o trabalho como este que agora apresentamos tem uma história. O tema deste trabalho foi o resultado de uma conjugação de vários factores, a nossa formação como cardiologistas e “fisiologistas”, se assim nos for permitido designá-la, e o “tempo” em que foi possível aproveitar as recentes inovações tecnológicas. Depois foi preciso adicionar muita vontade, persistência e ter a possibilidade, a capacidade e a sorte de criar as condições necessárias para que o trabalho se pudesse desenvolver.

Quando obtivemos a licenciatura em Medicina pela Faculdade de Ciências Médicas em Fevereiro de 1978, tínhamos já no nosso passado uma ligação à Faculdade de Medicina de Lisboa onde desde 1975 desempenhávamos a função de monitor da cadeira de Bioquímica.

A par da carreira hospitalar mantivemos uma ligação à Faculdade de Medicina como Assistente de Química Fisiológica. Durante esse período de tempo, demos os primeiros passos na aprendizagem do ensino e da investigação, inseridos em grupos de trabalho na área da mitocôndria e metabolismo oxidativo, e das catecolaminas e hipertensão arterial.

Quando optámos pela carreira docente e nas funções de Assistente da disciplina de Química Fisiológica e posteriormente de Fisiopatologia assumimos a responsabilidade do desenvolvimento da área ligada à enzima de conversão da angiotensina, cuja técnica de determinação fluorimétrica foi por nós desenvolvida e constituiu a base do trabalho apresentado para as Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica no âmbito da então recente reestruturação do estatuto da carreira docente. Estávamos em Março de 1983 e tínhamos efectuado trabalho original nessa área, que começava a chegar à clínica, revolucionando a abordagem terapêutica da hipertensão arterial e da insuficiência cardíaca.

Paralelamente com a nossa actividade docente e de investigação efectuávamos o estágio para a obtenção da especialidade de Cardiologia. Cedo tivémos a oportunidade de iniciar uma especial dedicação à ecocardiografia, acompanhando as primeiras fases de desenvolvimento desta técnica. Recordamos os primeiros ecocardiogramas em Modo A e Modo M, a chegada da ecocardiografia bidimensional, o início do Doppler pulsado e posteriormente contínuo, a codificação Doppler a Cor e todos os outros mais recentes desenvolvimentos desta técnica.

Este período da nossa vida profissional foi extremamente enriquecedor do ponto de vista humano e científico. Ao revermos esta fase da vida é impossível separar a nossa actividade clínica, do ensino e da investigação. As três foram complementares e proporcionaram-nos satisfação profissional e felicidade.

Quando em Julho de 1988 optamos por voltar à carreira hospitalar iniciando a actividade no então Hospital Distrital de Portimão, o nosso passado pesou no nosso então presente e foi

determinante no nosso futuro. Na nossa actividade profissional diária foi permanente a necessidade de organizar ideias, por hipóteses e tentar encontrar explicações. Esta atitude permitiu-nos ultrapassar inúmeras dificuldades e concretizar alguns trabalhos de investigação clínica e experimental, apresentados a nível nacional e internacional.

Estabelecemos relações com centros universitários como o Departamento de Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade Nova de Lisboa, o Departamento de Fisiopatologia da Universidade do Algarve e o Serviço de Medicina do Hospital de S. Francisco Xavier.

Não podemos deixar de mencionar e agradecer a colegas e profissionais que foram fundamentais para que este trabalho pudesse ter sido realizado.

À Exma. Sr.^a. Professora Doutora Ana Maria Aleixo que permanentemente nos incentivou, criando a possibilidade de colaboração com o seu serviço para a execução de inúmeros trabalhos. O seu elevado espírito crítico e uma abrangente visão da cardiologia e da vida foram cruciais para manter a nossa motivação e permitir completar este trabalho.

Ao Exmo. Sr. Professor Doutor Garcia Fernandez pelo seu dinamismo, pela possibilidade que nos ofereceu para adquirir formação técnica nas áreas abordadas e pelo seu esclarecido apoio desde o início deste trabalho.

Ao Exmo. Sr. Professor Doutor Carlos Manso que nos possibilitou a oportunidade de dar os primeiros passos na investigação científica na Faculdade de Medicina de Lisboa.

Aos tutores de cardiologia, que mais que professores foram amigos e a quem devemos o que sabemos, Exmo. Sr. Dr. António Higinio Castanheira, Exmo. Dr. Jorge Correia do Valle, Exmo. Dr. José Correia Marques.

Ao Exmo. Sr. Professor Doutor Salles Luís que foi a primeira pessoa que nos incentivou a reunir o trabalho desenvolvido e avançar para um Doutoramento.

Ao Exmo. Sr. Professor Doutor Martins Correia que aceitou ser o nosso primeiro orientador e que nos incentivou a iniciar este trabalho.

Ao Exmo. Sr. Professor Doutor José Azevedo que pacientemente connosco colaborou, e que teve um papel decisivo na elaboração de muitos dos trabalhos apresentados. Devemos-lhe um importante apoio profissional e uma fraterna amizade.

À Sr.^a Enf.^a Liselore Soares a quem devemos a sua dedicação, elevado profissionalismo e enorme espírito de sacrifício, que tornaram possível a qualidade de organização dos laboratórios de ecocardiografia do Hospital do Barlavento Algarvio e do Hospital Particular do Algarve e a elevada qualidade técnica da execução dos exames.

Agradecemos também ao Centro de Documentação da Empresa GlaxoSmithKline toda a disponibilidade e profissionalismo que desde sempre demonstraram no apoio a este trabalho.

1 INTRODUÇÃO

A microcirculação coronária representa a última unidade anátomo funcional antes das trocas metabólicas e do equilíbrio hidroelectrolítico. A disfunção da microcirculação coronária causada por alterações funcionais ou morfológicas condiciona a normal perfusão do miocárdio e a adaptação desta perfusão a diferentes situações fisiológicas e patológicas. Nas duas últimas décadas têm sido observados importantes avanços no conhecimento da fisiopatologia da doença coronária isquémica. Contudo continuam por explicar situações de isquémia e necrose do miocárdio na ausência de doença coronária epicárdica e na ausência de trombo. Também continuam por explicar as alterações isquémicas observadas em territórios vizinhos das regiões que sofrem isquémia aguda, assim como as fases de transição entre miocárdio saudável, atordoado e hibernante. A fisiopatologia da insuficiência cardíaca, da hipertrofia ventricular esquerda e da diabetes mellitus são exemplos da importância do conhecimento da fisiopatologia da microcirculação coronária.

A microcirculação é o denominador comum da maior parte das doenças cardiovasculares, quer das que atingem o músculo cardíaco (microcirculação coronária) quer das que atingem a parede dos vasos (vasavosorum). A perspectiva de que um maior conhecimento desta unidade funcional possa trazer novas explicações sobre a fisiologia e a patologia cardiovasculares é estimulante e continua a representar uma das vertentes da medicina que é a investigação sobre a “razão das coisas”.

O estudo da microcirculação coronária tem sido difícil de ser efectuado de forma sistematizada no ser vivo, e a introdução de novas tecnologias tem permitido avanços importantes no seu estudo. Contudo são técnicas de difícil acesso e dispendiosas, não permitindo a sua fácil aplicação, de forma frequente e repetida.

A ecocardiografia é uma das técnicas de imagem que revolucionou a abordagem diagnóstica das doenças cardiovasculares. Actualmente com equipamentos mais evoluídos, com novas tecnologias de imagem, com mais potentes “hardware” e “software”, e com sondas de maior frequência passou a ser possível questionar de forma directa a fisiopatologia da microcirculação coronária.

Foi objectivo do nosso trabalho utilizar a *Ecocardiografia* para a caracterização da microcirculação coronária em diferentes formas fisiológicas e fisiopatológicas; estudar a regulação da microcirculação coronária no indivíduo normal em basal e em situações de maior consumo de oxigénio comparando-as com situações fisiopatológicas; estudar a microcirculação coronária nas diferentes formas geométricas de aumento de massa ventricular esquerda como na hipertensão

arterial, na estenose aórtica e na cardiomiopatia hipertrófica; estudar a microcirculação na doença coronária isquémica e na diabetes mellitus tipo 2.

Para a concretização deste objectivo foi necessário implementar o trabalho em diferentes fases: aprendizagem das tecnologias, montagem da técnica e da logística e finalmente a sua execução. Este projecto foi iniciado em 1999, altura em que muitos centros europeus e americanos estavam também no início.

Numa primeira fase foi necessário efectuar uma curva de aprendizagem na utilização destas novas técnicas de aquisição e estudo de imagem. Porque em Portugal fomos pioneiros, foi necessário fazer deslocações a centros de treino no estrangeiro em particular aos serviços de cardiologia e ecocardiografia em Londres, Cagliari e Madrid sob a orientação de respectivamente os Exmos. Srs. Dr. Roxy Senior, Prof. Dr. Sabino Illiceto e Prof. Dr. Garcia Fernandez.

Numa segunda fase foi necessário implementar a técnica nos locais de trabalho, criando as necessárias condições logísticas e treino de colaboradores.

Depois de satisfeitos estes requisitos foi possível avançar para a terceira fase do trabalho iniciando a aplicação das técnicas em grupos de estudo seleccionados.

Este trabalho está dividido em 7 capítulos. Além da introdução no capítulo nº 1, o capítulo nº 2 é dedicado à revisão da fisiopatologia da circulação coronária. O capítulo nº 3 apresenta a metodologia utilizada. No capítulo nº 4 são apresentados os resultados dos trabalhos que efectuámos estando este capítulo dividido em quatro partes: hipertrofia ventricular esquerda, diabetes mellitus tipo 2, doença coronária e modelo animal experimental. No capítulo nº 5 são apresentadas as conclusões, no capítulo nº 6 os resumos e no capítulo nº 7 é referida a bibliografia.

2 FISIOPATOLOGIA DA CIRCULAÇÃO CORONÁRIA

2.1 Introdução

A circulação coronária engloba um conjunto de vasos com diâmetros que vão desde 5 μm a 1500 μm , distribuídos tridimensionalmente, onde os vasos de maior diâmetro estão separados dos capilares por alguns milímetros.

Esta rede de vasos tem a responsabilidade de transportar o sangue até aos miócitos, permitindo a troca de nutrientes e produtos do metabolismo, e de manter condições de estabilidade hemodinâmica e hidroeletrolítica. A resistência da circulação coronária está distribuída por diferentes compartimentos funcionais que estão associados em série.

O complexo mecanismo de auto-regulação permite que a perfusão coronária se mantenha constante apesar das variações de pressão. Nesta rede de vasos o fluxo coronário que à saída da aorta tem pressões de cerca de 90 mmHg chega à rede capilar com pressões de 45 e 30 mmHg e às veias com 5 mmHg. Neste controlo estão envolvidos vários tipos de substâncias vasoactivas, autacoides, e mecanismos nervosos. As resistências transmuralis são condicionadas pelas forças compressivas extravasculares.

Os principais avanços verificados no conhecimento da fisiopatologia da circulação coronária devem-se em particular ao trabalho que se tem desenvolvido no diagnóstico e terapêutica da doença coronária aterosclerótica. A discussão da morfologia, fisiologia e fisiopatologia da circulação coronária tem sido centrada fundamentalmente no âmbito da doença coronária aterosclerótica e na sua consequência mais importante que é a isquémia traduzida clinicamente pelos síndromes coronários estáveis e agudos.

Contudo, a evidência que a isquémia não é só consequência de fenómenos obstrutivos e aterotrombóticos tem estimulado a investigação da fisiopatologia da circulação coronária para além da doença coronária aterosclerótica.

2.2 Anatomia e Arquitectura da Rede Vasculiar Coronária

Anatomicamente a rede coronária inicia-se com dois vasos de grande calibre que saem da aorta, a artéria coronária esquerda e a artéria coronária direita. Estes vasos dividem-se como os ramos de uma árvore em artérias ainda de grande calibre que por sua vez se dividem em artérias de menor calibre e arteríolas dando origem à rede capilar. Os capilares venosos confluem em vénulas, que por sua vez confluem em vasos de maior calibre, as veias.

A rede coronária pode ser definida sob diferentes formas, sendo a mais utilizada a classificação anátomo funcional, que relaciona a anátomo morfologia com a fisiopatologia. Assim a rede coronária arterial pode ser dividida em vários níveis: os vasos de condutância, os vasos de resistência, os capilares, a circulação venosa e a rede colateral.

Vasos Epicárdicos ou de Condutância

Os vasos epicárdicos têm diâmetros superiores a 400 μm onde se incluem as grandes artérias (tronco comum, coronária esquerda com a descendente anterior e diagonais, circunflexa e marginais e a coronária direita). Estes vasos são grandes artérias que correm na superfície do coração, à excepção dos ramos septais que penetram perpendicularmente na parede do músculo cardíaco.

Só os vasos epicárdicos estão sujeitos a processos de aterotrombose com formação de placas de ateroma. São identificáveis através da angiografia, que permite definir os contornos do lúmen. Os vasos epicárdicos normais não oferecem resistência significativa ao fluxo sanguíneo e por isso também não apresentam gradiente de pressão significativo durante a hiperemia máxima. Em basal estes vasos contribuem com cerca de 5% do valor total da resistência da árvore coronária (1). Estes vasos podem responder com vasodilatação ao estímulo da nitroglicerina e com vasoconstrição ao estímulo α -adrenérgico (2).

O fluxo coronário faz-se em sístole e em diástole e é durante a diástole que se regista o maior fluxo. Contudo nestes vasos o volume de sangue aumenta durante a sístole, sendo parte deste volume proveniente, de forma retrógrada, dos vasos de menor calibre, em localização intramiocárdica, e que são sujeitos a expressão do conteúdo sanguíneo durante a contracção cardíaca. Este aumento de volume pode chegar a 25% do volume total.

Vasos de Resistência

Os vasos de resistência são vasos com diâmetros inferiores a 400 μm . Estas artérias estão divididas em dois grupos, um compartimento proximal formado por vasos pré-arteriolares com diâmetros entre 100 μm e 400 μm , e um compartimento distal com diâmetros inferiores a 100 μm . Os vasos de resistência pré-arteriolares são responsáveis por cerca de 30% de toda a resistência

coronária, e têm a capacidade de variações vasomotoras na presença de estímulos fisiológicos e farmacológicos, o que representa a base da adaptação do miocárdio a diferentes situações fisiopatológicas (fenômeno de auto-regulação).

O tônus dos vasos do compartimento proximal está dependente do fluxo coronário, pressão de distensão da parede e tônus miogénico e é controlado pelo sistema nervoso autónomo e pela função endotelial. O tônus do compartimento distal depende principalmente da pressão de perfusão e do metabolismo miocárdico. Estes vasos são responsáveis por cerca de 40% da resistência coronária.

Capilares

As arteríolas dividem-se numa extensa e densa rede de vasos, com cerca de meio milímetro de comprimento e 5 μm de diâmetro que são os capilares. Existem cerca de oito milhões de capilares no coração humano, numa relação de 4000 capilares por mm^2 , ocupando cerca de 5% do volume do coração (3, 4).

A passagem de oxigénio e nutrientes para as células processa-se a nível dos capilares, na relação de um capilar por cada fibra miocárdica. A densidade capilar é maior cerca de 20% na região endocárdica. Os capilares dispõem-se paralelamente às fibras musculares cardíacas. Segundo a sua morfologia os capilares foram classificados em Y, H, T e em forma de “gancho de cabelo” (4, 5).

Cada capilar oferece pelas suas características morfológicas uma grande resistência à passagem do sangue, contudo a rede capilar no seu todo é a estrutura vascular que oferece mais baixa resistência pela disposição destes pequenos vasos em paralelo. O seu tônus é controlado pela pressão interna e pela contractilidade dos miócitos adjacentes.

Em situação basal apenas 60 a 80% dos capilares estão funcionantes e este número pode ser modificado em função das necessidades de controlo da homeostase, designando-se este fenómeno de recrutamento capilar (6). A distância capilar entre as arteríolas pré-capilares e as vénulas pós-capilares é de cerca de 500 μm , cerca de dez vezes o comprimento de cada capilar. Normalmente existe a relação de um capilar por miofibrilha (7). A distância entre capilares é cerca de 17 μm variando em função das necessidades de adaptação. Durante situações de hipoxia e anoxia as distâncias reduzem-se respectivamente para 14,5 e 11 μm . Durante o exercício, para satisfazer as maiores necessidades em oxigénio, observa-se diminuição da distância intercapilar para 14 μm .

Circulação Colateral

A circulação colateral é formada por vasos sem fibras musculares e pensa-se que representam o remanescente da rede arterial embrionária.

Estes vasos formam redes anastomóticas, que permitem a ligação entre diferentes redes de artérias coronárias, distribuindo-se transmuralmente desde o epicárdio até ao endocárdio.

São descritos dois tipos morfológicos de colaterais: um dos tipos é semelhante aos vasos capilares sem células musculares lisas, e embora existam em todas as regiões do miocárdio, a sua densidade é maior na região endocárdica; existe outro tipo de colaterais que são semelhantes às arteríolas e localizam-se preferencialmente na região meso e epicárdica. As colaterais podem existir num estado não funcional e serem subitamente funcionalizadas em situações agudas em que

se geram gradientes de pressão entre as redes que essas colaterais ligam. Podem também ser formadas a partir de vasos embrionários, por um fenómeno de arteriogénese (8).

A fisiopatologia do recrutamento de colaterais ainda não está esclarecida (9). Inicialmente pensava-se que a presença de uma rede colateral desenvolvida estava ligada a situações de isquémia, contudo existem redes de colaterais desenvolvidas em indivíduos sem doença coronária isquémica.

O recrutamento de colaterais em indivíduos pós angioplastia, no contexto de síndrome coronário agudo, é diferente consoante a idade; a prevalência de colaterais diminui cerca de 48% em doentes com idades inferiores a 50 anos para cerca de 34% em doentes com mais de 70 anos (10). Durante a angioplastia coronária observa-se que o aparecimento da rede de colaterais está relacionado com o tempo de oclusão da artéria epicárdica durante a insuflação do balão.

Na doença coronária a circulação colateral está directamente relacionada com a duração da angina, o grau e localização da obstrução (proximal) e com o tempo de oclusão no caso da angioplastia por balão. Uma das funções destes vasos é permitir a irrigação de áreas de miocárdio, ultrapassando obstruções de artérias coronárias, salvaguardando essas áreas da isquémia. Estes vasos cujo papel tem sido menos valorizado, entram em funcionamento quando existe gradiente de pressão entre vasos de maior calibre, e sob determinados estímulos. A relação entre isquémia e circulação colateral sugere que para a sua formação existirão estímulos angiogénicos por parte dos miócitos que sofrem isquémia.

Circulação Venosa

A parte venosa da circulação coronária tem sido menos estudada. Contudo conhecem-se alguns aspectos que são importantes e que contribuem para a fisiologia desta rede de vasos.

A rede venosa responsável por uma pequena fracção, cerca de 7%, da resistência total coronária, e interfere na regulação do recrutamento dos capilares (1). O volume de sangue contido no compartimento venoso comprime as fibras musculares alongando-as e aumentando o consumo de oxigénio.

Compartimentos Vasculares

Estudos morfométricos efectuados em coração de porco, que tem importantes semelhanças com o coração de homem, revelaram que em repouso cerca de 5 a 8% da massa do ventrículo esquerdo (VE) é composto por sangue e que o volume de sangue de toda a circulação coronária é de aproximadamente 12 ml /100 g de ventrículo esquerdo (4). Este volume de sangue distribui-se de forma idêntica pelos três compartimentos definidos pelas *artérias* (desde as artérias epicárdicas até às arteríolas > 200 µm), pela *microcirculação* (desde as arteríolas < 200 µm até às vénulas de 200 µm) e pelas *veias* (desde as vénulas de 200 µm até às veias epicárdicas). A maior parte do volume de sangue que existe no compartimento arterial e venoso situa-se em vasos que são exteriores ao miocárdio, na superfície epicárdica. Cerca de 90% de todo o volume de sangue miocárdico está contido nos capilares, constituindo o volume de sangue capilar.

Regulação da Rede Coronária

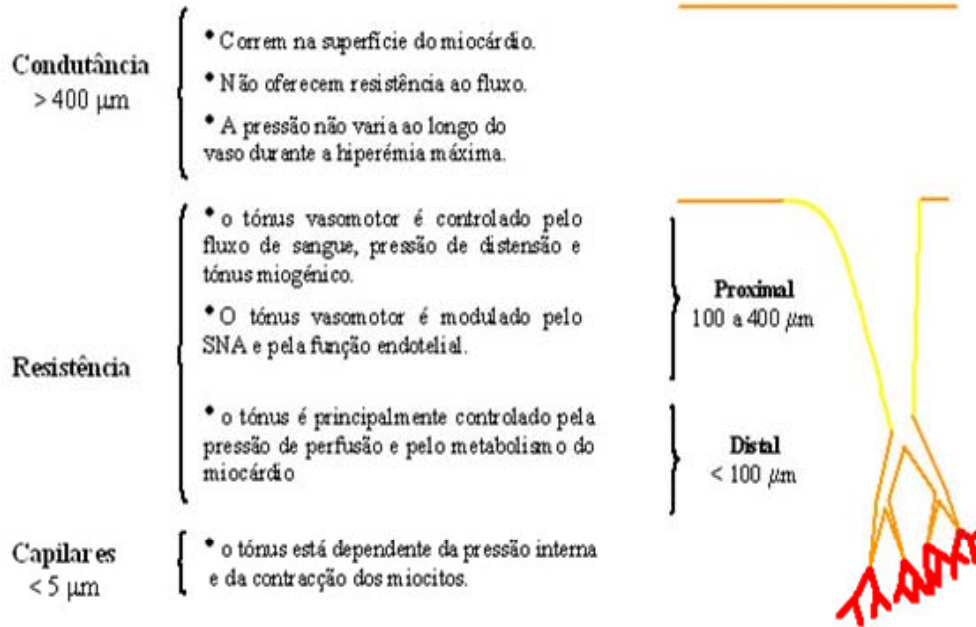


Figura 2.2.1 – Esquema morfológico e funcional da árvore coronária

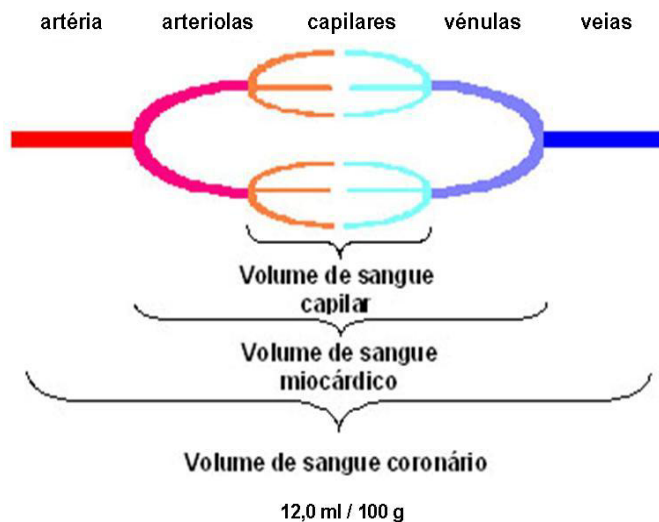


Figura 2.2.2 – Esquema da árvore coronária com distribuição dos diferentes volumes de sangue.

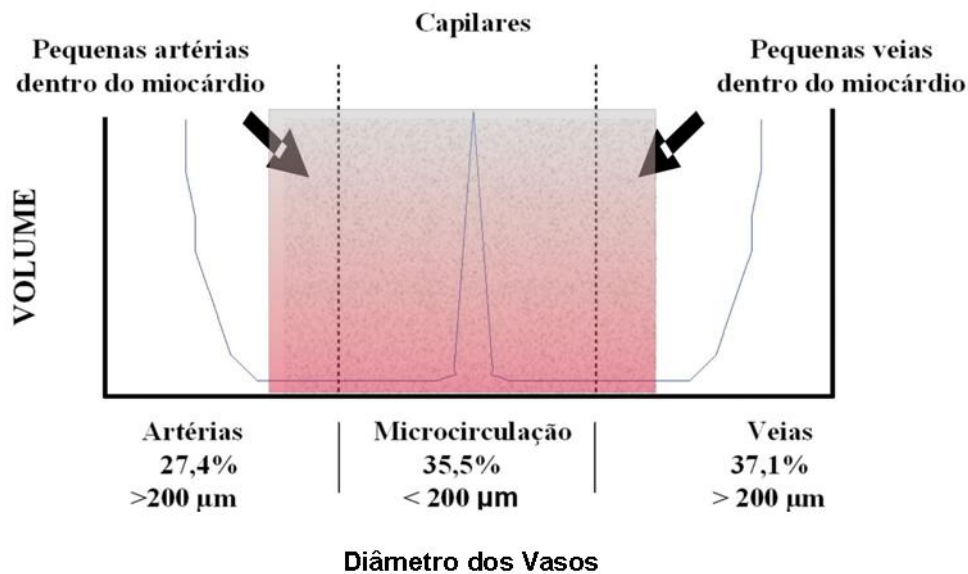


Figura 2.2.3 - Relação entre os volumes de sangue dos diversos compartimentos vasculares em função do diâmetro dos vasos. Observa-se uma distribuição semelhante do volume total de sangue da árvore coronária pelos compartimentos arterial, capilar e venoso. A área a cinzento representa o miocárdio. O volume de sangue capilar é responsável por cerca de 90% do volume de sangue intramiocárdico. Imagem retirada e modificada de Lindner (11).

O coração dos mamíferos tem um metabolismo predominantemente aeróbio consumindo uma grande quantidade de oxigénio, cerca de 10 ml/min/100 g de tecido. O coração tem uma excepcional capacidade de extracção de oxigénio mas a sua capacidade anaeróbia é muito limitada.

A ausência de oxigénio na microcirculação coronária implica uma rápida cascata de acontecimentos até à paragem cardíaca. Em basal e em condições normais os miócitos extraem cerca 50% (ventrículo direito) de 75% (ventrículo esquerdo) do oxigénio que lhes chega através da microcirculação coronária.

Por estas duas razões, a dependência do oxigénio (metabolismo aeróbico) e a grande capacidade de extracção, com pequena reserva de cerca de 25%, a função miocárdica está directamente dependente de um adequado fluxo coronário que exige uma permanente regulação.

Contudo o coração revela uma enorme capacidade de aumentar o consumo de oxigénio em cerca de cinco vezes o valor basal, como por exemplo durante situações de taquicardia, ou quando se verifique aumento de contractilidade e aumento da pós-carga como se observa durante o exercício.

Para satisfazer as necessidades é necessário aumentar o fluxo de sangue coronário na proporção do aumento de consumo de oxigénio (12). O factor determinante do aumento do fluxo coronário é o consumo de oxigénio pelo miocárdio.

Em situações limite, em que se encontrem esgotadas ou comprometidas as possibilidades de aporte de oxigénio ao miócito, são utilizadas as reservas de oxigénio que se encontra dissolvido nos tecidos e ligado à mioglobina. Contudo estas reservas só permitem ao miócito sobreviver poucos segundos (13).

2.3 Regulação da Circulação Coronária

Factores Mecânicos Extravasculares

O coração é o único órgão que gera a sua própria pressão de perfusão. O fluxo coronário é bifásico mas faz-se predominantemente durante a diástole (14). Durante a sístole a pressão intramiocárdica do ventrículo esquerdo aumenta para valores que impedem a progressão do fluxo através dos vasos intramiocárdicos.

Os miócitos, que estão rodeados por capilares alternando a contracção com o relaxamento, interferem com as estruturas vizinhas, em particular com os vasos sanguíneos. Durante a fase de contracção observa-se uma compressão dos vasos intramiocárdicos que são esvaziados de sangue (15, 16). A compressão extravascular faz refluir o sangue do compartimento arterial para as artérias de condutância e do compartimento venoso para o seio venoso (17). A compressão é maior nas regiões endocárdicas e sub-endocárdicas e é menor na região epicárdica. O diâmetro das arteríolas e vénulas intramiocárdicas e sub-endocárdicas diminui cerca de 20%, enquanto o diâmetro dos vasos sub-epicárdicos praticamente não sofre alterações. A interacção mecânica entre o miocárdio e os vasos coronários dá origem a este padrão único e característico do fluxo coronário: durante a diástole os vasos intramiocárdicos contêm sangue, durante a sístole o sangue é desviado para os vasos de condutância epicárdicos (18).

O fluxo de sangue na região sub-endocárdica está muito dependente da contracção cardíaca. Em repouso o volume de sangue no endocárdio é cerca de 50% maior do que nas regiões meso-epicárdicas. À medida que a frequência cardíaca aumenta o volume de sangue endocárdico diminui chegando a ser 50% menor que o sub-epicárdico (19). Esta característica de heterogeneidade temporo-espacial das forças compressivas extrínsecas, e dum gradiente transmural, tem repercussão na fisiopatologia, ajudando a compreender que em termos de perfusão as regiões sub-endocárdicas são as que potencialmente são mais frágeis, podendo sofrer anoxia e ou isquémia sempre que haja aumento das forças compressivas (hipertensão arterial, estenose aórtica, cardiomiopatia hipertrófica), ou aumento do consumo de oxigénio (taquicardia), associadas ou não a outras formas patológicas que comprometam a perfusão coronária, como a doença coronária.

Regulação do Tónus Vasomotor

Sendo o consumo de oxigénio o factor determinante para o aumento do fluxo, a questão central é explicar quais os mecanismos mecânicos, metabólicos e nervosos locais que determinam a relação entre a maior necessidade de oxigénio e o fluxo coronário (20).

Como foi referido previamente os mecanismos de regulação não são iguais em todos os compartimentos vasculares e o controlo da vasomotricidade está dependente de regulação miogénica, regulação metabólica (cujo principal estímulo é o consumo de oxigénio), auto-regulação, regulação dependente do endotélio (como resposta a variações de pressão e débito do fluxo na parede do vaso), regulação nervosa simpática e parassimpática e acção de substâncias autacoides e vasoactivas locais.

A - Regulação Miogénica

Os vasos que possuem células musculares lisas têm a possibilidade de modular a sua vasomotricidade através da contracção destas células, o que se designa de controlo miogénico (21). O estímulo para a contracção das células musculares lisas é o estiramento da fibra provocado pelo aumento de pressão parietal intravascular perpendicular à parede do vaso. A resposta miogénica ao estímulo de pressão do fluxo tem como objectivo manter pressões pré-capilares e capilares dentro dos limites fisiológicos (22-24). O mecanismo de controlo miogénico é independente do endotélio e não está apenas dependente da pressão média do fluxo, mas também do valor da amplitude dessa pressão. A pulsatilidade do fluxo é um factor de estímulo da contractilidade das células musculares lisas dos vasos (25). Apesar de ser difícil separar este controlo da acção do óxido nítrico, e de outras substâncias vasodilatadoras libertadas pelo endotélio, verificou-se que mesmo em vasos com diâmetros entre os 40 µm e 200 µm, desnudados de endotélio, se continuavam a observar alterações do tónus em resposta a variações de pressão transmural. O controlo miogénico existe nas arteríolas de resistência mas o seu contributo para o processo de auto-regulação parece ser pouco importante.

B - Regulação Metabólica

O conceito de regulação metabólica engloba as respostas locais de regulação do fluxo coronário como resposta a variações da actividade metabólica (20). Durante o exercício o aumento da actividade metabólica determina a necessidade de aumento do fluxo coronário. Localmente são libertadas substâncias com acção vasodilatadora sobre as arteríolas, com conseqüente aumento do fluxo coronário que se designa hiperemia. O aumento do fluxo coronário correlaciona-se directa e positivamente com o aumento das necessidades metabólicas (26).

Entre as condições necessárias para que uma substância seja considerada como um agente dilatador coronário metabólico (27) citam-se as mais importantes: a sua administração intra-arterial deve desencadear hiperemia., deve existir no miocárdio, devem existir vestígios mensuráveis da substância no tecido ou efluentes e a utilização de inibidores dessa substância deve impedir a hiperemia (28). Apesar de existirem várias hipóteses de mediadores metabólicos como a adenosina, os canais de K^+_{ATP} , factor hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), óxido nítrico (NO), prostaglandinas e enervação adrenérgica, estes ainda não foram identificados.

a) Adenosina

A hipótese da adenosina foi apresentada pela primeira vez por Berne em 1963 (29). A adenosina é um potente vasodilatador que em condições basais parece não ter um papel importante no controlo da vasomotricidade da microcirculação coronária. A adenosina é formada nos miócitos por acção duma nucleotidase sobre o AMP proveniente da hidrólise do ATP.

Experimentalmente foi demonstrado que a adenosina em basal e após exercício ou *pacing*, quando se aumenta o consumo de oxigénio pelo miócito, não é responsável pela vasodilatação coronária. Esta evidência baseia-se nas seguintes premissas: o bloqueio dos receptores de adenosina não interfere na relação entre o fluxo coronário e o consumo de oxigénio (30-32); a concentração de adenosina na vertente venosa da microcirculação coronária sofre pequenas alterações condicionadas por variações de consumo de oxigénio, induzido pelo exercício (33); a concentração de adenosina intersticial tem valores inferiores aos que seriam necessários para

provocar vasodilatação durante aumentos de consumo de oxigénio (34, 35); o bloqueio de receptores da adenosina não aumenta a concentração de adenosina na microcirculação coronária venosa nem no interstício.

Em situações patológicas, como no caso de estenose coronária significativa, a adenosina actua como vasodilatador quando se induz isquémia; em situações de desequilíbrio entre a oferta e o consumo de oxigénio, os miócitos libertam adenosina para aumentar o fluxo coronário e o aporte de oxigénio.

b) Canais de K^+_{ATP}

Os canais de K^+_{ATP} foram identificados inicialmente nas artérias mesentéricas por Standen em 1989 (36). Actualmente está identificado um subtipo de canais de K^+_{ATP} que pode ser regulado pelo ATP intracelular presente em vários tecidos como as células β do pâncreas, as células cerebrais, as células muscular esqueléticas e muscular lisas (37). Estes canais de K^+_{ATP} são caracterizados por serem inibidos pela glibenclamida, família das sulfonilureias, com elevado K_i para os canais de K^+_{ATP} (32, 38).

Os canais de K^+_{ATP} têm um papel importante na mediação da vasodilatação desencadeada pela hipoxia (39) que é inibida pela acção da glibenclamida (40). A hiperemia reactiva também é modulada pela acção inibitória da glibenclamida sobre os canais de K^+_{ATP} . Os canais de K^+_{ATP} estão envolvidos na vasodilatação induzida pela adenosina (41), mas não são necessários para o processo de auto-regulação. Os canais de K^+_{ATP} são responsáveis pela manutenção do fluxo coronário basal (42-45). Quando são inibidos pela glibenclamida observa-se diminuição deste fluxo basal em cerca de 12 a 25%, mas sem consequências para o fluxo coronário que se observa durante o exercício ou durante o *pacing* (46). Pensa-se que a adenosina é responsável pela vasodilatação durante a hipoxia e a isquémia e que os canais de K^+_{ATP} medeiam essa vasodilatação (46).

c) Óxido Nítrico

O óxido nítrico é formado a partir da L-arginina pela sintetase do óxido nítrico (eNOS) e é continuamente libertado pelas células endoteliais. Previamente à sua descoberta era conhecido como factor de relaxamento proveniente do endotélio (EDRF). A sua libertação é estimulada pela bradicinina (47-49), pela acetilcolina e por estímulos mecânicos como o *stress* parietal vascular (50-52), *stress* axial vascular, e pelo fluxo pulsátil (53-55).

A inibição da sintetase do óxido nítrico por análogos da arginina não tem repercussão significativa no fluxo coronário em repouso e durante o exercício, pelo que este elemento não é relevante para a vasodilatação necessária durante o exercício e portanto não é considerado um vasodilatador local metabólico. Contudo o óxido nítrico exerce um efeito de manutenção do tónus vasodilatador em repouso e durante o exercício.

O óxido nítrico contribui para a regulação da vasomotricidade dos vasos epicárdicos, promovendo a sua dilatação. As alterações da vasomotricidade epicárdica não se traduzem contudo por alterações relevantes do fluxo na microcirculação coronária. A vasoconstrição epicárdica é compensada por vasodilatação da microcirculação coronária mantendo o fluxo coronário constante, assim como a vasodilatação epicárdica actua preventivamente diminuindo o *stress* parietal provocado pelo fluxo coronário (57, 58).

d) Inter-Relação de Controlo

Existem múltiplos mecanismos de controlo metabólico da vasomotricidade coronária a nível local, que alternam entre si de forma a compensarem-se uns aos outros quando estão impedidos de actuar isoladamente, em particular em situações de isquémia. Uma tripla inibição da adenosina, dos canais de K^+_{ATP} e do óxido nítrico diminui o fluxo coronário em repouso mas não afecta de forma relevante a vasodilatação observada durante o exercício em indivíduos normais.

Em conclusão estes elementos não se revelam necessários para a normal resposta vasodilatadora durante o exercício embora sejam importantes em basal.

e) Prostaglandinas

As prostaglandinas são metabolitos do ácido araquidónico e embora tivessem sido apontadas como possíveis mediadores da vasodilatação metabólica a nível local, essa hipótese não foi confirmada.

Contudo as prostaglandinas são libertadas em maior quantidade em situações de hipoxia, anoxia e oclusão coronária (56).

f) Oxigénio, Potássio, ATP, Factores Hiperpolarizantes Derivados do Endotélio

Outros factores contribuem em maior ou menor grau para a regulação metabólica do tónus vasomotor da microcirculação coronária. É o caso da diminuição da tensão de oxigénio que é um estímulo para a vasodilatação. Cerca de 40% das variações do fluxo coronário durante aumentos de consumo de oxigénio induzidos por *pacings* são explicadas por variações de tensão do oxigénio e dióxido de carbono.

O potássio embora aumente transitoriamente durante o aumento de consumo de oxigénio por *pacings* e seja responsável por cerca de 33% da resposta vasodilatadora inicial, não é provável que tenha um papel a longo prazo. O ATP é um potente vasodilatador e é libertado pelos miócitos e pelos glóbulos vermelhos em situações de redução de oxigénio.

Os Factores Hiperpolarizantes Derivados do Endotélio (EDHFs) são libertados pelas células endoteliais e medeiam a vasodilatação por hiperpolarização das células musculares lisas. Fazem parte deste sistema alguns metabolitos do complexo citocromio P_{450} ácido araquidónico, como os ácidos epoxieicosatrienoico (EETs) e ácidos hidroxieicostetraenoico (HETEs) (59).

Conclusão: A regulação metabólica da resistência coronária actua principalmente a nível das arteríolas com diâmetros inferiores a 100 μm com o objectivo de responder às necessidades de aporte de oxigénio aos tecidos. Tem sido difícil compreender os mecanismos de sinalização e resposta neste tipo de regulação, pela redundância dos factores intervenientes e dos mecanismos reguladores. Existem diversos factores segregados e libertados pelo endotélio e miócito que provocam hiperpolarização da membrana da célula muscular lisa com conseqüente vasodilatação, mediada fundamentalmente pelos canais de K^+_{ATP} .

C - Mecanismo de Auto-Regulação

O complexo mecanismo de auto-regulação permite que a perfusão coronária se mantenha constante, apesar das variações de pressão, mantendo constante o metabolismo (60).

Como foi previamente referido a pressão do fluxo coronário à saída da aorta é de cerca de 90 mmHg, na rede arteriolar é de 45 mmHg e na rede capilar de 30 mmHg e nas vénulas de 5 mmHg. A pressão de perfusão e o fluxo sanguíneo não apresentam uma relação linear, mas definida por uma curva. Para gradientes de pressão de perfusão no intervalo entre 50 mmHg e 120 mmHg o fluxo é praticamente constante permitindo uma normal perfusão do músculo cardíaco. Para gradientes de pressão de perfusão inferiores a 50 mmHg e superiores a 120 mmHg a relação é linear e passa a depender da pressão de perfusão. O mecanismo de auto-regulação permite manter um fluxo de sangue coronário estável apesar de grandes ou súbitas variações da pressão arterial. O objectivo final deste mecanismo é manter a pressão capilar média na ordem dos 30 mmHg e permitir uma homeostase normal. A maior parte deste mecanismo de auto-regulação envolve as artérias de menor calibre, arteríolas, com diâmetros entre 150 μm e 300 μm que possuem células musculares lisas; as arteríolas de menor diâmetro e os capilares tomam parte neste processo através do fenómeno de recrutamento (1, 61).

Como os vasos sanguíneos são estruturas com propriedades elásticas, é possível adaptarem-se a variações de pressão com alterações da vasomotricidade. Quando se verifica um aumento da pressão, estes vasos respondem com vasoconstrição preservando a rede capilar de um aumento da pressão. Neste intervalo de gradientes de pressão são os mecanismos de auto-regulação que têm a responsabilidade de manter o fluxo constante. Para valores de gradiente de perfusão superiores a 120 mmHg o aumento da pressão hidrostática terá como consequência a passagem de líquido intravascular para o espaço intersticial e edema celular se não existirem outro ou outros mecanismos de regulação. A auto-regulação é uma característica fundamental do sistema cardiovascular e da circulação coronária.

Não está completamente esclarecido o mecanismo de sinalização e de resposta da auto-regulação. Para valores inferiores de pressões de perfusão existe maior expressão de adenosina, de NO e de activação dos canais de K^+_{ATP} .

Conclusão: A auto-regulação utiliza os mesmos mecanismos observados na regulação metabólica juntamente com respostas miogénicas com o objectivo de manter a nível da microcirculação coronária valores de pressão de perfusão constantes e fisiológicos que permitam uma pressão hidrostática capilar normal.

D - Regulação Nervosa

Os vasos coronários são enervados por fibras simpáticas e parassimpáticas. As terminações nervosas estão localizadas preferencialmente na adventícia e média da parede dos vasos, e em maior número nas pré-arteríolas e arteríolas do que nos vasos de condutância.

a) Controlo Adrenérgico do Fluxo Coronário

A activação do sistema nervoso simpático aumenta a frequência cardíaca, a contractilidade e a pós-carga. O consequente aumento do consumo de oxigénio provoca vasodilatação coronária.

Estas alterações vasomotoras metabólicas locais mascaram os efeitos directos da estimulação simpática nos vasos coronários, que por outro lado apresentam receptores α e β -adrenérgicos que promovem respectivamente vasoconstrição e vasodilatação.

Receptores α -adrenérgicos

Existem dois subtipos de receptores α , designados α_1 e α_2 . Os receptores α_1 medeiam a vasoconstrição nos grandes vasos e os receptores α_2 estão envolvidos na resposta vasoconstritora nos vasos de resistência (65).

É possível estudar a acção mediada pelos receptores α -adrenérgicos separadamente da vasodilatação metabólica, bloqueando selectivamente os receptores α e β -adrenérgicos. A estimulação dos nervos simpáticos, concomitante com o bloqueio dos receptores β , traduz-se numa diminuição do fluxo coronário (62 - 66) por acção dos receptores α . Nesta situação a tensão de oxigénio diminui na vertente venosa da microcirculação coronária (67). A inibição dos receptores α -adrenérgicos durante a estimulação simpática traduz-se por um maior aumento do fluxo coronário e diminuição das resistências vasculares em comparação com o basal para iguais valores de consumo de oxigénio (68, 69).

Durante o exercício, quando o consumo de oxigénio é máximo, parece ser paradoxal a vasoconstrição mediada pelos receptores α -adrenérgicos que se opõem à vasodilatação metabólica arteriolar. Este mecanismo traduz-se por um efeito protector das regiões endocárdica e sub-endocárdica que são as zonas da parede cardíaca com maior risco de isquémia quando se observa aumento da frequência cardíaca e da contractilidade. Nesta situação a região sub-endocárdica, que só é perfundida durante a diástole, e apresenta já uma vasodilatação máxima da microcirculação, está mais vulnerável para a isquémia pelas forças compressivas extrínsecas e diminuição do tempo diastólico.

Em modelos experimentais o bloqueio dos receptores α -adrenérgicos aumenta o fluxo coronário transmural total reduzindo o fluxo sub-endocárdico (71). A estimulação dos receptores α -adrenérgicos provoca vasoconstrição dos vasos coronários com diâmetros superiores a 100 μm (70), diminuindo a capacitância dos vasos intramiocárdicos, e contribuindo para uma diminuição do retrocesso do fluxo para as regiões meso e epicárdicas. A vasoconstrição em vasos de menor calibre será da responsabilidade da endotelina libertada pelos miócitos (72, 75).

Receptores β -adrenérgicos

Também existem diferentes subtipos de receptores β , os receptores β_1 localizados preferencialmente nas artérias coronárias de maior calibre e na camada média, os receptores β_2 e β_3 de localização predominante nos vasos de resistência.

No estudo das acções mediadas pelos receptores β -adrenérgicos não existe a possibilidade de aplicar a metodologia utilizada para os receptores α -adrenérgicos, inibindo selectivamente estes tipos de receptores e diferenciando as acções por eles mediadas das acções metabólicas locais. Qualquer destes subtipos de receptores medeia uma resposta vasodilatadora em situações fisiológicas. Se coexistir doença coronária a resposta passa a ser predominantemente vasoconstritora.

b) Controlo Parassimpático do Fluxo Coronário

Também nesta área não está completamente esclarecido o papel do sistema nervoso parassimpático. Os receptores muscarínicos estão presentes nas células musculares lisas, nas varicosidades dos nervos simpáticos e no endotélio e são mediadores respectivamente da contracção das células musculares lisas, da inibição de noradrenalina e da libertação de EDRD (76). Globalmente parecem ter um efeito vasodilatador, na presença de um endotélio saudável.

c) Controlo Purinérgico do Fluxo Coronário

Foram identificadas várias substâncias neurotransmissoras como as purinas (ATP), as aminas (serotonina e dopamina) e alguns péptidos (neuropeptido Y, CGRP, substancia P e o péptido intestinal vasoactivo) que existem nas varicosidades do axónio e que podem ter um papel de modulação da resposta adrenérgica e colinérgica (74, 78).

Foram identificados dois tipos de receptores purinérgicos, P_1 (com dois subtipos A_1 e A_2) e P_2 . Os receptores P_1 têm maior sensibilidade para a adenosina e medeiam o relaxamento das células musculares lisas por acção directa e através da libertação de EDRF. Os receptores P_2 têm maior sensibilidade para o ATP e promovem também libertação de EDRF sendo vasoconstritores directos.

O neuropeptido Y é libertado juntamente com a noradrenalina durante a estimulação simpática. A sua administração endovenosa desencadeia intensa vasoconstrição e isquémia grave da microcirculação (77).

A substância P e o CGRP promovem vasodilatação dependente do endotélio nas artérias epicárdicas.

Conclusão: Em repouso não é relevante o papel do sistema nervoso autónomo na regulação da microcirculação coronária. Durante o exercício a estimulação simpática tem uma contribuição importante na regulação do fluxo coronário, através da vasodilatação mediada pelos receptores β e da vasoconstrição mediada pelos receptores α .

Endotélio

Existem no corpo humano cerca de 10^{13} células endoteliais, pesando cerca de 1 kg e atapetando todas as superfícies cardiovasculares (endocárdio, artérias, arteríolas, vénulas e veias) numa área total de cerca de 4000 a 7000 m² (79). As células endoteliais têm forma poliédrica com diâmetros de 10 a 50 µm e estão dispostas numa só camada. Cada célula endotelial apresenta três faces: uma face não trombogénica voltada para o lúmen do vaso, uma face adesiva voltada para a parede do vaso e que se justapõe ao tecido conjuntivo, e uma terceira face coesiva que se relaciona com outras células endoteliais.

Esta descrição representa o conceito clássico do endotélio. Actualmente o espectro da rede endotelial expandiu-se e é necessário rever estes conceitos à luz dos novos e emergentes conhecimentos. A descrição da localização e distribuição do endotélio, além do que cobre os leitos vasculares dos sistemas previamente descritos, inclui também o endotélio que se estende para o interior da própria parede do vaso acompanhando os vasos que a irrigam, como os vasavosorum que são considerados parte de uma activa e importante microcirculação (80). Será necessário expandir o conceito de função endotelial aos vasos da parede e da adventícia (82).

Uma recente extensão da função endotelial engloba as células progenitoras endoteliais (EPCs) e da medula óssea. Começa a ser consistente a evidência de que na medula óssea as EPCs e as células mãe vasculares poderão ter um papel importante na manutenção do normal funcionamento do endotélio, contribuindo para a sua rápida reparação (81-85). O endotélio está envolvido na regulação da vasomotricidade, da circulação de elementos celulares e nutrientes, da fluidez do sangue, do equilíbrio de factores inflamatórios, e da trombogenicidade; está também envolvido na angiogénese, e na apoptose.

O recente conceito de heterogeneidade da diversidade vascular traduz a complexidade do conceito de regulação dos aspectos previamente referidos a nível local e em função do tempo (83).

A - Endotélio como Dispositivo de “Input-Output”

A célula endotelial foi comparada a um aparelho de “*input-output*” capaz de perceber alterações do compartimento extracelular e com capacidade de resposta no sentido de corrigir essas alterações. São “*input*” para a célula endotelial os mediadores químicos e celulares em solução, as interações célula a célula, a pressão de O₂, as forças hemodinâmicas (pressão parietal, pulsatilidade do fluxo), a temperatura e o pH. A resposta da célula endotelial, “*output*”, traduz-se pelo seu próprio fenótipo, modulação do tónus vasomotor, permeabilidade vascular, equilíbrio homeostático, resposta inflamatória, proliferação celular e sobrevivência. Existe outro conceito designado por “*setpoint*” que pode ser traduzido por “ponto de afinação” para cada célula endotelial que representa o modo como cada célula endotelial integra todos os “*input*” e os “*output*” e que difere entre células, entre regiões e em função do tempo.

Avanços na genómica e proteínica revelaram a grande heterogeneidade das células endoteliais o que lhes confere a capacidade de adaptação para responder a necessidades específicas de cada unidade funcional ou órgão (86, 87).

B - Fisiologia do Endotélio

Existe um conceito simplificado de funcionamento da célula endotelial que consiste na definição de endotélio saudável o que expressa acções vasodilatadoras, anti-trombogénicas, anti-inflamatórias, anti-adesividade celular em oposição ao endotélio disfuncionante com expressão de acções opostas. Contudo o espectro fenotípico da célula endotelial representa um “contínuo”. Células endoteliais intactas sem alterações estruturais podem contribuir de forma activa para um processo patológico (88).

As células endoteliais sintetizam, segregam, modificam e regulam um grande número de substâncias: componentes do tecido conjuntivo, vasodilatadores, vasoconstritores, anticoagulantes, procoagulantes, proteínas fibrinolíticas, e prostanoídes (89). O endotélio contribui de forma importante para a regulação da vasomotricidade através do balanço entre a acção vasodilatadora mediada pelo EDRF (que é o NO ou sistema que transporta NO), pela prostaciclina (PGI₂) e pelo EDHF e a acção vasoconstritora mediada pela endotelina, pela angiotensina II, e por outros factores (EDCFs).

EDRF

Várias substâncias medeiam o que foi designado de vasodilatação dependente do endotélio (VDE). O EDRF, representado pelo óxido nítrico (NO) derivado da L-arginina por acção da sintetase do NO, tem a propriedade de relaxar a músculo liso através do cGMP, com aumento do GMP e diminuição do cálcio. É inactivado por radicais de oxigénio (O₂⁻). Experimentalmente é possível bloquear a sua formação com L-NMMA (NG monometil L-arginina (91). A sua libertação é estimulada pela trombina, histamina, bradicinina e pela pressão do fluxo sanguíneo na parede do vaso (90).

É um potente vasodilatador, que medeia a vasodilatação induzida pela acetilcolina, e um potente inibidor da adesividade e agregação plaquetária, diminui o potencial trombótico da célula endotelial, diminui a expressão de factores tecidulares induzidos por endotoxinas e citocinas e inibe a adesividade dos monócitos ao endotélio. A sua semi-vida é de cerca de 5 segundos, e é continuamente produzido e lançado na circulação.

A síntese de NO é inibida pelas LDL oxidadas, LDL de baixa densidade e pelas partículas remanescentes aterogénicas do metabolismo das VLDL e dos quilomicron. A calmodulina e a tetrahydro-biopterina são adjuvantes da sintetase do NO e a ausência da sua disponibilidade contribui para uma diminuição da produção de NO.

Prostaciclina

A prostaciclina ou PGI₂ é também um potente vasodilatador libertado localmente em resposta a estímulos mecânicos (pressão e pulsatilidade do fluxo) e químicos (bradicinina, trombina, serotonina e factor de crescimento plaquetário – PDGF) e tem acção antiagregante mediada pelo cAMP. A sua semi-vida é de cerca de 10 segundos.

EDHF

Uma outra substância ou conjunto de substâncias conhecidas por EDHF (factor hiperpolarizante derivado do endotélio) também é produzido e libertado do endotélio. Actua a nível das células musculares lisas aumentando a sua polaridade através da activação dos canais de K⁺ dependentes

do Ca^{2+} . Uma das substâncias identificadas com estas características é o ácido 11,12 epoxieicosatrienoico (92). Parece existir um equilíbrio entre as concentrações de NO e de EDHF, quando o NO diminui o EDHF aumenta de forma compensatória. A importância do EDHF parece estar relacionada com as pequenas artérias (93).

EDCF

O endotélio produz também substâncias vasoconstritoras (EDCF) como a endotelina 1 (ET-1) que é um péptido de potente acção vasoconstritora. Esta substância é formada lentamente e actua durante minutos a horas. O estímulo para a sua produção está dependente da trombina, angiotensina II, noradrenalina e vasopressina. As LDL oxidadas são um potente estímulo para a produção de ET-1. A ET-1 é responsável pela manutenção do tónus vascular, estimula a proliferação das células musculares lisas, a remodelagem vascular, o recrutamento e adesividade de células inflamatórias (73).

C - Glicocálice

A superfície das células endoteliais está coberta por uma camada densa de hidratos de carbono (proteoglicanos, glucosaminoglicanos e glicoproteínas ligadas directa ou indirectamente ao endotélio) conhecida por glicocálice que tem uma dimensão na ordem dos 500 nm. O glicocálice representa a interface entre o sangue e a parede vascular. A sua observação faz-se através de técnicas de microscopia electrónica ou de imuno fluorescência. Em repouso o volume ocupado pelo glicocálice na rede capilar diminui o volume de perfusão capilar em cerca de 40% representando por isso um alvo potencial de regulação da microcirculação coronária.

Esta camada de hidratos de carbono tem características dinâmicas e é responsável pela preservação das células endoteliais em particular e pela rede vascular em geral. A circulação de macromoléculas e de glóbulos vermelhos faz-se afastada da parede do vaso, por interacção do glicocálice.

Durante a isquémia e a reperfusão estão descritas alterações ultra estruturais do glicocálice com diminuição da sua espessura e descontinuidade (94 - 96). Na reperfusão o aumento de concentrações de oxigénio gera radicais de oxigénio com lesão do glicocálice (98). Durante a cardioplegia a infusão de agentes cristalóides ou de sangue é também acompanhada por alterações do glicocálice. A presença de hialuridase, que pode ser formada por agentes patológicos, altera a estrutura do glicocálice facilitando o aumento de permeabilidade vascular (97, 137).

Bruegger descreve que o péptido natriurético auricular provoca desagregação dos elementos do glicocálice, com rápida degradação desta estrutura, condicionando aumento de permeabilidade vascular (99). Observa-se diminuição da espessura do glicocálice após injeção de LDL oxidadas e na hipercolesterolemia crónica. Sempre que se observam alterações estruturais do glicocálice, que podem ser independentes de alterações do endotélio, observa-se diminuição da velocidade do fluxo na microcirculação.

Avanços futuros na investigação do glicocálice poderão responder a questões relacionadas com a regulação da adesividade de elementos figurados à parede vascular, a menor da concentração de glóbulos vermelhos na microcirculação e às alterações bruscas da permeabilidade vascular que se observam na sepsis assim como outras questões relacionadas com a fisiopatologia da microcirculação (100).

D - Conceito de Disfunção Endotelial

O termo disfunção endotelial foi utilizado pela primeira vez para descrever o aumento de adesividade das plaquetas ao endotélio (101). Posteriormente foi descrita a vasoconstrição paradoxal das artérias coronárias induzida pela acetilcolina em fases precoces e avançadas de doença aterosclerótica coronária (104) sugerindo a existência de um defeito de resposta vascular da célula endotelial relacionada com uma deficiente produção e ou libertação de NO (102).

O principal estímulo fisiológico para a síntese de NO pela célula endotelial é a pressão do fluxo na parede do vaso “*shear stress*” que condiciona um processo designado “vasodilatação dependente do endotélio”. Acetilcolina, histamina, trombina, serotonina, difosfato de adenosina (ADP), bradicinina e noradrenalina são substâncias agonistas que estimulam a síntese e libertação de NO pela célula endotelial. Promovem a vasodilatação se o endotélio estiver intacto, e a vasoconstrição se o endotélio estiver disfuncionante ou tiver sido removido.

Foi identificado um antigénio específico para a célula endotelial que se liga preferencialmente aos monócitos e foi comprovada a semelhança entre esta molécula designada VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*) e a proteína induzida pela citoquina (103). A VCAM-1 localiza-se entre a placa aterosclerótica e a média. Este dado foi fundamental para relacionar a disfunção endotelial com o processo inflamatório subjacente. Existe uma relação entre a adesividade endotelial dos leucócitos e a aterosclerose.

Considerando que o endotélio é um tecido multifuncional e distribuído por todos os órgãos e sistemas, a disfunção endotelial não está limitada ao coração nem ao espectro da aterosclerose. Todos os órgãos podem ser sujeitos a processos fisiopatológicos caracterizados por diferentes graus de disfunção endotelial.

O actual conceito de disfunção endotelial inclui todas as situações em que a célula endotelial, activada ou não, esteja numa relação de desequilíbrio com o hospedeiro; são exemplos a hipertensão pulmonar, a angiogénese patológica, a sepsis, a púrpura trombocitopénica trombótica, a doença hepática veno-oclusiva, e a doença das células falciformes.

A resposta do endotélio a uma agressão tem um componente local e um componente sistémico. A nível local o objectivo é eliminar a noxa, e tecidos necróticos; o endotélio responde com fenómenos de adesividade, quimiotactismo, migração de células, induzindo a formação de trombina e fibrina, modificando o tónus vasomotor, aumentando a permeabilidade vascular, e programando a morte celular, que são aspectos comuns ao processo inflamatório e de reparação (105, 106).

Existe uma compartimentação funcional da resposta do endotélio, limitando a resposta ao local da agressão e respondendo de forma diferente em áreas mais afastadas. Esta acção permite diminuir o prejuízo colateral, preservando a integridade e capacidade de resposta do endotélio não envolvido. Em certas situações quando o endotélio é envolvido de forma global, o resultado traduz-se por uma resposta inflamatória e protrombótica generalizada conhecida por sepsis.

E - Diagnóstico de Disfunção Endotelial

Uma das razões da ausência de conhecimento do endotélio está relacionada com a sua localização, longe da vista humana, é um órgão “escondido” e pouco acessível.

O resultado de um teste hematológico tem baixa sensibilidade porque representa o que se passa em várias redes vasculares, não sendo sensível para detectar disfunções localizadas.

A utilização de cateteres para recolha de amostras locais poderá representar um avanço no diagnóstico. É o exemplo do que se passa na cardiologia onde é possível estudar farmacologicamente a vaso-reactividade da microcirculação coronária, determinar velocidades de fluxos e pressões intracoronárias (102). No futuro, a ciência proteinómica possibilitará monitorizar simultaneamente dezenas de marcadores biológicos.

Técnicas de imagem como o Doppler, ressonância magnética, angiografia, tomografia axial computadorizada que estão disponíveis para avaliação de diversos tipos de patologias, poderão estar brevemente disponíveis para fornecer informação sobre a disfunção endotelial. As técnicas de imagem molecular prometem revolucionar o diagnóstico das doenças endoteliais (106, 107).

2.4 Relação entre Fluxo e Perfusão

Os termos fluxo e perfusão são muitas vezes utilizados indiscriminadamente, tendo contudo significados diferentes. A designação *fluxo* aplica-se a um determinado volume de sangue a uma determinada velocidade. Ao fluxo de sangue por grama de massa designa-se *perfusão*.

Perfusão de um determinado território representa a relação entre volume de sangue a uma determinada velocidade que irriga uma determinada massa desse território.

$$\begin{aligned} \text{Fluxo coronário} &= \text{Volume de sangue} / \text{velocidade} \\ \text{Perfusão} &= \text{Fluxo} / \text{massa de tecido} = \text{Volume de sangue} \times \text{massa} / \text{velocidade}. \end{aligned}$$

A velocidade do sangue no miocárdio em repouso é cerca de 1 mm por segundo (1mm/s). A perfusão do miocárdio em repouso é de cerca de 1 mm por segundo e por grama (1mm/s/g)

Um aspecto interessante de análise do conceito de perfusão é o que se baseia na definição de perfusão como sendo o fluxo de sangue a nível dos capilares. Em repouso cerca de 8% da massa do ventrículo esquerdo é sangue e representa a fracção de volume de sangue do miocárdio. Cerca de 90% deste volume existe na circulação capilar. Uma vez que em situações normais não existem ligações arteriovenosas na circulação coronária, todo o sangue que entra nas artérias de condutância deverá atravessar a rede capilar. Em situações de normalidade, o fluxo medido a qualquer nível da rede coronária terá sempre o mesmo valor e traduzirá a perfusão tecidular.

Contudo em certas situações como por exemplo no caso de uma estenose severa numa artéria coronária epicárdica, o fluxo medido distalmente à obstrução poderá ser menor que o medido a nível capilar se houver circulação colateral compensatória. Em repouso a perfusão do território poderá ser mantida através de fluxo que chega pela circulação colateral. Nessa situação observa-se um aumento de fluxo coronário no vaso epicárdico do qual provêm os vasos colaterais, fluxo que tem dois destinos, o de irrigar o território da responsabilidade desse vaso e o de suprir as necessidades de um território vizinho.

Vasodilatação e Hiperémia

Existe um gradiente de pressão entre a aorta e os capilares de cerca de 60 mmHg, uma vez que a pressão arterial média aórtica é de 90 mmHg e a pressão hidrostática a nível capilar é de 30 mmHg. A progressiva diminuição da pressão intravascular é da responsabilidade da regulação da vasomotricidade que está principalmente dependente da vasodilatação dos vasos de resistência que possuem fibras musculares lisas (1).

Em situações de hiperémia os vasos dilatam sendo as arteríolas as que mais contribuem para esta acção, com conseqüente diminuição da resistência coronária e aumento do fluxo coronário. Como os capilares não têm possibilidade de alterar o seu diâmetro, a fracção do volume de sangue miocárdico não é afectada pela vasodilatação. Assim, passam a ser os capilares, as estruturas vasculares que oferecem maior resistência ao fluxo coronário (108). Como os capilares estão dispostos em paralelo, a resistência total está inversamente relacionada com o número de capilares. Numa situação em que não se verifique necrose, haverá maior número de capilares e a resistência ao fluxo coronário será maior do que noutras situações em que se verifique lesão de uma área de tecido com disfunção da microcirculação e menor número de capilares e em que a resistência ao fluxo coronário será menor (109).

Nos síndromes coronárias agudas (SCA) após revascularização e desde que a estenose residual seja pequena (< 40 a 50%) observa-se maior hiperémia quando a necrose é menor. Se a área de necrose for superior a 50% da área de perfusão observa-se depois da reperfusão uma diminuição do fluxo coronário que será proporcional ao grau de necrose.

Técnicas como a angiografia coronária e a ressonância magnética têm tentado obter informação da perfusão após revascularização nos SCA. Contudo a informação que de facto se obtém está relacionada não com a perfusão mas com o grau de necrose e disfunção da microcirculação coronária. Essa informação é traduzida pela dimensão e tempo de duração do “*blush*” na angiografia ou pelo aumento tardio (realce tardio) de intensidade do contraste na ressonância magnética (113-116). Os agentes de contraste passam para o espaço extravascular por razões relacionadas com o aumento de permeabilidade. O tempo de permanência do contraste está relacionado com o grau de lesão da microcirculação e com o edema intersticial (117).

Reserva Coronária

A reserva coronária (RC) é um parâmetro funcional da circulação coronária e em particular da microcirculação. Representa a razão entre valores de fluxo da microcirculação coronária medidos após vasodilatação máxima e em repouso.

A reserva coronária não tem uma distribuição homogénea através da parede do músculo cardíaco. Esta heterogeneidade transmural é o resultado da própria diferença de fluxo transmural coronário em repouso versus vasodilatação e das características das diferentes regiões epicárdica, mesocárdica e endocárdica tanto do ponto de vista anatómico, morfológico como funcional (110 - 112). Durante o exercício existe aumento da frequência cardíaca, da pressão arterial e das forças compressivas extravasculares que comprimem os vasos situados na região endocárdica, favorecendo o fluxo para as outras regiões. A reserva coronária é significativamente menor na

região sub-endocárdica, o que se traduz numa precoce exaustão da reserva coronária nessa zona em comparação com as zonas meso-epicárdicas.

Os valores limite de pressão de perfusão entre os quais funciona a auto-regulação são diferentes em função da transmuralidade. Para a região sub-endocárdica os limites são de 55 a 60 mmHg e para a região meso-epicárdica são de 30 a 40 mmHg. É possível calcular a diferença de perfusão transmural através do quociente entre o fluxo da região sub-endocárdica e da região epicárdica. Um valor inferior a 0,80, após sobrecarga vasodilatadora, significa isquémia sub-endocárdica.

Em doentes com estenose aórtica e com coronárias epicárdicas angiograficamente normais a reserva coronária da região sub-endocárdica ($1,43 \pm 0,33$) é significativamente menor ($p < 0,01$) que a da região sub-epicárdica ($1,78 \pm 0,35$). No subgrupo de doentes com estenose aórtica severa (área $< 0,8 \text{ cm}^2$) ambas as regiões apresentam valores de reserva coronária inferiores a 2,0 (121).

Outros métodos de estudo de imagem, como a tomografia de emissão de positrões (PET), não permitem discriminar a existência de perfusão transmural pela sua reduzida definição espacial, excepto em doentes com importante hipertrofia do ventrículo esquerdo. A ressonância magnética com gadolínio tem uma resolução espacial superior, permitindo o estudo de alterações da perfusão transmural (115, 441).

A identificação de indivíduos sem patologia cardiovascular apresenta significativas dificuldades metodológicas. Essas dificuldades baseiam-se no facto de à luz dos actuais conhecimentos não bastar excluir indivíduos com patologia coronária, insuficiência cardíaca, diabetes mellitus, hipertensão arterial ou estenose aórtica. Será necessário excluir todos os indivíduos que, sem evidente doença clínica, sejam portadores de factores de risco para doença cardiovascular. São exemplos, todos os estádios do síndrome metabólico, a dislipidemia, hipertrofia ventricular esquerda e o tabagismo. Todas estas situações, em fases precoces da sua evolução, cursam com disfunção da microcirculação.

Existe evidência que, embora com coronárias angiograficamente normais, possam existir alterações morfológicas da parede vascular, caracterizadas por infiltração ateromatosa, a nível de diferentes territórios arteriais (cerebral, coronário, renal e periférico).

A maioria dos estudos invasivos sobre a reserva coronária é efectuada em indivíduos com patologia ou com suspeição de patologia e com diferentes graus de associação de factores de risco para doença cardiovascular. Os valores de RC obtidos em indivíduos electivamente seleccionados, sem patologia ou sem factores de risco para doença cardiovascular, revelaram-se superiores ao limite considerado normal de 3,0 com valores superiores a 5,0. Com base neste raciocínio, será de questionar a interpretação de resultados de cintigrafias como falsos positivos em indivíduos com coronárias angiograficamente normais; em alguns destes casos a ecografia intracoronária revela doença aterosclerótica intraparietal.

A reserva coronária é maior em indivíduos mais jovens, parecendo que os mais velhos apresentam valores maiores de fluxo coronário em repouso com valores semelhantes do fluxo coronário máximo. A partir dos 70 anos o fluxo coronário máximo diminui.

Relação entre Fluxo e Função Celular

A viabilidade celular e o seu normal funcionamento estão dependentes duma adequada perfusão. O conceito de perfusão está directamente ligado ao fluxo em função do tempo. Uma adequada perfusão depende de mecanismos de regulação muito perfeitos para manter uma normal homeostase ou seja um adequado aporte de nutrientes, permitir a troca de gases e manter o equilíbrio hidroelectrolítico. Esta homeostase deverá funcionar e adaptar-se de forma rápida às variações fisiológicas.

No coração existe uma relação directa e positiva entre as variações de consumo de oxigénio e o fluxo coronário miocárdico. Os miocitos estão quase totalmente dependentes do metabolismo aeróbico e mesmo em repouso a extracção de oxigénio é quase máxima. Para responder a aumentos de necessidade de oxigénio o coração está dependente da capacidade em aumentar o fluxo coronário miocárdico. Tal como no coração, no rim existe uma dependência directa entre a manutenção do equilíbrio hidroelectrolítico e fluxo renal. Através de mecanismos de auto-regulação, o coração, o rim e o cérebro conseguem manter valores constantes de fluxo de sangue basal, apesar das variações da pressão de perfusão.

A definição de perfusão não está unicamente dependente de um fluxo adequado. Os termos “perfusão” e “fluxo” têm sido frequentemente utilizados com o mesmo significado; contudo é importante referir que a circulação coronária (macro e microcirculação) além da condução do sangue tem um papel na regulação da resistência vascular e na definição da área de trocas metabólicas (123).

A - Fluxo Regional

A avaliação da maioria das doenças vasculares baseia-se na definição das alterações do fluxo regional. Técnicas como o cintigrafia de emissão de fótons (SPECT), a tomografia computadorizada de alta velocidade (TAC), a ressonância magnética (RM) e o PET têm sido utilizadas para avaliar o fluxo de sangue tecidual (122). Apesar da sua capacidade de informação, estas técnicas apresentam limitações inerentes ao método, pois ou não estão geralmente acessíveis, ou obrigam à exposição de radiações ionizantes ou a marcadores isotópicos, ou não são portáteis, tendo custos económicos elevados.

O SPECT por exemplo é muito utilizado para identificar e caracterizar a gravidade da doença coronária. A maior limitação da técnica reside no facto de só poder caracterizar diferenças relativas do fluxo regional. Na presença de doença coronária balanceada de três vasos é possível que subestime a gravidade da doença. O SPECT tem fraco poder de resolução temporal e espacial e o marcador isotópico é parcialmente captado pelo miocito (124, 125)

B - Regulação do Fluxo Regional

Na definição de fluxo sanguíneo está implícita a relação entre volume e tempo. Existe uma relação entre fluxo, perfusão, pressão e resistência. O fluxo sanguíneo é determinado pelo gradiente de pressão entre dois pontos e pela resistência activa e passiva.

No coração o gradiente de pressão que determina o fluxo coronário é o resultado da diferença entre a pressão da artéria aorta e da pressão venosa (pressão média da aurícula direita) e é

designado pressão de perfusão. As resistências podem ser activas ou passivas. As resistências activas estão directamente relacionadas com as características intrínsecas dos vasos e as resistências passivas são causadas por outros elementos como o miocárdio.

O volume de sangue de perfusão, corrigido para a massa de músculo cardíaco e em função do tempo depende da pressão de perfusão e das resistências (112).

A relação entre fluxo, perfusão, pressão e resistência é complexo e é definida pela equação de *Poiseuille*. O fluxo está directamente relacionado com o gradiente de pressão, com a quarta potência do raio do vaso e inversamente relacionado com oito vezes o produto da distância e com a viscosidade do sangue. Embora simples, a equação não tem aplicação directa no sistema circulatório. O fluxo circulatório é pulsátil e nem sempre tem características laminares; os vasos não são rectos nem rígidos; a viscosidade do sangue é variável e depende do hematócrito, da temperatura, da concentração das proteínas séricas; o sistema circulatório é um sistema em paralelo aumentando significativamente ao valor da resistência total; a resistência não é homogénea, podendo ser diferente de região para região dependendo de processo de auto-regulação e de recrutamento de capilares.

C - Perfusão Transmural

Em repouso a distribuição do fluxo miocárdico é relativamente homogénea. Contudo esta distribuição revela-se mais heterogénea quando existem alterações da pressão de perfusão coronária. A redução da pressão de perfusão afecta particularmente o fluxo na região endocárdica, poupando relativamente as regiões meso e epicárdicas. Em consequência deste facto o endocárdio sofre uma isquémia relativa, traduzida por alterações da cinética segmentar do ventrículo esquerdo, uma vez que é o endocárdio o elemento com maior responsabilidade na génese do espessamento sistólico do músculo cardíaco. Este conceito de menor reserva de fluxo miocárdico da região endocárdica em relação à região meso-epicárdica é a base de raciocínio pelo qual será possível a identificação e diagnóstico de isquémia do miocárdio através da avaliação da distribuição transmural da perfusão (118 - 120).

Técnicas como o SPECT não têm capacidade para uma suficiente definição espacial que permita discriminar alterações de perfusão transmural.

Qualquer alteração do fluxo regional miocárdico depende de alterações da respectiva microcirculação. Apesar da resistência da circulação coronária se distribuir ao longo da árvore coronária, as modificações de volumes de sangue circulatório passam-se principalmente na microcirculação coronária e em vasos com diâmetros inferiores a 100 μm . A rede capilar também pode contribuir para esta variação de volume através do recrutamento de capilares. As alterações de perfusão são consequência das variações do volume da microcirculação. Um aumento de fluxo não se traduz directamente por um aumento de perfusão, se não aumentar o volume de microcirculação para permitir uma maior área de trocas com os tecidos e maior extracção de oxigénio. O aumento de fluxo determina menor tempo de trânsito, com menor tempo de permanência de glóbulos vermelhos na microcirculação. O volume de sangue reflecte de forma mais correcta o conceito de perfusão do que o fluxo ou a sua velocidade (127 - 129).

D - Viscosidade

A resistência (R) ao fluxo é definida por uma equação que na sua forma simplificada relaciona parâmetros como o comprimento do vaso (l), o raio (r) do lúmen e a viscosidade do sangue (η).

$$R = \frac{8 \eta l}{\pi r^4}$$

Em vasos com maiores diâmetros a viscosidade não é relevante, contudo a nível da rede capilar, com diâmetros entre 4 e 6 μm , a viscosidade tem um papel importante na determinação da resistência ao fluxo.

Dos elementos celulares presentes no sangue, são os glóbulos vermelhos os que mais condicionam a viscosidade. Os glóbulos vermelhos são maiores que os capilares e é importante que mantenham características de deformabilidade normais. Nas mesmas condições de trabalho cardíaco a elevação do hematócrito condicionará aumento da viscosidade e diminuição da reserva coronária. A deformabilidade normal dos glóbulos vermelhos depende de vários factores, entre eles da carga eléctrica da membrana. Esta característica está dependente da integridade do glicocálice, que é uma estrutura glicoproteica que faz parte da membrana celular dos glóbulos vermelhos e do endotélio. Os glóbulos vermelhos têm uma carga eléctrica negativa que os repele de outros glóbulos vermelhos e da parede do vaso, impedindo a sua agregação e adesividade ao vaso (117, 126).

A nitroglicerina aumenta o potencial de cargas negativas da membrana dos glóbulos vermelhos diminuindo a viscosidade do sangue e permitindo um aumento da reserva coronária (130).

Na diabetes mellitus, o endotélio apresenta alterações da sua estrutura e da carga eléctrica, explicadas pela deposição de produtos de glicosilação das proteínas, condicionando disfunção da microcirculação (131, 132). O leucócito que tem um diâmetro muito superior ao dos glóbulos vermelhos demora mais tempo a atravessar a microcirculação. Quando se verifique um aumento significativo de leucócitos, como em estados inflamatórios agudos ou crónicos, observa-se uma diminuição da reserva coronária. São exemplos, situações como as miocardites, a diabetes mellitus e a sepsis (83, 90, 105).

2.5 Microcirculação Coronária e Controlo da Perfusão

O coração é um órgão de metabolismo aeróbico pelo que está dependente do aporte de oxigénio através da circulação coronária.

No sentido de manter as condições homeostáticas necessárias, a circulação coronária está sujeita a uma “fina” e “constante” regulação do fluxo coronário. O fluxo de sangue que chega aos miócitos depende da relação entre a pressão de perfusão inicial a nível da aorta e das resistências ao longo da árvore coronária. O sistema arterial é responsável por cerca de 75% da resistência vascular coronária total; enquanto as artérias de condutância não oferecem resistência significativa ao fluxo coronário, 25 a 50% da resistência total é da responsabilidade das pré-arteríolas, e cerca de 40 a 50% da resistência total é da responsabilidade das arteríolas e capilares. Os mecanismos de controlo do fluxo coronário baseiam-se na integração de uma série de factores mecânicos, metabólicos, nervosos e humorais (136).

As forças mecânicas são representadas pela compressão extrínseca vascular e pela pressão do fluxo na parede dos vasos. A pressão parietal e a pressão pulsátil desencadeiam respostas miogénicas independentes do endotélio. A pressão longitudinal “*shear stress*” é um estímulo para a formação e libertação, a partir do endotélio, de alguns dos factores já referidos e está dependente do endotélio.

A adenosina, o óxido nítrico, a pressão de CO₂ e de O₂, a noradrenalina, a acetilcolina, a endotelina 1, a angiotensina II, o EDRF, o EDHF, os radicais de oxigénio, o EDCF são factores que, como foi previamente referido, actuam a vários níveis da árvore coronária promovendo a regulação da vasomotricidade. Os mecanismos de regulação dependentes dos estímulos de pressão e de fluxo determinam o tónus microvascular em sinergia ou em antagonismo com a heterogeneidade do diâmetro dos vasos (133). Como resposta à necessidade de maior fluxo para a microcirculação, a adenosina libertada pelo endotélio promove vasodilatação das pequenas arteríolas (134, 135).

Como consequência da vasodilatação das pequenas arteríolas observa-se nos vasos de maior calibre (grandes arteríolas), situados a montante, um aumento do fluxo e diminuição de pressão. Este aumento de fluxo estimula através do “*shear stress*” uma vasodilatação das grandes arteríolas e conseqüente aumento do fluxo. Existe um mecanismo de estímulo-resposta que integra os mecanismos de controlo referidos, de forma hierárquica e específica para cada compartimento e tipo de vaso com o objectivo de manter as condições óptimas de fluxo na rede capilar. Ao longo do seu trajecto, as arteríolas apresentam diferentes mecanismos de controlo, que entram em acção de forma coordenada, a partir das mais pequenas para as maiores (50, 51).

Nas arteríolas com diâmetros inferiores a 30 µm predomina o controlo metabólico, nas arteríolas com diâmetros entre 30 e 60 µm predomina o controlo miogénico e nas arteríolas com diâmetros entre 100 e 150 µm predomina o controlo dependente do fluxo (52).

Papel dos Capilares no Controlo da Resistência Coronária

Ao contrário do que se pensava ainda não há muito tempo, os capilares têm um papel fundamental no controlo da circulação coronária e na preservação da homeostase.

Como foi previamente referido, para variações de pressão de perfusão entre 50 e 120 mmHg o fluxo coronário a nível da microcirculação coronária mantêm-se constante por responsabilidade do sistema de auto-regulação. Podem existir situações em que a pressão de perfusão aumente ou diminua para valores situados fora do intervalo da responsabilidade do mecanismo de auto-regulação. Para valores de pressão de perfusão inferiores a 50 mmHg, estando as arteríolas na sua máxima vasodilatação, é a rede capilar que passa a ter a responsabilidade de regular o fluxo coronário. Nesta situação a diminuição do fluxo coronário desencadeia um aumento da resistência coronária como resposta à baixa pressão de perfusão e o aumento da resistência coronária será efectuado à custa de exclusão funcional de unidades capilares.

Técnicas que permitem a medição de volumes de sangue miocárdico (90% deste volume representa volume capilar), através de marcadores isotópicos ou outros, revelam que existe diminuição de volume de sangue miocárdico.

Para valores de pressão de perfusão superiores a 120 mmHg as arteríolas encontram-se com a sua capacidade de vasoconstrição esgotada não sendo capazes de impedir que maiores pressões se

transmitam à rede capilar; se tal acontecesse a pressão hidrostática capilar aumentaria, desequilibrando a homeostase, condicionando edema intersticial e alteração de transporte de iões com consequências para o miocito. O aumento da pressão de perfusão leva a um aumento do fluxo coronário e da sua velocidade. Aparentemente, seria lógico que aumentasse o volume de sangue miocárdico, mas este mantém-se igual ou inclusive diminui. Esta diminuição do volume de sangue miocárdico parece ser explicável por se criarem “*shunts*” que transportam o sangue para o sistema venoso.

É assim implícito que o primeiro objectivo da microcirculação coronária consiste na manutenção de condições normais de pressão capilar hidrostática em prejuízo inclusive do aporte de oxigénio ao miocito. Para pressões de perfusão inferiores a 50 mmHg a rede capilar responde, aumentando a resistência à custa de exclusão de unidades funcionais capilares, com diminuição do volume de sangue miocárdico e com eventual prejuízo para os miocitos. A diminuição do volume de sangue miocárdico por “*shunting*” para o sistema venoso, em situações de aumento da pressão de perfusão superiores a 120 mmHg, tem como consequência uma diminuição do aporte de O₂ para o miocárdio (24, 129).

Este raciocínio é o fundamento do conceito de miocárdio hibernante. Da diminuição de aporte de oxigénio ao músculo cardíaco resulta uma diminuição da sua função, com menor contractilidade. O miocito poupa na função para se manter viável. Este complexo mecanismo de controlo do fluxo coronário é mais bem compreendido e integrado quando se analisam situações fisiológicas e fisiopatológicas.

Exercício

Durante os diferentes graus de exercício o progressivo aumento de oxigénio só poderá ser satisfeito pelo aumento do fluxo coronário. São irrelevantes as reservas de oxigénio que se encontra dissolvido nos tecidos e o oxigénio ligado à mioglobina. O fluxo coronário pode aumentar cerca de cinco vezes em situação de exercício máximo.

Embora a adenosina e os canais de K⁺-ATP dependentes, tenham um papel importante na manutenção do tónus vasomotor em basal, não contribuem significativamente para a adaptação vasomotora durante o exercício. Nesta situação observa-se um aumento da pressão de pulso que se traduz por maior estiramento das células musculares lisas dos vasos e por maior fluxo, com consequente estímulo do endotélio para a formação e libertação de substâncias vasoactivas.

O controlo adrenérgico através dos receptores β é responsável por cerca de 25% da vasodilatação durante o exercício. Esta vasodilatação resulta da acção directa da noradrenalina nas células musculares lisas das pequenas arteríolas. A acção da noradrenalina nos receptores α traduz-se por vasoconstrição o que impede o sangue de refluir a montante na árvore coronária, aumentando o aporte de sangue a regiões endocárdicas e sub-endocárdicas onde o limiar de isquémia é mais baixo.

O controlo metabólico e o controlo dependente do endotélio deverão ser responsáveis pelos restantes 75% da vasodilatação durante o exercício. A inibição da síntese de NO traduz-se por menor vasodilatação coronária durante o exercício (28, 30, 32, 138-145).

Isquémia Miocárdica

A adenosina tem um papel relevante no controlo da vasodilatação em situações de isquémia do miocárdio provocada pelo exercício (145) desde que o mediador seja o canal de K⁺ATP. Embora não seja atribuído ao NO um papel vaso regulador metabólico em basal, a sua acção vasodilatadora nos vasos de condutância tem o objectivo de impedir um aumento de fluxo coronário como resposta à vasodilatação da microcirculação coronária.

Durante a isquémia do miocárdio são desencadeados mecanismos com o objectivo de manter níveis de fluxo coronário normais. A nível celular observam-se dois mecanismos que promovem vasodilatação: a hidrólise de ATP com formação directa de adenosina e a activação dos canais de K⁺ATP.

Embora sejam muito diversos os aspectos morfológicos da repercussão da doença coronária na parede da artéria, a imagem da placa de ateroma mantém-se como referência. Esta placa de ateroma de geometria variável pode, a partir de determinada dimensão, provocar um grau de obstrução que condiciona o fluxo coronário para o miocárdio. A nível do endotélio na área da placa ateromatosa existe produção e libertação de substâncias vasoconstritoras, em particular a ET-1 e EDCF.

Desde os trabalhos de Gould (136) que se sabe que o fluxo em repouso não diminui até valores de obstrução do lúmen do vaso de cerca de 75 a 80%. Este facto deve-se à capacidade de auto-regulação da microcirculação coronária com produção e libertação de substâncias vasodilatadoras como a adenosina, o NO, PGI₂ e EDHF. Para valores de obstrução superiores a 80% o gradiente de pressão através da estenose desencadeia diminuição do fluxo coronário em repouso, por exaustão do mecanismo de auto-regulação. Para maiores graus de obstrução, a pressão a jusante será menor. Em compensação e estando o mecanismo de auto-regulação esgotado, será necessário excluir funcionalmente capilares para manter uma pressão capilar normal. A exclusão de capilares repercute-se a nível dos respectivos miócitos com consequências metabólicas como a diminuição da produção de energia, e mecânicas como a diminuição da contractilidade e aumento da pressão tele-diastólica do ventrículo esquerdo.

Como a perfusão da parede do ventrículo não é homogénea, a área endocárdica é a primeira região a sofrer isquémia que avançará em direcção às regiões meso-epicárdicas em função da gravidade e duração da isquémia. Como compensação e para que seja mantida uma pressão capilar normal, não tendo ao seu dispor mais capacidade de auto-regulação, será necessário a exclusão funcional de capilares. Esta exclusão repercute-se a nível dos respectivos miócitos com consequências metabólicas como a diminuição da produção de energia, e consequências mecânicas como a diminuição da contractilidade e aumento da pressão tele-diastólica do ventrículo esquerdo.

Regulação da Circulação Colateral na Isquémia do Miocárdio

À medida que se vão estabelecendo maiores graus de obstrução dos vasos de condutância, os vasos colaterais vão apresentando um desenvolvimento progressivo que lhes irá permitir manter níveis de perfusão normais para o miocárdio em risco. Quando estes vasos atingem um desenvolvimento mais avançado passam a ter a capacidade de manter uma perfusão normal em repouso embora com pressões de perfusão mais baixas.

O estudo da fisiopatologia das artérias colaterais tem vindo a ter um interesse crescente. É reconhecido o seu papel na manutenção da perfusão miocárdica em situações de compromisso relativo ou absoluto do fluxo nas artérias de condutância. Este interesse justifica-se pela

possibilidade de conhecer melhor a fisiopatologia deste tipo de vasos e poder eventualmente controlar e otimizar o fluxo por eles fornecido assim como estimular o seu desenvolvimento e a sua génese em áreas de risco ou de ausência de circulação colateral. Em termos de controlo vasomotor os vasos colaterais apresentam uma normal vasodilatação dependente do endotélio. A resposta de vasodilatação em resposta ao NO é normal (147), possuem receptores β adrenérgicos mediadores de vasodilatação (148) e não possuem receptores α adrenérgicos mediadores de vasoconstrição (146).

Durante o exercício e sob a acção de β bloqueantes observa-se vasoconstrição com diminuição do fluxo através dos vasos colaterais. A inibição da NO sintetase (149) e a acção do factor activador das plaquetas (150) também são responsáveis por vasoconstrição das colaterais. A sensibilidade destes vasos para a vasopressina é significativamente maior comparada com a de outras artérias (151 - 152).

Observou-se em modelos “in vitro” que as arteríolas alimentadas por colaterais apresentavam alterações da reactividade vascular caracterizadas por compromisso da vasodilatação dependente do endotélio e exagero de resposta vasoconstritora em resposta à vasopressina (153). Não sendo conhecidas as razões desta disfunção foram sugeridas explicações baseadas na provável “*down regulation*” da eNOS por excesso de produção e libertação local de NO em situações de isquémia (154) ou por alterações hemodinâmicas relacionadas com as características do fluxo, mediadas pelas colaterais (155) como a diminuição da pressão parietal ou da pulsatilidade e pelo aumento da expressão de sulfato de heparano como o syndecan-4 que podem afectar a vaso reactividade (156, 157).

A função da microcirculação coronária e o desenvolvimento de circulação colateral podem ser moduladas pela acção de factores de crescimento vascular (FGF-1 e FGF-2) ou por factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) aplicados localmente nas regiões perivasculares ou em infusão. A acção destes factores em modelos de isquémia crónica foi traduzida por melhoria da perfusão e da função miocárdica e da vasodilatação dependente do endotélio na microcirculação coronária dependente das colaterais (158, 159).

Parece existir uma “*up regulation*” do factor FGF-2 e do VEGF em situações de isquémia crónica do miocárdio com aumento de libertação de NO e consequente vasodilatação e diminuição da isquémia (160).

Hipertensão Arterial

Tem sido crescente a evidência de que as alterações morfológicas e funcionais da microcirculação coronária que se observam nos doentes com hipertensão arterial interferem com a perfusão do miocárdio. Observam-se na hipertensão arterial alterações morfológicas da microcirculação coronária caracterizadas por fibrose peri-vascular, espessamento da média, diminuição do número de capilares por grama de tecido e diminuição do lúmen vascular (161, 162).

Não se sabe se a hipertensão arterial é a causa destas alterações ou se estas alterações são consequência da hipertensão arterial, traduzindo respostas de adaptação no sentido de proteger a microcirculação coronária e em particular a rede capilar de aumentos de pressão.

De qualquer forma, as alterações estruturais causam importantes alterações funcionais como a diminuição da capacidade vasodilatadora. A disfunção endotelial que se observa na hipertensão arterial pode parcialmente explicar a diminuição da reserva coronária observada nestes doentes (163). A reserva coronária está diminuída na presença ou ausência de hipertrofia ventricular esquerda. Na hipertrofia ventricular esquerda hipertensiva a relação “Pressão-Fluxo” está alterada (144), a auto-regulação está comprometida e a hiperemia reactiva está diminuída (164), podendo ainda em algumas situações haver reversibilidade. Em modelos experimentais de cão hipertenso observa-se que nos corações com hipertrofia é maior a resistência transmural da microcirculação endocárdica (165) independente das forças extrínsecas.

Em indivíduos hipertensos a resistência medida nos vasos com diâmetros inferiores a 150 μm é cerca do dobro da calculada em indivíduos normais. Nos vasos com diâmetros superiores a 150 μm não existe diferença significativa dos valores de resistência. Este facto sugere que no grupo hipertenso as alterações vasculares têm sede na microcirculação. Também foi observado um aumento da resposta miogénica pelas arteríolas neste grupo de doentes (23). A vasodilatação dependente do endotélio está comprometida (166). Após injeção intra-arterial de acetilcolina em doentes com hipertensão arterial a resposta vasodilatadora está diminuída, enquanto a resposta à administração de nitratos se mantém normal.

Trabalhos de Houghton sugerem que o grau de disfunção endotelial está relacionado com a evolução da doença hipertensiva (168). O referido trabalho demonstra que inicialmente existe disfunção endotelial nas artérias de condutância e à medida que se observa maior hipertrofia ventricular esquerda se observa progressiva disfunção endotelial na microcirculação coronária. Vários trabalhos têm provado o papel dos radicais de oxigénio na disfunção da microcirculação coronária na hipertensão arterial.

Os resultados relativos ao estudo da expressão da eNOS têm sido controversos. É provável que na hipertensão arterial a degradação do NO pelos radicais de oxigénio tenha um papel importante na génese da disfunção endotelial microvascular (167). A hipertensão arterial promove a formação de aniões na microcirculação que atenuam a resposta vasodilatadora dependente e independente do endotélio. A neutralização dos radicais de O₂ normaliza a função microvascular (71). A diminuição de disponibilidade do NO na microcirculação parece ser compensada parcialmente pelo EDHF. Foi descrito que na microcirculação dos ratos Dahl a vasodilatação induzida pela acetilcolina persistia, mediada pelo complexo do citocromo P₄₅₀.

A hipertensão arterial pode ser acompanhada por estímulo do SNS ou por alterações da sensibilidade dos receptores adrenérgicos com conseqüente interferência na regulação da microcirculação (172). Na hipertensão arterial também se observa aumento da vaso-reatividade para substâncias vasoconstritoras (173, 174).

Diabetes

A prevalência e incidência de doença coronária aterosclerótica e de conseqüente morte súbita na população de diabéticos são maiores do que na população em geral (175). A reserva coronária e a vasodilatação provocada pela estimulação por *pace* estão diminuídas na diabetes mellitus mesmo sem evidência de doença coronária (169 - 171). Apesar de se saber que existem estas alterações não é possível determinar com certeza se existe um compromisso suficientemente importante do

controlo do fluxo coronário que altere o equilíbrio entre o fluxo coronário e o consumo de oxigénio pelo miócito durante o exercício.

Na diabetes mellitus estão descritas alterações estruturais da microcirculação coronária que incluem espessamento da parede dos vasos, aneurismas capilares, e diminuição da densidade capilar (176, 177). Estas alterações explicam a diminuição da reserva coronária e o deficiente aumento do fluxo coronário mediado por factores metabólicos em doentes diabéticos sujeitos a aumento de frequência cardíaca por pacing (170, 178).

A vasodilatação da microcirculação coronária, em resposta à diminuição da pressão de perfusão, está comprometida em cães diabéticos ou sujeitos a hiperglicemia agudas (180). Não se conhece o mecanismo fisiopatológico, mas uma vez que a função dos canais de K^+_{ATP} está conservada, terá de haver disfunção do mecanismo entre a sinalização da variação de pressão e a activação dos canais de K^+_{ATP} . O aumento de fluxo coronário induzido pela acetilcolina está atenuado, tanto em modelos experimentais de diabetes (179) como nos doentes diabéticos (169) o que sugere a existência de disfunção da microcirculação coronária. Para explicar a disfunção endotelial foram propostos mecanismos como o aumento de produção de substâncias vasoconstritoras como os prostanoídes TXA2 e PGH2 (182), a acção de radicais de oxigénio (183), e a formação de produtos de glicosilação das proteínas (131).

Insuficiência Cardíaca

Sendo a hipertensão arterial uma das formas de patologia mais comuns nos doentes com insuficiência cardíaca é provável que as alterações da microcirculação coronária tenham algum papel na sua etiopatogenia.

São controversos os resultados sobre a regulação do fluxo coronário na insuficiência cardíaca (IC). Em doentes com cardiopatia dilatada e ou com insuficiência cardíaca congestiva existem trabalhos que referem fluxo coronário normal (181), e outros em que foi observado uma diminuição do fluxo coronário (184). Estes trabalhos sugerem que o mecanismo que regula a circulação coronária está conservado, estando diminuído o consumo de oxigénio (185).

Em doentes com cardiopatia dilatada com angor e com coronárias angiograficamente normais, verifica-se compromisso da vasodilatação em resposta a estímulo metabólico e farmacológico, assim como um aumento de sensibilidade à acção da ergonovina (186).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Introdução

Utilizámos no nosso trabalho técnicas de ultrasonografia, vulgarmente designadas por técnicas ecocardiográficas.

A ecocardiografia tem um papel fundamental no diagnóstico clínico cardiovascular e representa uma das técnicas mais utilizadas na prática clínica diária. Esta importância advém da capacidade desta técnica em obter informação morfológica e funcional do sistema cardiovascular, coração e grandes vasos. São exemplos a possibilidade de identificar estruturas, avaliar áreas e volumes, observar movimentos em tempo real das válvulas e das cavidades, com análise e quantificação da contracção e relaxamento, identificar e caracterizar fluxos transvalvulares, determinar as suas velocidades, calcular gradientes.

O estudo da circulação coronária é um objectivo antigo da ecocardiografia Doppler, quer das coronárias epicárdicas quer da microcirculação coronária.

Com a evolução técnica observada nos últimos dez anos assistiu-se à construção de equipamentos de ultrasons mais sofisticados, ao desenvolvimento de diferentes formas de imagem como as harmónicas, de sondas de maior frequência, de produtos de contraste de administração endovenosa assim como de novas técnicas e software de aquisição e análise de imagem.

Ecocardiografia de Contraste

O sangue produz sinais de eco que normalmente não são visíveis. As frequências utilizadas em diagnóstico são baixas. Os ultrasons produzidos pelos glóbulos vermelhos são 1.000 a 10.000 vezes mais fracos que os produzidos pelos tecidos.

As microbolhas quando são atingidas por ultrasons oscilam na ordem de dois milhões de vezes por segundo emitindo ondas de ultrasons. A ecocardiografia de contraste baseia-se na detecção do sinal acústico emitido por microbolhas presentes no compartimento vascular.

É frequente a utilização endovenosa de solução salina agitada como agente de contraste ultrasónico para o diagnóstico de shunt inter-auricular. Esta é a única indicação para a utilização deste agente de contraste, pois o tamanho das microbolhas e a sua estabilidade impedem-nas de passar a rede capilar pulmonar e de permanecerem activas o tempo suficiente para conseguirem opacificar o ventrículo esquerdo.

Avanços recentes na tecnologia de desenvolvimento de microbolhas conduziram à obtenção de agentes de contraste com possibilidade de opacificar a cavidade ventricular esquerda e de permitir o estudo da sua função. A associação do contraste à ecocardiografia veio melhorar o grau de definição das imagens. A ecocardiografia de contraste passou a ser uma nova área que tem vindo a ser implementada de forma progressiva nos laboratórios de ecocardiografia e nas unidades de cuidados intensivos. Esta técnica permite melhorar a definição do endocárdio, intensificar o sinal Doppler e observar em tempo real o fluxo de sangue cavitário.

Em exames tecnicamente de maior dificuldade por deficiente janela acústica, dificuldade de acesso a janelas acústicas como se verifica em doentes acamados, com dificuldade de mobilização, ou doentes em cuidados intensivos e em pós-operatório, é frequente não ser possível obter imagens e espectros Doppler dos fluxos com suficiente qualidade (187, 188). Em cerca de 5% a 20% dos doentes não é possível obter ecocardiogramas com suficiente qualidade de interpretação. Na ecocardiografia de sobrecarga farmacológica em 35% dos exames a definição do endocárdio não tem suficiente definição (192).

A ecocardiografia de contraste ao aumentar a opacificação da cavidade do ventrículo esquerdo melhora a definição da interface entre a cavidade e o endocárdio. Permite maior rigor nas medições de áreas, volumes e fracção de ejeção, maior sensibilidade no diagnóstico das alterações segmentares da cinética tanto no ecocardiograma transtorácico convencional como durante a ecocardiografia de sobrecarga (189 - 191).

O aumento de intensidade do sinal Doppler é outra das aplicações da ecocardiografia de contraste. A ecocardiografia de contraste permite obter melhor definição do envelope espectral, possibilitando medições mais correctas, menor variabilidade inter-observador e reduzir o tempo de execução dos exames.

Além das aplicações referidas está descrita outra vantagem da ecocardiografia de contraste que consiste na possibilidade de observar o padrão do fluxo de sangue dentro da cavidade do ventrículo esquerdo (193). Um fluxo vertical, homogéneo e direccionado para o ápex está relacionado em 91% dos casos com normal função ventricular esquerda e sem alterações da cinética segmentar. Um fluxo mais heterogéneo com fenómeno de “*swirling*” está relacionado em 99% dos casos com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo e com alterações da cinética em um ou dois segmentos.

Outra aplicação do contraste em ecocardiografia, ainda não aprovada na prática clínica, é o estudo da perfusão do miocárdio. Existem vários ensaios multicêntricos internacionais em fase III a decorrer com objectivo de validar esta técnica e permitir a sua implementação na rotina de um laboratório de ecocardiografia.

Passaremos a rever o fundamento dos agentes de contraste e as características das duas técnicas de imagem que foram utilizadas no estudo da microcirculação coronária, a Ecocardiografia Doppler Transtorácica (EDTT) e a Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio (ECM).

3.2 Agentes de Contraste

As limitações do sistema de imagem bidimensional e de Doppler foram a principal razão que levou à investigação dos agentes de contraste em ultrasonografia. À medida que se pretende visualizar o fluxo do sistema arterial que se divide em geral de forma dicotômica encontram-se vasos de pequeno diâmetro fora do limite de resolução do equipamento, com fluxos mais lentos e com menor volume de sangue e menos reflectores de ultrasons. Desde os trabalhos de Gramiak há cerca de trinta anos (195) que se tem assistido a uma importante evolução na obtenção de produtos de contraste para utilização em diagnóstico imagiológico ecocardiográfico. Após a observação de aumento de sinal ultrasónico com a injeção salina na aorta feita por Gramiak em 1980 (194) produziu microbolhas de nitrogénio e gelatina que contudo pelo seu diâmetro não podiam ser administradas via venosa. Todo o trabalho de investigação para a obtenção da microbolha ideal baseia-se no conhecimento das características dos agentes de contraste em particular das suas propriedades físicas e do comportamento das microbolhas perante um feixe de ultrasons num meio biológico. O aumento de sinal provocado pelas microbolhas quando injectadas na circulação permite a identificação do fluxo de sangue em que essas microbolhas estão inseridas.

A composição, diâmetro e estabilidade das microbolhas são propriedades importantes que definem em última análise a qualidade do agente de contraste.

As oscilações volumétricas num campo acústico reflectem sinais acústicos e mesmo em baixas concentrações as microbolhas são bons reflectores de ultrasons. Os ultrasons reflectidos pelas microbolhas contêm harmónicas. O princípio básico da aplicação das microbolhas como agentes de contraste baseia-se na diferença de impedância entre as microbolhas e os tecidos vizinhos. A maior diferença de impedância observa-se com microbolhas de gás.

O agente de contraste ultrasonográfico ideal terá de satisfazer simultaneamente os seguintes critérios: ser inerte, misturar-se uniformemente com o sangue, permanecer no compartimento intravascular, ser suficientemente estável, apresentar um comportamento idêntico aos glóbulos vermelhos. Para satisfazer estas condições as microbolhas têm de ter volumes pequenos para passar nos capilares, ser encapsuladas e conterem um determinado gás. Esta cápsula é formada por substâncias que lhes permite ser resistentes mas não serem facilmente destruídas além de lhes permitir ter bastante elasticidade para poderem sofrer alterações da sua forma através do fenómeno de compressibilidade e expansibilidade.

Características Físicas das Microbolhas

A - Dimensões

As microbolhas são injectadas na circulação venosa periférica e passam a barreira capilar pulmonar. Para isso ser possível foi preciso desenvolver microbolhas com diâmetros inferiores a 8µm. A passagem das microbolhas pelos capilares tem de ter em conta o espaço ocupado pelo glicocálice e a interferência de cargas eléctricas.

Os primeiros meios de contraste utilizados foram a dextrose sujeita a intensa sonificação e produtos iodados radio-opacos utilizados na angiografia (196, 197).

Estes agentes formavam microbolhas de grandes diâmetros que ficavam presas na microcirculação coronária e interferiam com o fluxo coronário e o cálculo da reserva coronária.

Este problema técnico foi ultrapassado com formação de microbolhas encapsuladas, pois passou a ser possível utilizar microbolhas de menores diâmetros. É o caso do primeiro agente deste tipo, o Alunex com diâmetros de 4 μm (200). Contudo a cápsula da microbolha, constituída por albumina, ao fim de algum tempo permite a difusão dos gases nela contidos, com diminuição do diâmetro da microbolha e perda da capacidade de gerar sinais acústicos suficientemente intensos e durante um período de tempo adequado (201).

B - Estabilidade

A relação entre o tamanho da microbolha, a constituição da cápsula e o tipo de gás nela contido é complexa de se definir e dela depende a característica e comportamento do agente de contraste. Os agentes de contraste são substâncias colóides formadas por uma fase contínua representada pelo meio de emulsão e uma fase descontínua formada pelas microbolhas que devem estar homogeneamente dispersas na fase contínua.

As microbolhas são compressíveis e quando são sujeitas a campos de ultrasons além de os reflectirem, variam o seu volume, pelas suas características de compressibilidade e expansibilidade, o que gera também a emissão de ultrasons. Esta propriedade é explorada quando se executa ecocardiografia de contraste (198, 199).

C - Hemoreologia

As microbolhas são verdadeiros marcadores intravasculares, ao contrário do que acontece com outros produtos de contraste utilizados em técnicas de imagem que se difundem para o espaço extravascular ou são captados pelo miócitos. As microbolhas utilizadas para estudos da microcirculação coronária têm um tamanho e uma reologia semelhante à dos glóbulos vermelhos (202, 203).

A sua distribuição intravascular e a sua velocidade média são idênticas às dos glóbulos vermelhos. A composição da cápsula das microbolhas tem importância na interacção com o endotélio e na sua captação pelo sistema retículo endotelial. Microbolhas com lípidos na sua cápsula e cargas electrostáticas negativas na sua superfície podem ficar presas nos capilares, pela relação que promovem com o endotélio (204).

D - Segurança

Os efeitos biológicos dos ultrasons dividem-se em três áreas: aumento de temperatura dos tecidos por processo de adsorção, alteração da permeabilidade da membrana celular, geração de radicais de oxigénio. Alguns destes aspectos são aproveitados para aplicação dos ultrasons no tratamento de células neoplásicas. No tecido muscular esquelético foram observadas pequenas rupturas de capilares associadas à destruição de microbolhas por ultrasons (204). Este fenómeno não tem repercussão a nível da fibra muscular e estimula a neovascularização (205).

Vários trabalhos têm revelado não existir evidência de lesão endotelial ou dos miócitos durante a utilização de microbolhas. Marcadores de mio-necrose, marcadores de *stress* oxidativo e marcadores inflamatórios revelaram-se negativos após ecocardiografia de contraste do miocárdio (206 - 208).

Apesar da polémica gerada em redor da utilização de SonoVue® no âmbito das síndromes coronárias agudas, muitos centros com experiência na utilização deste contraste ultrasónico nunca referiram qualquer complicação ou efeito secundário grave.

Em doentes com severa disfunção sistólica do ventrículo esquerdo e hipertensão pulmonar foi demonstrado que SonoVue® nas doses máximas de 6 ml não se relacionou com alterações hemodinâmicas, tendo-se revelado seguro e eficaz na opacificação da cavidade ventricular esquerda (208, 209).

Tipos de Microbolhas

O primeiro agente de contraste ultrasónico a ser comercializado em Portugal foi o Levovist®. Posteriormente seguiram-se o Optison® e o SonoVue®. Nos EUA estão autorizados outros agentes de contraste conforme a tabela 3.2.I.

Nome	Indústria	Cápsula	Gás	Diâmetro
◆Albunex®	Molecular Byosistems	Albumina	Ar	4,3 µm
*Levovist®	Schering	Galactose/ palmitato	Ar	2 – 4 µm
*#Optison®	Malilinkrodt Medical	Albumina	Octafluoropropano	3,9 µm
*#SonoVue®	Bracco Imaging	Fosfolípido	Hexafluoreto de enxofre	2,5 µm
#Definity®	Dupont Pharmaceuticals	Fosfolípido	Octafluoropropano	1- 3 µm
#Imagent®	Schering	Surfactante	Perflexano	6,0 µm

Tabela 3.2.I – Características dos agentes de contraste mais utilizados.

*Aprovado em Portugal

#Aprovado nos Estados Unidos da América

◆Actualmente não comercializado

Para a ecocardiografia de contraste do miocárdio é necessário administrar o agente de contraste em infusão com uma seringa infusora. Para qualquer dos agentes de contraste indicados a velocidade a que infundem é variável caso a caso, sendo o objectivo principal obter uma concentração óptima de produto de contraste em circulação.

Levovist

O Levovist® (Schering Lusitana) existe na Europa desde 1996.

É um agente de contraste de primeira geração. A sua estabilidade em circulação é pequena sendo as microbolhas facilmente destruídas pelos ultrasons, encurtando a permanência deste agente de contraste em circulação (210 - 212). O Levovist® é preparado a partir de ampolas de 2,5 g e 4,0 g, diluído em volumes de 10 ou 20 ml de água destilada, para perfazer soluções com concentrações de 200 a 400 ml/dl. Pode ser utilizado em bólus ou em infusão a uma velocidade de 1,0 a 2,0 ml/min (213, 214 -216).

Optison

O Optison® foi primeiro propriedade da Mallinckrodt Medical e posteriormente da GE Healthcare (217-220).

Foi o primeiro agente de contraste da segunda geração a ser introduzido na prática clínica. Tem um peso molecular elevado o que dificulta a sua destruição e permite-lhe aumentar o seu tempo de permanência em circulação. Deve ser conservado refrigerado entre 2 e 8°C. Prepara-se a partir de uma ampola de 3 ml e deve ser utilizado de imediato, com constante agitação da seringa para manter as microbolhas em suspensão. É administrado em bólus de 0,2 a 0,5 ml ou infusão contínua entre 0,1 a 0,5 ml/min.

SonoVue

O SonoVue® (Bracco, foi lançado no mercado em Outubro de 2001. É um agente de contraste ultrassónico de segunda geração, com melhoria significativa de comportamento das microbolhas em relação quer à resistência aos ultrasons quer à elasticidade da sua cápsula que a torna mais ecogénica (221-223).

Estas características permitem-lhe ser utilizado facilmente em tempo real ou de forma destrutiva. É apresentado com um conjunto completo de ampola diluente e produto anidro liofilizado. A suspensão do produto faz-se em 5 ml de cloreto de sódio 0,9% e é administrado em bólus ou em infusão, com agitação permanente da seringa para manter as microbolhas em suspensão. Pode ser utilizado por um período até seis horas após a sua reconstituição. Cada mililitro de suspensão tem cerca de 8 µl de microbolhas. Os bólus podem conter entre 0,5 a 1,0 ml e a infusão faz-se à velocidade de 0,5 a 1,5 ml/min.

Microbolhas e Ultrasons

É fundamental compreender os fenómenos relacionados com a interacção das microbolhas com um feixe de ultrasons. Um campo de ultrasons é formado por um conjunto de ondas concêntricas que se movem (224, 225). Quando estas ondas viajam através dos tecidos, varia a pressão dos fluidos neles incluído. As bolhas de gás que formam os agentes de contraste são muito elásticas e quando sujeitas a variações de pressão sofrem variações do seu volume, diminuindo com o

aumento de pressão e expandindo-se com a sua diminuição. Esta variação de volume designa-se oscilação. Sob uma frequência de 3 MHz (utilizada habitualmente em clínica) uma microbolha oscila cerca de dois milhões de vezes por segundo, transformando-se numa fonte de som que é emitido radialmente.

Ao conjunto de sons que chegam ao transdutor e são constituídos pelos ultrasons emitidos pelas microbolhas designa-se “ultrason reflectido” (226-229).

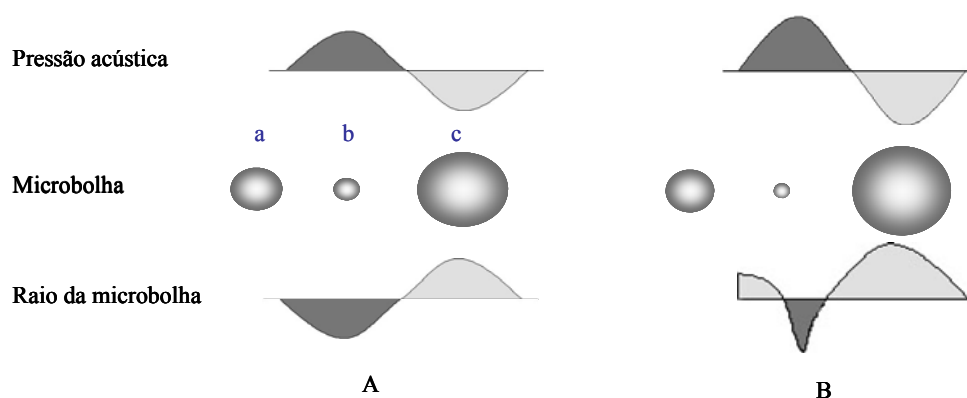


Figura 3.2.1 - Relação entre o volume e raio da microbolha e a pressão acústica. Observa-se a variação da resposta oscilatória das microbolhas sujeitas a diferentes grandezas de pressão acústica: Em A para pressões acústicas com amplitudes baixas observa-se a microbolha passar de um volume normal (a) para um volume menor (b) e para um volume maior (c) respectivamente na fase de pressão positiva e negativa. Em B observa-se para pressões acústicas de maior amplitude de oscilação da microbolha.

A ecocardiografia de contraste baseia-se na possibilidade de identificar os ultrasons reflectidos pelas microbolhas diferenciando-os dos ultrasons emitidos pelos tecidos. É possível obter um aumento significativo do sinal ultrasónico com a injeção I.V. de uma pequena quantidade de microbolhas porque são cerca de 100 milhões de vezes mais reflectoras que os glóbulos vermelhos.

As microbolhas apresentam maior compressibilidade que os tecidos. O comportamento da microbolhas não é igual quando são expostas a diferentes pressões de ultrasons. Os tecidos por sua vez não apresentam o mesmo tipo de comportamento que as microbolhas, para as mesmas pressões de ultrasons. A quantidade de energia ultrasónica emitida pelas sondas de ecocardiografia é traduzida pelo índice mecânico que representa a frequência de transmissão e a potência de transmissão (11, 209). Do equilíbrio entre estes dois parâmetros resulta a maior ou menor destruição da microbolhas quando sujeitas a um campo de ultrasons.

Para pressões baixas, <100 Kpa, que correspondem a índices mecânicos baixos as microbolhas produzem aumento da reflexão dos ultrasons de forma linear traduzido por aumento do sinal ecográfico. A partir de pressões de 100 Kpa as microbolhas passam também a emitir ondas em frequências não lineares, as harmônicas. A partir de 1 Mpa começa a haver destruição das microbolhas com emissão de ondas com grande amplitude.

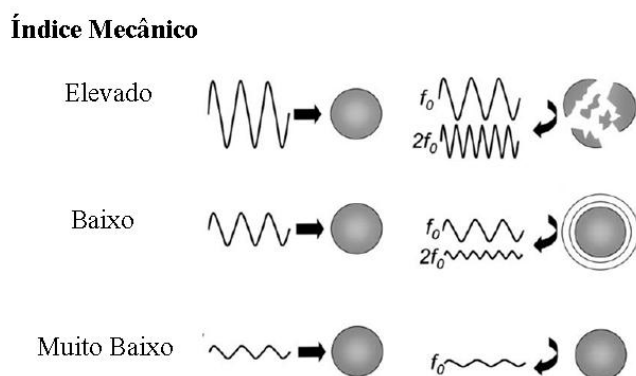


Figura 3.2.2 – Diferentes padrões de resposta das microbolhas em função da potência acústica (índice mecânico). Para potências muito baixas a microbolha responde com oscilações lineares que produzem ondas acústicas na frequência fundamental (f_0). Para potências baixas a microbolha responde com oscilações não lineares que produzem ondas acústicas em ambas as frequências, fundamental (f_0) e harmônica ($2f_0$). Para potências elevadas a microbolha rompe produzindo intensas ondas acústicas na frequência fundamental (f_0) e harmônica ($2f_0$). Esquema modificado de Lindner (11).

3.3 Técnicas de Imagem

O objectivo da utilização de técnicas de imagem em ecocardiografia de contraste do miocárdio é a detecção de contraste na microcirculação coronária. Quando se executa o ecocardiograma com contraste a imagem obtida é o conjunto de ecos provenientes dos tecidos, de ecos provenientes das microbolhas e do chamado “ruído” de fundo relacionado com características do próprio equipamento (226).

Nos últimos anos a investigação nesta área tem conseguido encontrar soluções mais aperfeiçoadas para separar os ecos provenientes destas três diferentes origens. A sensibilidade destas técnicas traduz-se pela capacidade de separar os ecos provenientes das microbolhas dos ecos provenientes do “ruído” geral. A especificidade representa a capacidade de separar os sinais dos tecidos dos sinais das microbolhas.

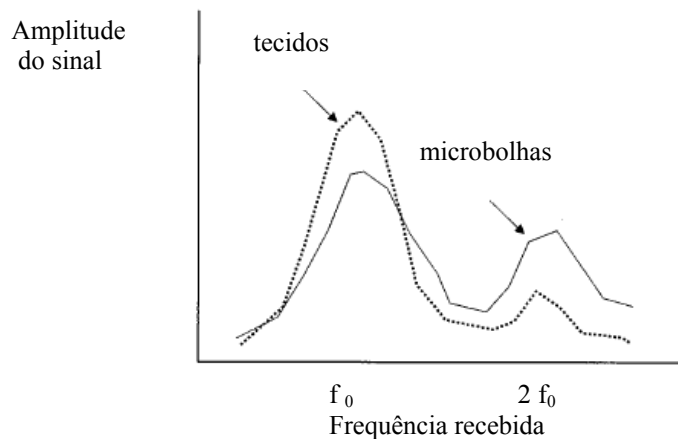


Figura 3.3.1 – Curvas que relacionam a amplitude do sinal recebido com a frequência recebida para os tecidos e para as microbolhas. A maior separação entre o valor das leituras faz-se para frequências recebidas com o dobro do valor da frequência fundamental ($2f_0$). Esquema modificado de Lindner (11).

Normalmente em modo “fundamental” o equipamento transmite ultrasons a uma determinada frequência e recebe um conjunto de ecos lineares e harmónicas, produzidos pelas microbolhas e pelos tecidos. A possibilidade do equipamento filtrar os ecos recebidos de modo a receber só os harmónicos com frequência dupla ou tripla da frequência fundamental, permite uma melhor separação da origem dos ecos. Por coincidência os equipamentos emitem numa frequência média de 3 MHz que é a frequência de oscilação das microbolhas dos agentes de contraste.

Um outro aspecto que condiciona o tipo de exame é a forma como é utilizado o índice mecânico. Valores elevados de índice mecânico ($> 0,2$) são destrutivos das microbolhas, geram sinais fortes, mas não permitem a execução do exame em tempo real, ao contrário de valores baixos de índice mecânico que não destroem as microbolhas ($< 0,2$) e permitem a visualização do exame em tempo real. As técnicas que utilizam índice mecânico não destrutivo permitem associar simultaneamente o estudo da perfusão ao estudo da cinética do ventrículo esquerdo (227 - 232).

Formação de Imagem

A - Imagem Harmónica

A imagem harmónica baseia-se na detecção de ondas harmónicas transmitidas pelas oscilações das microbolhas. É um método comum que existe em quase todos os equipamentos modernos e utiliza sondas comuns. O sistema transmite numa determinada frequência (1,5 e 3 MHz) e é configurado para receber os ultrasons a uma frequência geralmente dupla da enviada (2ª harmónica, a cerca de 3 e 6 MHz.). Em teoria a imagem harmónica melhora a resolução espacial, a resolução axial e lateral. A imagem apresenta maior qualidade que a imagem fundamental. Estas vantagens são feitas à custa de perda de penetração. Outro inconveniente é a incapacidade de

separar os sinais enviados pelas microbolhas dos sinais enviados pelos tecidos. A aplicação do conceito de harmónica ao Doppler Cor também foi implementado em alguns equipamentos e permite separar os sinais provenientes do movimento dos tecidos (233).

B - Imagem “Super-Harmónica”

A imagem super-harmónica utiliza harmónicas mais elevadas que a segunda harmónica, como a terceira e quarta harmónicas. A intenção é separar as frequências dos tecidos das frequências das microbolhas (234).

C - Imagem “Sub-Harmónica”

A reverberação dos tecidos e microbolhas depois de atingidos por um feixe de ultrasons a determinada frequência gera além da refração das ondas recebidas outras ondas chamadas harmónicas que têm frequências diferentes, em geral são múltiplos ou fracções das recebidas. A imagem sub-harmónica baseia-se nas frequências que são fracções da frequência fundamental. A segunda sub-harmónica tem metade da frequência fundamental.

D - Imagem Harmónica “Power Doppler”

A imagem em *Harmonic Power Doppler* é uma das modalidades com maior sensibilidade para detectar agentes de contraste. Baseia-se no envio de impulsos múltiplos e na detecção das variações de cada impulso nos sinais que recebe. Para aumentar a discriminação entre sinais provenientes das microbolhas (com mais harmónicas) e dos tecidos é aplicado um filtro para receber as segundas harmónicas. Esta modalidade actua melhor com índice IM mais elevado que é destrutivo e gera sinais mais potentes a gerados pela disrupção das microbolhas (234-237).

E - Imagem “Contrast Harmonic”

Este método aumenta a sensibilidade para a avaliação da perfusão e fluxo a nível capilar. Baseia-se nas características não lineares dos agentes de contraste. A transmissão é feita em frequência fundamental e a recepção em 2ª harmónica.

Os sinais gerados pelas microbolhas (que funcionam como geradores de harmónicas) contêm muitas harmónicas ao contrário do que se passa com os tecidos. A separação do sinal que vem das microbolhas e dos tecidos permite obter imagens predominantemente do agente de contraste. A associação desta modalidade com a técnica de inversão de pulso aumenta a sensibilidade para detectar o contraste e aumentar a resolução espacial (238, 239).

F - Pulse Inversion Imaging - PII

Neste método são enviados dois impulsos quase simultâneos em que o segundo pulso é uma imagem em espelho do primeiro. Os ultrasons resultantes enviados pelas microbolhas são as cópias invertidas dos enviados e são somados cancelando-se mutuamente. Como os tecidos geram ecos predominantemente lineares o cancelamento dos sinais dos tecidos contrapõem-se ao somatório dos

sinais provenientes das microbolhas que são predominantemente não lineares. A adição da harmónica à recepção dos sinais não lineares ainda aumenta mais a diferença entre o sinal zero do cancelamento dos sinais tecidulares e o valor dos sinais das microbolhas (238).

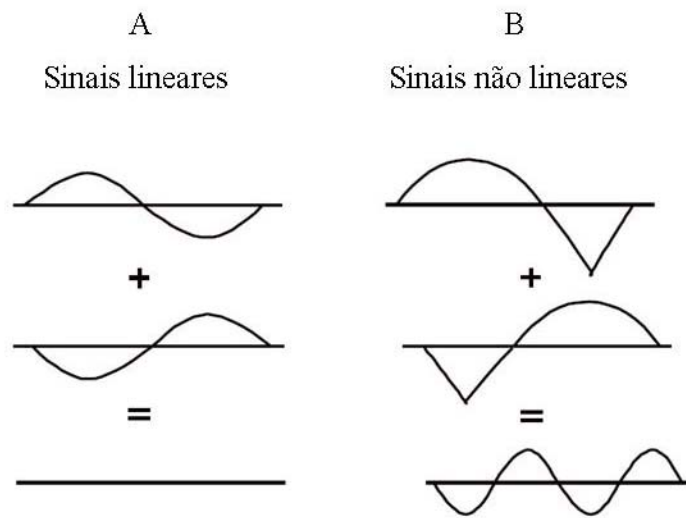


Figura 3.3.2 – Imagem de “Pulse Inversion”. Observa-se em A anulação dos componentes lineares conhecido por fenómeno de cancelamento; em B a soma dos sinais não lineares “harmónicas” resulta num outro sinal diferente dos anteriores.

G - Coherent Contrast Imaging - CCI

Esta modalidade implementada pela Siemens Acuson permite aumentar a discriminação entre os sinais acústicos provenientes das microbolhas e dos tecidos. Alternadamente são enviados impulsos em fases diferentes. As microbolhas respondem enviando ecos correspondentes aos impulsos e fases enviados. A soma de todos é igual a zero, cancelando o sinal recebido. Ficam livres os ecos não lineares produzidos pelas microbolhas.

Esta modalidade não necessita de enviar dois impulsos de cada vez, o que aumentaria a probabilidade de destruição da microbolha (240).

H - Contrast Pulse Sequencing - CPS

Com esta nova metodologia são enviadas séries de três impulsos que diferem na amplitude e na fase. Mantendo IM baixos (0,1 a 0,2) é possível obter imagens em tempo real por um período de tempo bastante alargado (5 a 10 min) e com uma melhor qualidade de definição dos ecos enviados pelas microbolhas. A relação entre os ecos das microbolhas e os dos tecidos é muito favorável em comparação com outras metodologias previamente descritas (241, 242).

Modo de Aquisição de Imagem

A - Imagem Intermitente

Se as microbolhas forem destruídas por um feixe de ultrasons de grande potência geram sinais acústicos de grande intensidade num período de tempo curto. Este aumento súbito de sinal acústico designa-se “*Flash*”. Este método separa de forma clara os sinais provenientes dos tecidos dos das microbolhas.

A imagem intermitente baseia-se nesta propriedade e o sinal é enviado com um elevado índice mecânico a intervalos de tempo pré determinados, para permitir a repleção de microbolhas no miocárdio. Normalmente faz-se uma sincronização com o sinal electrocardiográfico, por exemplo em tele-sístole. O eventual atraso de repleção será traduzido por uma imagem de subtração, que traduzirá alterações da velocidade do fluxo ou do volume de sangue coronário (243-247).

B - Imagem em Tempo Real

Esta metodologia tem a vantagem de se poder simultaneamente observar a perfusão e a contractilidade do ventrículo esquerdo. É utilizado um IM baixo, não destrutivo. A metodologia ATL de *Power Pulse Inversion* (PPI), e as metodologias Sequoia primeiro de “*Coherent Contrast Imaging*” e posteriormente de “*Contrast Pulse Sequencing*” permitem em tempo real ou quase em tempo real (com *triggering* muito frequente de 75 a 150 mseg de intervalo) obter imagens de perfusão do ventrículo esquerdo. Depois de se obter uma mistura do agente de contraste na circulação são enviados sinais acústicos com elevado índice mecânico, de grande intensidade (*burst*) que destroem as microbolhas. Durante o período seguinte a visualização do preenchimento da parede do ventrículo esquerdo pelo contraste é efectuado com baixo índice mecânico (248, 249).

Modo de Administração do Contraste

A - Infusão

Para análise da perfusão e quantificação de parâmetros como a reserva coronária, a reserva de fluxo miocárdico e cálculo de volumes de sangue miocárdico é necessário administrar o agente de contraste a uma determinada velocidade e de forma constante, sendo por isso fundamental efectuar uma infusão com a utilização de uma seringa infusora.

B - Bólus

A opacificação da cavidade ventricular esquerda, ou o aumento do sinal Doppler dos fluxos não necessita de infusão podendo ser feita com a injeção de um bólus de agente de contraste.

A observação qualitativa de alterações da perfusão do miocárdio em repouso ou durante a ecocardiografia de sobrecarga não necessita de infusão de contraste.

Procedimentos para Efectuar os Exames

A - Preparação do Doente

O exame é efectuado pelo médico cardiologista com o apoio de enfermeiros treinados.

O exame tem início com uma explicação do procedimento, e dos eventuais sintomas que possa vir a experimentar por acção dos fármacos utilizados. Nenhum exame é executado sem prévio consentimento informado e assinado. A sala onde se procede ao exame é climatizada. É efectuada a punção de um acesso venoso de calibre médio, mais próximo de uma zona da flexura ou antebraço, onde é acoplada uma torneira de três vias, permitindo a infusão simultânea do agente de contraste e do agente vaso dilatador. O doente é posicionado de forma confortável em decúbito lateral esquerdo, em maca que permite optimização da inclinação do tórax e com apoio de almofadas. Durante o exame é efectuada a monitorização do electrocardiograma, saturação de O₂ e medição da pressão arterial.

B - Agente de Contraste

Durante o período em que decorreram os trabalhos tivemos oportunidade de utilizar diferentes agentes de contraste.

Para a ecocardiografia de contraste do miocárdio é necessário administrar o agente de contraste em infusão com uma seringa infusora. Para qualquer dos agentes de contraste indicados a velocidade a que infundem é variável caso a caso, sendo o objectivo principal obter uma concentração “ótima” de produto de contraste em circulação.

Para o EcoDoppler transtorácico se for necessário utilizar contraste, este pode ser administrado em bólus em muito pequena quantidade. Bastará um pequeno volume seguido de um “*flush*” de soro fisiológico para se obter uma suficiente acentuação do sinal Doppler.

C - Agente Vasodilatador

Foram utilizados dois agentes vasodilatadores, a adenosina e o dipiridamol.

A infusão de adenosina é feita a 140 µg/kg/min, durante um período máximo de 5 min.

O dipiridamol é administrado em infusão na dose de 0,56 mg/kg/min.

D – Agente Vasodilatador e Inotrópico

Foi utilizada a dobutamina em infusão, conforme protocolo habitual com incrementos de 10 µg de 3 em 3 minutos até 40µg, e utilização de atropina quando necessário, para atingir 85% da frequência cardíaca máxima.

E - Equipamentos de Ultrasonografia

Foram utilizados dois tipos de equipamentos de ultrasons:

Sequoia 256 e 512 (Acuson Siemens Germany) com sondas multifrequência de 3V2c (2 a 5 MHz) e 7V3c (5 a 7MHz).

ATL 5000 Philips com sonda multifrequência de P4-2 (2,5 a 5 MHz).

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

A injeção de agentes de contraste directamente nas artérias coronárias revelou-se uma técnica com graus de sensibilidade e especificidade semelhantes a outras técnicas, em particular a medicina nuclear, na avaliação da perfusão do miocárdio (230, 231).

Estes exames eram feitos com agentes de contraste de primeira geração como o Alburnex, que não atravessam a rede capilar pulmonar. A aplicação clínica desta metodologia é obviamente difícil, exigindo meios logísticos só possíveis em salas de hemodinâmica.

Actualmente com agentes de contraste de segunda e terceira geração é possível através de administração endovenosa estudar a perfusão do miocárdio em diferentes situações fisiopatológicas (250).

A - Conceito da Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

A ecocardiografia de contraste do miocárdio tem tido nos últimos anos uma rápida evolução. Este facto deve-se ao aperfeiçoamento tecnológico dos equipamentos de ultrasonografia e sondas de maior frequência, em que se destaca o desenvolvimento de conceitos de segunda harmónica e *Power Doppler* associados ao desenvolvimento de produtos de contraste ultrasonográfico mais estáveis e que atravessam a circulação pulmonar podendo ser administrados através de via venosa periférica. Com a introdução de estas novas tecnologias em ecocardiografia, conceitos como volume do fluxo miocárdico, reserva de fluxo miocárdico, volume de circulação coronária, passam a ser utilizados mais frequentemente no laboratório de ecocardiografia.

A cinética vascular das bolhas dos produtos de contraste endovenoso tem características semelhantes às dos glóbulos vermelhos (251). A utilização de substâncias com estas características e que atravessem a circulação pulmonar, permite estudar a perfusão do miocárdio de forma não invasiva. Também com o auxílio de análise de imagem primeiro em off-line depois incluída nos próprios equipamentos de ultrasons, é possível estudar as variações de parâmetros relacionados com a cinética das bolhas tanto em modelos experimentais como no ser humano no âmbito da fisiologia como da patologia.

Na doença coronária e em particular nos síndromes coronários agudos a ECM permite obter informação sobre o tipo de perfusão dos territórios perfundidos, a circulação colateral, dimensões da área de enfarte, viabilidade e sucesso da reperfusão (252). Wei demonstrou que a infusão de contraste ultrasonográfico a velocidade constante permitia a quantificação do volume de fluxo miocárdico (VFM) através da ecocardiografia de contraste (256).

Tanto a RC como a ECM fornecem informação em relação a fisiopatologia da microcirculação coronária. Contudo a RC, em situações hemodinamicamente estáveis, está fundamentalmente dependente das resistências da microcirculação, traduzindo a função microvascular, independentemente da dimensão da área de perfusão (253 - 255).

A ECM permite deduzir informação sobre o volume de sangue de determinada área do miocárdio; em indivíduos sem doença coronária, o estímulo hiperémico não provoca variação do VCM, mas provoca variação da velocidade do fluxo miocárdico. Experimentalmente a ECM permite quantificar variações de velocidade do volume de fluxo intramiocárdico (256). Num trabalho do grupo de Kaul (257) além de concluírem que é possível calcular a reserva coronária através da ECM, referem a possibilidade de avaliação não invasiva da gravidade da estenose das coronárias; os autores verificaram existir uma correlação significativa entre a RC determinada por ECM e o grau de estenose coronária por angiografia quantitativa.

O facto de ser possível calcular a reserva coronária por ECM abre interessantes expectativas para que por meio desta técnica se proceda à quantificação não invasiva da reserva coronária noutros territórios.

B - Quantificação do Fluxo e Volume de Sangue Miocárdico

Após alguns minutos de infusão do agente de contraste estabelece-se um equilíbrio das microbolhas com o volume de sangue circulante. Neste estágio de equilíbrio o número de microbolhas que entra e sai de uma unidade microcirculatória é o mesmo e é constante, só variando se forem modificadas as propriedades do fluxo de sangue.

Observa-se a nível do tecido muscular cardíaco uma imagem caracterizada por aumento da ecodensidade, gerada pela reflexão de ultrasons a partir das microbolhas que estão quase totalmente presentes na microcirculação coronária. A partir do período em que se faz o equilíbrio das microbolhas com o volume circulatório a ecodensidade que se observa no tecido cardíaco é constante.

Durante a destruição total das microbolhas por um feixe de ultrasons com elevado índice mecânico a densidade dependente da reflexão dos ultrasons a partir das microbolhas desaparece momentaneamente, voltando a aparecer progressivamente à medida que se dá a repleção da microcirculação coronária pelas microbolhas.

Pode-se calcular a partir destas imagens o tempo decorrido desde a destruição das microbolhas na microcirculação coronária até à sua total repleção que é igual ao tempo que demora a perfundir o mesmo volume de espaço pelos glóbulos vermelhos. Também se pode determinar a velocidade de repleção das microbolhas. Poderemos visualizar o grau de preenchimento do espaço em função do tempo, ao fim de unidades de tempo consecutivas, de um a cinco segundos. Ao fim de um segundo, poucas microbolhas terão preenchido a microcirculação coronária, pelo que o valor da leitura será baixo. Se depois da destruição das microbolhas aguardarmos dois segundos a concentração será maior com um grau de leitura maior e assim sucessivamente. Após cerca de cinco segundos verifica-se que o grau de preenchimento é total e a partir daí, o valor das leituras será constante (Figura 3.3.3).

É possível construir uma curva que relaciona a concentração de microbolhas no espaço analisado em função do tempo e que representa uma curva de perfusão.

O valor da pendente inicial (declive da recta) representa a velocidade das microbolhas (β), o valor máximo de da concentração das microbolhas representa o volume de sangue miocárdico (A), o valor do produto de β por A representa o fluxo miocárdico (FM) (Figura 3.3.4).

Por meio desta técnica é possível calcular o volume de sangue miocárdico que representa, como descrito previamente, 90% do volume de sangue capilar. Se a análise for feita em tele-sístole as forças compressivas do ventrículo esquerdo ao isolarem o volume capilar, promovendo uma distribuição do sangue das arteríolas para os vasos de condutância e das vénulas para o seio coronário, teremos a evidência que o que estamos a analisar é microcirculação coronária capilar.

A velocidade do sangue capilar é de cerca de 1 mm/seg, pelo que em situações de normalidade e em basal, ao fim de cinco segundos toda a espessura do miocárdio terá sido totalmente preenchida pelas microbolhas. Situações em que haja um preenchimento mais rápido ou mais lento traduzirão alterações da velocidade do fluxo na microcirculação coronária.

Quando se observa a imagem de ecodensidade das microbolhas na parede do ventrículo esquerdo, o que se observa é o volume de sangue miocárdico ou capilar. Uma maior densidade representará maior volume, uma menor densidade por sua vez representará menor volume. Estas variações de volume traduzirão o estado da microcirculação coronária e ou o seu grau de recrutamento capilar.

Se a observação for efectuada em tempo real, utiliza-se um valor de índice mecânico baixo inferior a 0,1 ou 0,2. Se a observação for feita com intervalos de pulso, que podem corresponder por exemplo ao intervalo RR do electrocardiograma, pode ser usado um índice mecânico elevado ($> 0,7$).

C - Quantificação do Valor Absoluto do Fluxo

Apenas 5% do débito cardíaco perfunde o miocárdio, pelo que a quantidade de microbolhas no miocárdio apenas representa uma pequena percentagem das microbolhas circulantes que podem ser observadas por exemplo na cavidade do ventrículo esquerdo.

A relação entre o valor da leitura da densidade de microbolhas na parede do ventrículo esquerdo e o da leitura na sua cavidade representa uma fracção do volume de sangue miocárdico. Esta relação é linear e teoricamente se o equipamento tiver tecnicamente a possibilidade de manter um intervalo suficiente para que esta relação permaneça linear será possível calcular o volume absoluto de sangue miocárdico.

O volume analisado a partir da região de interesse (RI) pode ser calculado a partir do valor da sua área e da espessura. Assim podem ser calculados o valor absoluto do volume de sangue miocárdico (ml) e o valor absoluto do fluxo de sangue miocárdico (ml/seg) (256).

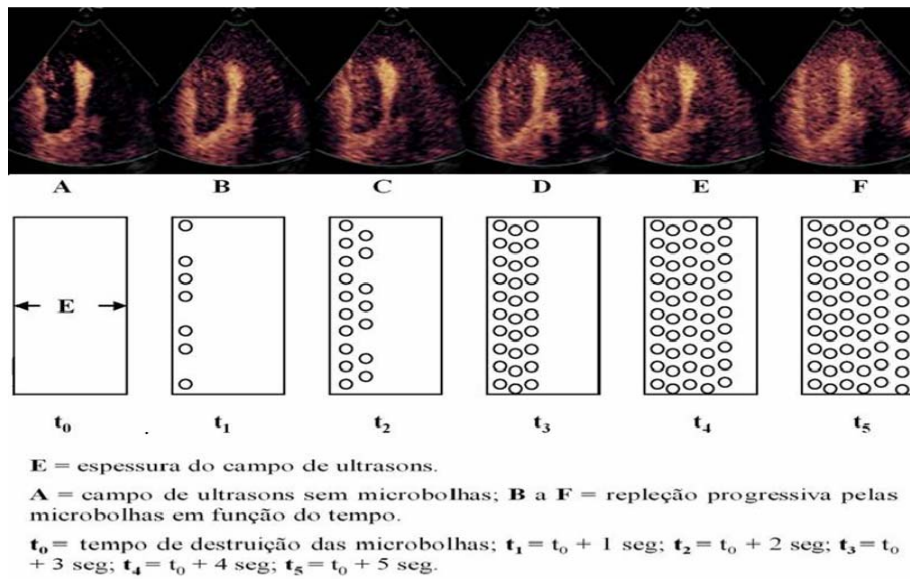


Figura 3.3.3 – Representação de imagens de ECM adquiridas em sístole e correspondendo a 6 ciclos sucessivos desde a fase de ausência de contraste após destruição e as fases de progressivo preenchimento da parede do ventrículo esquerdo. Paralelamente às imagens de ECM estão rectângulos que representam a quantidade / volume de microbolhas que os preenchem em função do tempo e do campo de ultrasons.

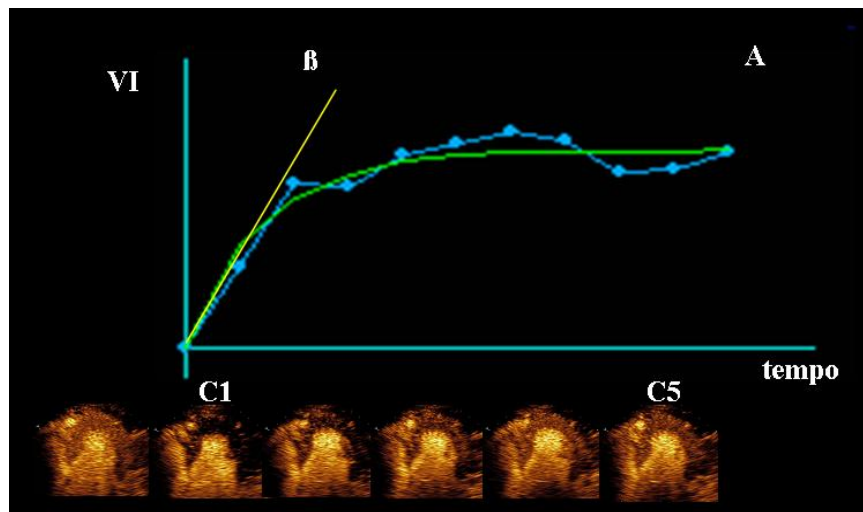


Figura 3.3.4 – Imagem de uma curva de perfusão calculada a partir de imagens de ECM representadas na parte inferior da figura e que representam imagens sistólicas sucessivas desde a destruição por IM elevado (C1) até ao completo preenchimento da parede do ventrículo esquerdo ao fim de cinco ciclos cardíacos (C5). A curva apresenta um valor máximo (A) que representa o volume de sangue miocárdico e a velocidade da microcirculação coronária (B).

D - Métodos de Aquisição de Imagem em ECM

Na plataforma Sequoia, primeiro da Acuson depois Acuson Siemens, foram desenvolvidos sequencialmente softwares como o PPI, CCI e por último o CPS.

Actualmente com o modo CPS é possível no próprio ecógrafo efectuar a aquisição das imagens em tempo real e a análise da perfusão, o que representa uma vantagem em termos de tempo e de qualidade de resultado em comparação com outros protocolos (258). Na plataforma ATL utilizámos metodologia *Power Pulse Inversion*.

a) Elevado Índice Mecânico

A utilização de valores elevados de IM tem como vantagens a geração de um sinal mais potente, maior capacidade de penetração, homogeneidade de potência e a possibilidade de poder ser utilizado com praticamente todos os tipos de produtos de contraste.

As desvantagens estão relacionadas com a interferência de harmónicas provenientes dos tecidos, com a necessidade de mais tempo para adquirir as imagens e pela interferência causada pelo movimento de basculação da sonda.

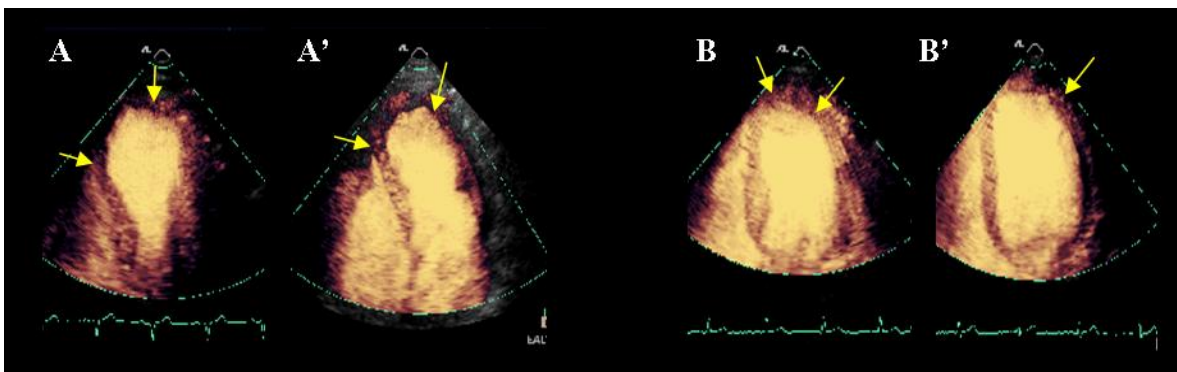


Figura 3.3.5 – Demonstração de dois casos de ECM com imagem intermitente, tipo destrutivo. Estão representadas imagens em sístole A e B e em diástole A' e B'; as imagens representam dois casos de defeitos de perfusão; em A observa-se extenso defeito de perfusão apical anterior e em B pequeno defeito de perfusão apical. Observa-se a dilatação aneurismática em A mais evidente em sístole.

b) Baixo Índice Mecânico

As vantagens da utilização de valores de baixo IM estão relacionadas com a menor interferência de harmónicas provenientes dos tecidos, menos efeitos do movimento dos tecidos, de necessitar de menos tempo de aquisição de imagens e menor interferência do movimento de basculação da sonda. Tem como desvantagens a obtenção de um sinal mais fraco, a existência de variações cíclicas, de heterogeneidade de potência e estar dependente das características da microbolhas.

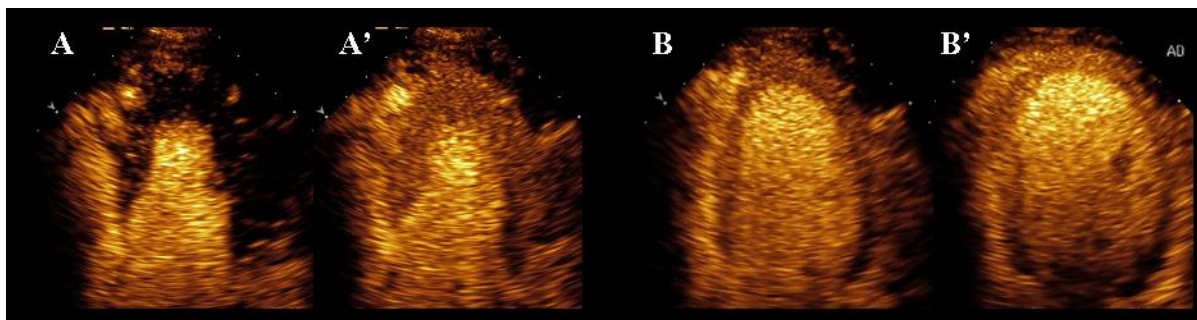


Figura 3.3.6 – Demonstração de dois casos de ECM em tempo real, não destrutivo, modo CPS. Imagem em A representa a fase pós destruição das microbolhas e em A' a fase de repleção completa em que se observa normal perfusão de todos os territórios. Em B e B' observam-se imagens em basal e durante a acção de adenosina respectivamente.

Em comparação com outras técnicas de imagem a ECM tem melhor resolução espacial: os marcadores radioactivos têm uma resolução de 8 a 12 mm (259), o PET tem uma resolução de 3 a 4 mm (122), e a ecocardiografia de contraste do miocárdio tem uma resolução < 2 mm (127).

A ECM tem sido estudada na avaliação da perfusão do miocárdio em diferentes situações fisiopatológicas em particular na doença coronária.

E - Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio e Doença Coronária

Doença Coronária Crónica

A ECM permite em repouso ou associada à ecocardiografia de sobrecarga identificar defeitos de perfusão que se correlacionam com doença coronária significativa. A sensibilidade e especificidade da ECM associada à ecocardiografia de sobrecarga com dobutamina são iguais ou superiores às observadas com o SPECT no diagnóstico de doença coronária (139, 260-263). A presença de doença coronária pode não ser detectada durante ecocardiografia de sobrecarga, podendo coexistir alterações da perfusão com padrão de cinética segmentar normal (262). A associação da ECM com a ES aumenta a sensibilidade para a identificação de doença coronária (264).

Doença Coronária Aguda

Nos síndromes coronárias agudas é importante o tempo de intervalo entre a obstrução e a revascularização. O intervalo de 2 horas é experimentalmente e em ensaios clínicos o tempo máximo para que se possa manter viável o miocárdio em risco. A partir deste período haverá sempre um determinado grau de necrose. O prognóstico dos doentes que sofrem um SCA depende fundamentalmente da função sistólica do ventrículo esquerdo, que depende da extensão da necrose (extensão de atingimento do endocárdio e transmuralidade). A dimensão da área de necrose depende também de outros factores como a extensão da área de risco e da circulação colateral (265 - 267). A área de risco é uma área dependente da artéria culpada e com hipoperfusão em risco de

desenvolver necrose. A área de necrose e a área de risco determinam uma extensão de miocárdio que revela alterações da cinética em repouso (268, 269).

A ECM tem elevada sensibilidade (82%) e especificidade (74%) para a identificação de defeitos de perfusão no contexto de SCA, baseada na possibilidade de identificar disfunção da microcirculação coronária (270, 271) sendo maiores para os enfartes da parede anterior versus da parede inferior.

A ECM permite prever quais os segmentos com maior hipótese de recuperar função qualificando e quantificando a perfusão da área em risco (272 - 275). A manutenção da microcirculação coronária não disfuncionante após SCA ou após intervenção de revascularização é um factor de bom prognóstico (276).

Estudo de Viabilidade

A avaliação da viabilidade do miocárdio é um dos desafios de maior dificuldade na doença coronária. A identificação de miocárdio viável possibilita tomar decisões terapêuticas de revascularização mecânica ou cirúrgica e melhora o prognóstico dos doentes. O aumento de sobrevivência de doentes com doença coronária isquémica depende da extensão da viabilidade (277, 278). A identificação da viabilidade por ECM baseia-se na detecção de uma microcirculação coronária intacta e com uma perfusão mínima de 0,2 ml/min/kg de tecido (279).

Ecocardiografia Doppler Transtorácica

O exame tem como objectivo a identificação da artéria coronária descendente anterior (DA), a identificação do fluxo coronário a cor, registo espectral e medição das velocidades dos fluxos diastólicos.

Procedem-se às necessárias afinações do ecocardiógrafo com definição de baixo PRF e activação do *Power Doppler* ou Doppler cor com 2ª harmónica.

Numa primeira fase é identificado por EcoDoppler transtorácico o sulco interventricular anterior, e com Doppler cor é identificado o segmento distal da DA. Numa segunda fase optimiza-se a imagem do fluxo cor da DA distal com movimentos de rotação da sonda de forma a obter-se um comprimento maior possível da DA distal e de forma que os movimentos do coração interfiram menos com a definição da imagem. Se houver dificuldade na obtenção de uma boa definição do fluxo cor pode-se utilizar um agente de contraste ultrasónico. A acentuação do sinal Doppler será suficiente para obter uma melhor definição do fluxo cor da DA distal.

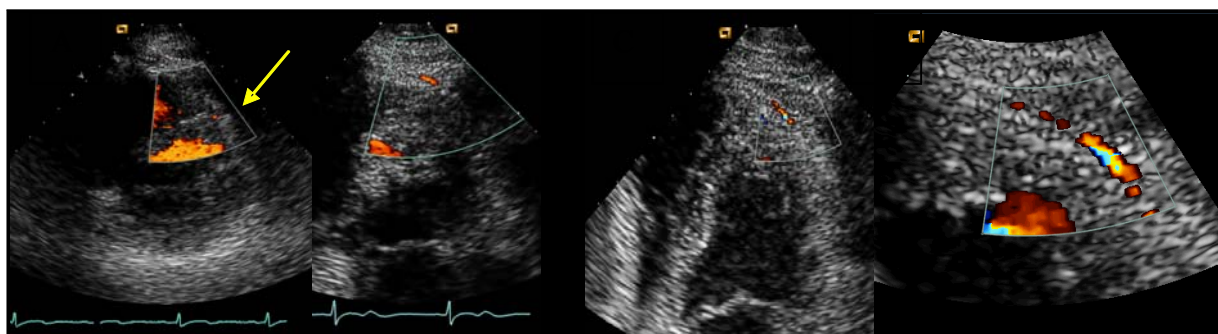


Figura 3.3.7 – Sucessão de imagens referentes ao procedimento de identificação do fluxo da artéria coronária descendente anterior distal. Em A observa-se imagem em curto eixo para esternal esquerdo, com identificação de área circular colorida correspondente ao fluxo da DA distal no sulco interventricular. Em B e C, após rotação da sonda, observa-se o fluxo da DA distal na região apical. Em D, em posição intermédia da sonda, observa-se a imagem do fluxo da DA distal depois de otimizada para uma maior extensão.

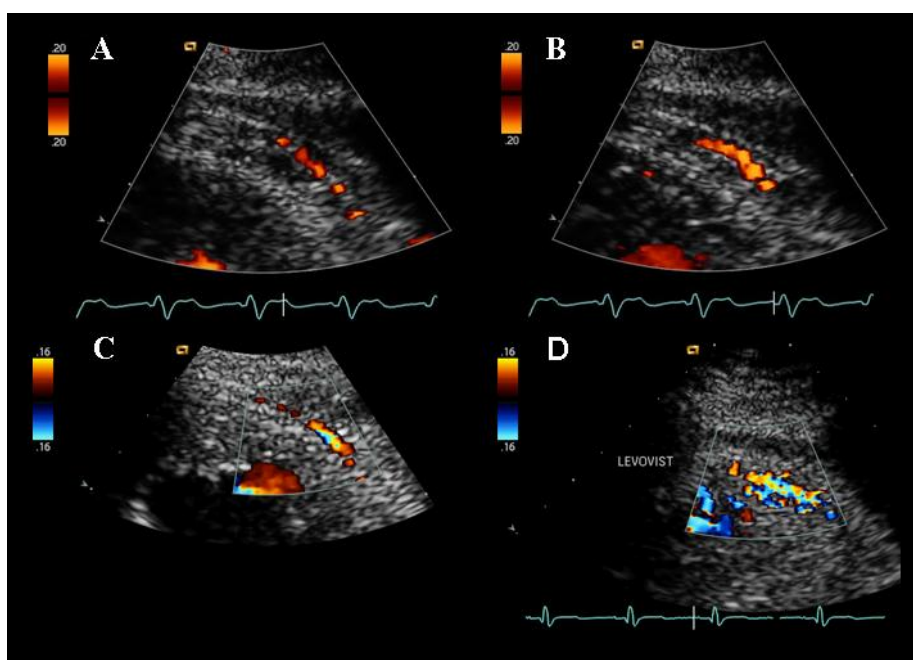


Figura 3.3.8 – Imagens do fluxo a cor da artéria coronária descendente anterior distal em sístole e em diástole adquiridas numa variante apical em duas câmaras após rotação horária da sonda.

Posteriormente passa-se à interrogação por Doppler pulsado do fluxo Doppler da DA distal obtendo-se um espectro Doppler onde se identificam os componentes sistólico e diastólico do fluxo coronário. É efectuada a medição da velocidade máxima e do integral da velocidade do componente diastólico.

Repetem-se os passos anteriores sob a acção de um agente vasodilatador que pode ser a adenosina ou o dipiridamol. As medições das velocidades máximas e do integral da velocidade do componente diastólico voltam a ser efectuadas em imagens adquiridas durante a acção do agente vasodilatador. Calcula-se a média de três medições em basal e após vasodilatação correspondentes a três ciclos cardíacos diferentes. O cálculo da reserva coronária faz-se através da razão entre a média das medições após hiperemia e da média das medições em basal.

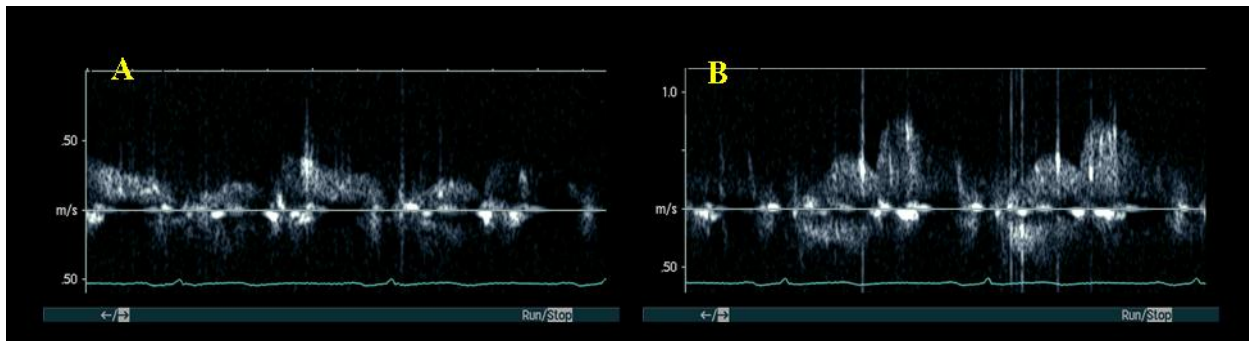


Figura 3.3.9 – Imagens do espectro Doppler do fluxo da artéria coronária descendente anterior distal em basal (A) e durante vasodilatação com adenosina (B). Observa-se o fluxo bifásico em sistole e em diástole

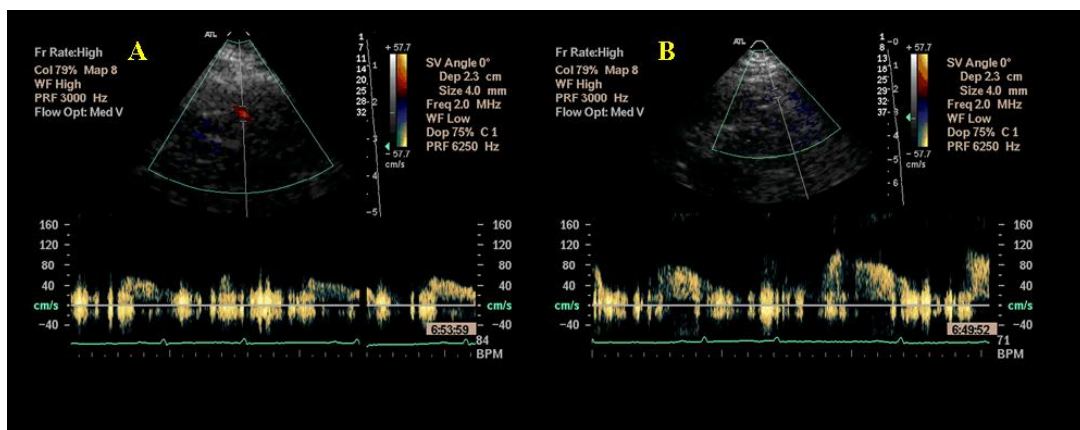


Figura 3.3.10 – Imagens do espectro Doppler do fluxo da artéria coronária descendente anterior distal em basal (A) e durante vasodilatação com adenosina (B). Observa-se o posicionamento da interrogação do Doppler pulsado na imagem 2D.

3.4 População

As populações estudadas serão apresentadas em cada um dos trabalhos que a seguir serão descritos no capítulo nº 4 de resultados.

Durante os cinco anos em que foram efectuados estes trabalhos foram formados vários grupos de indivíduos controle. Com a dinâmica dos conhecimentos que rapidamente foram adquiridos estes grupos foram sendo sucessivamente formados por indivíduos com critérios de normalidade mais rígidos, pelo que os resultados que se observam nestes grupos não são inteiramente sobreponíveis.

As diferentes populações de doentes estudadas tiveram origem em diferentes consultas de cardiologia hospitalares e privadas. Todos os doentes foram informados e foram obtidos consentimentos orais ou por escrito.

3.5 Métodos Estatísticos

A análise estatística foi adequada ao desenho de cada um dos trabalhos efectuados pelo que também será apresentada no âmbito de cada um dos trabalhos.

Os testes estatísticos utilizados tiveram como principal objectivo comparar grupos de amostras, estudando a hipótese nula, comparando a distribuição entre grupos ou analisar a eventual existência de correlação entre variáveis.

1 Para cada amostra foram calculados os valores de análise descritiva (média, desvio padrão, parâmetros de distribuição e variância).

2 Quando houve necessidade de comparar grupos paramétricos foi aplicado o teste de Student ou o teste Anova conforme o número de amostras.

3 Para análise de variáveis não paramétricas foi utilizado com o mesmo critério, baseado no número de amostras, respectivamente o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ou o teste de Kruskal-Wallis.

Foram utilizados diferentes programas de análise estatística: SPSS, Analyze-it e GB-Stat 7.0 (Dynamic Microsystems, Inc, USA).

4 RESULTADOS

4.1 Introdução

Pretendemos estudar a microcirculação coronária com técnicas ecocardiográficas como a ecocardiografia Doppler transtorácica e a ecocardiografia de contraste do miocárdio. Embora estas técnicas já se encontrem validadas decidimos compará-las com técnicas consideradas de referência com o objectivo de obtermos uma normalização dos nossos próprios parâmetros.

A reserva coronária e a perfusão do miocárdio são habitualmente estudadas respectivamente pelo fio Doppler intracoronário (DI) e pela cintigrafia de perfusão do miocárdio (SPECT). Inicialmente comparámos o EDTT com o DI em relação aos valores de reserva coronária. Posteriormente comparámos o EDTT e a ECM na avaliação da reserva coronária e finalmente comparámos a ECM e o SPECT em relação à perfusão do miocárdio.

Ecocardiografia Doppler Transtorácica

Através da aplicação de ecocardiografia Doppler Transtorácica pretendemos avaliar o fluxo coronário de forma não invasiva deduzindo parâmetros funcionais dos fluxos coronários sistólicos e diastólicos, como as respectivas velocidades máximas, integrais de velocidade e quocientes entre cada um destes parâmetros assim como o cálculo da reserva coronária que resulta da razão entre as velocidades máximas em hiperemia e em basal.

Fundamentalmente a informação que obtemos com aplicação desta técnica relaciona-se com a função da microcirculação coronária e com a capacidade de vasodilatação independente do endotélio. Foi nossa estratégia inicial comparar os resultados obtidos através do EDTT com o método padrão que é o Doppler intracoronário, executado em serviço de hemodinâmica de referência (280).

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Através da aplicação da técnica de ecocardiografia de contraste do miocárdio tivemos uma estratégia semelhante. A ECM permite a quantificação de parâmetros da microcirculação coronária como o cálculo da reserva do fluxo coronário. Comparámos os resultados da reserva coronária obtidos por ECM com os obtidos por EDTT (281).

A ECM permite, como previamente referido, uma análise qualitativa e quantitativa de alterações da perfusão do miocárdio. Nesse sentido elaborámos um trabalho em que comparámos duas

técnicas, a ECM com a cintigrafia de perfusão do miocárdio no estudo da perfusão do miocárdio num grupo de doentes com eventual doença coronária.

4.2 Comparação dos Métodos de Análise da Microcirculação Coronária

Cálculo da Reserva Coronária da Descendente Anterior por Ecocardiografia Transtorácica e por Doppler Intracoronário

Introdução

É conhecida a baixa sensibilidade da angiografia coronária na avaliação da repercussão funcional das lesões ateroscleróticas (282). O conhecimento do valor da reserva coronária só tem tido aplicação clínica praticamente no âmbito da doença coronária e através da utilização do laboratório de hemodinâmica (283).

Nessas situações o cálculo da reserva coronária tem tido utilidade para complementar a decisão terapêutica de revascularização em particular em situações com lesões intermédias e em lesões do tronco comum. A possibilidade de avaliação da reserva coronária nesta e em noutras situações fisiopatológicas como a hipertensão arterial, hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência cardíaca, diabetes mellitus e doença dos pequenos vasos perspectiva-se de grande utilidade clínica.

Objectivos

Pretendemos comparar o valor da reserva coronária obtido por dois métodos diferentes, a ecocardiografia Doppler transtorácica e o Doppler intracoronário considerado método de referência.

Material e Métodos

O estudo foi feito num grupo de 42 doentes referenciados para avaliação de doença coronária, tendo sido excluídos doentes com prévio acidente coronário agudo no território da artéria descendente anterior. Foram utilizados os seguintes equipamentos: para a realização do EDTT foi utilizado um ecocardiógrafo Sequoia 512 com uma sonda de multifrequência, e para o DI foi utilizado equipamento FloMap II (Endosonics modelo 5600). Os dois estudos foram efectuados com um intervalo máximo de vinte e quatro horas.

Cálculo da Reserva Coronária por EDTT

A técnica foi realizada conforme metodologia previamente descrita. Durante todo o exame o doente é sujeito a monitorização electrocardiográfica e monitorização de saturação de oxigénio. Efectua-se a medição de pressão arterial antes, durante e no fim do estudo.

Depois de identificado o fluxo Doppler cor, correspondente ao segmento distal da artéria coronária DA, regista-se o espectro Doppler do fluxo da DA em basal e após a administração de adenosina em infusão.

As imagens são armazenadas no disco rígido do ecocardiógrafo, para posterior análise e quantificação. Quando necessário é administrado agente de contraste I.V. Levovist® para intensificação do sinal Doppler. Um dos equipamentos tem a possibilidade de accionar o modo harmónico para o Doppler cor, o que permite eliminar o “ruído” proveniente dos tecidos e aumentar o sinal Doppler proveniente do contraste. Procede-se ao cálculo da média dos valores da velocidade máxima e da integral do fluxo diastólico em basal e durante a administração de adenosina. Os valores da RC são o resultado da razão entre os valores das velocidades máximas do fluxo diastólico.

Cálculo da Reserva Coronária por Doppler Intracoronário

A determinação da RC por DI foi efectuada no laboratório de hemodinâmica de referência. A avaliação da reserva coronária durante o cateterismo é realizada com DI. Após a realização do cateterismo diagnóstico, é trocado o cateter diagnóstico por um cateter de angioplastia (6 ou 8 Fr.) sem orifícios. Através deste cateter é introduzida uma guia de angioplastia 0,014 polegadas com um transdutor de Doppler na sua extremidade distal. Após atravessar a lesão de interesse com o fio Doppler (avança-se aproximadamente 2,0 cm após a lesão) e antes da emergência de ramos colaterais importantes obtém-se um traçado de Doppler em repouso com qualidade (guiados pela qualidade do sinal e também pelo som). Regista-se nesse momento a velocidade basal e em simultâneo a pressão arterial e frequência cardíaca para certificação da estabilidade das condições hemodinâmicas durante o estudo. Após a administração de adenosina intracoronária num bólus rápido (20 µg para a coronária direita ou de 40 µg para a coronária esquerda) regista-se novamente o fluxo hiperémico, a frequência cardíaca e a tensão arterial. São considerados valores normais de reserva coronária entre 2,3 a 2,5 consoante os estudos.

	Ecocardiograma Doppler Transtorácico
Equipamento Ultrasónico	Sequoia 512
Protocolo de imagem	Tempo Real, baixo PRF, Cor
Agente de Contraste	Levovist duas ampolas de 4 mg (300mg/ml), 1 a 2 ml/min em 5 min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina 140 µg/kg/min

Tabela 4.2.I - Indicação das condições logísticas experimentais.

Análise Estatística

Todos os dados obtidos por EDTT e por DI foram transferidos para uma folha Excel (Microsoft Office) para análise estatística com software “GB Stat” e “Analyze-it”. Foi aplicado o teste de Student e Anova, calculada a regressão linear e o grau de correlação entre as variáveis estudadas.

Resultados

No estudo inicial o cálculo da reserva coronária da DA por EDTT foi exequível em 22 dos 24 doentes estudados. No grupo final de 42 doentes o cálculo da reserva coronária da DA distal por EDTT foi exequível em 39 doentes e por DI em 38 doentes. Os inêxitos observados com o EDTT foram sempre devidos a má janela acústica e com o DI à impossibilidade de passagem do fio Doppler (Tabela 4.2.II). Os valores de análise de estatística descritiva estão indicados na Tabela 4.2.III.

Teste de Student - os dois grupos de valores da RC representam populações idênticas, com curvas de distribuição sobreponíveis, $p < 0,5$. Estudo Anova - revelou boa reprodutibilidade da técnica com limites de concordância com valores entre + e - 0,3. A recta de regressão é definida por $Y = 0,87x + 0,3975$ com coeficiente de correlação $R^2 = 0,79$ (Figura 4.2.1).

Nº	EDTT	DI	Nº	EDTT	DI	Nº	EDTT	DI
1	2,1	2,3	15	1,3	1,2	29	2,8	2,8
2	1,7	2,0	16	2,7	2,6	30	1,8	2,1
3	3,2	2,5	17	3,3	-	31	3,0	3,0
4	4,3	4,4	18	3,0	2,6	32	2,4	2,4
5	1,8	2,9	19	1,5	1,0	33	1,9	1,9
6	1,8	1,8	20	-	1,8	34	2,8	2,6
7	1,9	1,9	21	2,0	1,7	35	1,4	-
8	2,8	2,8	22	2,5	2,9	36	2,7	2,2
9	2,7	1,5	23	2,3	-	37	1,8	1,8
10	-	2,7	24	2,1	2,3	38	2,6	2,2
11	2,3	2,3	25	4,3	4,4	39	4,4	4,1
12	3,3	3,3	26	3,2	2,8	40	3,3	3,3
13	3,0	-	27	-	2,0	41	4,1	4,2
14	2,5	3,0	28	3,1	2,9	42	3,4	2,9

Tabela 4.2.II - Valores da reserva coronária por doente para ambas as técnicas utilizadas, EDTT e DI.

	N	Média	SD	SE	95% CI of Media
EDTT	39	2,64	0,806	0,129	2,38 to 2,90
DI	38	2,56	0,806	0,131	2,29 to 2,82
	N	Mediana	IQR	95% CI de Mediana	
EDTT	39	2,70	1,20	2,10 to 3,00	
DI	38	2,55	0,90	2,20 to 2,80	

Tabela 4.2.III - Valores de análise estatística descritiva para ambas as técnicas utilizadas, EDTT e DI

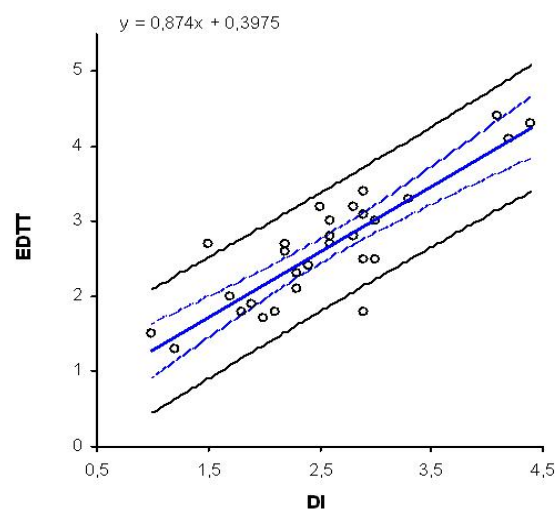


Figura 4.2.1 - Gráfico de regressão linear entre os valores de EDTT e DI

	N	35	7 casos excluídos
R ²	0,79		
R ² corrigido	0,78		
SE	0,3816		

	Coefficiente	SE	p	95% IC
Intercepção	0,3975	0,2153	0,0739	-0,0406 a 0,8356
Declive	0,8740	0,0794	<0.0001	0,7126 a 1,0355

Tabela 4.2.IV - Valores referentes à análise estatística por regressão linear entre os valores de reserva coronária por EDTT e por DI.

Discussão e Conclusões

Constitui um objectivo antigo o estudo das artérias coronárias, a identificação do seu fluxo e a sua caracterização por ecocardiografia transtorácica (284) e transesofágica (285). Os primeiros trabalhos de Fusejima referem a possibilidade de identificação do fluxo da DA por ecocardiografia. Memmola 1994 estudou e caracterizou o fluxo da DA proximal através da ecocardiografia transesofágica. Hozumi em 1998 (286) e Caiati em 1999 (287) validaram o EDTT na determinação da reserva coronária da DA. Com o desenvolvimento tecnológico dos equipamentos de ultrasonografia, e com a recente utilização de produtos de contraste ultrasónico de administração endovenosa, que permitem potenciar o sinal Doppler do fluxo coronário, tem-se verificado uma expansão da aplicação do EDTT no estudo da reserva coronária da DA. A sua aplicação no estudo de outras situações como no âmbito da doença coronária (288), angioplastia revascularização ou reestenose das coronárias, em doentes com bloqueio completo de ramo esquerdo (289), na Diabetes Mellitus tipo 2 (290), hipertensão arterial, hipertrofia ventricular esquerda (291), síndrome X (292), tem sido referida por vários autores.

O conceito de reserva coronária baseia-se na capacidade de modulação da vasomotricidade da microcirculação coronária, e traduz a razão entre os fluxos coronários em hiperemia máxima e basal. O cálculo da reserva coronária resulta da razão entre as velocidades máxima do fluxo diastólico em hiperemia e basal.

A angiografia coronária tem sido designada de “luminologia” pondo em relevo a pouca sensibilidade desta técnica em informar sobre a repercussão funcional do componente obstructivo. Tem sido crescente o interesse da utilização da informação funcional para decisão terapêutica de revascularização.

Os resultados do nosso trabalho são sobreponíveis aos publicados na literatura. Actualmente, já com algumas centenas de determinações da reserva coronária, o método tornou-se uma rotina. Contudo existem alguns aspectos de execução técnica que merecem alguns comentários. O primeiro refere-se ao tempo de execução do exame, que com a utilização de adenosina em vez do dipiridamol é encurtado substancialmente. No entanto, os efeitos secundários da adenosina, que são fundamentalmente a inspiração profunda e a taquipneia, interferem com alguma frequência, na qualidade do exame. Uma informação prévia e detalhada ao doente tem resultados positivos, pois a sua preparação e antecipação para os eventuais sintomas, permite na maior parte dos casos, um maior controlo dos sintomas. É nossa opinião que, se no início do exame se conseguir identificar o fluxo da DA, não será de forma geral necessário utilizar o contraste ultrasónico, devendo passar-se imediatamente à fase de hiperemia, encurtando-se o tempo do exame.

O número de doentes estudado, referido neste trabalho poderá ser uma limitação. A razão deste facto deve-se à dificuldade logística em obter a avaliação da RC com DI; como referimos previamente esta avaliação não é efectuada por sistema ou com regularidade nos laboratórios de hemodinâmica. No caso destes doentes, o cálculo da reserva coronária por EDTT foi efectuada previamente por um único executante enquanto a avaliação por DI foi efectuada a posteriori por dois executantes.

Embora estes tivessem conhecimento dos valores da reserva coronária por EDTT, a metodologia utilizada na avaliação da reserva coronária efectuada por DI é suficientemente transparente para que os resultados não traduzam a influência dos valores de reserva coronária conhecidos previamente.

A natureza da patologia em causa, não foi uma limitação do trabalho, uma vez que se pretendiam comparar, no mesmo doente, num intervalo de tempo reduzido, dois métodos de análise de uma mesma variável.

Os resultados revelam que o cálculo da reserva coronária da DA por EDTT é exequível na prática clínica e tem menores custos económicos que outras técnicas classicamente utilizadas; é uma técnica não invasiva, de fácil repetição, bem tolerada pelo doente, e finalmente, apresenta uma boa correlação com o Doppler intracoronário.

Ecocardiografia de Perfusão do Miocárdio em Tempo Real e Reserva Coronária da Artéria Descendente Anterior

Introdução

Experimentalmente a ecocardiografia de contraste do miocárdio permite quantificar variações de velocidade do VFM. No homem e nos diferentes estádios da doença arterial coronária, o VFM permanece constante em condições basais. Durante a hiperemia o fluxo diminui a partir de estenoses superiores a 40 % e é semelhante ao fluxo basal a partir de estenoses de cerca de 80 %.

O PET permite definir a importância funcional de lesões estenóticas entre 40 e 75 %, através da quantificação da reserva de fluxo miocárdico que se correlaciona directamente com VFM. A cinética de repleção de um agente de contraste no miocárdio pode ser estudada através de ecocardiografia transtorácica.

A introdução da modalidade de PPI permite o estudo da perfusão do miocárdio em tempo real.

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar a relação entre os valores de reserva coronária obtidos através de dois métodos diferentes de análise, a ecocardiografia transtorácica de perfusão do miocárdio em tempo real e a ecocardiografia Doppler transtorácica do fluxo da artéria descendente anterior.

Material e Métodos

Foram incluídos neste estudo 48 doentes referidos ao nosso laboratório para estudo ecocardiográfico por suspeita de doença coronária da DA. Foram excluídos doentes com prévio síndrome coronário agudo do território da DA, com cardiopatia valvular, cardiopatia dilatada, cardiopatia hipertrófica e cardiopatias congénitas. Foram efectuadas as duas técnicas, primeiro o EDTT e imediatamente após o ECM com equipamento de alta definição ATL 5000 e Sequoia 512 com sondas multifrequência. Para os estudos EDTT e ECM foi utilizado como agente de contraste Optison® (Mallinckrodt Medical, Lda). A hiperemia foi desencadeada com infusão I.V. de adenosina na concentração de 140g/kg/min.

	EDTT	ECM
Equipamento Ultrassónico	Plataforma Sequoia 512, Plataforma ATL 5000	
Protocolo de imagem	Tempo real, baixo PRF, Cor	Tempo real, PPI (ATL) Tempo real, PPI (Sequoia)
Agente de Contraste	Optison 0,1 a 0,5 ml/min	Optison 0,2 a 0,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina 140 µg/kg/min	Adenosina 140 µg/kg/min

Tabela 4.2.V – A tabela representa as condições de equipamento, sonda, protocolo de aquisição de imagem, agente de contraste e agente vasodilatador utilizados.

Cálculo da Reserva Coronária por EDTT

A técnica foi realizada conforme previamente descrito.

Por EDTT foi identificado o fluxo distal da artéria coronária descendente anterior; nos casos em que houve dificuldade de obtenção de uma definição adequada do fluxo a cor da DA utilizámos por via endovenosa, um agente de contraste ultrassónico Optison® 3,0 ml, em infusão contínua entre 0,1 a 0,5 ml/min). Foi efectuado o registo espectral Doppler pulsado em condições basais e após infusão de adenosina. O cálculo da RC resultou da razão entre os valores da velocidade máxima do componente diastólico do espectro Doppler durante hiperemia e basal (Figura 4.2.2).

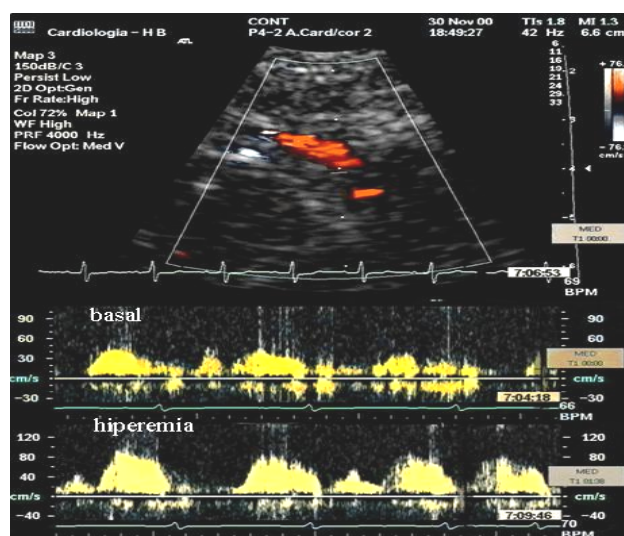


Figura 4.2.2 – A imagem superior representa o fluxo a cor da DA distal por EDTT. Imagem inferior representa o espectro Doppler pulsado da DA distal em basal e durante hiperemia com adenosina em infusão na concentração de 140µg/kg/min.

Estudo de Perfusão do Miocárdio por ECM

A técnica foi realizada conforme previamente descrito.

O estudo da perfusão do miocárdio por ecocardiografia foi feito através de ECM, em modo PPI (ATL) e CCI (Sequoia) com aquisição de imagens em tempo real antes e durante a administração contínua de contraste I.V. Optison® 3 ml, em infusão de 0,1 a 0,5 ml/min.

Foram obtidas imagens em duas câmaras e quatro câmaras. Tanto na fase basal como na fase de hiperemia com adenosina, as imagens foram adquiridas durante dez segundos e posteriormente transferidas para um computador e analisadas com software de imagem; durante todo o processo de aquisição de imagens foram mantidas constantes as definições do ecocardiógrafo.

Para as imagens obtidas a partir de ecógrafo ATL 5000 e Sequoia 512 foram utilizados software de imagem respectivamente HDI Lab e DataPro. Foram calculadas curvas de perfusão por análise de sinal de intensidade de pixel, em função do tempo, e o valor das derivadas das respectivas curvas, de regiões de interesse previamente definidas e mantidas nos mesmos locais do miocárdio durante o estudo na parede anterior média e apical. A variação temporal qualitativa de intensidade do contraste traduz-se através duma curva cuja cinética é compatível com a de uma curva de perfusão (Figura 4.2.3).

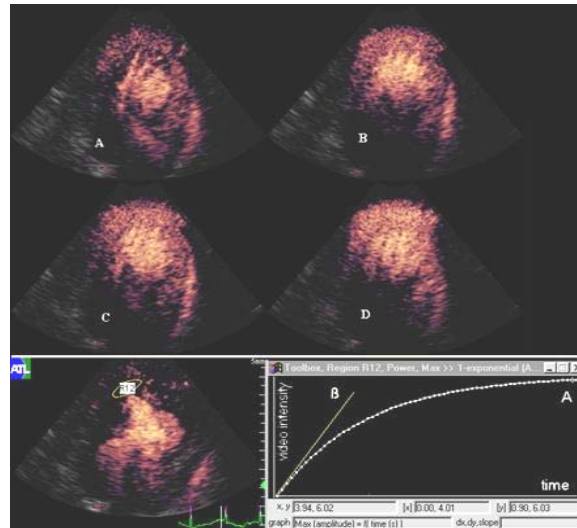


Figura 4.2.3 - Parte superior: sucessão 4 de imagens de ECM em ciclos cardíacos consecutivos. Parte inferior: localização da região de interesse para análise quantitativa da perfusão representada em curva de perfusão com indicação de A, e β .

A razão entre os valores das curvas obtidas durante a hiperemia máxima com adenosina e em condições basais representa a reserva coronária. A razão entre o produto de β e A durante a hiperemia máxima e em condições basais representa a reserva do fluxo miocárdico.

Reserva Coronária (RC)	
EDTT	vel. máx. hiperemia / vel. máx. basal
ECM	β hiperemia / β basal
	FM hiperemia / FM basal

Tabela 4.2.VI – Parâmetros analisados para cálculo da RC por cada uma das técnicas utilizadas.

Resultados

Os resultados dos valores estatísticos descritivos obtidos estão representados nas figuras 4.2.4, 4.2.5 e 4.2.6. A análise de regressão entre os parâmetros analisados estão representados nas tabelas 4.2.VII e 4.2.VIII.

Para valores mais baixos de RC ambas as técnicas têm sensibilidade semelhante, para valores mais elevados de RC o poder de discriminação da reserva do FM é maior que a razão β .

A RC calculada por ECM através tanto da razão β como da razão FM correlaciona-se com a RC calculada por EDTT positivamente e com grau de significância de 0,0001 com R2 respectivamente de 0,72 e 0,77.

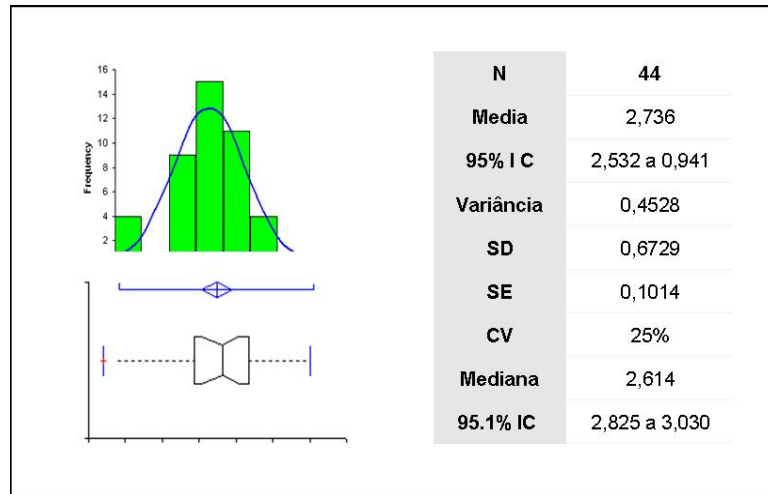


Figura 4.2.4 - Estatística descritiva para valores de RC por EDTT

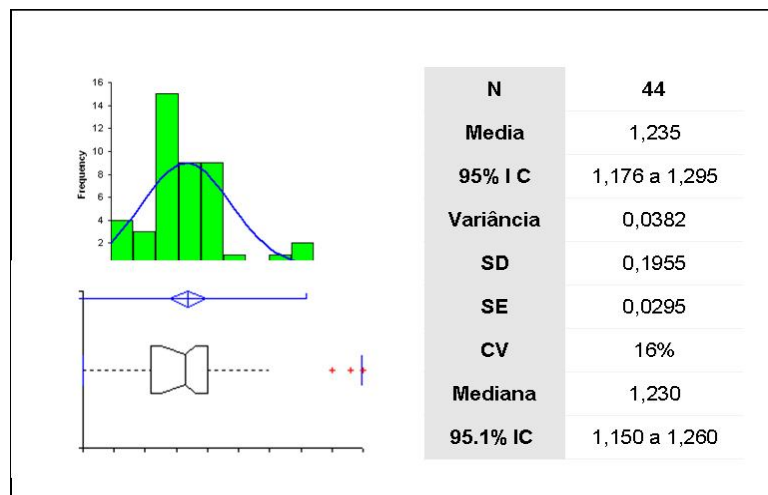


Figura 4.2.5 - Estatística descritiva para valores de RC de β

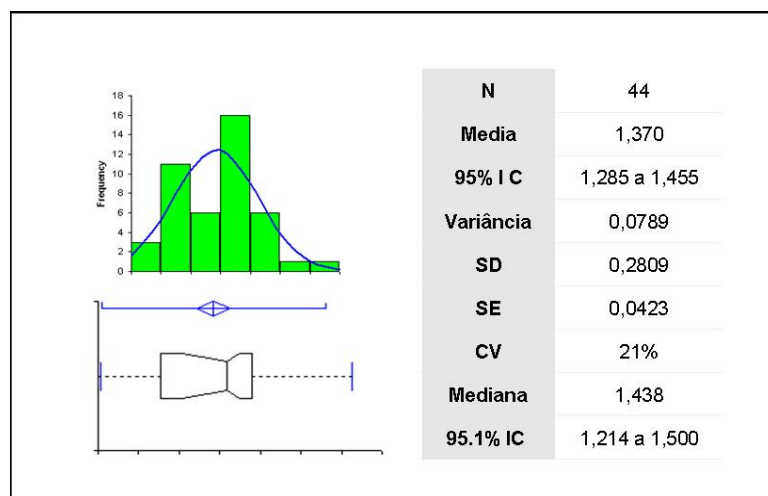


Figura 4.2.6 - Estatística descritiva para valores de fluxo miocárdico.

N	44
R²	0,72
R² corrigido	0,72
SE	0,3581

	Coefficiente	SE	p	95% IC
Intercepção	-0,8791	0,3492	0,0157	-1,5839 a -0,1743
Declive	2,9266	0,2793	<0.0001	2,3629 a 3,4902

Tabela 4.2.VII – Valores estatísticos da análise de regressão entre valores de RC por EDTT e por ECM (β)

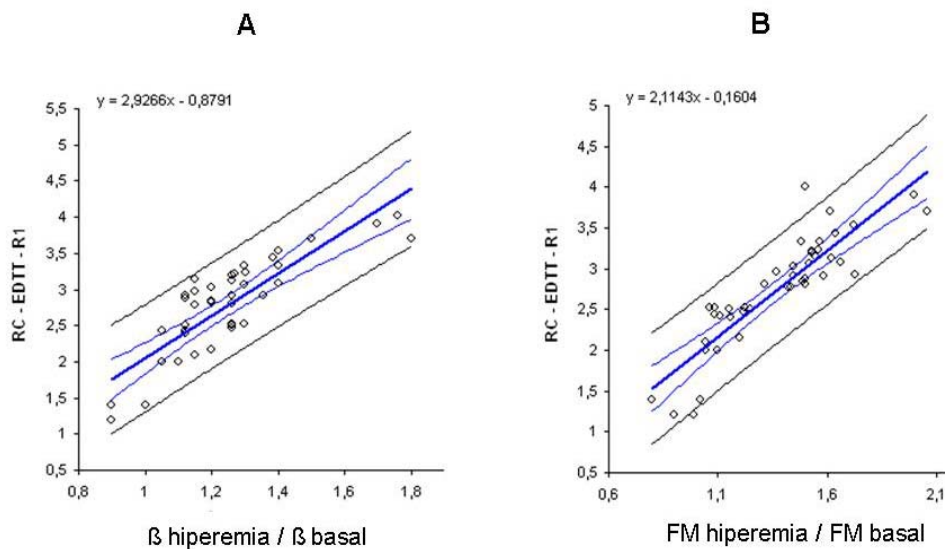


Figura 4.2.7 – Em A e B estão representados os gráficos de análise de regressão respectivamente entre os valores de RC por EDTT e por ECM (β) e os valores de RC por EDTT e de reserva do fluxo miocárdico por ECM.

N	44
R²	0,78
R² corrigido	0,77
SE	0,3201

	Coefficiente	SE	p	95% CI
Intercepção	-0,1604	0,2430	0,5127	-0,6507 a 0,3299
Declive	2,1143	0,1738	<0.0001	1,7636 a 2,4651

Tabela 4.2.VIII – Valores estatísticos da análise de regressão entre valores de RC por EDTT e de Reserva do fluxo miocárdico por ECM.

	Fórmula da recta	R ²	p <
EDTT vs ECM (β)	$y = 2,9266 x - 0,8791$	0,72	0,0001
EDTT vs ECM (FM)	$y = 2,1143 x - 0,1604$	0,77	0,0001

Tabela 4.2.IX – Análise de correlação com indicação de fórmulas das rectas, coeficiente de correlação e significância estatística da correlação entre as diferentes técnicas.

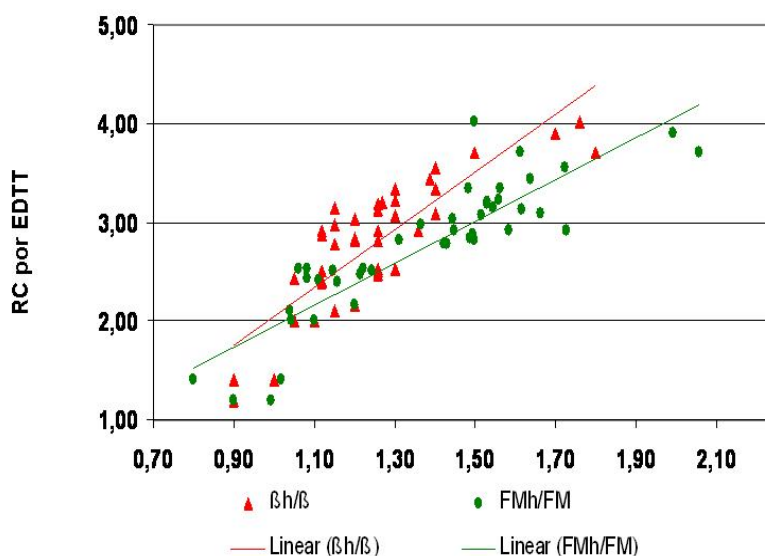


Figura 4.2.8 – São representadas as rectas de regressão para os valores de RC por EDTT em ordenadas e os valores da razão de β em hiperemia vs basal, e os valores da razão entre o FM em hiperemia vs basal em abscissas.

Discussão e Conclusões

Em 1998 Wei demonstrou que a infusão de contraste ultrasonográfico a velocidade constante permitia a quantificação do VFM através da ecocardiografia de contraste (256, 257). Tanto a RC como a ECM fornecem informação em relação à função da microcirculação correspondente às respectivas áreas de músculo cardíaco; contudo a RC, em situações hemodinamicamente estáveis, está principalmente dependente das resistências da microcirculação, traduzindo a função microvascular independentemente da dimensão da área de perfusão (254, 255, 257).

Demonstramos através deste trabalho que é possível com um método não invasivo, a ECM em tempo real, estudar a velocidade de preenchimento de contraste no miocárdio e analisar a variação desta velocidade no contexto de hiperemia e assim calcular a reserva coronária da artéria responsável por essa área do miocárdio. A correlação encontrada é satisfatória e estatisticamente significativa, $p < 0,001$. Os resultados observados revelam que neste grupo de doentes os valores da RC obtidos através dos dois métodos descritos não apresentam diferença de distribuição (populações sobreponíveis $p = 0,5$) e se correlacionam de forma estatisticamente significativa.

Enquanto o EDTT só permite a avaliação da RC da DA, o ECM poderá, e com base nos resultados preliminares obtidos, além de complementar o estudo de perfusão do miocárdio, permitir o acesso a valores de RC de outras regiões de forma não invasiva. Em 2001 Wei demonstra a possibilidade de calcular a reserva coronária através de técnica semelhante à que descrevemos (109), e de avaliar de forma não invasiva a gravidade da estenose coronária (294, 295); de facto o autor demonstra a existência de uma correlação entre a RC determinada por ECM e o grau de estenose da coronária por angiografia quantitativa.

Estamos perante duas técnicas ecocardiográficas diferentes que utilizam abordagens e metodologias diferentes, mas que no final traduzem o mesmo conceito de perfusão do miocárdio através da microcirculação coronária.

Neste grupo de doentes, os valores calculados para a reserva coronária, através dos dois métodos descritos, EDTT e ECM correlacionam-se positivamente e com elevado grau de significância estatística.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio versus Cintigrafia Cardíaca na Análise de Perfusão do Miocárdio

Objectivos

Em 60 doentes com suspeita de isquémia do miocárdio por prova de esforço sugestiva ou positiva, foi efectuada a comparação entre duas técnicas de imagem na identificação de defeitos de perfusão do miocárdio, a cintigrafia cardíaca e a ecocardiografia de contraste do miocárdio.

Material e Métodos

A população foi constituída por 60 doentes referenciados para estudo de eventual doença coronária com as características descritas na Tabela 4.2.X. Todos os doentes efectuaram prova de esforço que foi positiva ou duvidosa para o diagnóstico de isquémia. Foram excluídos doentes com acidente cérebro vascular prévio, síndrome coronário agudo, cardiomiopatia hipertrófica ou doença valvular.

Em todos os doentes foi efectuada ecocardiografia de contraste do miocárdio e cintigrafia cardíaca e as duas técnicas foram feitas com intervalo máximo de 10 dias.

	Homens	Mulheres
Número	(38) 69%	(17) 31%
Idade ± SD	66 ± 18	68 ± 12
IMC	26 ± 6	28 ± 5
Hipertensão arterial	(16) 42%	(9) 55%
Diabetes mellitus 2	(9) 24%	(5) 27%
Dislipidemia	(12) 32%	(6) 35%
Tabagismo	(19) 50%	(2) 12%

Tabela 4.2.X – Características da população estudada.

Cintigrafia Cardíaca

As cintigrafias cardíacas foram efectuadas em centros idóneos. Foi utilizado 99mTC-sestamibi como marcador radioactivo e adenosina como agente vasodilatador. Foi utilizado protocolo de um dia, com imagens adquiridas primeiro em “*stress*” e depois em repouso.

Foram analisadas as imagens obtidas em longo eixo horizontal e vertical, e codificadas a cor e divididas em cinco segmentos cada: dois basais, dois médios e um apical. Por cada doente foram analisados um total de vinte segmentos: dez segmentos em basal e dez segmentos durante vasodilatação. As imagens foram revistas e reclassificadas por dois operadores independentes desconhecendo o resultado da ecocardiografia de contraste do miocárdio e da seguinte forma: perfusão normal = 1,0; perfusão diminuída = 0,5; perfusão ausente ou severamente diminuída = 0,0.

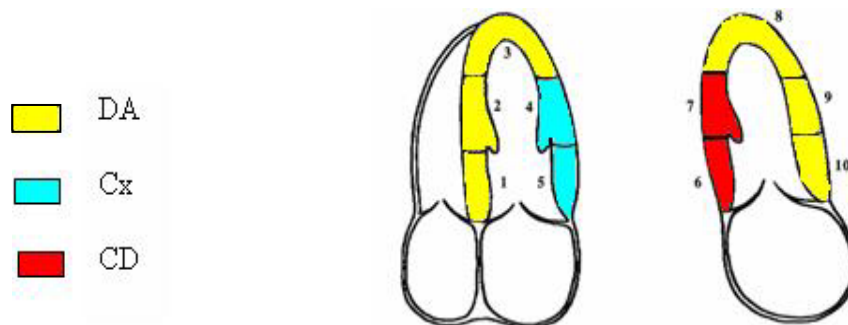


Figura 4.2.9 – Representação dos segmentos do ventrículo esquerdo analisados e respectiva correspondência com o território coronário.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

A ecocardiografia de contraste do miocárdio foi efectuada em tempo real, modo não destrutivo com baixo índice mecânico, segundo técnica descrita previamente. Foram utilizados os equipamentos de ultrasons de alta definição, ecocardiógrafo Sequoia 512, e ecocardiógrafo ATL 5000. Foi utilizado como agente de contraste Optison® 3 ml, em infusão contínua entre 0,1 a 0,5 ml/min. O agente vasodilatador foi a adenosina em infusão na concentração de 140µg/kg/min. Foram adquiridas imagens em apical, duas e quatro câmaras, correspondendo aproximadamente aos planos adquiridos por SPECT, divididas em cinco segmentos cada: dois basais, dois médios e um apical. Por cada doente foram analisados vinte segmentos: dez em basal e dez durante vasodilatação.

Para a análise de perfusão foi utilizado software de análise de imagem MCE 2.7 Yabko, LLC 2002, USA com módulo de análise paramétrica segundo foi descrito previamente.

Os resultados foram analisados por dois operadores independentes, desconhecendo os resultados da cintigrafia. A classificação da perfusão foi efectuada de igual modo: perfusão normal = 1,0; perfusão diminuída = 0,5; perfusão ausente ou severamente diminuída = 0,0.

Análise das Imagens

O resultado final da análise das imagens e sua comparação em basal e durante vasodilatação foi traduzido em normal, defeito de perfusão reversível e defeito de perfusão irreversível conforme Tabela 4.2.XI.

Para cada doente foi elaborada uma tabela em que foi introduzida a classificação da perfusão para cada segmento analisado em função do plano utilizado.

		Vasodilatação		
		1,0	0,5	0,0
Basal	1,0	N	R	R
	0,5	-	I	R
	0,0	-	-	I

Tabela 4.2.XI – Classificação da perfusão dos segmentos analisados em basal e durante a vasodilatação com adenosina (normal (N), reversível (R), irreversível (I) e segundo os dois métodos SPECT e ECM.

Análise Estatística:

Foi analisada a concordância entre a classificação de cada segmento feito pelos duas técnicas pelo método de κ . Foi calculada a variabilidade intra e inter-observador para a classificação da perfusão através da ECM e do SPECT.

Resultados

No final foi analisado o padrão de perfusão em 520 segmentos por ECM e em 520 segmentos por SPECT correspondendo a 52 doentes (5 segmentos por doente em basal e durante vasodilatação para cada um das técnicas). Foram excluídos do estudo cinco doentes com imagens SPECT não adequadas por presença de artefactos e ou atenuação e seis doentes por inadequação de imagens por ECM por defeito de execução da técnica em dois, por interferência respiratória provocada pela adenosina em quatro. Ao todo foram excluídos 8 doentes porque três dos doentes eram comuns (Tabela 4.2.XII).

		SPECT	ECM
1	Doente nº 3	-	DE
2	Doente nº 5	Artefactos	DE
3	Doente nº 11	-	IR
4	Doente nº 18	Artefactos	IR
5	Doente nº 21	Artefactos	-
6	Doente nº 33	-	IR
7	Doente nº 47	Artefactos	IR
8	Doente nº 55	Artefactos	-

Tabela 4.2.XII – Número de doentes e razão da exclusão do estudo: por defeito de execução (DE) ou por interferência respiratória (IR).

Foram identificados com padrão de perfusão normal por ECM e SPECT respectivamente 374 e 381 segmentos. A diferença observada deve-se fundamentalmente aos segmentos identificados como reversíveis por cada uma das técnicas, 12 por ECM e 5 por SPECT.

As duas técnicas são concordantes na identificação de 368 segmentos com perfusão normal ($\kappa=92$, concordância de 94%), de 54 segmentos com defeitos reversíveis de perfusão ($\kappa=62$, concordância de 75%), e de 63 defeitos irreversíveis de perfusão ($\kappa=80$, concordância de 88%).

Foram encontrados valores para a variabilidade intra e inter-observador de respectivamente 0,88 e de 0,82.

		SPECT			
		N	R	I	Total
ECM	N	368	5	1	374
	R	12	54	11	77
	I	1	6	63	70
	Total	381	65	75	521

Tabela 4.2.XIII – Distribuição do número de segmentos analisados em função da classificação de perfusão normal (N), reversível (R), irreversível (I) e da técnica utilizada.

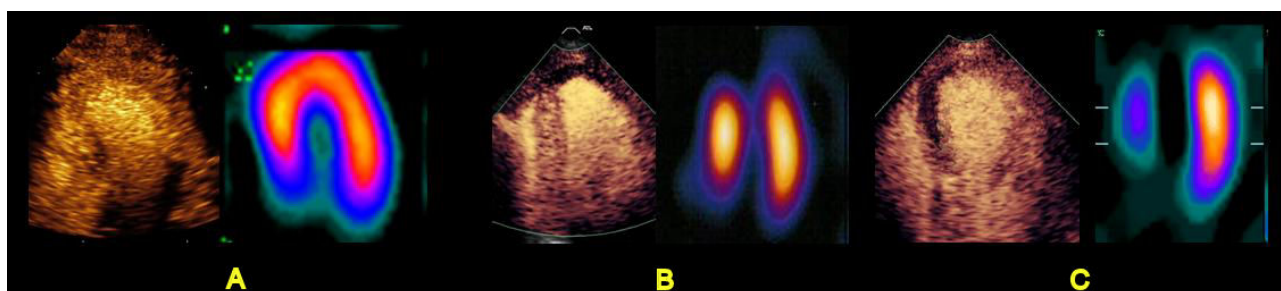


Figura 4.2.10. – Observa-se concordância na análise de perfusão e identificação de defeitos de perfusão entre a ECM e o SPECT. Em A observa-se perfusão normal, em B defeito fixo apical e em C defeito fixo anterior extenso.

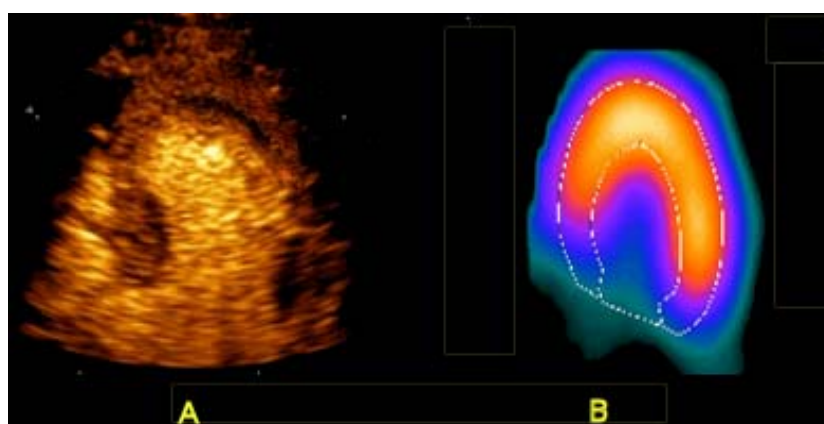


Figura 4.2.11. – Comparação de imagens por ECM (A) e SPECT (B) em doente com Diabetes tipo 2 e prova de esforço sugestiva de isquémia por critérios eléctricos tardios. Durante a acção vasodilatadora de adenosina observa-se em A defeito de perfusão sub-endocárdico e em B padrão de perfusão normal. A ECM tem maior capacidade de resolução espacial e permite identificar defeitos de perfusão transmuralis.

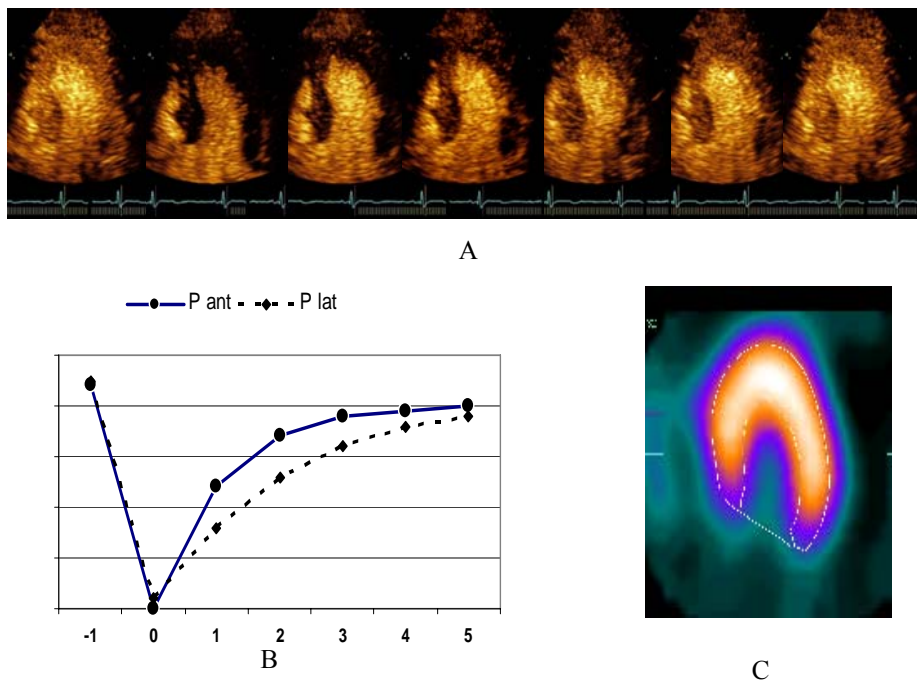


Figura 4.2.12 – Exemplo de doente com hipertensão arterial (HTA) e hipertrofia ventricular esquerda (HVE) com clínica duvidosa de angor de esforço. Em A observa-se uma sucessão de imagens tele-sistólicas de ECM durante vasodilatação com adenosina desde a destruição das microbolhas até à completa repleção das paredes do ventrículo esquerdo pelo contraste. Observa-se visualmente o atraso de preenchimento da parede lateral, confirmada pela curva de perfusão em B onde se compara com a parede anterior e confirma a existência de atraso de perfusão. Em C observa-se a imagem SPECT durante a acção de adenosina com normal padrão de perfusão das duas paredes.

Discussão e Conclusões

As duas técnicas que comparámos têm características diferentes e baseiam-se em “marcadores” com características diferentes. As microbolhas são verdadeiros marcadores intravasculares, permanecendo no espaço intravascular sem sofrerem difusão para o espaço intersticial ou para os tecidos. Durante a infusão do agente de contraste a intensidade do sinal traduz o volume relativo de sangue miocárdico. Cerca de 90% deste sangue existe nos capilares (115). Quando se faz a aquisição de imagens na tele-sístole sabemos que estamos a analisar o volume de sangue capilar porque as arteríolas e vénulas estão nessa fase esvaziadas de sangue. A integridade da rede capilar é um factor determinante para a existência de contraste no espaço vascular.

Durante o SPECT o ^{99m}Tc -sestamibi difunde-se para o espaço extravascular e é captado passivamente pelo miócito dependendo da integridade da membrana celular (296). Como a concentração de ^{99m}Tc -sestamibi depende fundamentalmente da quantidade de fluxo de sangue para a respectiva região miocárdica, a diferença de perfusão entre duas regiões representa diferenças de fluxo sanguíneo (297, 299).

Na ECM a variação de contraste numa determinada região representa uma variação do volume de sangue da microcirculação coronária. A ausência ou diminuição significativa deste volume de sangue representa disfunção total ou parcial, definitiva ou temporária da microcirculação coronária. No acidente coronário agudo com necrose transmural a microcirculação é lesada definitivamente (298, 301).

Com o SPECT a retenção de ^{99m}Tc -sestamibi traduz não só a existência de microcirculação coronária funcionante como de viabilidade do miócito. Em áreas de necrose não se observa retenção de ^{99m}Tc -sestamibi (302). Apesar da existência de resultados falsos positivos e falsos negativos com o SPECT a comparação das duas técnicas para estudo da perfusão do miocárdio revela valores de concordância significativos.

Os resultados revelaram que a ECM em relação ao SPECT apresenta valores semelhantes de sensibilidade para o diagnóstico de defeitos de perfusão ($p < 0,2$), que tem maior capacidade para identificar os defeitos de perfusão em termos de transmuralidade ($p < 0,05$).

Este trabalho utilizou sistemas ultrasónicos com metodologia PPI (ATL) e CCI (Sequoia). Actualmente com “*software*” de perfusão mais evoluído é possível ter maior sensibilidade com a ECM. Este facto explica a diferença de valores encontrados para a concordância observada na parede anterior e septo interventricular e na parede lateral e pósterio-inferior. Embora continue a ser importante o alinhamento vertical da parede a analisar já é possível obter num só sector de imagem ecocardiográfica maior qualidade de informação.

A definição espacial dos defeitos de perfusão é maior para a ECM, podendo inclusivamente ser identificados defeitos de perfusão sub-endocárdicos não visíveis por SPECT. A maior capacidade da ECM para discriminar alterações transmurais de perfusão explica a menor concordância entre as duas técnicas, a favor da ECM na identificação de defeitos reversíveis.

Não foi analisado em que medida a quantificação da perfusão por ECM poderia ter interferido nos valores apresentados. Trabalhos posteriores de Shimoni e Senior apontam para uma maior sensibilidade da ECM na quantificação da perfusão (139, 293).

A técnica de análise de imagem utilizada permite uma semi quantificação traduzida por diferentes codificações de cor. Na altura em que este trabalho foi realizado ainda não estavam disponíveis em equipamentos de ecocardiografia algoritmos de análise paramétrica. Actualmente com a rápida evolução técnica que se tem verificado nesta área já é possível, em alguns sistemas ultrasónicos ter acesso a este tipo de informação “*on-line*”, durante a execução do exame.

Concluimos que a ECM revela concordância significativa com o SPECT para análise da identificação de defeitos de perfusão do miocárdio da parede anterior na doença coronária neste grupo de doentes isquémica da DA, sendo contudo mais sensível que o SPECT na definição espacial dos defeitos de perfusão.

Conclusões da Comparação dos Métodos de Análise da Microcirculação Coronária

Comparámos técnicas não invasivas como o EDTT e a ECM na determinação da RC e na avaliação da perfusão do miocárdio com técnicas consideradas de referência como o DI e o SPECT.

Ecocardiografia Doppler Transtorácica vs Doppler Intracoronário

A primeira referência à aplicação do EDTT na determinação da RC foi feita por Hozumi em 1998. O trabalho consistiu na avaliação da RC por EDTT em doentes com estenoses da artéria coronária descendente anterior (286).

A validação do método foi efectuada por Caiati em comparação com o DI. Os autores concluíram que a determinação da RC da DA por EDTT se correlacionava de forma significativa com o método invasivo DI (287).

Vários trabalhos utilizaram o EDTT na avaliação da RC da DA com ou sem utilização de agentes de contraste (303 - 305). Vários grupos tentaram encontrar valores de RC que tivessem capacidade discriminativa dos graus de lesões ou de previsão de reestenose após intervenção por angioplastia. Foi sugerido o valor de RC de 2,0 ou inferior como indicativo de elevada probabilidade de reestenose após angioplastia coronária (306), ou de reestenose intra-stent (307).

Valores de RC inferiores a 2,0 por EDTT apresentam uma sensibilidade de 92% e especificidade de 86% para o diagnóstico de estenose significativa da DA. Vários trabalhos referem a possibilidade de identificar o fluxo das artérias coronária direita, descendente posterior e circunflexa e determinar os respectivos valores de RC (308). A determinação da RC da artéria coronária direita foi validada por Lethen tendo também sido calculada uma boa correlação entre o EDTT e DI (309). Caiati correlacionou o valor da determinação da RC por EDTT com o SPECT na avaliação do significado funcional da estenose coronária, concluindo que a informação obtida por SPECT podia ser complementada por EDTT da DA (310).

No nosso primeiro trabalho foi possível concluir que o cálculo da RC da DA por EDTT apresenta uma correlação significativa com a RC calculada pelo método padrão o DI. O estudo foi limitado à avaliação da RC da DA. Actualmente, embora com uma percentagem de insucesso maior, é possível determinar a RC de territórios dependentes da circunflexa e da coronária direita.

Ecocardiografia Doppler Transtorácica vs Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Na literatura não encontramos nenhuma referência a trabalhos que comparassem estas duas técnicas. Com o nosso trabalho concluímos que existe uma correlação significativa entre os valores de RC e reserva do fluxo miocárdico (RFM) calculados por ECM e os valores de RC calculados por EDTT.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio vs SPECT

Em doentes com suspeita ou conhecimento de doença coronária foram comparados os métodos de ECM e SPECT (311, 312). Foi obtida uma concordância global de 81% para a relação perfusão normal versus anormal. Foram obtidos valores de concordância para cada um dos territórios da descendente anterior, coronária direita e circunflexa de respectivamente 81%, 76% e 72%. As maiores discrepâncias entre as duas técnicas foram observadas no território da artéria circunflexa.

O grupo de Morcef publicou um trabalho (311), em que comparou a ECM com o SPECT em doentes com doença coronária conhecida, tendo obtido valores globais de concordância de 84,8%. Existiu concordância território a território em 91,2% dos casos, com valores de 93,6%, 92,8% e 87,2% para respectivamente os territórios da descendente anterior, coronária direita e circunflexa.

A precisão do eco de *stress* com dipiridamol efectuada simultaneamente com a ECM para a detecção de doença coronária é maior em comparação com o SPECT (312, 313).

Em trabalho do grupo de Senior (316) a ECM e o SPECT revelaram-se equivalentes na identificação dos graus de necrose do miocárdio num grupo de doentes com 7 a 10 dias de evolução após SCA. Contudo a ECM foi superior na detecção de padrão de necrose com extensão inferior a 50% da espessura da parede do ventrículo esquerdo. Também a ECM apresentava maior capacidade de previsão de necroses mais extensas e mais graves. Durante isquémia prolongada, a

necrose do miocárdio correlaciona-se positivamente com o grau de lesão da microcirculação coronária (314, 315).

Na avaliação do padrão de perfusão do miocárdio é importante não só o normal preenchimento da espessura da parede em termos transmuralis, como também o tempo em que esse preenchimento se faz. Um total preenchimento da espessura da parede com demora superior a 5 segundos pode significar, no âmbito de uma artéria ocluída, a existência de suficiente circulação colateral e que o território em análise apresenta viabilidade (317).

A detecção de necrose do miocárdio por SPECT baseia-se na captação do marcador radioactivo e depende do volume de sangue capilar, da integridade da membrana do miocito (thallium-201) e da mitocôndria (technetium-99m). Depende também da fracção de extracção e do fluxo miocárdico. Por isso alguns centros administram nitratos previamente ao radio marcador, para maximizar o fluxo miocárdico e a captação do marcador radioactivo (318).

A superioridade da ECM na detecção de necrose está relacionada com as diferenças técnicas e fisiológicas dos dois métodos. A ECM tem maior resolução espacial que o SPECT. A ECM identifica isquémia e necrose sub-endocárdica, difícil de se obter com SPECT.

Concluimos que a ECM e o SPECT apresentam concordância significativa para a caracterização da perfusão do miocárdio por critérios qualitativos. A ECM permite a identificação de áreas de perfusão normal como a identificação de defeitos reversíveis e irreversíveis de perfusão, com superioridade na sua definição espacial.

Com base nestes resultados é possível de forma não invasiva e através da técnica ecocardiográfica estudar a fisiopatologia da microcirculação coronária. Dos trabalhos apresentados concluimos que o EDTT e a ECM são técnicas exequíveis na prática clínica. São menos dispendiosas que outras técnicas classicamente utilizadas; são técnicas não invasivas, de fácil repetição e bem toleradas pelo doente. Por estas razões pensamos que estas técnicas têm condições para poderem vir a ser mais frequentemente efectuadas nos laboratórios de ecocardiografia e aplicadas a várias situações fisiopatológicas.

Nos trabalhos que a seguir serão apresentados, o EDTT será utilizado no estudo da reserva microcirculação coronária dependente da DA. A ECM será utilizada para a avaliação qualitativa e quantitativa da perfusão do miocárdio também noutros territórios do ventrículo esquerdo assim como para o cálculo da reserva de fluxo miocárdico.

4.3 Hipertrofia do Ventrículo Esquerdo

Introdução

O aumento de massa ventricular esquerda é um fenómeno frequente de adaptação a sobrecarga de volume e de pressão. A fisiopatologia deste processo é complexa e nele intervêm vários factores celulares, humorais e neuronais. São exemplos de causas de aumento de massa ventricular esquerda a hipertensão arterial, a doença valvular aórtica, a cardiomiopatia hipertrófica, a cardiopatia dilatada e o exercício físico.

A hipertrofia ventricular esquerda é um factor de risco independente para doença cardiovascular e é acompanhada de maior prevalência de arritmias, isquémia silenciosa, síndromes coronários agudos (320), insuficiência cardíaca (319-321) e morte súbita (322).

O diagnóstico de HVE é habitualmente efectuado através da electrocardiografia e da ecocardiografia (323). É conhecida a maior sensibilidade e especificidade da ecocardiografia no diagnóstico de HVE (324, 325). Contudo continua a ser insuficiente a informação que a maioria dos laboratórios de ecocardiografia retira da análise das imagens do ventrículo esquerdo, pois o diagnóstico baseia-se na maioria dos casos na medição da espessura das paredes, ignorando o valor da massa ventricular esquerda (326-330).

A classificação dos limites de normalidade para a massa ventricular esquerda está representada na Tabela 4.3.I e considera o valor absoluto da massa (g) e a sua indexação em relação à superfície corporal (iMVE g/m²). A relação entre o valor da massa ventricular e o valor da espessura relativa das paredes (ERP) identifica diferentes formas geométricas do ventrículo esquerdo (Tabela 4.3.II). Por exemplo a remodelagem concêntrica apesar de não traduzir aumento de massa ventricular esquerda define um subgrupo de doentes com risco cardiovascular semelhante aos doentes com HVE (331, 332).

	Homens	Mulheres
Massa VE (g)	135	99
iMVE (g/m ²)	71	62
HVE	> 134 g/m ²	> 110 g/m ²

Tabela 4.3.I – Valores absolutos (g) e relativos indexados à superfície corporal (g/m²) de massa ventricular esquerda e valores de iMVE a partir dos quais se considera o diagnóstico de HVE em função do sexo.

		ERP	
		< 0,43	> 0,43
iMVE	< 110 g/m ²	Normal	Remodelagem Concêntrica
	> 110 g/m ²	Hipertrofia Concêntrica	Hipertrofia Excêntrica

Tabela 4.3.II – Classificação das formas geométrica do VE em função da ERP e do iMVE.

Alterações do Ventrículo Esquerdo na HTA

Estão descritas alterações morfofuncionais do ventrículo esquerdo em doentes com hipertensão arterial que englobam o miócito, o espaço intersticial e os vasos (329, 333).

É tema de discussão e investigação o modo como estas alterações se desenvolvem em função do tempo e da gravidade da hipertensão arterial e a sua relação com o aumento de massa do ventrículo esquerdo.

Em doentes hipertensos foram descritas precocemente alterações diastólicas do ventrículo esquerdo (332), assim como alterações do metabolismo da glucose e da insulina (325). Estas alterações foram relacionadas com aumento de fibrose intersticial e com alterações da função diastólica (323). Actualmente, o conceito de síndrome metabólico que relaciona a HTA com a dislipidemia (335), o excesso de peso e a resistência à insulina, veio clarificar a relação entre estas entidades patológicas que tão frequentemente se associam.

Microcirculação Coronária e Hipertensão Arterial

Na doença arterial hipertensiva a microcirculação coronária está precocemente alterada. Este facto está relacionado com o fenómeno de remodelagem vascular que acompanha a doença.

A doença vascular arterial hipertensiva é frequentemente acompanhada de alterações anatómicas e funcionais da microcirculação periférica e coronária. Estão referidas na literatura alterações da regulação vasomotora, alterações anatómicas e estruturais dos vasos de resistência, com aumento da razão entre a espessura parietal e o lúmen e diminuição da densidade ou rarefacção capilar.

A HTA é acompanhada por compromisso da vasodilatação coronária (335, 336) e da perfusão do miocárdio (164). Experimentalmente episódios de elevação da pressão arterial assim como episódios de isquémia condicionam fenómenos de adaptação vascular designados de remodelagem e que se traduzem por aumento da neovascularização e por alterações da espessura da parede vascular arterial. A HTA, independentemente da existência de HVE, está associada a alterações de remodelagem vascular (337). Alterações da geometria e aumento de massa do ventrículo esquerdo surgem precocemente no espectro de evolução da HTA (339).

Objectivos

Foi nosso objectivo caracterizar funcionalmente a microcirculação coronária em diferentes formas geométricas de ventrículo esquerdo, na doença vascular hipertensiva, na estenose aórtica e na cardiomiopatia hipertrófica.

Através das técnicas referidas e utilizando agentes vasodilatadores, pretendemos quantificar as variações do volume de sangue miocárdico e a reserva de fluxo miocárdico, que são determinadas pelo estado funcional da microcirculação coronária.

Pretendemos analisar a heterogeneidade da perfusão transmural do miocárdio e a existência de eventual relação entre o grau de disfunção da microcirculação coronária, a função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo.

Reserva Coronária Miocárdica em Diferentes Formas Geométricas de Hipertrofia do Ventrículo Esquerdo

Introdução

Em doentes jovens com critérios para hipertensão arterial “*borderline*” segundo os critérios da OMS existe diminuição da reactividade da microcirculação coronária por compromisso da vasodilatação máxima (340). Na hipertensão arterial e sem doença coronária o grau de diminuição da RC por EDTT está relacionado com o grau inapropriado de hipertrofia ventricular esquerda (338). Inclusive em doentes com dor torácica sem doença coronária e com RC diminuída observam-se alterações da função sistólica e diastólica compatível com a presença de isquémia (341).

Em doentes com CMH e HVE por hipertensão arterial e sem doença coronária angiográfica a RC está diminuída, observando-se uma maior redução nos doentes com cardiomiopatia hipertrófica. Nos doentes com hipertensão arterial a reserva coronária está diminuída pela existência de uma significativa vasodilatação basal (343).

A transmuralidade da perfusão do miocárdio está dependente do controlo da microcirculação coronária por mecanismos dependentes do endotélio, auto-regulação, sistema nervoso autónomo e por mecanismos extrínsecos. Com o aumento progressivo de espessura do miocárdio a distribuição do fluxo miocárdico faz-se com graus crescentes de dificuldade, com maior disfunção da perfusão das regiões endocárdicas e sub-endocárdicas.

Objectivos

Em diferentes formas de hipertrofia do ventrículo esquerdo, pretendemos com a utilização da ECM analisar a perfusão transmural do miocárdio com análise das regiões endocárdica e meso-epicárdica em basal e durante hiperemia.

Material e Métodos:

A população estudada consistiu em três grupos de indivíduos.

Grupo controlo (CTRL), constituído por indivíduos saudáveis, grupo hipertensão arterial (HTA) com HVE por critérios da Sociedade Americana de Ecocardiografia (ASE), e um grupo com cardiomiopatia hipertrófica (CMH). Foram excluídos doentes com diabetes, dislipidemia, doença coronária e HTA em terapêutica activa.

	CTRL	HTA	CMH
Nº	15	35	14
Masc/Fem	4 / 11	14 / 25	7 / 7
Idade ± SD	58 ± 10	57 ± 12	55 ± 8
iMVE	95 g/m ²	144 g/m ²	178 g/m ²

Tabela 4.3.III – Distribuição dos indivíduos em estudo segundo os grupos CTRL, HTA e CMH em função do sexo, idade e índice de massa ventricular esquerda (iMVE).

Todos os indivíduos efectuaram ECM com ecocardiógrafo Sequoia 512, segundo metodologia anteriormente descrita. Foi utilizado como agente de contraste Optison® em perfusão. A hiperemia foi desencadeada com Adenosina em perfusão na concentração de 140 µg/kg/min.

Com software de imagem DataPro foi efectuada a análise densitométrica durante um intervalo de 10 seg. em duas regiões de interesse: região endocárdica (end) e meso-epicárdica (mepi), em território correspondente à artéria descendente anterior.

Para cada RI foi obtida uma curva de perfusão em basal e durante hiperemia e calculados os respectivos valores de fluxo miocárdico e de reserva coronária do miocárdio (RFM).

ECM	
Equipamento Ultrassónico	Sequoia 512
Protocolo de imagem	Tempo real, PPI (Sequoia)
Agente de Contraste	Optison 0,2 a 0,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina 140 µg/kg/min
Análise de Imagem	DataPro

Tabela 4.3.IV – Condições do trabalho, com indicação do equipamento ultrassónico, protocolo de imagem, agente de contraste, agente vasodilatador, e software de análise de imagem utilizados.

Resultados

Em basal: Não se observaram diferenças significativas para os parâmetros analisados entre o grupo CTRL e HVE. O grupo CMH apresentou valores de FM mais elevados ($p < 0,001$) tanto para a região endocárdica como epicárdica. Para cada um dos três grupos estudados não foram observadas diferenças de FM entre o endocárdio e o epicárdio.

Em hiperemia: A vasodilatação aumentou o FM no endocárdio e meso-epicárdio para os grupos CTRL e HVE e no meso-epicárdio dos doentes com CMH. Para a região endocárdica deste grupo a vasodilatação provocou uma diminuição significativa do FM ($p < 0,005$).

		Basal			Adenosina			RFM	RFM
		β	A	FM	β	A	FM	mioc	End / mepi
CTRL	end	0,94	0,05	0,04	0,98	0,11	0,11	2,49	0,93
	epi	0,98	0,04	0,04	0,98	0,12	0,12	2,68	
HVE	end	0,95	0,05	0,04	0,95	0,10	0,09	2,13	0,72
	epi	0,92	0,05	0,05	0,96	0,14	0,14	2,95	
CMH	end	0,85	0,13	0,11	0,76	0,09	0,07	0,66	0,53
	epi	0,89	0,13	0,11	0,83	0,17	0,14	1,25	

Tabela 4.3.V - Distribuição dos valores de β , A e FM em basal e durante vasodilatação com adenosina nas regiões end e mepi, da RC e da razão entre a RC end / mepi.

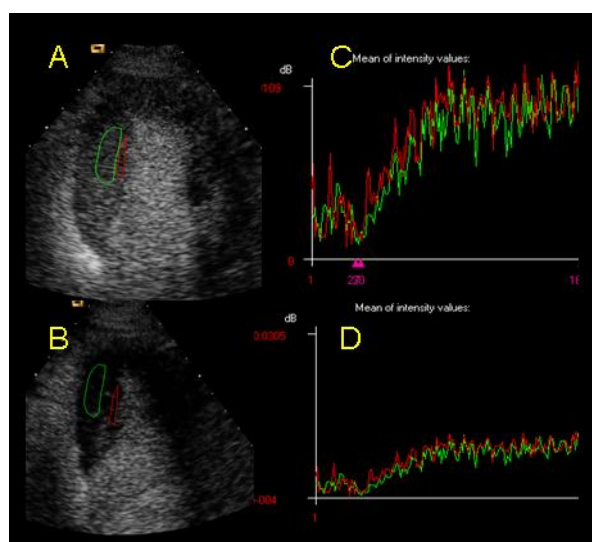


Figura 4.3.1 – Imagens correspondendo a doente com CMH; A e B representam imagens de ECM em 4C apical respectivamente em diástole e sístole, com RI colocadas na região end e mepi; C e D representam gráficos de leitura da intensidade de contraste em função do tempo em basal e durante a vasodilatação com adenosina.

Discussão e Conclusões

Os resultados observados neste grupo de doentes revelam que existem valores de RFM diminuídos tanto nos doentes com HTA como nos doentes com CMH, expondo estes grupos a maior risco de desencadear isquémia relativa ou absoluta em situações de maior necessidade de consumo de oxigénio. A existir isquémia endocárdica e sub-endocárdica é maior a probabilidade de se observarem alterações da contractilidade regional e global, arritmias e inclusive necrose do miocárdio. O limiar de isquémia nestes grupos é menor e portanto situações acompanhadas de aumento de consumo de oxigénio poderão desencadear vasodilatação compensadora e poderão induzir isquémia do endocárdio.

Com este trabalho obtivemos diferentes tipos de informação:

A ECM tem a possibilidade de analisar, quantificar e caracterizar a microcirculação coronária através da espessura da parede do ventrículo esquerdo. A definição espacial e temporal da ECM possibilita a quantificação da reserva regional de fluxo miocárdico (RFM).

Existem diferenças de FM e de RFM em termos de transmuralidade. Apesar de em basal não se terem verificado diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos, registou-se uma tendência para um valor de β aumentado nas regiões endocárdicas nos indivíduos com HTA e HVE. Este facto poderá traduzir a existência mesmo em basal de tentativa de aumentar a velocidade do FM para compensar a necessidade de maior consumo de oxigénio.

Quando se desencadeia hiperemia com adenosina, que significa induzir-se um aumento máximo de FM, a distribuição deste fluxo é heterogénea. Em basal as regiões endocárdicas dos indivíduos com HTA e CMH já se encontram nos limites da sua capacidade de vasodilatação, pelo que estas regiões relativamente às regiões meso-epicárdicas que mantêm uma normal reserva de FM, sofrem uma isquémia relativa, que no caso dos doentes com CMH é uma isquémia absoluta.

Caracterização Funcional da Microcirculação Coronária na Hipertensão Arterial e Ecocardiografia de Contraste Miocárdica

Objectivos

Foi nosso objectivo utilizando a ECM caracterizar funcionalmente a microcirculação coronária em diferentes formas geométricas do ventrículo esquerdo em doentes com HTA.

Material e Métodos

A população estudada foi constituída por 60 doentes com HTA, subdivididos em quatro grupos em função das características geométricas do ventrículo esquerdo.

Foram identificadas diferentes formas de geometria do ventrículo esquerdo por ecocardiografia e segundo as orientações da ASE, a partir do cálculo da espessura relativa da parede e do índice de massa ventricular esquerdo.

Foram considerados 15 doentes em cada grupo:

Grupo RH- : sem remodelagem ($ERP \leq 0,43$) e sem HVE ($iMVE \leq 110 \text{ g/m}^2$).

Grupo R : com remodelagem ($ERP > 0,43$) e sem HVE.

Grupo H : sem remodelagem e com HVE ($iMVE > 110 \text{ g/m}^2$).

Grupo RH+ : com remodelagem e com HVE.

Foram excluídos doentes com diabetes, dislipidemia, doença coronária conhecida e cardiomiopatia hipertrófica.

A ecocardiografia de contraste do miocárdio foi efectuada nos 60 doentes utilizando como agente de contraste Optison®, em perfusão I.V. a 2,5 ml/min. A hiperemia foi desencadeada com perfusão de adenosina na concentração de 140 $\mu\text{g/kg/min}$.

A ECM foi efectuada em modo CCI, conforme previamente descrito, com aquisição de imagens em tempo real. As imagens foram obtidas em apical 4, 3 e 2 câmaras durante 10 seg. Foram utilizadas duas regiões de interesse para a parede anterior por cada grupo de imagens, num total de 360 RI. As imagens foram adquiridas antes e durante hiperemia com adenosina e posteriormente transferidas para computador e analisadas com software de análise de imagem.

Com software de imagem DataPro foram calculadas curvas de perfusão por análise de sinal de vídeo intensidade/pixel, em função do tempo, de regiões de interesse previamente definidas e mantidas nos mesmos locais do miocárdio durante o estudo (parede anterior, média e apical), e derivadas das respectivas curvas.

Calculou-se o valor do fluxo miocárdico que representa o produto de β e A, em basal (bas) e durante hiperemia (ad) assim como a reserva coronária miocárdica (RFM) que é o valor da razão entre FM em hiperemia e FM basal.

ECM	
Equipamento Ultrasónico	Sequoia 512
Protocolo de imagem	Tempo real, CCI (Sequoia)
Agente de Contraste	Optison 0,2 a 0,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina 140 µg/kg/min
Análise de Imagem	DataPro

Tabela 4.3.VI – Condições do trabalho, com indicação do equipamento ultrasónico, protocolo de imagem, agente de contraste, agente vasodilatador, e software de análise de imagem utilizados

Análise Estatística

Foi efectuada análise descritiva e da variância para os quatro grupos estudados. Foi aplicado o teste de Student-Newman-Keuls para análise das diferenças de distribuição dos resultados.

Resultados

Os valores de RFM estão diminuídos nas diversas formas geométricas do ventrículo esquerdo na HTA. Estes valores estão dependentes fundamentalmente da diminuição do valor de β e do valor de A durante a hiperemia. No grupo RH- a razão β bas/ad foi de 0,06/0,97, a razão A bas/ad de 0,078/0,18 e a RFM de 2,3. No grupo R a β bas/ad foi de 0,95/0,96, A bas/ad de 0,075/0,15 e a RFM de 2,0. No grupo H a β bas/ad foi de 0,95/0,88, A bas/ad de 0,070/0,14 e a RFM de 1,9.

No grupo RH+ a β bas/ad foi de 0,93/0,76, A bas/ad de 0,058/0,09 e a RFM de 1,3.

Para os doentes RH+ há significativa diminuição de β ($p < 0,05$) em relação aos grupos RH- e R.

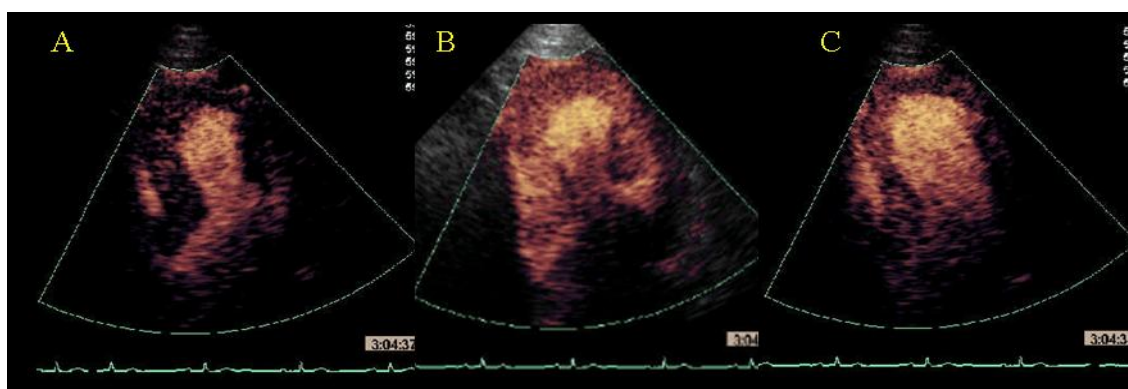


Figura 4.3.2 - Sucessão de 3 imagens do mesmo ciclo cardíaco correspondendo a fase de destruição do contraste em tele-sístole (A), fase de repleção em tele-sístole (B), fase de repleção em tele-diástole (C).

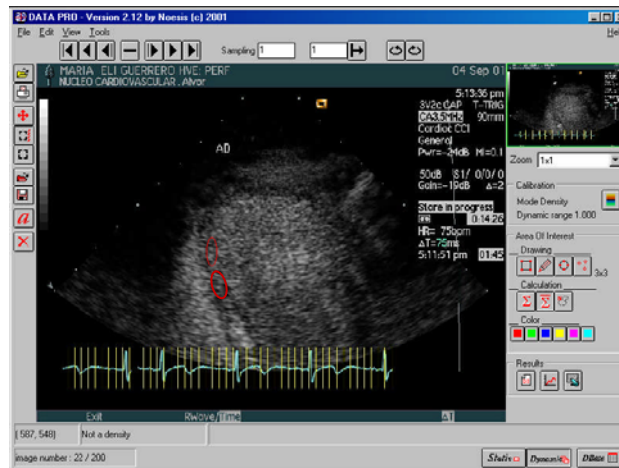


Figura 4.3.3 - Imagem de análise de perfusão com software DataPro numa fase do ciclo cardíaco correspondendo a tele-diástole. Observam-se as duas regiões de interesse (círculos a vermelho) localizadas na parede do ventrículo esquerdo nos segmentos médio e apical.

	β		A		FM		RFM
	Basal	Aden	Basal	Aden	Basal	Aden	
RH -	0,06	0,97	0,078	0,18	0,075	0,170	2,3
R	0,95	0,96	0,075	0,15	0,071	0,140	2,0
H	0,95	0,88	0,070	0,14	0,066	0,120	1,9
RH +	0,93	0,76	0,058	0,09	0,054	0,060	1,3

Tabela 4.3.VII – Valores de β , A e FM ($A * \beta$) em basal e durante a vasodilatação com adenosina (aden) e reserva coronária (RFM) para os quatro grupos estudados.

Discussão e Conclusões

A progressão das diferentes formas de geometria do ventrículo esquerdo através da remodelagem concêntrica, hipertrofia concêntrica e hipertrofia excêntrica não se verifica em todos os doentes e as razões que as condicionam não são conhecidas. Estes padrões geométricos foram do ponto de vista hemodinâmico relacionados com diferentes graus de débito cardíaco e de resistência periférica. As diferentes formas geométricas não apresentam as mesmas características do ponto de vista hemodinâmico, por exemplo a relação BNP/ANP não é igual entre a remodelagem concêntrica e as formas de hipertrofia (342).

As formas de geometria concêntrica, inclusive a remodelagem concêntrica apresentam pior prognóstico cardiovascular. Doentes hipertensos sem aumento de massa do ventrículo esquerdo,

com remodelagem concêntrica do ventrículo esquerdo e com coronárias angiograficamente normais têm diminuição da reserva coronária (344).

Na HTA, a hipertrofia ventricular esquerda concêntrica está associada a maior risco de doença cardiovascular do que a hipertrofia excêntrica. Entre as duas formas geométrica não existe diferença em relação à perfusão do miocárdio mas observou-se por PET menor eficácia do ventrículo esquerdo (trabalho miocárdico por min / consumo de oxigénio) nas formas geométricas concêntricas (345).

As alterações morfológicas e funcionais descritas nos doentes com HTA caracterizam-se numa fase inicial por diminuição da resposta vasodilatadora da microcirculação coronária e de alterações estruturais de remodelagem da microcirculação coronária em fases posteriores. Estas alterações têm como consequência uma progressiva redução da capacidade da microcirculação coronária em responder adequadamente às necessidades de aumento do consumo de oxigénio. Vai-se estabelecendo um desequilíbrio entre as necessidades e as respostas com repercussão na mecânica de contracção do ventrículo esquerdo. Estas alterações funcionais e morfológicas estão presentes em fases iniciais da HTA. A cardiopatia hipertensiva evolui durante décadas com progressivas alterações da geometria do ventrículo esquerdo.

Os nossos resultados revelam que em fases precoces do estágio evolutivo da cardiopatia hipertensiva já se verifica uma diminuição da RFM, que se correlaciona negativamente com o IMVE. Observa-se a diminuição do valor da RFM em função da ERP sem aumento do IMVE. A ECM revela-se uma técnica com capacidade para a análise do estado funcional da microcirculação coronária e de estratificação de risco nos doentes em que esta disfunção está presente.

Será um desafio a possibilidade de se justificar a intervenção terapêutica em estádios da HTA ainda sem tradução clínica aparente mas já com alterações da microcirculação coronária documentadas por esta técnica.

Rarefação Capilar Coronária na Doença Vascular Arterial Hipertensiva

Introdução

O recrutamento de capilares do miocárdio ventricular esquerdo é um mecanismo comum de adaptação fisiopatológica ao aumento de necessidade de consumo de O₂ e ao aumento da contractilidade cardíaca.

A ecocardiografia de contraste de miocárdio com sobrecarga farmacológica vasodilatadora permite estudar a perfusão do miocárdio, calcular a reserva coronária e o volume capilar.

Em condições hemodinâmicas normais, a sobrecarga com Dipyridamol® promove o recrutamento de novos capilares.

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar com ECM a capacidade de recrutamento capilar induzida pelo dipiridamol, em doentes com HTA versus um grupo controlo sem antecedentes de patologia cardiovascular.

Material e Métodos

A população estudada foi constituída por 20 indivíduos controlo sem antecedentes de doença cardiovascular e 50 doentes com hipertensão arterial e com diferentes formas geométricas do ventrículo esquerdo, em função da presença de remodelagem com espessura relativa da parede superior 0,43 (R) e com hipertrofia ventricular esquerda com iMVE superior 110 g/m² (HVE).

Esta população foi subdividida em cinco subgrupos:

Grupo N : 20 indivíduos controlo sem história de doença cardiovascular.

Grupo RH - : 10 doentes sem remodelagem e sem hipertrofia ventricular esquerda.

Grupo R : 15 doentes com remodelagem e sem hipertrofia ventricular esquerda.

Grupo H : 12 doentes sem remodelagem e com hipertrofia ventricular esquerda.

Grupo RH + : 13 doentes com remodelagem e com hipertrofia ventricular esquerda

Foram critérios de exclusão diabetes mellitus, doença valvular, dislipidemia e doença coronária.

	Controlo	Hipertensão Arterial			
		RH -	R	H	RH +
Nº	20	10	15	12	13
Idade	58 ± 8	62 ± 4			64
Masc / Fem	10 / 10	2 / 8	5 / 8	7 / 6	8 / 6

Tabela 4.3.VIII – Características da população estudada.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Estudo de ecocardiografia de contraste do miocárdio foi efectuado com ecógrafos Sequoia 512 e ATL 5000, com aquisição de imagens em tempo real e protocolos de CCI e PPI respectivamente.

Foi utilizado agente de contraste ultrasónico SonoVue® 0,5 a 1,5 ml/min (Rovi SA Bracco, Itália) administrado em infusão.

O estudo de ecocardiografia de contraste do miocárdio foi feito em basal (Bas) e durante sobrecarga vasodilatadora com Dipiridamol® (Dip) na dose de 0,56 mg/kg.

A análise quantitativa de perfusão miocárdica foi efectuada com software MCE 2.7 Yabko.

Foram analisadas regiões de interesse situadas na parede anterior e septo interventricular do ventrículo esquerdo em 4C e 2C num total de 100 RI e calculados os respectivos valores da velocidade de circulação coronária β , volume de sangue miocárdico A, fluxo miocárdico ($A*\beta=FM$), e a diferença FM Dip-Bas, índice que traduz o grau de recrutamento capilar coronário.

ECM	
Equipamento Ultrasónico	ATL 5000 e Sequoia 512
Protocolo de imagem	Tempo real, PPI (ATL) e CCI (Sequoia)
Agente de Contraste	SonoVue 0,5 a 1,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Dipiridamol 140 μ g/kg/min
Análise de Imagem	MCE 2.7 Yabko

Tabela 4.3.IX – Condições do trabalho, com indicação do equipamento ultrasónico, protocolo de imagem, agente de contraste, agente vasodilatador, e software de análise de imagem utilizados.

Análise Estatística

Foi efectuada análise estatística descritiva, análise de variância, teste t de Student e teste de Mann-Whitney.

Resultados

Verificou-se que o dipiridamol induziu um aumento significativo de A e FM no grupo N, enquanto no grupo HTA não se verificou aumento de A e o aumento de FM foi significativamente menor ($p < 0,005$).

A análise destes parâmetros de fluxo coronário por ECM em função da alteração da geometria do VE revelou diferenças significativas ($p < 0,001$) em relação à variação de A entre o subgrupo RH+ e o grupo N.

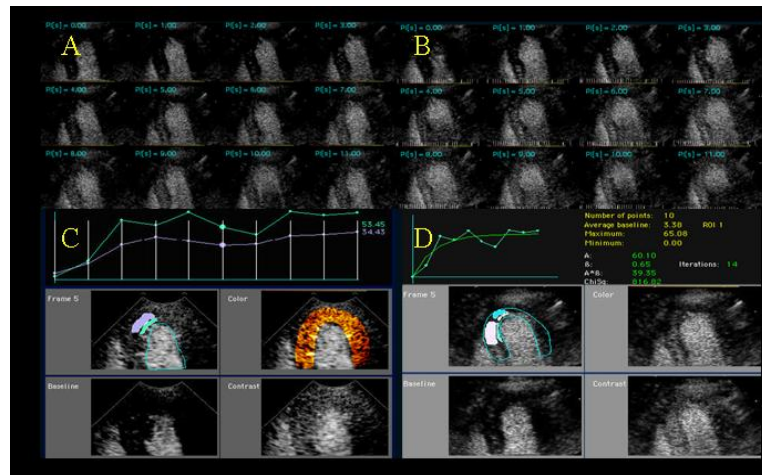


Figura 4.3.4 – Sucessão de imagens sistólicas de ECM em basal A e durante dipiridamol C. Curvas de perfusão B e D, com localização de RI na parede anterior e imagem paramétrica B.

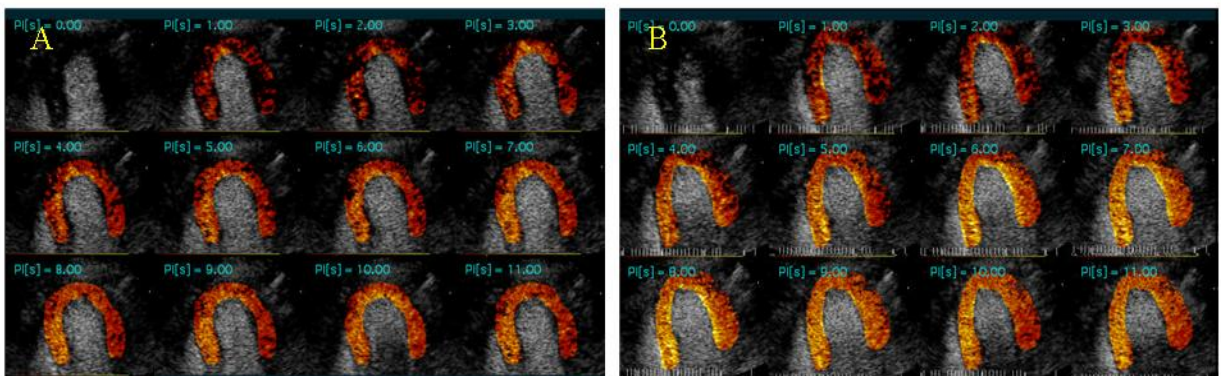


Figura 4.3.5 – Imagens sistólicas de ECM em apical 4C sujeitas a análise paramétrica em basal (A) e durante vasodilatação com dipiridamol (B).

	Basal			Dipiridamol			Variação %		
	β	A	FM	β	A	FM	β	A	FM
N	0,64	72	46,1	1,72	88	151,4	168,8	22,2	228,5
HTA	0,69	60	41,4	1,70	61	103,7	146,4	1,7	150,5
RH -	0,69	74	51,0	1,70	88	149,6	146,4	18,9	193,0
R	0,70	70	49,0	1,30	75	97,5	85,7	7,1	99,0
H	0,68	65	44,2	1,10	74	81,4	61,8	13,8	84,2
RH +	0,66	55	36,3	0,75	54	40,5	13,6	- 1,8	11,6

Tabela 4.3.X – Valores de β , A e FM em basal e durante vasodilatação com dipiridamol e respectiva variação percentual para os três grupos estudados.

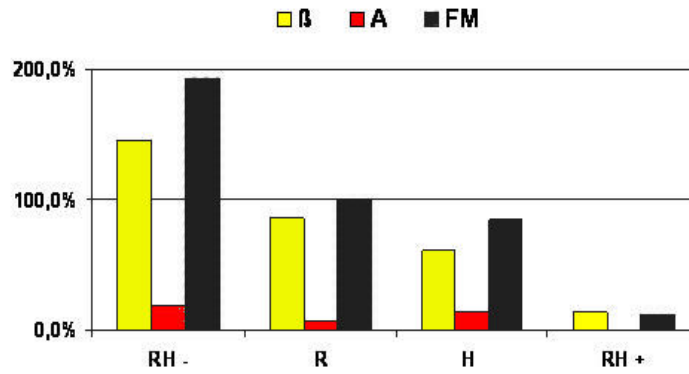


Figura 4.3.6 - Representação da razão entre hiperemia e basal dos valores de β , A e FM por sub-grupo de doentes com HTA em função da geometria do ventrículo esquerdo.

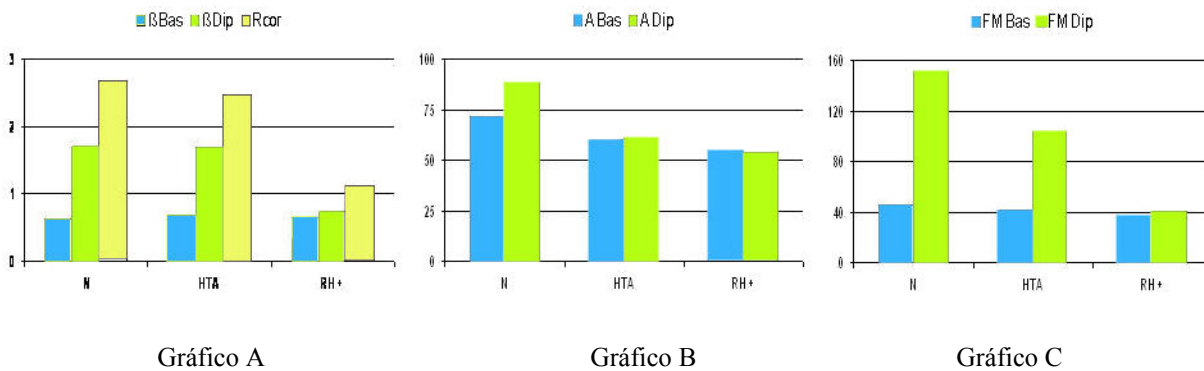


Figura 4.3.7 - Representação por grupo de estudo da distribuição dos valores de β e RC ($\beta_{hip} / \beta_{bas}$), valores de A e valores de FM.

Discussão e Conclusões

A evolução da HTA em humanos e em modelos experimentais animais é acompanhada por rarefacção da microcirculação coronária. Este processo poderá, até determinado estágio de evolução, ser revertido por acção farmacológica, como por exemplo com os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (346).

Em modelos experimentais animais com hipertensão existe disfunção da eNOS. Como o NO é um importante vasodilatador e está envolvido na angiogénese, supõe-se que a sua deficiência possa estar relacionada com a rarefacção capilar observada na microcirculação coronária na HTA (347).

A maior parte do gradiente de pressão na árvore coronária observa-se na microcirculação. As alterações de resistência arterial observadas na HTA repercutem-se também na microcirculação coronária. Cria-se assim um ciclo vicioso que acaba por desencadear alterações morfológicas e funcionais da microcirculação coronária na HTA.

As primeiras alterações da microcirculação coronária que se observam na HTA são funcionais. A rarefacção capilar é inicialmente funcional. Como foi descrito no capítulo da fisiopatologia da microcirculação coronária, o aumento de pressão a que a microcirculação coronária está sujeita desencadeia mecanismos de compensação de vasodilatação da microcirculação coronária. Numa fase posterior quando estes mecanismos estão esgotados a microcirculação coronária só tem a possibilidade de manter uma pressão normal se diminuir o número de capilares funcionantes. Este processo de diminuição de recrutamento traduz-se por um menor volume de sangue capilar em basal e durante a vasodilatação.

No grupo N só se verificou aumento do valor de A. Nos grupos HTA e N verificou-se aumento do valor β . Verificou-se maior aumento do valor de FM no grupo N do que no grupo HTA. Neste grupo os resultados sugerem que o recrutamento de capilares seja menor. No subgrupo RH+ não foram observados aumentos significativos dos valores de β e A. No grupo HTA, em particular no subgrupo RH+, há evidência de significativa rarefacção capilar miocárdica.

Estes resultados revelam que a ECM permite analisar o volume capilar deduzindo-se o grau de recrutamento ou rarefacção capilar no miocárdio. Para a população estudada, existe uma menor capacidade de recrutamento de capilares nos doentes com HTA, em particular nas formas de hipertrofia e remodelagem do ventrículo esquerdo. Estes dados contribuem para explicar os menores valores de reserva coronária nos doentes com HTA.

Edema Pulmonar Agudo, Disfunção Diastólica e Microcirculação Coronária

Introdução

A doença cardíaca hipertensiva caracteriza-se em determinado estágio evolutivo por hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo com função sistólica conservada e disfunção diastólica (DD).

Nesta fase de evolução da doença hipertensiva, a ocorrência de edema pulmonar agudo (EPA) é independente da existência de doença coronária, não contribuindo a revascularização coronária para a diminuição da sua ocorrência.

Objectivos

Relacionar o grau de disfunção da microcirculação coronária com o grau de disfunção diastólica do ventrículo esquerdo numa população com doença arterial hipertensiva.

Material e Métodos

Foram estudados dois grupos de indivíduos:

Grupo G1: foi constituído por doentes com hipertensão arterial, hipertrofia ventricular esquerda e com pelo menos uma situação de EPA. Este grupo foi formado por 38 doentes, 24 do sexo feminino, e média de idade de 68 ± 14 anos.

Grupo G2: foi formado igualmente por doentes com hipertensão arterial e hipertrofia ventricular esquerda, mas sem história de EPA. Este grupo tinha 15 doentes, 10 do sexo feminino, e média de idade de 65 ± 16 anos.

Foram excluídos doentes com diabetes mellitus tipo 2, doenças valvulares, e doença coronária.

Estudo da Função Diastólica

Foi efectuado estudo ecocardiográfico Doppler transtorácico com análise da função diastólica global do ventrículo esquerdo e da função diastólica.

Os doentes foram classificados em quatro graus de disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, utilizando como parâmetros Doppler a relação de velocidades máximas E/A de fluxo Doppler transmitral, tempo de desaceleração da onda E, tempo de relaxamento isovolumétrico, relação e'/a' Doppler tecidual (349).

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

A microcirculação coronária foi caracterizada por ECM conforme técnica previamente descrita, com administração I.V. de Optison®, em condições basais e durante sobrecarga vasodilatadora com adenosina na concentração de $140\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. Foi analisada a reserva coronária nas zonas endocárdica (end) e meso-epicárdica (mep) da espessura parietal ventrículo esquerdo e calculado o quociente RC end/mep ao nível da parede anterior do miocárdio ventrículo esquerdo.

Resultados

Não foram detectadas diferenças significativas da RC meso-epicárdica entre os grupos G1 e G2 em relação aos diversos graus de DD do ventrículo esquerdo.

A reserva coronária endocárdica encontrava-se diminuída em ambos os grupos G1 e G2, e de forma mais significativa no grupo G1 a partir de grau de DD2 ($p < 0,05$).

A razão entre a reserva coronária end e mep estava significativamente diminuída no grau IV entre os dois grupos ($p < 0,05$) à custa da maior diminuição da reserva coronária endocárdica no G1.

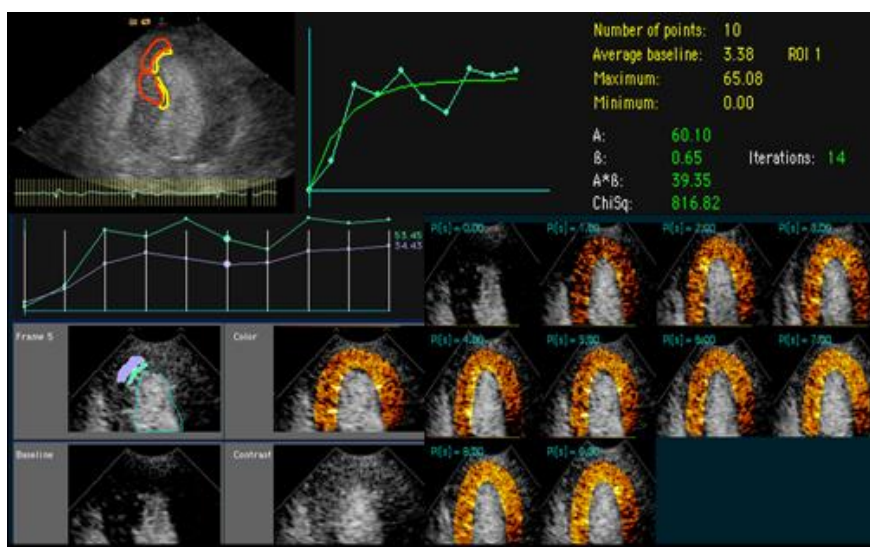


Figura 4.3.8 – Imagens de ECM com indicação do posicionamento das RI, curva de perfusão e análise paramétrica da perfusão.

		Grupo G2			Grupo G1		
		RCmep	RCend	RCend/RCmep	RCmep	RCend	RCend/RCmep
Função Diastólica	I	3,02	2,40	0,79	3,05	2,44	0,80
	II	3,00	2,20	0,73	3,00	2,00	0,67
	III	2,90	2,10	0,72	3,05	2,00	0,66
	IV	2,90	2,10*	0,72**	2,95	1,70*	0,58**

Tabela 4.3.XI – Valores de RC endocárdica, meso-epicárdica e respectivo quociente em função dos grupos estudados e do grau de disfunção diastólica do ventrículo esquerdo. * $p < 0,05$ ** $p \leq 0,03$.

Discussão e Conclusões

Em doentes com HTA, sem doença coronária e sem terapêutica activa verificou-se existir uma diminuição da reserva coronária (EDTT) que se correlacionou positivamente com o grau de disfunção diastólica do ventrículo esquerdo (348).

Em doentes hipertensos sem doença coronária e independentemente da existência de HVE a disfunção diastólica pode estar condicionada pela diminuição da capacidade de vasodilatação da microcirculação coronária (350).

É conhecida a importância de uma reserva de fluxo coronário para responder às necessidades de maior consumo de oxigénio. A disfunção do ventrículo esquerdo designada de diastólica, em que está preservada a função sistólica é um exemplo da interação entre a função diastólica, a frequência cardíaca e a pressão arterial. Na ausência de doença coronária, rápidas elevações de pressão arterial não terão consequências hemodinâmicas relevantes se o músculo cardíaco tiver capacidade de normal distensão e relaxamento. Na cardiopatia hipertensiva mesmo em fases iniciais da sua evolução já se observam alterações da função diastólica e da microcirculação coronária, traduzida por alterações funcionais e morfológicas.

Os nossos resultados revelam que nestes doentes com hipertrofia ventricular esquerda a reserva coronária transmural está alterada com inversão do índice meso-epicárdico versus endocárdio. A diminuição da reserva coronária endocárdica parece ser um factor relevante na diminuição da distensibilidade e numa transitória diminuição da capacidade contráctil.

Os resultados revelam que, nesta população HTA, o grupo G1 apresenta menor RC endocárdica, existindo uma estreita relação entre o grau da disfunção da microcirculação coronária endocárdica e o grau de DD ventrículo esquerdo. Este trabalho releva a importância do grau de perfusão do endocárdio na fisiopatologia dos fenómenos de distensibilidade e relaxamento do ventrículo esquerdo na HTA com descompensação hemodinâmica.

Relação do Padrão ECG de Isquemia Sub-Endocárdica com Disfunção da Microcirculação por Ecocardiografia de Contraste

Introdução

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) é pode ser traduzida electrocardiograficamente por alterações da repolarização ventricular (ARV) que quando apresentam determinado padrão são descritas como sobrecarga sistólica e ou isquémia sub-endocárdica.

Estas ARV estão associadas a aumento da espessura da parede ventrículo esquerdo e diminuição da reserva coronária. Na cardiopatia hipertensiva, a presença de ARV major identifica subgrupos com maior risco para eventos cardiovasculares.

Objectivos

Foi nosso objectivo relacionar o padrão de perfusão da parede anterior do ventrículo esquerdo com a existência de alterações ECG da repolarização ventricular, utilizando a ecocardiografia de contraste do miocárdio.

Material e Métodos

Foram estudados 66 indivíduos divididos nos seguintes grupos:

Grupo N : 2 indivíduos sem HVE e sem ARV.

Grupo G1 : 32 doentes com HVE e sem ARV.

Grupo G2 : 22 doentes com HVE e com ARV.

Foram excluídos doentes com diabetes, dislipidemia activa, cardiomiopatia hipertrófica, cardiopatia dilatada, doença valvular e doença coronária.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Foi efectuada ECM conforme técnica descrita previamente, com ecógrafo Sequoia 512 e protocolos de “*Coherent Contrast Imaging*” (CCI).

Foi utilizado agente de contraste SonoVue® 0,5 a 1,5 ml/min em infusão. O agente vasodilatador foi a adenosina administrada em perfusão na concentração de 140µg/kg/min, durante 5 min.

ECM	
Equipamento Ultrassónico	Sequoia 256 e 512
Protocolo de imagem	Tempo real, CCI
Agente de Contraste	SonoVue infusão 0,5 a 1,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina 140 µg/kg/min
Análise de Imagem	MCE 2.7 Yabko

Tabela 4.3.XII – Condições do trabalho, com indicação do equipamento ultrassónico, protocolo de imagem, agente de contraste, agente vasodilatador, e software de análise de imagem utilizados.

Foram definidas regiões de interesse sobre a parede anterior e septo interventricular, abrangendo o endocárdio (end) e o meso-epicárdio (mep), num total de 264 RI.

Foram calculados os valores da velocidade de circulação coronária β , volume de sangue miocárdico A, fluxo miocárdico ($A \cdot \beta = FM$), e a razão $FM_{stress}/basal$, que traduz a RC para cada região de interesse analisada, endocárdio (end) versus epi-mesocárdio (mep), num total de 264 RI do miocárdio VE.

Análise Estatística

Foi efectuada análise estatística descritiva, análise de variância e teste de Mann-Whitney.

Resultados

A microcirculação coronária apresenta nos grupos G1 e G2 no estágio basal semelhantes graus de disfunção. Analisadas as áreas endocárdicas verifica-se que no grupo G2 existe um padrão de diminuição da perfusão em basal que se acentua durante a sobrecarga I.V. com adenosina em relação aos grupos N e G1.

	FM stress/basal			FM
	Nº	mep	end	end/mep
N	12	3,20	3,03	0,95
G1	32	3,01	2,40	0,80
G2	22	3,02	2,02	0,67

Tabela 4.3.XIII – Distribuição dos valores RFM mep e end e da razão end/mep em função dos grupos estudados.

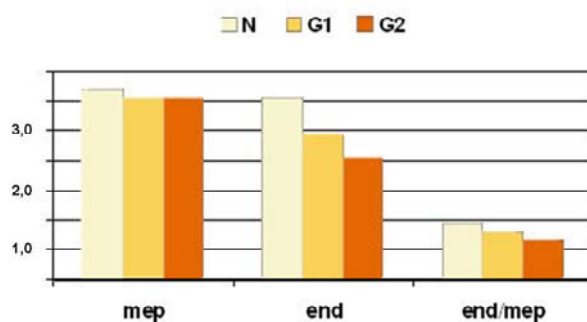


Figura 4.3.9 – Gráfico com a representação dos valores de RFM mep e end e razão do FM end/mep em função dos grupos estudados.

Discussão e Conclusões

Na HTA existe discrepância entre o valor da massa ventricular esquerda e o fluxo miocárdico observando-se um padrão de heterogeneidade de distribuição do fluxo coronário.

Em doentes com hipertrofia ventricular esquerda observa-se este padrão de heterogeneidade regional, com defeitos de perfusão regionais e padrão de normal perfusão nos restantes territórios. Foi observado por PET em doentes com hipertensão arterial e sem doença coronária a existência de um padrão de diminuição difusa e homogénea da perfusão (353).

Concluimos que existe um maior gradiente de perfusão miocárdica através da espessura da parede anterior do ventrículo esquerdo com valores diminuídos no endocárdio, nos doentes G1 em relação aos grupos N e G2 ($p < 0,01$).

Estas alterações electrocardiográficas descritas como sobrecarga sistólica e ou isquémia sub-endocárdica traduzem uma significativa redução da perfusão do fluxo capilar endocárdico avaliada por ecocardiografia de contraste do miocárdio.

Análise Quantitativa Ecocardiográfica Transtorácica Computorizada de Alterações da Função Segmentar Miocárdica na Cardiopatia Hipertensiva

Introdução

A reserva coronária sub-endocárdica (SE) condiciona alterações do espessamento sistólico do ventrículo esquerdo. Na hipertrofia ventricular esquerda existe disfunção da microcirculação coronária com particular repercussão na região SE.

Um novo método de análise quantitativa da função segmentar e global do ventrículo esquerdo permite detectar com elevada acuidade e sensibilidade alterações não identificáveis numa avaliação visual.

Objectivos

Foi nosso objectivo efectuar uma análise quantitativa da função segmentar do VE na presença HVE secundária a HTA, e avaliar a sua variação dinâmica após administração de fármacos vasodilatadores coronários.

Material e Métodos

Foi estudada uma população constituída por 36 doentes com o diagnóstico de HTA essencial controlada (Grupo H), HVE concêntrica e sob terapêutica médica, idade média 58 ± 20 anos, 61% do sexo feminino (22/36), que foi comparada com um grupo de indivíduos normais (Grupo N; n=20) idade média de 55 ± 18 anos, 60% do sexo feminino (12/20).

Análise Segmentar do Ventrículo Esquerdo

Foram obtidas imagens nas incidências clássicas de curto eixo para-esternal esquerdo nos planos transversais a nível dos músculos papilares e 1/3 distal do ventrículo esquerdo.

Sobre as imagens ETT digitais 320 por 240 pixels em “*cine-loop*”, aplicámos um software de análise da função segmentar ventrículo esquerdo, MCE 2.7 Yabko. A análise segmentar do VE foi efectuada após calibração e definidos 12 pontos de referência espacial de contornos endo-epicárdicos. Foram analisados quatro segmentos. Os resultados da variação de espessamento segmentar da parede do ventrículo esquerdo (DESVE) são expressos por “*sístole x 100 / (diástole – 100)*”.

Os contornos do ventrículo esquerdo são interpolados pelo computador, com análise da função segmentar ciclo a ciclo, da variação do espessamento sistólico global (DESG) e segmentar (eixo y), e derivadas curvas absoluta (mm) e percentual (%) em função do tempo (eixo x). Os parâmetros de função segmentar do ventrículo esquerdo foram analisados em condições basais e 5 a 10 min após vasodilatação coronária com 5 mg nitroglicerina sublingual (NTG sl).

Resultados

Registaram-se valores DESG nos grupos N e H em basal e após NTG sl de respectivamente 48, 31, 49 e 44%. A variação observada no grupo H abrange todas as regiões de forma homogênea. Existe diferença estatisticamente significativa para a DESG basal/NTG entre os grupos estudados ($p < 0,005$).

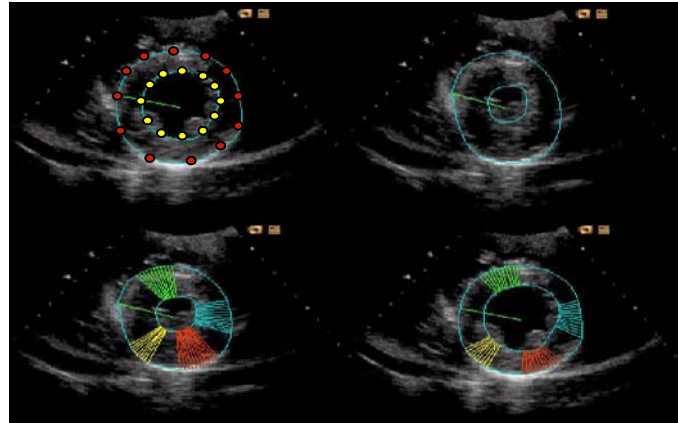


Figura 4.3.10 – Análise segmentar da espessura da parede do ventrículo esquerdo com definição de “cordas” para cada segmento analisado.

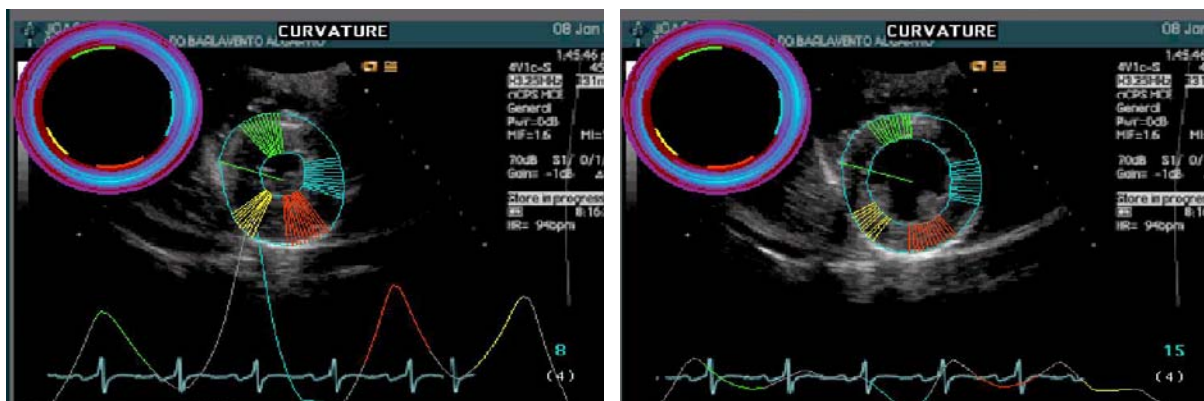


Figura 4.3.11 - Análise da cinética e do espessamento da parede do ventrículo esquerdo em sístole na imagem da esquerda e em diástole na da direita com os respectivos mapas polares.

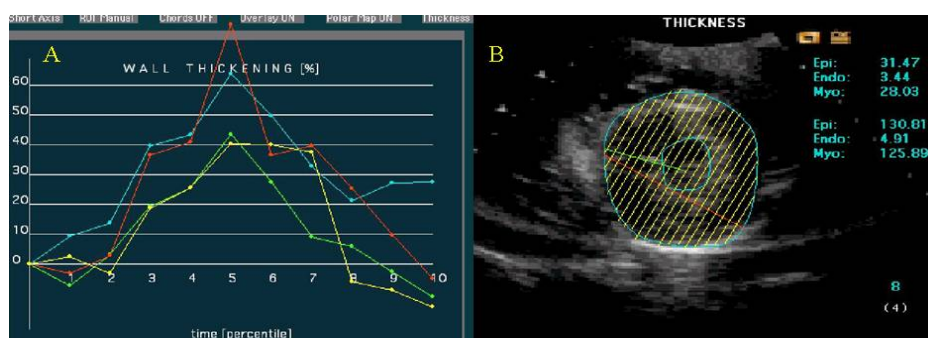


Figura 4.3.12 – Na imagem **A** está representado um gráfico com as variações da espessura da parede do ventrículo esquerdo durante o ciclo cardíaco. Na imagem **B** está representado o cálculo de áreas e volumes.

	N		H		p <
	basal	NTG sl	basal	NTG sl	
Varição % média	47,7	48,4	30,9	43,7	
Razão basal/ NTG sl	0,98		0,71		0,005

Tabela 4.3.XIV – Representação dos valores da variação percentual média e a razão basal após NTG sl da espessura da parede do ventrículo esquerdo nos grupos estudados.

Discussão e Conclusões

A HVE é caracterizada por existir uma diminuição da RC. A análise da RC transmural revela que as regiões sub-endocárdicas apresentam valores diminuídos em particular quando sujeitas a situações de aumento de consumo de oxigénio.

O espessamento sistólico depende fundamentalmente das regiões sub-endocárdicas e do fluxo miocárdico para essas regiões. Quando o consumo de oxigénio aumenta por se encontrar quase esgotada a RC nas regiões sub-endocárdicas estas deixam de poder contribuir para a cinética e espessamento sistólico. A frequente intolerância ao exercício observada nos doentes com HTA está relacionada com este aspecto fisiopatológico e com a repercussão na função diastólica.

As variações do espessamento sistólico miocárdico do ventrículo esquerdo analisadas através deste método de imagem e observadas nos doentes com HTA e HVE (31% para 44%), são parcialmente reversíveis após a administração sublingual de nitratos.

A acção dos nitratos é rápida e traduz-se por uma normalização da mecânica da parede do ventrículo esquerdo. Os nitratos podem produzir este efeito por diminuição da pré e pós carga do ventrículo esquerdo, por promoverem uma maior vasodilatação da microcirculação coronária (são dadores externos de NO para o endotélio) e por aumentarem a velocidade do fluxo coronário por alteração das cargas dos eritrócitos.

Este método de análise revela potencial interesse em fisiopatologia e na monitorização clínica deste grupo particular de doentes.

Significado da Reserva Coronária na Estenose Aórtica com Coronárias Angiograficamente Normais Por Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Introdução

Em doentes com estenose aórtica (EAO) a reserva coronária encontra-se diminuída o que segundo alguns investigadores justifica o quadro de isquémia do miocárdio e angor (354 - 356) no contexto de coronárias angiograficamente normais.

A causa da diminuição da RC na EAO não está esclarecida, sendo referidas diferentes explicações como a HVE, o aumento da pressão parietal e a disfunção diastólica do VE, as alterações do padrão fluxo coronário (360).

Objectivos

Pretendemos analisar a reserva coronária na estenose aórtica em função da área valvular aórtica (AVA), do gradiente máximo transvalvular aórtico (GVAO), do índice de massa ventricular esquerda (iMVE) antes e após correcção cirúrgica.

Material e Métodos

Foram estudados 60 indivíduos, divididos em três grupos. Um grupo de controlo e dois grupos de doentes com estenose aórtica. Grupo A - Formado por 42 doentes com estenose aórtica e coronárias angiográfica-mente normais. Grupo B - Formado por 18 doentes com estenose aórtica após substituição cirúrgica valvular 20 ± 6 semanas. Grupo N – com 67 indivíduos considerados normais. Foram excluídos doentes com diabetes mellitus, cardiomiopatia hipertrófica.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Foi efectuada ECM conforme técnica descrita previamente, com ecógrafo Sequoia 512 e protocolo CCI e ATL protocolo PPI.

Foi utilizado agente de contraste SonoVue® 0,5 a 1,5 ml/min. O agente vasodilatador foi a adenosina administrada em perfusão na concentração de $140 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, durante 5 min.

ECM	
Equipamento Ultrasónico	Sequoia 256 e 512
Protocolo de imagem	Tempo real, CCI
Agente de Contraste	SonoVue infusão 0,5 a 1,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina $140 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
Análise de Imagem	MCE 2.7 Yabko

Tabela 4.3.XV – Condições do trabalho, com indicação do equipamento ultrasónico, protocolo de imagem, agente de contraste, agente vasodilatador, e software de análise de imagem utilizados.

Foram definidas regiões de interesse sobre a parede anterior e septo interventricular, abrangendo o endocárdio (end) e o meso-epicárdio (mep) e foram calculados os valores da velocidade de circulação coronária β , volume de sangue miocárdico A, fluxo miocárdico ($A*\beta=FM$), e a razão FM stress/basal, que traduz a RFM para cada região de interesse analisada, endocárdio (end) versus meso-epicárdio (mep).

Resultados

Neste grupo de doentes a RFM encontra-se significativamente diminuída no grupo com EAO e correlaciona-se significativamente com a AVA ($p<0,05$) e GVAO ($p<0,05$) no grupo A e com o iMVE ($p=0,05$) no grupo B. Existia uma diferença significativa da RC entre os grupos A e B ($p<0,005$). A RC end estava significativamente diminuída em relação à RC mep ($p<0,05$) no grupo A vs B e N..

	N	A	B
Nº	67	42	18
Idade	56±21	68±15	62±15
RC	4,1±0,5	1,6±0,4	2,6±0,5
RC mep	4,2±0,5	1,9±0,5	2,7±0,5
RC end	3,8±0,5	1,1±0,3	2,4±0,4
GVAO	9,2±3,1	84,7±20,2	24,1±15,0
iMVE	86,8±21,2	177,4±42,4	168,3±41,3

Tabela 4.3.XVI - Características da população estudada.

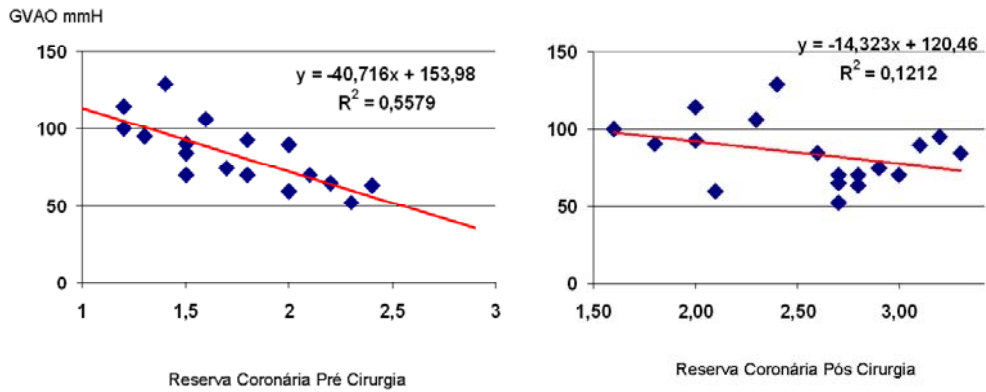


Figura 4.3.13 – Relação com indicação dos valores que definem a recta de correlação entre o gradiente máximo transvalvular aórtico (GVAO) e a RC antes e após cirurgia de substituição valvular.

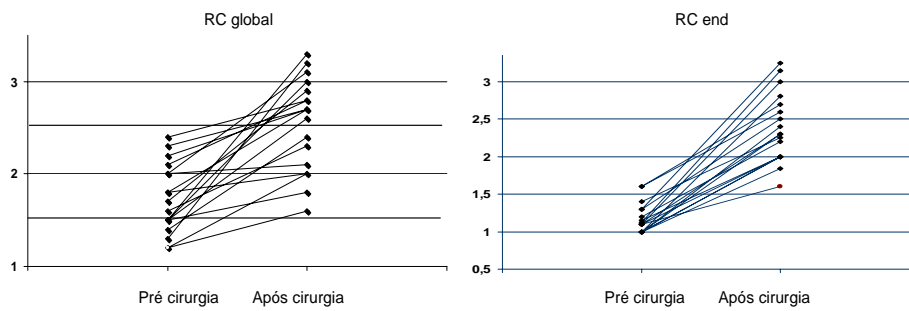


Figura 4.3.14 – Gráficos que representam a variação individual, para cada doente, da RC global e da RC end antes e após cirurgia de substituição valvular.

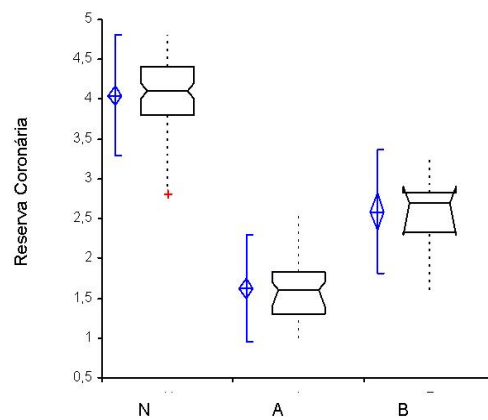


Figura 4.3.15 – Distribuição dos valores de RC para cada um dos grupos estudados.

	N	Média	SD	SE	95% CI da Média
N	67	4,046	0,4636	0,0566	3,933 a 4,159
A	42	1,626	0,4085	0,0630	1,499 a 1,753
B	18	2,589	0,4751	0,1120	2,353 a 2,825

	N	Mediana	IQR	95% CI da Mediana
N	67	4,100	0,600	4,000 a 4,200
A	42	1,600	0,525	1,400 a 1,700
B	18	2,700	0,500	2,300 a 2,900

Tabela 4.3.XVII – Valores de RC para cada um dos grupos estudados e respectivos valores de análise estatística descritiva.

Discussão e Conclusões

A incidência de angor em doentes com estenose aórtica (60 a 80%) é superior à que se observa noutras patologias valvulares. Apesar da evidência de isquémia por electrocardiograma, ecocardiograma de *stress* ou SPECT, com frequência, este grupo de doentes apresenta coronárias angiograficamente normais (361, 365).

A HVE é uma das explicações para a diminuição da RC que se observa na EAO. Na EAO não se observa o fenómeno de remodelagem da microcirculação coronária com hipertrofia da média (362) ao contrário do que se verifica com outras patologias em que existe aumento da massa do VE, como a CMH e a HTA.

A área da secção transversal das coronárias esquerdas está aumentada e relaciona-se directamente com a massa do ventrículo esquerdo. Os valores indexados para a massa ventricular esquerda tanto da área de secção coronária como do fluxo coronário, são semelhantes aos encontrados em indivíduos normais (363, 364). O aumento do diâmetro das coronárias parece ser um mecanismo de compensação para a necessidade de aumento de fluxo coronário à medida que a hipertrofia se desenvolve. A partir de determinado fase da evolução da HVE parece ser impossível o fenómeno de compensação, como acontece também com o esgotamento da capacidade de vasodilatação (357). O miocárdio nesta situação passará a estar mais frágil e sujeito a sofrer isquémia em situações em que haja aumento de consumo de oxigénio mesmo com coronárias normais.

Outras explicações para o compromisso da RC na EAO são as alterações da perfusão coronária com disfunção do componente diastólico com pico de velocidade máxima mais tardio, aceleração mais lenta e desaceleração mais rápida e as forças extrínsecas dos factores extravasculares (358, 359).

Os resultados obtidos com o nosso trabalho revelam que antes da correcção cirúrgica os valores da RC não se relacionam com o grau de HVE. Nesta fase, a RC está globalmente diminuída, e de forma mais significativa nas regiões sub-endocárdicas ($p < 0,05$) e observa-se uma correlação positiva com o GVAO e com AVA.

Após correcção cirúrgica observou-se uma parcial mas significativa normalização dos valores da RC meso-epicárdica e endocárdica que passaram a ter correlação significativa com o iMVE.

Estes dados sugerem que além das alterações morfofuncionais do miocito e da microcirculação que acompanham o fenómeno de hipertrofia ventricular esquerda, existem outros factores, como os factores extrínsecos, relacionados com as alterações hemodinâmicas dependentes do grau de estenose aórtica e que condicionam a RC.

Cardiomiopatia Hipertrófica e Heterogeneidade do Padrão de Perfusão do Miocárdio por Ecocardiografia de Contraste

Introdução

Em diferentes formas de cardiomiopatia hipertrófica está descrita uma acentuada diminuição da reserva coronária, por disfunção da microcirculação coronária (351,352). Esta disfunção microvascular é um preditor forte e independente de morbidade e de mortalidade (367).

A dinâmica dos fluxos das artérias epicárdicas e intramiocárdicas está alterada na CMH. Observa-se uma aceleração lenta do fluxo diastólico, com pico de velocidade máxima a ser atingido tardiamente, com valores superiores a 0,75 cm/seg seguida de rápida desaceleração do fluxo diastólico. Numa grande percentagem de doentes observa-se inversão do fluxo sistólico (366). Actualmente muitas destas observações são efectuadas utilizando o EDTT (369, 370) em comparação com as efectuadas através da angiografia coronária (368).

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar o padrão de perfusão do miocárdio ventricular esquerdo num grupo de doentes com CMH, e a sua eventual modificação após stress vasodilatador com adenosina, utilizando uma técnica não invasiva ecocardiográfica de contraste do miocárdio.

Material e Métodos

Estudámos um conjunto de 16 doentes com CMH, idade média 65 ± 12 anos, 9 mulheres, sendo 4 doentes com patologia de predomínio apical, 8 doentes com predomínio septal e em 4 doentes com localizações mistas.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

A análise do padrão de perfusão miocárdica por ECM foi efectuada por dois métodos distintos.

a) Ecocardiografia de contraste do miocárdio qualitativa com avaliação visual do grau de vídeo intensidade (VI) efectuada por dois observadores independentes, e classificado em três níveis: normal, diminuído ou ausente.

b) Ecocardiografia de contraste do miocárdio quantitativa com recurso a software específico de análise de imagem MCE 2.7 Yabko com cálculo dos valores de β , A e $A*\beta$ e RC, a partir de curvas de perfusão miocárdica, em condições basais e durante stress vasodilatador com adenosina I.V. na concentração de 140 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso/min, durante um intervalo de 5 min. Foram analisadas regiões de interesse situadas na espessura da parede anterior e septal interventricular do miocárdio, abrangendo as zonas meso-epicárdica (mep) e endocárdica (end).

Análise Estatística

Foi efectuada análise estatística descritiva, t teste emparelhado, teste de Wilcoxon.

Resultados

A análise quantitativa resultado do mapeamento com RI em toda a espessura da parede miocárdica do ventrículo esquerdo, revelou a existência de um gradiente de perfusão com diminuição progressiva do fluxo miocárdico desde o epicárdio até ao endocárdio, onde atingiu valores mínimos próximos de zero, durante a vasodilatação com adenosina.

A quantificação da RC endocárdica revelou-se muito diminuída em relação à espessura da parede durante vasodilatação com adenosina ($p < 0,0001$). Em todos os doentes foi visualmente identificada a existência de áreas endocárdicas com diminuição ou ausência de contraste.

Foram obtidos valores de variação inter e intra-observador para a análise qualitativa de 12 e 10 e quantitativa de 12 e 9 respectivamente.

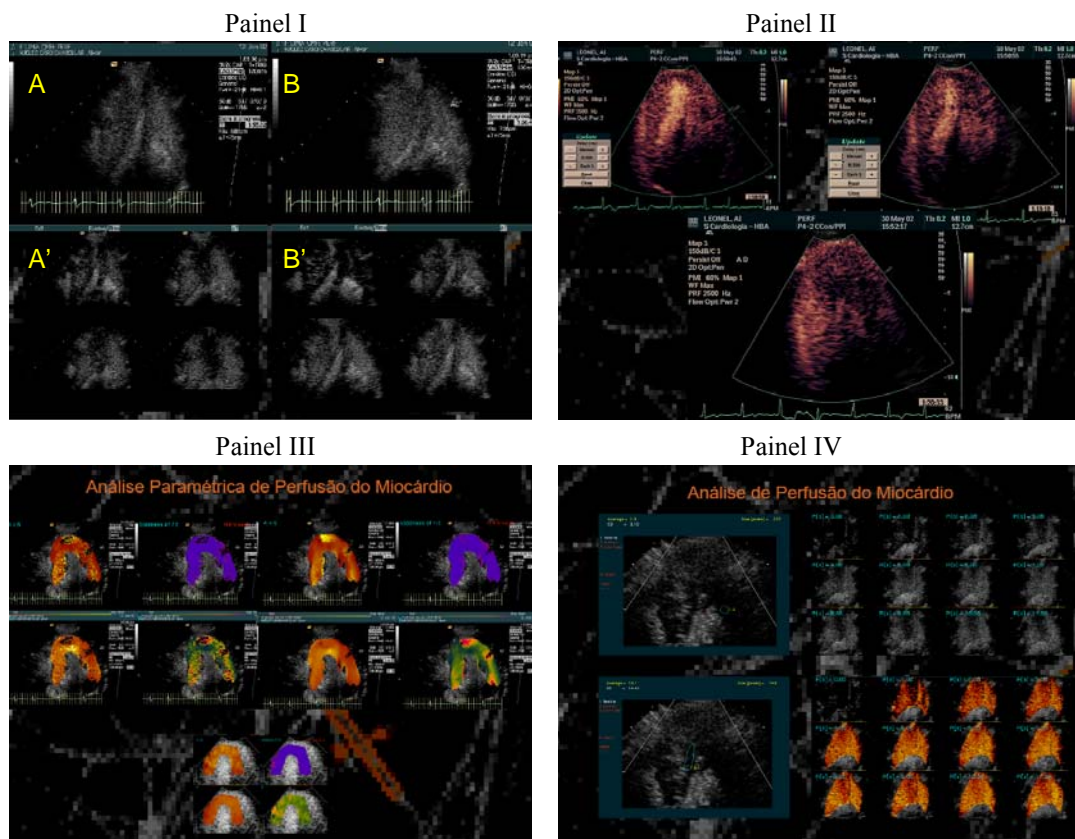


Figura 4.3.16 - O painel I representa uma sucessão de imagens de ECM em basal (A e A') e durante vasodilatação com adenosina (B e B'). No painel II observam-se imagens de aspectos relacionados com a heterogeneidade da perfusão do miocárdio. O painel III representa imagens de análise paramétrica dos parâmetros A , β , e $A \cdot \beta$. O painel IV compara e representa as imagens de ECM durante um ciclo cardíaco e a respectiva representação paramétrica do valor de β .

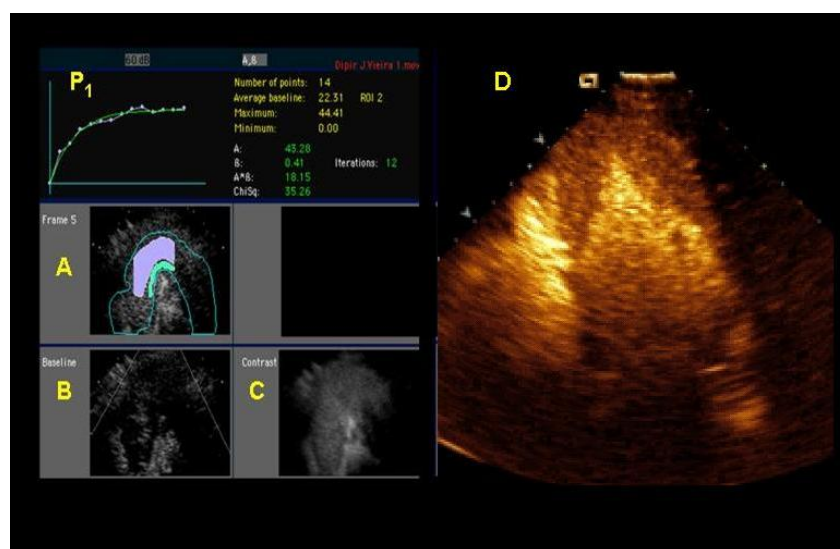


Figura 4.3.17 – Observam-se imagens de ECM com indicação das posições das RI (A) imagens em basal (B) e durante perfusão com contraste (C). Em P1 observa-se uma curva de perfusão. Em D observa-se exemplo de perfusão com contraste numa cardiomiopatia apical.

	Basal			Adenosina			RC
	β	A	FM	β	A	FM	
mep	0,62	48	46,1	1,80	83	151,4	2,9
end	0,45	33	41,4	0,50	43	103,7	1,11

Tabela 4.3.XVIII – Distribuição dos valores de β , A e FM em função da região analisada meso-epicárdica (mep) e endocárdica (end) por ECM em basal e durante a vasodilatação com adenosina; valores da RC para as respectivas regiões.

Discussão e Conclusões

Em doentes com CMH e sem doença coronária são frequentemente observados sintomas e sinais de isquémia. Na CMH a reserva coronária esgota-se para valores de frequência cardíaca mais baixos do que noutras formas de hipertrofia ventricular esquerda. A diminuição do fluxo coronário está associada ao aumento das pressões de enchimento do ventrículo esquerdo, provavelmente condicionada por alterações de distensibilidade induzidas por isquémia (371).

Nestes doentes, com coronárias angiograficamente normais, com ou sem componente obstrutivo verifica-se uma exaustão da RC quando a frequência cardíaca atinge valores entre 130 a 150 min.

Para valores superiores, todos os doentes apresentaram quadro de angor. Em todos os doentes existem alterações da capacidade de extracção de oxigénio e aumento das pressões de enchimento do ventrículo esquerdo (372). A isquémia do miocárdio condiciona maior morbidade e mortalidade, traduzida na clínica por arritmias ventriculares, morte súbita, remodelagem do ventrículo esquerdo e disfunção sistólica do ventrículo esquerdo.

Na CMH a actividade simpática está alterada e é diferente da observada nos doentes hipertensos com hipertrofia ventricular esquerda (373). Na década de 90 os estudos efectuados com PET revelaram que em doentes com CMH a microcirculação coronária estava disfuncionante e que se relacionava com as alterações morfológicas da microcirculação coronária. São descritas alterações

de remodelagem das artérias intramiocárdicas, diminuição da relação lúmen versus parede, fibrose peri-vascular, hipertrofia dos miócitos (161). São também descritas alterações dos capilares com rarefação (374), edema das células endoteliais e estenoses luminais das arteríolas (375).

Neste grupo de doentes com CMH observou-se uma diminuição global da RC e importante heterogeneidade da perfusão transmural durante a vasodilatação com adenosina.

Considerando que a disfunção da microcirculação coronária em doentes com CMH tem valor prognóstico (376), a ECM surge como um excelente método para o estudo e estratificação de risco. A ECM revelou-se uma técnica com excelente capacidade para identificar variações da perfusão do miocárdio, quer qualitativa quer quantitativamente.

Conclusões Gerais dos Trabalhos na Hipertrofia Ventricular Esquerda

Foram descritas alterações morfológicas e funcionais da microcirculação coronária na hipertensão arterial essencial que aumentam a susceptibilidade do miocárdio para a isquémia (162). A prevalência de angor e alterações da repolarização ventricular é relevante em doentes com hipertensão arterial essencial apesar de ausência de doença coronária epicárdica (377). Estes doentes revelam com frequência alterações sugestivas de isquémia durante a prova de esforço e com a cintigrafia cardíaca e quando sujeitos a aumento da frequência cardíaca por “pacing” apresentam alterações do metabolismo do lactato (168, 378). Nos doentes hipertensos está descrita alteração da vasodilatação e aumento da resistência da circulação coronária independente-mente da presença de hipertrofia ventricular esquerda (379, 381).

Exercício, Hipertrofia Ventricular Esquerda e Microcirculação Coronária

A microcirculação coronária responde rapidamente a alterações de pressão arterial sistémica e de carga sistólica do ventrículo esquerdo. Foi demonstrado em modelos experimentais que o exercício físico induz precocemente, em cerca de dez dias, e previamente ao aumento de massa ventricular esquerda, alterações da microcirculação coronária traduzidas por aumento da reserva coronária. A hipertrofia ventricular esquerda induzida pelo exercício apresenta perfusão transmural normal. Em modelos experimentais observa-se através de estudos morfométricos que existe aumento da neovascularização predominantemente arteriolar e com menor expressão na rede capilar. A rede capilar intervém neste processo através da sua capacidade de recrutamento.

Em atletas de alta competição foi descrita maior capacidade de vasodilatação das artérias coronárias epicárdicas (143), e valores iguais ou superiores de reserva coronária (280, 382). A relação entre a velocidade basal do fluxo coronário e o consumo de oxigénio está preservada na hipertrofia ventricular esquerda em atletas ao contrário do que se passa na hipertrofia ventricular esquerda, que acompanha a doença vascular hipertensiva (383).

O conjunto destes resultados revela uma diminuição da reserva coronária nas diferentes formas geométricas de hipertrofia do ventrículo esquerdo relacionadas etiologicamente com a hipertensão arterial, com a cardiomiopatia hipertrófica e com a estenose aórtica.

Quando se analisam as diferentes formas geométricas do ventrículo esquerdo no âmbito da hipertrofia verifica-se a existência de uma relação entre o iMVE e o valor da reserva coronária. Particularmente nas formas com hipertrofia do ventrículo esquerdo foi revelada a heterogeneidade de perfusão transmural e de reserva de perfusão do miocárdio. A menor reserva nas regiões

endocárdicas está directamente relacionada com alterações morfológicas e funcionais microcirculação coronária. Quando sujeitas a maior stress, com maior compromisso relativo das regiões endocárdicas, podem observar-se alterações de espessamento e contractilidade da parede. A rigidez da parede do ventrículo esquerdo compromete a função diastólica, o que explica parcialmente os quadros clínicos de insuficiência cardíaca sem compromisso da função sistólica. Este quadro clínico observa-se com mais frequência em doentes com HTA, estenose aórtica e cardiomiopatia hipertrófica.

Na hipertensão arterial as formas geométricas com remodelagem e sem aumento de massa revelam já diminuição da reserva coronária. Este facto tem duplo significado na prática clínica: confirma que em fases precoces da evolução da doença já existe disfunção da microcirculação coronária e revela a necessidade de identificar precocemente os doentes portadores de alterações da geometria do ventrículo esquerdo. Ficaré por esclarecer se, como os recentes resultados indicam, uma precoce intervenção terapêutica com correcção da disfunção da microcirculação coronária poderá alterar o prognóstico de morbidade e mortalidade nestes doentes.

Estes resultados acentuam a importância do estudo da microcirculação coronária na caracterização funcional dos doentes.

A evolução da disfunção da microcirculação coronária no âmbito da hipertrofia ventricular esquerda, com aumento da rarefacção capilar, maior compromisso da reserva coronária endocárdica e isquémia poderá conduzir a alterações do metabolismo do miocito com atordoamento e hibernação e inclusive conduzir à necrose e apoptose com conseqüente disfunção sistólica do ventrículo esquerdo. O elo de ligação entre a hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca terá certamente a disfunção da microcirculação coronária como interveniente activo.

Angor com Coronárias Angiograficamente Normais

A existência de angor com coronárias angiograficamente normais verifica-se em situações de diminuição da reserva coronária como acontece na hipertrofia ventricular esquerda, nas alterações do fluxo coronário, e na disfunção da microcirculação. Durante o exercício ou em situações de estimulação simpática o aumento da pressão tele-diastólica do ventrículo esquerdo, a maior compressão do endocárdio e a diminuição do tempo diastólico são comuns a todas as entidades patológicas referidas e constituem factores que juntamente com a rarefacção capilar e a disfunção da microcirculação coronária contribuem para desencadear um desequilíbrio entre as necessidades do miocito e o aporte de fluxo de sangue.

Será um desafio a possibilidade de se justificar a intervenção terapêutica em estádios da HTA ainda sem tradução clínica aparente mas já com alterações da microcirculação coronária documentadas por esta técnica.

4.4 Diabetes Mellitus Tipo 2

Introdução

A diabetes mellitus tipo 2 (DM₂) é uma doença com crescente prevalência em todo o mundo. Nos doentes com DM₂ a doença coronária aterosclerótica é mais prevalente, é mais severa e aparece em indivíduos mais jovens.

A disfunção do endotélio acompanhada por alterações vasomotoras, inflamatórias e pró trombóticas define um perfil de risco cardiovascular aumentado nos doentes com DM₂.

Alterações da vasomotricidade coronária fazem parte do espectro de disfunção endotelial observada em fases precoces da evolução da DM₂ e parecem ser um elemento chave no desenvolvimento do processo aterosclerótico. Em estádios iniciais da doença aterosclerótica epicárdica observam-se alterações da vasodilatação dependente do endotélio na microcirculação coronária. Estes dados indicam que nesses estádios iniciais a microcirculação já se encontra comprometida. Esta disfunção endotelial da microcirculação está associada a um compromisso da regulação do fluxo coronário e pode contribuir para a patogenia da isquémia do miocárdio como por exemplo em situações de aumento do trabalho cardíaco associadas a maior estímulo simpático (384). As alterações da função endotelial observam-se ao longo de todo o espectro do síndrome de resistência à insulina, desde as formas sem alterações metabólicas significativas até à DM₂ (284, 285, 289, 334).

Objectivos

Foi nosso objectivo estudar o estado funcional da microcirculação coronária em doentes com DM₂ em diferentes fases da evolução da doença, associada ou não a doença aterosclerótica epicárdica. Num primeiro trabalho decidimos estudar o estado funcional da microcirculação coronária numa fase inicial de evolução da DM₂ através da utilização do método de estudo ecocardiográfico transtorácico de contraste miocárdico em tempo real. Num segundo trabalho foi nosso objectivo analisar através da utilização do eco Doppler transtorácico a vaso reactividade coronária num grupo de doentes com DM₂ e com coronárias angiograficamente normais. Num terceiro trabalho estudámos a indução de defeitos de perfusão do miocárdio na DM₂ com coronárias angiograficamente normais através de *stress* vasodilatador com adenosina.

Avaliação da Reserva da Microcirculação Coronária na Diabetes Mellitus por Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio em Tempo Real

Objectivos

Analisar o estado funcional da microcirculação coronária em fases iniciais de evolução da DM₂ através da utilização do método de estudo ecocardiográfico transtorácico de contraste miocárdico em tempo real.

Material e Métodos

Foi estudada uma população de 44 doentes com o diagnóstico clínico e laboratorial de DM₂ não complicada (Grupo DM), idade média 46 ± 12 anos, em fase inicial da doença com evolução conhecida inferior a 5 anos, sem evidente doença coronária (prova de esforço negativa) e em classe I NYHA. Esta população foi comparada com um grupo controlo de 20 indivíduos (Grupo N), com idade média de 50 ± 22 anos, sem DM₂ e com semelhante prevalência de dislipidemia (42%), HTA (34%), tabagismo (21%).

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Todos os casos foram submetidos a idêntico protocolo de estudo ECM em tempo real (previamente descrito) com administração I.V. de agente de contraste SonoVue® ou Optison® em condições basais e durante a infusão I.V. contínua de adenosina na concentração de 140 µg/kg/min.

Foi utilizado equipamento ultrasónico Sequoia C512 protocolo CCI, técnica não destrutiva.

Foram analisadas regiões de interesse situadas na parede anterior e septo interventricular e parede anterior do ventrículo esquerdo em apical 2 e 4 câmaras. Foram calculadas as respectivas curvas de perfusão em função do tempo, calculados os valores de A, β e A*β (FM) e reserva fluxo miocárdico (FM ad/basal) assim como o intervalo de tempo decorrido para obtenção do efeito vasodilatador máximo coronário (δt).

	ECM
Equipamento Ultrasónico	Sequoia C512
Protocolo de imagem	Tempo real, CCI
Agente de Contraste	Optison 0,2 a 0,5 ml/min, SonoVue 0,5 a 1,5 ml/min
Fármaco Vasodilatador	Adenosina 140 µg/kg/min
Análise de Imagem	ECM 2.7 Yabko

Tabela 4.4.I – Condições do trabalho, com indicação do equipamento ultrasónico, protocolo de imagem, agente de contraste, agente vasodilatador, e software de análise de imagem utilizados.

Análise Estatística

Foi aplicado o teste de Student, a análise t teste emparelhado e o teste de Wilcoxon.

Resultados

Registaram-se valores de RFM e δt para grupo N e DM respectivamente de $2,3 \pm 0,4$ e $2,0 \pm 0,3$ ($p < 0,5$) e 45 ± 10 seg e 90 ± 15 seg ($p < 0,05$).

	RFM	δt (seg \pm sd)
N	$2,3 \pm 0,4$	45 ± 10
DM	$2,0 \pm 0,3$	90 ± 15

Tabela 4.4.II – Valores de RFM e tempo decorrido para desencadear vasodilatação com adenosina (δt) para os dois grupos estudados.

Discussão e Conclusões

Neste trabalho efectuámos por ECM a análise da reserva coronária num grupo de 44 doentes jovens, com DM₂ e em fase inicial da doença. Quando comparados com uma população “normal” os valores da reserva coronária não revelaram diferença estatisticamente significativa. Considerando que possa existir apesar de tudo um certo grau de disfunção da microcirculação coronária neste grupo de doentes, provavelmente o número da amostra teria de ser maior para se poder encontrar diferenças significativas em relação ao grupo controlo.

O intervalo de tempo necessário para obtenção do efeito de vasodilatação coronária máxima estava significativamente prolongado em relação ao do grupo controlo cujo significado desconhecemos e não encontramos descrito na literatura. Poderemos especular que esse atraso de vasodilatação observado poderá traduzir outra forma de disfunção da microcirculação coronária neste grupo de doentes. Neste trabalho não foi analisada a eventual heterogeneidade transmural dos valores de RC.

Disfunção Endotelial Coronária na Diabetes Mellitus Tipo 2 com Coronárias Angiograficamente Normais

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar a vaso reactividade coronária num grupo de doentes com DM₂ e com coronárias angiograficamente normais utilizando uma técnica não invasiva, a ecocardiografia Doppler transtorácica.

Material e Métodos

Foram estudados 109 doentes com DM₂ com tempo de evolução superior a 10 anos, divididos em dois grupos comparados com um grupo controlo.

Grupo DM- : constituído por 45 doentes, idade 52 ± 13 anos, com DM₂ e com quadro de angor e prova de esforço electricamente positiva para isquémia e com coronárias angiograficamente normais. Grupo DM+: constituído por 64 doentes com DM₂ e com doença coronária angiográfica da DA. O grupo controlo CTRL foi constituído por 22 indivíduos, sem DM₂ e com coronárias angiograficamente normais.

A distribuição por sexo, HTA, tabagismo e dislipidemia foi semelhante nos dois grupos.

	CTRL	DM-	DM+
Número	22	45	64
Idade \pm sd	48 ± 18	52 ± 13	55 ± 10
IMC \pm sd	26 ± 6	28 ± 5	28 ± 5
Hipertensão arterial	(5) 23%	(14) 31%	(22) 34%
Dislipidemia	(6) 24%	(14) 31%	(20) 31%
Tabagismo	(10) 45%	(20) 44%	(28) 44%

Tabela 4.4.III – Características da população estudada.

Ecocardiografia Doppler Transtorácica

Em todos os grupos foi estudada a reserva coronária da artéria descendente anterior por EDTT conforme descrito previamente. Foram utilizados equipamentos Sequoia 512 e 256, e ATL 5000. A sobrecarga vasodilatadora foi efectuada com adenosina na concentração de $140 \mu\text{g/kg/min}$. As imagens foram armazenadas em disco rígido do ecógrafo em formato Dicom para posterior revisão. Foram considerados normais valores da reserva coronária iguais ou superiores a 2,5.

Resultados

No grupo CTRL foram obtidos valores de reserva coronária de $3,93 \pm 0,5$. No grupo DM+ obtiveram-se valores de reserva coronária de $1,63 \pm 0,5$ significativamente inferiores ($p < 0,005$); no grupo DM- obtiveram-se valores de $2,20 \pm 0,6$ com diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CTRL ($p < 0,05$).

As velocidades do fluxo diastólico coronário basal revelam-se significativamente diminuídas no grupo DM+ (0,226 m/s).

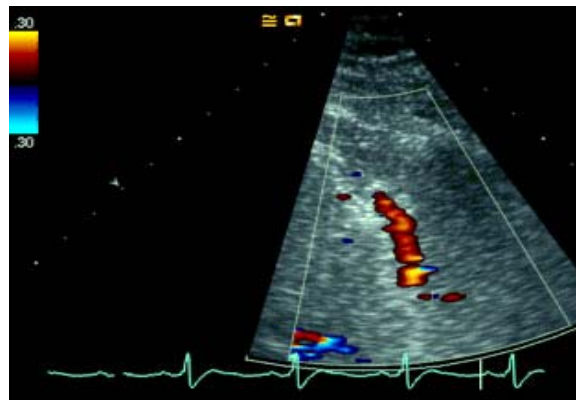


Figura 4.4.1 - Imagem correspondente ao fluxo codificado a cor da artéria descendente anterior distal obtida por ecocardiografia Doppler transtorácica com ecocardiógrafo Sequoia 512 e sonda 4Vc após efeito vasodilatador da adenosina.

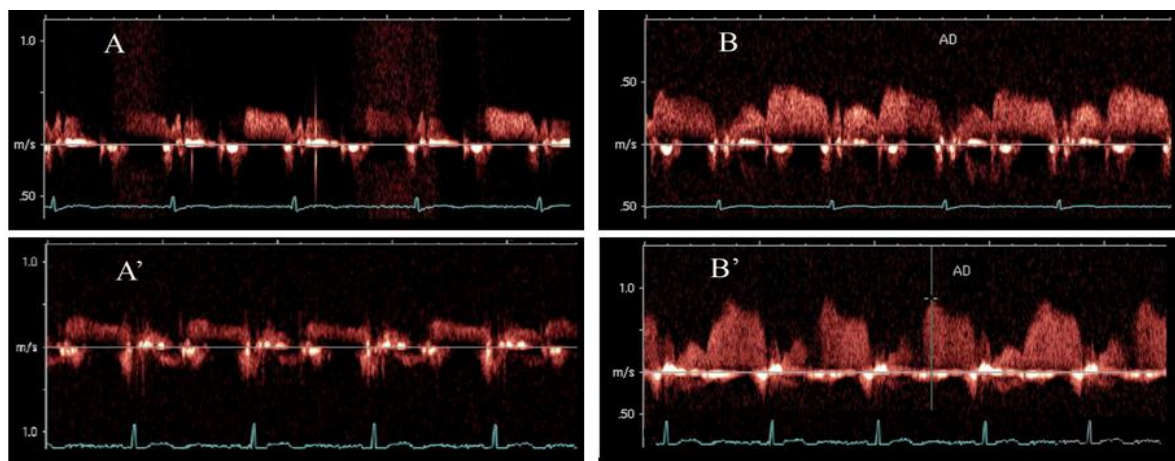


Figura 4.4.2 - Exemplos de registos de espectro Doppler dos fluxos da artéria descendente anterior distal em basal (A e A') e após administração de adenosina I.V. $140 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, 5 min (B e B'). No exemplo superior, correspondente a um doente DM +, observa-se ligeiro aumento da velocidade máxima do fluxo diastólico após vasodilatação da microcirculação coronária, com cálculo de reserva coronária de 1,2. No exemplo inferior, correspondente a um doente DM -, observa-se aumento significativo da velocidade máxima do fluxo diastólico após a vasodilatação, com cálculo de reserva coronária de 2,7.

	N	DM -	DM +
Basal (m/s)	0,425	0,305	0,226
Hiperemia (m/s)	1,669	0,670	0,369
RC	3,93 ± 0,5	2,20 ± 0,6	1,63 ± 0,5

Tabela 4.4.IV - Valores de velocidade máxima do fluxo coronário da DA distal em basal e em hiperemia e valores da reserva coronária e respectivos desvios padrão para os diferentes grupos estudados CTRL (controlo), DM+ (com DM₂ e doença coronária), DM- (com DM₂ e sem doença coronária).

Discussão e Conclusões

Os resultados deste trabalho confirmam a existência de compromisso da vasodilatação da microcirculação coronária em doentes com DM₂ com doença aterosclerótica epicárdica e também nos doentes com DM₂ mas com coronárias angiograficamente normais. O facto de não existir evidência de placas de ateroma observáveis por angiografia não exclui a existência de doença intraparietal.

Apesar de não existir doença coronária angiográfica nos grupos N e DM- observa-se significativa diminuição da reserva coronária no grupo DM-. Interpretamos estes resultados como sugestivos de na DM₂ existirem precocemente alterações funcionais e ou morfológicas tanto da parede vascular (não detectáveis angiograficamente) como da microcirculação coronária, que se traduzem numa menor capacidade de resposta vasodilatadora e de recrutamento da microcirculação com o estímulo hiperémico da adenosina. A análise da reserva coronária por este método revela-se potencialmente útil para a identificação precoce de doença vascular coronária.

Defeitos Reversíveis de Perfusão na Diabetes Mellitus Tipo 2 com Coronárias Angiograficamente Normais

Objectivos

A reserva coronária está diminuída na diabetes mellitus tipo 2 e nas diferentes formas do síndrome de resistência à insulina e pode condicionar defeitos de perfusão do miocárdio com potencial repercussão no metabolismo e função do miocárdio. Conhece-se a elevada prevalência de isquémia silenciosa na DM₂.

Foi nosso objectivo analisar a indução de defeitos de perfusão do miocárdio na DM₂ com coronárias angiograficamente normais através de *stress* vasodilatador com adenosina.

Material e Métodos

O estudo foi efectuado num grupo de 40 doentes com DM₂ sem doença coronária angiográfica e que revelaram em trabalho prévio, valores de reserva coronária diminuídos.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

Por ecocardiografia de contraste do miocárdio em tempo real, técnica descrita previamente, foi efectuada a análise da perfusão do miocárdio em basal com administração I.V. em infusão de agente de contraste SonoVue® ou Optison® e com *stress* vasodilatador com adenosina na concentração de 140 µg/kg/min.

Foi utilizado equipamento ultrasónico Sequoia C512, protocolo CCI e CPS técnica não destrutiva e ATL 5000, protocolo PPI em tempo real, não destrutiva.

A avaliação da perfusão foi efectuada qualitativamente por observação directa e semi quantitativamente através de análise paramétrica com software de imagem MCE 2.7 Yabko, de imagens do ventrículo esquerdo adquiridas em apical 2 e 4 câmaras.

Análise Estatística

Foi utilizado o teste de Student e de Wilcoxon.

Resultados

Observaram-se durante o *stress* vasodilatador com adenosina alterações transitórias da perfusão (AP) em 16 doentes. As AP consistiram em dois tipos de alterações: atraso da perfusão (AP_{AP}) observada por atraso superior a 1 ciclo cardíaco, do preenchimento do músculo do ventrículo esquerdo por contraste; defeito de perfusão (AP_{DP}) que consistia na ausência de preenchimento do músculo do ventrículo esquerdo por contraste durante pelo menos cinco ciclos cardíacos. Foram observadas AP_{AP} em 4 doentes e AP_{DP} em 6 doentes.

A ECM foi repetida em todos os doentes com AP cerca de 5 a 10 minutos após a primeira colheita de imagens. Comparando doente a doente não foram reprodutíveis as AP.

Nos 4 doentes com AP_{AP} em 2 voltaram a ser observadas AP_{AP} e nos outros dois doentes o exame foi normal. Nos 6 doentes com AP_{DP} em 4 repetiram-se os achados ecocardiográficos. Todas as alterações de perfusão foram observadas na região sub-endocárdica, e não foram traduzidas por sintomas, alterações hemodinâmicas e ou electrocardiográficas relevantes. Observaram-se alterações “de novo” da cinética segmentar em 30% dos doentes.

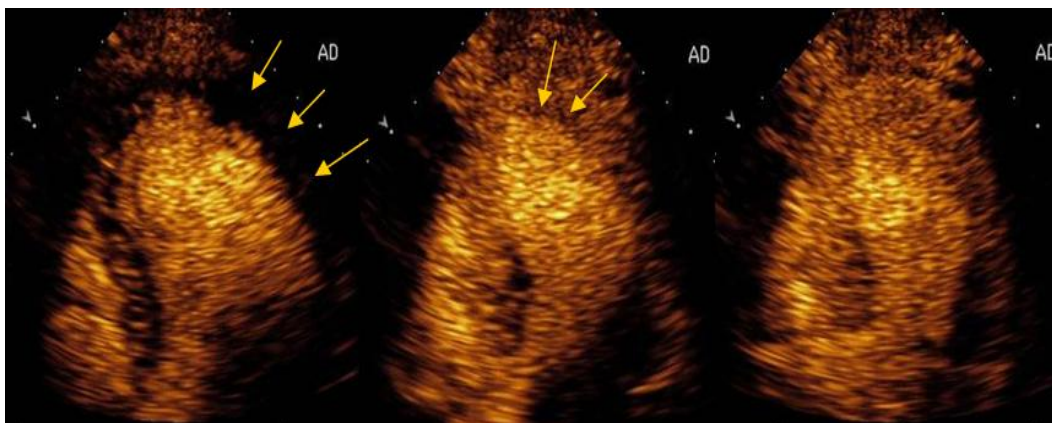


Figura 4.4.3 – Imagens sucessivas do mesmo ciclo cardíaco de ECM durante a infusão de adenosina. Observa-se atraso de perfusão na 1ª imagem, defeito sub-endocárdico da parede lateral na 2ª imagem e normal perfusão em todos os segmentos do ventrículo esquerdo na 3ª imagem.

Estes dados revelam existir uma dinâmica de AP sob *stress* vasodilatador traduzidas por atraso ou defeito que não são permanentes. Dos 10 doentes inicialmente com AP_{AP}, 4 mantiveram o mesmo padrão, 4 não revelaram AP e 2 revelaram AP_{DP}. Dos 6 doentes inicialmente com AP_{DP}, em 2 observou-se o mesmo padrão, em 2 doentes não se observaram AP e em 2 doentes observaram-se AP_{AP}.

	ECM 1	ECM 2		ECM 1	ECM 2
1	AP _{AP}	N	9	AP _{AP}	N
2	AP _{AP}	AP _{AP}	10	AP _{AP}	AP _{DP}
3	AP _{DP}	AP _{AP}	11	AP _{DP}	AP _{AP}
4	AP _{AP}	N	12	AP _{AP}	AP _{AP}
5	Atr P	AP _{DP}	13	AP _{DP}	AP _{DP}
6	AP _{AP}	AP _{AP}	14	AP _{AP}	N
7	AP _{DP}	N	15	AP _{DP}	N
8	AP _{DP}	AP _{DP}	16	AP _{AP}	AP _{AP}

Tabela 4.4.V – Indicação dos 16 doentes em que foram observados no primeiro exame alterações da perfusão por ecocardiografia de contraste do miocárdio e a respectiva análise em exame posterior.

No 2º exame observaram-se AP em 60% dos 16 doentes iniciais. Em cerca de 70% dos doentes verificou-se mudança do padrão de perfusão. Como só repetiram o ECM os doentes que revelaram AP o primeiro exame não se conhece quantos doentes normais no primeiro exame revelariam AP num eventual segundo exame.

		N	AP _{AP}	AP _{DP}
ECM 1		44	10	6
ECM 2	N	-	4	2
	AP _{AP}	-	2	2
	AP _{DP}	-	4	2

Tabela 4.4.VI – Distribuição dos doentes estudados em função das alterações da perfusão em cada um dos exames.

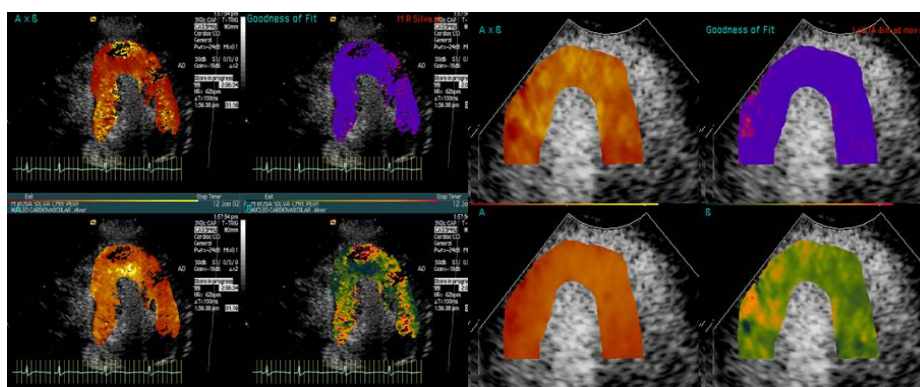


Figura 4.4.4 – Imagens de análise paramétrica da perfusão do miocárdio, revelando grande dispersão dos valores de $A*\beta$, A e β que revela a heterogeneidade da perfusão analisada na escala temporal e espacial.

Discussão e Conclusões

Estes resultados revelam a existência de alterações dinâmicas da perfusão do miocárdio num grupo de doentes com DM₂ e sem doença coronária angiográfica significativa. As alterações foram silenciosas do ponto de vista clínico e hemodinâmico.

Alterações idênticas poderão ocorrer em grupos com características semelhantes a este, sempre que for desencadeado um estímulo simpático ou aumento de consumo de oxigénio no âmbito de exercício físico ou emocional. Situações de isquemia transitória e repetidas poderão ter repercussões no metabolismo do miocárdio e na sua função.

Conclusões Gerais dos Trabalhos na Diabetes Mellitus Tipo 2

A diabetes mellitus é uma patologia sistémica com envolvimento preferencial da microcirculação arterial (385).

A prevalência de doença aterotrombótica é maior e o prognóstico é mais grave na DM₂. É elevada a prevalência de isquémia silenciosa da DM₂. A reserva coronária está diminuída na DM₂ e nas diferentes formas do síndrome de resistência à insulina e pode condicionar defeitos de perfusão do miocárdio com potencial repercussão no metabolismo e função do miocárdio. A epidemia mundial do síndrome de resistência à insulina é uma realidade. É elevada a prevalência de isquémia silenciosa da DM₂ (386 - 388).

Microcirculação Coronária na Diabetes Mellitus tipo 2

Na DM₂ existem alterações funcionais e estruturais da microcirculação coronária. Estudos histopatológicos em doentes com DM₂ revelaram existir alterações estruturais da microcirculação como espessamento arteriolar, acumulação de tecido conjuntivo peri-vascular, microaneurismas capilares (384) e a densidade capilar está diminuída (389).

Nas artérias de condutância e nas artérias de resistência da circulação periférica também se observou a existência de disfunção endotelial para vários estádios do síndrome de resistência à insulina, de forma semelhante ao descrito para a DM₂ (390, 391).

Estas alterações vasomotoras, inflamatórias e pró trombóticas associadas à disfunção endotelial contribuem para a patogenia das alterações a nível macro e microvascular e em particular no território coronário. A disfunção endotelial evolui a par dos factores de risco de doença coronária e é potencialmente reversível (392, 393).

Etiopatogenia da Ddisfunção da Microcirculação Coronária

Têm sido sugeridas várias hipóteses para explicar a disfunção da microcirculação coronária nos vários estádios de resistência à insulina: compromisso da biodisponibilidade de NO, aumento de radicais de oxigénio, aumento da endotelina, níveis de HDL colesterol e triglicéridos.

A disfunção do endotélio é comum à DM₂ e à doença coronária aterosclerótica. A doença aterosclerótica traduz-se precocemente por disfunção endotelial, por alterações da vasomotricidade e de recrutamento de capilares. O endotélio vascular ocupa uma posição central no controlo da vasomotricidade, no controlo da atracção e adesividade leucocitária, no crescimento das células musculares lisas, no transporte de nutrientes e remoção de “*debris*”, na inflamação, coagulação e trombose. O óxido nítrico é um elemento fundamental na função endotelial. A diminuição da sua biodisponibilidade traduz-se a vários níveis fisiopatológicos, como no aumento de metaloproteinasas com conseqüente diminuição do colagénio na cápsula da placa de ateroma que conduz a um aumento do risco de ruptura e fenómenos aterotrombóticos. Estão elevados na DM₂ os níveis do inibidor do activador do plasminogénio tipo 1, responsável pela inibição da fibrinólise.

O estímulo simpático mediado pelo “teste ao frio” desencadeia numa microcirculação normal uma vasodilatação fundamentalmente dependente do endotélio. As alterações da vasomotricidade observadas em resposta ao “teste do frio” encontram-se comprometidas no síndrome de resistência à insulina. Estas alterações verificam-se mesmo em doentes sem os tradicionais factores de risco

para doença cardiovascular. A magnitude destas alterações está relacionada com a intolerância aos hidratos de carbono e é mais grave na presença de DM₂ e hipertensão arterial (394).

Na neuropatia autonómica da DM₂ o compromisso da vasodilatação após estímulo simpático está relacionado com o grau de disautonomia (396, 397). Precocemente na evolução da DM₂ com disfunção do sistema nervoso autónomo, existe compromisso da vasodilatação mediada pelo estímulo simpático. Em situações como o exercício físico, exposição ao frio ou *stress* mental existe activação do sistema nervoso central e estímulo simpático traduzido por vasodilatação da microcirculação coronária (395).

Hiperglicemia e Hipertrigliceridemia

Foi descrita a existência de defeitos de perfusão do miocárdio após as refeições tanto em doentes com DM₂ como em indivíduos saudáveis. Na situação pós-prandial observa-se disfunção endotelial que é mediada pela hiperglicemia e hipertigliceridemia. Alguns trabalhos têm dado relevo ao papel da hiperglicemia pós prandial como um importante factor de risco independente para doença cardiovascular (394, 398). Foi documentado um aumento de formação de radicais livres de oxigénio que provoca disfunção endotelial tanto nos doentes com DM₂ como em indivíduos saudáveis. A correcção do controlo metabólico melhora a perfusão miocárdica na DM₂ (393). A hiperglicemia agrava o compromisso da função endotelial que pode ser parcialmente corrigido pela insulina. Os valores de glicemia e a insulina interferem na regulação do número de capilares recrutados para a perfusão tecidual (400).

Com os nossos trabalhos obtivemos resultados que confirmam a existência de compromisso da vasodilatação coronária em doentes com DM₂ quer com doença aterosclerótica epicárdica como também nos doentes com DM₂ com coronárias angiograficamente normais. O facto de não existir evidência de placas de ateroma proclidentes para o lúmen não exclui a existência de doença aterosclerótica na parede do vaso. A ecografia intravascular tem revelado a existência e heterogeneidade de distribuição das lesões ateromatosas nas coronárias epicárdicas em particular de doentes com DM₂.

Defeitos de Perfusão e Compromisso da Função do Ventrículo Esquerdo

Estão descritos na literatura defeitos de perfusão reversíveis em particular na doença coronária isquémica e recentemente no síndrome X. Mais recentemente foram descritos defeitos de perfusão do miocárdio por ECM em indivíduos normais em situação pós prandial (402).

A hipótese de alterações, como a variação da temperatura ambiente, o stress emocional ou físico, a situação pós prandial, poderem ser eventualmente causa directa ou indirecta de modificações da perfusão, coloca diversas questões que desafiam o nosso conhecimento sobre a fisiopatologia da microcirculação coronária. Se qualquer destes factores actuar numa microcirculação coronária já com um determinado grau de disfunção então a duração, a extensão e a repercussão dos defeitos de perfusão, mesmo que transitórios poderá ter consequências relevantes para o metabolismo do miocito e para a função do ventrículo esquerdo.

Num dos trabalhos que apresentámos, tivemos a possibilidade de através de imagens em tempo real constatar a existência de defeitos dinâmicos de perfusão durante a vasodilatação com adenosina, todos observados na região sub-endocárdica, alguns acompanhados por alterações transitórias da cinética segmentar do ventrículo esquerdo. Interpretamos estes defeitos de perfusão como a consequência de uma disfunção da microcirculação coronária que em basal esgotou parcial ou totalmente a sua reserva de fluxo miocárdico e perante um stress vasodilatador provocado pela adenosina revela a heterogeneidade da distribuição do fluxo coronário a nível transmural expondo a região sub-endocárdica a uma diminuição relativa ou absoluta do fluxo coronário. Repetidas agressões sobre a já disfuncionante microcirculação coronária poderão levar a situações como o “atordoamento miocárdico” e o “miocárdio hibernante”. Conceitos ainda sem explicação como a cardiomiopatia diabética poderão ser revistos com base nestes novos dados experimentais.

A possibilidade de identificar precocemente alterações da microcirculação coronária neste grupo de doentes com síndrome de resistência à insulina possibilitará estratificar grupos de risco e iniciar medidas preventivas também precoces no sentido de evitar a evolução da doença e eventualmente fazê-la regredir.

4.5 Doença Coronária Aterosclerótica

Introdução

A doença coronária aterosclerótica tem dominado nos últimos cinquenta anos as preocupações do mundo ocidental em termos clínicos e de investigação. Têm sido feitos importantes avanços na compreensão da fisiopatologia das síndromes coronárias de que resultaram diferentes formas de abordagem terapêutica com sucesso nesta patologia. Contudo o que se verifica na maior parte dos casos é que a intervenção é feita numa fase já tardia da evolução da doença vascular aterosclerótica. Será necessário compreender a fisiopatologia deste síndrome e identificar os grupos de doentes com maior risco em desenvolver a doença para que uma intervenção mais precoce possa ser traduzida com êxito em resultados clínicos a longo prazo. Este objectivo levou a que se investigasse a fisiopatologia da aterosclerose e hoje a visão sobre este assunto é muito diferente do que se tinha há alguns anos, chegando-nos todos os dias um grande volume de informação.

Modelo Experimental

Pelo anteriormente exposto tem sido a doença coronária o modelo para o estudo da circulação coronária. A grande maioria dos trabalhos de investigação continua a ser efectuada a partir deste modelo fisiopatológico. Na sua evolução a doença coronária pode atingir toda a rede coronária.

Embora só os vasos de maior calibre sejam afectados pela infiltração ateromatosa não se observando alterações na microcirculação coronária, esta pode em consequência do acidente coronário agudo sofrer diferentes tipos de disfunção.

Durante a instalação de diferentes graus de obstrução das coronárias epicárdicas assiste-se ao desencadear de mecanismos de compensação por parte da microcirculação coronária no sentido de manter as condições necessárias de homeostase. Os trabalhos de Gould trouxeram uma visão diferente da integração do conceito estenose e perfusão.

Apesar de existirem graus de obstrução importantes (até cerca de 80%) o fluxo coronário basal é mantido em valores normais através de mecanismos de compensação com sede na microcirculação coronária. A partir de graus de obstrução de 80% e estando esgotados os mecanismos locais de compensação o fluxo coronário diminui.

O conceito de cascata isquémica inicia-se com a diminuição do volume de fluxo coronário, seguindo-se diminuição da perfusão, isquémia, alterações da cinética segmentar, alterações da repolarização ventricular e angor. O desencadear do angor corresponde a uma fase temporal tardia da cascata isquémica, precedido sucessivamente pelo electrocardiograma na identificação da isquémia, pelo ecocardiograma na identificação das alterações da cinética e pela cintigrafia na identificação das alterações de perfusão. Até à data ainda não foi possível implementar na prática clínica uma técnica de imagem com capacidade de poder ser executada com facilidade, à cabeceira do doente e de forma repetida sem expor o doente a outras formas de risco como a transmissão de

radiações ionizantes e que finalmente consiga diagnosticar alterações de perfusão do miocárdio que são o primeiro facto da repercussão de doença coronária com significado clínico.

Disfunção da Microcirculação Coronária

Estádios precoces de evolução da doença vascular aterosclerótica são acompanhados por compromisso da vasodilatação dependente do endotélio com conseqüente disfunção da microcirculação coronária (384).

Nas fases mais complicadas da doença coronária como nos síndromes coronárias agudas, a interrupção temporária ou definitiva do fluxo nas artérias coronárias epicárdicas condiciona alterações da microcirculação coronária, desde diferentes graus de disfunção até à lesão microvascular irreversível. Actos terapêuticos como a fibrinólise e a angioplastia podem causar disfunção da microcirculação coronária por embolização periférica de “*debris*” do trombo e da parede do vaso, lançados na circulação coronária e que vão obstruir a microcirculação coronária temporária ou definitivamente.

O tempo de isquémia é um factor importante na definição de viabilidade do miocárdio, assim como a existência de suficiente fluxo proveniente da circulação colateral.

Objectivo

Pretende-se analisar a microcirculação coronária em diferentes situações no âmbito da doença coronária procurando perceber a relação entre disfunção da microcirculação coronária global e transmural e a sua tradução na cinética regional do miocárdio e a importância da sua avaliação no diagnóstico das síndromes coronárias.

Cascata Isquémica na Doença Coronária da Descendentes Anterior por Ecocardiografia de Perfusão e Sobrecarga Farmacológica

Objectivos

O nosso objectivo foi analisar parâmetros de perfusão do miocárdio por ECM simultaneamente com análise da cinética segmentar por eco de sobrecarga com dobutamina (ESD).

Material e Métodos

Foi constituída por 24 doentes referenciados para estudo de eventual doença coronária. A ECM foi efectuada em tempo real com dois sistemas de ultrasons Sequoia e ATL 5000, com software respectivamente CCI e PPI; foi utilizado agente de contraste SonoVue® 0,5 a 1,5 ml/min em infusão contínua.

A análise de perfusão do miocárdio foi efectuada de forma quantitativa com software de perfusão MCE 2.7 Yabko. Foi efectuada ESD e simultaneamente em todos os doentes análise de perfusão do miocárdio por ECM.

A ecocardiografia de sobrecarga com dobutamina foi efectuada segundo protocolo habitual com incrementos de 10 g de dobutamina de 3 em 3 minutos. O exame era suspenso quando atingidos 85% da frequência cardíaca máxima ou se surgissem alterações da cinética ou instabilidade clínica ou hemodinâmica.

Foram calculados para cada segmento da parede anterior e septal os valores de A, β e A* β (FM) e reserva coronária. Foram analisados 144 segmentos em cada estágio do ESD, basal (Bas), baixa dose (I), 30g (II), dose máxima (III) e recuperação (R), num total de 720 segmentos. Para cada estágio foi considerado existir hipoperfusão (Hip) para variações de FM superiores a 30% em relação ao estágio basal (FM bas - FM I, II, III, R / FM bas).

Resultados

Verificámos a existência de alterações da perfusão no estágio I e II respectivamente em 8,3% e 75,0% dos doentes, enquanto as alterações da cinética são predominantemente nos estádios II e III respectivamente em 33,3 e 50,0% dos doentes. A comparação dos dois métodos foi sujeita a análise estatística que revelou valores de $X^2 = 21,28$ e $p < 0,005$ com o teste de Chi-quadrado.

ALT PERF	ALT CINÉTICA				Total
	I	II	III	R	
I	-	2	-	-	2
II	1	6	11	-	18
III	-	-	1	3	4
Total	1	8	12	3	24

Tabela 4.5.I – Distribuição do número de segmentos com hipoperfusão estudados nestes grupos de doentes com ECM e ESD.

Discussão e Conclusões

Estes resultados revelam a exequibilidade de simultaneamente se efectuar ecocardiografia de perfusão e ecocardiografia de sobrecarga e confirmam o conceito de cascata isquémica na prática clínica.

Confirma-se neste trabalho que as alterações da perfusão precedem as alterações da cinética. Estes resultados apontam para a grande potencialidade desta técnica de ECM no âmbito da DC se no futuro for possível monitorizar em tempo real a perfusão regional do miocárdio.

Doppler de Contraste do Fluxo das Artérias Perforantes Intramiocárdicas na Definição da Patência da Descendente Anterior

Introdução

O objectivo terapêutico nos SCA com supra-desnívelamento do segmento ST (SST) é restabelecer e manter a patência da artéria e a perfusão do miocárdio. A sensibilidade e especificidade dos indicadores de reperfusão (clínicos, eléctricos e analíticos) são baixas.

Objectivos

Foi nosso propósito utilizar uma técnica não invasiva, para analisar e relacionar a existência de fluxo das artérias perforantes intramiocárdicas (APIM), com a patência da artéria previamente sujeita a terapêutica fibrinolítica (Tfib).

Material e Métodos

Foram estudados 44 doentes com oclusão aguda da DA e supra de ST após Tfib. O estudo EDTT e a coronariografia foram efectuados com intervalos inferiores a 4 horas.

A todos os doentes foi efectuado estudo Doppler transtorácico, com equipamento Sequoia 512 com sonda de 7 MHz e ATL 5000 com sondas de 2,5 a 5 MHz. Foi sempre utilizado meio de contraste: SonoVue® em bólus de 0,2 a 0,3 ml, para acentuação do sinal Doppler.

O fluxo das APIM foi analisado, nos segmentos apicais dependentes da DA. A existência (APIM+) ou ausência (APIM-) de fluxo por EDTT foi relacionada com a existência de patência (Pat) ou de oclusão (Ocl) da DA por critérios angiográficos.

Foram critérios para a identificação de vasos intramiocárdicos o fluxo ser predominantemente diastólico, a sua direcção perpendicular ao plano epicárdico, a existência de um bom envelope espectral por Doppler pulsado, e a imagem repetir-se no mínimo em cinco ciclos cardíacos consecutivos.

Resultados

A técnica EDTT com contraste revelou uma sensibilidade e especificidade de respectivamente 100% e 79%, valor preditivo positivo e negativo patência da DA de 91% e 100%.

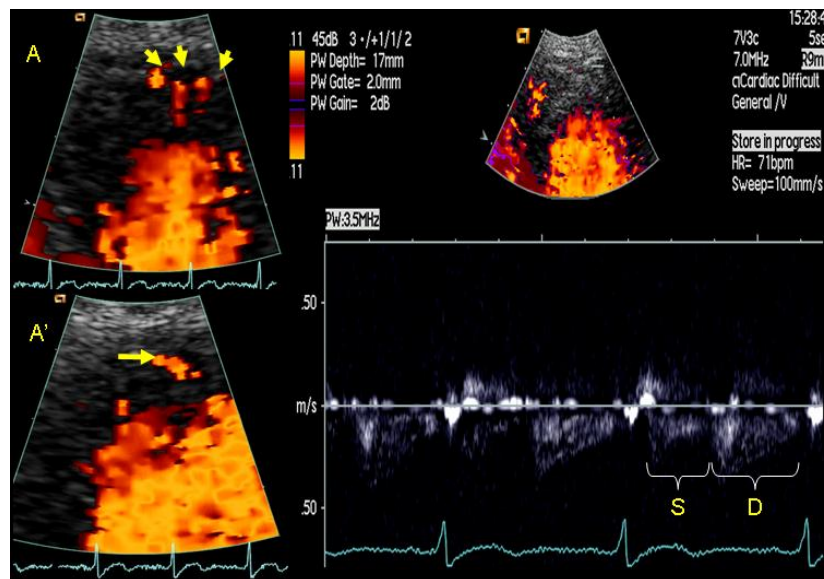


Figura 4.5.1 – Imagens apical de 4 câmaras, do fluxo codificado a cor de artérias perfurantes, na espessura do ápex do ventrículo esquerdo (A, A') e do espectro Doppler pulsado dos respectivos fluxos, com identificação do componente sistólico (S) e diastólico (D). De referir o padrão do espectro do fluxo sistólico com uma desaceleração inicial rápida.

Discussão e Conclusões

Nos síndromes coronárias agudas apesar de a artéria poder permanecer aberta após revascularização farmacológica ou mecânica foi demonstrado existir diminuição da RC, do fluxo arterial e por vezes fenómeno de “*no reflow*”. Os segmentos miocárdicos previamente afectados pela estenose ou obstrução da DA podem sofrer consequências transitórias ou definitivas da isquémia a que foram sujeitos e a recuperação funcional destes segmentos pode ser pequena ou nula.

Têm sido sugeridas algumas explicações para este fenómeno como a disfunção endotelial, o fluxo de competição pelas colaterais, a embolização distal e a lesão da microcirculação.

Outros dados sugerem alterações da remodelagem da microcirculação distal à estenose ou oclusão da artéria epicárdica. A remodelagem microvascular traduz-se por alterações da espessura da parede e redução do lúmen arterial. Estas alterações desenvolvem-se distalmente a uma estenose epicárdica significativa.

É clinicamente importante a monitorização da patência das artérias sujeitas a revascularização; a existência de uma grande percentagem de reoclusão arterial no âmbito dos SCA com SST após fibrinólise, revela a baixa sensibilidade e especificidade dos critérios utilizados para a sua avaliação; no grupo de doentes estudado foi claramente demonstrado que através de uma técnica não invasiva, à cabeceira do doente, é possível de forma sensível e específica avaliar a existência de patência ou oclusão da DA com importantes vantagens na escolha da decisão terapêutica e condicionamento da morbidade e mortalidade.

Ecocardiografia de Contraste Miocárdico e Identificação da Heterogeneidade do Padrão de Perfusão pós Acidente Coronário

Introdução

A ecocardiografia de contraste do miocárdio permite a quantificação da reserva regional de fluxo miocárdico e a caracterização funcional da microcirculação coronária e a avaliação da área de necrose após reperfusão. A viabilidade dos miócitos durante o acidente coronário agudo (ACA) depende da existência de níveis de perfusão superiores a 25% dos valores normais, dependente fundamentalmente da circulação colateral.

Objectivos

Num grupo de doentes com enfarte agudo do miocárdio da parede anterior, pretendemos avaliar a exequibilidade em identificar zonas com diferentes padrões de perfusão por ECM e comparar a sua evolução em função do tempo.

Material e Métodos

Em 30 doentes com diagnóstico de enfarte agudo do miocárdio com elevação do segmento ST, da parede anterior, foi efectuada ECM.

A ECM foi efectuada segundo método descrito previamente, em tempo real não destrutivo em basal e durante vasodilatação com adenosina. Foi utilizado equipamento Sequoia 256 e 512 e ATL 5000 com sondas 4 MHz, com estudo da reserva coronária miocárdica nas primeiras 3 horas (3 h) após ACA, e ao fim de 30 dias (30 d).

Foram posicionadas consecutivamente, ao longo da parede anterior, regiões de interesse, durante a infusão contínua I.V. de agente de contraste Optison®, abrangendo tanto as zonas periféricas como a zona central de hipoperfusão e zonas de normal perfusão; foram utilizados três diferentes planos tomográficos em apicais duas câmaras, 3 câmaras e 4 câmaras (2C, 3C, 4C) e as imagens foram adquiridas durante períodos de 10 seg.

O processo de aquisição e análise foi repetido com a indução de hiperemia com adenosina na concentração de 140 µg/kg/min durante 5 min. As áreas de hipoperfusão foram analisadas através de parâmetros deduzidos de curvas exponenciais obtidas por análise densitométrica de RI. Foi calculado o fluxo miocárdico, a reserva de fluxo miocárdico (RFM); a percentagem de FM em relação à normalidade foi obtida pela razão entre o FM para a RI e o FM de RI sem hipoperfusão.

Resultados

Foram analisadas 450 RI, e foi possível, através da técnica descrita, identificar áreas com diferentes padrões de perfusão, com diferentes valores de FM e de RFM.

A evolução de cada uma destas regiões entre as 3h e os 30 dias revela que neste intervalo de tempo, existe um processo dinâmico que conduziu neste grupo de doentes a uma melhoria global da perfusão.

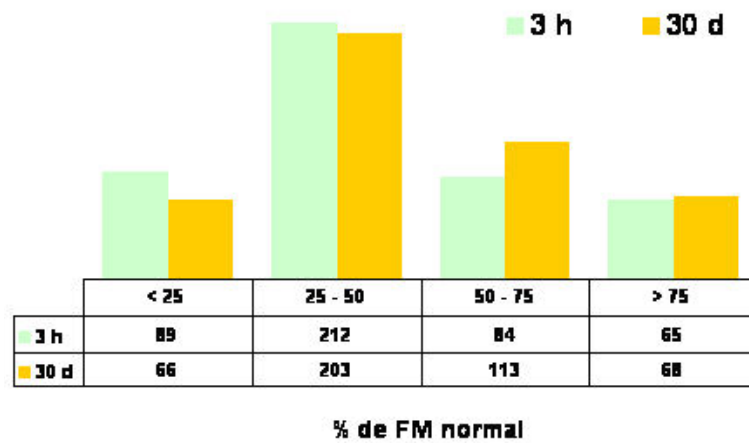


Figura 4.5.2– Gráfico representativo da distribuição dos segmentos analisados em função do valor do FM em relação ao normal analisado às 3 horas e aos 30 dias.

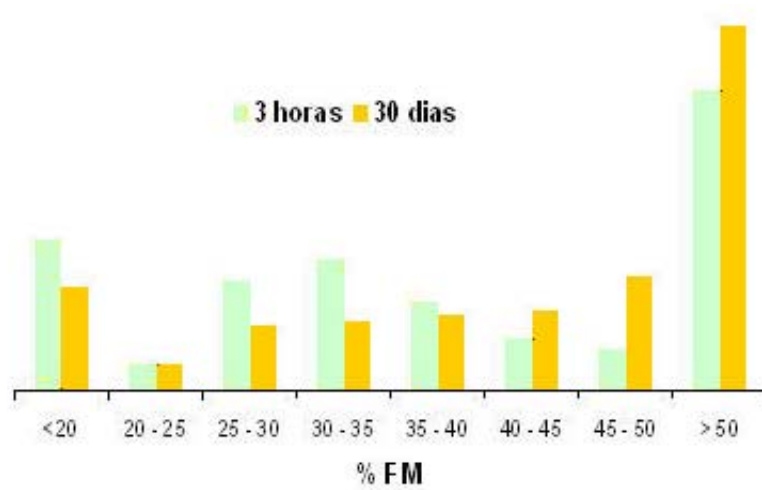


Figura 4.5.3 – Gráfico representativo da distribuição dos segmentos analisados em função da variação percentual do FM às 3 horas e aos 30 dias.

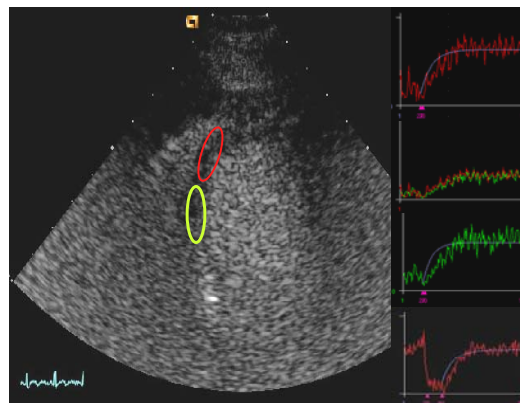


Figura 4.5.4 - Distribuição do nº de regiões de interesse estudadas na parede anterior do ventrículo esquerdo e exemplos de curvas de perfusão.

Discussão e Conclusões

Neste grupo de doentes a ECM permitiu identificar e caracterizar a evolução temporal de diferentes padrões de perfusão do miocárdio. A análise efectuada às 3 h de evolução de ACA revelou que cerca de 20% dos segmentos analisados tinham valores de perfusão inferiores a 25%. Aos 30 dias esta percentagem diminuiu para cerca de 15%.

Neste trabalho não relacionamos a perfusão com as alterações do espessamento sistólico e com a cinética regional.

A ECM revelou-se um método de interesse no estudo e análise quantitativa da dinâmica dos defeitos de perfusão tecidual, e com interesse para o estudo da viabilidade do miocárdio e consequente prognóstico clínico.

Reserva Coronária por Ecocardiografia Doppler Transtorácica na Doença Coronária da Descendente Anterior com BCRE

Introdução

Os meios de diagnóstico não invasivo (prova de esforço, cintigrafia cardíaca, ecocardiografia de sobrecarga) têm baixa sensibilidade para detecção de doença coronária (DC) no contexto de bloqueio completo de ramo esquerdo (BCRE). A ecocardiografia Doppler transtorácica permite a identificação do fluxo da artéria DA em todos os seus segmentos, proximal, médio e distal e o cálculo da respectiva reserva coronária.

Objectivos

Pretendeu-se analisar a aplicabilidade da técnica não invasiva EDTT na identificação de doença coronária da DA em doentes com BCRE.

Material e Métodos

Em 42 doentes com suspeita de DC e com electrocardiograma com padrão de BCRE, foi efectuado estudo EDTT para estudo da RC da artéria coronária DA distal.

Foi identificado o fluxo distal da DA, e calculado o valor da RC durante vasodilatação com adenosina, na dose de 140 µg/kg/min durante 5 min.

Os valores de RC foram correlacionados com o grau de estenose por angiografia coronária, classificados da seguinte forma: sem DC (N), 50 a 70% (A), 70 a 90% (B) e 90 a 99% (C).

O intervalo entre o estudo EDTT e a coronariografia foi inferior a 3 dias.

Resultados

A tabela descreve os valores médios e desvio padrão para a RC nos quatro grupos de doentes.

A análise estatística com o teste "Anova 1-way" revela diferenças significativas entre os grupos A e B, A e C, B e N, C e N.

O valor de RC que permite prever com um grau de confiança de 95% a existência de estenose da DA superior a 70% é de 2,0 e um grau de estenose superior a 90% é de 1,3.

Neste grupo de doentes com BCRE e suspeita de DC é possível com um grau de confiança de 95% aplicar o EDTT para o diagnóstico de estenoses significativas da DA.

	RC	
	N	Média ± SD
Grupo A	9	3.2 ± 0,66
Grupo B	5	1.8 ± 0,33
Grupo C	3	1.2 ± 0,15
Grupo N	25	3.4 ± 0,52

	Sens	Esp	VP	VN	FP	FN	“Cut off”
A vs Normal	62	62	8	21	13	5	2.9
B vs Normal	100	88	8	30	4	0	2,3
C vs Normal	100	100	5	34	0	0	ns

Tabela 4.5.II - Distribuição dos valores de RC para os grupos estudados e indicação dos valores de sensibilidade (Sens), especificidade (Esp), valor preditivo positivo (VP) e negativo (VN), falsos positivos (FP) e negativos (FN), assim como o valor de *cutoff*, calculado por ROC.

Discussão e Conclusões

O teste de exercício tem baixa sensibilidade para o diagnóstico de isquemia em doentes com BCRE. São também frequentes os resultados falsos positivos no diagnóstico não invasivo dos doentes com BCRE, tanto com SPECT de exercício como com SPECT farmacológico.

Estão descritas alterações do fluxo coronário da DA em doentes com BCRE como a duração da diástole que é menor, e o tempo de demora para atingir a velocidade máxima do fluxo diastólico.

Estes aspectos estão relacionados com o atraso com que se atinge a pressão máxima intramiocárdica no BCRE (401, 403). A duração da diástole é menor e está directamente relacionada com o diâmetro tele-diastólico do ventrículo esquerdo que condiciona aumento da pressão parietal e compromisso do fluxo coronário nas artérias intramiocárdicas.

Doentes com BCRE e sem doença coronária angiográfica têm alterações do fluxo coronário observadas por EDTT que podem ser funcionalmente importantes e explicar a isquemia, relatada como resultado falso positivo no SPECT (404).

Contudo estes dados não interferiram na sensibilidade e especificidade dos resultados do nosso trabalho. Foi evidente a vantagem em utilizar o EDTT na avaliação da RC da DA e que estes valores tiveram correlação com significância estatística com os resultados da angiografia coronária.

Detecção Precoce da Reestenose pós-ACTP pela Avaliação da Reserva Coronária por Ecocardiografia Doppler Transtorácica

Introdução

O objectivo terapêutico nos síndromes coronárias agudas é a revascularização da artéria coronária e a normal perfusão do território dela dependente. Existe uma janela temporal óptima para se efectuar a revascularização com sucesso viabilizando a massa de miocárdio em risco. Um dos problemas associado às terapêuticas de revascularização é a percentagem significativa de reestenose. Inicialmente a angioplastia percutânea chegava a ter percentagens de 20 a 30% de reestenose aos 6 meses de evolução. O diagnóstico da reestenose está dependente da sua tradução sintomática ou de documentação de isquémia provocada.

A determinação da reserva coronária da artéria descendente anterior é exequível por método não invasivo com a ecocardiografia Doppler transtorácica.

Objectivos

Pretendemos avaliar a capacidade de predição de reestenose (Rest) através do valor da RC em doentes submetidos a angioplastia coronária percutânea (ACTP).

Material e Métodos

A população foi constituída por 118 doentes sujeitos a ACTP da DA após síndrome coronário agudo. Em todos os doentes foi efectuado estudo da RC por EDTT ao primeiro (M1) e sexto meses (M6) após ACTP.

O EDTT foi efectuado com equipamentos ATL5000 e Sequoia 512, com sondas de 4 MHz conforme metodologia previamente descrita. Como agente de contraste foi utilizado Levovist®, 300 mg/ml, perfusão de 0,4 ml/min. A hiperemia foi desencadeada com infusão I.V. de adenosina na concentração de 140µg/kg/min.

Todos os doentes foram sujeitos a prova de esforço aos 6M ou previamente, por suspeita clínica de reestenose.

	Homens	Mulheres
Nº	79	39
Idade	70 ± 22	68 ± 15
HTA (%)	52	49
HVE (%)	33	28
Diabetes (%)	30	36
Dislipidemia (%)	58	56

Tabela 4.5.III – Características da população estudada.

Os doentes foram seleccionados para repetir cateterismo por evidência clínica de isquémia miocárdica, angor, prova de esforço e ou cintigrafia de perfusão do miocárdio positivas e confirmada a reestenose por angiografia.

O critério angiográfico de reestenose foi o de lesão no vaso alvo com diâmetro de obstrução superior a 50%. A amostra populacional foi dividida em dois grupos consoante a presença (R+) ou ausência de reestenose (R-).

Análise Estatística

Foi utilizado software SPSS e efectuada estatística descritiva com análise de frequências, cálculo de valores de sensibilidade, especificidade, probabilidades e valores preditivos.

Foi feito teste Wilcoxon de análise de diferenças entre grupos.

Resultados

Os resultados revelaram que dos 118 doentes, 33 tiveram quadro clínico de Rest (27,9%). Deste, em 25 (21,1%) houve confirmação angiográfica da Rest, em cinco (4,2%) não se confirmou Rest e em 3 (25,4%) não ocorreu Rest mas confirmou-se progressão da doença noutra zona da DA com estenose superior a 75%. Todas as situações de Rest à excepção de 3 casos observaram-se com valores da RC por EDTT inferiores a 2,3. Em todos os casos se verificou um quociente inferior a 65% entre os valores da RC nesse momento e o maior valor obtido.

Valores da RC superiores a 2,6 excluíram com 99% de confiança situações de Rest. Observámos diferenças significativas na RC dos grupos Rest+ e Rest- aos 1M e 6M ($p < 0,05$ e $< 0,001$, respectivamente).

	Rest +			Rest -		
	Vbas	Vad	RC	Vbas	Vad	RC
M1	0,38 ± 0,12	0,82 ± 0,14	2,3 ± 0,5	0,42 ± 0,12	1,04 ± 0,20	3,5 ± 0,7
M6	0,33 ± 0,12	0,82 ± 0,11	1,9 ± 0,5	0,40 ± 0,13	1,01 ± 0,22	3,4 ± 0,7

Tabela 4.5.IV – Valores da da velocidade máxima do fluxo diastólico em basal e durante vasodilatação com adenosina, e valor da respectiva RC no grupo de doentes com e sem reestenose ao M1 e M6.

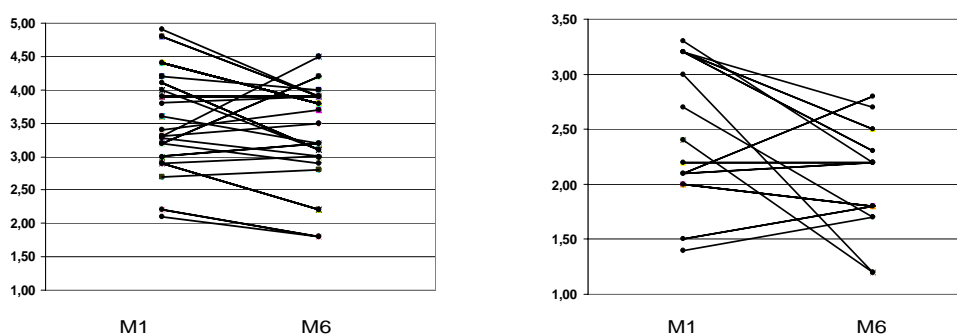


Figura 4.5.5 – Evolução dos valores de RC dos doentes sem e com reestenose entre respectivamente o primeiro (M1) e o sexto mês (M6) após angioplastia.

Ao M1		sensibilidade	=	0,75						
R cr = 2,6		especificidade	=	0,96						
		probabil +	=	16,00						
		probabil -	=	0,26						
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Doença + Doença -</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Teste +</td> <td>21 4</td> </tr> <tr> <td>Teste -</td> <td>7 86</td> </tr> </tbody> </table>		Doença + Doença -		Teste +	21 4	Teste -	7 86	valor predict +	=	0,75
Doença + Doença -										
Teste +	21 4									
Teste -	7 86									
		valor predict -	=	0,92						
Ao M6		sensibilidade	=	0,93						
R cr = 2,6		especificidade	=	0,90						
		probabil +	=	9,29						
		probabil -	=	0,00						
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Doença + Doença -</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Teste +</td> <td>26 9</td> </tr> <tr> <td>Teste -</td> <td>2 81</td> </tr> </tbody> </table>		Doença + Doença -		Teste +	26 9	Teste -	2 81	valor predict +	=	0,93
Doença + Doença -										
Teste +	26 9									
Teste -	2 81									
		valor predict -	=	0,98						

Figura 4.5.6 – Análise de sensibilidade e especificidade para valores de RC de 2,6 aos 3 meses e 6 meses.

Discussão e Conclusões

A EDTT permitiu avaliar a reserva coronária da DA de forma não invasiva. A reserva coronária é um parâmetro de avaliação da microcirculação coronária e depende de vários factores como foi previamente revisto. Após angioplastia percutânea observa-se uma normalização da reserva coronária. Esta normalização depende do grau de lesão da microcirculação coronária consequência da isquémia e necrose provocada pelo acidente isquémico agudo e da eventual microembolização provocada pela angioplastia percutânea. A normalização do fluxo coronário condiciona menor recrutamento de capilares. O stress vasodilatador com adenosina condiciona aumento de velocidade do fluxo coronário através da artéria coronária. Contudo este aumento significativo de velocidade só acontece se existir uma rede de microcirculação coronária intacta, caso contrário o necessário recrutamento de capilares fica prejudicado. A existência de reestenose condicionará a adaptação da microcirculação coronária, com maior recrutamento de capilares em repouso. A acção de adenosina nesta já parcialmente recrutada rede de capilares terá uma menor tradução, com conseqüente menor aumento da velocidade do fluxo coronário. A menor reserva coronária traduzirá a existência de uma reestenose coronária, se forem mantidas constantes outras variáveis como a pressão arterial, os valores do perfil lipídico e o controlo da glicemia.

Neste grupo de doentes nos primeiros 6 meses após acidente coronário agudo o controlo destes factores de risco, para doença cardiovascular, foi efectivo para os três factores em 92%, para dois factores em 95% e para um factor isoladamente em 97% dos doentes. Foi considerado pouco significativa a interferência destes factores nos resultados finais do cálculo da reserva coronária.

Todas as situações de reestenose, com excepção de 5 casos, observaram-se com valores da RC $<2,3$ ou com um quociente inferior a 0,65 entre os valores da RC nesse momento e o maior valor obtido. Valores da RC $> 2,6$ excluem com 98% de grau de confiança situações de reestenose. Foram observadas diferenças significativas em relação ao valor da RC entre os grupos Rest + e Rest aos M1 e M6 ($p < 0,0001$).

Neste grupo de doentes a determinação da RC por EDTT revelou-se um método com grande sensibilidade e especificidade para a identificação precoce de doentes, que apresentavam maior probabilidade de reestenose da DA após angioplastia coronária.

Como limitações do trabalho refira-se o facto de não ter sido considerada a interferência no cálculo da reserva coronária do território da DA a existência tanto de circulação colateral como da influência de doença em artéria coronária vizinha. Trabalhos publicados na literatura internacional confirmam os nossos resultados (305, 307) enquanto outros sugerem o oposto (406). Estes autores estudaram através do ecotransesofágico 51 doentes após angioplastia coronária e em 53% encontraram valores diminuídos de reserva coronária da DA.

A avaliação da RC por ecotransesofágico ao abordar o fluxo na porção proximal da DA fica condicionada a interferências de outras artérias subsidiárias e ou a alterações na velocidade do fluxo coronário provocadas por obstruções parciais ao longo do trajecto da DA. A avaliação do fluxo distal da DA ultrapassa os factores limitantes referidos e reflecte as alterações vasomotoras da microcirculação coronária.

Análise do Espessamento Sistólico Segmentar Durante Ecocardiografia de Sobrecarga com Contraste

Introdução

As alterações da cinética regional e em particular o espessamento sistólico da parede do ventrículo esquerdo são os parâmetros de análise normalmente utilizados na avaliação da função e viabilidade do miocárdio durante a realização de ecocardiografia bidimensional em repouso e em sobrecarga farmacológica. A utilização de agentes de contraste endovenoso melhora a definição do endocárdio, permitindo aumentar a sensibilidade no diagnóstico de alterações da cinética segmentar do ventrículo esquerdo quer em condições basais quer durante a ecocardiografia de sobrecarga (ES).

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar as definições do equipamento de ultrasonografia que permitissem, durante a ES com contraste I.V., obter simultaneamente uma boa definição do endocárdio e uma suficiente opacificação da parede do VE.

Material e Métodos

Num grupo de 66 doentes (G3) foi efectuado ES com dobutamina e agente de contraste I.V. SonoVue®, injectado em bólus em volumes de 1 ml no fim de cada estágio. As imagens foram gravadas em sistema digital e analisadas *a posteriori* por dois operadores independentes. Foi analisada a cinética segmentar do VE assim como o grau de espessamento sistólico segundo as orientações da ASE para 16 segmentos.

Os resultados foram comparados com um grupo controlo 80 doentes (G1) em que não foi utilizado contraste ultrasónico e com um grupo de 62 doentes (G2) em que o contraste foi utilizado com o único objectivo de melhorar a definição do endocárdio.

Resultados

A tabela 4.5.V representa o número de segmentos analisados do ponto de vista da cinética e do espessamento sistólico e respectiva percentagem em relação ao total de segmentos para cada grupo. A utilização de contraste I.V. permite melhorar a definição do endocárdio (75 para 90%) e definição do espessamento (60 para 72%).

A optimização dos parâmetros ecocardiográficos permitiu, que com as mesmas doses de contraste, se obtivesse uma opacificação da espessura da parede do ventrículo esquerdo, que se traduziu num aumento do número de segmentos analisados (cinética $p < 0,03$; espessamento $p < 0,001$).

	G1		G2		G3	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Cinética	1075	84	952	96	1034	98
Espessamento	768	60	715	72	982	95

Tabela 4.5.V – Distribuição do número de segmentos analisados (espessamento e cinética) e respectivas percentagens para cada um dos grupos em estudo.

Discussão e Conclusões

A avaliação da função do ventrículo esquerdo e em particular o diagnóstico de isquemia e de viabilidade baseiam-se na análise das alterações da cinética segmentar e da percentagem de espessamento sistólico da parede ventricular esquerda. A análise deste último parâmetro permite aumentar o grau de precisão diagnóstica.

O espessamento sistólico da parede do ventrículo esquerdo depende de um normal aporte de fluxo coronário em particular para a região endocárdica (407).

Em repouso, o espessamento sistólico depende fundamentalmente do espessamento do endocárdio. O mesocárdio contribui de forma modesta e o epicárdio praticamente que não tem papel activo neste processo (408). As alterações da cinética têm menor sensibilidade para o diagnóstico de isquémia que as alterações do espessamento sistólico pois podem produzir-se por arrastamento de zonas hipo ou acinéticas contíguas. Em termos de cascata isquémica cronologicamente as alterações do espessamento sistólico surgem primeiro.

Vários trabalhos têm referido existir uma discrepância entre a extensão circunferencial da alteração do espessamento sistólico e a extensão do enfarte ou da zona de isquémia (409 - 411). Em repouso, a extensão circunferencial da alteração do espessamento sistólico é descrita como maior que a extensão do enfarte ou da zona de isquémia, enquanto durante a vasodilatação se passa o inverso. Como explicações para este facto são sugeridos a cinética por “arrastamento” provocado pelos territórios vizinhos, erros de interpretação de imagem e a existência de diferentes valores de fluxo colateral (412).

Com este trabalho demonstrámos que a utilização em basal e durante ES de um agente de contraste ultrasónico permite simultaneamente obter uma melhor definição do endocárdio e da espessura dos segmentos do ventrículo esquerdo, aumentando a possibilidade de identificar com maior facilidade, alterações destes dois parâmetros e melhorar a precisão diagnóstica.

Ecocardiografia de Contraste Miocárdica e Análise do Fenómeno de No Reflow nos SCA sem Supra Desnívelamento do Segmento ST

Introdução

Nos síndromes coronárias agudas o objectivo terapêutico principal é a rápida e mantida reperfusão coronária. Contudo numa percentagem importante de casos observa-se o fenómeno de “*no reflow*” (NR). A disfunção da microcirculação coronária (DMCC) associa-se a “deficit” de recuperação contráctil, a fenómeno de expansão e dilatação do ventrículo esquerdo, e a um aumento de morbidade e de mortalidade.

A DMCC traduz-se angiograficamente por graus de fluxo TIMI I e ou II, e em algumas situações, fluxos TIMI III podem estar associadas a fenómeno de NR. A ecocardiografia de contraste do miocárdio representa uma técnica com elevada sensibilidade e especificidade para caracterização da microcirculação coronária.

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar a perfusão miocárdica através de ECM em doentes com SCA da artéria descendente anterior, EAM sem supra desnívelamento do segmento ST (EAMSST).

Material e Métodos

Num grupo de 30 doentes no contexto de EAMSST e revascularização coronária da DA por intervenção percutânea (ACTP), foi analisada a perfusão do miocárdio por ECM nas primeiras 72 horas e 5 a 6 meses após o acidente coronário agudo.

A ECM foi efectuada segundo método descrito previamente, em tempo real não destrutivo em basal e durante vasodilatação com adenosina. Foi analisada a parede anterior do ventrículo esquerdo. Para a análise de perfusão do miocárdio utilizou-se software MCE 2.7 Yabko, com interpretação das imagens paramétricas de perfusão do miocárdio classificadas como normal (N), mista (Mx) e “*no reflow*”. Os resultados obtidos foram relacionados com a terapêutica efectuada, em particular com a utilização de inibidores das glicoproteínas IIb/IIIa (2b/3a) e com o intervalo de tempo que decorreu até à ACTP.

Resultados

Em 60% dos 30 doentes com EAMSST foram administrados 2b/3a, e 23% apresentaram “*no reflow*”.

Foram utilizados 2b/3a em 78% dos 14 doentes que apresentavam perfusão do miocárdio normal, e em 29% dos 7 doentes que apresentavam fenómeno de NR.

Neste grupo de doentes verificou-se que o fenómeno de “*no reflow*” sugere uma relação directa com a não utilização de 2b/3a. A utilização de 2b/3a previamente à ACTP associou-se à menor prevalência de “*no reflow*”, o que pode ser explicado pela contribuição destes fármacos na estabilização da placa e na prevenção de microembolização periférica, também responsável pela disfunção da microcirculação coronária.

	Perfusão			Total
	N	Mx	NR	
Não 2b/3a	3	4	5	12
Sim 2b/3a	11	5	2	18
Total	14	9	7	30

Tabela 4.5.VI – Distribuição do número de doentes em função do padrão de perfusão do miocárdio e da utilização de antiagregantes 2b/3a.

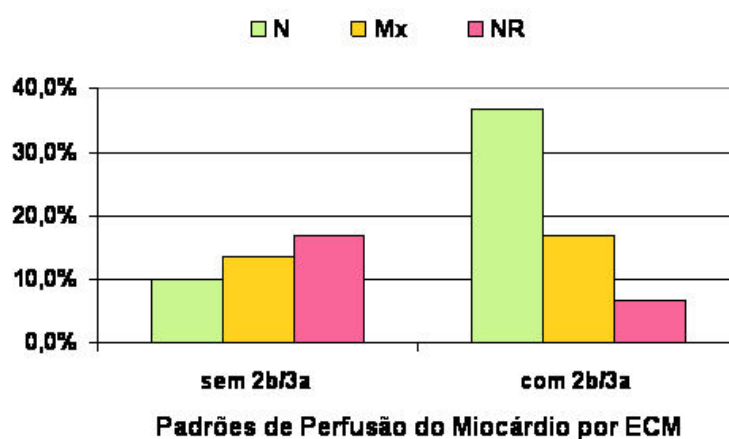


Figura 4.5.7 – Gráfico da percentagem (%) de doentes em função do padrão de perfusão do miocárdio e da utilização de antiagregantes 2b/3a.

Discussão e Conclusões

A revascularização coronária nem sempre é acompanhada por “normalização” da perfusão do território em risco. Em modelos experimentais observou-se que a restauração da circulação epicárdica após interrupção temporária do fluxo era por vezes acompanhada por alterações da perfusão. Nas zonas hipoperfundidas era possível identificar redução severa do fluxo miocárdico causadas pelo compromisso da integridade da microcirculação coronária (414).

É possível descrever microscopicamente as alterações que acompanham a isquémia e a reperfusão. Depois de cerca de 90 min de oclusão de uma artéria epicárdica são observadas alterações ultra estruturais da microcirculação caracterizadas por edema das células endoteliais com protusão intraluminal das células (“blebs”), que podem obstruir os capilares juntamente com agregados de eritrócitos e plaquetas, disrupção da barreira endotelial com hemorragia no espaço intersticial. Estas alterações dependem do tempo de isquémia e são determinantes na capacidade de normalização do fluxo miocárdico. O predomínio destas alterações localiza-se em áreas sub-endocárdicas.

No ser humano o fenómeno de “*no reflow*” tem sido descrito no modelo de aterotrombose, com disrupção da placa de ateroma e formação de trombo, após terapêutica de revascularização e tem semelhanças com o modelo experimental. A intervenção terapêutica, principalmente por angioplastia percutânea, é muitas vezes acompanhada por alterações temporárias ou permanentes da perfusão do miocárdio com conseqüente disfunção mecânica.

A fisiopatologia desta situação é caracterizada por diferentes graus de disfunção da microcirculação coronária causada pelo tempo de isquémia como no modelo experimental e também por conseqüências mecânicas da angioplastia percutânea ou da fibrinólise. O esmagamento do trombo e da placa de ateroma pela angioplastia ou a destruição do trombo pela fibrinólise provocam a formação de “*debris*” que podem embolizar periféricamente e ocluir a microcirculação coronária. Teoricamente os métodos terapêuticos de revascularização não são “inócuos” pelo que poderá ser necessário a considerar a de revisão de conceitos actualmente estabelecidos.

Sendo a ecocardiografia de contraste do miocárdio uma técnica ideal para a análise da microcirculação coronária os nossos resultados são estimulantes no sentido de compreender melhor o fenómeno de “*no reflow*”. No pequeno grupo de doentes que foi estudado, foi analisado o padrão de perfusão de miocárdio em situações de acidentes coronários agudos sem supra-desnívelamento do segmento ST. A fisiopatologia deste tipo de SCA apresenta diferenças do SCA com supra-desnívelamento do segmento ST. No SCA sem supra-desnívelamento do segmento ST o fenómeno trombótico não é inicialmente oclusivo e prolonga-se no tempo, numa interacção entre os estímulos que promovem trombo e espasmo da coronária e o sistema fibrinolítico fisiológico.

A associação de inibidores das glicoproteínas 2b/3a foi associada a uma menor percentagem de situações de disfunção microvascular. É de assinalar neste grupo de estudo, a alta percentagem de alterações da perfusão detectadas com a ECM, só 14 do total de 30 doentes (47%) apresentaram padrão de perfusão normal. Em 11 dos 14 doentes, tinham sido administrados inibidores das glicoproteínas 2b/3a.

Micari descreve um efeito benéfico da adenosina quando utilizada no contexto de revascularização precoce dos SCA (413). São conhecidas algumas das propriedades da adenosina como a inibição da agregação plaquetária, a inibição do recrutamento de células inflamatórias com conseqüente diminuição da geração de radicais livres, além das acções vasodilatadora e inibidora da inflamação (417-419). O autor descreve, por acção da adenosina, uma redução da área de enfarte em relação à área de risco, e a manutenção da integridade da microcirculação coronária na zona de isquémia.

Com o nosso trabalho podemos concluir que a ECM é uma técnica de grande sensibilidade para caracterizar o padrão de perfusão do miocárdio que é o reflexo do estado funcional microvascular.

Concluimos também que a associação de inibidores das glicoproteínas 2b/3a neste grupo de doentes sugere efeito protector da função microvascular.

Conclusões Gerais dos Trabalhos na Doença Coronária Aterosclerótica

O conjunto de trabalhos que apresentámos tentou abordar diferentes formas de tradução clínica da fisiopatologia da microcirculação coronária.

Na maior percentagem de casos clínicos a doença coronária classicamente descrita é a relacionada com a doença vascular aterosclerótica em que a cascata isquémica representa uma sucessão de acontecimentos fisiopatológicos que têm conseguido justificar a nossa compreensão.

A ECM permite simultaneamente com uma única técnica e em tempo real observar as alterações da cinética e espessamento sistólico do ventrículo esquerdo e a perfusão do miocárdio. Os resultados do trabalho sobre a cascata isquémica permitiram comprovar este facto. Trabalhos mais recentes têm demonstrado a exequibilidade desta metodologia na avaliação clínica do doente coronário e demonstrado aumentar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico de isquemia (415, 416, 420).

A oclusão de uma artéria epicárdica desencadeia uma sucessão de acontecimentos que cronologicamente se designam de cascata isquémica e são sucessivamente a diminuição de perfusão, seguida de compromisso da função (função diastólica, função sistólica), alterações do electrocardiograma e angor (411).

Agentes inotrópicos e vasodilatadores têm sido utilizados associados à ecocardiografia, com o SPECT e outras técnicas de imagem para diagnóstico de isquémia.

No contexto de isquémia provocada por agentes vasodilatadores, agentes inotrópicos ou por estimulação do sistema nervoso simpático é também descrita a cascata isquémica. Este facto permite a utilização de técnicas que se orientam na identificação de diferentes estádios da cascata isquémica. O electrocardiograma identifica as alterações da repolarização ventricular, o ecocardiograma identifica as alterações da cinética segmentar, as alterações do espessamento sistólico da parede do ventrículo esquerdo e as alterações da função diastólica. A cintigrafia cardíaca identifica alterações da perfusão do miocárdio. Outras técnicas como o PET e a ressonância magnética não utilizadas habitualmente na prática clínica, também identificam alterações da perfusão do miocárdio.

Dobutamina

A dobutamina aumenta o fluxo coronário através do aumento de consumo de oxigénio,

Em doses baixas o aumento de fluxo coronário é proporcionalmente maior que o aumento do consumo de oxigénio (421). A nível da microcirculação coronária este aumento do fluxo depende em cerca de 75% do aumento do volume de sangue miocárdico e em 25% do aumento da velocidade do sangue (129).

Em consequência as resistências vasculares diminuem significativamente para baixas concentrações de dobutamina.

Na presença de estenoses não críticas a resistência capilar aumenta com o objectivo de manter constante a pressão hidrostática (257) através da diminuição de recrutamento de capilares o que condiciona defeitos de perfusão observados na cintigrafia cardíaca (294, 422).

Com concentrações mais elevadas de dobutamina em regiões dependentes de estenoses o aumento do fluxo coronário é inferior ao necessário, determinado pelo aumento de consumo de oxigénio. Nessa fase é desencadeada isquémia, e observam-se alterações segmentares do espessamento sistólico da parede ventrículo esquerdo. A existência de defeitos de perfusão é independente da concentração de dobutamina e do grau de estenose, enquanto as alterações do espessamento sistólico são proporcionais à concentração mais elevadas de dobutamina (423, 424).

Para qualquer concentração de dobutamina os defeitos de perfusão são espacialmente maiores que alterações do espessamento sistólico.

Será necessário existir um defeito de perfusão superior a 10% de extensão circunferencial do ventrículo esquerdo para que se observem alterações do espessamento sistólico (425).

Adenosina

A adenosina é um vasodilatador potente que tem outras acções cardiovasculares como a atenuação da acção dos agonistas β (426), bradicardia por acção directa no nódulo sinusal e na velocidade de condução do nódulo aurículo ventricular, inibição de radicais de oxigénio gerado pelos neutrófilos durante a isquémia, inibição da agregação plaquetária e acção antitrombótica (428).

Para os mesmos valores de pressão de perfusão, a adenosina esgota mais precocemente a RC do que a dobutamina. Esta diferença estará relacionada com a acção dos dois agentes a níveis diferentes da microcirculação coronária. A hiperemia, resultado da acção da adenosina está mais dependente do aumento de volume de sangue capilar do que do aumento da velocidade do fluxo coronário, ao contrário do que se passa com a dobutamina (427).

A ecocardiografia de sobrecarga com dobutamina tem menor sensibilidade para a detecção de isquémia na doença de um vaso em relação à doença multivaso (429). Qualquer teste de diagnóstico terá maior sensibilidade em detectar uma anomalia mais “extensa” que uma anomalia de menor dimensão. Contudo poderá haver uma explicação fisiológica para este facto. As alterações regionais observadas durante a isquémia provocada são menores que as que se observam na isquémia por estenose coronária (430). A estenose de uma artéria epicárdica contígua condiciona o fluxo colateral para as outras.

Nas décadas de 70 e 80 desenvolveu-se um maior conhecimento sobre as alterações de perfusão relacionadas com a existência de estenoses coronárias epicárdicas.

Agentes vasodilatadores como a adenosina e o dipiridamol aumentam o fluxo coronário miocárdico cerca de 3 a 5 vezes em territórios com coronárias normais (431). Pensava-se que uma estenose coronária significativa condicionaria a existência de hiperemia no respectivo território (432). A cintigrafia cardíaca permite a identificação de defeitos de perfusão na base da heterogeneidade de perfusão entre territórios dependentes de coronárias com e sem limitação do fluxo coronário (433). Quando passou a ser possível avaliar directamente as velocidades de fluxo coronário, os gradientes de pressão intracoronários e a reserva coronária confirmou-se a existência de uma correlação entre estes dados e os defeitos de perfusão (434-437).

Conceito de “Roubo” Durante a Vasodilatação Coronária

Existem na literatura dois diferentes conceitos de “roubo” em relação à diminuição de fluxo coronário. A presença de circulação colateral com estenoses coronárias severas pode permitir a manutenção de um fluxo coronário basal suficiente para manter a viabilidade miocárdica. Num

território dependente de uma estenose coronária significativa e dependente de circulação colateral, a acção de agentes vasodilatadores pode paradoxalmente desencadear isquémia (435, 436) designando-se este fenómeno de “roubo coronário”. As regiões sub-endocárdicas são mais vulneráveis (438) observando-se uma inversão da razão do fluxo endocárdio / epicárdio que normalmente é superior à unidade. A esta diminuição transmural do fluxo coronário, designou-se “roubo coronário relativo”.

O conceito de “roubo coronário” permitiu que se fizessem um conjunto de raciocínios sobre a fisiopatologia dos defeitos de perfusão identificados por cintigrafia. A existência de defeitos de perfusão por diminuição de captação do agente marcado radioactivamente durante a vasodilatação foi relacionada com a existência de circulação colateral e fenómeno de “roubo” (439, 440). Para que seja induzida isquémia, independentemente da existência de circulação colateral, será necessário existir uma diminuição da reserva coronária.

Cintigrafia Cardíaca Normal em Doentes de Risco

Com os trabalhos de Klodas (442) e Abbot (443) foram identificados doentes de alto risco para eventos cardiovasculares que durante a cintigrafia cardíaca não revelaram defeitos de perfusão mas apresentavam alterações da repolarização eléctrica no electrocardiograma. A população era constituída por doentes de elevado risco formada predominantemente por mulheres com média de idade elevada, com DM₂ e doença coronária além de outros factores de risco para doença cardiovascular. O trabalho de Eagle (444) revelou que em doentes com elevado risco de eventos cardiovasculares este não era modificável pela ausência de defeitos de perfusão por cintigrafia cardíaca. Imagens de cintigrafia normais não excluem a existência de alterações da microcirculação em termos temporais. A cintigrafia cardíaca não tem sensibilidade suficiente para identificar diminuição da velocidade de circulação do fluxo coronário, nem pequenas alterações de perfusão transmural.

Contractilidade do Ventrículo Esquerdo

O espessamento sistólico da parede do ventrículo esquerdo depende de um normal aporte de fluxo coronário em particular para a região endocárdica. Em repouso o espessamento sistólico depende fundamentalmente do espessamento do endocárdio. O mesocardio contribui de forma modesta e o epicárdio praticamente que não tem papel activo neste processo.

Em repouso, com interrupção do fluxo coronário e necrose do endocárdio não se observará espessamento sistólico da parede do ventrículo esquerdo, mesmo que não haja necrose meso-epicárdica (445). Trabalhos experimentais em cães revelaram que se a necrose fosse superior em extensão à quinta parte da espessura da parede do ventrículo esquerdo deixava de se observar espessamento sistólico em repouso (446, 447).

A ECM sendo uma técnica não invasiva com capacidade para analisar a microcirculação coronária do ponto de vista morfológico e funcional, situa-se como uma ajuda importante na avaliação dos doentes com doença coronária conhecida ou com hipótese diagnóstica de disfunção da microcirculação coronária.

4.6 Modelo Experimental Animal

Estudo da Relação entre Dislipidemia e Disfunção da Microcirculação Coronária por Eco de Contraste do Miocárdio em Modelo Animal

Introdução

A dislipidemia está associada a uma evolução mais rápida e mais grave de doença vascular aterotrombótica condicionando precocemente disfunção endotelial e fenómenos dinâmicos da placa de ateroma. O aumento da viscosidade sanguínea que acompanha a dislipidemia é um dos mecanismos que explica a diminuição da reserva coronária miocárdica.

As estatinas além de potentes inibidores da biossíntese de colesterol têm outros efeitos genericamente designados por pleiotróficos em que se destacam os anti-inflamatórios, anti-trombóticos, modulação do sistema imunitário (linfócitos T), estímulo da Interleucina-10 com inibição de progressão da placa de ateroma. Associados aos efeitos das estatinas estão descritas diminuições dos níveis de PCR de alta sensibilidade, de factor tumoral necrótico (TNF α), e das metaloproteinases.

Objectivos

Foi nosso objectivo analisar a relação entre a dislipidemia induzida por dieta aterogénica e a função da microcirculação coronária num modelo experimental animal e verificar o resultado da introdução de uma estatina.

Material e Métodos

Modelo Experimental

O modelo experimental consistiu em coelhos *Oryctolagus cuniculus* (New Zeland) adquiridos ao Departamento de Ciências Zootécnicas, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra, com um peso médio de $3,22 \pm 0,47$ kg. e inicialmente foram sujeitos a uma semana de aclimação antes do início do protocolo experimental

Segundo o protocolo de Yanni (451) de modelo de aterosclerose experimental com dislipidemia (451) foi utilizada uma dieta aterogénica constituída por uma ração semi purificada com o seguinte teor: 0,5% de colesterol, 15% de gordura (óleo de coco e soja).

Os animais foram divididos em três grupos de estudo:

Grupo N - constituído por animais controle, alimentados com uma dieta normal e adequada à idade.

Grupo D1 - constituído por animais que foram sujeitos durante 8 semanas à dieta aterogénica.

Grupo D2 - constituído por animais que durante 8 semanas foram sujeitos à mesma dieta aterogénica à qual foi adicionada uma estatina, a fluvastatina (Novartis) na dose de 0,02 mg/kg/dia.

Em todos os indivíduos foi efectuada a análise do perfil lipídico Colesterol total (CoLT), HDL, LDL, triglicéridos (TRI).

Preparação dos Animais

Previamente à execução do ECM procedeu-se à sedação dos animais através da administração intramuscular de midazolam numa concentração de 0,25 mg/ml. Foi efectuada tricotomia dos animais para facilitar o acesso endovenoso, a colocação de eléctrodos de electrocardiografia e uma melhor coaptação da sonda ecocardiográfica com a pele.

Foi cateterizada a veia marginal da orelha direita de forma a possibilitar a sedação injecção I.V. e a injecção de produto de contraste.

Cada indivíduo foi sujeito a um período prévio de observação para verificar que a estabilidade dos parâmetros hemodinâmicos em particular da frequência cardíaca.

Ecocardiografia de Contraste do Miocárdio

A ECM foi efectuada segundo metodologia descrita previamente com equipamento Sequoia 512 Acuson Siemens, com sondas de 4 e 15 MHz. O agente de contraste ultrasónico utilizado foi SonoVue® 0,5 a 1,5 ml/min em infusão contínua e o fármaco vasodilatador foi a adenosina na concentração de 140 µg/kg/min.

O protocolo utilizado foi CCI e CPS, em tempo real, não destrutivo. As imagens foram gravadas em disco rígido do próprio equipamento em formato Dicom para posterior análise.

A análise da perfusão do miocárdio foi realizada por software do próprio equipamento, com definição de regiões de interesse sobre a parede anterior e septo interventricular e com software MCE 2.7 Yabko.

Foram calculados os seguintes parâmetros de perfusão: velocidade de microcirculação coronária (β), volume de sangue miocárdico (A), e fluxo miocárdico e quociente FM stress/basal que representa a reserva de FM.

Resultados

Os resultados revelaram que em relação ao perfil lipídico se verificaram alterações extremas da concentração de colesterol total, HDL e LDL que se traduziram por diferenças significativas entre os grupos N e D1 ColT $p < 0,001$ N e D2 (ColT $p < 0,0001$). Em relação aos valores de reserva coronária observaram-se diferenças significativas entre os grupos N e D1 ($p < 0,005$), N e D2 ($p < 0,01$) e D1 e D2 ($p < 0,005$).

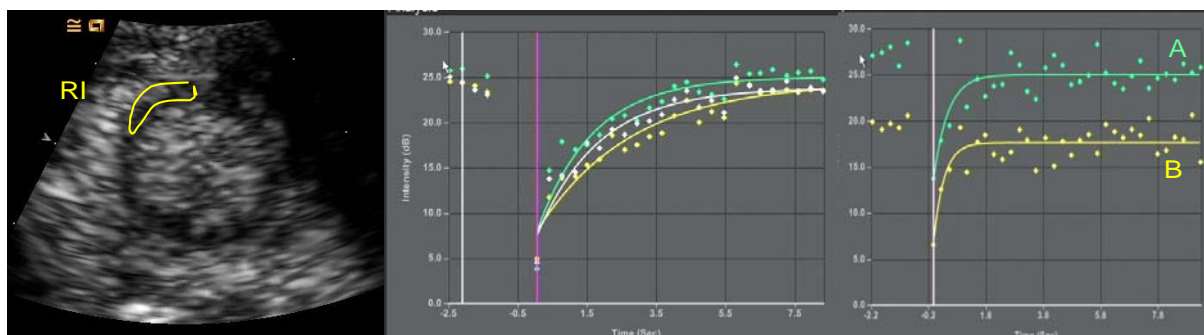


Figura 4.6.1 – Imagem de ECM com posicionamento da RI e de curvas de perfusão em basal e durante adenosina.

	N	D1	D2
Col Total	51,0 ± 9,7	748,7 ± 383,7	1038,8 ± 269,5
HDL	22,5 ± 11,4	150,5 ± 82,8	293,0 ± 69,1
LDL	2,84 ± 0,1	568,9 ± 274,8	734,9 ± 197,3
TRIG	128,3 ± 99,4	146,5 ± 130,4	54,2 ± 15,7
RC	3,4 ± 0,6	1,2 ± 0,6	2,8 ± 0,5

Tabela 4.6.I - Valores de Colesterol total, triglicéridos e HDL em função dos grupos estudados, N normal, D1 dieta aterogénica, D2 dieta aterogénica e fluvastatina.

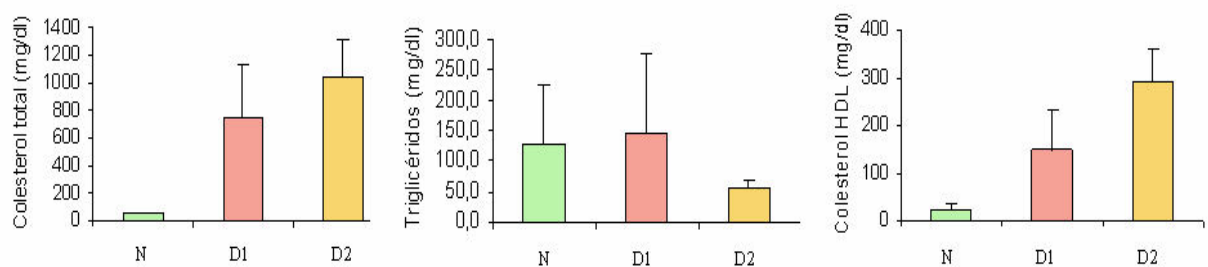


Figura 4.6.2 – Gráficos dos valores de Colesterol total, triglicéridos e HDL em função dos grupos estudados, N normal, D1 dieta aterogénica, D2 dieta aterogénica e fluvastatina.

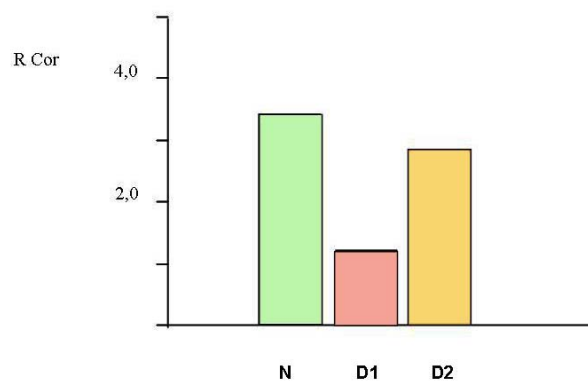


Figura 4.6.3 – Gráfico dos valores de RC para os três grupos estudados.

Discussão e Conclusões

A dislipidemia é um factor de risco para a progressão de doença coronária aterosclerótica. É possível contrariar este processo através da utilização de estatinas e ou outros métodos terapêuticos.

A reserva coronária está diminuída em doentes hipercolesterolémicos e sem doença coronária angiográfica (448 - 450). Em doentes com hipercolesterolemia as LDL relacionam-se inversamente com o valor da reserva coronária, não se observando correlação com os valores de colesterol total (452). A hipertigliceridemia é um factor que isoladamente condiciona diminuição da reserva coronária (454, 455). Na hipercolesterolemia familiar, em que o risco de morte cardiovascular é o mais alto entre os doentes com dislipidemias, a reserva coronária está diminuída (456). O tratamento com sinvastatina a médio ou longo prazo corrige os valores da reserva coronária (457).

As estatinas além de normalizarem o perfil lipídico normalizam a função endotelial, diminuem a inflamação vascular e aumentam a estabilidade da placa de ateroma. O tratamento com 20 mg de atorvastatina durante 3 meses em humanos com dislipidemia e sem antecedentes de aterosclerose revelou-se eficaz no controlo do perfil lipídico e na normalização da RC estudada por EDTT (458).

Em doentes coronários com estenoses superiores a 70% um regime de 10 mg de atorvastatina durante 12 semanas traduz-se numa normalização da função endotelial periférica dependente do endotélio (459, 460). Na doença coronária o tratamento com atorvastatina em doses de 80 mg diários é acompanhado por melhoria da RC e aumento da resposta intracoronária à acetilcolina.

Em modelos experimentais animais a hipercolesterolemia inibe os canais de potássio que medeiam a vasodilatação induzida pela adenosina (461). Na estirpe Watanabe de ratos geneticamente hiperlipidémicos (WHHL) através de análise da perfusão do miocárdio por PET foi sugerido a existência de um mecanismo compensatório que preservasse uma normal reserva coronária apesar da existência de doença vascular aterosclerótica.

Com os nossos resultados concluímos que neste grupo experimental a dieta aterogénica rapidamente condicionou disfunção da microcirculação coronária traduzida por uma quase “abolição” da reserva coronária em resposta à adenosina.

A adição de fluvastatina revelou ter um efeito protector sem aparente relação directa com o perfil lipídico.

A possibilidade de se poderem avaliar alterações da função endotelial coronária traduzidas por alterações da vasomotricidade com a ECM em modelos experimentais animais perspectiva uma ampla aplicação deste método na avaliação clínica de doentes e na investigação.

5 CONCLUSÕES

Durante o século XX assistiu-se a um aumento da longevidade da população em geral e a uma crescente prevalência e incidência da doença vascular aterosclerótica e suas consequências. A sua evolução é insidiosa ao longo de mais de 20 ou 30 anos e revela-se na sua fase final, por acidentes cardiovasculares de maior ou menor gravidade mas que comprometem a qualidade de vida dos doentes ou que os leva à morte. A velocidade de evolução desta doença pode ser mais rápida quando se associam outros factores de risco como a hipertensão arterial, a dislipidemia e a diabetes mellitus tipo 2. Individualmente todas estas doenças são crónicas, de progressão normalmente silenciosa e insidiosa. A aterosclerose e os factores de risco referidos apresentam, muito precocemente, alterações da microcirculação e em particular da microcirculação coronária. Também a aterosclerose em fases iniciais da sua evolução apresenta alterações da vasomotricidade traduzidas por desequilíbrio entre vasodilatação e vasoconstrição.

Factores de risco para doença cardiovascular, como a hipertensão arterial, a diabetes mellitus tipo 2, a dislipidemia, o tabagismo e a obesidade aceleram a evolução do processo aterosclerótico, e o resultado da associação dos factores é superior à sua soma directa. Do ponto de vista clínico, a associação entre hipertensão arterial e dislipidemia traduz-se por aumento das complicações cardiovasculares (síndromes coronárias agudas, insuficiência cardíaca e morte) independentemente da existência de doença coronária (462).

Comum a todas estas situações, factores de risco e aterosclerose, é a existência de disfunção endotelial coronária o que põe em relevo o facto de serem doenças primariamente vasculares. A associação da hipertensão arterial e da dislipidemia (463) potencia a disfunção endotelial coronária observada para cada um dos factores isoladamente e é acompanhada por maior *stress* oxidativo (335, 465).

A disfunção endotelial não se traduz apenas por alterações da vasomotricidade mas também por outras formas e em áreas da fisiopatologia como a inflamação, trombose, proliferação celular.

Existem situações identificadas na prática clínica que não sendo acompanhadas por doença vascular aterosclerótica se apresentam com sintomas, sinais e patologia que estamos habituados a ver associados a esta doença. Em indivíduos sem doença coronária angiográfica são exemplos o *angor*, as alterações da repolarização ventricular no electrocardiograma em repouso, os critérios eléctricos de positividade na prova de esforço, os defeitos de perfusão na cintigrafia cardíaca frequentemente interpretados como falsos positivos, a isquémia do miocárdio, particularmente sub-

endocárdica, documentada em ressonância magnética, e a necrose do miocárdio traduzida por enfarte agudo de miocárdio ou morte súbita. Nesta discussão ter-se-ão de incluir as cardiopatias dilatadas idiopáticas e os conceitos de atordoamento e viabilidade do miocárdio terão necessidade de ser revistos com base nos actuais e futuros conhecimentos sobre disfunção da microcirculação coronária sem doença coronária epicárdica.

A maior morbidade e mortalidade cardiovascular em grupos de patologia como a hipertensão arterial, hipertrofia ventricular esquerda, estenose aórtica, cardiomiopatia hipertrófica, diabetes mellitus tipo 2 e doença coronária têm em comum a existência de disfunção da microcirculação coronária. As diferentes formas de terapêutica instituídas nestas patologias são acompanhadas de aumento da reserva coronária e diminuição da probabilidade de morte cardiovascular.

No conjunto de trabalhos que apresentámos pensamos ter contribuído para a comprovação, através das técnicas utilizadas, da existência de disfunção da microcirculação coronária em diversas entidades fisiopatológicas. Observámos pelas alterações dos volumes de sangue calculados pela ECM a dinâmica do recrutamento capilar como forma de regular a vasomotricidade coronária. Observámos também a relação entre as diferentes formas de disfunção da microcirculação coronária e a mecânica do ventrículo esquerdo condicionando a função sistólica e diastólica.

Nas diferentes formas de hipertrofia ventricular esquerda foi demonstrada a heterogeneidade da reserva coronária transmural e a sua relação com diferentes graus de disfunção do ventrículo esquerdo. Comprovámos a importância da reserva coronária endocárdica na hipertrofia ventricular esquerda. Na cardiomiopatia hipertrófica foi observada a isquémia relativa do endocárdio durante a acção da adenosina. Este facto pode ter importância na estratificação de risco deste complexo grupo de doentes.

Na diabetes mellitus tipo 2 demonstrámos a existência de disfunção da microcirculação coronária em doentes com ou sem doença coronária angiográfica. Demonstrámos também que esta disfunção da microcirculação coronária se pode traduzir por defeitos de perfusão transitórios ou permanentes durante *stress* vasodilatador com adenosina. Em alguns casos, estes defeitos de perfusão foram acompanhados por alterações transitórias da cinética segmentar.

A relação entre a disfunção da microcirculação coronária, defeitos de perfusão e alterações da cinética poderá ser um dos factores que contribuem para a maior morbidade e mortalidade cardiovascular associada à diabetes mellitus tipo 2.

Na doença coronária aterosclerótica demonstramos a dinâmica dos defeitos de perfusão do miocárdio após revascularização mecânica de SCA. A importância da circulação colateral na manutenção da viabilidade dos miócitos pode ser avaliada pela ECM. Esta técnica permitiu-nos estudar a microcirculação coronária em situações de “*no reflow*”. Com o EDTT foi possível em doentes com BCRE ou em doentes pós revascularização mecânica obter valores de reserva coronária para estratificação de risco.

Demonstrámos num modelo experimental animal a repercussão na microcirculação coronária de uma dieta aterogénica. A reserva coronária foi praticamente anulada. Foi também demonstrada a acção protectora de uma estatina com parcial normalização da reserva coronária.

É compreensível que em situações em que ocorra diminuição da reserva coronária haja maior probabilidade de isquémia sub-endocárdica. Se este fenómeno de isquémia for frequente é possível que condicione alterações do metabolismo do miocárdio (atordoamento e hibernação) e alterações mecânicas do ventrículo esquerdo com eventuais repercussões hemodinâmicas.

Teoricamente não será necessários existirem obstruções mecânicas das artérias epicárdicas para que existam fenómenos de isquémia regional.

Perspectiva-se deste modo uma nova forma de abordar o estudo da etiopatogenia da isquémia do miocárdio, e de explicar situações que embora já antes tivessem sido referidas, geraram grande discussão e não tiveram explicação. Não é totalmente benigna a evolução da doença dos “pequenos vasos” estando referidos valores de sobrevivência inferiores ao da população em geral.

A explicação para os síndromes coronários agudos com coronárias angiograficamente normais não está esclarecida. A possibilidade de abordagem de todas estas e outras patologias de forma não invasiva, com liberdade de repetição do exame à cabeceira do doente, sem emissão de radiação, leva-nos a supor que levará a técnica ecocardiográfica a dar mais um passo importante no contributo do estudo e tratamento dos doentes.

Tanto a EDTT com identificação e caracterização do fluxo coronário, e possibilidade de análise da respectiva microcirculação coronária, como a ECM com possibilidade de qualificar e quantificar a perfusão do miocárdio estão em condições de brevemente serem técnicas de grande utilidade para a investigação e prática clínica.

Limitações do Trabalho

As principais limitações do trabalho relacionaram-se com as características da população estudada, e a dificuldade, como foi referido previamente, em obter um grupo de controlo que fosse “cem por cento” normal.

A área geográfica em que este trabalho foi executado tem limitações de vários géneros, humanas, técnicas e logísticas. Poderia ter sido útil a complementação de alguns destes trabalhos com marcadores analíticos de disfunção endotelial ou com a avaliação da função endotelial periférica. Teria sido importante complementar alguns dos resultados apresentados com informação relacionada com a parede coronária por ecocardiografia intravascular ou por TAC coronária.

Futuro

O trabalho apresentado representa a nossa experiência, com início em 1999, na área da microcirculação coronária obtida através da aplicação de técnicas de ecocardiografia. A ECM e o EDTT tiveram desde essa data uma evolução tecnológica importante, com melhoria dos equipamentos e sondas e desenvolvimento de novos software de análise de imagem.

Mantemos em curso trabalhos e projectos nesta área, pelo que não nos é possível afirmar que este trabalho chegou ao fim.

Estamos a desenvolver trabalho de investigação na área da aplicação da análise de perfusão do miocárdio no contexto de urgência, no diagnóstico diferencial de dor torácica e insuficiência cardíaca aguda. Estas técnicas são métodos de eleição para estudar o estado funcional da microcirculação coronária e excluir ou confirmar alterações da perfusão do miocárdio associadas ou não a alterações da cinética segmentar do ventrículo esquerdo.

Também estamos a desenvolver trabalho na área das doenças dos pequenos vasos e esclarecer a génese de defeitos de perfusão em situações com coronárias epicárdicas angiograficamente normais.

O síndrome metabólico e a diabetes mellitus tipo 2 são uma área para explorar a complexa interrelação entre factores de risco e microcirculação coronária.

O diagnóstico da doença coronária através da associação da ecocardiografia de sobrecarga e do ECM será certamente uma área de grande desenvolvimento no futuro. Aguarda-se com ansiedade a

nova geração de equipamentos de ecocardiografia com análise de perfusão “on-line” e com análise de imagens paramétricas, de mais rápida e fácil interpretação.

A aplicação de ambas as técnicas ecocardiográficas no seguimento da intervenção terapêutica será outra das vantagens, com rápida e acessível informação do efeito das intervenções de revascularização coronária e das intervenções farmacológicas.

A aplicação da tecnologia das microbolhas como transportadores de material terapêutico e genético para órgãos ou tecidos específicos é outra das grandes esperanças futuras da utilização da ecocardiografia de contraste (86, 466 -468).

A recente introdução do contraste ultrasónico na área da imagiologia molecular representa já uma realidade como exemplo de investigação aplicada à clínica (453, 464,469).

6 RESUMO

Este trabalho tentou contribuir para a caracterização da fisiopatologia da microcirculação coronária em diferentes formas de patologia com o auxílio da ecocardiografia transtorácica.

Com a aplicação da ecocardiografia Doppler transtorácica foi efectuado o estudo da reserva coronária da artéria descendente anterior e com a ecocardiografia de contraste do miocárdio foram analisados parâmetros de perfusão do miocárdio como a velocidade da microcirculação coronária, o volume de sangue miocárdico e a reserva de fluxo miocárdico.

Estas técnicas foram utilizadas em diferentes situações fisiopatológicas com particular interesse na hipertrofia ventricular esquerda de diferentes etiologias como a hipertensão arterial, estenose aórtica e cardiomiopatia hipertrófica. Também na diabetes mellitus tipo 2 e na doença coronária aterosclerótica, estudámos as alterações da microcirculação coronária. Com a mesma técnica de ecocardiografia de contraste do miocárdio foi analisada a perfusão do miocárdio num modelo experimental animal sujeito a uma dieta aterogénica.

Além das conclusões específicas em relação a cada um dos trabalhos efectuados há a referir como conclusões gerais a sua fácil aplicabilidade e exequibilidade em âmbito clínico, a sua reprodutibilidade e precisão. Quando comparadas com técnicas consideradas de referência mostraram resultados com significativa correlação estatística.

Em todos os doentes e nos grupos controle foi possível comprovar e quantificar o gradiente de perfusão transmural em repouso e durante a acção de *stress* vasodilatador, relevando a importância da perfusão sub-endocárdica na função do ventrículo esquerdo.

O estudo da microcirculação coronária no grupo de doentes com hipertrofia ventricular esquerda revelou que no grupo com hipertensão arterial existe disfunção da microcirculação coronária ainda antes de se observar aumento de massa do ventrículo esquerdo, e que esta disfunção é diferente em função da geometria ventricular. Nos doentes com estenose aórtica foi demonstrado que além da disfunção da microcirculação coronária, explicada pelo fenómeno de hipertrofia, existe outro componente extrínseco que depois de corrigido através de cirurgia de substituição valvular, conduziu a uma parcial normalização dos valores de reserva coronária.

Na cardiomiopatia hipertrófica observou-se uma grande heterogeneidade de perfusão transmural e foi documentado, em imagens de ecocardiografia de contraste do miocárdio e após análise paramétrica, a ausência de perfusão do miocárdio na região sub-endocárdica durante o *stress* vasodilatador.

Nos doentes com diabetes mellitus tipo 2 verificou-se uma tendência para se observarem valores de reserva coronária diminuídos em fases precoces de evolução da doença. Foi demonstrado que a reserva coronária na DM₂ em fases mais avançadas estava significativamente diminuída. Descrevemos também em doentes com DM₂ e sem doença coronária angiográfica a existência de disfunção da microcirculação coronária. Durante o *stress* vasodilatador, observámos e documentámos neste grupo de doentes, a existência de defeitos de perfusão transitórios ou de diminuição da velocidade da microcirculação coronária.

No grupo de doentes com doença coronária confirmámos o interesse da avaliação da reserva coronária após intervenção percutânea na definição de prognóstico pós EAM, em termos de recuperação funcional do ventrículo esquerdo. Em doentes com BCRE e de difícil estratificação de risco, foi possível calcular o valor de reserva coronária e estratificar o risco de doença coronária.

Num modelo experimental animal demonstrámos a exequibilidade da técnica de ECM, e verificámos que nessas condições experimentais, uma sobrecarga aterogénica na dieta, ao fim de 6 semanas, comprometia severamente a reserva coronária. Estes resultados foram parcialmente reversíveis quando à dieta foi adicionada uma estatina.

Estas técnicas pela sua não invasibilidade, fácil acesso, repetibilidade e inocuidade perspectivam-se de grande utilidade na caracterização de doentes com disfunção da microcirculação coronária, nas diferentes áreas de diagnóstico, terapêutica e prevenção. A possibilidade de adaptar a técnica em modelos experimentais animais também nos parece poder vir a ter grande utilidade em investigação.

SUMMARY

This work is intended to be a contribution to the study of coronary microcirculation applying new echocardiographic techniques as transthoracic Doppler echocardiography of coronary arteries and myocardial contrast echocardiography.

Coronary flow reserve may be assessed by transthoracic Doppler echocardiography, and important functional microcirculation parameters as microcirculation flow velocity, myocardial blood volume and myocardial flow reserve may be evaluated through myocardial contrast echocardiography.

Microcirculation was analysed in different pathophysiological settings. We addressed situations with increased left ventricular mass as systemic arterial hypertension, aortic stenosis and hypertrophic cardiomyopathy. Also coronary microcirculation was studied in type 2 Diabetes and in different clinical forms of atherosclerotic coronary artery disease. Specific and detailed conclusions were withdrawn from each experimental work.

In the overall it was concluded that these two techniques were important tools to easily assess specific pathophysiological information about coronary microcirculation at bed side which would be difficult to get through other techniques. When compared with gold standard techniques, similar sensibility and specificity was found.

Because of their better temporal and spatial resolution it was possible to analyse the importance of transmural perfusion gradients, both in basal and during vasodilatation, and their relation to ischemia, and mechanical wall kinetics, as wall thickening and motion.

Coronary microcirculation dysfunction was found in systemic arterial hypertension early evolution stages, also related to different left ventricular geometric patterns.

Different etiopathogenical explanations for aortic stenosis coronary microcirculation dysfunction were analysed and compared after aortic valve replacement.

Transmural myocardial perfusion heterogeneity pattern was observed in hypertrophic cardiomyopathy which was aggravated during adenosine challenge.

Coronary microcirculation dysfunction was diagnosed in type 2 diabetes both with coronary artery disease and with normal angiographic coronary arteries. Dynamic transitory subendocardial perfusion defects with adenosine vasodilatation were visualized in these patients.

In patients with left branch block, transthoracic Doppler echocardiography was able to suggest a coronary reserve cut-off value for risk stratification. Also it was possible with this technique to calculate coronary flow reserve and predict restenosis after PTCA

Again, in an experimental animal model, applying myocardial contrast echocardiography technique it was possible to study the consequences of an atherogenic diet and statins action on the coronary microcirculation function. Because these techniques are easily performed at bed side, are harmless, use no ionizing radiation and because of their repeatability, reproducibility and accuracy they are promissory tools to assess coronary microcirculation.

Both in clinic and research areas these techniques will probably have a role in clinical diagnosis, prevention and therapeutically decision.

7 BIBLIOGRAFIA

1. Chilian WM, Eastham CL, Marcus ML. Microvascular distribution of coronary vascular resistance in beating left ventricle. *Am J Physiol* 1986; 251:H779-H788.
2. Young MA, Vatner SF. Regulation of large coronary arteries. *Circ Res* 1986; 59:579-96.
3. Kassab GS, Rider CA, Tang NJ, Fung YC. Morphometry of pig coronary arterial trees. *Am J Physiol* 1993; 265:H350-H365.
4. Kassab GS, Fung YC. Topology and dimensions of pig coronary capillary network. *Am J Physiol* 1994; 267:H319-H325.
5. Kassab GS, Lin DH, Fung YC. Morphometry of pig coronary venous system. *Am J Physiol* 1994; 267:H2100-H2113.
6. Kayar SR, Weiss HR. Capillary recruitment and heterogeneity of perfused capillary distribution in dog myocardium. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 1991; 7:77-108.
7. Provenza DV, Scherlis S. Coronary circulation dog's heart; demonstration of muscle sphincters in capillaries. *Circ Res* 1959; 7:318-24.
8. Schaper W, Ito WD. Molecular mechanisms of coronary collateral vessel growth. *Circ Res* 1996; 79:911-9.
9. Ishikura F, Otani K, Kayano H, et al. Quantitative Assessment of Microcollateral Recruitment During Coronary Occlusion Using Real-time Intravenous Myocardial Contrast Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2007.
10. Kurotobi T, Sato H, Kinjo K, et al. Reduced collateral circulation to the infarct-related artery in elderly patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:28-34.
11. Lindner JR, Wei K. Contrast echocardiography. *Curr Probl Cardiol* 2002; 27:454-519.
12. Feigl EO. Coronary physiology. *Physiol Rev* 1983; 63:1-205.
13. Merx MW, Flogel U, Stumpe T, Godecke A, Decking UK, Schrader J. Myoglobin facilitates oxygen diffusion. *FASEB J* 2001; 15:1077-9.
14. Beyar R, Sideman S. Dynamic interaction between myocardial contraction and coronary flow. *Adv Exp Med Biol* 1997; 430:123-37.
15. Yada T, Hiramatsu O, Kimura A, et al. In vivo observation of subendocardial microvessels of the beating porcine heart using a needle-probe videomicroscope with a CCD camera. *Circ Res* 1993; 72:939-46.
16. Hiramatsu O, Goto M, Yada T, et al. In vivo observations of the intramural arterioles and venules in beating canine hearts. *J Physiol* 1998; 509 (Pt 2):619-28.
17. Spaan JA. Mechanical determinants of myocardial perfusion. *Basic Res Cardiol* 1995; 90:89-102.
18. Chilian WM, Marcus ML. Phasic coronary blood flow velocity in intramural and epicardial coronary arteries. *Circ Res* 1982; 50:775-81.

19. Bache RJ, Cobb FR. Effect of maximal coronary vasodilation on transmural myocardial perfusion during tachycardia in the awake dog. *Circ Res* 1977; 41:648-53.
20. DeFily DV, Chilian WM. Coronary microcirculation: autoregulation and metabolic control. *Basic Res Cardiol* 1995; 90:112-8.
21. Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Myogenic and flow-dependent control mechanisms in the coronary microcirculation. *Basic Res Cardiol* 1993; 88:2-10.
22. Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Myogenic activity in isolated subepicardial and subendocardial coronary arterioles. *Am J Physiol* 1988; 255:H1558-H1562.
23. Miller FJ, Jr., Dellsperger KC, Gutterman DD. Myogenic constriction of human coronary arterioles. *Am J Physiol* 1997; 273:H257-H264.
24. Davis MJ. Microvascular control of capillary pressure during increases in local arterial and venous pressure. *Am J Physiol* 1988; 254:H772-H784.
25. Goto M, VanBavel E, Giezeman MJ, Spaan JA. Vasodilatory effect of pulsatile pressure on coronary resistance vessels. *Circ Res* 1996; 79:1039-45.
26. Braunwald E. Control of myocardial oxygen consumption: physiologic and clinical considerations. *Am J Cardiol* 1971; 27:416-32.
27. Mellander S, Johansson B. Control of resistance, exchange, and capacitance functions in the peripheral circulation. *Pharmacol Rev* 1968; 20:117-96.
28. Laughlin MH, McAllister RM, Jasperse JL, Crader SE, Williams DA, Huxley VH. Endothelium-mediated control of the coronary circulation. Exercise training-induced vascular adaptations. *Sports Med* 1996; 22:228-50.
29. Berne RM. Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role in regulation of coronary blood flow. *Am J Physiol* 1963; 204:317-22.
30. Bache RJ, Dai XZ, Schwartz JS, Homans DC. Role of adenosine in coronary vasodilation during exercise. *Circ Res* 1988; 62:846-53.
31. Tune JD, Richmond KN, Gorman MW, Olsson RA, Feigl EO. Adenosine is not responsible for local metabolic control of coronary blood flow in dogs during exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278:H74-H84.
32. Duncker DJ, Stubenitsky R, Verdouw PD. Role of adenosine in the regulation of coronary blood flow in swine at rest and during treadmill exercise. *Am J Physiol* 1998; 275:H1663-H1672.
33. Gorman MW, Tune JD, Richmond KN, Feigl EO. Feedforward sympathetic coronary vasodilation in exercising dogs. *J Appl Physiol* 2000; 89:1892-902.
34. Yada T, Richmond KN, Van BR, Kroll K, Feigl EO. Role of adenosine in local metabolic coronary vasodilation. *Am J Physiol* 1999; 276:H1425-H1433.
35. Tune JD, Richmond KN, Gorman MW, Feigl EO. Role of nitric oxide and adenosine in control of coronary blood flow in exercising dogs. *Circulation* 2000; 101:2942-8.
36. Standen NB, Quayle JM, Davies NW, Brayden JE, Huang Y, Nelson MT. Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. *Science* 1989; 245:177-80.
37. Ashcroft SJ, Ashcroft FM. Properties and functions of ATP-sensitive K-channels. *Cell Signal* 1990; 2:197-214.
38. Aversano T, Ouyang P, Silverman H. Blockade of the ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation. *Circ Res* 1991; 69:618-22.
39. Nakhostine N, Lamontagne D. Contribution of prostaglandins in hypoxia-induced vasodilation in isolated rabbit hearts. Relation to adenosine and KATP channels. *Pflugers Arch* 1994; 428:526-32.
40. Daut J, Maier-Rudolph W, von BN, Mehrke G, Gunther K, Goedel-Meinen L. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science* 1990; 247:1341-4.
41. Clayton FC, Hess TA, Smith MA, Grover GJ. Coronary reactive hyperemia and adenosine-induced vasodilation are mediated partially by a glyburide-sensitive mechanism. *Pharmacology* 1992; 44:92-100.
42. Samaha FF, Heineman FW, Ince C, Fleming J, Balaban RS. ATP-sensitive potassium channel is essential to maintain basal coronary vascular tone in vivo. *Am J Physiol* 1992; 262:C1220-C1227.
43. Duncker DJ, van Zon NS, Pavek TJ, Herrlinger SK, Bache RJ. Endogenous adenosine mediates coronary vasodilation during exercise after K(ATP)⁺ channel blockade. *J Clin Invest* 1995; 95:285-95.
44. Dankelman J, Van der Ploeg CP, Spaan JA. Glibenclamide decelerates the responses of coronary regulation in the goat. *Am J Physiol* 1994; 266:H1715-H1721.

45. Akatsuka Y, Egashira K, Katsuda Y, et al. ATP sensitive potassium channels are involved in adenosine A2 receptor mediated coronary vasodilatation in the dog. *Cardiovasc Res* 1994; 28:906-11.
46. Richmond KN, Tune JD, Gorman MW, Feigl EO. Role of K⁺ATP channels in local metabolic coronary vasodilation. *Am J Physiol* 1999; 277:H2115-H2123.
47. Amezcua JL, Palmer RM, de Souza BM, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1989; 97:1119-24.
48. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-42.
49. Pelc LR, Gross GJ, Warltier DC. Mechanism of coronary vasodilation produced by bradykinin. *Circulation* 1991; 83:2048-56.
50. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignarro LJ. Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991; 17:187-93.
51. Koller A, Sun D, Kaley G. Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilation of arterioles in vitro. *Circ Res* 1993; 72:1276-84.
52. Stepp DW, Nishikawa Y, Chilian WM. Regulation of shear stress in the canine coronary microcirculation. *Circulation* 1999; 100:1555-61.
53. Busse R, Pohl U, Luckhoff A. Mechanisms controlling the production of endothelial autacoids. *Z Kardiol* 1989; 78 Suppl 6:64-9.
54. Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Endothelium-dependent, flow-induced dilation of isolated coronary arterioles. *Am J Physiol* 1990; 259:H1063-H1070.
55. Hintze TH, Vatner SF. Reactive dilation of large coronary arteries in conscious dogs. *Circ Res* 1984; 54:50-7.
56. Afonso S, Bandow GT, Rowe GG. Indomethacin and the prostaglandin hypothesis of coronary blood flow regulation. *J Physiol* 1974; 241:299-308.
57. Chu A, Chambers DE, Lin CC, Kuehl WD, Cobb FR. Nitric oxide modulates epicardial coronary basal vasomotor tone in awake dogs. *Am J Physiol* 1990; 258:H1250-H1254.
58. Hamdad N, Ming Z, Parent R, Lavallee M. Beta 2-adrenergic dilation of conductance coronary arteries involves flow-dependent NO formation in conscious dogs. *Am J Physiol* 1996; 271:H1926-H1937.
59. Rosolowsky M, Falck JR, Campbell WB. Metabolism of arachidonic acid by canine polymorphonuclear leukocytes synthesis of lipoxygenase and omega-oxidized metabolites. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1300:143-50.
60. Rouleau J, Boerboom LE, Surjadhana A, Hoffman JI. The role of autoregulation and tissue diastolic pressures in the transmural distribution of left ventricular blood flow in anesthetized dogs. *Circ Res* 1979; 45:804-15.
61. Chilian WM, Layne SM. Coronary microvascular responses to reductions in perfusion pressure. Evidence for persistent arteriolar vasomotor tone during coronary hypoperfusion. *Circ Res* 1990; 66:1227-38.
62. Feigl EO. Sympathetic control of coronary circulation. *Circ Res* 1967; 20:262-71.
63. McRaven DR, Mark AL, Abboud FM, Mayer HE. Responses of coronary vessels to adrenergic stimuli. *J Clin Invest* 1971; 50:773-8.
64. Nayler WG, Carson V. Effect of stellate ganglion stimulation on myocardial blood flow, oxygen consumption, and cardiac efficiency during beta-adrenoceptor blockade. *Cardiovasc Res* 1973; 7:22-9.
65. Heusch G, Baumgart D, Camici P, et al. alpha-adrenergic coronary vasoconstriction and myocardial ischemia in humans. *Circulation* 2000; 101:689-94.
66. Ek L, Ablad B. Effects of three beta adrenergic receptor blockers on myocardial oxygen consumption in the dog. *Eur J Pharmacol* 1971; 14:19-28.
67. Feigl EO. Control of myocardial oxygen tension by sympathetic coronary vasoconstriction in the dog. *Circ Res* 1975; 37:88-95.
68. Mohrman DE, Feigl EO. Competition between sympathetic vasoconstriction and metabolic vasodilation in the canine coronary circulation. *Circ Res* 1978; 42:79-86.
69. DiSalvo J, Parker PE, Scott JB, Haddy FJ. Carotid baroreceptor influence on coronary vascular resistance in the anesthetized dog. *Am J Physiol* 1971; 221:156-60.
70. Chilian WM, Layne SM, Eastham CL, Marcus ML. Heterogeneous microvascular coronary alpha-adrenergic vasoconstriction. *Circ Res* 1989; 64:376-88.
71. Huang AH, Feigl EO. Adrenergic coronary vasoconstriction helps maintain uniform transmural blood flow distribution during exercise. *Circ Res* 1988; 62:286-98.
72. Tiefenbacher CP, DeFily DV, Chilian WM. Requisite role of cardiac myocytes in coronary alpha1-adrenergic constriction. *Circulation* 1998; 98:9-12.

73. Tiefenbacher CP, Tweddell A, Batkai S, Zimmermann R, Tillmanns H, Kubler W. Endothelin does not contribute to the attenuation in myocardial function and blood flow after repetitive ischemia in the rat heart. *J Vasc Res* 1997; 34:447-54.
74. Saetrum OO, Gulbenkian S, Edvinsson L. Innervation and effects of vasoactive substances in the coronary circulation. *Eur Heart J* 1997; 18:1556-68.
75. DeFily DV, Nishikawa Y, Chilian WM. Endothelin antagonists block alpha1-adrenergic constriction of coronary arterioles. *Am J Physiol* 1999; 276:H1028-H1034.
76. Saetrum OO, Edvinsson L. [Vasoactive substances affect vascular tonus. New perspectives for prevention and treatment]. *Lakartidningen* 1998; 95:160-3.
77. Tanaka E, Mori H, Chujo M, et al. Coronary vasoconstrictive effects of neuropeptide Y and their modulation by the ATP-sensitive potassium channel in anesthetized dogs. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29:1380-9.
78. Hintze TH, Vatner SF. Purinergic control of large coronary arteries in the conscious dog. *Bibl Cardiol* 1984;189-99.
79. Wolinsky H. A proposal linking clearance of circulating lipoproteins to tissue metabolic activity as a basis for understanding atherogenesis. *Circ Res* 1980; 47:301-11.
80. Lerman A, Burnett JC, Jr. Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation* 1992; 86:III12-III19.
81. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 2003; 9:702-12.
82. Herrmann J, Lerman LO, Rodriguez-Porcel M, et al. Coronary vasa vasorum neovascularization precedes epicardial endothelial dysfunction in experimental hypercholesterolemia. *Cardiovasc Res* 2001; 51:762-6.
83. Aird WC. Spatial and temporal dynamics of the endothelium. *J Thromb Haemost* 2005; 3:1392-406.
84. Gulati R, Jevremovic D, Peterson TE, et al. Autologous culture-modified mononuclear cells confer vascular protection after arterial injury. *Circulation* 2003; 108:1520-6.
85. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348:593-600.
86. Pasqualini R, Ruoslahti E. Organ targeting in vivo using phage display peptide libraries. *Nature* 1996; 380:364-6.
87. Oh P, Li Y, Yu J, et al. Subtractive proteomic mapping of the endothelial surface in lung and solid tumours for tissue-specific therapy. *Nature* 2004; 429:629-35.
88. Schwartz SM, Gajdusek CM, Reidy MA, Selden SC, III, Haudenschield CC. Maintenance of integrity in aortic endothelium. *Fed Proc* 1980; 39:2618-25.
89. Piper P, Vane J. The release of prostaglandins from lung and other tissues. *Ann N Y Acad Sci* 1971; 180:363-85.
90. Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31:61-74.
91. Ignarro LJ, Cirino G, Casini A, Napoli C. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34:879-86.
92. Quilley J, Fulton D, McGiff JC. Hyperpolarizing factors. *Biochem Pharmacol* 1997; 54:1059-70.
93. Bauersachs J, Popp R, Fleming I, Busse R. Nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor: formation and interactions. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 57:439-46.
94. Julia PL, Buckberg GD, Acar C, Partington MT, Sherman MP. Studies of controlled reperfusion after ischemia. XXI. Reperfusion composition: superiority of blood cardioplegia over crystalloid cardioplegia in limiting reperfusion damage--importance of endogenous oxygen free radical scavengers in red blood cells. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 101:303-13.
95. Sellke FW, Shafique T, Ely DL, Weintraub RM. Coronary endothelial injury after cardiopulmonary bypass and ischemic cardioplegia is mediated by oxygen-derived free radicals. *Circulation* 1993; 88:II395-II400.
96. Sellke FW, Shafique T, Johnson RG, et al. Blood and albumin cardioplegia preserve endothelium-dependent microvascular responses. *Ann Thorac Surg* 1993; 55:977-85.
97. Henry CB, Duling BR. Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *Am J Physiol* 1999; 277:H508-H514.

98. Gutteridge JM, Quinlan GJ. Antioxidant protection against organic and inorganic oxygen radicals by normal human plasma: the important primary role for iron-binding and iron-oxidising proteins. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1159:248-54.
99. Bruegger D, Jacob M, Rehm M, et al. Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary vascular bed of guinea pig hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289:H1993-H1999.
100. Lindner JR, Ismail S, Spotnitz WD, Skyba DM, Jayaweera AR, Kaul S. Albumin microbubble persistence during myocardial contrast echocardiography is associated with microvascular endothelial glycocalyx damage. *Circulation* 1998; 98:2187-94.
101. Ruel M, Khan TA, Voisine P, Bianchi C, Sellke FW. Vasomotor dysfunction after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 26:1002-14.
102. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315:1046-51.
103. Osborn L, Hession C, Tizard R, et al. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell* 1989; 59:1203-11.
104. Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991; 251:788-91.
105. McCuskey RS, Urbaschek R, Urbaschek B. The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res* 1996; 32:752-63.
106. Mori N, Natarajan K, Chacko VP, Artemov D, Bhujwalla ZM. Choline phospholipid metabolites of human vascular endothelial cells altered by cyclooxygenase inhibition, growth factor depletion, and paracrine factors secreted by cancer cells. *Mol Imaging* 2003; 2:124-30.
107. Padera TP, Stoll BR, So PT, Jain RK. Conventional and high-speed intravital multiphoton laser scanning microscopy of microvasculature, lymphatics, and leukocyte-endothelial interactions. *Mol Imaging* 2002; 1:9-15.
108. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation* 1998; 97:473-83.
109. Kaul S. Myocardial contrast echocardiography: basic principles. *Prog Cardiovasc Dis* 2001; 44:1-11.
110. Kuo L, Chilian WM, Davis MJ. Interaction of pressure- and flow-induced responses in porcine coronary resistance vessels. *Am J Physiol* 1991; 261:H1706-H1715.
111. Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Longitudinal gradients for endothelium-dependent and -independent vascular responses in the coronary microcirculation. *Circulation* 1995; 92:518-25.
112. Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Distribution and control of coronary microvascular resistance. *Adv Exp Med Biol* 1993; 346:181-8.
113. Barmeyer AA, Stork A, Muellerleile K, et al. Contrast-enhanced cardiac MR imaging in the detection of reduced coronary flow velocity reserve. *Radiology* 2007; 243:377-85.
114. Basu S, Senior R, Raval U, Lahiri A. Superiority of nitrate-enhanced 201Tl over conventional redistribution 201Tl imaging for prognostic evaluation after myocardial infarction and thrombolysis. *Circulation* 1997; 96:2932-7.
115. Kim RJ, Wu E, Rafael A, et al. The use of contrast-enhanced magnetic resonance imaging to identify reversible myocardial dysfunction. *N Engl J Med* 2000; 343:1445-53.
116. Wagner A, Mahrholdt H, Holly TA, et al. Contrast-enhanced MRI and routine single photon emission computed tomography (SPECT) perfusion imaging for detection of subendocardial myocardial infarcts: an imaging study. *Lancet* 2003; 361:374-9.
117. Wei K, Kaul S. The coronary microcirculation in health and disease. *Cardiol Clin* 2004; 22:221-31.
118. Cheirif J, Zoghbi WA, Bolli R, O'Neill PG, Hoyt BD, Quinones MA. Assessment of regional myocardial perfusion by contrast echocardiography. II. Detection of changes in transmural and subendocardial perfusion during dipyridamole-induced hyperemia in a model of critical coronary stenosis. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14:1555-65.
119. Kaul S, Jayaweera AR, Glasheen WP, Villanueva FS, Gutgesell HP, Spotnitz WD. Myocardial contrast echocardiography and the transmural distribution of flow: a critical appraisal during myocardial ischemia not associated with infarction. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20:1005-16.

120. Van CG, Ay T, Pasquet A, et al. Quantification of myocardial blood flow and assessment of its transmural distribution with real-time power modulation myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2003; 16:263-70.
121. Rajappan K, Rimoldi OE, Dutka DP, et al. Mechanisms of coronary microcirculatory dysfunction in patients with aortic stenosis and angiographically normal coronary arteries. *Circulation* 2002; 105:470-6.
122. Bacharach SL, Bax JJ, Case J, et al. PET myocardial glucose metabolism and perfusion imaging: Part 1- Guidelines for data acquisition and patient preparation. *J Nucl Cardiol* 2003; 10:543-56.
123. L'Abbate A, Sambuceti G, Neglia D. Myocardial perfusion and coronary microcirculation: from pathophysiology to clinical application. *J Nucl Cardiol* 2002; 9:328-37.
124. Kaul S, Kelly P, Oliner JD, Glasheen WP, Keller MW, Watson DD. Assessment of regional myocardial blood flow with myocardial contrast two-dimensional echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13:468-82.
125. Rinkevich D, Kaul S, Wang XQ, et al. Regional left ventricular perfusion and function in patients presenting to the emergency department with chest pain and no ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2005; 26:1606-11.
126. Kaul S, Ito H. Microvasculature in acute myocardial ischemia: part I: evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Circulation* 2004; 109:146-9.
127. Linka AZ, Sklenar J, Wei K, Jayaweera AR, Skyba DM, Kaul S. Assessment of transmural distribution of myocardial perfusion with contrast echocardiography. *Circulation* 1998; 98:1912-20.
128. Kaul S, Jayaweera AR. Coronary and myocardial blood volumes: noninvasive tools to assess the coronary microcirculation? *Circulation* 1997; 96:719-24.
129. Le DE, Bin JP, Coggins MP, Wei K, Lindner JR, Kaul S. Relation between myocardial oxygen consumption and myocardial blood volume: a study using myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; 15:857-63.
130. Bin JP, Le DE, Chen SM, Zha DG, Liu YL, Kaul S. [Nitroglycerine promotes myocardial oxygen metabolism and regional cardiac function in vivo]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2007; 27:423-6.
131. Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. *J Clin Invest* 1991; 87:432-8.
132. Guerci B, Bohme P, Kearney-Schwartz A, Zannad F, Drouin P. Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Part 2: altered endothelial function and the effects of treatments in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab* 2001; 27:436-47.
133. Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Regulation of coronary blood flow: coordination of heterogeneous control mechanisms in vascular microdomains. *Cardiovasc Res* 1995; 29:585-96.
134. Tiefenbacher CP, Chilian WM. Heterogeneity of coronary vasomotion. *Basic Res Cardiol* 1998; 93:446-54.
135. Liao JC, Kuo L. Interaction between adenosine and flow-induced dilation in coronary microvascular network. *Am J Physiol* 1997; 272:H1571-H1581.
136. Gould KL, Lipscomb K. Effects of coronary stenoses on coronary flow reserve and resistance. *Am J Cardiol* 1974; 34:48-55.
137. Henry CB, Duling BR. Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *Am J Physiol* 1999; 277:H508-H514.
138. Tune JD, Richmond KN, Gorman MW, Feigl EO. Control of coronary blood flow during exercise. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002; 227:238-50.
139. Shimoni S, Zoghbi WA, Xie F, et al. Real-time assessment of myocardial perfusion and wall motion during bicycle and treadmill exercise echocardiography: comparison with single photon emission computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:741-7.
140. Richmond KN, Tune JD, Gorman MW, Feigl EO. Role of K(ATP)(+) channels and adenosine in the control of coronary blood flow during exercise. *J Appl Physiol* 2000; 89:529-36.
141. Nitenberg A, Ledoux S, Valensi P, Sachs R, Attali JR, Antony I. Impairment of coronary microvascular dilation in response to cold pressor--induced sympathetic stimulation in type 2 diabetic patients with abnormal stress thallium imaging. *Diabetes* 2001; 50:1180-5.
142. Merx MW, Godecke A, Flogel U, Schrader J. Oxygen supply and nitric oxide scavenging by myoglobin contribute to exercise endurance and cardiac function. *FASEB J* 2005; 19:1015-7.
143. Haskell WL, Sims C, Myll J, Bortz WM, St Goar FG, Alderman EL. Coronary artery size and dilating capacity in ultradistance runners. *Circulation* 1993; 87:1076-82.

144. Duncker DJ, van Zon NS, Altman JD, Pavek TJ, Bache RJ. Role of K⁺ATP channels in coronary vasodilation during exercise. *Circulation* 1993; 88:1245-53.
145. Laxson DD, Homans DC, Bache RJ. Inhibition of adenosine-mediated coronary vasodilation exacerbates myocardial ischemia during exercise. *Am J Physiol* 1993; 265:H1471-H1477.
146. Harrison DG, Chilian WM, Marcus ML. Absence of functioning alpha-adrenergic receptors in mature canine coronary collaterals. *Circ Res* 1986; 59:133-42.
147. Frank MW, Harris KR, Ahlin KA, Klocke FJ. Endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) has a tonic vasodilating action on coronary collateral vessels. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:658-63.
148. Feldman RD, Christy JP, Paul ST, Harrison DG. Beta-adrenergic receptors on canine coronary collateral vessels: characterization and function. *Am J Physiol* 1989; 257:H1634-H1639.
149. Traverse JH, Kinn JW, Klassen C, Duncker DJ, Bache RJ. Nitric oxide inhibition impairs blood flow during exercise in hearts with a collateral-dependent myocardial region. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31:67-74.
150. Kinn JW, Bache RJ. Effect of platelet activation on coronary collateral blood flow. *Circulation* 1998; 98:1431-7.
151. Rapps JA, Jones AW, Sturek M, Magliola L, Parker JL. Mechanisms of altered contractile responses to vasopressin and endothelin in canine coronary collateral arteries. *Circulation* 1997; 95:231-9.
152. Sellke FW, Wang SY, Friedman M, et al. Basic FGF enhances endothelium-dependent relaxation of the collateral-perfused coronary microcirculation. *Am J Physiol* 1994; 267:H1303-H1311.
153. Sellke FW, Armstrong ML, Harrison DG. Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation* 1990; 81:1586-93.
154. Ravichandran LV, Johns RA, Rengasamy A. Direct and reversible inhibition of endothelial nitric oxide synthase by nitric oxide. *Am J Physiol* 1995; 268:H2216-H2223.
155. Uematsu M, Ohara Y, Navas JP, et al. Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress. *Am J Physiol* 1995; 269:C1371-C1378.
156. Li J, Partovian C, Li J, et al. Modulation of microvascular signaling by heparan sulfate matrix: studies in syndecan-4 transgenic mice. *Microvasc Res* 2002; 64:38-46.
157. Zhang Y, Li J, Partovian C, Sellke FW, Simons M. Syndecan-4 modulates basic fibroblast growth factor 2 signaling in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284:H2078-H2082.
158. Bauters C, Asahara T, Zheng LP, et al. Recovery of disturbed endothelium-dependent flow in the collateral-perfused rabbit ischemic hindlimb after administration of vascular endothelial growth factor. *Circulation* 1995; 91:2802-9.
159. Sellke FW, Quillen JE, Brooks LA, Harrison DG. Endothelial modulation of the coronary vasculature in vessels perfused via mature collaterals. *Circulation* 1990; 81:1938-47.
160. Sellke FW, Boyle EM, Jr., Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the pathophysiology of vasomotor dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1996; 62:1222-8.
161. Tanaka M, Fujiwara H, Onodera T, et al. Quantitative analysis of narrowings of intramyocardial small arteries in normal hearts, hypertensive hearts, and hearts with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1987; 75:1130-9.
162. Schwartzkopff B, Motz W, Frenzel H, Vogt M, Knauer S, Strauer BE. Structural and functional alterations of the intramyocardial coronary arterioles in patients with arterial hypertension. *Circulation* 1993; 88:993-1003.
163. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Jr., Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323:22-7.
164. Harrison DG, Florentine MS, Brooks LA, Cooper SM, Marcus ML. The effect of hypertension and left ventricular hypertrophy on the lower range of coronary autoregulation. *Circulation* 1988; 77:1108-15.
165. Fujii M, Nuno DW, Lamping KG, Dellsperger KC, Eastham CL, Harrison DG. Effect of hypertension and hypertrophy on coronary microvascular pressure. *Circ Res* 1992; 71:120-6.
166. Antony I, Lerebours G, Nitenberg A. Loss of flow-dependent coronary artery dilatation in patients with hypertension. *Circulation* 1995; 91:1624-8.
167. Suzuki H, Koba S, Katagiri T, Takeyama Y, Suwa Y. Ultrastructural changes of blood capillaries in patients with microvascular angina, hypertrophic cardiomyopathy, and dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiovasc Pathol* 1995; 5:19-26.
168. Houghton JL, Frank MJ, Carr AA, von Dohlen TW, Prisant LM. Relations among impaired coronary flow reserve, left ventricular hypertrophy and thallium perfusion defects in hypertensive patients without obstructive coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15:43-51.

169. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR. Impairment of coronary vascular reserve and ACh-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 1993; 42:1017-25.
170. Nahser PJ, Jr., Brown RE, Oskarsson H, Winniford MD, Rossen JD. Maximal coronary flow reserve and metabolic coronary vasodilation in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1995; 91:635-40.
171. Meyer C, Schwaiger M. Myocardial blood flow and glucose metabolism in diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 1997; 80:94A-101A.
172. Gwirtz PA. Coronary alpha 1-constrictor tone during renovascular hypertension. *Circulation* 1995; 92:1576-81.
173. Goldenberg M, Pines KL, Baldwin EF, Green DG, Roth CE. The hemodynamic response of man to norepinephrine and epinephrine and its relation to the problem of hypertension. *Am J Med* 1948; 5:792-806.
174. Doyle AE, Black H. Reactivity to repressor agents in hypertension. *Circulation* 1955; 12:974-80.
175. Gaba MK, Gaba S, Clark LT. Cardiovascular disease in patients with diabetes: clinical considerations. *J Assoc Acad Minor Phys* 1999; 10:15-22.
176. Factor SM, Borczuk A, Charron MJ, Fein FS, van Hoeven KH, Sonnenblick EH. Myocardial alterations in diabetes and hypertension. *Diabetes Res Clin Pract* 1996; 31 Suppl:S133-S142.
177. Yarom R, Zirkin H, Stammler G, Rose AG. Human coronary microvessels in diabetes and ischaemia. Morphometric study of autopsy material. *J Pathol* 1992; 166:265-70.
178. Durante W, Sunahara FA, Sen AK. Effect of diabetes on metabolic coronary dilatation in the rat. *Cardiovasc Res* 1989; 23:40-5.
179. Matsunaga T, Okumura K, Tsunoda R, Tayama S, Tabuchi T, Yasue H. Role of adenosine in regulation of coronary flow in dogs with inhibited synthesis of endothelium-derived nitric oxide. *Am J Physiol* 1996; 270:H427-H434.
180. Kersten JR, Brooks LA, Dellsperger KC. Impaired microvascular response to graded coronary occlusion in diabetic and hyperglycemic dogs. *Am J Physiol* 1995; 268:H1667-H1674.
181. Opherck D, Schwarz F, Mall G, Manthey J, Baller D, Kubler W. Coronary dilatory capacity in idiopathic dilated cardiomyopathy: analysis of 16 patients. *Am J Cardiol* 1983; 51:1657-62.
182. Tesfamariam B, Brown ML, Deykin D, Cohen RA. Elevated glucose promotes generation of endothelium-derived vasoconstrictor prostanoids in rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990; 85:929-32.
183. Langenstroer P, Pieper GM. Regulation of spontaneous EDRF release in diabetic rat aorta by oxygen free radicals. *Am J Physiol* 1992; 263:H257-H265.
184. Parodi O, De MR, Oltrona L, et al. Myocardial blood flow distribution in patients with ischemic heart disease or dilated cardiomyopathy undergoing heart transplantation. *Circulation* 1993; 88:509-22.
185. Magorien RD, Unverferth DV, Brown GP, Leier CV. Dobutamine and hydralazine: comparative influences of positive inotropy and vasodilation on coronary blood flow and myocardial energetics in nonischemic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1:499-505.
186. Cannon RO, III, Cunnion RE, Parrillo JE, et al. Dynamic limitation of coronary vasodilator reserve in patients with dilated cardiomyopathy and chest pain. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10:1190-200.
187. Main ML, Grayburn PA. Clinical applications of transpulmonary contrast echocardiography. *Am Heart J* 1999; 137:144-53.
188. Mulvagh SL, DeMaria AN, Feinstein SB, et al. Contrast echocardiography: current and future applications. *J Am Soc Echocardiogr* 2000; 13:331-42.
189. Leischik R, Kuhlmann C, Bruch C, Jeremias A, Buck T, Erbel R. Reproducibility of stress echocardiography using intravenous injection of ultrasound contrast agent (BY 963). *Int J Card Imaging* 1997; 13:387-94.
190. Lafitte S, Dos SP, Kerouani A, Robhan T, Roudaut R. Improved reliability for echocardiographic measurement of left ventricular volume using harmonic power imaging mode combined with contrast agent. *Am J Cardiol* 2000; 85:1234-8.
191. Thomson HL, Basmadjian AJ, Rainbird AJ, et al. Contrast echocardiography improves the accuracy and reproducibility of left ventricular remodeling measurements: a prospective, randomly assigned, blinded study. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:867-75.
192. Crouse LJ, Cheirif J, Hanly DE, et al. Opacification and border delineation improvement in patients with suboptimal endocardial border definition in routine echocardiography: results of the Phase III Albunex Multicenter Trial. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22:1494-500.

193. Thanigaraj S, Chugh R, Schechtman KB, Lee LV, Wade RL, Perez JE. Defining left ventricular segmental and global function by echocardiographic intraventricular contrast flow patterns. *Am J Cardiol* 2000; 85:65-8.
194. Carroll BA, Turner RJ, Tickner EG, Boyle DB, Young SW. Gelatin encapsulated nitrogen microbubbles as ultrasonic contrast agents. *Invest Radiol* 1980; 15:260-6.
195. Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol* 1968; 3:356-66.
196. Moore CA, Smucker ML, Kaul S. Myocardial contrast echocardiography in humans: I. Safety--a comparison with routine coronary arteriography. *J Am Coll Cardiol* 1986; 8:1066-72.
197. Gillam LD, Kaul S, Fallon JT, et al. Functional and pathologic effects of multiple echocardiographic contrast injections on the myocardium, brain and kidney. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6:687-94.
198. Kaul S. Myocardial contrast echocardiography. *Curr Probl Cardiol* 1997; 22:549-635.
199. Kaul S. New developments in ultrasound systems for contrast echocardiography. *Clin Cardiol* 1997; 20:I27-I30.
200. Christiansen C, Kryvi H, Sontum PC, Skotland T. Physical and biochemical characterization of Alunex, a new ultrasound contrast agent consisting of air-filled albumin microspheres suspended in a solution of human albumin. *Biotechnol Appl Biochem* 1994; 19 (Pt 3):307-20.
201. De JN, Hoff L. Ultrasound scattering properties of Alunex microspheres. *Ultrasonics* 1993; 31:175-81.
202. Jayaweera AR, Edwards N, Glasheen WP, Villanueva FS, Abbott RD, Kaul S. In vivo myocardial kinetics of air-filled albumin microbubbles during myocardial contrast echocardiography. Comparison with radiolabeled red blood cells. *Circ Res* 1994; 74:1157-65.
203. Fisher NG, Christiansen JP, Klibanov A, Taylor RP, Kaul S, Lindner JR. Influence of microbubble surface charge on capillary transit and myocardial contrast enhancement. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40:811-9.
204. Skyba DM, Price RJ, Linka AZ, Skalak TC, Kaul S. Direct in vivo visualization of intravascular destruction of microbubbles by ultrasound and its local effects on tissue. *Circulation* 1998; 98:290-3.
205. Song J, Qi M, Kaul S, Price RJ. Stimulation of arteriogenesis in skeletal muscle by microbubble destruction with ultrasound. *Circulation* 2002; 106:1550-5.
206. Keller MW, Glasheen W, Kaul S. Alunex: a safe and effective commercially produced agent for myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1989; 2:48-52.
207. Knebel F, Schimke I, Eddicks S, et al. Does contrast echocardiography induce increases in markers of myocardial necrosis, inflammation and oxidative stress suggesting myocardial injury? *Cardiovasc Ultrasound* 2005; 3:21.
208. Soman P, Lahiri A, Senior R. Safety of an intravenous second generation contrast agent in patients with severe left ventricular dysfunction. *Heart* 2000; 84:634-5.
209. Wei K, Skyba DM, Firschke C, Jayaweera AR, Lindner JR, Kaul S. Interactions between microbubbles and ultrasound: in vitro and in vivo observations. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29:1081-8.
210. Schwarz KQ, Chen X, Bezante GP, Phillips D, Schlieff R. The Doppler kinetics of microbubble echo contrast. *Ultrasound Med Biol* 1996; 22:453-62.
211. Beppu S. [Levovist]. *Nippon Rinsho* 1998; 56:876-80.
212. Fritzsche T, Hilmann J, Kampfe M, Muller N, Schobel C, Siegert J. SHU 508, a transpulmonary echocontrast agent: initial experience. *Invest Radiol* 1990; 25 Suppl 1:S160-S161.
213. Schlieff R, Schurman R, Niendorf HP. Basic properties and results of clinical trials of ultrasound contrast agents based on galactose. *Ann Acad Med Singapore* 1993; 22:762-7.
214. Schwarz KQ, Becher H, Schimpfky C, Vorwerk D, Bogdahn U, Schlieff R. Doppler enhancement with SH U 508A in multiple vascular regions. *Radiology* 1994; 193:195-201.
215. Kasprzak JD, ten Cate FJ. New ultrasound contrast agents for left ventricular and myocardial opacification. *Herz* 1998; 23:474-82.
216. Masuyama T, Yamamoto K, Kondo H, et al. [Intravenous contrast echocardiography]. *J Cardiol* 2000; 35 Suppl 1:23-9.
217. Skyba DM, Camarano G, Goodman NC, Price RJ, Skalak TC, Kaul S. Hemodynamic characteristics, myocardial kinetics and microvascular rheology of FS-069, a second-generation echocardiographic contrast agent capable of producing myocardial opacification from a venous injection. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:1292-300.
218. Shaw LJ, Dittrich HC. Use of intravenous Optison contrast echocardiography reduces downstream resource use and enhances cost savings. *Acad Radiol* 1998; 5 Suppl 1:S250-S251.

219. Hutter JC, Luu HM, Mehlhaff PM, Killam AL, Dittrich HC. Physiologically based pharmacokinetic model for fluorocarbon elimination after the administration of an octafluoropropane-albumin microsphere sonographic contrast agent. *J Ultrasound Med* 1999; 18:1-11.
220. Mychaskiw G, Badr AE, Tibbs R, Clower BR, Zhang JH. Optison (FS069) disrupts the blood-brain barrier in rats. *Anesth Analg* 2000; 91:798-803.
221. Schneider M. SonoVue, a new ultrasound contrast agent. *Eur Radiol* 1999; 9 Suppl 3:S347-S348.
222. Bokor D. Diagnostic efficacy of SonoVue. *Am J Cardiol* 2000; 86:19G-24G.
223. Schneider M. Design of an ultrasound contrast agent for myocardial perfusion. *Echocardiography* 2000; 17:S11-S16.
224. De JN, Bouakaz A, Frinking P. Basic acoustic properties of microbubbles. *Echocardiography* 2002; 19:229-40.
225. Kollmann C, Putzer M. [Ultrasound contrast agents--physical basics]. *Radiologe* 2005; 45:503-12.
226. Burns PN. Overview of echo-enhanced vascular ultrasound imaging for clinical diagnosis in neurosonology. *J Neuroimaging* 1997; 7 Suppl 1:S2-14.
227. Burns PN. Instrumentation for contrast echocardiography. *Echocardiography* 2002; 19:241-58.
228. Chin CT, Burns PN. Predicting the acoustic response of a microbubble population for contrast imaging in medical ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2000; 26:1293-300.
229. Wilson SR, Burns PN. Microbubble contrast for radiological imaging: 2. Applications. *Ultrasound Q* 2006; 22:15-8.
230. Meza MF, Mobarek S, Sonnemaker R, et al. Myocardial contrast echocardiography in human beings: correlation of resting perfusion defects to sestamibi single photon emission computed tomography. *Am Heart J* 1996; 132:528-35.
231. Firschke C, Lindner JR, Goodman NC, Skyba DM, Wei K, Kaul S. Myocardial contrast echocardiography in acute myocardial infarction using aortic root injections of microbubbles in conjunction with harmonic imaging: potential application in the cardiac catheterization laboratory. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29:207-16.
232. Bevan PD, Karshafian R, Tickner EG, Burns PN. Quantitative measurement of ultrasound disruption of polymer-shelled microbubbles. *Ultrasound Med Biol* 2007.
233. Mine Y. [Harmonic imaging]. *Nippon Rinsho* 1998; 56:881-5.
234. Chen S, Kinnick R, Greenleaf JF, Fatemi M. Difference frequency and its harmonic emitted by microbubbles under dual frequency excitation. *Ultrasonics* 2006; 44 Suppl 1:e123-e126.
235. Tiemann K, Becher H, Bimmel D, Schlieff R, Nanda NC. Stimulated Acoustic Emission Nonbackscatter Contrast Effect of Microbubbles Seen with Harmonic Power Doppler Imaging. *Echocardiography* 1997; 14:65-70.
236. Irvine T, Wanitkun S, Powers J, Shiota T, Kenny A, Sahn DJ. Acoustically stimulated transient power scattering explains enhanced detection of the very low velocities in myocardial capillaries by power Doppler imaging: an in vitro study. *J Am Soc Echocardiogr* 1999; 12:643-9.
237. Senior R, Kaul S, Soman P, Lahiri A. Power doppler harmonic imaging: a feasibility study of a new technique for the assessment of myocardial perfusion. *Am Heart J* 2000; 139:245-51.
238. Senda S, Ohmori K, Ueeda M. [Newly developed technology for intravenous contrast echocardiography]. *J Cardiol* 2000; 35 Suppl 1:31-6.
239. Sieswerda GT, Yang L, Boo MB, Kamp O. Real-time perfusion imaging: a new echocardiographic technique for simultaneous evaluation of myocardial perfusion and contraction. *Echocardiography* 2003; 20:545-55.
240. Wells PN. Ultrasound imaging. *J Biomed Eng* 1988; 10:548-54.
241. Phillips P, Gardner E. Contrast-agent detection and quantification. *Eur Radiol* 2004; 14 Suppl 8:4-10.
242. Sonne C, Xie F, Lof J, et al. Differences in definity and optison microbubble destruction rates at a similar mechanical index with different real-time perfusion systems. *J Am Soc Echocardiogr* 2003; 16:1178-85.
243. Kisanuki A, Yuasa T, Kuwahara E, et al. Reproducibility of intravenous intermittent triggered myocardial contrast echocardiography in healthy subjects. *Jpn Heart J* 2004; 45:461-73.
244. Ay T, D'Hondt AM, Pasquet A, Melin JA, Vanoverschelde JL. Heterogeneity of contrast effect during intermittent second harmonic myocardial contrast echocardiography in healthy patients. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; 15:1448-52.
245. Sieswerda GT, Kamp O, van den ER, Visser CA. Intermittent harmonic imaging and videodensitometry significantly enhance ability of intravenous air-filled ultrasonographic contrast agent to produce ventricular and myocardial opacification. *J Am Soc Echocardiogr* 2001; 14:20-8.

246. Porter TR, Li S, Jiang L, Grayburn P, Deligonul U. Real-time visualization of myocardial perfusion and wall thickening in human beings with intravenous ultrasonographic contrast and accelerated intermittent harmonic imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 1999; 12:266-71.
247. Porter TR, Li S, Kilzer K. Smaller intravenous perfluorocarbon-containing microbubbles produce greater myocardial contrast with intermittent harmonic imaging and better delineation of risk area during acute myocardial ischemia. *J Am Soc Echocardiogr* 1997; 10:792-7.
248. Yang L. Real-time myocardial contrast echocardiography and its applications in evaluation for coronary artery disease. *Chin Med J (Engl)* 2004; 117:1388-94.
249. Elhendy A, Porter TR. Assessment of myocardial perfusion with real-time myocardial contrast echocardiography: methodology and clinical applications. *J Nucl Cardiol* 2005; 12:582-90.
250. Dijkmans PA, Senior R, Becher H, et al. Myocardial contrast echocardiography evolving as a clinically feasible technique for accurate, rapid, and safe assessment of myocardial perfusion: the evidence so far. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48:2168-77.
251. Ismail S, Jayaweera AR, Camarano G, Gimble LW, Powers ER, Kaul S. Relation between air-filled albumin microbubble and red blood cell rheology in the human myocardium. Influence of echocardiographic systems and chest wall attenuation. *Circulation* 1996; 94:445-51.
252. Sheil ML, Kaul S, Spotnitz WD. Myocardial contrast echocardiography: development, applications, and future directions. *Acad Radiol* 1996; 3:260-75.
253. Sabia PJ, Powers ER, Jayaweera AR, Ragosta M, Kaul S. Functional significance of collateral blood flow in patients with recent acute myocardial infarction. A study using myocardial contrast echocardiography. *Circulation* 1992; 85:2080-9.
254. Schrope BA, Newhouse VL. Second harmonic ultrasonic blood perfusion measurement. *Ultrasound Med Biol* 1993; 19:567-79.
255. Lepper W, Hoffmann R, Kamp O, et al. Assessment of myocardial reperfusion by intravenous myocardial contrast echocardiography and coronary flow reserve after primary percutaneous transluminal coronary angioplasty [correction of angiography] in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101:2368-74.
256. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Basis for detection of stenosis using venous administration of microbubbles during myocardial contrast echocardiography: bolus or continuous infusion? *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:252-60.
257. Jayaweera AR, Wei K, Coggins M, Bin JP, Goodman C, Kaul S. Role of capillaries in determining CBF reserve: new insights using myocardial contrast echocardiography. *Am J Physiol* 1999; 277:H2363-H2372.
258. Coucelo J, Azevedo J, Silva F, Soares L, Arroja I, Aleixo A. Ecocardiografia de Contraste em Tempo Real e Perfusão Miocárdica. Análise Comparativa Entre Dois Métodos Alternativos de Quantificação. *Revista Portuguesa de Cardiologia* 2005; 24:I-130.
259. Ballani N, Dougherty G. The effect of finite spatial resolution on the measurement of cardiac phantom wall thickness in single photon emission computerized tomographic imaging. *Med Princ Pract* 2004; 13:316-24.
260. Tsutsui JM, Elhendy A, Anderson JR, Xie F, McGrain AC, Porter TR. Prognostic value of dobutamine stress myocardial contrast perfusion echocardiography. *Circulation* 2005; 112:1444-50.
261. Senior R, Lepper W, Pasquet A, et al. Myocardial perfusion assessment in patients with medium probability of coronary artery disease and no prior myocardial infarction: comparison of myocardial contrast echocardiography with ^{99m}Tc single-photon emission computed tomography. *Am Heart J* 2004; 147:1100-5.
262. Tsutsui JM, Xie F, O'Leary EL, et al. Diagnostic accuracy and prognostic value of dobutamine stress myocardial contrast echocardiography in patients with suspected acute coronary syndromes. *Echocardiography* 2005; 22:487-95.
263. Korosoglou G, Dubart AE, DaSilva KG, Jr., et al. Real-time myocardial perfusion imaging for pharmacologic stress testing: added value to single photon emission computed tomography. *Am Heart J* 2006; 151:131-8.
264. Xie F, Tsutsui JM, McGrain AC, et al. Comparison of dobutamine stress echocardiography with and without real-time perfusion imaging for detection of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005; 96:506-11.
265. Levin DC. Pathways and functional significance of the coronary collateral circulation. *Circulation* 1974; 50:831-7.
266. Kaul S, Pandian NG, Guerrero JL, Gillam LD, Okada RD, Weyman AE. Effects of selectively altering collateral driving pressure on regional perfusion and function in occluded coronary bed in the dog. *Circ Res* 1987; 61:77-85.
267. Piek JJ, Becker AE. Collateral blood supply to the myocardium at risk in human myocardial infarction: a quantitative postmortem assessment. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11:1290-6.

268. Kaul S, Pandian NG, Okada RD, Pohost GM, Weyman AE. Contrast echocardiography in acute myocardial ischemia: I. In vivo determination of total left ventricular "area at risk". *J Am Coll Cardiol* 1984; 4:1272-82.
269. Kaul S, Gillam LD, Weyman AE. Contrast echocardiography in acute myocardial ischemia. II. The effect of site of injection of contrast agent on the estimation of area at risk for necrosis after coronary occlusion. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6:825-30.
270. Kamp O, Lepper W, Vanoverschelde JL, et al. Serial evaluation of perfusion defects in patients with a first acute myocardial infarction referred for primary PTCA using intravenous myocardial contrast echocardiography. *Eur Heart J* 2001; 22:1485-95.
271. Moir S, Haluska B, Leung D, Lim R, Garrahy P, Marwick TH. Quantitative myocardial contrast echocardiography for prediction of thrombolysis in myocardial infarction flow in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004; 93:1212-7.
272. Ito H, Tomooka T, Sakai N, et al. Lack of myocardial perfusion immediately after successful thrombolysis. A predictor of poor recovery of left ventricular function in anterior myocardial infarction. *Circulation* 1992; 85:1699-705.
273. Bolognese L, Antonucci D, Rovai D, et al. Myocardial contrast echocardiography versus dobutamine echocardiography for predicting functional recovery after acute myocardial infarction treated with primary coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:1677-83.
274. Porter TR, Li S, Oster R, Deligonul U. The clinical implications of no reflow demonstrated with intravenous perfluorocarbon containing microbubbles following restoration of Thrombolysis In Myocardial Infarction (TIMI) 3 flow in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1998; 82:1173-7.
275. Bolognese L, Carrabba N, Parodi G, et al. Impact of microvascular dysfunction on left ventricular remodeling and long-term clinical outcome after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109:1121-6.
276. Balcells E, Powers ER, Lepper W, et al. Detection of myocardial viability by contrast echocardiography in acute infarction predicts recovery of resting function and contractile reserve. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:827-33.
277. Senior R, Kaul S, Lahiri A. Myocardial viability on echocardiography predicts long-term survival after revascularization in patients with ischemic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:1848-54.
278. Pasquet A, Robert A, D'Hondt AM, Dion R, Melin JA, Vanoverschelde JL. Prognostic value of myocardial ischemia and viability in patients with chronic left ventricular ischemic dysfunction. *Circulation* 1999; 100:141-8.
279. Afridi I, Grayburn PA, Panza JA, Oh JK, Zoghbi WA, Marwick TH. Myocardial viability during dobutamine echocardiography predicts survival in patients with coronary artery disease and severe left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:921-6.
280. Coucelo J, Baptista J, Soares L, Palos J, Seabra-Gomes R. Cálculo da Reserva Coronária da Descendente Anterior por Ecocardiografia Transtorácica e por Doppler Intracoronário. *Revista Portuguesa de Cardiologia* 2001; 19.
281. Coucelo J, Pereira J, Soares L, Felizardo A, Azevedo J, Aleixo A. Ecocardiografia de Perfusão do Miocárdio em Tempo Real e Reserva Coronária da Artéria Descendente Anterior. *Revista Portuguesa de Cardiologia* 2001; 19.
282. Kaul S. Coronary angiography cannot be used to assess myocardial perfusion in patients undergoing reperfusion for acute myocardial infarction. *Heart* 2001; 86:483-4.
283. Appleby MA, Angeja BG, Dauterman K, Gibson CM. Angiographic assessment of myocardial perfusion: TIMI myocardial perfusion (TMP) grading system. *Heart* 2001; 86:485-6.
284. Fusejima K. Noninvasive measurement of coronary artery blood flow using combined two-dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10:1024-31.
285. Memmola C, Iliceto S, Napoli VF, Cavallari D, Santoro G, Rizzon P. Coronary flow dynamics and reserve assessed by transesophageal echocardiography in obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1994; 74:1147-51.
286. Hozumi T, Yoshida K, Akasaka T, et al. Noninvasive assessment of coronary flow velocity and coronary flow velocity reserve in the left anterior descending coronary artery by Doppler echocardiography: comparison with invasive technique. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:1251-9.
287. Caiati C, Montaldo C, Zedda N, et al. Validation of a new noninvasive method (contrast-enhanced transthoracic second harmonic echo Doppler) for the evaluation of coronary flow reserve: comparison with intracoronary Doppler flow wire. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:1193-200.

288. Hozumi T, Yoshida K, Ogata Y, et al. Noninvasive assessment of significant left anterior descending coronary artery stenosis by coronary flow velocity reserve with transthoracic color Doppler echocardiography. *Circulation* 1998; 97:1557-62.
289. Skolidis EI, Kochiadakis GE, Koukouraki SI, Parthenakis FI, Karkavitsas NS, Vardas PE. Phasic coronary flow pattern and flow reserve in patients with left bundle branch block and normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:1338-46.
290. Akasaka T, Yoshida K, Hozumi T, et al. Retinopathy identifies marked restriction of coronary flow reserve in patients with diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30:935-41.
291. Hamasaki S, Al SJ, Higano ST, Miyauchi K, Holmes DR, Jr., Lerman A. Attenuated coronary flow reserve and vascular remodeling in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:1654-60.
292. Reis SE, Holubkov R, Lee JS, et al. Coronary flow velocity response to adenosine characterizes coronary microvascular function in women with chest pain and no obstructive coronary disease. Results from the pilot phase of the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:1469-75.
293. Senior R, Kaul S, Soman P, Lahiri A. Power doppler harmonic imaging: a feasibility study of a new technique for the assessment of myocardial perfusion. *Am Heart J* 2000; 139:245-51.
294. Wei K, Ragosta M, Thorpe J, Coggins M, Moos S, Kaul S. Noninvasive quantification of coronary blood flow reserve in humans using myocardial contrast echocardiography. *Circulation* 2001; 103:2560-5.
295. Leong-Poi H, Le E, Rim SJ, Sakuma T, Kaul S, Wei K. Quantification of myocardial perfusion and determination of coronary stenosis severity during hyperemia using real-time myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2001; 14:1173-82.
296. Piwnicka-Worms D, Kronauge JF, Chiu ML. Uptake and retention of hexakis (2-methoxyisobutyl isonitrile) technetium(I) in cultured chick myocardial cells. Mitochondrial and plasma membrane potential dependence. *Circulation* 1990; 82:1826-38.
297. Gould KL, Hamilton GW, Lipscomb K, Ritchie JL, Kennedy JW. Method for assessing stress-induced regional malperfusion during coronary arteriography. Experimental validation and clinical application. *Am J Cardiol* 1974; 34:557-64.
298. Villanueva FS, Camarano G, Ismail S, Goodman NC, Sklenar J, Kaul S. Coronary reserve abnormalities in the infarcted myocardium. Assessment of myocardial viability immediately versus late after reflow by contrast echocardiography. *Circulation* 1996; 94:748-54.
299. Glover DK, Ruiz M, Edwards NC, et al. Comparison between 201Tl and 99mTc sestamibi uptake during adenosine-induced vasodilation as a function of coronary stenosis severity. *Circulation* 1995; 91:813-20.
300. Sinusas AJ, Trautman KA, Bergin JD, et al. Quantification of area at risk during coronary occlusion and degree of myocardial salvage after reperfusion with technetium-99m methoxyisobutyl isonitrile. *Circulation* 1990; 82:1424-37.
301. Kaul S, Senior R, Dittrich H, Raval U, Khattar R, Lahiri A. Detection of coronary artery disease with myocardial contrast echocardiography: comparison with 99mTc-sestamibi single-photon emission computed tomography. *Circulation* 1997; 96:785-92.
302. Olszowska M, Tracz W, Przewlocki T, et al. The value of myocardial contrast echocardiography compared with SPECT in detecting myocardial perfusion abnormalities in patients with anterior acute myocardial infarction. *Kardiol Pol* 2004; 60:27-38.
303. Caiati C, Zedda N, Montaldo C, Montisci R, Iliceto S. Contrast-enhanced transthoracic second harmonic echo Doppler with adenosine: a noninvasive, rapid and effective method for coronary flow reserve assessment. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:122-30.
304. Lambertz H, Tries HP, Stein T, Lethen H. Noninvasive assessment of coronary flow reserve with transthoracic signal-enhanced Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1999; 12:186-95.
305. Hozumi T, Akasaka T, Yoshida K, Yoshikawa J. Noninvasive estimation of coronary flow reserve by transthoracic Doppler echocardiography with a high-frequency transducer. *J Cardiol* 2001; 37 Suppl 1:43-50.
306. Lethen H, Tries HP, Brechtken J, Kersting S, Lambertz H. Comparison of transthoracic Doppler echocardiography to intracoronary Doppler guidewire measurements for assessment of coronary flow reserve in the left anterior descending artery for detection of restenosis after coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 2003; 91:412-7.
307. Pizzuto F, Voci P, Mariano E, Puddu PE, Chiavari PA, Romeo F. Noninvasive coronary flow reserve assessed by transthoracic coronary Doppler ultrasound in patients with left anterior descending coronary artery stents. *Am J Cardiol* 2003; 91:522-6.

308. Lethen H, Tries P, Kersting S, Lambertz H. Validation of noninvasive assessment of coronary flow velocity reserve in the right coronary artery. A comparison of transthoracic echocardiographic results with intracoronary Doppler flow wire measurements. *Eur Heart J* 2003; 24:1567-75.
309. Takeuchi M, Ogawa K, Wake R, et al. Measurement of coronary flow velocity reserve in the posterior descending coronary artery by contrast-enhanced transthoracic Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2004; 17:21-7.
310. Caiati C, Cioglia G, Montaldo C, et al. Correlation of 99mTc-sestamibi SPECT myocardial perfusion imaging with absolute coronary flow reserve by a new noninvasive Doppler method in patients with stenoses of the left anterior descending coronary artery. A preliminary report. *Cardiologia* 1999; 44:809-16.
311. Carrinho M, Moraes A, Morcerf F, Medeiros C, Castier M, Romeo LJ. Myocardial contrast echocardiography in patients with suspected or known coronary artery disease: comparison with myocardial nuclear scintigraphy. *Arq Bras Cardiol* 2004; 83:419-23.
312. Heinle SK, Noblin J, Goree-Best P, et al. Assessment of myocardial perfusion by harmonic power Doppler imaging at rest and during adenosine stress: comparison with (99m)Tc-sestamibi SPECT imaging. *Circulation* 2000; 102:55-60.
313. Ronderos RE, Boskis M, Chung N, et al. Correlation between myocardial perfusion abnormalities detected with intermittent imaging using intravenous perfluorocarbon microbubbles and radioisotope imaging during high-dose dipyridamole stress echo. *Clin Cardiol* 2002; 25:103-11.
314. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 1974; 54:1496-508.
315. Kloner RA, Rude RE, Carlson N, Maroko PR, DeBoer LW, Braunwald E. Ultrastructural evidence of microvascular damage and myocardial cell injury after coronary artery occlusion: which comes first? *Circulation* 1980; 62:945-52.
316. Hayat SA, Janardhanan R, Moon JC, Pennell DJ, Senior R. Comparison between myocardial contrast echocardiography and single-photon emission computed tomography for predicting transmural extent of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2006; 97:1718-21.
317. Janardhanan R, Burden L, Senior R. Usefulness of myocardial contrast echocardiography in predicting collateral blood flow in the presence of a persistently occluded acute myocardial infarction-related coronary artery. *Am J Cardiol* 2004; 93:1207-11.
318. Senior R, Kaul S, Raval U, Lahiri A. Impact of revascularization and myocardial viability determined by nitrate-enhanced Tc-99m sestamibi and Tl-201 imaging on mortality and functional outcome in ischemic cardiomyopathy. *J Nucl Cardiol* 2002; 9:454-62.
319. Kannel WB, Castelli WP, McNamara PM, McKee PA, Feinleib M. Role of blood pressure in the development of congestive heart failure. The Framingham study. *N Engl J Med* 1972; 287:781-7.
320. Kannel WB, Gordon T, Castelli WP, Margolis JR. Electrocardiographic left ventricular hypertrophy and risk of coronary heart disease. The Framingham study. *Ann Intern Med* 1970; 72:813-22.
321. Kannel WB, Gordon T, Offutt D. Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study. *Ann Intern Med* 1969; 71:89-105.
322. Kannel WB, Doyle JT, McNamara PM, Quickenton P, Gordon T. Precursors of sudden coronary death. Factors related to the incidence of sudden death. *Circulation* 1975; 51:606-13.
323. Liebson PR, Grandits G, Prineas R, et al. Echocardiographic correlates of left ventricular structure among 844 mildly hypertensive men and women in the Treatment of Mild Hypertension Study (TOMHS). *Circulation* 1993; 87:476-86.
324. Frohlich ED. Current issues in hypertension. Old questions with new answers and new questions. *Med Clin North Am* 1992; 76:1043-56.
325. Devereux RB. Is the electrocardiogram still useful for detection of left ventricular hypertrophy? *Circulation* 1990; 81:1144-6.
326. Coucelo J, Soares L, Coucelo P, Azevedo J. Ecocardiografia no Diagnóstico da Hipertrofia Ventricular Esquerda. *Revista Portuguesa de Cardiologia* 2006; 25:I-53.
327. Norman JE, Jr., Levy D. Improved electrocardiographic detection of echocardiographic left ventricular hypertrophy: results of a correlated data base approach. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26:1022-9.
328. De Vries SO, Heesen WF, Beltman FW, et al. Prediction of the left ventricular mass from the electrocardiogram in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1996; 77:974-8.
329. Tomanek RJ, Palmer PJ, Peiffer GL, Schreiber KL, Eastham CL, Marcus ML. Morphometry of canine coronary arteries, arterioles, and capillaries during hypertension and left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1986; 58:38-46.

330. Abergel E, Tase M, Bohlender J, Menard J, Chatellier G. Which definition for echocardiographic left ventricular hypertrophy? *Am J Cardiol* 1995; 75:498-502.
331. Krumholz HM, Larson M, Levy D. Prognosis of left ventricular geometric patterns in the Framingham Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25:879-84.
332. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation* 2000; 102:470-9.
333. Gu JW, Fortepiani LA, Reckelhoff JF, Adair TH, Wang J, Hall JE. Increased expression of vascular endothelial growth factor and capillary density in hearts of spontaneously hypertensive rats. *Microcirculation* 2004; 11:689-97.
334. Kannel WB, Wilson PW, Zhang TJ. The epidemiology of impaired glucose tolerance and hypertension. *Am Heart J* 1991; 121:1268-73.
335. Rodriguez-Portel M, Lerman LO, Herrmann J, Sawamura T, Napoli C, Lerman A. Hypercholesterolemia and hypertension have synergistic deleterious effects on coronary endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:885-91.
336. Rodriguez-Portel M, Herrman J, Chade AR, et al. Long-term antioxidant intervention improves myocardial microvascular function in experimental hypertension. *Hypertension* 2004; 43:493-8.
337. Rodriguez-Portel M, Zhu XY, Chade AR, et al. Functional and structural remodeling of the myocardial microvasculature in early experimental hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290:H978-H984.
338. Galderisi M, De SG, Cicala S, et al. Coronary flow reserve in hypertensive patients with appropriate or inappropriate left ventricular mass. *J Hypertens* 2003; 21:2183-8.
339. Daniels SD, Meyer RA, Loggie JM. Determinants of cardiac involvement in children and adolescents with essential hypertension. *Circulation* 1990; 82:1243-8.
340. Laine H, Raitakari OT, Niinikoski H, et al. Early impairment of coronary flow reserve in young men with borderline hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:147-53.
341. Cannon RO, III, Bonow RO, Bacharach SL, et al. Left ventricular dysfunction in patients with angina pectoris, normal epicardial coronary arteries, and abnormal vasodilator reserve. *Circulation* 1985; 71:218-26.
342. Nishikimi T, Yoshihara F, Morimoto A, et al. Relationship between left ventricular geometry and natriuretic peptide levels in essential hypertension. *Hypertension* 1996; 28:22-30.
343. Choudhury L, Rosen SD, Patel D, Nihoyannopoulos P, Camici PG. Coronary vasodilator reserve in primary and secondary left ventricular hypertrophy. A study with positron emission tomography. *Eur Heart J* 1997; 18:108-16.
344. Schafer S, Kelm M, Mingers S, Strauer BE. Left ventricular remodeling impairs coronary flow reserve in hypertensive patients. *J Hypertens* 2002; 20:1431-7.
345. Akinboboye OO, Chou RL, Bergmann SR. Myocardial blood flow and efficiency in concentric and eccentric left ventricular hypertrophy. *Am J Hypertens* 2004; 17:433-8.
346. Levy BI, Duriez M, Samuel JL. Coronary microvasculature alteration in hypertensive rats. Effect of treatment with a diuretic and an ACE inhibitor. *Am J Hypertens* 2001; 14:7-13.
347. Kubis N, Richer C, Domergue V, Giudicelli JF, Levy BI. Role of microvascular rarefaction in the increased arterial pressure in mice lacking for the endothelial nitric oxide synthase gene (eNOS3pt^{-/-}). *J Hypertens* 2002; 20:1581-7.
348. Galderisi M, Cicala S, Caso P, et al. Coronary flow reserve and myocardial diastolic dysfunction in arterial hypertension. *Am J Cardiol* 2002; 90:860-4.
349. Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation* 2002; 105:1387-93.
350. Galderisi M, Cicala S, De SL, et al. Impact of myocardial diastolic dysfunction on coronary flow reserve in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *Ital Heart J* 2001; 2:677-84.
351. Krams R, Kofflard MJ, Duncker DJ, et al. Decreased coronary flow reserve in hypertrophic cardiomyopathy is related to remodeling of the coronary microcirculation. *Circulation* 1998; 97:230-3.
352. Yokohama H, Matsumoto T, Horie H, Minai K, Kinoshita M. Coronary endothelium-dependent and independent vasomotor responses in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circ J* 2002; 66:30-4.
353. Gimelli A, Schneider-Eicke J, Neglia D, et al. Homogeneously reduced versus regionally impaired myocardial blood flow in hypertensive patients: two different patterns of myocardial perfusion associated with degree of hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31:366-73.
354. Marcus ML, Doty DB, Hiratzka LF, Wright CB, Eastham CL. Decreased coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. *N Engl J Med* 1982; 307:1362-6.

355. Kupari M, Virtanen KS, Turto H, et al. Exclusion of coronary artery disease by exercise thallium-201 tomography in patients with aortic valve stenosis. *Am J Cardiol* 1992; 70:635-40.
356. Morrison GW, Thomas RD, Grimmer SF, Silverton PN, Smith DR. Incidence of coronary artery disease in patients with valvular heart disease. *Br Heart J* 1980; 44:630-7.
357. Baroni M, Maffei S, Terrazzi M, Palmieri C, Paoli F, Biagini A. Mechanisms of regional ischaemic changes during dipyridamole echocardiography in patients with severe aortic valve stenosis and normal coronary arteries. *Heart* 1996; 75:492-7.
358. Hess OM, Villari B, Krayenbuehl HP. Diastolic dysfunction in aortic stenosis. *Circulation* 1993; 87:IV73-IV76.
359. Isaz K, Bruntz JF, Paris D, Ethevenot G, Aliot E. Abnormal coronary flow velocity pattern in patients with left ventricular hypertrophy, angina pectoris, and normal coronary arteries: a transesophageal Doppler echocardiographic study. *Am Heart J* 1994; 128:500-10.
360. Julius BK, Spillmann M, Vassalli G, Villari B, Eberli FR, Hess OM. Angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. Mechanisms and pathophysiological concepts. *Circulation* 1997; 95:892-8.
361. Omran H, Fehske W, Rabahieh R, Hagendorff A, Luderitz B. Relation between symptoms and profiles of coronary artery blood flow velocities in patients with aortic valve stenosis: a study using transoesophageal Doppler echocardiography. *Heart* 1996; 75:377-83.
362. Schwartzkopff B, Frenzel H, Dieckerhoff J, et al. Morphometric investigation of human myocardium in arterial hypertension and valvular aortic stenosis. *Eur Heart J* 1992; 13 Suppl D:17-23.
363. Vassalli G, Kaufmann P, Villari B, et al. Reduced epicardial coronary vasodilator capacity in patients with left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1995; 91:2916-23.
364. Villari B, Hess OM, Moccetti D, Vassalli G, Krayenbuehl HP. Effect of progression of left ventricular hypertrophy on coronary artery dimensions in aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20:1073-9.
365. Irvine T, Kenny A. Aortic stenosis and angina with normal coronary arteries: the role of coronary flow abnormalities. *Heart* 1997; 78:213-4.
366. De GC, Recupero A, Grimaldi P, Coglitore S. Noninvasive assessment of intramyocardial coronary flow in hypertrophic cardiomyopathy by high-resolution Doppler echocardiography. *Ital Heart J* 2002; 3:615-9.
367. Cecchi F, Olivotto I, Gistri R, Lorenzoni R, Chiriatti G, Camici PG. Coronary microvascular dysfunction and prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2003; 349:1027-35.
368. Akasaka T, Yoshikawa J, Yoshida K, Maeda K, Takagi T, Miyake S. Phasic coronary flow characteristics in patients with hypertrophic cardiomyopathy: a study by coronary Doppler catheter. *J Am Soc Echocardiogr* 1994; 7:9-19.
369. Minagoe S. Transthoracic Doppler echocardiographic assessment of left anterior descending coronary artery and intramyocardial small coronary artery flow in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiol* 2001; 37 Suppl 1:115-20.
370. De GC, Micari A, Grimaldi P, Bragadeesh T, Arrigo F, Coglitore S. Behavior of both epicardial and intramural coronary artery flow velocities in various models of myocardial hypertrophy: role for left ventricular outflow tract obstruction. *Am Heart J* 2005; 149:1091-8.
371. Cannon RO, III, Rosing DR, Maron BJ, et al. Myocardial ischemia in patients with hypertrophic cardiomyopathy: contribution of inadequate vasodilator reserve and elevated left ventricular filling pressures. *Circulation* 1985; 71:234-43.
372. Cannon RO, III, Schenke WH, Maron BJ, et al. Differences in coronary flow and myocardial metabolism at rest and during pacing between patients with obstructive and patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10:53-62.
373. Narita M, Kurihara T. [Myocardial sympathetic activity and characteristics in hypertrophic cardiomyopathy: comparison with hypertensive hypertrophy]. *J Cardiol* 1996; 27:133-41.
374. Mundhenke M, Schwartzkopff B, Strauer BE. Structural analysis of arteriolar and myocardial remodelling in the subendocardial region of patients with hypertensive heart disease and hypertrophic cardiomyopathy. *Virchows Arch* 1997; 431:265-73.
375. Takemura G, Takatsu Y, Fujiwara H. Luminal narrowing of coronary capillaries in human hypertrophic hearts: an ultrastructural morphometrical study using endomyocardial biopsy specimens. *Heart* 1998; 79:78-85.
376. Olivotto I, Cecchi F, Camici PG. Coronary microvascular dysfunction and ischemia in hypertrophic cardiomyopathy. Mechanisms and clinical consequences. *Ital Heart J* 2004; 5:572-80.

377. Cannon RO, III, Watson RM, Rosing DR, Epstein SE. Angina caused by reduced vasodilator reserve of the small coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1:1359-73.
378. Brush JE, Jr., Cannon RO, III, Schenke WH, et al. Angina due to coronary microvascular disease in hypertensive patients without left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1988; 319:1302-7.
379. Strauer BE. Ventricular function and coronary hemodynamics in hypertensive heart disease. *Am J Cardiol* 1979; 44:999-1006.
380. Strauer BE. Myocardial oxygen consumption in chronic heart disease: role of wall stress, hypertrophy and coronary reserve. *Am J Cardiol* 1979; 44:730-40.
381. Opher D, Mall G, Zebe H, et al. Reduction of coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with arterial hypertension and normal coronary arteries. *Circulation* 1984; 69:1-7.
382. Radvan J, Choudhury L, Sheridan DJ, Camici PG. Comparison of coronary vasodilator reserve in elite rowing athletes versus hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1997; 80:1621-3.
383. Kozakova M, Galetta F, Gregorini L, et al. Coronary vasodilator capacity and epicardial vessel remodeling in physiological and hypertensive hypertrophy. *Hypertension* 2000; 36:343-9.
384. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlager H, Just H. Endothelial dysfunction of the coronary microvasculature is associated with coronary blood flow regulation in patients with early atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84:1984-92.
385. L'Abbate A. Large and micro coronary vascular involvement in diabetes. *Pharmacol Rep* 2005; 57 Suppl:3-9.
386. Janand-Delenne B, Savin B, Habib G, Bory M, Vague P, Lassmann-Vague V. Silent myocardial ischemia in patients with diabetes: who to screen. *Diabetes Care* 1999; 22:1396-400.
387. Wackers FJ, Young LH, Inzucchi SE, et al. Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects: the DIAD study. *Diabetes Care* 2004; 27:1954-61.
388. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlager H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83:391-401.
389. Creager MA, Luscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation* 2003; 108:1527-32.
390. Quinones MJ, Hernandez-Pampaloni M, Schelbert H, et al. Coronary vasomotor abnormalities in insulin-resistant individuals. *Ann Intern Med* 2004; 140:700-8.
391. Prior JO, Quinones MJ, Hernandez-Pampaloni M, et al. Coronary circulatory dysfunction in insulin resistance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2005; 111:2291-8.
392. Campisi R, Czernin J, Schoder H, Sayre JW, Schelbert HR. L-Arginine normalizes coronary vasomotion in long-term smokers. *Circulation* 1999; 99:491-7.
393. von BH, Hansen A, Dounis V, Bystedt T, Malmberg K, Ryden L. Augmented metabolic control improves myocardial diastolic function and perfusion in patients with non-insulin dependent diabetes. *Heart* 2004; 90:1483-4.
394. Hanefeld M, Fischer S, Julius U, et al. Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia* 1996; 39:1577-83.
395. Di Carli MF, Bianco-Batlles D, Landa ME, et al. Effects of autonomic neuropathy on coronary blood flow in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1999; 100:813-9.
396. Jha S, Nag D. Sympathetic skin response and autonomic dysfunction in diabetes. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995; 39:149-53.
397. Tack CJ, Smits P, Willemsen JJ, Lenders JW, Thien T, Lutterman JA. Effects of insulin on vascular tone and sympathetic nervous system in NIDDM. *Diabetes* 1996; 45:15-22.
398. Ceriello A. The emerging role of post-prandial hyperglycaemic spikes in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabet Med* 1998; 15:188-93.
399. Ceriello A, Falletti E, Motz E, et al. Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res* 1998; 30:146-9.
400. Vincent MA, Dawson D, Clark AD, et al. Skeletal muscle microvascular recruitment by physiological hyperinsulinemia precedes increases in total blood flow. *Diabetes* 2002; 51:42-8.
401. Ono S, Nohara R, Kambara H, Okuda K, Kawai C. Regional myocardial perfusion and glucose metabolism in experimental left bundle branch block. *Circulation* 1992; 85:1125-31.
402. Dounis V, Siegmund T, Hansen A, Jensen J, Schumm-Draeger PM, von BH. Global myocardial perfusion and diastolic function are impaired to a similar extent in patients with type 2 diabetes mellitus and in patients with

- coronary artery disease--evaluation by contrast echocardiography and pulsed tissue Doppler. *Diabetologia* 2006; 49:2729-40.
403. Wigger CL. The interplay of coronary vascular resistance and myocardial compression in regulating coronary flow. *Circ Res* 1954; 2:271-8.
 404. Youn HJ, Park CS, Cho EJ, et al. Left bundle branch block disturbs left anterior descending coronary artery flow: study using transthoracic Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18:1093-8.
 405. Albertal M, Voskuil M, Piek JJ, et al. Coronary flow velocity reserve after percutaneous interventions is predictive of periprocedural outcome. *Circulation* 2002; 105:1573-8.
 406. Tsutsui JM, Mathias W, Jr., Frimm CC, Lemos PA, Leal SM, De Andrade JL. Coronary blood flow reserve response to left anterior descending coronary artery stenting and its value in predicting coronary restenosis. *J Am Soc Echocardiogr* 2003; 16:469-75.
 407. Weintraub WS, Hattori S, Agarwal JB, Bodenheimer MM, Banka VS, Helfant RH. The relationship between myocardial blood flow and contraction by myocardial layer in the canine left ventricle during ischemia. *Circ Res* 1981; 48:430-8.
 408. Myers JH, Stirling MC, Choy M, Buda AJ, Gallagher KP. Direct measurement of inner and outer wall thickening dynamics with epicardial echocardiography. *Circulation* 1986; 74:164-72.
 409. Kerber RE, Marcus ML, Ehrhardt J, Wilson R, Abboud FM. Correlation between echocardiographically demonstrated segmental dyskinesia and regional myocardial perfusion. *Circulation* 1975; 52:1097-104.
 410. Lima JA, Becker LC, Melin JA, et al. Impaired thickening of nonischemic myocardium during acute regional ischemia in the dog. *Circulation* 1985; 71:1048-59.
 411. Leong-Poi H, Rim SJ, Le DE, Fisher NG, Wei K, Kaul S. Perfusion versus function: the ischemic cascade in demand ischemia: implications of single-vessel versus multivessel stenosis. *Circulation* 2002; 105:987-92.
 412. Leong-Poi H, Coggins MP, Sklenar J, Jayaweera AR, Wang XQ, Kaul S. Role of collateral blood flow in the apparent disparity between the extent of abnormal wall thickening and perfusion defect size during acute myocardial infarction and demand ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:565-72.
 413. Micari A, Belcik TA, Balcells EA, et al. Improvement in microvascular reflow and reduction of infarct size with adenosine in patients undergoing primary coronary stenting. *Am J Cardiol* 2005; 96:1410-5.
 414. Reffelmann T, Kloner RA. The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2006; 101:359-72.
 415. Agati L, Voci P, Autore C, et al. Combined use of dobutamine echocardiography and myocardial contrast echocardiography in predicting regional dysfunction recovery after coronary revascularization in patients with recent myocardial infarction. *Eur Heart J* 1997; 18:771-9.
 416. Tsutsui JM, Elhendy A, Xie F, O'Leary EL, McGrain AC, Porter TR. Safety of dobutamine stress real-time myocardial contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1235-42.
 417. Bouma MG, Jeunhomme TM, Boyle DL, et al. Adenosine inhibits neutrophil degranulation in activated human whole blood: involvement of adenosine A2 and A3 receptors. *J Immunol* 1997; 158:5400-8.
 418. Sullivan GW, Rieger JM, Scheld WM, Macdonald TL, Linden J. Cyclic AMP-dependent inhibition of human neutrophil oxidative activity by substituted 2-propynylcyclohexyl adenosine A(2A) receptor agonists. *Br J Pharmacol* 2001; 132:1017-26.
 419. Boucher M, Pesant S, Falcao S, et al. Post-ischemic cardioprotection by A2A adenosine receptors: dependent of phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 43:416-22.
 420. Gentile F, Trocino G, Todd S. New technologies applied to stress echocardiography: myocardial contrast echocardiography. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2006; 7:491-7.
 421. Vatner SF, McRitchie RJ, Braunwald E. Effects of dobutamine on left ventricular performance, coronary dynamics, and distribution of cardiac output in conscious dogs. *J Clin Invest* 1974; 53:1265-73.
 422. Wei K, Le E, Bin JP, Coggins M, Jayaweera AR, Kaul S. Mechanism of reversible (99m)Tc-sestamibi perfusion defects during pharmacologically induced vasodilatation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280:H1896-H1904.
 423. Segar DS, Brown SE, Sawada SG, Ryan T, Feigenbaum H. Dobutamine stress echocardiography: correlation with coronary lesion severity as determined by quantitative angiography. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19:1197-202.
 424. Santiago P, Vacek JL, Rosamond TL. Dobutamine stress echocardiography: clinical utility and predictive value at various infusion rates. *Am Heart J* 1994; 128:804-8.
 425. Kaul S, Pandian NG, Gillam LD, Newell JB, Okada RD, Weyman AE. Contrast echocardiography in acute myocardial ischemia. III. An in vivo comparison of the extent of abnormal wall motion with the area at risk for necrosis. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7:383-92.

426. Belardinelli L, Linden J, BERNE RM. The cardiac effects of adenosine. *Prog Cardiovasc Dis* 1989; 32:73-97.
427. Bin JP, Le DE, Jayaweera AR, Coggins MP, Wei K, Kaul S. Direct effects of dobutamine on the coronary microcirculation: comparison with adenosine using myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2003; 16:871-9.
428. Cronstein BN, Kramer SB, Weissmann G, Hirschhorn R. Adenosine: a physiological modulator of superoxide anion generation by human neutrophils. *J Exp Med* 1983; 158:1160-77.
429. Sawada SG, Segar DS, Ryan T, et al. Echocardiographic detection of coronary artery disease during dobutamine infusion. *Circulation* 1991; 83:1605-14.
430. Carlson RE, Kavanaugh KM, Buda AJ. The effect of different mechanisms of myocardial ischemia on left ventricular function. *Am Heart J* 1988; 116:536-45.
431. Gould KL. Noninvasive assessment of coronary stenoses by myocardial perfusion imaging during pharmacologic coronary vasodilatation. I. Physiologic basis and experimental validation. *Am J Cardiol* 1978; 41:267-78.
432. Okada RD, Leppo JA, Boucher CA, Pohost GM. Myocardial kinetics of thallium-201 after dipyridamole infusion in normal canine myocardium and in myocardium distal to a stenosis. *J Clin Invest* 1982; 69:199-209.
433. Leppo J, Boucher CA, Okada RD, Newell JB, Strauss HW, Pohost GM. Serial thallium-201 myocardial imaging after dipyridamole infusion: diagnostic utility in detecting coronary stenoses and relationship to regional wall motion. *Circulation* 1982; 66:649-57.
434. Miller DD, Donohue TJ, Younis LT, et al. Correlation of pharmacological ^{99m}Tc-sestamibi myocardial perfusion imaging with poststenotic coronary flow reserve in patients with angiographically intermediate coronary artery stenoses. *Circulation* 1994; 89:2150-60.
435. Becker LC. Effect of nitroglycerin and dipyridamole on regional left ventricular blood flow during coronary artery occlusion. *J Clin Invest* 1976; 58:1287-96.
436. Becker LC. Conditions for vasodilator-induced coronary steal in experimental myocardial ischemia. *Circulation* 1978; 57:1103-10.
437. Heller LI, Cates C, Popma J, et al. Intracoronary Doppler assessment of moderate coronary artery disease: comparison with ²⁰¹Tl imaging and coronary angiography. FACTS Study Group. *Circulation* 1997; 96:484-90.
438. Leppo JA, Simons M, Hood WB, Jr. Effect of adenosine on transmural flow gradients in normal canine myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6:1115-9.
439. Akinboboye OO, Idris O, Chou RL, Sciacca RR, Cannon PJ, Bergmann SR. Absolute quantitation of coronary steal induced by intravenous dipyridamole. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:109-16.
440. Demer LL, Gould KL, Goldstein RA, Kirkeeide RL. Noninvasive assessment of coronary collaterals in man by PET perfusion imaging. *J Nucl Med* 1990; 31:259-70.
441. Araujo LI, McFalls EO, Lammertsma AA, Jones T, Maseri A. Dipyridamole-induced increased glucose uptake in patients with single-vessel coronary artery disease assessed with PET. *J Nucl Cardiol* 2001; 8:339-46.
442. Klodas E, Miller TD, Christian TF, Hodge DO, Gibbons RJ. Prognostic significance of ischemic electrocardiographic changes during vasodilator stress testing in patients with normal SPECT images. *J Nucl Cardiol* 2003; 10:4-8.
443. Abbott BG, Afshar M, Berger AK, Wackers FJ. Prognostic significance of ischemic electrocardiographic changes during adenosine infusion in patients with normal myocardial perfusion imaging. *J Nucl Cardiol* 2003; 10:9-16.
444. Eagle KA, Coley CM, Newell JB, et al. Combining clinical and thallium data optimizes preoperative assessment of cardiac risk before major vascular surgery. *Ann Intern Med* 1989; 110:859-66.
445. Lieberman AN, Weiss JL, Jugdutt BI, et al. Two-dimensional echocardiography and infarct size: relationship of regional wall motion and thickening to the extent of myocardial infarction in the dog. *Circulation* 1981; 63:739-46.
446. Touchstone DA, Beller GA, Nygaard TW, Tedesco C, Kaul S. Effects of successful intravenous reperfusion therapy on regional myocardial function and geometry in humans: a tomographic assessment using two-dimensional echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13:1506-13.
447. Lindner JR, Kaul S. Assessment of myocardial viability with two-dimensional echocardiography and magnetic resonance imaging. *J Nucl Cardiol* 1996; 3:167-82.
448. Pitkanen OP, Raitakari OT, Niinikoski H, et al. Coronary flow reserve is impaired in young men with familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:1705-11.
449. Yokoyama I, Ohtake T, Momomura S, Nishikawa J, Sasaki Y, Omata M. Reduced coronary flow reserve in hypercholesterolemic patients without overt coronary stenosis. *Circulation* 1996; 94:3232-8.

450. Bergelson BA, Yu TK, Ruocco NA. Effects of hypercholesterolaemia on physiological recruitment of coronary vascular reserve in swine. *Clin Sci (Lond)* 1996; 90:261-8.
451. Yanni AE. The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research. *Lab Anim* 2004; 38:246-56.
452. Kaufmann PA, Gnecci-Ruscione T, Schafers KP, Luscher TF, Camici PG. Low density lipoprotein cholesterol and coronary microvascular dysfunction in hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:103-9.
453. Lindner JR, Song J, Christiansen J, Klibanov AL, Xu F, Ley K. Ultrasound assessment of inflammation and renal tissue injury with microbubbles targeted to P-selectin. *Circulation* 2001; 104:2107-12.
454. Yokoyama I, Ohtake T, Momomura S, et al. Altered myocardial vasodilatation in patients with hypertriglyceridemia in anatomically normal coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:294-9.
455. Yokoyama I, Ohtake T, Momomura S, et al. Impaired myocardial vasodilation during hyperemic stress with dipyridamole in hypertriglyceridemia. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31:1568-74.
456. Yokoyama I, Murakami T, Ohtake T, et al. Reduced coronary flow reserve in familial hypercholesterolemia. *J Nucl Med* 1996; 37:1937-42.
457. Yokoyama I, Yonekura K, Inoue Y, Ohtomo K, Nagai R. Long-term effect of simvastatin on the improvement of impaired myocardial flow reserve in patients with familial hypercholesterolemia without gender variance. *J Nucl Cardiol* 2001; 8:445-51.
458. Tomas JP, Moya JL, Campuzano R, et al. [Noninvasive assessment of the effect of atorvastatin on coronary microvasculature and endothelial function in patients with dyslipidemia]. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57:909-15.
459. Kuryata OV, Yegorova YV. The influence of low-dose atorvastatin on lipid levels and endothelial vascular function in patients with significant coronary artery stenosis. *Kardiolog Pol* 2006; 64:44-8.
460. Simaitis A, Laucevicius A. [Effect of high doses of atorvastatin on the endothelial function of the coronary arteries]. *Medicina (Kaunas)* 2003; 39:21-9.
461. Shimada K, Yoshida K, Tadokoro H, et al. Adenosine-induced coronary flow reserve in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Jpn Circ J* 2000; 64:971-6.
462. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101:948-54.
463. Best PJ, Lerman LO, Romero JC, Richardson D, Holmes DR, Jr., Lerman A. Coronary endothelial function is preserved with chronic endothelin receptor antagonism in experimental hypercholesterolemia in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:2769-75.
464. Pascotto M, Leong-Poi H, Kaufmann B, et al. Assessment of Ischemia-Induced Microvascular Remodeling Using Contrast-Enhanced Ultrasound Vascular Anatomic Mapping. *J Am Soc Echocardiogr* 2007.
465. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:2673-8.
466. Price RJ, Kaul S. Contrast ultrasound targeted drug and gene delivery: an update on a new therapeutic modality. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002; 7:171-80.
467. Christiansen JP, French BA, Klibanov AL, Kaul S, Lindner JR. Targeted tissue transfection with ultrasound destruction of plasmid-bearing cationic microbubbles. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29:1759-67.
468. Christiansen JP, Leong-Poi H, Klibanov AL, Kaul S, Lindner JR. Noninvasive imaging of myocardial reperfusion injury using leukocyte-targeted contrast echocardiography. *Circulation* 2002; 105:1764-7.
469. Lindner JR. Molecular imaging with contrast ultrasound and targeted microbubbles. *J Nucl Cardiol* 2004; 11:215-21.

ABREVIATURAS

AMP	monofosfato de adenosina
ATP	trifosfato de adenosina
CCI	coherent contrast imaging
CMH	cardiomiopatia hipertrófica
CPS	contrast pulse sequencing
DA	artéria coronária descendente anterior
DI	doppler intracoronário
DM ₂	diabetes mellitus tipo 2
ECM	ecocardiografia de contraste do miocárdio
EDCF	conjunto de substâncias vasoconstritoras
EDHF	factor hiperpolarizante derivado do endotélio
EDHFs	factores hiperpolarizantes derivados do endotélio
EDRF	factor de relaxamento proveniente do endotélio
EDTT	ecocardiografia Doppler transtorácica
EETs	ácidos epoxieicosatrienoico
eNOS	sintetase do óxido nítrico
EPCs	células progenitoras endoteliais
ERP	espessura relativa da parede
ET-1	endotelina-1
FM	fluxo miocárdico
HETEs	ácidos hidroxieicostetraenico
HTA	hipertensão arterial sistémica
iMVE	índice de massa ventricular esquerda
NO	óxido nítrico
PET	tomografia de emissão de positrões
PGI ₂	prostaciclina I ₂
PPI	power pulse inversion
RC	reserva coronária
RI	região de interesse
RM	ressonância magnética
SCA	síndromes coronários agudos
SNS	sistema nervoso simpático
SPECT	cintigrafia de emissão de fotões
TAC	tomografia axial computadorizada
TXA ₂	tromboxano A ₂
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule
VE	ventrículo esquerdo
VEGF	factor de crescimento endotelial vascular
VFM	volume de fluxo miocárdico

