

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

**GABRIELA SOUZA FARIA**

**CARACTERIZAÇÃO DA PERFUSÃO MIOCÁRDICA E REMODELAMENTO  
VENTRICULAR EM MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERTENSÃO ARTERIAL  
CRÔNICA**

**UBERABA**

**2020**

GABRIELA SOUZA FARIA

**CARACTERIZAÇÃO DA PERFUSÃO MIOCÁRDICA E REMODELAMENTO  
VENTRICULAR EM MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERTENSÃO ARTERIAL  
CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Fisioterapia, área de concentração “Avaliação e Intervenção Fisioterapêutica do Sistema Cardiorrespiratório”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho

UBERABA

2020

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro**

F233c Faria, Gabriela Souza  
Caracterização da perfusão miocárdica e remodelamento ventricular em modelo experimental de hipertensão arterial crônica / Gabriela Souza Faria. -- 2020.  
75 f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2020  
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho

1. Hipertensão arterial. 2. Ratos espontaneamente hipertensivos. 3. Cintilografia de perfusão do miocárdio. 4. Função ventricular. 5. Remodelação cardíaca ventricular. I. Carvalho, Eduardo Elias Vieira de. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.12-008.331.1

GABRIELA SOUZA FARIA

**CARACTERIZAÇÃO DA PERFUSÃO MIOCÁRDICA E REMODELAMENTO  
VENTRICULAR EM MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERTENSÃO ARTERIAL  
CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Fisioterapia, área de concentração “Avaliação e Intervenção Fisioterapêutica do Sistema Cardiorrespiratório”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para obtenção do título de Mestre em Fisioterapia.

\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho – Orientador  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

---

Prof. Dr. Marcus Vinícius Simões  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. Octávio Barbosa Neto  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dedico essa conquista aos meus pais, Agripino e Luci, minha maior inspiração e exemplo; ao meu irmão, Leonardo; e aos demais familiares e amigos que estiveram junto a mim em momentos de aflição, me amparando e conduzindo durante essa etapa tão almejada de muito aprendizado em minha carreira profissional.

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido essa oportunidade;*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho, pela paciência ao me conduzir com excelência nessa etapa;*

*À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Denise Mayumi Tanaka por todo acompanhamento, atenção e condução nas atividades;*

*Aos meus familiares por compartilharem comigo desse tão almejado título;*

*Agradeço às parcerias firmadas para a realização desse estudo, quais sejam:*

*- Ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo. Em nome do Prof. Dr. Marcus Vinícius Simões e da Dra. Minna Moreira Dias Romano, externo meus sinceros agradecimentos às pós-graduandas Camila Godoy Fabrício, Alessandra Resende, Jhennifer Aline Lima Rodrigues e Vanessa de Souza Nakagi, pelo auxílio durante a realização do estudo;*

*- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Em nome do Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva, externo meus agradecimentos aos pós-graduandos Douglas e Rhana, bem como aos técnicos do laboratório que se dispuseram a me auxiliar durante treinamentos de protocolos realizados na Universidade Federal do Triângulo Mineiro – Uberaba/MG;*

*- Ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Não poderia deixar de agradecer à Marcella Garcia dos Santos, aos membros do colegiado do programa, e a todos professores(as) que se mostram focados para o cumprimento e aperfeiçoamento dos pilares que regem nossa Educação;*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro concedido durante todo o período de estudos;*

*Agradeço, também, aos colegas e amigos, tanto internos quanto externos ao programa, os quais foram de fundamental importância para minha caminhada;*

*E, por fim, agradeço a todos os Grupos de Estudos e Ligas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro que fizeram dessa etapa da minha vida um momento de muito acolhimento e conhecimento.*

*A todos o meu muito obrigada!*

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser mas, graças a Deus, não sou o que era antes.”

Marthin Luther King

## RESUMO

FARIA, GABRIELA SOUZA. **Caracterização da perfusão miocárdica e remodelamento ventricular em modelo experimental de hipertensão arterial crônica.** 2020. 76f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2020.

**Introdução:** A hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica multifatorial caracterizada pelo aumento mantido dos níveis pressóricos. Ela é considerada um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. A HA crônica cursa com lesões em órgãos-alvo, entre eles o coração, que pode evoluir para hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo e, em alguns casos, evolui para disfunção sistólica. Uma vez que defeitos de perfusão miocárdica, bem como alterações na função ventricular sistólica, estão frequentemente associados à cardiopatia hipertrófica, secundária à hipertensão arterial crônica, esperamos registrar, inicialmente, a presença de defeitos de perfusão *in vivo*, por meio da cintilografia de perfusão miocárdica, assim como o remodelamento do ventrículo esquerdo, em modelo experimental de HA. **Objetivos:** Caracterizar a perfusão miocárdica e as alterações morfológicas do ventrículo esquerdo em um modelo experimental de hipertensão arterial crônica de ratos *Spontaneously Hypertensive Rat* (SHR) e correlacionar as alterações de perfusão miocárdica com as alterações morfológicas encontradas no ecocardiograma em animais SHR. **Métodos:** Foram utilizados ratos de 22 semanas, mantidos em alojamento climatizado no biotério do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, alocados em Grupo Controle (GC, n = 10): ratos *Wistar Kyoto*, normotensos, de 12 semanas de vida e Grupo de Investigação (SHR, n = 10) e ratos espontaneamente hipertensos SHR, de 12 semanas de vida. Na janela temporal de 22 semanas de idade dos grupos estudados, todos os animais foram submetidos à análise da pressão arterial sistólica (PAS), pelo método pletismográfico de cauda; em seguida, cada um dos grupos foi submetido aos seguintes exames de imagem *in vivo*: Doppler-ecocardiograma (ECO) e cintilografia de perfusão miocárdica com Sestamibi-Tc-99m (mini-SPECT), em repouso e sob estresse. A indução do estresse cardíaco foi feita pela infusão do cloridrato de dobutamina, com dose de 25 µg/Kg/min, durante um minuto de infusão. Os parâmetros morfológicos avaliados foram diâmetro sistólico e diastólico final do ventrículo esquerdo, espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole e diástole, espessura do septo interventricular em sístole e diástole, índice de massa do ventrículo esquerdo e espessura relativa da parede ventricular. Os parâmetros funcionais avaliados foram fração de ejeção e encurtamento do ventrículo esquerdo.

Os defeitos de captação nas imagens de repouso e estresse foram semiquantificados, mediante atribuição de escores visuais (0 = normal; 1 = defeito leve; 2 = defeito moderado; e 3 = defeito grave), em modelo de 17 segmentos das paredes do ventrículo esquerdo. Para cada animal foram calculados escores somados nas imagens de repouso, estresse e diferença entre o estresse e o repouso para avaliação da extensão global da reversibilidade (isquemia) e a gravidade, medidas através do escore da diferença. **Resultados:** O grupo SHR apresentou valores significativamente maiores da PAS ( $160 \pm 20,09$  mmHg) em comparação ao GC ( $109,63 \pm 20,53$  mmHg);  $p=0,0001$ , do mesmo modo na frequência cardíaca (FC), tendo o SHR ( $232,92 \pm 18,82$  bpm) em comparação com o GC ( $187,06 \pm 19,64$  bpm);  $p=0,0001$ . Com a infusão da dobutamina, foi observado incremento significativo da FC em ambos os grupos: no GC o aumento foi de  $201,4 \pm 22,6$  bpm para  $267,6 \pm 17,9$  bpm ( $p=0,001$ ) e no SHR de  $203,0 \pm 22,6$  bpm para  $255,8 \pm 36,4$  bpm ( $p=0,001$ ). Entre os grupos estudados não foi observada diferença significativa no incremento da FC devido à infusão de dobutamina. Os parâmetros morfológicos observados no ECO documentaram um remodelamento cardíaco, com discreta hipertrofia ventricular esquerda do tipo concêntrica, no grupo SHR em comparação ao GC, que se apresentou mediante valores significativamente diferentes nas seguintes variáveis: diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo (GC =  $5,09 \pm 0,45$  mm vs SHR  $4,57 \pm 0,55$  mm;  $p=0,03$ ), septo interventricular em sístole (GC =  $2,73 \pm 0,24$  mm vs SHR  $3,18 \pm 0,19$  mm;  $p=0,0002$ ), e septo interventricular em diástole (GC =  $1,69 \pm 0,17$  mm vs SHR  $1,98 \pm 0,21$  mm;  $p=0,003$ ). Não houve diferença significativa na função sistólica ventricular entre os grupos controle e SHR. Foi observado um maior e significativo valor nos escores, somado em estresse do grupo SHR ( $14,3 \pm 6,9$ ) em comparação ao GC ( $7,4 \pm 4,9$ ),  $p=0,01$ , e o escore somado da diferença SHR ( $8,9 \pm 5,3$ ) e GC ( $3,9 \pm 3,5$ ),  $p=0,02$ . A extensão global da isquemia foi significativamente maior no grupo SHR ( $7,0 \pm 3,1$  segmentos) do que no GC ( $3,1 \pm 2,6$  segmentos),  $p=0,008$ . O número de segmentos com defeitos isquêmicos foi significativamente maior no SHR (71 segmentos) em comparação ao GC (30 segmentos),  $p=0,01$ . A gravidade dos defeitos isquêmicos foi documentada pela presença de defeitos leves e moderados, com extensão entre os segmentos basais, médio ventriculares e apicais no SHR, enquanto no GC os defeitos isquêmicos estavam mais evidentes nos segmentos basais e médio ventriculares. Não houve correlação significativa entre os grupos estudados. **Conclusões:** O estudo conduzido com ratos espontaneamente hipertensos mostrou alterações morfológicas de remodelamento cardíaco, marcando a fase inicial da hipertrofia do ventrículo esquerdo, associado com função ventricular sistólica preservada. De maneira original os defeitos de perfusão miocárdica *in vivo* foram documentados, caracterizados por defeitos isquêmicos difusos, apresentando-se como defeitos

leves e moderados. Na fase da evolução da doença em que os grupos foram estudados (22 semanas de vida), não foi possível documentar correlação significativa entre os defeitos de perfusão miocárdica e o remodelamento ventricular.

**Palavras-chave:** Ratos Espontaneamente Hipertensos; Hipertensão Arterial; Cintilografia de Perfusão Miocárdica; Função Ventricular; Remodelamento Cardíaco.

## ABSTRACT

FARIA, GABRIELA SOUZA. **Characterization of myocardial perfusion and ventricular remodeling in an experimental model of chronic high blood pressure.** 2020. 76p Master's degree dissertation – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2020.

**Introduction:** High blood pressure (HBP) is a multifactorial clinical condition characterized by the sustained increase of pressure levels. It is considered one of the main risk factors for cardiovascular, cerebrovascular and renal diseases. Chronic HBP comes along with lesions in target organs, among which is the heart, which may develop into left ventricular concentric hypertrophy and, in some cases, into systolic dysfunction. Since myocardial perfusion defects, as well as alterations of the systolic ventricular function, are often associated to hypertrophic cardiopathy secondary to chronic high blood pressure, we originally expected to register the presence of perfusion defects *in vivo* through scintillography of myocardial perfusion, as well as remodeling of left ventricle, in an experimental model of HBP. **Aims:** To characterize myocardial perfusion and left ventricular morphological changes in an experimental model of chronic high blood pressure of *Spontaneously hypertensive rat* (SHR) and correlate alterations of myocardial perfusion to morphological alterations found in echocardiogram in SHR animals. **Methods:** rats of 22 weeks were used for the study, kept in refrigerated accommodation in the vivarium of Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, distributed in Control Group (CG, n = 10): normotensive, 12-week-old *Kyoto Wistar* Rats, and Investigational Group (SHR, n = 10): spontaneously hypertensive (SHR), 12-week-old rats. Within the time frame of 22 weeks of age of the groups studied, all animals underwent systolic arterial pressure (SAP) analysis through tail plethysmography, and afterwards each group underwent the following image exams *in vivo*: Doppler-Echocardiogram (ECO) and myocardial perfusion scintillography with Sestamibi-Tc-99m (mini-SPECT) at rest and under stress. Induction of cardiac stress was conducted through the infusion of dobutamine hydrochloride at a dose of 25 µg/Kg/min, for a minute of infusion. Morphologic parameters evaluated were final systolic and diastolic diameters of left ventricle, left ventricle posterior wall thickness at systole and diastole, interventricular septum thickness at systole and diastole, mass index of the left ventricle and relative thickness of ventricular wall. Functional parameters evaluated were fraction of ejections and shortening of left ventricle. Defects in caption of rest and stress images were semi-quantified, according to visual scores allocation (0 = normal; 1 = mild defect; 2 = moderate defect; and 3 = severe defect), in model of 17 segments of left ventricle wall. For each

animal, scores were calculated and added in the images of rest, stress and difference between stress and rest, for the evaluation of global extension of reversibility (ischemia) and severity, which were measured through the difference score. **Results:** SHR group presented significantly higher values of HBP ( $160 \pm 20,09$  mmHg) comparing to CG ( $109,63 \pm 20,53$  mmHg);  $p=0,0001$ , similarly to heart rate (HR), with SHR ( $232,92 \pm 18,82$  bpm) comparing to CG ( $187,06 \pm 19,64$  bpm);  $p=0,0001$ . With dobutamine infusion, significant increase in HR was observed in both groups: for CG, an increase from  $201,4 \pm 22,6$  bpm to  $267,6 \pm 17,9$  bpm ( $p=0,001$ ), and for SHR, from  $203,0 \pm 22,6$  bpm to  $255,8 \pm 36,4$  bpm ( $p=0,001$ ). No significant difference was observed in HR increase due to dobutamine infusion between the groups studied. Morphologic parameters observed in ECO documented cardiac remodeling, with slight concentric-type left ventricle hypertrophy, in the SHR group compared to CG, presenting significantly different values in the following variables: left ventricle final systolic diameter (CG =  $5,09 \pm 0,45$  mm vs SHR  $4,57 \pm 0,55$  mm;  $p=0,03$ ), interventricular septum at systole (CG =  $2,73 \pm 0,24$  mm vs SHR  $3,18 \pm 0,19$  mm;  $0,0002$ ), and interventricular septum at diastole (CG =  $1,69 \pm 0,17$  mm vs SHR  $1,98 \pm 0,21$  mm;  $p=0,003$ ). There was no significant difference in systolic ventricular function between CG and SHR. Significant, higher value was observed in scores added under stress for SHR ( $14,3 \pm 6,9$ ) compared to CG ( $7,4 \pm 4,9$ ),  $p=0,01$  and the added score of the difference SHR ( $8,9 \pm 5,3$ ) and CG ( $3,9 \pm 3,5$ ),  $p=0,02$ . Global extension of ischemia was significantly higher for SHR ( $7,0 \pm 3,1$  segments) than for CG ( $3,1 \pm 2,6$  segments),  $p=0,008$ . The number of segments with ischemic defects was significantly higher for SHR (71 segments) comparing to CG (30 segments),  $p=0,01$ . Severity of ischemic defects was documented through the presence of mild and moderate defects, stretching between basal, medial and apical ventricular segments in SHR, while in CG ischemic defects were more evident in basal and medial ventricular segments. There was no significant correlation between groups studied. **Conclusions:** The study conducted with spontaneously hypertensive rats showed morphologic alterations of cardiac remodeling, marking the initial stage of left ventricle hypertrophy, associated to preserved systolic ventricular function. Originally, myocardial perfusion defects *in vivo* were documented, characterized by diffuse ischemic defects, presented as mild and moderate defects. In the stage of disease evolution in which the groups were studied (22 weeks of age), it was not possible to document significant correlation between the defects of myocardial perfusion and ventricular remodeling.

**Keywords:** Spontaneously Hypertensive Rats; High Blood Pressure; Myocardial Perfusion Scintigraphy; Ventricular function; Cardiac Remodeling.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Delineamento geral do estudo.....   | 33 |
| Figura 2. Pletismógrafo de cauda usado para avaliação da pressão arterial.....                                    | 34 |
| Figura 3. Equipamentos utilizados na aquisição de imagens ecocardiográficas. ....                                 | 35 |
| Figura 4. Imagem ilustrativa adquirida durante o exame de ecocardiograma.....                                     | 36 |
| Figura 5. Imagem ilustrativa da medida de fração de ejeção do ventrículo esquerdo pelo método bidimensional. .... | 37 |
| Figura 6. Sistema Mini-SPECT e posicionamento do animal. ....   | 38 |
| Figura 7. Divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos. ....  | 40 |
| Figura 8. Mapa polar .....  | 41 |
| Figura 9. Imagem ilustrativa do estudo de perfusão miocárdica nos grupos controle e SHR..                         | 50 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 1. Frequência dos defeitos de perfusão por segmento em repouso, estresse e a diferença (estresse/repouso) .....  | 44 |
| Gráfico 2. Número de segmentos isquêmicos basais, médio ventriculares e apicais nos grupos controle e SHR .....  | 45 |
| Gráfico 3. Comparação da frequência cardíaca basal e pico intragrupos e entergrupos. ....  | 47 |
| Gráfico 4. Comparação dos escores somados em repouso, estresse e a diferença do estresse pelo repouso entre os grupos estudados .....                            | 47 |
| Gráfico 5. Comparação do número de segmentos com defeitos de perfusão em repouso, estresse e a diferença do estresse pelo repouso entre os grupos estudados..... | 48 |
| Gráfico 6. Apresentação da gravidade média dos defeitos reversíveis em repouso, estresse e a diferença do estresse pelo repouso entre os grupos.....             | 49 |
| Gráfico 7. Correlação entre o escore somado da diferença e o índice de massa do ventrículo esquerdo nos grupos controle e SHR.....                               | 51 |

## **LISTA DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Resultados das avaliações da pressão arterial sistólica, peso e ecocardiográficas nos grupos estudados. .... | 43 |
| Tabela 2. Variáveis obtidas na cintilografia miocárdica de perfusão dos grupos estudados.....                          | 46 |

## LISTA DE SIGLAS

DAC – DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA

DC - DÉBITO CARDÍACO

DCv – DOENÇA CARDIOVASCULAR

DDFVE – DIÂMETRO DIASTÓLICO FINAL DO VENTRÍCULO ESQUERDO

DSFVE – DIÂMETRO SISTÓLICO FINAL DO VENTRÍCULO ESQUERDO

DM – DIABETES MELLITUS

ER – ESPESSURA RELATIVA DA PAREDE VENTRICULAR

FC – FREQUÊNCIA CARDÍACA

FEVE – FRAÇÃO DE EJEÇÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO

HA – HIPERTENSÃO ARTERIAL

IC – INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

ICFEP – INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO DE EJEÇÃO PRESERVADA

ICFER – INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO DE EJEÇÃO REDUZIDA

IMVE – ÍNDICE DE MASSA DO VENTRÍCULO ESQUERDO

PA – PRESSÃO ARTERIAL

PAS – PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

PAD – PRESSÃO ARTERIAL DIASTÓLICA

SHR – RATO ESPONTANEAMENTE HIPERTENSO

SIV – SEPTO INTREVENTRICULAR

VE – VENTRÍCULO ESQUERDO

WKY – RATO WISTAR-KYOTO

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | 19 |
| 1.1 A Epidemiologia da Hipertensão Arterial.....  | 19 |
| 1.2 Histórico e Evolução do Estudo da Hipertensão Arterial .....  | 20 |
| 1.3 Etiologia e Fisiopatologia da Hipertensão Arterial.....   | 20 |
| 1.4 Diagnóstico e Classificação da Hipertensão Arterial.....  | 22 |
| 1.5 Hipertensão Arterial e Lesões de Órgãos-Alvo .....  | 24 |
| 1.6 Estudos da Hipertensão Arterial em Modelos Animais.....   | 27 |
| 1.7 Hipótese .....  | 30 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....  | 31 |
| 2.1 Objetivo Geral.....   | 31 |
| 2.2 Objetivos Específicos .....   | 31 |
| <b>3 MÉTODOS</b> .....  | 32 |
| 3.1 Animais e Protocolo Experimental .....  | 32 |
| 3.2 Grupos Experimentais.....   | 32 |
| 3.3 Delineamento Geral do Estudo .....  | 32 |
| 3.4 Pletismografia de Cauda para Avaliação da Pressão Arterial.....   | 33 |
| 3.5 Métodos de Imagem <i>in Vivo</i> .....  | 34 |
| 3.5.1 <i>Ecocardiograma</i> .....   | 34 |
| 3.5.2 <i>Cintilografia de Perfusão Miocárdica de Alta Resolução com Sestamibi-Tc-99m (mini-SPECT)</i> ..... | 37 |
| 3.5.2.1 <i>Sistema de Aquisição de Imagens Tomográficas</i> .....   | 37 |
| 3.5.2.2 <i>Aquisição de Imagens de Perfusão Miocárdica em Repouso e Estresse</i> .....                      | 38 |
| 3.5.2.3 <i>Processamento de Análise das Imagens</i> .....   | 39 |
| 3.6 Métodos Estatísticos .....  | 41 |
| <b>4 RESULTADOS</b> .....   | 42 |
| 4.1 Caracterização da Amostra .....   | 42 |
| 4.2 Ecocardiograma .....  | 42 |
| 4.3 Cintilografia de Perfusão Miocárdica .....  | 42 |
| 4.3.1 <i>Distribuição Topográfica dos Defeitos de Perfusão</i> .....  | 42 |
| 4.3.2 <i>Análise Visual Semiquantitativa</i> .....  | 45 |
| 4.3.3 <i>Imagem Ilustrativa do Estudo de Perfusão</i> .....   | 49 |
| 4.4 Estudo de Correlação .....  | 50 |
| <b>5 DISCUSSÃO</b> .....  | 52 |

|   |    |
|---|----|
| 5.1 Modelo Experimental .....                                   | 52 |
| 5.2 Métodos de Imagem.....                                      | 55 |
| 5.2.1 <i>Ecocardiograma</i> .....                               | 55 |
| 5.2.2 <i>Cintilografia de Perfusão Miocárdica</i> .....         | 58 |
| <u>5.2.2.1</u> <i>Estresse Farmacológico - Dobutamina</i> ..... | 58 |
| <u>5.2.2.2</u> <i>Estudo da Perfusão Miocárdica</i> .....       | 60 |
| <b>6 CONCLUSÃO</b> .....  | 63 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....  | 64 |
| <b>ANEXO 1 COMITÊ DE ÉTICA</b> .....                            | 76 |

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A Epidemiologia da Hipertensão Arterial

A Hipertensão Arterial (HA) é uma condição clínica multifatorial caracterizada pelo aumento mantido dos níveis pressóricos iguais, ou maiores que 140/90 mmHg, constantemente associada a distúrbios metabólicos, alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos alvo, que se complica na presença de outros fatores de risco, como idade, sexo, etnia, excesso de peso e obesidade, ingestão excessiva de sal e álcool, sedentarismo, fatores socioeconômicos e genéticos (WEBER *et al.*, 2014; MALACHIAS *et al.*, 2016).

As doenças crônicas não transmissíveis ocupam o topo das causas de morbimortalidade, representando quase um terço dos óbitos no mundo, sendo que aproximadamente 63% das mortes são de indivíduos com idade entre 30 e 69 anos (WHO, 2011; MANSUR; FAVARATO, 2012; GERTEIS *et al.*, 2014). Dentre as doenças crônicas não transmissíveis, ressaltam-se as doenças cardiovasculares (DCv), as quais foram responsáveis pela maior causa de mortes no período de 2000 a 2012 (WHO, 2013).

A HA é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de DCv, sendo um dos mais importantes problemas de saúde pública no Brasil, pois gera elevados gastos ao sistema de saúde (MOSER, 2006; MALACHIAS *et al.*, 2016). É também considerada um dos principais fatores de risco modificáveis para DCv e, uma vez que pode ser prevenida ou tratada com terapias farmacológicas e não farmacológicas, e sua detecção precoce e a instalação de terapias de controle são primordiais para minimizar eventos cardiovasculares (MALACHIAS *et al.*, 2016). No entanto, é sabido que há uma baixa taxa de controle da doença, uma vez que os níveis de conhecimento da população em relação ao diagnóstico, evolução e tratamento, são pequenos (SCALA; MAGALHÃES; MACHADO, 2015).

Outra situação de suma importância envolvendo indivíduos com HA são os pacientes considerados hipertensos refratários ao tratamento, totalizando 15% da população de hipertensos. Esta situação clínica representa importante desafio na prática clínica, pois são caracterizados por não apresentarem controle da pressão arterial (PA), mesmo fazendo uso de três ou mais classes de anti-hipertensivos, sendo este quadro um agravante a longo prazo podendo, em alguns casos, evoluir para o óbito (OLIVEIRAS; SIERRA, 2014; HERMIDA *et al.*, 2015).

Diante disso, a Organização Mundial da Saúde documentou que cerca de 600 milhões de pessoas tenham HA e ainda que ocorram em torno de 7,1 milhões de mortes por ano, decorrentes dessa doença, indicando um crescimento mundial de 60% dos casos para 2020-25 (WHO, 2013).

## **1.2 Histórico e Evolução do Estudo da Hipertensão Arterial**

O britânico Lewis Stephen Hales em 1773 documentou a primeira medição de PA em modelos animais, inserindo tubos finos nas artérias de uma égua doente e observou que a força do ventrículo esquerdo (VE) elevava a coluna de sangue em 2,5m de altura e oscilava de acordo com a sístole e a diástole, respiração e movimentos do animal (LEWIS, 1994).

Posteriormente, a comunidade médica buscou evidências em estudos populacionais, como o estudo Framingham, para concluir que a hipertensão essencial, como era anteriormente conhecida, ou hipertensão primária, é uma condição qualitativamente distinta do estado de normotensão e que a PA elevada era um problema comum em diferentes populações (DUBLIN & LOTKA, 1936).

Por volta de 1994, as Sociedades Europeias de Hipertensão, de Cardiologia e de Aterosclerose desenvolveram recomendações conjuntas sobre a prevenção das doenças coronarianas na prática clínica, entre elas o manejo da HA, parte integrada nas várias versões de suas diretrizes (KJELDTSEN, 2018).

O primeiro consenso brasileiro de hipertensão arterial foi publicado em 1991 e atualmente o manejo clínico do paciente com HA é norteado pela Sétima Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (2016) (MALACHIAS *et al.*, 2016).

## **1.3 Etiologia e Fisiopatologia da Hipertensão Arterial**

A principal função da PA é auxiliar no fornecimento de um suprimento sanguíneo adequado através do sistema vascular para os tecidos e, conseqüentemente, sua regulação é uma função fisiológica complexa que depende das ações integradas de múltiplos sistemas de controle dos tecidos cardiovascular, renal, neural e endócrino e, a ocorrência de um distúrbio afetando um, ou mais desses sistemas, dá origem à HA (HALL *et al.*, 2011).

Por apresentar influência de múltiplos mecanismos na sua etiopatologia, a HA pode ser considerada como uma síndrome que integra vários fatores, quais sejam: genéticos;

hiperatividade do sistema nervoso simpático; mecanismos renais: ingestão excessiva de sódio e natriurese por pressão; mecanismos vasculares: disfunção das células endoteliais e via do óxido nítrico; mecanismos hormonais: sistema renina-angiotensina-aldosterona; obesidade; apneia obstrutiva do sono; resistência à insulina e síndrome metabólica; ácido úrico; vitamina D; diferenças de gênero; fatores raciais, étnicos e ambientais; e aumento da força de ejeção do ventrículo esquerdo e sua associação com o aumento da atividade simpática basal - conexões corticais (KASAL; NEVES, 2011; KIDAMBI *et al.*, 2012; MALACHIAS *et al.*, 2016).

No âmbito genético, a HA é considerada uma desordem poligênica complexa na qual muitos genes ou combinações de genes influenciam nos níveis da PA, sendo que a atual tabulação de dados conhecidos como variantes genéticas, que contribuem para a PA, bem como para seu aumento, inclui mais de 25 mutações raras e 120 singlenucleotídeos polimorfismos (KURTZ, 2010; KIDAMBI *et al.*, 2012; KIMURA *et al.*, 2012; KIMURA *et al.* 2013; KASAL; NEVES, 2011; WHELTON *et al.*, 2017). Presume-se que cada variante de gene tenha um impacto relativamente fraco na PA mas, pode produzir alterações significativas na HA quando em conjunto com as condições ambientais, sendo este modelo aplicável também a outras patologias complexas como diabetes e câncer (HALL *et al.*, 2012).

As questões ligadas a fatores vasculares nos remetem ao entendimento de conceitos clássicos da hemodinâmica na qual a PA é determinada pelo produto entre o débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica total (RVPT), dependendo estes da interação de uma série de fatores na qual a HA, por sua vez, pode surgir através de anormalidades em um ou em múltiplos fatores (KJELDSEN, 2018). É importante destacar neste momento que a contração funcional da musculatura lisa dos vasos é vista como um dos principais mecanismos envolvidos na HA. Deste modo, a hipertrofia da parede vascular terá como consequência o aumento na contratilidade da musculatura lisa dos vasos, aumento da resistência vascular periférica e elevação dos níveis pressóricos (KASAL; NEVES, 2011; KJELDSEN, 2018; MALACHIAS *et al.*, 2016).

A disfunção endotelial tem também participação na gênese da HA, visto que o endotélio atua na regulação do tônus vascular e, conseqüentemente, na resistência vascular periférica (RVP), sintetizando substâncias vasoativas tais como o vasodilatador óxido nítrico e o peptídeo vasoconstritor endotelina (LONDON; PANNIER; SAFAR, 2019). Em relação ao óxido nítrico, um comprometimento na sua produção está relacionado ao desenvolvimento da HA e aterosclerose (SUN *et al.*, 2012), podendo esta provocar um efeito hipertensivo crônico quando ativados receptores do Tipo A (ETA), ou efeito anti-hipertensivo via ativação do receptor do Tipo B (ETB) nos rins (SCHIFFRIN, 2005; BABBETTE *et al.*, 2008).

A ativação da cascata enzimática hormonal, o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, desempenha papel fundamental por meio da presença da enzima renina, que sob a ação de alterações na pressão da arteríola aferente renal e concentração de sódio na mácula densa, é liberada do aparelho justaglomerular e, ao interagir com seu substrato plasmático angiotensinogênio, transforma-se em angiotensina I que sob a ação de uma enzima conversora de angiotensina nos pulmões e demais locais, transforma-se em angiotensina II, que apresenta forte ação sobre os vasos, promovendo vasoconstrição, aumento do tônus simpático, estimulando a secreção de aldosterona e a reabsorção de sódio e ainda concorrendo para a liberação de hormônio antidiurético quando ligado ao receptor AT1 (NAKAGAWA; SIGMUND, 2017; KASAL; NEVES, 2011; KIDAMBI *et al.*, 2012; MALACHIAS *et al.*, 2016).

O sistema nervoso autônomo tem participação importante no controle da PA e pode estar alterado em pacientes com HA, pois a atividade simpática e o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona cooperam na regulação da PA, uma vez que os neurônios simpáticos ativam o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona intra-renal e a angiotensina II facilita a transmissão nervosa simpática (JACKSON *et al.*, 2013). Assim, o inadequado funcionamento do sistema nervoso simpático induz o aumento do débito cardíaco e resistência vascular periférica (MALACHIAS *et al.*, 2016; NAKAGAWA; SIGMUND, 2017).

Algumas alterações também são observadas quando nos remetemos ao funcionamento renal que com a elevação da PA gera a ativação do fenômeno pressão-natriurese, promovendo excreção de sódio e água até que haja normalização da PA. Sendo assim, os rins exercem um papel ímpar nesse mecanismo regulador, com o feedback negativo, em longo prazo da PA, através do ajuste do volume plasmático. A HA pode, então, se desenvolver quando se altera a capacidade renal de excretar sódio e água, sendo esta uma das intervenções empregadas pelos tratamentos farmacológicos (BASSETO, 2015; KIDAMBI *et al.*, 2012; MALACHIAS *et al.*, 2016).

#### **1.4 Diagnóstico e Classificação da Hipertensão Arterial**

Para a realização do diagnóstico da HA deve-se levar em consideração as peculiaridades de cada indivíduo (criança, adulto, idoso, gestante e obeso), devendo também ser investigadas as lesões de órgãos-alvo e doenças associadas, tornando-as parte integrante da avaliação a aferição da PA em consultório, e/ou fora dele, por meio de técnica adequada e equipamentos validados (VEIGA *et al.*, 2003; MYERS *et al.*, 2010; MALACHIAS *et al.*, 2016).

Deve-se, também, para fechamento de diagnóstico, bem como para critérios de avaliação individual, conhecer o histórico, tanto familiar quanto pessoal, realizar exame físico contemplando dados antropométricos, como peso e altura, para cálculo do índice de massa corporal, circunferência abdominal e investigação clínica/laboratorial, propondo em alguns casos, avaliações complementares (MALACHIAS *et al.*, 2016; KJELDSSEN, 2018).

Objetivando maior acurácia durante as mensurações, foram implantadas medidas para avaliação em casos de suspeita de hipertensão mascarada (MALACHIAS *et al.*, 2016), hipertensão do avental branco (STAESSEN *et al.*, 1994; MALACHIAS *et al.*, 2016), sendo necessário considerar medidas realizadas através da monitorização ambulatorial da pressão arterial, ou pela medição residencial da pressão arterial, a fim de diagnosticar ou não a HA (PARATI *et al.*, 2010; O'BRIEN *et al.*, 2013; MANCIA, 2013; MALACHIAS *et al.*, 2016).

Desse modo, os valores de referência para determinação da HA, através das medidas de consultório, são de: pressão arterial sistólica (PAS)  $\geq 140$  mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD)  $\geq 90$  mmHg; na monitorização ambulatorial da pressão arterial em vigília a PAS  $\geq 135$  mmHg e/ou PAD  $\geq 85$  mmHg, enquanto que durante o sono PAS  $\geq 120$  mmHg e/ou PAD  $\geq 70$  mmHg; para a avaliação residencial considera-se a PAS  $\geq 135$  mmHg e/ou PAD  $\geq 85$  mmHg (PARATI *et al.*, 2010; O'BRIEN *et al.*, 2013; MALACHIAS *et al.*, 2016).

É considerado normotenso quando as medidas de consultório são  $\leq 120/80$  mmHg e as medidas fora dele, monitorização ambulatorial da pressão arterial ou monitorização residencial da pressão arterial, são  $< 135/85$  mmHg onde HA controlada é determinada quando, sob tratamento de anti-hipertensivo, sua PA se mantém tanto no consultório, quanto fora (MANCIA *et al.*, 2013; JAMES *et al.*, 2014; MALACHIAS *et al.*, 2016).

Posterior a todas as classificações, para um diagnóstico seguro, o delineamento dos estágios da HA para maiores de 18 anos, tanto casual quanto no consultório, são fixados em normotensos (PAS  $\leq 120$  e PAD  $\leq 80$  mmHg), pré-hipertensão (PAS entre 121- 139 e PAD entre 81- 89 mmHg), hipertensão estágio 1 (PAS entre 140 – 159 e PAD entre 90 – 99 mmHg), hipertensão estágio 2 (PAS entre 160 – 179 e PAD entre 100 – 109 mmHg), hipertensão estágio 3 (PAS  $\geq 180$  e PAD  $\geq 110$  mmHg) e, por fim, para hipertensão sistólica isolada, se PAS  $\geq 140$  e PAD  $< 90$  mmHg, ela deve ser classificada nos estágios 1, 2 e 3 (MALACHIAS *et al.*, 2016).

Subsequente ao diagnóstico, a tomada de decisão acontecerá por meio da conduta de tratamento adotada, buscando ainda a alteração do estilo de vida dessa população, para alcançar a redução da PA, proteção de órgãos-alvo, prevenção de desfechos cardiovasculares e renais, que, por meio de metas recomendadas para cada situação, é possível ponderar a eficiência dessa

terapêutica, estando ela disponível por intermédio de diuréticos (ALLHAT *et al.*, 2002); bloqueadores beta adrenérgicos, bloqueadores dos canais de cálcio (NEAL, MCMAHON; ALLHAT *et al.*, 2002; DAHLOF *et al.*, 2005), inibidores da enzima conversora de angiotensina (HANSSON *et al.*, 1999; NEAL, MCMAHON; CHAPMAN, 2000; ALLHAT *et al.*, 2002), bloqueadores dos receptores da angiotensina II (YUSUF *et al.*, 2008), inibidores adrenérgicos de ação central – agonistas alfa-2 centrais, alfabloqueadores – bloqueadores alfa-1 adrenérgicos, vasodilatadores diretos e inibidor direto da renina (MALACHIAS *et al.*, 2016).

### 1.5 Hipertensão Arterial e Lesões de Órgãos-Alvo

Em relação à avaliação da HA isolada, a exposição crônica dos pacientes a essa patologia pode levar a diversos danos nos órgãos-alvo, tendo como os principais o coração, rim e cérebro (MULLER *et al.*, 2014), e, de acordo com as recomendações descritas pelas Diretrizes, faz-se necessário o acompanhamento desses órgãos por meio de exames que avaliem rotineiramente a morfologia e a função (GREENLAND *et al.*, 2010; MALACHIAS *et al.*, 2016).

Em pacientes com doença renal crônica a HA é a comorbidade mais comum, sendo relatada entre 67% a 92% dos pacientes, com prevalência crescente à medida que a função renal declina. A HA pode ocorrer como um resultado de doença renal; porém, sua presença também pode acelerar as lesões renais (WHELTON *et al.*, 2017).

Por mais que o risco de dano renal grave em pacientes com HA não complicada seja baixo, quando comparada com outras complicações cardiovasculares, a HA ainda permanece, devido à sua enorme prevalência na população em geral, como a segunda principal causa de doença renal em estágio terminal depois de diabetes. Além disso, danos sutis nos órgãos-alvo, como microalbuminúria, hipertrofia ventricular esquerda e disfunção cognitiva, ocorrem no início da hipertensão e podem não ser reconhecidos até que ocorram complicações graves (SEGURA *et al.*, 2004; MENNUNI *et al.*, 2014).

A nível cardíaco, foco deste estudo, algumas alterações como a hipertrofia ventricular esquerda se manifestam de forma secundária à hipertensão, favorecendo a doença cardíaca isquêmica e à insuficiência cardíaca (IC) (WHELTON *et al.*, 2017).

Essa hipertrofia ventricular esquerda nada mais é que o aumento da massa ventricular devido a uma adaptação miocárdica gerada por sobrecarga mecânica crônica, imposta ao coração pela HA que, em consequência desse aumento persistente da pós-carga ventricular, há uma expansão da massa mitocondrial, multiplicação em paralelo do número de miofibrilas, com

consequente aumento da espessura individual dos miócitos, aumento de deposição da matriz extracelular e redução do estresse parietal, como previsto na lei de Laplace (BRISTOW, 1999; SHENASA, 2017). Consequentemente, a deterioração da função sistólica ventricular, associada a um quadro permanente de HA, pode estar associada também à ocorrência de destruição celular por necrose ou apoptose (CHAPEL *et al.*, 2017; PFEFFER, 2017).

O mecanismo fisiopatológico que evidencia esses acontecimentos é demonstrado na maioria dos pacientes hipertensos, no qual a disfunção diastólica do VE é a primeira manifestação detectável, associada ao remodelamento cardíaco, que ocorre devido à sobrecarga de pressão resultando, predominantemente na hipertrofia concêntrica do VE, caracterizada pelo aumento da espessura da parede do coração, com padrão de crescimento em paralelo dos sarcômeros e com dilatação pequena da cavidade do ventrículo esquerdo (BERNARDO *et al.*, 2010; WEEKS & MCMULLEN, 2011).

Vale ressaltar, ainda, que a hipertrofia cardíaca de caráter concêntrico, associada à diminuição da densidade capilar e ao aumento da deposição de colágeno, pode, junto a estes, constituir-se como um possível mecanismo envolvido na progressão da IC (GROSSMAN *et al.*, 1975; HEIN *et al.*, 2003; BERNARDO *et al.*, 2010).

Por outro lado, o remodelamento cardíaco, com uma sobrecarga de volume predominante, pode ser encontrada em casos como obesidade, doença renal crônica e anemia, levando a uma hipertrofia excêntrica caracterizada pelo aumento da parede do coração, com padrão de crescimento em série dos sarcômeros e dilatação da cavidade do ventrículo esquerdo (MESSERLI, 1982; BERNARDO *et al.*, 2010; WEEKS & MCMULLEN, 2011).

Alguns estudos têm demonstrando que a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) em pacientes com síndrome clínica da IC é um marcador fenotípico clinicamente útil (BORLAUG; REDFIELD, 2011; PAULUS; TSCHOP, 2013). A síndrome da IC pode ser classificada segundo valores de referência em: a) IC com fração de ejeção preservada (ICFEP), quando a FEVE  $\geq 50\%$ ; b) IC intermediária quando a FEVE fica entre 41% a 49%; e c) IC com fração de ejeção reduzida (ICFER  $\leq 40\%$ ) (PONIKOWSKI *et al.*, 2016). Nesse contexto, a HA pode estar vinculada tanto à ICFEP, quanto à ICFER, sendo que na ICFEP observa-se maior incidência de HA, DM tipo II, arritmias cardíacas, doença obstrutiva crônica, artrite e depressão em mulheres, enquanto que na ICFER há a presença de histórico de fibrilação atrial e HA com ocorrência em sua maioria nas mulheres e idosos (LAM *et al.*, 2011; PONIKOWSKI *et al.*, 2016).

Dessa forma, quando a sobrecarga de pressão é sustentada, a disfunção diastólica progride, o VE é remodelado concentricamente e, em uma fase inicial, a HA ocorre na presença

de fração de ejeção preservada. No entanto, quando a sobrecarga de volume é sustentada, a dilatação do VE progride, levando ao remodelamento excêntrico do VE, que leva ao desenvolvimento da ICFER. O estágio final da cardiopatia hipertensiva, geralmente resultado de longa sobrecarga de pressão e volume, consiste na cardiomiopatia dilatada com disfunção diastólica e fração de ejeção reduzida (SELIGER *et al.*, 2015).

Do ponto de vista clínico, a cardiopatia hipertensiva pode ser dividida em quatro categorias, com base no seu impacto fisiopatológico e clínico da hipertensão no coração, sendo Grau I: Disfunção diastólica isolada do VE sem hipertrofia do VE; Grau II: Disfunção diastólica do VE com hipertrofia concêntrica do VE; Grau III: IC clínica (dispneia e edema pulmonar com fração de ejeção preservada); e Grau IV: Cardiomiopatia dilatada com IC e fração de ejeção reduzida (SELIGER *et al.*, 2015; WADDINGHAM; PAULUS, 2017).

Essas categorias indicam que a disfunção diastólica é uma complicação bastante comum da HA e pacientes com ICFEP apresentam, em sua maioria, hipertrofia do VE, lesões da artéria coronária, rarefação microvascular coronariana e fibrose miocárdica, que pode ocorrer devido à presença da disfunção microvascular coronariana, resultante de um estado inflamatório sistêmico e estresse oxidativo, maximizado pelas comorbidades da ICFEP (PAULUS; TSCHOPE, 2013; MOHAMMED *et al.*, 2015; WADDINGHAM; PAULUS, 2017).

Vale destacar, também, a importância da inflamação vascular no agravamento das lesões em órgãos-alvo, uma vez que têm sido crescentes as evidências indicando que a inflamação vascular está envolvida tanto no início, quanto no desenvolvimento da HA, em conjunto com outros fatores (BAUTISTA, 2001; SESSO, 2003). Do mesmo modo outros estudos têm fortalecido a associação de lesões ateroscleróticas precoces e tardias com sinais de inflamação vascular local e sistêmica (LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002), na qual observa-se que níveis aumentados da proteína C, presentes em indivíduos hipertensos, reativa um marcador inflamatório e contribuem para a lesão de órgãos-alvo (MIKAEL *et al.*, 2017).

Acentuando essas evidências, ensaios bioenzimáticos documentam que a presença de placas ateromatosas na parede vascular estimula a liberação de interleucinas (IL) pró-inflamatórias, sendo elas a IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  por parte de monócitos ativados, bem como a expressão de ICAM-1 (intracelular adhesion molecule-1) e VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1) pelas células endoteliais, gerando uma diminuição na biodisponibilidade de óxido nítrico, passo este considerado crítico no desenvolvimento da aterosclerose, da isquemia microvascular e da HA, com seus subsequentes eventos vasculares (IKEDA; TAKAHASHI; SHIMADA, 2003).

Desse modo, a associação da hipertensão, inflamação e aterosclerose potencializam a disfunção endotelial que, por sua vez, perpetua a ação lesiva desses mecanismos, agravando a disfunção do endotélio e também o estado geral de saúde/doença desse indivíduo (LONDON; PANNIER; SAFAR, 2019).

Vários estudos têm documentado que as comorbidades não cardíacas são altamente prevalentes na ICFEP (ARTHER *et al.* 2012; WADDINGHAM; PAULUS, 2017), sendo de maior importância a obesidade/sobrepeso, HA, DM, doença pulmonar obstrutiva crônica, anemia e doença renal crônica. Todas essas patologias têm capacidade de induzir um estado inflamatório sistêmico, afetando o endotélio microvascular coronário, conforme demonstrado em amostras de biópsia do miocárdio em pacientes com ICFEP. Isso ocorre por meio de moléculas de adesão endotelial com aumento nos níveis de VCAM (vascular adhesion molecule) e selectina-E (VAN HEEREBEEK *et al.*, 2008; WESTERMANN *et al.*, 2011). Esse aumento leva à ativação e migração subendotelial dos leucócitos circulantes (WESTERMANN *et al.*, 2011) e citocinas pró-inflamatórias, também conhecidas por desencadear a produção endotelial de espécies reativas de oxigênio (ERO), por meio da ativação de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidases (GRIENGLING; SORESCU, USHIO-FUKAI, 2000; TEO; CHAN, LAM, 2016).

Ainda neste contexto, muito se tem documentado que a resposta vasodilatadora do leito microvascular coronariano à acetilcolina pode estar reduzida na ICFEP, como resultado da inflamação endotelial microvascular coronariana e se correlacionar, em sua maioria, com a disfunção diastólica do VE (TSCHOPE *et al.*, 2005).

No que tange à disfunção endotelial periférica, há evidências de que este pode ser um fator preditor independente no desfecho de pacientes com ICFEP (AKIYAMA *et al.*, 2012), sugerindo um envolvimento causal da disfunção endotelial na ICFEP (LAM; BRUSTSAERT, 2012; WADDINGHAM; PAULUS, 2017).

## **1.6 Estudos da Hipertensão Arterial em Modelos Animais**

É de extrema importância a utilização de modelos animais para a investigação de mecanismos fisiopatológicos e para testar os efeitos de novas terapias.

Um dos modelos mais populares usados para estudar a genética da hipertensão até o presente momento é o rato sensível ao sal (*Dahl*), descrito por Lewis (1994). Nesse experimento foram utilizados ratos *Sprague-Dawley* e a pressão sanguínea foi registrada após a ingestão de

uma dieta rica em sódio (8% NaCl); porém, não foi observada elevação na pressão sanguínea na maioria dos animais, o que permitiu aos autores a interpretação da existência de fatores genéticos influenciando esta resposta, sugerindo o papel da herança genética na hipertensão (LEWIS, 1994).

Além deste modelo desenvolvido nos Estados Unidos, existem vários outros modelos de ratos geneticamente hipertensos, estudados em outras regiões do mundo, incluindo o rato espontaneamente hipertenso (SHR), que é o modelo mais utilizado atualmente (RAPP, 2000; FAZAN JÚNIOR; DIAS DA SILVA; SALGADO, 2001; ZAPAROLLI; GONTIJO, 2010).

Diante disso, o estudo experimental da HA tem sido crescente, principalmente utilizando a linhagem de ratos SHR, desenvolvida por Okamoto e Aoki, por meio de reprodução genética, que resulta em ratos espontaneamente hipertensos (OKAMOTO *et al.*, 1963).

Este modelo experimental de HA é similar, em muitos aspectos, à hipertensão primária humana (TRIPPODO & FROHLICH, 1981). Como caracterização os animais desenvolvem precocemente uma elevação da pressão arterial e hipertrofia do ventrículo esquerdo do tipo concêntrica (TRIPPODO & FROHLICH, 1981; ANVERSA *et al.*, 1984 apud BASSETO, 2015). O crescimento da massa ventricular permite a manutenção da função sistólica normal, apesar da elevada PA (OKAMOTO; AOKI, 1963; OKAMOTO *et al.* 1967; TRIPPODO; FROHLICH, 1981; ANVERSA *et al.*, 1984 apud BASSETO, 2015), o que nos leva a sugerir que essa linhagem seria eficiente em desenvolver um modelo experimental de insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada.

Por essa razão, faz-se necessário o conhecimento da fisiopatologia da evolução da doença nestes animais utilizados para o estudo da HA, em específico o SHR, para estudos posteriores, bem como aplicação na prática clínica, uma vez que já se conhece o comportamento moderado pelo nível de pressão considerado como hipertensão espontânea entre a 7ª e a 15ª semanas (PINTO; PAUL; GANTEN, 1998), atingindo um apogeu entre a 20ª e 28ª semanas. Não há influência sexual nesse período. Todavia, os fatores ambientais podem acarretar alterações nessa fase e ainda apresentar um aumento da resistência periférica total, com débito cardíaco normal ou diminuído e progressiva hipertrofia ventricular (FAZAN JÚNIOR; DIAS DA SILVA; SALGADO, 2001).

Segundo Zapparoli e colaboradores (2010), o SHR pode ser considerado como um surpreendente modelo de hipertensão experimental que auxilia estudos clínicos de hipertensão essencial humana. Desta forma, verifica-se a semelhança entre a hipertensão humana e a observada no SHR, da sua predisposição genética para hipertensão, sem etiologia específica,

associada ao aumento da resistência periférica total, sem expansão de volume e à similaridade entre as respostas aos tratamentos farmacológicos (ZAPAROLI *et al.*, 2010).

Em relação ao desenvolvimento da hipertensão e das alterações da frequência cardíaca em SHR jovens, pesquisadores observaram que a mensuração indireta da pressão arterial sistólica se mostrou similar entre SHR e ratos *Wistar Kyoto* (WKY) e que a frequência cardíaca elevada precede a elevação da pressão arterial sistólica, sugerindo que a taquicardia pré-hipertensiva provavelmente seja o primeiro passo do desenvolvimento da hipertensão nos animais SHR (DICKHOUT; LEE, 1998).

A hipertensão do SHR adulto está associada ao aumento da resistência periférica total e presença de um débito cardíaco normal, ou diminuído, embora nos animais mais jovens (< 12 semanas) tivesse sido observado débito cardíaco normal ou aumentado (POTTS; MCKEOWN; SHOUKAS, 1998).

Com o desenvolvimento da hipertensão arterial, o SHR cursa com uma progressiva hipertrofia cardíaca. O débito cardíaco permanece nos níveis normais, porém, com o progresso da hipertensão, nos estágios finais, a função cardíaca começa a ser comprometida, e, conseqüentemente, o débito cardíaco começa a reduzir, em função do desenvolvimento de uma insuficiência cardíaca (THOMAS; RANKIN, HEAD, 1997).

É sabido que a HA gera danos à função endotelial e ao remodelamento vascular (WU *et al.*, 2017; MANN, 2005; AZEVEDO *et al.*, 2016). No entanto, Bernatova (2014), em sua revisão, mostra quão controversos são os achados referentes à interferência do óxido nítrico e à disfunção endotelial em modelos de animais SHR, pois, esta última pode sofrer influência de fatores como a idade do animal, métodos usados para avaliar a função vascular e tipo de artéria analisada; desta forma, não podendo afirmar que a disfunção endotelial precede a HA nesse modelo animal (BERNATOVA, 2014).

Assim, no melhor do nosso conhecimento, até a presente data, não são encontrados na literatura estudos que avaliem, nesse modelo de ratos SHR, a presença de alterações da microcirculação miocárdica ocorrendo na presença de inflamação, assim como sua possível correlação com a progressão da disfunção ventricular.

Diante disso, é plausível considerar que estudos voltados para melhorar o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no dano miocárdico e progressão da disfunção cardíaca como alterações de perfusão, disfunção ventricular, remodelamento do ventrículo esquerdo e inflamação vascular, podem ser importantes para direcionar terapias que sejam eficazes para retardar a progressão da cardiopatia associada à HA.

Dessa forma, por não contarmos com estudos que caracterizem as alterações de perfusão miocárdica na hipertrofia ventricular esquerda ou ICFEP, e sua correlação com o desenvolvimento da disfunção diastólica e graus de remodelamento, julgamos necessária tal contribuição.

### **1.7 Hipótese**

Diante do exposto, consideramos que as alterações estruturais morfológicas e funcionais estão bem documentadas na literatura, no que tange à hipertrofia ventricular esquerda em ratos SHR. Dessa forma, buscamos registrar, pela primeira vez, a presença de defeitos de perfusão reversíveis *in vivo*, empregando a técnica de cintilografia de perfusão miocárdica de alta resolução com Sestamibi-Tc-99m (mini-SPECT). Adicionalmente pretendemos fundamentar possíveis correlações entre a isquemia miocárdica e dados ecocardiográficos relacionados ao remodelamento do ventrículo esquerdo.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Caracterizar a perfusão miocárdica e as alterações morfológicas do ventrículo esquerdo em um modelo experimental de hipertensão arterial crônica de ratos SHR.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar as principais alterações morfológicas no ventrículo esquerdo de animais SHR por meio do Ecocardiograma;
- Avaliar a perfusão miocárdica em repouso e estresse por meio da cintilografia miocárdica;
- Correlacionar as alterações de perfusão miocárdica com as variáveis morfológicas encontradas no ecocardiograma dos animais SHR.

## 3 MÉTODOS

### 3.1 Animais e Protocolo Experimental

Após a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Protocolo: 240/2019 - Anexo 1), iniciou-se o protocolo experimental. Foram utilizados neste estudo ratos de 22 semanas de idade (Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil), mantidos em alojamento climatizado no biotério do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, com livre acesso a água e ração padrão, submetidos a ritmo de 12 horas de luz/sombra e temperatura controlada ( $21\pm 3^{\circ}\text{C}$ ).

### 3.2 Grupos Experimentais

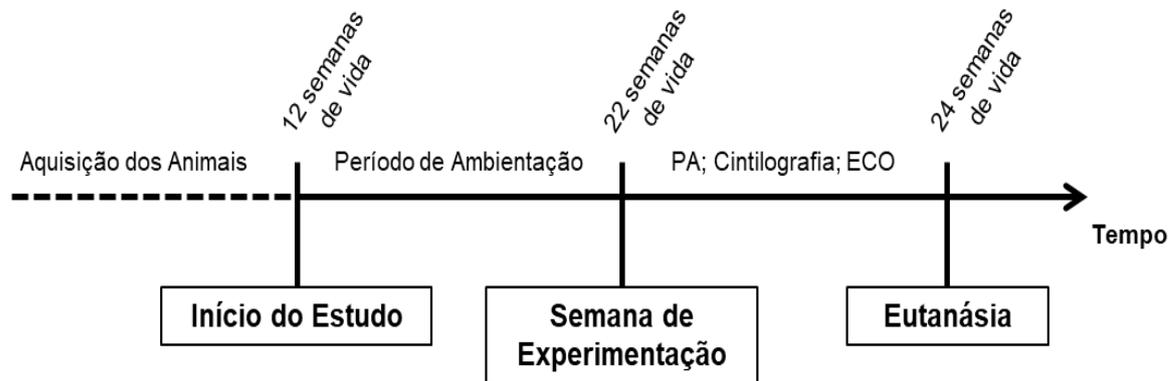
Os grupos experimentais, com o respectivo número de animais por grupo, foram:

- Grupo Controle (n = 10): Ratos *Wistar Kyoto*, normotensos, de 12 semanas de vida; e
- Grupo de Investigação (n = 10): Ratos espontaneamente hipertensos - SHR, de 12 semanas de vida.

### 3.3 Delineamento Geral do Estudo

Os animais foram adquiridos em biotério externo, com idade de 12 semanas. Após o período de cinco semanas de ambientação e para os animais atingirem a idade adulta, com a hipertensão arterial instalada, todos os animais foram submetidos à análise da PA pelo método pletismográfico de cauda. Em seguida, cada um dos grupos foi submetido aos seguintes exames de imagem: Doppler-ecocardiograma, para avaliação da função sistólica e remodelamento ventricular esquerdo; e cintilografia de perfusão miocárdica, com Sestamibi-Tc-99m (mini-SPECT) em repouso e sob estresse com dobutamina, para caracterização da perfusão miocárdica.

**Figura 1** - Delineamento geral do estudo.



Fonte: FARIA, G.S. (2020).

### 3.4 Pletismografia de Cauda para Avaliação da Pressão Arterial

Todos os grupos foram submetidos à medida da pressão arterial sistólica, empregando-se a pletismografia de cauda, utilizando o sistema CODA®, Kent Scientific Corporation. Este é um sistema de registro indireto de PA, em que os animais são acondicionados em um tubo cilíndrico de acrílico, aquecidos por meio de uma plataforma com temperatura fixa de 38°C e ventilados através de ar ambiente para a realização de quinze medidas consecutivas da PA (figura 2B).

Foi acoplado, na região proximal da cauda dos animais, um manguito de borracha que possui a função de insuflar e desinflar automaticamente, em intervalos fixos de 15 segundos. Próximo ao manguito foi fixado um transdutor de pulso (sensor) que capta os sinais enviados e registrados em um computador. Inicialmente todos os animais foram submetidos a um período de adaptação de cinco semanas para manuseio durante o exame. Nas três primeiras semanas foi realizada a simulação da aferição da PA, inserindo os animais no tubo de acrílico e acoplando o manguito e o transdutor de pulso na cauda junto à plataforma de temperatura, simulando sua realização. Na quarta semana os animais passaram pelo procedimento de aquisição das medidas durante dois dias, como forma de teste ao experimento, não sendo consideradas essas medidas. Em seguida, na quinta semana, quinze novas medidas foram realizadas e, assim, a PA foi aferida através do registro de dez medidas, sendo descartadas cinco medidas de forma a aumentar a confiabilidade dos dados gerados, uma vez que o animal, ao ser introduzido junto ao tubo cilíndrico, pode se mexer durante o procedimento, ou ainda termos interferências externas a serem consideradas (PFEFFER; PFEFFER; FROHLICH, 1971).

Este procedimento foi realizado, antes de iniciar qualquer protocolo experimental, com o objetivo de avaliar os valores de pressão arterial em todos os animais, além de garantir que o grupo de investigação possuía médias de PA que caracterizam o quadro hipertensivo.

**Figura 2** - Pletismógrafo de cauda usado para avaliação da pressão arterial.

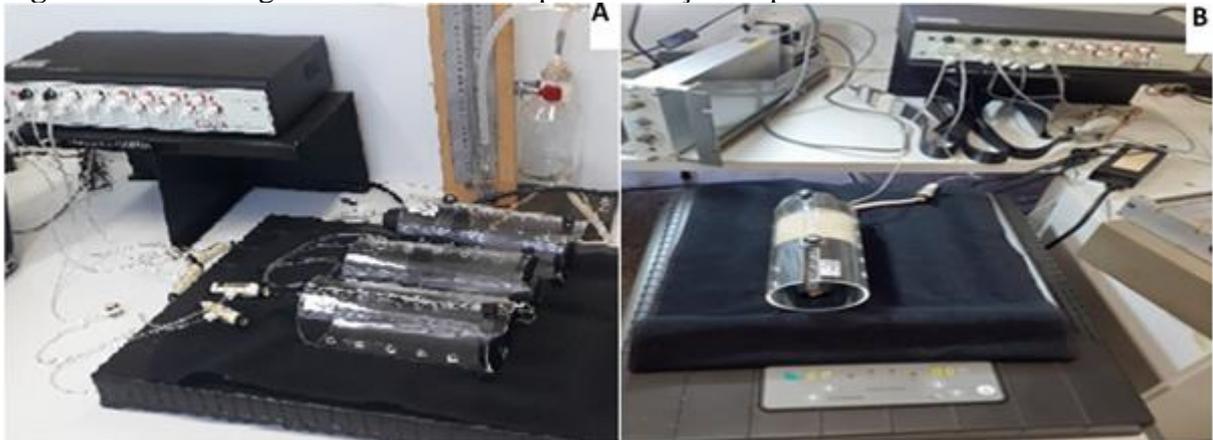


Imagem ilustrativa do equipamento Pletismógrafo de cauda utilizado para avaliação da pressão arterial; **A** = Contendo plataforma aquecida. **B** = Posicionamento do animal em tubo cilíndrico de acrílico, manguito de borracha e transdutor de pulso. Fonte: FARIA, G.S. (2020).

### 3.5 Métodos de Imagem *in Vivo*

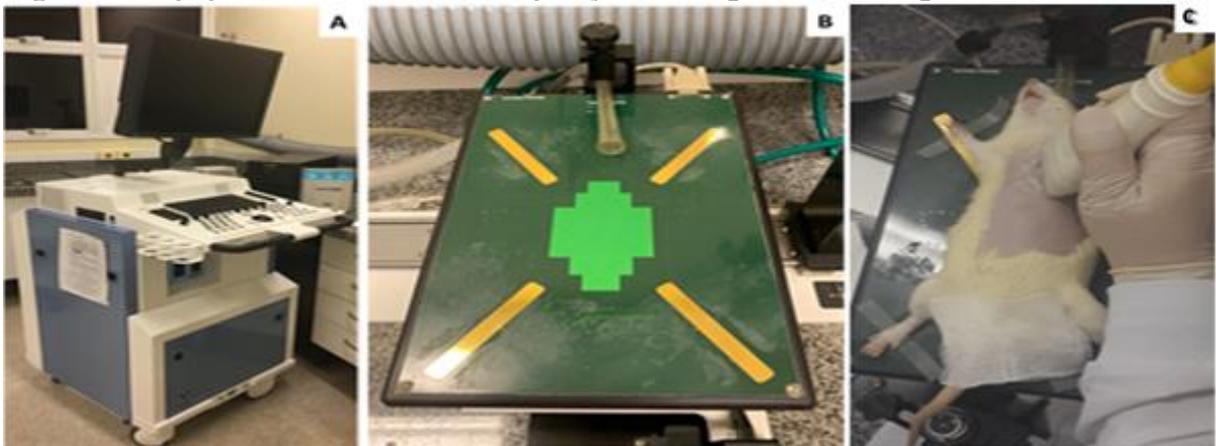
#### 3.5.1 Ecocardiograma

Para a aquisição das imagens ecocardiográficas foi empregado um sistema de ultrassom, comercialmente disponível e dedicado ao estudo de pequenos animais Vevo® 2100, (VisualSonics Inc, Toronto, Canadá), (figura 3A), com um transdutor linear de 20 MHz de frequência fundamental. As imagens foram adquiridas e processadas por um único examinador habilitado, com experiência na realização de ecocardiograma de pequenos animais.

Após a sedação por Ketamina e Xilazina (100 e 10 mg/kg, respectivamente), por injeção intramuscular, realizávamos o teste de pinçamento caudal (teste reflexo), para então darmos início ao protocolo, com a devida preparação do animal, incluindo tricotomia e depilação da região anterior do tórax, por extração mecânica e seguido de uso de creme depilatório comercial humano. Os animais foram pesados e posicionados em decúbito dorsal sobre uma plataforma inclinável (VisualSonics Inc, Toronto, Canadá), com controle de temperatura, para evitar hipotermia e monitorização com eletrocardiograma de superfície, mantida durante todo o período do exame (figura 3B e 3C).

Os animais permaneceram em ventilação espontânea. Para a aquisição de imagens foi realizado o ecocardiograma transtorácico, utilizando-se o transdutor de alta frequência. Após a aplicação do gel aquecido sobre o transdutor, este foi posicionado levemente à esquerda do esterno, entre a quarta e sexta costelas, tomando-se o cuidado de não realizar pressão excessiva, evitando a indução de bradicardia.

**Figura 3** - Equipamentos utilizados na aquisição de imagens ecocardiográficas.



**A** = Imagem ilustrativa do equipamento Vevo utilizado para aquisição das imagens ecocardiográficas; **B** e **C** = Plataforma inclinável para o posicionamento do animal. Fonte: FÁRIA, G.S. (2020).

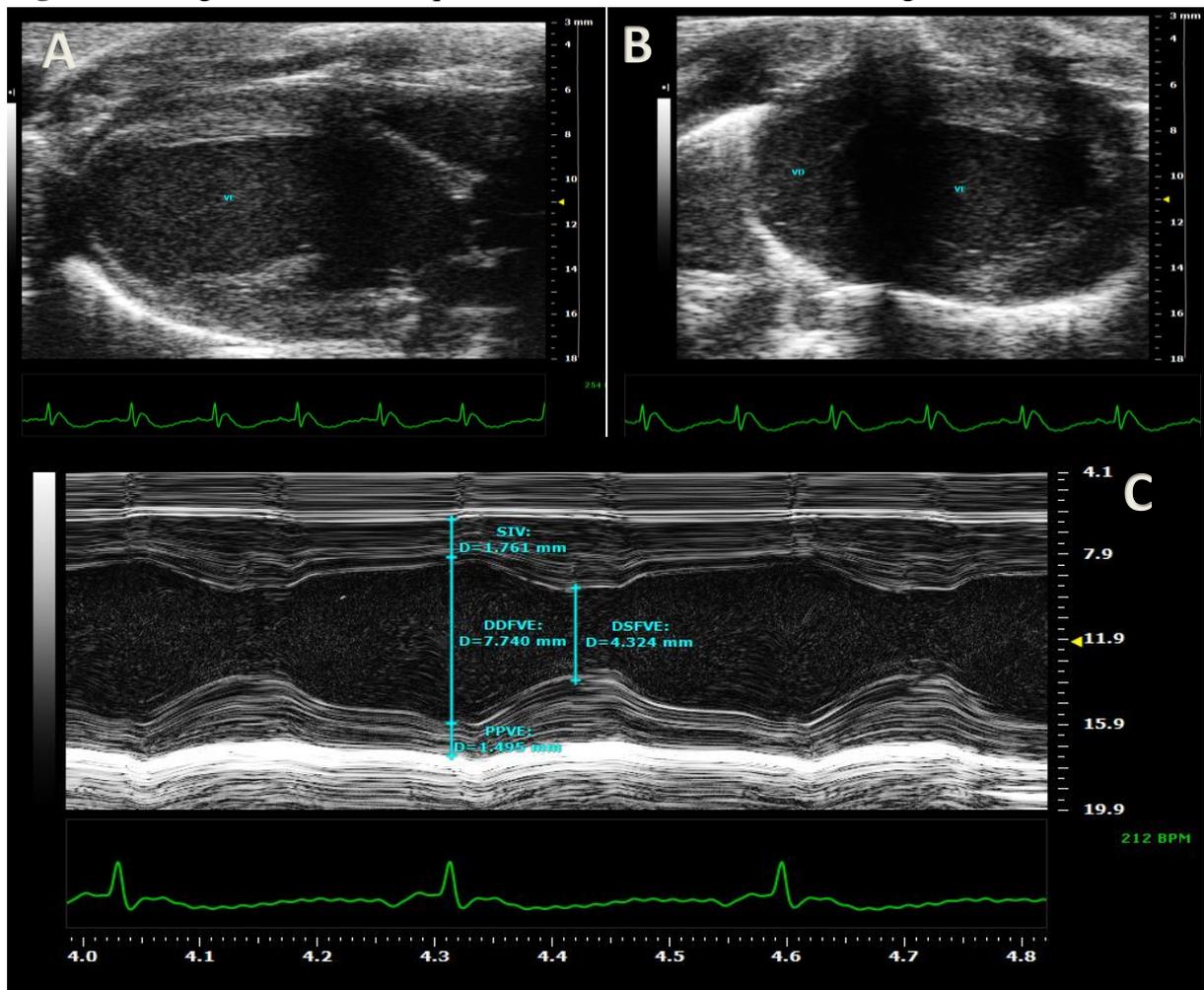
As seqüências de vídeos foram adquiridas com pelo menos três ciclos cardíacos nas seguintes projeções: 1- paraesternal eixo longo (figura 4A); e 2- paraesternal eixo curto (figura 4B) em nível dos músculos papilares. Foram adquiridas imagens estáticas em modo M, guiado pela imagem bidimensional na janela paraesternal em eixo longo. Elas foram obtidas perpendicularmente às paredes do ventrículo esquerdo, para a medida da espessura do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo, assim como das suas dimensões sistólica e diastólica.

O diâmetro diastólico do VE foi medido na dimensão diastólica ventricular máxima e a dimensão sistólica do VE foi obtida durante a máxima movimentação anterior da parede posterior, (figura 4C), seguindo as diretrizes de quantificações cavitárias da Sociedade Americana de Ecocardiografia e da Sociedade Europeia de Imagem Cardiovascular (LANG *et al.*, 2015).

A massa do VE (MVE) foi calculada de acordo com a fórmula recomendada pela *American Society of Echocardiography* (ASE – 2005):  $0,8 \times [1,04 \times [(\text{septo interventricular} + \text{dimensão interna ventricular esquerda} + \text{parede posterior})^3 - \text{dimensão interna ventricular esquerda}^3]] + 0,6\text{g}$  (LANG *et al.*, 2005). O índice de massa foi obtido a partir da divisão da

MVE pela superfície corporal, calculada pela fórmula de Dubois & Dubois (1916). Assim, conforme estabelecido pela *American Society of Echocardiography* (LANG *et al.*, 2005), calculando a espessura relativa (ER) da parede ventricular pela fórmula  $2 \times$  espessura da parede posterior/Diâmetro diastólico do VE, permite-se a categorização da hipertrofia ventricular em concêntrica, se ER for maior que 0,42, e, em excêntrica, se a ER for menor ou igual a 0,42.

**Figura 4** - Imagem ilustrativa adquirida durante o exame de ecocardiograma.

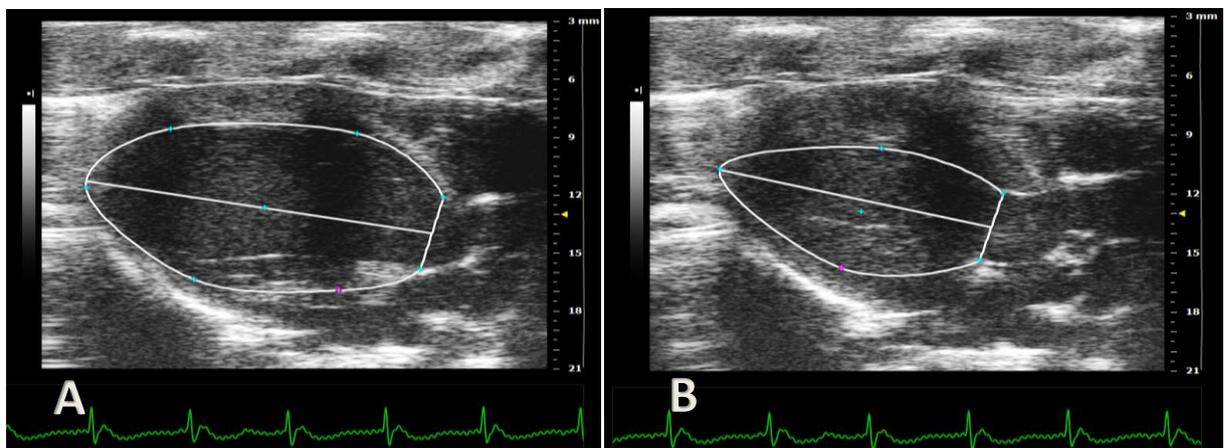


**A** = Imagem adquirida na janela paraesternal eixo longo; **B** = Imagem paraesternal eixo curto em nível papilar; **C** = Imagem em Modo M, ilustrando as medidas do septo interventricular (SIV), diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (DDFVE), parede posterior do ventrículo esquerdo (PPVE) e diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (DSVE). Fonte: FARIA, G.S. (2020).

As imagens obtidas foram gravadas para análise “*off-line*” dos dados ao final do estudo. As medidas ecocardiográficas convencionais de geometria e função sistólica do ventrículo esquerdo foram realizadas em uma estação de trabalho Vevo® Lab (VisualSonics Inc, Toronto, Canadá).

A FEVE foi calculada pelo modo bidimensional, a partir da seleção do melhor vídeo representativo da projeção paraesternal longitudinal e com melhor definição das bordas do endocárdio. Em seguida, foi selecionado o quadro com o maior volume diastólico seguido da marcação das bordas do endocárdio em diástole (figura 5A). Utilizando o mesmo ciclo cardíaco, foi escolhido o quadro com o menor volume sistólico e realizada a marcação das bordas do endocárdio em sístole (figura 5B).

**Figura 5** - Imagem ilustrativa da medida de fração de ejeção do ventrículo esquerdo pelo método bidimensional.



**A** = Marcação das bordas do endocárdio em diástole; **B** = marcação das bordas do endocárdio em sístole pelo método Área comprimento. Fonte: FÁRIA, G.S. (2020).

### 3.5.2 Cintilografia de Perfusão Miocárdica de Alta Resolução com Sestamibi-Tc-99m (mini-SPECT)

#### 3.5.2.1 Sistema de Aquisição de Imagens Tomográficas

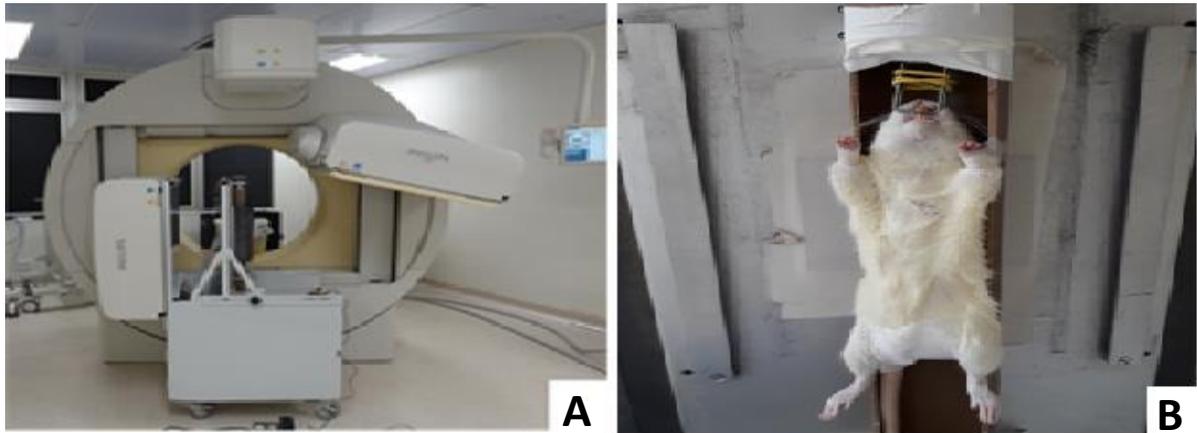
Para a obtenção das imagens cintilográficas de alta resolução pela técnica de SPECT, foi utilizado um sistema de aquisição de imagens desenvolvido localmente (Mini-SPECT) e validado para pequenos animais (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Sucintamente este sistema consiste em uma blindagem que permite o encaixe de um colimador de orifício simples (“pinhole”), com diâmetro de 1,5 mm e ângulo de abertura total de 150° (figura 6A), a uma gama câmara de uso clínico. Esta blindagem é constituída por uma placa de alumínio recoberta por uma manta de chumbo de 6 mm de espessura, adequada para fótons com energia na faixa de 150 keV.

Para o posicionamento do animal foi desenvolvido um suporte rotacional cilíndrico, que se acopla a um sistema motorizado que permite o movimento rotacional do alvo para as

diferentes posições angulares, de acordo com o número de projeções a serem registradas ao longo dos 360° da aquisição tomográfica (figura 6B).

Para o registro das imagens, esse sistema foi conectado a uma gama câmara de uso clínico (BrightViewXCT; Philips Medical Systems Inc., Cleveland, OH). A sequência de projeções foi registrada e armazenada em formato DICOM, sincronizada com o protocolo de aquisição dinâmico da gama câmara.

**Figura 6** - Sistema Mini-SPECT e posicionamento do animal.



**A** = Sistema posicionado em uma das duas cabeças da gama câmara clínica Bright View XT; **B** = animal posicionado em suporte rotacional. Fonte: FARIA, G.S. (2020).

### 3.5.2.2 Aquisição de Imagens de Perfusão Miocárdica em Repouso e Estresse

Para o protocolo de imagens em repouso, os animais foram rapidamente anestesiados com isoflurano a 3% por 1 minuto e uma atividade 555 MBq de Sestamibi-Tc99m foi injetada na veia sublingual. Em seguida, foi permitido que o animal despertasse. Noventa minutos após a injeção do radiofármaco, os animais foram anestesiados com uma combinação intramuscular de Ketamina e Xilazina (100 e 10 mg/kg), e posicionados no sistema para a aquisição de imagens.

Foram adquiridas quarenta projeções, igualmente espaçadas em 360 graus em todos os protocolos de imagens, registradas em uma matriz de 128 x 128 elementos, tendo cada elemento uma área de 3,4 mm x 3,4 mm. Um fator de magnificação de 6,3 vezes foi adotado para todos os experimentos, o que corresponde a uma dimensão lateral de elemento do volume do objeto (ou voxel) de 0,54 mm, alcançando uma resolução espacial de 2,4 mm. Uma janela de energia simétrica de 20% foi centrada no fotopico de energia do Tc99<sup>m</sup> (140 keV). O tempo de aquisição

de cada projeção foi de 30 segundos, totalizando, aproximadamente, 23 minutos de tempo de aquisição por animal.

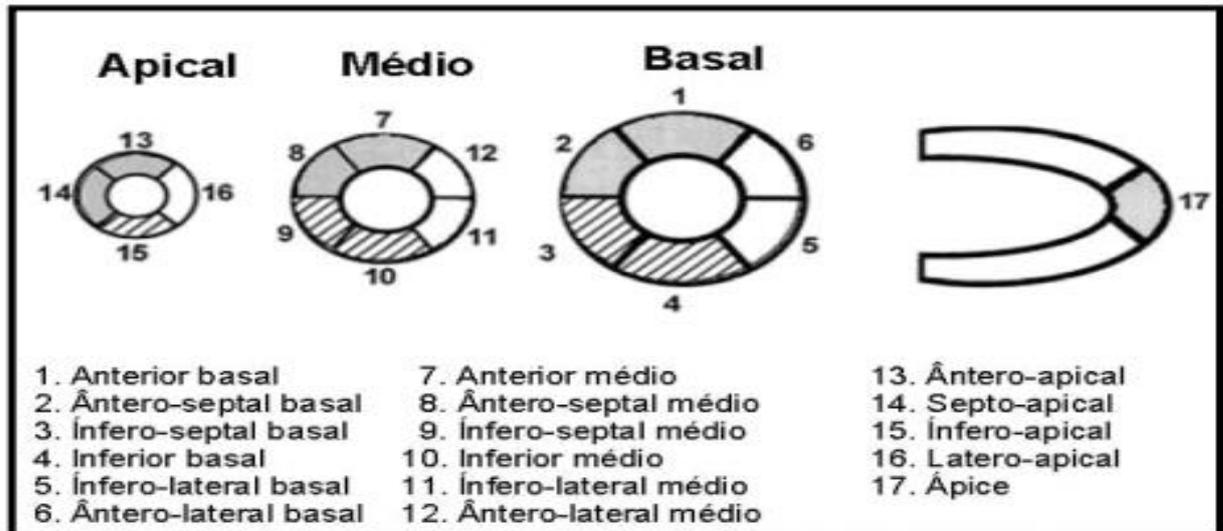
O protocolo de imagens sob estresse aconteceu após, pelo menos, três dias de diferença do protocolo em repouso. Inicialmente os animais foram anestesiados com uma combinação de Ketamina e Xilazina (100 e 10 mg/Kg) e, após estarem sedados (teste reflexo), com o auxílio de um monitor cardíaco de uso clínico, foi observada a frequência cardíaca basal dos grupos controle e SHR durante 1 minuto e, posteriormente, realizada a infusão do cloridrato de dobutamina em cateter posicionado na veia caudal. A administração do cloridrato de dobutamina foi realizada em infusão contínua de 25  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ , por 1 minuto, com o auxílio de uma bomba de infusão, seguida de acompanhamento da frequência cardíaca pico com monitor cardíaco de uso clínico. Ao final da infusão o Sestamibi Tc99m (55MBq) foi injetado em veia sublingual, conforme estabelecido no protocolo para as imagens em repouso, contando, ainda, com monitoramento da frequência cardíaca após a infusão tanto do cloridrato de dobutamina, quanto do radiotraçador.

### **3.5.2.3 Processamento de Análise das Imagens**

Após a aquisição das projeções, as imagens foram exportadas em formato DICOM para um computador pessoal e processadas para a obtenção do modelo tridimensional da distribuição do radiofármaco no órgão alvo (MEJIA *et al.*, 2010), com a utilização de um software de reconstruções interativas de imagens baseado no algoritmo *de ordered-subsets expectation maximization* (OSEM). A ferramenta foi implementada em Linguagem C, usando um compilador freeware Dev-C++ (Bloodshed Software). O freeware AMIDE Medical Image Data Examiner (LOENING; GAMBHIR, 2003) foi utilizado para a visualização final das reconstruções.

As imagens de Sestamibi-Tc99m em repouso e estresse foram usadas para definir as regiões com defeito de perfusão miocárdica. Para essa análise, foi utilizado o software MunichHeart® (Munique, Alemanha), que permite uma análise completa da distribuição de radiotraçadores nas paredes ventricular esquerda, possibilitando uma avaliação semiquantitativa (SPECT) em todos os 17 segmentos do ventrículo esquerdo, tanto no cenário clínico, quanto no experimental (Figura 7).

**Figura 7** - Divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos.



Fonte: CHALELA *et al.*, (2002).

Em seguida, foi feita a análise da perfusão miocárdica, baseada na construção de mapas polares da distribuição relativa do radiofármaco em relação ao pixel de máxima contagem, para avaliação semiquantitativa (planimetria) das áreas de defeitos perfusionais detectados em repouso, estresse e a diferença entre eles (reversibilidade) (figura 8A, B e C).

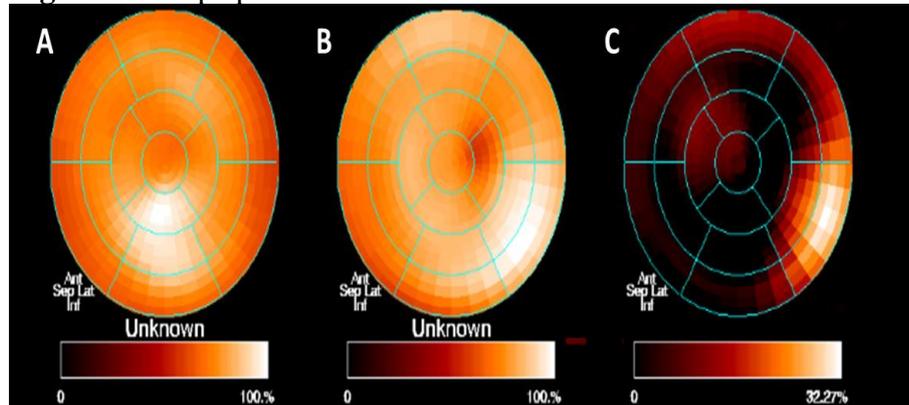
Para a análise da perfusão miocárdica, o ventrículo esquerdo foi dividido em 17 segmentos, sendo cada um deles classificado segundo a porcentagem de captação do radiofármaco: normal, contagens entre 80% a 100% (score 0); defeito perfusional leve, contagens entre 75% a 79,9% (score 1); defeito perfusional moderado, contagens entre de 50% a 74,9% (score 2); e defeito perfusional grave, contagens <50% (score 3) de captação do radiofármaco em repouso e em estresse (HACHAMOVITCH *et al.*, 1996; CHALELA *et al.*, 2002; KLOCKE *et al.*, 2003).

Em seguida, cada segmento recebeu um score, segundo a porcentagem de captação do rádio fármaco nas fases de estresse e repouso. Na fase de estresse foi denominado ESE (score somado em estresse) e, na fase de repouso, ESR (score somado em repouso). A diferença entre ESE e ESR mediu o grau de reversibilidade ou hipocaptação transitória, chamada de ESD (score somado da diferença).

Para avaliarmos a distribuição topográfica dos defeitos perfusionais reversíveis ao longo dos 17 segmentos, o número de segmentos com distúrbios de captação em repouso e estresse, foi somado, além de ter sido feita a análise da diferença entre o estresse e o repouso.

Com o intuito de investigar a gravidade dos defeitos reversíveis em repouso, estresse e a diferença entre o estresse pelo repouso, dividimos o escore somado pelo número de segmentos com defeitos, evidenciando suas respectivas severidades.

**Figura 8 - Mapa polar.**



**A** = Imagem ilustrativa do mapa polar de um animal SHR em estresse; **B** = Mapa polar do mesmo animal em repouso; **C** = Mapa polar resultante da comparação das áreas de captação do radiotraçador entre estresse e repouso, mostrando as regiões com limiar de captação baixo do mesmo animal SHR. Fonte: FARIA, G.S. (2020).

### 3.6 Métodos Estatísticos

Os resultados das variáveis contínuas estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão da média e as variáveis nominais expressas como frequência absoluta (n) e relativa (%).

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi usado para determinar se as variáveis apresentavam distribuição normal. Para as comparações das médias das variáveis obtidas no ecocardiograma, e na análise da perfusão miocárdica, foi utilizado o Teste t de Student não pareado, assumindo que as variáveis são paramétricas após o teste de normalidade.

O teste de Qui Quadrado foi empregado para avaliar a heterogeneidade da distribuição dos defeitos isquêmicos apresentados na análise topográfica segmentar entre os grupos experimentais.

Para as análises de correlações, foi utilizado o teste de Pearson, uma vez que as variáveis apresentaram distribuição normal.

Estabeleceu-se como nível de significância um valor de  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Caracterização da Amostra

Durante o protocolo não houve óbito em nenhum dos grupos experimentais. Do mesmo modo, nenhum animal foi excluído do estudo.

Os valores de peso corporal dos animais em gramas (g) não variaram entre os grupos WKY ( $326,4 \pm 25,76\text{g}$ ) e SHR ( $335,4 \pm 21,21\text{g}$ ),  $p > 0,05$ .

A confirmação dos níveis pressóricos elevados no grupo SHR foi realizada por meio da verificação da PA sistólica, pelo método pletismográfico de cauda, utilizando o sistema CODA®, Kent Scientific Corporation. A média da pressão sistólica dos animais SHR ( $160,0 \pm 20,09\text{ mmHg}$ ) foi significativamente maior quando comparada aos animais WKY ( $109,63 \pm 20,53\text{ mmHg}$ ),  $p = 0,0001$ .

### 4.2 Ecocardiograma

As variáveis ecocardiográficas estudadas estão apresentadas na tabela 1.

Foram observados valores de FEVE preservada em ambos os grupos, sem diferença significativa entre eles.

No entanto, foram observados sinais de remodelamento do ventrículo esquerdo, representado pelo aumento da espessura do septo interventricular tanto em sístole ( $p = 0,0002$ ), quanto em diástole ( $p = 0,003$ ) nos animais SHR, associado com menores valores do diâmetro sistólico final do VE nos animais SHR ( $p = 0,03$ ), em comparação ao grupo controle.

### 4.3 Cintilografia de Perfusão Miocárdica

#### 4.3.1 Distribuição Topográfica dos Defeitos de Perfusão

De acordo com a divisão ventricular em 17 segmentos, como apresentado na figura 7, (CHALELA *et al.*, 2002), documentamos a redução da captação do radiofármaco em alguns segmentos ventriculares em repouso e estresse, em ambos os grupos estudados (Gráfico 1A e 1B).

Foram também observados defeitos perfusionais reversíveis (isquemia miocárdica) difusos em ambos os grupos experimentais, com predominância significativa no grupo SHR (Gráfico 1C).

**Tabela 1** - Resultados das avaliações da pressão arterial sistólica, peso e ecocardiográficas nos grupos estudados.

| Variáveis          | Grupo Controle<br>(n=10) | Grupo SHR<br>(n=10) | p              |
|--------------------|--------------------------|---------------------|----------------|
| <i>PAS (mmHg)</i>  | 109,63 ± 20,53           | 160,0 ± 20,09       | <b>0,0001*</b> |
| <i>Peso (g)</i>    | 326,4 ± 25,76            | 335,4 ± 21,21       | 0,4            |
| <i>FC (bpm)</i>    | 187,06 ± 19,64           | 232,92 ± 18,82      | <b>0,0001*</b> |
| <i>FEVE (%)</i>    | 62,48 ± 2,85             | 62,29 ± 5,14        | 0,9            |
| <i>FS (%)</i>      | 18,23 ± 3,30             | 18,75 ± 5,39        | 0,7            |
| <i>DDFVE (mm)</i>  | 7,91 ± 0,58              | 7,57 ± 0,47         | 0,1            |
| <i>DSFVE (mm)</i>  | 5,09 ± 0,45              | 4,57 ± 0,55         | <b>0,03*</b>   |
| <i>PPVEd (mm)</i>  | 1,66 ± 0,33              | 1,89 ± 0,24         | 0,08           |
| <i>PPVEs (mm)</i>  | 2,75 ± 0,41              | 3,07 ± 0,31         | 0,06           |
| <i>SIVd (mm)</i>   | 1,69 ± 0,17              | 1,98 ± 0,21         | <b>0,003*</b>  |
| <i>SIVs (mm)</i>   | 2,73 ± 0,24              | 3,18 ± 0,19         | <b>0,0002*</b> |
| <i>IMVE (g/Kg)</i> | 2,4 ± 0,3                | 2,7 ± 0,3           | 0,1            |
| <i>ER</i>          | 0,42 ± 0,10              | 0,5 ± 0,08          | 0,051          |

Valores apresentados como média ± desvio padrão. PAS = pressão arterial sistólica; FC = frequência cardíaca; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo; FS = fração de encurtamento; DDFVE = diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo; DSFVE = diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo; PPVEd = parede posterior do ventrículo esquerdo em diástole; PPVEs = parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole; SIVd = septo interventricular em diástole; SIVs = septo interventricular em sístole; IMVE = Índice de massa do ventrículo esquerdo; ER = Espessura relativa da parede ventricular.

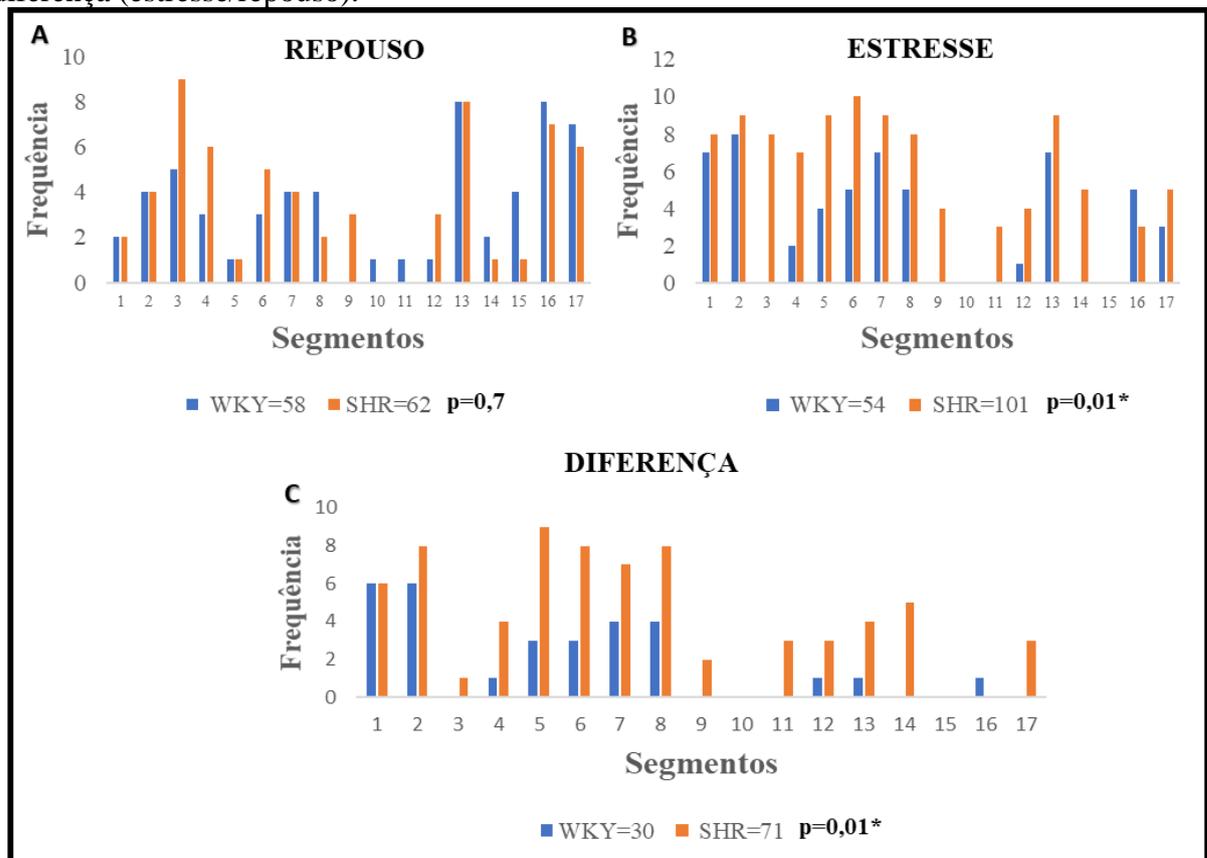
No GC houve predominância dos defeitos isquêmicos nos segmentos basais (1-6) e médio ventriculares (7-12), quais sejam: anterior basal, ântero septal basal, inferior basal, ínfero lateral basal, ântero lateral basal, anterior médio, ântero septal médio e ântero lateral médio.

Para o grupo SHR os seguintes defeitos isquêmicos estenderam-se nos segmentos basais (1-6), médio ventriculares (7-12) e apicais (13-17): anterior basal, ântero septal basal, ínfero

septal basal, inferior basal, ínfero lateral basal, ântero lateral basal, anterior médio, ântero septal médio, ínfero septal médio, ínfero lateral médio, ântero lateral médio, ântero apical, septo apical e ápice.

O número de segmentos com defeitos isquêmicos foi significativamente maior no grupo SHR (71 segmentos) em comparação ao GC (30 segmentos),  $p=0,01$  (Gráfico 1C).

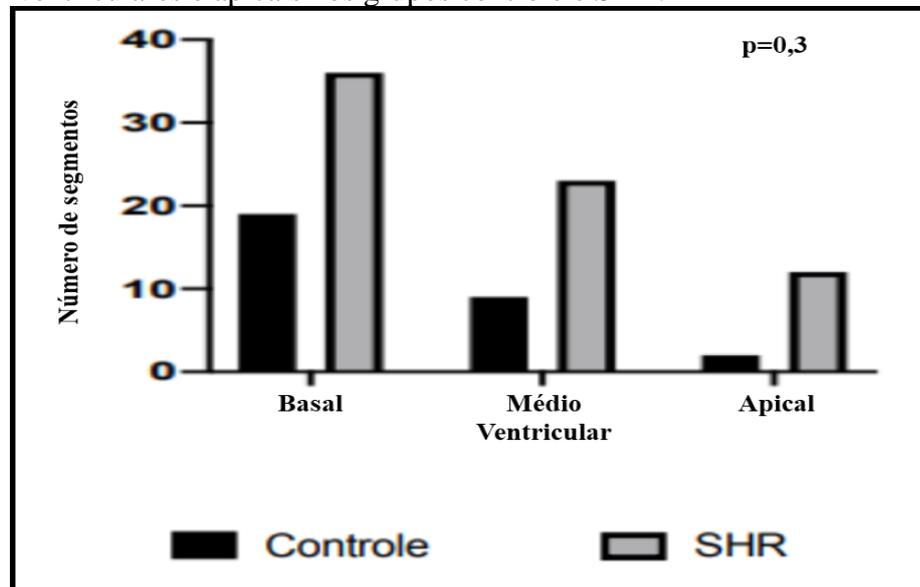
**Gráfico 1** - Frequência dos defeitos de perfusão por segmento em repouso, estresse e a diferença (estresse/repouso).



**A=** Comparação da frequência em que cada segmento do VE apresentou-se com algum grau de defeito de perfusão em repouso, entre os grupos WKY e SHR; **B =** Comparação da frequência em que cada segmento do VE apresentou-se com algum grau de defeito de perfusão em estresse, entre os grupos WKY e SHR; **C =** Comparação da frequência em que cada segmento do VE apresentou-se com algum grau de isquemia, entre os grupos WKY e SHR.

Para avaliar essa heterogeneidade observada na distribuição topográfica segmentar dos defeitos de perfusão reversíveis dos grupos amostrais, foi realizado o teste Qui Quadrado (Gráfico 2). Entretanto, constatamos que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,3$ ) quanto à distribuição do número de segmentos isquêmicos basais, médio ventriculares e apicais entre o grupo controle e o grupo SHR.

**Gráfico 2** - Número de segmentos isquêmicos basais, médio ventriculares e apicais nos grupos controle e SHR.



#### 4.3.2 Análise Visual Semiquantitativa

As variáveis obtidas nos exames de cintilografia miocárdica de perfusão, dos grupos controle e SHR, estão apresentadas na tabela 2.

Não houve diferença significativa entre os valores de FC dos grupos controle e SHR, tanto na avaliação basal, como na avaliação após infusão de dobutamina - FC pico (Tabela 2; Gráfico 3).

No entanto, foi documentado um aumento significativo da FC basal para a pico (após infusão de dobutamina), tanto no grupo controle (de  $201,4 \pm 22,6$  bpm para  $267,6 \pm 17,9$  bpm;  $p = 0,001$ ), como no grupo SHR (de  $203,0 \pm 22,6$  bpm para  $255,8 \pm 36,4$  bpm;  $p = 0,001$ ), conforme Tabela 2; Gráfico 3. Não houve diferença significativa entre o delta de incremento da FC, do basal para a pico, entre os grupos estudados ( $p > 0,05$ ).

Não foi observada diferença significativa no ESR entre os grupos estudados. Por outro lado, foram observados maiores e significativos valores de ESE nos animais do grupo SHR ( $14,3 \pm 6,9$ ), quando comparados ao grupo controle ( $7,4 \pm 4,9$ ),  $p=0,01$  (tabela 2, gráfico 4B).

Do mesmo modo, ao analisarmos os defeitos perfusionais reversíveis (isquemia miocárdica), por meio do ESD, observamos uma diferença estatisticamente significativa com

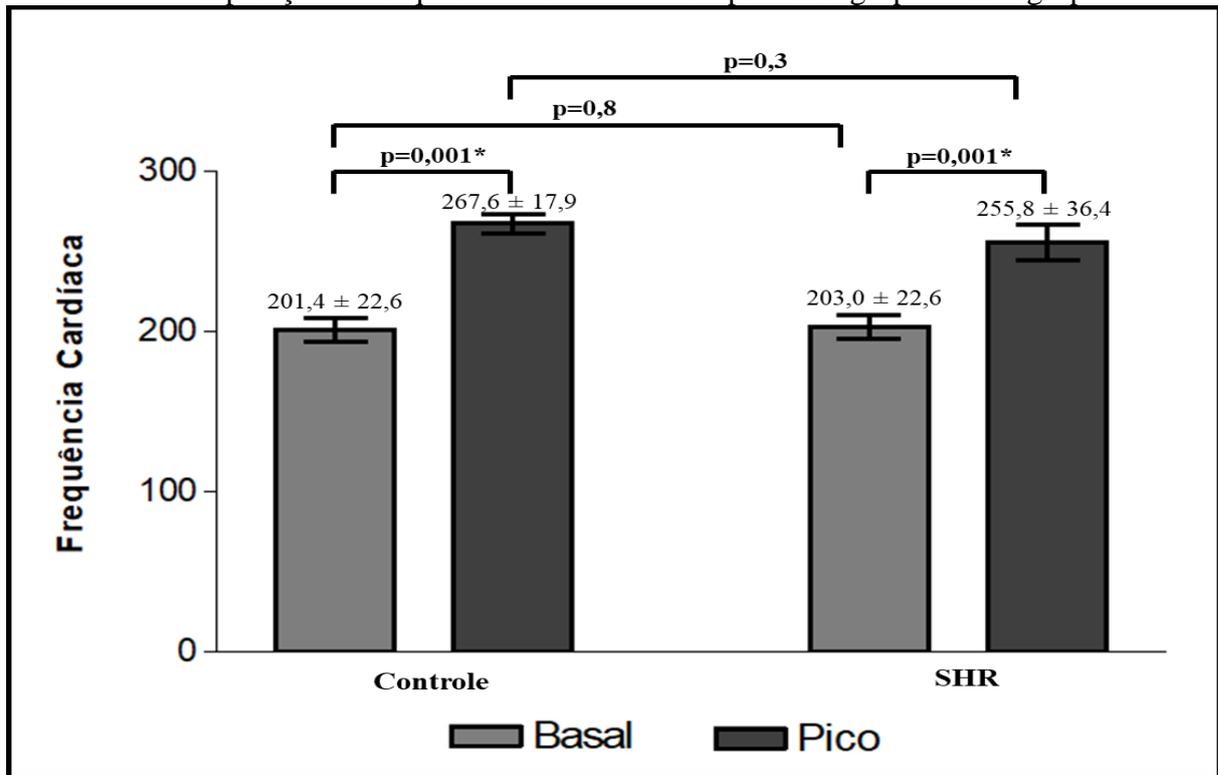
maiores valores no grupo SHR ( $8,9 \pm 5,3$ ), quando comparados com o grupo controle ( $3,9 \pm 3,5$ ),  $p = 0,02$  (Tabela 2; Gráfico 4C).

**Tabela 2** - Variáveis obtidas na cintilografia miocárdica de perfusão dos grupos estudados.

| <b>Variáveis</b>  | <b>Grupo Controle<br/>(n=10)</b> | <b>Grupo SHR<br/>(n=10)</b> | <b>p</b>      |
|---|----------------------------------|-----------------------------|---------------|
| <i>FC Basal (bpm)</i>                                     | 201,4 ± 22,6                     | 203,0 ± 22,6                | 0,8           |
| <i>FC Pico (bpm)</i>                                      | 267,6 ± 17,9                     | 255,8 ± 36,4                | 0,3           |
| <i>ESR</i>  | 8,5 ± 4,9                        | 8,4 ± 4,0                   | 0,9           |
| <i>ESE</i>  | 7,4 ± 4,9                        | 14,3 ± 6,9                  | <b>0,01*</b>  |
| <i>ESD</i>  | 3,9 ± 3,5                        | 8,9 ± 5,3                   | <b>0,02*</b>  |
| <i>Número de<br/>segmentos com<br/>defeitos Repouso</i>   | 5,9 ± 2,9                        | 5,5 ± 3,5                   | 0,8           |
| <i>Número de<br/>segmentos com<br/>defeitos Estresse</i>  | 5,4 ± 3,3                        | 10,1 ± 3,6                  | <b>0,007*</b> |
| <i>Número de<br/>segmentos com<br/>defeitos Diferença</i> | 3,1 ± 2,6                        | 7,0 ± 3,1                   | <b>0,008*</b> |
| <i>GR</i>   | 1,2 ± 0,4                        | 1,3 ± 0,1                   | 0,4           |
| <i>GE</i>   | 1,0 ± 0,6                        | 1,3 ± 0,2                   | 0,1           |
| <i>GD</i>   | 0,8 ± 0,6                        | 1,2 ± 0,2                   | 0,1           |

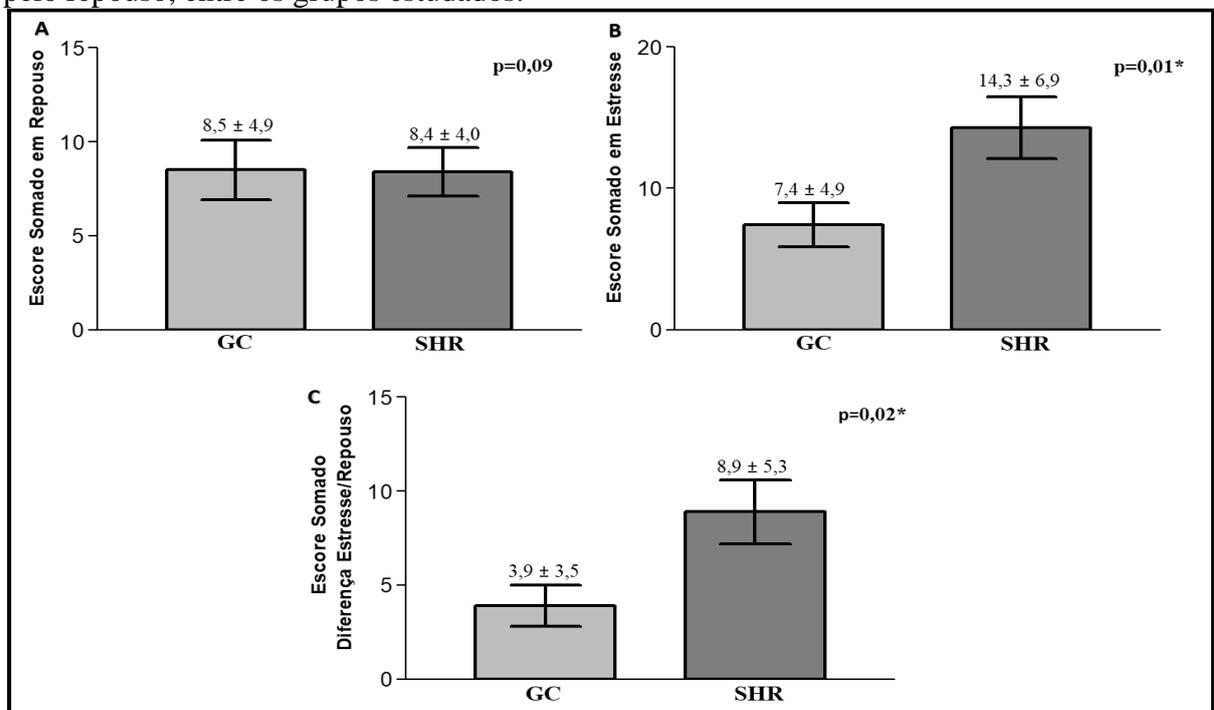
FC pico = frequência cardíaca pico; ESR = escore somado em repouso; ESSE = escore somado em estresse; ESD = escore somado da diferença entre o estresse e o repouso; GR = gravidade dos defeitos em repouso; GE = gravidade dos defeitos em estresse; GD = diferença da gravidade dos defeitos do estresse pelo repouso.

**Gráfico 3** - Comparação da frequência cardíaca basal e pico intragrupos e intergrupos.



Representa a comparação da Frequência Cardíaca Basal e Pico intragrupos e entre os grupos Controle e SHR.

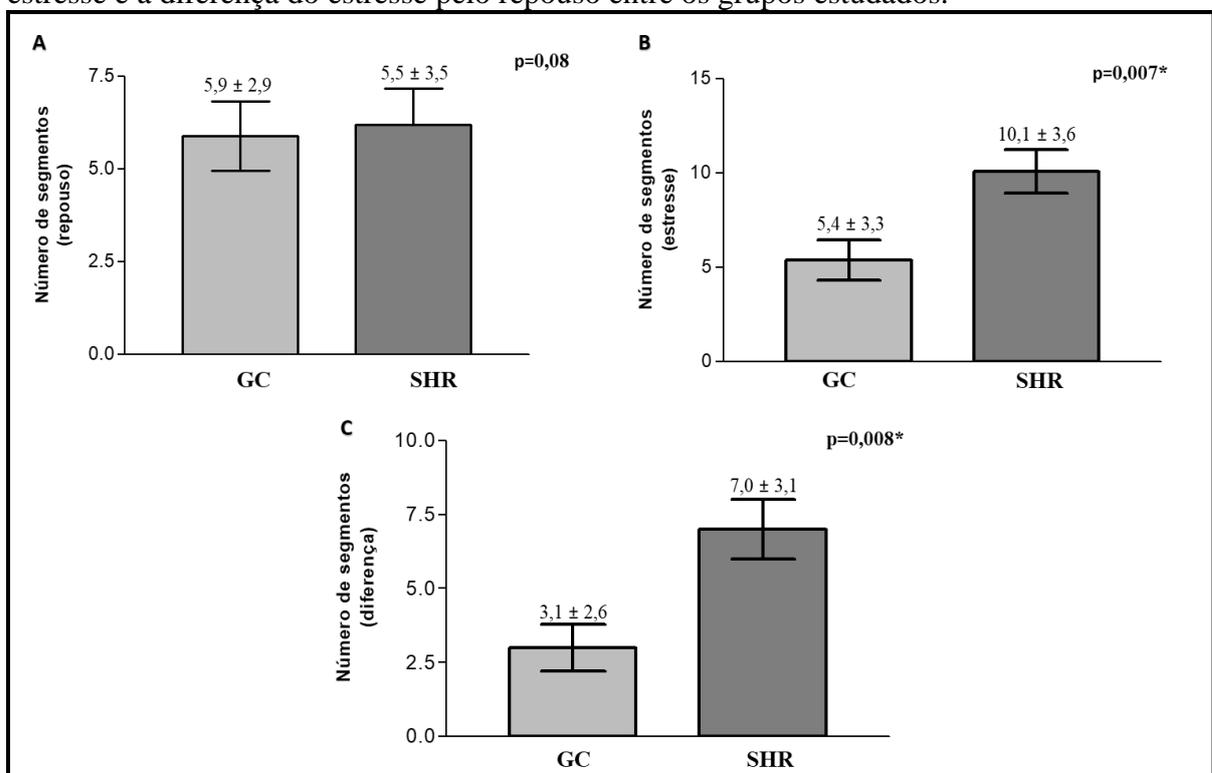
**Gráfico 4** - Comparação dos escores somados em repouso, estresse e a diferença do estresse pelo repouso, entre os grupos estudados.



**A** = Comparação do escore somado em repouso entre os grupos controle e SHR; **B** = Comparação do escore somado em estresse entre os grupos controle e SHR; **C** = Representa a diferença do estresse pelo repouso do escore somado entre o grupo controle e SHR, teste t pareado.

Em relação ao número de segmentos que apresentaram alteração na captação do radiofármaco, não foi observada diferença entre os grupos na avaliação em repouso. No entanto, o grupo SHR apresentou maior número de segmentos com defeitos de perfusão, tanto no estresse,  $10,1 \pm 3,6$  segmentos vs  $5,4 \pm 3,3$  segmentos dos controles ( $p = 0,007$ ), como na avaliação da diferença entre o estresse e o repouso,  $7,0 \pm 3,1$  segmentos vs  $3,1 \pm 2,6$  segmentos dos controles ( $p = 0,008$ ), gráfico 5.

**Gráfico 5** - Comparação do número de segmentos com defeitos de perfusão em repouso, estresse e a diferença do estresse pelo repouso entre os grupos estudados.

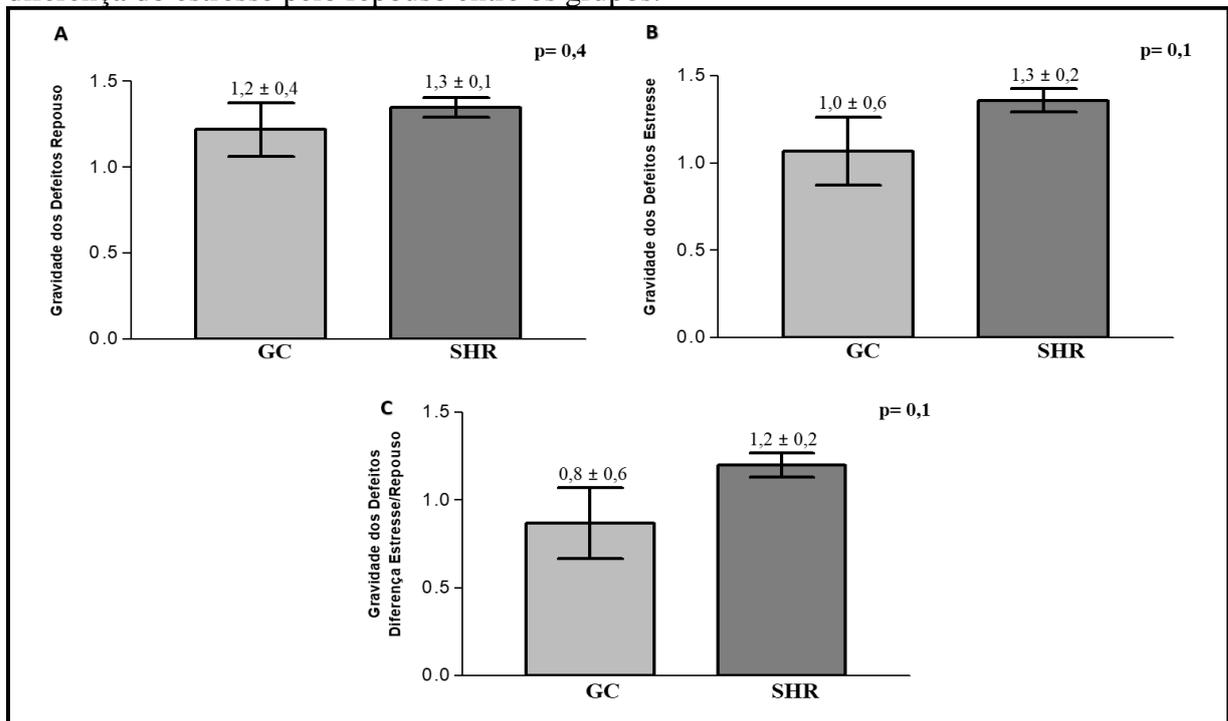


**A** = Comparação do número de segmentos com defeitos de perfusão em repouso, entre os grupos controle e SHR; **B** = Comparação do número de segmentos com defeitos de perfusão em estresse entre os grupos controle e SHR; **C** = Comparação da diferença do estresse pelo repouso do número de segmentos com defeitos reversíveis entre os grupos controle e SHR.

A gravidade dos defeitos de perfusão foi calculada dividindo a soma dos escores pelo número de segmentos com defeito em repouso, estresse e diferença estresse/repouso.

Não foi documentada diferença estatisticamente significativa na gravidade dos defeitos de perfusão entre os grupos controle e SHR (Gráfico 6).

**Gráfico 6** - Apresentação da gravidade média dos defeitos reversíveis em repouso, estresse e a diferença do estresse pelo repouso entre os grupos.



**A** = Comparação da gravidade dos defeitos em repouso, entre os grupos controle e SHR; **B** = Comparação da gravidade dos defeitos em estresse, entre os grupos controle e SHR; **C** = Comparação da diferença do estresse pelo repouso da gravidade dos defeitos entre o grupo controle e SHR.

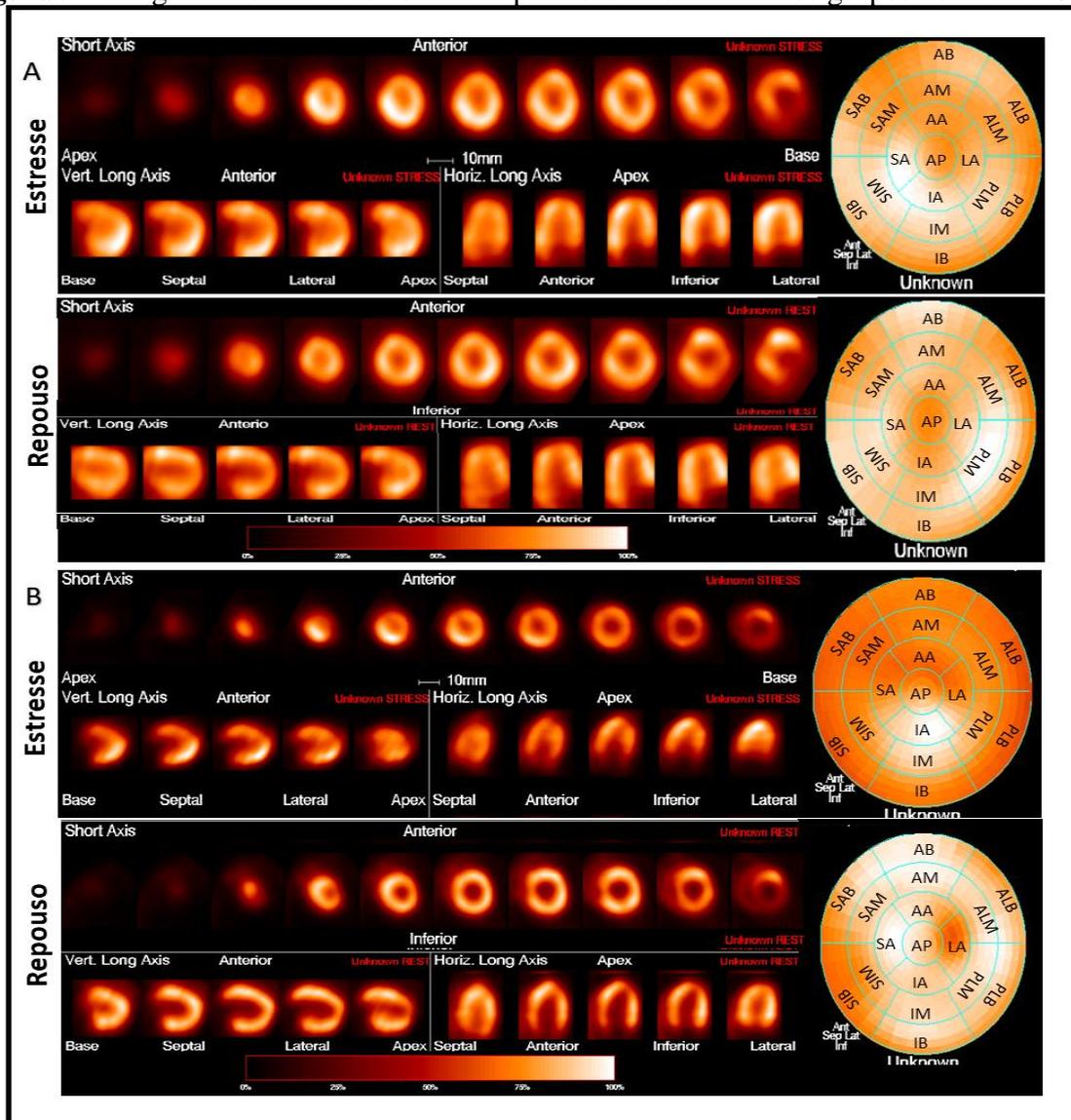
#### 4.3.3 Imagem Ilustrativa do Estudo de Perfusão

A figura 9 mostra exemplos ilustrativos de imagens de estudos de perfusão miocárdica em repouso e estresse de um animal do grupo controle (Figura 9A) e um animal do grupo SHR (Figura 9B).

O animal do grupo controle (Figura 9A) não apresenta defeitos perfusionais reversíveis em nenhum segmento do VE, ao compararmos as imagens de estresse e repouso.

No animal do grupo SHR (Figura 9B), foram observados defeitos perfusionais reversíveis moderados nos segmentos anterior basal, septo anterior basal, inferior basal, pósterolateral basal, ântero lateral basal, anterior médio, septo anterior médio e ântero apical, bem como defeitos perfusionais reversíveis leves nos segmentos septo inferior médio, ântero lateral médio, septo apical e ápice.

**Figura 9** - Imagem ilustrativa do estudo de perfusão miocárdica nos grupos controle e SHR.

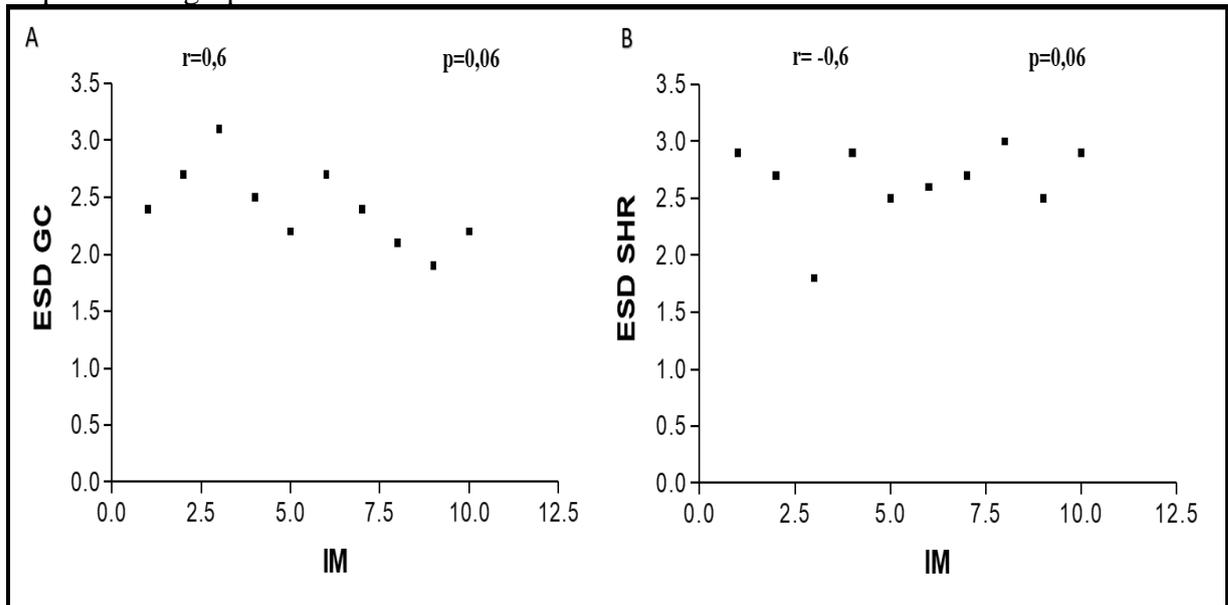


**A** = Animal controle; **B** = Animal SHR. São mostrados cortes representativos das imagens tomográficas (SPECT) obtidas da cavidade ventricular esquerda (basal, médio cavitário e apical) e eixos longos vertical e horizontal, com o mapa polar resultante mostrado na extremidade direita da figura.

#### 4.4 Estudo de Correlação

Não foi observada correlação significativa entre o escore somado da diferença e o índice de massa do ventrículo esquerdo, tanto no grupo controle, como no SHR ( $p < 0,05$ ), gráfico 7.

**Gráfico 7** - Correlação entre o escore somado da diferença e o índice de massa do ventrículo esquerdo nos grupos controle e SHR.



**A** = Correlação entre o escore somado da diferença e índice de massa do ventrículo esquerdo no grupo controle;  
**B** = Correlação entre o escore somado da diferença e o índice de massa do ventrículo esquerdo do grupo SHR.

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo buscou avaliar as alterações cardíacas em um modelo experimental de hipertensão arterial crônica, em ratos SHR com 22 semanas de idade, com o objetivo de caracterizar a perfusão miocárdica e sua relação com o remodelamento ventricular.

Dentre os principais achados do presente estudo, a presença de defeitos de perfusão miocárdica reversíveis difusos, de leve a moderado intensidade, em ratos SHR, avaliados pela cintilografia miocárdica de perfusão em repouso e sob estresse, foi o achado mais relevante, uma vez que, no melhor do nosso conhecimento, não existem estudos na literatura, até o presente momento, que tenham descrito essas alterações, com obtenção de imagens cintilográficas de perfusão.

Pudemos, também, documentar que nesta fase inicial da evolução da doença, os animais SHR apresentam discreto remodelamento ventricular, com hipertrofia do tipo concêntrica, por apresentarem alterações significativas no diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo e na espessura do septo interventricular em sístole e diástole, ainda que com FEVE preservada.

Esses achados sugerem que os defeitos de perfusão miocárdica precedem o remodelamento ventricular, na evolução da cardiopatia hipertensiva crônica, sendo um importante alvo terapêutico nas fases iniciais da doença.

Por fim, não encontramos correlação entre os defeitos perfusionais reversíveis e o índice de massa do ventrículo esquerdo.

### 5.1 Modelo Experimental

É relevante destacar que ratos SHR têm sido utilizados há mais de 30 anos como modelo de hipertensão arterial que muito se assemelha com as alterações presentes na hipertensão em humanos, estabelecido para permitir e ampliar o conhecimento das alterações induzidas pela hipertensão e seus mecanismos de sinalização (TAKATA; KATO, 1996) e para testar novos medicamentos anti-hipertensivos (KASACKA *et al.*, 2016).

Habitualmente os pesquisadores recorrem ao uso do SHR, que possuem, dentro de cada colônia, uma disposição poligênica uniforme e fatores excitatórios que produzem alterações uniformes nos efeitos indiretos e diretos no sistema cardiovascular, sendo essa ausência de variação interindividual uma das principais vantagens desse modelo (LINDPAINOTHER, KREUTZ, GANTEN, 1992).

Outra vantagem é que o modelo animal segue a mesma progressão da hipertensão humana, no que diz respeito às suas fases, durando em média algumas semanas para o surgimento de suas alterações (FOLKOW, 1993) e ainda inclui a predisposição genética para hipertensão sem etiologia específica, o aumento da resistência periférica total sem expansão de volume e igual resposta a tratamentos com drogas (TRIPPODO; YAMOTO; FROHLICH, 1981; UNDEFREIND & SPECTOR, 1972).

Além disso, o tempo de vida normal do SHR é considerado curto, variando entre 2,5 a 3 anos, tornando relativamente fácil seguir sua evolução fisiopatológica (FOLKOW; SVANBORG, 1993).

No entanto, o SHR difere da hipertensão humana por desenvolver de maneira reprodutível a hipertensão na idade adulta jovem, e não na meia-idade, como nos humanos e, por apresentarem um estado pré-hipertensivo, eles têm um potencial importante para serem usados em estudos que buscam avaliar a causa e o desenvolvimento da hipertensão, mostrando também possibilidades de estudos de gênero em hipertensão; porém, apenas alguns estudos consideraram diferenças de gênero nas respostas de SHR (KAUSER; RUBANYI, 1995; NIGRO, *et al.* 1997). No presente estudo foram utilizados ratos SHR com 22 semanas de vida, considerados já na fase adulta, no entanto ainda apresentando curto período de exposição aos efeitos danosos dos altos níveis de pressão, permitindo, dessa forma, documentarmos as alterações cardíacas iniciais da doença.

Nossos resultados mostraram, ainda, que na fase da evolução da doença na qual os animais foram estudados (22 semanas de vida), o modelo é resistente a diferentes estímulos, como anestésicos e drogas adrenérgicas, uma vez que não foi documentado nenhum óbito ao logo do estudo.

O SHR é um modelo útil quando se objetiva estudar componentes que reduzem a pressão sanguínea e que também diminuem a pressão sanguínea em humanos hipertensos, uma vez que desenvolvem um quadro hipertensivo considerado estável e crônico, com a produção de sinais previsíveis e controláveis, evitando intervenções técnicas difíceis ou com risco de vida (DOGGRELL; BROW, 1998).

A experiência com outras linhagens genéticas hipertensivas de ratos foi limitada em comparação com o SHR, mas essas linhagens podem ser úteis na determinação dos genes envolvidos tanto na hipertensão, quanto em fatores de risco associados, como um fibrinogênio elevado, tendo como exemplos os ratos hipertensos da Nova Zelândia (LEDINGHAM; LAVERTY, 1997), Milão (BIANCHI; FERRARI, 1995), Praga (HELLER *et al.*, 1993), Lyon

(SASSARD *et al.*, 1997) e San Juan (CRESPO; ESCOBALES, RODRIGUEZ-SARGENT, 1996).

A escolha desse modelo experimental se deve ao fato de que os SHR são classicamente conhecidos por demonstrarem alterações funcionais, morfométricas e hemodinâmicas cardíacas, associadas ao prejuízo no balanço do tônus autonômico cardíaco, redução da sensibilidade barorreflexa e aumento da influência do componente simpático cardíaco (OKAMOTO; AOKI, 1963).

Na literatura tem sido descrito que o aparecimento das primeiras alterações a nível cardiovascular ocorre de forma progressiva tendo como fase inicial da hipertensão a de pré-hipertensão do 3º ao 4º mês, na qual o rato SHR apresenta aumento do débito cardíaco com resistência periférica normal (DOGGRELL; BROWN, 1998).

Com a progressão da doença para estágios mais estáveis, por volta do 4º ao 6º mês de idade, observa-se a fase ativa da HA que tem como característica o início do desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. Nesta fase observa-se melhora da função contrátil, provavelmente como uma resposta protetora à sobrecarga de pressão. Posteriormente, por volta do 6º ao 7º mês, observa-se a fase de hipertensão estabelecida e equilibrada. Nela nota-se que o débito cardíaco retorna ao normal e a hipertrofia dos vasos sanguíneos aumenta a resistência periférica total, progredindo para hipertrofia ventricular esquerda (BOLUYT *et al.*, 1994; BING *et al.*, 1995). Após essa fase, em torno do 18º ao 24º mês de idade, o início da fase de IC pode ser observado (BING *et al.*, 1995).

Por essa razão, quando avaliamos estudos que utilizam métodos invasivos para a medida da PA, encontramos valores pressóricos próximos aos encontrados no nosso estudo pela pletismografia. Na literatura são descritos estudos em diferentes janelas temporais. Slama *et al.* (2003) fez o acompanhamento ecocardiográfico de ratos SHR e WKY nas idades de 8, 15, 20, 35 e 80 semanas. Nesse estudo foram avaliados parâmetros relacionados à função e morfologia cardíaca e também medidas de PA e, na idade de 20 semanas, os animais WKY apresentaram PAS de  $128 \pm 5$  mmHg e o grupo SHR  $182 \pm 8$  mmHg, demonstrando um aumento expressivo da PA nos animais SHR após as 8 semanas, atingindo um platô a partir da 15ª semana e, posteriormente, um novo aumento na 80ª semana (SLAMA *et al.*, 2003).

Outro estudo que avaliou a PA média na artéria carótida de ratos WKY e SHR, de forma invasiva, através de cateterismo, observou na evolução temporal de 1, 2, 3 e 5 meses de idade, que a PA média no primeiro mês foi aumentada no grupo SHR, em relação ao grupo controle; porém não caracterizando um quadro hipertensivo. No entanto, aos dois meses de idade, o grupo SHR apresentou PA média elevada ( $>160$  mmHg), enquanto que o WKY permaneceu

normotenso. Após 3 e 5 meses, houve elevação da PA média no grupo SHR (>170 mmHg), enquanto que o grupo WKY permaneceu normotenso (LI *et al.*, 2019).

Ainda nesse contexto, têm sido crescentes o número de estudos que utilizam a medida de pressão arterial não invasiva por serem de menor risco e por permitirem medidas seriadas de um mesmo animal.

No presente estudo utilizamos a medida da PA pelo método pletismográfico de cauda e encontramos valores de pressão arterial sistólica tanto no grupo controle ( $109,63 \pm 20,53$  mmHg), como no grupo SHR ( $160,0 \pm 20,09$  mmHg) com 22 semanas de vida, semelhante ao que outros estudos têm documentado.

Um estudo recente, cujo objetivo era estimar a proteção gerada por extrato de semente contra lesões em ratos diabéticos e hipertensos, avaliou a PA através de método não invasivo, por meio da pletismografia de cauda em ratos WKY e SHR após 15 semanas de idade, observou no grupo controle uma média de PA de  $129,8 \pm 5,8$  mmHg e no grupo SHR de  $204,7 \pm 5,8$  mmHg (CORDEIRO *et al.*, 2017).

Reforçando esses achados, outro estudo, acompanhando a evolução da PA pelo método pletismográfico de cauda, observou no grupo WKY uma variação de PA de <100 a >120mmHg durante os 6 meses do estudo, enquanto que para o grupo SHR, houve crescimento gradual nos níveis pressóricos durante todos os meses avaliados, com os valores pico entre o 5º e o 6º meses, variando entre  $\geq 180$  a  $\geq 190$ mmHg (ZHANG *et al.*, 2019).

Desta forma, observamos que na literatura existem algumas variações quanto aos níveis pressóricos encontrados, principalmente influenciados pela idade e metodologia utilizada. No entanto, em nosso estudo, constatamos maiores valores da PAS dos animais SHR, com valores semelhantes ao que é descrito em alguns estudos nessa idade.

## **5.2 Métodos de Imagem**

### **5.2.1 Ecocardiograma**

Para a realização desse estudo foram empregadas medidas não invasivas da função sistólica e da estrutura ventricular esquerda, por meio da ecocardiografia transtorácica de alta resolução espacial, empregando-a de forma a contribuir para o entendimento do curso natural da doença.

Alguns estudos hemodinâmicos em ratos utilizam técnicas invasivas, resultando na perda do animal e impedindo seu acompanhamento longitudinal. O desenvolvimento de

técnicas ecocardiográficas não invasivas permite a análise anatômica da geometria do ventrículo esquerdo, espessura da parede, massa e volume (LITWIN *et al.*, 1994; LITWIN *et al.* 1995) e avaliação da função sistólica e diastólica e, possibilita, ainda, o estudo dos fluxos valvares por meio da utilização de técnicas de Doppler. Por ser um procedimento não invasivo, de baixo custo operacional e alta resolução espacial, favorece o estudo da função cardíaca no mesmo animal, proporcionando o acompanhamento de eventos tanto naturais, quanto patológicos (BRILLA *et al.* 1996; DERUMEAUX *et al.*, 2002; SLAMA *et al.*, 2003; MATHIAS JUNIOR., 2009).

Dentre os parâmetros de avaliação do ecocardiograma, a FEVE é de fundamental importância pois reflete a função cardíaca, podendo prever prognósticos de acordo com seus referidos valores, por ser um importante marcador fenotípico, tanto clínico quanto experimental (FAYSSOIL; TOURNOUX, 2013).

Estudos apontam que animais SHR no início da evolução da doença não apresentam alterações na fração de ejeção, sugerindo que a redução da FEVE é característica de uma fase mais tardia da hipertensão (ZHANG *et al.*, 2016; PIRES *et al.*, 2014), indo ao encontro de nossos achados, uma vez que não documentamos diferença significativa nos valores da FEVE entre os grupos experimentais estudados.

PIRES e colaboradores (2014), avaliaram a FEVE de animais controles e SHR e documentaram valores superiores aos encontrados por nós ( $75 \pm 8\%$  e  $75 \pm 12\%$ , respectivamente). No entanto, do mesmo modo, nossos resultados não evidenciaram diferença significativa entre os grupos (PIRES *et al.*, 2014).

Para avaliação da estrutura e geometria ventricular esquerda, por meio de ecocardiografia, foram observados os resultados referentes às medidas do diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (DDFVE) e do diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo (DSFVE) (MATHIAS JUNIOR, 2009). Vale ressaltar a importância do estudo dessas variáveis, uma vez que a hipertrofia ventricular esquerda é um importante marcador prognóstico de morbimortalidade cardiovascular (VAKILI; OKIN; DEVEREUX, 2001; BREGAGNOLLO *et al.*, 2007) e para sua quantificação são necessárias as medidas da espessura do septo interventricular (SIV), do DDFVE e da parede posterior do ventrículo esquerdo (PPVE), que foram obtidas por meio do modo M (EGEMNAZAROV *et al.* 2015).

Randriamboavonjy e colaboradores (2016) relataram, após 16 semanas de acompanhamento, que ratos SHR apresentaram aumento da espessura das paredes anterior e posterior do ventrículo esquerdo, do SIV e ER da parede ventricular, confirmando o desenvolvimento da hipertrofia do ventrículo esquerdo neste modelo. O mesmo foi observado

em ratos mais jovens, de 12 semanas (BRADIC *et al.*, 2019), bem como em ratos SHR de 20 semanas (CHIANG *et al.*, 2018; DEL MAURO *et al.*, 2020).

Em nosso estudo, foram documentados aumento da espessura do SIV em sístole, e em diástole, e diminuição do DSFVE no grupo SHR, em comparação ao grupo de normotensos, conforme esperado, devido ao início da fase de hipertrofia do tipo concêntrica no grupo SHR, documentando, dessa forma, o remodelamento cardíaco induzido pelos elevados níveis pressóricos dos animais. Além disso, apesar das variáveis IMVE e ER não se apresentarem significativamente diferentes entre os grupos estudados, os valores encontrados revelam aumento da parede ventricular, atestando a fase inicial de hipertrofia do ventrículo esquerdo, do tipo concêntrica, induzida pela patologia hipertensiva.

Sabe-se que a hipertrofia cardíaca é um importante processo patológico envolvido no remodelamento cardíaco, servindo inicialmente como um mecanismo compensatório para preservar o débito cardíaco (BROOKS *et al.*, 2010; THAM *et al.*, 2015). O remodelamento cardíaco pode ser considerado o primeiro passo na sequência de respostas adaptativas do coração ao estresse, causado por um grande número de condições patológicas, nesse caso, como alterações de cargas de volume e pressão (WU *et al.*, 2017), podendo este ser regulado por uma combinação de respostas de miócitos e não miócitos às vias mecanossensíveis, que podem exacerbar os gatilhos físicos da remodelação cardíaca, por estarem associadas com alterações crônicas na hemodinâmica, formato da câmara e mecânica miocárdica (MANN, 2005; AZEVEDO *et al.*, 2016).

Em estudo avaliando, *in vivo*, o metabolismo cardíaco e função miocárdica de ratos SHR com 15 semanas de idade por ressonância magnética, observou-se uma hipertrofia do VE com remodelamento compensatório, em resposta à HA com função cardíaca preservada, por apresentar aumento da massa do VE, volume sistólico e diastólico final elevados, FC reduzida e, por conseguinte, DC e FEVE preservados quando comparados aos grupos controles *Wistar kyoto* (DODD *et al.*, 2012; PARZY *et al.*, 2003).

Assim sendo, ressaltamos que o coração é composto, fundamentalmente, por miócitos, vasos e matriz intersticial colágena, contribuindo para a forma e função cardíaca. No entanto, o desequilíbrio desses compartimentos reflete o processo de remodelação miocárdica estando associado diretamente à disfunção cardíaca (SPADACCIO, 2015). Na prática clínica observa-se a hipertrofia mais frequentemente associada à sobrecarga hemodinâmica imposta pela HA, ou aumento de volume que se deve pelo aumento de sarcômeros em série, associado ao deslizamento de feixes de miócitos, caracterizando a hipertrofia excêntrica; porém, na sobrecarga de pressão, encontrada no nosso estudo em fase inicial, há estímulo para síntese de

sarcômeros em paralelo com o aumento da espessura da parede ventricular, caracterizando a hipertrofia concêntrica (DEVEREUX, 2000; CIARDULLO *et al.*, 2004).

Este remodelamento do tecido cardíaco é regulado por vários tipos de células, incluindo cardiomiócitos, fibroblastos, células endoteliais, células do músculo liso perivascular e células hematopoiéticas no qual as células endoteliais constituem a maioria dos não cardiomiócitos no coração e estão envolvidas em múltiplas respostas regulatórias e patológicas no miocárdio que, nesse caso, são uma resposta à hipertrofia induzida por sobrecarga de pressão, a expressão das subunidades de integrinas (proteínas transmembrana que facilitam a transmissão de forças entre o interior e exterior dos miócitos cardíacos e formam dímeros com subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ ),  $\alpha 1$ ,  $\alpha 5$  e  $\beta 1$  aumentam (SPADACCIO, 2015).

Em adição, é sabido que o aumento desproporcional da matriz colágena pode ocasionar disfunção miocárdica pela diminuição da complacência ventricular, bem como pela modificação da geometria cardíaca (JANICKI, 1992). Associado a isso, o crescimento não proporcional da densidade de vasos, que ocasiona diminuição da reserva coronariana, com potencial déficit de oxigenação e de nutrientes para o miócito, pode ser determinante para a evolução da disfunção ventricular. Dessa maneira, o colágeno intersticial miocárdico, associado ou não à isquemia relativa, é o principal evento que promove a disfunção miocárdica, notadamente a disfunção diastólica observada na hipertrofia cardíaca (BRILLA; MATSUBARA, WEBER, 1996; MATSUBARA *et al.*, 1997).

## ***5.2.2 Cintilografia de Perfusão Miocárdica***

### ***5.2.2.1 Estresse Farmacológico - Dobutamina***

Exames sob estresse são comuns na prática clínica. Dentre eles, inclui-se ecocardiografia sob estresse, cintilografia de perfusão miocárdica, ressonância magnética cardíaca e tomografia computadorizada do coração, com o intuito de investigar pacientes com doenças cardiovasculares, podendo ser usados com o propósito de buscar isquemia miocárdica, avaliar doenças valvares, medir a viabilidade miocárdica e avaliar a reserva contrátil miocárdica (ARMSTRONG *et al.*, 1998).

Dentre os agentes que geram o estresse farmacológico, o cloridrato de dobutamina é um agonista do receptor  $\beta 1$  seletivo, aplicado em via intravenosa, que resulta nos principais efeitos

do aumento do volume sistólico, débito cardíaco, frequência cardíaca e PA e, ainda, diminuição na resistência periférica total (ARMSTRONG *et al.*, 1998).

Em relação ao trabalho cardíaco frente ao estímulo com o cloridrato de dobutamina, constatamos que a resposta foi semelhante para ambos os grupos experimentais, com incremento expressivo e significativo da FC basal para o pico do estresse (Gráfico 3).

Dessa forma, utilizamos a monitorização da FC para verificar a eficácia do estresse farmacológico gerado no miocárdio, guiando o momento da injeção do radiofármaco. É importante ressaltar que a infusão da dobutamina nas doses estudadas (25 µg/kg/min) também provoca o aumento dos níveis de PA e, conseqüentemente, do duplo produto, tanto de animais Kyoto, como de SHR. No presente estudo não foi possível aferir a PA durante o estresse farmacológico da dobutamina, para realização da cintilografia de perfusão miocárdica devido à impossibilidade estrutural do laboratório de medicina nuclear. No entanto, nosso grupo de pesquisa conduziu um estudo em paralelo, utilizando os mesmos modelos do presente estudo, com a mesma idade e estímulos e documentamos o aumento significativo do trabalho cardíaco com o protocolo por nós utilizado.

Estudos prévios têm usado o estresse com dobutamina para avaliação ecocardiográfica. Plante e colaboradores (2005) estudaram 15 ratos *Wistar kyoto*, adultos e saudáveis, quando dois protocolos de infusão de dobutamina foram realizados. O primeiro teve a infusão de dobutamina via intravenosa a uma taxa constante de 10 µg/Kg/min, até o platô ser atingido na FC por pelo menos 2 minutos (n=10). O segundo protocolo ocorreu com doses progressivas crescentes de dobutamina (5, 10 e 20 µg/Kg/min), sendo cada dose infundida por 4 minutos antes da imagem (n=5), estando este mais próximo aos protocolos usados na prática clínica. Os autores também observaram um aumento constante na FC (de 349 ± 12 bpm para 424 ± 4 bpm), após infusão e aumento da pressão arterial sistólica à infusão de dobutamina, depois de apenas 1 minuto no primeiro protocolo e apresentando comportamento semelhante para o segundo protocolo (PLANTE *et al.*, 2005).

Outro estudo buscou caracterizar o uso de dobutamina em ecocardiografia em roedores para avaliação farmacológica de segurança pré-clínica, usando 14 ratos controles com idade entre 9 a 10 semanas, anestesiados com isoflurano inalatório 3% e cloridrato de dobutamina 25 µg/mL, bem como aplicação de veículo como comparação. Os achados demonstraram aumento significativo da FC, quando comparado ao veículo (TONTODONAT *et al.*, 2011).

### 5.2.2.2 Estudo da Perfução Miocárdica

O principal foco de investigação do nosso estudo foi a caracterização da perfusão miocárdica em animais SHR. Demonstramos, de maneira original, a presença de áreas com déficit perfusionais difusos nas paredes ventriculares de animais SHR. Para tal, avaliamos as áreas de defeitos de perfusão de maneira não invasiva, empregando a cintilografia miocárdica de perfusão com Sestamibi-Tc99m pelo método de SPECT de alta-resolução (mini-SPECT).

Diante da necessidade de obtenção de imagens de perfusão miocárdica pelo método cintilográfico, com resolução espacial em torno de 2 mm, que representa uma resolução 10 vezes maior do que a obtida por uma gama-câmara convencional de uso clínico, o grupo de pesquisa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) desenvolveu um sistema de aquisição de imagens de SPECT de alta resolução baseado em um colimador “*pinhole*” e um sistema rotacional de suporte para pequenos animais, que são adaptados a uma gama câmara de uso clínico (MEIJA *et al.*, 2010).

As imagens obtidas de estudos anteriores utilizando este sistema demonstram que o método apresentou elevada resolução espacial e as imagens de perfusão miocárdica, obtidas em ratos controles e submetidos à infarto miocárdico experimental, apresentaram qualidade comparável às imagens obtidas em humanos, permitindo a visualização das paredes e da cavidade ventricular esquerda. Adicionalmente, foi possível observar que a medida da extensão e da topografia dos defeitos perfusionais apresentaram forte correlação com as áreas de infarto avaliadas na histopatologia (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Após busca extensiva da literatura médica científica, não encontramos, até o momento, estudos que utilizaram o mesmo sistema de aquisição de imagens de alta-resolução (mini-SPECT) em modelo de SHR. Vale ressaltar que do mesmo modo não há estudos que tenham adquirido imagens cintilográficas de estresse em pequenos animais.

Dessa forma, ao empregarmos essa metodologia, obtivemos a avaliação da perfusão miocárdica em repouso e estresse, apresentando alguns defeitos de perfusão reversíveis no modelo SHR, com 22 semanas de idade.

Os achados do presente estudo evidenciam defeitos de perfusão reversíveis distribuídos, de forma difusa, ao longo de todo o ventrículo esquerdo, sugerindo que o mecanismo causador desse déficit perfusional seja um dano na microcirculação e não em grandes vasos coronários.

Estudos clínicos com populações de diversas idades com diagnóstico de HA apresentam evidências do envolvimento mais prevalente da microcirculação coronária com doença

isquêmica do coração (FEIHL *et al.*, 2006; BRUSH *et al.*, 1988), podendo ainda ser mais prevalente nas mulheres (ROSENBAUM *et al.*, 2016).

O dano na microcirculação pode ocorrer por fatores intrínsecos (disfunção endotelial), ou extrínsecos, uma vez que quando a massa do VE aumenta, resultando na hipertrofia dos cardiomiócitos, há um aumento na demanda de oxigênio, sem que ocorra aumento do número de capilares, promovendo uma incompatibilidade resultante de capilares e miócitos, caracterizando uma densidade capilar relativamente reduzida; ou seja, na medida em que a demanda de oxigênio aumenta, a perfusão é incapaz de compensar essa sobrecarga indicando a disfunção microvascular coronariana (BACHE, 1988).

De acordo com nossos resultados, não foi possível evidenciar correlações entre a isquemia e o remodelamento ventricular. Esse achado pode ser decorrente da fase inicial do remodelamento adaptativo do VE, apresentando uma hipertrofia ventricular ainda discreta.

Estudos clínicos demonstram que a isquemia miocárdica microvascular está presente na maioria dos casos em que há manifestação da hipertrofia ventricular esquerda, podendo estar associada com a ausência ou presença de DAC, havendo evidências quanto à redução da reserva de fluxo coronário, subendocárdica e isquemia microvascular em todos os níveis da HA (LAINE *et al.*, 1998; DÍEZ; FROHLICH, 2010).

Por outro lado, em um estudo clínico realizado com 48 pacientes hospitalizados, diagnosticados com HA e DAC, submetidos ao estudo de perfusão miocárdica, os pesquisadores observaram que quanto maior foi o grau de defeito nas imagens de perfusão miocárdica, maior foi a hipertrofia do VE. Neste estudo os autores encontraram associação da hipertrofia ventricular apenas naqueles pacientes que possuíam defeitos graves no estudo de perfusão miocárdica (NAWATHE *et al.*, 2013).

Em nosso estudo, os defeitos perfusionais reversíveis encontrados nos animais hipertensos foram de leve a moderado. Vale salientar que não documentamos nenhum defeito grave, o que pode justificar o não aparecimento das correlações esperadas.

É sabido que uma das consequências da sobrecarga pressórica na HA é a hipertrofia do ventrículo esquerdo, acompanhada por alterações de perfusão miocárdica, principalmente devido ao aumento da resistência vascular coronariana (FERREIRA FILHO, 2012), podendo, desta forma, refletir em menor fluxo de nutrientes e oxigênio para o tecido cardíaco, resultando em menor função cardíaca (CHRYSOUHOOU *et al.*, 2003). Desse modo, podemos levantar a hipótese de que um estudo longitudinal que utilize este mesmo modelo experimental, no entanto avaliando os animais em uma fase mais avançada da doença, poderia evidenciar maiores correlações entre os defeitos isquêmicos e a hipertrofia ventricular.

Nossos resultados evidenciaram, também, que o grupo SHR apresentou uma extensão de defeitos significativamente maior do que o grupo controle, variando em relação à gravidade destes que ficou entre leve e moderado nas paredes ventriculares basais, médio ventriculares e apicais.

Como já destacado anteriormente, documentamos, através do ESD, que a presença dos defeitos reversíveis no grupo SHR foi significativamente maior quando comparada ao GC. Os defeitos isquêmicos presentes no grupo SHR estenderam-se nos segmentos basais (1-6), médio ventriculares (7-12) e apicais (13-17), quais sejam: anterior basal, ântero septal basal, ínfero septal basal, inferior basal, ínfero lateral basal, ântero lateral basal, anterior médio, ântero septal médio, ínfero septal médio, ínfero lateral médio, ântero lateral médio, ântero apical, septo apical e ápice.

Como não há estudos prévios de perfusão miocárdica, utilizando técnica de imagens cintilográficas, em animais SHR, comparamos, por extrapolação, outros estudos que utilizaram a mesma metodologia em outros modelos experimentais; porém, apenas com imagens em repouso.

Tanaka e colaboradores (2017), documentaram defeitos de perfusão difuso envolvendo os segmentos apical, anterior-basal, septo anterior-basal, septo basal inferior e médio inferior, em *hamsters* chagásicos, doença que também cursa com comprometimento da microcirculação coronária (TANAKA *et al.*, 2017). Utilizando este mesmo modelo experimental, Oliveira e colaboradores (2018), evidenciaram defeitos perfusionais difusos, envolvendo  $27,7 \pm 19$  % do ventrículo esquerdo de *hamsters* chagásicos com 10 meses de infecção (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo documentaram, pela primeira vez, a presença de defeitos perfusionais reversíveis, pelo método cintilográfico *in vivo*, em modelo experimental de hipertensão arterial crônica com ratos SHR.

As imagens ecocardiográficas mostraram um remodelamento ventricular, no grupo SHR com 22 semanas de vida, associado à função cardíaca preservada, caracterizando a fase inicial da cardiopatia hipertrófica, secundária a hipertensão arterial.

Na fase da evolução da doença em que os animais foram estudados, não foi possível documentar correlação significativa entre os defeitos de perfusão miocárdica e o remodelamento ventricular.

## REFERÊNCIAS

- AKIYAMA, E. *et al.* Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure and normal left ventricular ejection fraction. **J Am Coll Cardiol**, v. 60, p. 1778–86, 2012.
- ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial. Major outcome in high-risk hypertensive patients to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs. diuretic: the Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). **JAMA**, v. 228, n. 23, p. 2981-97, 2002.
- ARMSTRONG, W. F. *et al.* Stress echocardiography: recommendations for the performance and interpretation of stress echocardiography. **Journal of the American Society of Echocardiography**, n. 11, v. 1, p. 97–104, 1998.
- ARTHER, S. *et al.* Impact of noncardiac comorbidities on morbidity and mortality in a predominantly male population with heart failure and preserved versus reduced ejection fraction. **J Am Coll Cardiol**, v. 59, p. 998–1005, 2012.
- AZEVEDO, P. S. *et al.* Cardiac remodeling: concepts, clinical impact, pathophysiological mechanisms and pharmacologic treatment. **Arq Bras Cardiol**, v. 106, p. 62–69, 2016.
- BABBETTE, D. L. M. *et al.* Pathophysiology of hypertension in response to placental ischemia during pregnancy: A central role for endothelin? **Gender Medicine**, v. 5, p. 133-38, 2008.
- BACHE, R. J. Effects of hypertrophy on the coronary circulation. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 30, n. 6, p. 403–40, 1998.
- BASSETO, C. M. R. **Inibição sistêmica da NADPH Oxidase**: Estudo do coração de ratos espontaneamente hipertensos com diabetes mellitus. 2015. 62 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia em Clínica Médica) – Ciências da Saúde, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2015.
- BAUTISTA, L. E. *et al.* Is C-reactive protein an independent risk factor for essential hypertension? **J Hypertens**, v. 19, n. 5, p. 857-61, 2001.
- BERNARDO, B. C. *et al.* Molecular distinction between physiological and pathological cardiachypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacol Ther**, v. 128, n. 1, p. 191-227, 2010.
- BERNATOVA, I. Endothelial dysfunction in experimental models of arterial hypertension: cause or consequence? **Bio Med Research International**, v. 4, 2014.
- BIANCHI, G.; FERRARI, P. A genetic approach to the pathogenesis of primary hypertension and to its treatment. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 22, p. 399-405, 1995.
- BING, O. H. *et al.* The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. **J Mol Cell Cardiol**, v. 27, n. 1, p. 383-96, 1995.

BOLUYT, M. O. *et al.* Alterations in cardiac gene expression. During the transition from stable hypertrophy to heart failure. Marked upregulation of genes encoding extracellular matrix components. **Circ Res**, v. 75, n. 1, p. 23-32, 1994.

BORLAUG, B. A.; REDFIELD, M. M. Diastolic and systolic heart failure are distinct phenotypes within the heart failure spectrum. **Circulation**, v. 123, n. 18, p. 2006–13, 2011.

BRADIC, J. *et al.* Protective Effects of Galium verum L. Extract against Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury in Spontaneously Hypertensive Rats. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2019, p. 1-11, 2019.

BREGAGNOLLO, E. A. *et al.* Relative role of left ventricular geometric remodeling and of morphological and functional myocardial remodeling in the transition from compensated hypertrophy to heart failure in rats with supra-avalvular aortic stenosis. **Arq Bras Cardiol**, v. 88, n. 2, p. 225-33, 2007.

BRILLA, C. G. *et al.* Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 28, p. 269-75, 1996.

BRISTOW, M. R., Mechanisms of development of heart failure in the hypertensive patient. **Cardiology**, v. 92, n. 1, p. 3-6, 1999.

BROOKS, W. W. *et al.* Transition from compensated hypertrophy to systolic heart failure in the spontaneously hypertensive rat: structure, function, and transcript analysis. **Genomics**, v. 95, p. 84–92, 2010.

BRUSH JÚNIOR, J. E. *et al.* Angina due to coronary microvascular disease in hypertensive patients without left ventricular hypertrophy. **N Engl J Med**, v. 319, n. 20, p. 1302-7, 1988.

CHALELA, W. A. *et al.*, Primeira Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia Sobre Cardiologia Nuclear. **Arq Bras Cardiol**, v. 78, p. 16-20, 2002.

CHAPEL, J. M. *et al.*, Prevalence and Medical Costs of Chronic Diseases Among Adult Medicaid Beneficiaries. **Am J Prev Med**, v. 56, n. 6, p. 143-54, 2017.

CHIANG, J. T. *et al.* Eriobotrya japonica ameliorates cardiac hypertrophy in H9c2 cardiomyoblast and in spontaneously hypertensive rats. **Environmental Toxicology**, v. 33, n. 11, p. 1113-22, 2018.

CHRYSOHOOU, C. *et al.* The association between physical activity and the development of acute coronary syndromes in treated and untreated hypertensive subjects. **J Clin Hypertens (Greenwich)**, v. 5, n. 2, p. 115-20, 2003.

CIARDULLO, A. V. *et al.* A diagnosis of left ventricular hypertrophy on ECG is associated with a high cardiovascular risk: findings from a 40-to 69-year-old cohort in general practice. **Fam Pract**, v. 21, p. 63-5, 2004.

CORDEIRO, V. S. C. *et al.* Euterpe oleracea Mart. Seed extract protects against renal injury in diabetic and spontaneously hypertensive rats: role of inflammation and oxidative stress. **Eur J Nutr**, 2017.

CRESPO, M. J.; ESCOBALES, N.; RODRIGUEZ-SARGENT, C. Endothelial dysfunction in the San Juan hypertensive rat: possible role of the nitric oxide synthase. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 27, p. 802–08, 1996.

DAHLOF, B. *et al.* ASCOT Investigators. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo- Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicenter randomised controlled trial. **Lancet**, n. 366, v. 9489, p. 895-906, 2005.

DE SIMONE, G *et al.* Gender differences in left ventricular growth. **Hypertension**, v. 26, p. 979-83, 1995.

DEL MAURO, J. S. *et al.* Effects of third-generation b-blockers, atenolol or amlodipine on blood pressure variability and target organ damage in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, v. 38, n. 3, p. 536-545, 2020.

DERUMEAUX, G. *et al.* Tissue Doppler imaging differentiates physiological from pathological pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. **Circulation**, v. 105, p. 1602–08, 2002.

DEVEREUX, R. B. Therapeutic options in minimizing left ventricular hypertrophy. **Am Heart J**, v. 139, p. 9-14, 2000.

DICKHOUT, J. G.; LEE, R. M. K. W. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 274, p. 794-800, 1998.

DIEZ, J.; FROHLICH, E. D. A translational approach to hypertensive heart disease. **Hypertension**, v. 55, n. 1, p. 1–8, 2010.

DODD, M. S. *et al.* In vivo alterations in cardiac metabolism and function in the spontaneously hypertensive rat heart. **Cardiovasc Res**, v. 95, n. 1, p. 69-76, 2012.

DOGGRELL, S. A.; BROWN, L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. **Cardiovascular Research**, v. 38. p. 89-105, 1998.

DUBLIN, L. I.; LOTKA, A. J. **Length of Life: A Study of the Life Table**, New York: Ronald Press, 1936.

DUBOIS D; DUBOIS, E. F. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. **Arch Intern Med**, v. 17, p. 863-71, 1916.

EGEMNAZAROV, B. *et al.* Pressure overload creates right ventricular diastolic Dysfunction in a mouse model: Assessment by Echocardiography. **J Am Soc Echocardiog**, v. 28. n. 7, p. 828-43, 2015.

FAYSSOIL, A; TOURNOUX, F. Analyzing left ventricular function in mice with Doppler echocardiography. **Heart Fail Rev**, v. 18, n. 4, p. 511-6, 2013.

FAZAN JUNIOR, R.; SILVA, V. J. D. da; SALGADO, H. C. Modelos de hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, n. 1, p. 19-29, 2001.

FEIHL, F. *et al.* Hypertension: a disease of the microcirculation? **Hypertension**, v. 48, n. 6, p. 1012-7, 2006.

FERREIRA FILHO, P. R. P. Padrões de hipertrofia e geometria do ventrículo esquerdo pela ecocardiografia transtorácica. **Rev Bras Ecocardiogr imagem cardiovasc**, v. 25, n. 2, p. 103-15, 2012.

FOLKOW, B. Early structural changes in hypertension: pathophysiology and clinical consequences. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 22, p. 1-6, 1993.

FOLKOW, B.; SYANBORG, A. Physiology of cardiovascular aging. **Physiol**, v. 73, p. 725-758, 1993.

GERTEIS, J. *et al.* Multiple Chronic Conditions Chartbook. Rockville, MD: **Agency for Healthcare Research and Quality**, 2014.

GREENLAND, P. *et al.* ACCF/AHA Guideline for Assessment of Cardiovascular Risk in Asymptomatic Adults. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation**, v. 122, n. 25, p. 584-636, 2010.

GRIENGLING, K. K.; SORESCU, D.; USHIO-FUKAI, M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. **Circulation**, v. 86, n. 5, p. 494-501, 2000.

GROSSMAN, W.; JONES, D.; McLAURIN, L. P. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. **J Clin Invest**, v. 56, n. 1, p. 56-64, 1975.

HACHAMOVITCH, R. *et al.* Exercise myocardial perfusion SPECT in patient without known coronary artery disease: incremental prognostic value and use in risk stratification. **Circulation**, v. 93, p. 905-14, 1996.

HALL, J. E. *et al.* Hypertension: Physiology and Pathophysiology. **Comprehensive Physiology**, v. 2, p. 2393-2441, 2012.

HALL, J. E.; GRANGER, J. P.; JONES, D. W.; HALL, M. E. **Pathophysiology of hypertension**, In: FUSTER, V.; WALSH, R. A.; HARRINGTON, R. A. ed. *Hurst's The Heart*. McGraw-Hill, p. 1549-84, 2011.

HANSSON, L. *et al.* Randomised trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity. The Swedish Trial in Old Patients with Hypertension-2 study. **Lancet**, v. 354, n. 9192, p. 1129-33, 1999.

HEIN, S. *et al.* Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart. **Circulation**, v. 107, n. 7, p. 984-91, 2003.

HELLER, J. *et al.* The Prague Hypertensive Rat: a new model of genetic hypertension. **Clin Exp. Hypertens**, v. 15, p. 807-18, 1993.

HERMIDA, R. C. *et al.* Ambulatory Blood Pressure Monitoring (ABPM) as the reference standard for diagnosis of hypertension and assessment of vascular risk in adults. **Chronobiology International**, v. 32, n. 10, p. 1329-42, 2015.

IKEDA, U.; TAKAHASHI, M.; SHIMADA, K. C-reactive protein directly inhibits nitric oxide production by cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 42, n. 5, p. 607-11, 2003.

JACKSON, K. L. *et al.* A novel interaction between sympathetic overactivity and aberrant regulation of renin by miR-181a in BPH/2J genetically hypertensive mice. **Hypertension**, v. 62, p. 775–81, 2013.

JAMES, P. A. *et al.* Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507- 20, 2014.

JANICKI, J. S. Myocardial Collagen remodeling and left ventricular diastolic function. **Braz J Med Biol Res**, v. 25, p. 975-82, 1992.

KASACKA, I. *et al.*, Influence of doxazosin on biosynthesis of S100A6 and atrial natriuretic factor peptides in the heart of spontaneously hypertensive rats. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 241, n. 4, p. 375-81, 2016.

KASAL, D. A. B.; NEVES, M. F. Inflammation as a pathogenic mechanism in arterial hypertension. **Brazilian Journal of Health and Biomedical Sciences**, v. 10, n. 3, p. 11-19, 2011.

KAUSER, K.; RUBANYI, G. M. Gender differences in endothelial dysfunction in the aorta of spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 25, p. 517–24, 1995.

KIDAMBI, S. *et al.* Non-replication study of a genome-wide association study for hypertension and blood pressure in African Americans. **BMC Med Genet**, p. 13-27, 2012.

KIMURA, L. *et al.* Genomic ancestry of rural African-derived populations from Southeastern Brazil. **Am J Hum Biol**, v. 25, n. 1, p. 35-41, 2013.

KIMURA, L. *et al.* Multilocus family-based association analysis of seven candidate polymorphisms with essential hypertension in an African-derived semi-isolated Brazilian population. **Int J Hypertens**, p. 2012-19, 2012.

KJELDSEN, S. E. Hypertension and cardiovascular risk: General aspects. **Pharmacological Research**, v. 129, p. 95-99, 2018.

KLOCKE, F. J. *et al.* ACC/AHA/ASNC guidelines for the clinical use of cardiac radionuclide imaging--executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASNC Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Clinical Use of Cardiac Radionuclide Imaging). **J Am Coll Cardiol**, v. 42, n. 7, p. 1318-33, 2003.

KURTZ, T. W. Genome-wide association studies will unlock the genetic basis of hypertension: con side of the argument. **Hypertension**, v. 56, p. 1021–25, 2010.

LAINE, H. *et al.* Early impairment of coronary flow reserve in young men with borderline hypertension. **J Am Coll Cardiol**, v. 32, n. 1, p. 147–53, 1998.

LAM, C. S. *et al.* Epidemiology and clinical course of heart failure with preserved ejection fraction. **Eur J Heart Fail**, v. 13, n. 1, p. 18-28, 2011.

LAM, C. S.; BRUTSAERT, D. L. Endothelial dysfunction: a pathophysiologic factor in heart failure with preserved ejection fraction. **J Am Coll Cardiol**, v. 60, p. 1787-9, 2012.

LANG, R. M. *et al.* Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 28, n. 1, p 1-39. 2015.

LANG, R. M. *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines, Standards Committee, and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. **J Am Soc Echocardiogr**, v. 18, p. 1440-63, 2005.

LEDINGHAM, J. M.; LAVERTY, R. Nitric oxide synthase inhibition with N omega-nitro-L-arginine methyl ester affects blood pressure and de Jong W, editor. Experimental and cardiovascular structure in the genetically hypertensive rat strain. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 24, p. 433-35, 1997.

LEWIS, O. Stephen Hales and the measurement of blood pressure. **J Hum Hypertens**, v. 8, n. 12, p. 865–71, 1994.

LI, J. *et al.* Metabolic changes in spontaneously hypertensive rat hearts precede cardiac dysfunction and left ventricular hypertrophy. **Journal of the American Heart Association**, v. 8, n. 4, 2019.

LIBBY, P.; RIDKER P. M.; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 9, p. 1135-43, 2002.

LINDPAINTNER, K.; KREUTZ, R.; GANTEN, D. Genetic variation in hypertensive and 'control' strains. What are we controlling for anyway? **Hypertension**, v. 19, p. 428-30, 1992.

LITWIN, S. E. *et al.* Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. **Circulation**, v. 89, n. 14, p. 345-54, 1994.

LITWIN, S. E. *et al.* Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. **Circulation**, v. 91, p. 2642–654, 1995.

- LOENING, A. M.; GAMBHIR, S. S. AMIDE. A Free Software Tool for Multimodality Medical Image Analysis. **Molecular Imaging**, v. 2, p. 131-37, 2003.
- LONDON, G. M.; PANNIER, B.; SAFAR, M. E. Arterial Stiffness Gradient, Systemic Reflection Coefficient, and Pulsatile Pressure Wave Transmission in Essential Hypertension. **Hypertension**, v. 74, p. 1366-72, 2019.
- MALACHIAS, M. V. B. *et al.* 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3, p. 1-83, 2016.
- MANCIA, G. *et al.* ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **Eur Heart J**, v. 31, n. 7, p. 1281-357, 2013.
- MANN, D. L. Left ventricular size and shape: determinants of mechanical signal transduction pathways. **Heart Fail Rev**, v. 10, p. 95–100, 2005.
- MANSUR, A. P.; FAVARATO, D. Mortality due to Cardiovascular Diseases in Brazil and in the Metropolitan Region of São Paulo: A 2011 Update. **Arq Bras Cardiol**, v. 99, n. 2, p. 755-761, 2012.
- MATHIAS JUNIOR, W. **Manual de ecocardiografia**. 2 ed., Barueri, SP: Manole, 2009.
- MATSUBARA, L. S. *et al.* Myocardial fibrosis rather than hypertrophy induces diastolic dysfunction in renovascular hypertensive rats. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 75, p. 1328-34, 1997.
- MEJIA, J. *et al.* A clinical gamma camera-based pinhole collimated system for high resolution small animal SPECT imaging. **Braz J Med Biol Res**, v. 43, n. 12, p. 1160-66, 2010.
- MENNUNI, S. *et al.* Hypertension and kidneys: unraveling complex molecular mechanisms underlying hypertensive renal damage. **J Hum Hypertens**, v. 28, p. 74-79, 2014.
- MESSERLI, F. H. Cardiovascular effects of obesity and hypertension. **Lancet**, v. 1, p. 1165-8, 1982.
- MIKAEL, L. R. de *et al.* Vascular aging and arterial stiffness. **Arq Bras Cardiol**, v. 109, n. 3, p. 253-58, 2017.
- MOHAMMED, S. F. *et al.* Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction. **Circulation**, v. 131, p. 550-9, 2015.
- MOSER, M. From JNC I to JNC 7: what have we learned?. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 48, n. 5, p. 303–15, 2006.
- MULLER, M. *et al.* Treatment of Hypertension in the Oldest Old. **Hypertension**, v. 63, n. 3, p. 443-41, 2014.

MYERS, M. G. *et al.* Measurement of blood pressure in the office: Recognizing the problem and proposing the solution. **Hypertension**, v. 55, n. 2, p. 195-200, 2010.

NAKAGAWA, P.; SIGMUND, C. D. How Is the Brain Renin–Angiotensin System Regulated? **Hypertension**, v. 70, n. 1, p. 10-18, 2017.

NAWATE, A. *et al.* Correlation of echocardiographic left atrial abnormality with myocardial ischemia during myocardial perfusion assessment in the presence of know left ventricular hypertrophy. **Am J Cardiol**, v. 112, p. 416-19, 2013.

NEAL, B.; MACMAHON, S.; CHAPMAN, N. Blood Pressure Lowering Trialist's Collaboration. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomized trials. Blood Pressure Lowering Trialist's Collaboration. **Lancet**, n. 356, v. 9246, p. 1955-64, 2000.

NIGRO, D. *et al.* Sex-related differences in the response of spontaneously hypertensive rats to angiotensin-converting enzyme inhibition. **Endothelium**, v. 5, p. 63-71, 1997.

O'BRIEN, E. *et al.* European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring. European Society of Hypertension position paper on ambulatory blood pressure monitoring. **J Hypertens**, v. 31, n. 9, p. 1731-68, 2013. Erratum in: **J Hypertens**, v. 31, n. 12, p. 2467, 2013.

OKAMOTO, K. *et al.* Participation of neural factors in the pathogenesis of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. **Jap Heart J**, v. 8, p. 168-180, 1967.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jap Circulation J**, v. 27, n. 3, p. 282-293, 1963.

OLIVEIRA, L. F. L. *et al.* Rest myocardial perfusion disturbance is related to inflammation but not to fibrosis in experimental chronic chagas cardiomyopathy. **European Heart Journal**, v. 34, p. 978, 2013.

OLIVEIRA, L. F. L. *et al.* Regional Myocardial perfusion disturbance in experimental chronic chagas cardiomyopathy. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 59, n. 9, p. 1430-36, 2018.

OLIVEIRAS, A.; DE LA SIERRA, A. Resistant hypertension: patient characteristics, risk factors, co-morbidities and outcomes. **J Hum Hypertens**, v. 28, p. 213-17, 2014.

ONG, S. & GUSTAFSSON, A. B. New roles for mitochondria in cell death in the reperfused myocardium. **Cardiovasc Res**, v. 94, n. 2, p. 190-6, 2012.

PARATI, G. *et al.* ESH Working Group on Blood Pressure Monitoring. European Society of Hypertension practice guidelines for home blood pressure monitoring. **J Hum Hypertens**, v. 24, n. 12, p. 779-85, 2010.

PARZ, E. *et al.*, Ultrafast multiplanar determination of left ventricular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats with single-shot spin-echo nuclear magnetic resonance imaging. **Journal of Hypertension**, v. 21, p. 429-36, 2003.

PAULUS, W. J.; TSCHÖPE, C. A Novel Paradigm for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 4, 2013.

PFEFFER, J. M.; PEFEEFFER, M. A.; FROHLICH, E. D. Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. **J Lab Clin Med**, v. 78, p. 957-62, 1971.

PFEFFER, M. A. Heart Failure and Hypertension: Importance of Prevension. **Medical Clinics of North America**, v. 101, n. 1, p. 19-28, 2017.

PINTO, Y. M.; PAUL, M.; GANTEN, D. Lessons From rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. **Cardiovascular Research**, v. 39, n. 1, p. 77-88, 1998.

PIRES, N. F. *et al.*, Study of overlap of pathophysiological mechanisms as a model of hypertension with severe cardiac effects. **Rev Bras Hipert**, v. 21, n. 2, p. 104-113, 2014.

PLANTE, E. *et al.*, Dobutamine stress echocardiography in healthy adult male rats. **Cardiovascular Ultrasound**, v. 3, n. 34, 2005.

PONIKOWSKI, P. *et al.* ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **Eur J Heart Fail**, v. 37, n. 27, p. 2129-200, 2016.

POTTS, J. T.; MCKEOWN, K. P.; SHOUKAS, A. A. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. **Am J Physiol**, v. 274, n. 4, p. 1121-31, 1998.

RANDRIAMBOAVONJY, J. I. *et al.* Cardiac Protective Effects of Moringa oleifera Seeds in Spontaneous Hypertensive Rats. **American Journal of Hypertension**, v. 29, n. 7, p. 873-881, 2016.

RAPP, J. P. Genetic analysis of inherited hypertension in the rat. **Physiol Rev**, v. 80, n. 1, p. 135-72, 2000.

ROSENBAUM, D. *et al.* Effects of age, blood pressure and antihypertensive treatments on retinal arterioles remodeling assessed by adaptive optics. **J Hypertens**, v. 34, p. 1115-22, 2016.

SASSARD, J. *et al.* Genetics of blood pressure and associated phenotypes in the Lyon rat. *Clin Exp. Hypertens*, v. 19, p. 567-75, 1997.

SCALA L. C.; MAGALHÃES L. B.; MACHADO A. **Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica**. In: Moreira S. M., Paola A.V.; Sociedade Brasileira de Cardiologia. Livro Texto da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2<sup>a</sup>. ed. São Paulo: Manole, p. 780-785, 2015.

SCHIFFRIN, E. L. Vascular endothelin in hypertension. **Vascul Pharmacol**, v. 43. p. 19-29, 2005.

SEGURA, J. *et al.* Development of chronic kidney disease and cardiovascular prognosis in essential hypertensive patients. **J Am Soc Nephrol**, v. 15, p. 1616-22, 2004.

SELIGER, S. L. *et al.* Older adults, “malignant” left ventricular hypertrophy, and associated cardiac-specific biomarker phenotypes to identify the differential risk of new-onset reduced versus preserved ejection fraction heart failure: CHS (Cardiovascular Health Study). **J Am Coll Cardiol**, v. 3, p. 445–55, 2015.

SESSO, H. D. *et al.* C-reactive protein and the risk of developing hypertension. **JAMA**, v. 290, n. 22, p. 2945-51, 2003.

SHENASA, M.; SHENASA, H. Hypertension, left ventricular hypertrophy, and sudden cardiac death. **International Journal of Cardiology**, v. 237, p. 60-3, 2017.

SLAMA, M. *et al.* Echocardiographic measurement of cardiac output in rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 284, p. 691-97, 2003.

SPADACCIO, C. *et al.* The role of extracellular matrix in age-related conduction disorders: A forgotten player? **J Geriatr Cardiol**, v. 12, p. 76-82, 2015.

SPINALE, F. G.; JANICKI, J. S.; ZILE, M. R. Membrane associated matrix proteolysis and heart failure. **Circ. Res**, v. 112, n. 1, p. 195, 2013.

STAESSEN, J. A. *et al.* Ambulatory blood pressure in normotensive and hypertensive subjects: results from an international database. **J Hypertens Suppl**, v. 12, n. 7, p. 1-12, 1994.

SUN, H. X. *et al.* Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. **Hypertension**, v. 60, p. 1407-14, 2012.

TANAKA, D. M. *et al.*, Prolonged dipyridamole administration reduces myocardial perfusion defects in experimental chronic Chagas cardiomyopathy. **Journal of Nuclear Cardiology**, v. 26, n. 5, p. 1569-79, 2017.

TAKATA, Y.; KATO, H. Adrenoceptors in SHR: alterations in binding characteristics and intracellular signal transduction pathways. **Life Sci**, v. 58, p. 91-106, 1996.

TEO, L. Y.; CHAN, L.; LAM, C. S. Heart failure with preserved ejection fraction in hypertension. **Current Opinion in Cardiology**, v. 31, n. 4, p. 410-16, 2016.

THAM, Y. K. *et al.* Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. **Arch Toxicol**, v. 89, n. 9, p. 1401-38, 2015.

THOMAS, C. J. *et al.* ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 29, n. 5, p. 1126-32, 1997.

TONTODONATI, M. *et al.* Characterisation of rodent dobutamine echocardiography for preclinical safety pharmacology assessment. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 64, p. 129-33, 2011.

TRIPPODO, N C.; YAMAMOTO, J.; FROHILCH, E. D. Whole-body venous capacity and effective total tissue compliance in SHR. **Hypertension**, 1981, in press.

TSCHÖPE, C. *et al.* High prevalence of cardiac parvovirus B19 infection in patients with isolated left ventricular diastolic dysfunction. **Circulation**, v. 111, p. 879-86, 2005.

VAKILI, B. A.; OKIN, P. M.; DEVEREUX, R. B. Prognostic implications of left ventricular hypertrophy. **Am Heart J**, v. 141, n. 3, p. 334-41, 2001.

VAN HEEREBEEK, L. *et al.* Diastolic stiffness of the failing diabetic heart: Importance of fibrosis, advanced glycation end products, and myocyte resting tension. **Circulation**, v. 117, n. 1, p. 43-51, 2008.

VEIGA, E. V. *et al.* Assessment of the techniques of blood pressure measurement by health professionals. **Arq Bras Cardiol**, v. 80, n. 1, 2003.

WADDINGHAM, M. T.; PAULUS, W. J. Microvascular Paradigm in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction a Quest for Proof of Concept. **Circulate Heart Failure**, v. 10, n. 6, 2017.

WEBER, M. A. *et al.* Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. **J Hypertens**, v. 16, n. 1, p. 14-26, 2014.

WEEKS, K.L.; MCMULLEN, J.R. The Athlete's Heart vs. the Failing Heart: Can Signaling Explain the Two Distinct Outcomes? **Physiology**, v. 26, n. 2, p. 97-105, 2011.

WESTERMANN, D. *et al.* Cardiac inflammation contributes to changes in the extracellular matrix in patients with heart failure and normal ejection fraction. **Circ Heart Fail**, v. 4, n. 1, p. 44-52, 2011.

WHELTON, P. K. *et al.* High Blood Pressure Clinical Practice Guideline. **Journal of the American College of Cardiology**, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020**. Geneva, WHO, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on noncommunicable diseases 2010**. Geneva, WHO, 2011.

WU, Q. Q. *et al.* Mechanisms contributing to cardiac remodelling. **Clin Sci (Lond)**, v. 131, n. 18, p. 2319-45, 2017.

YUSUF, S. *et al.* ONTARGET Investigators. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. **N Engl J Med**, v. 358, n. 15, p. 1547-59, 2008.

ZAPPAROLI, A. *et al.* Hypothalamic SOCS-3 expression and the effect of intracerebroventricular angiotensin II injection on water intake and renal sodium handling in SHR., **INCT-INOD**, v. 60, p. 425-33, 2010.

ZHANG, X. *et al.* A novel hydrodynamic approach of drag-reducing polymers to improve left ventricular hypertrophy and aortic remodeling in spontaneously hypertensive rats. **Int J Nanomedicine**, v. 11, p. 6743-6751, 2016.

ZHANG, Y. L. *et al.* Chronic inhibition of chemokine receptor CXCR2 attenuates cardiac remodeling and dysfunction in spontaneously hypertensive rats. **Molecular Basis of Disease**, n. 1865, 2019.

## ANEXO 1. COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



## AUTORIZAÇÃO

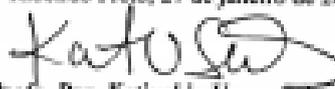
A CEUA-FMRP autoriza a execução do projeto intitulado: *"Caracterização da perfusão miocárdica e sua correlação com a disfunção ventricular em modelo experimental de cardiomiopatia hipertensiva crônica"*, registrado com o número do protocolo 240/2019, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcus Vinícius Simões, envolvendo a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O Protocolo foi APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em reunião de 27 de janeiro de 2020.

Colaboradores: Eduardo Elias Vieira de Carvalho  
Antonio Osvaldo Pertya  
Rafael Broilo Pavão  
Denise Mayumi Tanaka

Lembramos da obrigatoriedade do Relatório Final, em modelo da CEUA, para emissão de Certificado, como disposto nas Resoluções Normativas do CONCEA.

| Finalidade                                   |               |                | () Ensino (X) Pesquisa Científica |  |
|--|---------------|----------------|-----------------------------------|--|
| Vigência da autorização                      |               |                | 27/01/2020 a 10/03/2024           |  |
| Espécie/Linhagem                             | Nº de Animais | Procedência    | Sexo                              | Origem                                 |
| Rato / Spontaneously hypertensive rats - SHR | 15            | 150g / 02 dias | Macho                             | Instituto de Ciências Biomédicas - USP |
| Rato / Wistar-OLD                            | 15            | 150g / 02 dias | Macho                             | Serviço de Biotério                    |

Ribeirão Preto, 27 de janeiro de 2020

  
Prof.ª Dra. Katia Uzzau Sales  
Coordenadora da CEUA-FMRP-USP