

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

PEDRO DE OLIVEIRA NETO

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA E DA PERFUSÃO
MIOCÁRDICA EM REPOUSO E ESTRESSE, EM MODELO DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

UBERABA

2022

PEDRO DE OLIVEIRA NETO

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA E DA PERFUSÃO
MIOCÁRDICA EM REPOUSO E ESTRESSE, EM MODELO DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Dissertação apresentada ao Programa 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

2022

Catálogo na fonte:

Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Oliveira Neto, Pedro de
O48a Avaliação da função ventricular esquerda e da perfusão miocárdica em repouso e estresse, em modelos de ratos espontaneamente hipertensos / Pedro de Oliveira Neto. -- 2022.
56 p.: il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2022
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho

1. Hipertensão. 2. Doenças cardiovasculares. 3. Órgãos em risco.
4. Cintilografia. 5. Ecocardiografia. I. Carvalho, Eduardo Elias Vieira de.
II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.12-008.331.1

PEDRO DE OLIVEIRA NETO

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA E DA PERFUSÃO
MIOCÁRDICA EM REPOUSO E ESTRESSE, EM MODELO DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Dissertação apresentada ao Programa 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.

_____ de _____ de _____.

Banca Examinadora:

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

Prof. Dr. Carlos Fernando Ronchi
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Profa. Dra. Denise Mayumi Tanaka
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo

*Dedico essa conquista à minha família,
namorada e amigos que sempre estiveram
me apoiando em momentos difíceis e de
alegria, mas estando sempre comigo nesta
etapa tão especial para mim!!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade concedida e por me guiar por esse período;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho, pelos ensinamentos, dedicação em cada etapa, acolhimento e paciência;

E a minha família, Mauricio, Marizete, Maria Clara e Maria Luiza, por todo apoio e incentivo nesta caminhada;

Ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, em especial ao Prof. Dr. Marcus Vinícius Simões, Dra. Denise Mayumi Tanaka, Ms. Camila Godoy Fabrício, Vanessa de Souza Nakagi e Prof. Dra. Minna Moreira Dias Romano, pelo auxílio durante a realização do estudo;

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

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas e ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo auxílio e ajuda nesta etapa;

A todos os meus amigos que me incentivaram e apoiaram, em especial Gabriela Souza Faria e Ana Luísa Freitas Siqueira, pelo companheirismo, empenho e dedicação na realização e auxílio do estudo;

Aos demais familiares, amigos e minha Namorada Mariana Franzoni que procuraram sempre me apoiar na realização deste sonho.

A todos o meu muito obrigado!

RESUMO

OLIVEIRA NETO, PEDRO. **Avaliação da função ventricular esquerda e da perfusão miocárdica em repouso e estresse, em modelo de ratos espontaneamente hipertensos.** 2022. 56f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2022.

Introdução: A hipertensão arterial é uma doença crônica que apresenta diferentes fatores fisiopatológicos, caracterizada pelo aumento persistente da pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg, provocando lesões em órgãos-alvos, como o cérebro, rins, vasos sanguíneos e coração, agravando problemas já existentes e/ou induzindo o surgimento de novas patologias. Em 2017, no Brasil, a hipertensão arterial foi associada a 45% das mortes cardíacas provocadas por doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca, além de estar presente em 51% das mortes por doenças cerebrovasculares, gerando altos gastos para os cofres públicos. Estudos que utilizam ratos como modelo experimental são de grande importância, pois nos permitem investigar os mecanismos fisiológicos de doenças, possibilitando também testar novos tratamentos, somado a isto, alguns modelos de ratos apresentam o sistema circulatório parecido com o de humanos. O rato espontaneamente hipertenso (SHR) apresenta o desenvolvimento da hipertensão arterial semelhantes aos humanos, pois esse modelo genético faz com que a doença evolua naturalmente conforme o animal vai envelhecendo e nas fases mais avançadas da doença, idade adulta e idosa do animal, apresenta lesões em órgãos-alvos como coração. A evolução da hipertensão no SHR cursa com o desenvolvimento de hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, alteração do relaxamento ventricular, associado à disfunção diastólica, aumento da frequência cardíaca, surgimento de fibrose miocárdica, evoluindo para disfunção sistólica com fração de ejeção reduzida. Desse modo, um estudo conduzido com imagens de perfusão miocárdica e função ventricular esquerda *in vivo* poderia ser utilizado de forma satisfatória para investigar a influência da isquemia miocárdica, disfunção ventricular e hipertrofia ventricular esquerda, secundária a hipertensão arterial crônica, na evolução da doença, em especial, nas fases mais avançada da vida do animal, que é o momento na qual a doença gera mais danos a órgão-alvos, como o coração. **Objetivos:** Avaliar o remodelamento ventricular esquerdo e a perfusão miocárdica, em repouso e sob estresse farmacológico com o dipiridamol, em um modelo experimental de hipertensão arterial crônica, em ratos SHR. **Métodos:** Foram utilizados ratos *Wistar Kyoto* (WKY – 10 ratos) e *Espontaneamente Hipertenso* (SHR – 10

ratos) com 44 semanas de idade, mantidos em alojamento climatizado no biotério da Universidade de Uberaba – UNIUBE, com livre acesso a água e ração padrão, submetidos a ritmo de 12 horas de luz/sombra e temperatura controlada (22 ± 2 °C). Ao completarem 44 semanas de vida foram submetidos à medida da pressão arterial pelo método pletismográfico de cauda em repouso e em seguida foram submetidos aos seguintes exames de imagem *in vivo*: Doppler-ecocardiograma e cintilografia de perfusão miocárdica de alta resolução com Sestamibi-Tc-99m (SPECT de alta resolução) em repouso e sob estresse farmacológico com dipiridamol (4 mg/kg/min por 10 minutos). Os parâmetros morfológicos avaliados foram diâmetro sistólico e diastólico final do ventrículo esquerdo, espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole e em diástole, espessura do septo interventricular em sístole e em diástole, índice de massa do ventrículo esquerdo, 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), no modelo de 17 segmentos das paredes do ventrículo esquerdo. Para cada animal foram calculados os escores somados nas imagens de repouso, estresse e a diferença entre o estresse e o repouso para avaliação da extensão global da reversibilidade (isquemia) e a gravidade, medidas através do escore da diferença. Ao final do período de exames de imagem e medidas da pressão arterial, os animais foram eutanasiados para retirada de soro e plasma sanguíneo, colocado em alíquotas, congelado e armazenado em temperatura de -20°C , para análises futuras. **Resultados:** O grupo WKY ($373,0 \pm 21,1$ g) apresentou o peso corporal significativamente maior ($p=0,01$) do que o grupo SHR ($349,3 \pm 16,8$ g). Nas análises da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca, foi observado que o grupo SHR ($184,9 \pm 14,6$ mmHg e $240,4 \pm 13,8$ bpm) apresentou valores significativamente maiores ($p = 0,0001$) do que o grupo WKY ($111,8 \pm 13,1$ mmHg e $204,3 \pm 15,04$ bpm). Nas análises ecocardiográficas, observou-se fração de ejeção do ventrículo esquerdo preservada em ambos os grupos, mas o valor do grupo SHR ($77,12 \pm 5,64$ %) foi significativamente maior ($p = 0,008$) em comparação com o grupo WKY ($70,08 \pm 4,52$ %). Foi observado que o grupo SHR ($3,44 \pm 0,60$ mm e $6,33 \pm 0,46$ mm) apresentou diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo ($p = 0,0003$) e diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo ($p = 0,0002$) significativamente menores do que o grupo WKY ($4,44 \pm 0,32$ mm e $7,33 \pm 0,45$ mm). Por outro lado, o grupo SHR apresentou valores significativamente maiores da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole (SHR $3,71 \pm 0,29$ mm vs. WKY $3,15 \pm 0,66$ mm, $p = 0,02$), do septo interventricular em diástole (SHR $2,29 \pm 0,35$ mm vs. WKY $1,74 \pm 0,19$

mm, $p = 0,0006$), o índice de massa do ventrículo esquerdo (SHR $2,64 \pm 0,35$ mm vs. WKY $2,25 \pm 0,39$ mm, $p = 0,03$) e da espessura relativa da parede ventricular (SHR $0,77 \pm 0,11$ mm vs. WKY $0,58 \pm 0,13$ mm, $p = 0,002$) do que o grupo WKY. Não foi observado diferença significativa dos defeitos de perfusão miocárdica entre os grupos ($p > 0,05$), mas foi observado maiores defeitos de perfusão em repouso em relação ao estresse, mas sem diferença significativa. **Conclusões:** O presente estudo documentou elevados níveis pressóricos nos ratos do grupo SHR com 44 semanas de vida, que levou a um grande remodelamento do ventrículo esquerdo, com aumento da espessura de paredes e redução de cavidades ventriculares, no entanto, sem alterar as funções diastólica e sistólica ventriculares. Os defeitos de perfusão miocárdica em repouso foram semelhantes entre os dois grupos estudados e o dipiridamol não foi capaz de induzir o aumento dos defeitos.

Palavras-chave: Hipertensão; Doenças cardiovasculares; Órgãos em risco; Cintilografia; Ecocardiografia.

ABSTRACT

OLIVEIRA NETO, PEDRO. **Evaluation of left ventricular function and myocardial perfusion at rest and stress in a model of spontaneously hypertensive rats.** 2022. 56p. Master's degree dissertation - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2022.

Introduction: Arterial hypertension is a chronic disease that presents different pathophysiological factors, characterized by persistently increased systolic blood pressure ≥ 140 mmHg and diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg, causing damage to target organs such as the brain, kidneys, blood vessels and heart, ravaging existing problems and/or inducing the emergence of new pathologies. In 2017, in Brazil, high blood pressure was associated with 45% of cardiac deaths caused by coronary artery disease and heart failure, in addition to being present in 51% of deaths from cerebrovascular diseases, generating high costs for public coffers. Studies that use rats as an experimental model are of great importance, as they allow us to investigate the physiological mechanisms of diseases, also making it possible to test new treatments, in addition to this, some mouse models have a circulatory system similar to that of humans. The SHR presents the development of high blood pressure similar to humans, because this genetic model causes the disease to evolve naturally as the animal ages and in the most advanced stages of the disease, in the adult and elderly age of the animal, he has lesions in target organs such as the heart. The evolution of hypertension in HRS progresses with the development of left ventricular concentric hypertrophy, changes in ventricular relaxation, associated with diastolic dysfunction, increased heart rate, onset of myocardial fibrosis, progressing to systolic dysfunction with reduced ejection fraction. Thus, a study conducted with images of myocardial perfusion and left ventricular function in vivo could be used satisfactorily to investigate the influence of myocardial ischemia, ventricular dysfunction and left ventricular hypertrophy, secondary to chronic arterial hypertension, in the course of the disease, especially in the more advanced stages of the animal's life, which is the moment when the disease causes the most damage to target organs, such as the heart. **Objectives:** To evaluate left ventricular remodeling and myocardial perfusion, at rest and under pharmacological stress with dipyridamole in an experimental model of chronic arterial hypertension, with SHR rats. **Methods:** Wistar Kyoto rats (WKY – 10 rats) and Spontaneously Hypertensive rats (SHR – 10 rats) with 44 weeks of age were used, kept in air-conditioned accommodation in the vivarium of the University of Uberaba - UNIUBE, with free access to water and standard feed, subjected to a rhythm of 12 hours of light/shade and

controlled temperature (22 ± 2 °C). When they completed 44 weeks of life, they were submitted to blood pressure measurement by the tail plethysmography method at rest, then they were submitted to in vivo imaging tests: Doppler-echocardiogram and high-resolution myocardial perfusion scintigraphy with Sestamibi-Tc-99m (high-resolution SPECT) at rest and under pharmacological stress using dipyridamole (4 mg/kg/min for 10 minutes). The morphological parameters evaluated were left ventricular end-systolic and diastolic diameter, left ventricular posterior wall thickness in systole and diastole, thickness of the interventricular septum in systole and diastole, left ventricular mass index, relative thickness of the ventricular wall. The functional parameters evaluated were ejection fraction and left ventricular shortening. Uptake defects in resting and stress images were semi-quantified by attributing visual scores (0 = normal; 1 = mild defect; 2 = moderate defect; and 3 = severe defect), in a 17-segment model of the left ventricular walls. For each animal, summed scores were calculated on the rest, stress and difference between stress and rest images to assess the global extent of reversibility (ischemia) and severity, measures through the difference score. At the end of the period of imaging tests and blood pressure measurement, the animals were euthanized for removal of serum and blood plasma, placed in aliquots, frozen and stored at a temperature of -20°C , for future analysis. **Results:** The WKY group (373 ± 21.1 g) had significantly higher body weight ($p=0.01$) than the SHR group (349.3 ± 16.8 g). In the analyzes of systolic blood pressure and heart rate, it was observed that the SHR group (184.9 ± 14.6 mmHg and 240.4 ± 13.8 bpm) showed significantly higher values ($p = 0.0001$) than the WKY group (111.8 ± 13.1 mmHg and 204.3 ± 15.04 bpm). In the analyzes of the echocardiogram examination, observed left ventricular ejection fraction preserved in both groups, but value of the SHR group (77.12 ± 5.64 %) significantly higher ($p = 0.008$) compared to the WKY group (70.08 ± 4.52 %). It was observed that the SHR group (3.44 ± 0.60 mm and 6.33 ± 0.46 mm) had the left ventricular end-systolic diameter ($p = 0.0003$) and left ventricular end-diastolic diameter ($p = 0.0002$) significantly smaller than the WKY group (4.44 ± 0.32 mm and 7.33 ± 0.45 mm). On the other hand, the SHR group showed significantly higher values of the left ventricular posterior wall in systole (SHR 3.71 ± 0.29 mm vs. WKY 3.15 ± 0.66 mm, $p = 0.02$), the interventricular septum in diastole (SHR 2.29 ± 0.35 mm vs. WKY 1.74 ± 0.19 mm, $p = 0.0006$), the left ventricular mass index (SHR 2.64 ± 0.35 mm vs. WKY 2.25 ± 0.39 mm, $p = 0.03$) and relative ventricular wall thickness (SHR 0.77 ± 0.11 mm vs. WKY 0.58 ± 0.13 mm, $p = 0.002$) than the WKY group. There was no significant difference in myocardial perfusion defects between groups ($p > 0.05$), but greater perfusion defects were observed at rest in relation to stress, but with no significant difference.

Conclusions: The present study documented high blood pressure levels in rats from the SHR group at 44 weeks of age, which led to a major remodeling of the left ventricle, with increased wall thickness and reduction of ventricular cavities, however, without altering ventricular diastolic and systolic functions. Myocardial perfusion defects at rest were similar between the two studied groups and dipyridamole was not able to induce an increase in defects.

Keywords: Hypertension; Cardiovascular diseases; Organs at risk; Scintigraphy; Echocardiography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Delineamento Geral do Estudo.....	27
Figura 2. Pletismógrafo de Cauda.....	28
Figura 3. Imagem ilustrativa da obtenção das imagens ecocardiográficas.....	29
Figura 4. Imagem ilustrativa adquirida durante o exame de ecocardiografia.....	31
Figura 5. Imagem ilustrativa da medida de fração de ejeção do ventrículo esquerdo pelo método bidimensional.....	31
Figura 6. Sistema SPECT de alta resolução e posicionamento do animal.....	33
Figura 7. Esquema de divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos.....	34
Figura 8. Mapa Polar.....	34
Figura 9. Imagem da perfusão miocárdica em um animal WKY e SHR.....	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparação da PAS e FC entre os grupos.....	37
Gráfico 2. Comparação variáveis ecocardiográficas.....	39
Gráfico 3. Frequência dos defeitos perfusionais por segmento em repouso, estresse e a diferença.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados dos parâmetros ecocardiográficos entre os grupos experimentais.....38

Tabela 2. Resultados obtidos na cintilografia miocárdica de perfusão em cada grupo experimental.....41

LISTA DE SIGLAS

DC – Débito Cardíaco

ESR – Escore somado em repouso

ESE – Escore somado em estresse

ESD – Escore somado da diferença

FC – Frequência Cardíaca

g – Gramas

PA – Pressão arterial

PAD – Pressão arterial diastólica

PAS – Pressão arterial sistólica

VE – Ventrículo Esquerdo

RVP – Resistência Vascular Periférica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Definição, Classificação e Tratamento da Hipertensão Arterial.....	17
1.2 Epidemiologia.....	18
1.3 Fisiopatologia e Lesões em Órgãos-alvos na Hipertensão Arterial.....	19
1.4 Estudos em Modelos Animais.....	21
1.5 Exames de Imagens com Estresse Farmacológico – Dipyridamol.....	23
1.6 Justificativa.....	24
1.7 Hipótese.....	25
2 OBJETIVO.....	25
2.1 Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivo Específicos.....	25
3 MÉTODOS.....	26
3.1 Animais e Protocolo Experimental.....	26
3.2 Grupos Experimentais.....	26
3.3 Delineamento Geral do Estudo.....	26
3.4 Métodos de Avaliação.....	27
3.5 Aspectos Éticos de Investigação Animal.....	35
3.6 Análise Estatística.....	35
4 RESULTADOS.....	36
4.1 Mortalidade e Exclusão.....	36
4.2 Peso Corporal.....	36
4.3 Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	36
4.4 Ecocardiograma.....	37
4.5 Cintilografia de Perfusão Miocárdica.....	39
5 DISCUSSÃO.....	43
5.1 Modelo Experimental.....	43
5.2 Métodos de Imagem.....	46
5.2.1 Ecocardiograma.....	46
5.2.2 Cintilografia de Perfusão Miocárdica.....	48

6 CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO 1 COMITÊ DE ÉTICA.....	56

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição, classificação e tratamento da hipertensão arterial

A hipertensão arterial é uma doença crônica que tem como característica o aumento persistente dos níveis pressóricos, com valores de pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg e pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg. O diagnóstico é realizado pela monitorização da PA, sendo esta medição realizada de forma padronizada, em duas ocasiões diferentes e o paciente estando na ausência do uso de medicamentos anti-hipertensivos (BARROSO et al. 2020; FOROUZANFAR et al., 2017).

Para o diagnóstico conclusivo da hipertensão arterial, o paciente deve ser submetido a pelo menos um dos métodos diagnósticos: Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial, ou Monitorização Residencial da Pressão Arterial, ou da Automedida da Pressão Arterial (BARROSO et al. 2020).

Em relação à classificação da pressão arterial, ela é definida de acordo com os níveis pressóricos apresentados durante a avaliação pelos métodos diagnósticos, podendo ser:

- PA normal: PAS ≤ 120 mmHg e PAD ≤ 80 mmHg;
 - Hipertensão arterial estágio 1: PAS de 140 a 159 mmHg e/ou PAD de 90 a 99 mmHg;
 - Hipertensão arterial estágio 2: PAS de 160 a 179 mmHg e/ou PAD de 100 a 109 mmHg;
 - Hipertensão arterial estágio 3: PAS ≥ 180 mmHg e/ou PAD ≥ 110 mmHg;
- (BARROSO et al. 2020).

O tratamento para a hipertensão pode ser por meio de terapia medicamentosa e não medicamentosa, sendo mais indicada a associação destas duas estratégias. Dentro da abordagem não medicamentosa o aspecto mais importante é a mudança do estilo de vida para hábitos mais saudáveis, com implementação de um programa supervisionado de atividade física regular, alimentação balanceada, controle da ansiedade, diminuição do consumo de sódio e da ingestão de bebidas alcoólicas e cessação do tabagismo (BARROSO et al. 2020; CARVALHO et al. 2020).

Já os medicamentos usados para normalizar os níveis pressóricos elevados são denominados anti-hipertensivos, dos quais possuem cinco principais classes, que podem ser usadas individualizadas ou em combinação, sendo elas: diuréticos, bloqueadores dos canais de

cálcio, inibidores da enzima conversora de angiotensina II e betabloqueadores, estes tem demonstrado reduções significativas na PAS e PAD de indivíduos hipertensos. No entanto na maioria dos pacientes que fazem o uso de anti-hipertensivos, a mudança no seu estilo de vida, potencializou a melhora do quadro hipertensivo, além de contribuir na preservação dos órgãos que a hipertensão poderia lesionar (BARROSO et al. 2020; MALACHIAS et al, 2016).

1.2 Epidemiologia

Uma das principais causas de morte no Brasil e no mundo são as doenças cardiovasculares, que também são responsáveis por grande parte do número de hospitalizações e atendimentos ambulatoriais (GBD, 2017).

No Brasil, dados do DATASUS apresentaram um total de 1.312.663 óbitos em 2017, dos quais 27,3% foram ocasionados por doenças cardiovasculares. Estes dados também documentaram que a hipertensão arterial estava associada a 45% de mortes cardíacas provocadas por doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca, além de também estar presente em 51% das mortes por doenças cerebrovasculares (WHO, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Um grande e importante estudo multicêntrico com dados mundiais avaliou a PA de 19,1 milhões de adultos entre os anos de 1975 a 2015. Os resultados deste estudo permitiu estimar que, em 2015, houvesse cerca de 1,13 bilhões de adultos com hipertensão arterial, sendo aproximadamente 597 milhões do sexo masculino e 529 milhões do sexo feminino. Este estudo também evidenciou que o aumento da hipertensão arterial estava associado ao envelhecimento e exposição a fatores de risco, como a elevada ingestão de sódio e redução da prática de exercícios físicos. Outro importante resultado apresentado foi em relação as classes sociais, na qual os autores evidenciaram que houve um aumento de indivíduos hipertensos em classes sociais mais baixas e a redução em classes sociais mais elevadas (MILLS et al, 2016; NCD-Risc 2017).

Já no ano de 2019, no Brasil, cerca de 38,1 milhões de pessoas acima de 18 anos foram diagnosticadas com hipertensão arterial, com a maior concentração na região sudeste (25,9%), seguida das regiões do sul (24,5%) e nordeste (23,1%), com menores proporções nas regiões norte e centro-oeste (16,8% e 21,9%, respectivamente), sendo que, nesta população, também ficou destacado que com o avanço da idade, houve o aumento do número de hipertensos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

A hipertensão arterial vem sendo um grande problema de saúde para a gestão do SUS, pois em comparação com a obesidade e a diabetes mellitus, apresenta maiores custos (BARROSO et al. 2020). Em 2018 foram investidos aproximadamente R\$ 2 bilhões no SUS, para o custeio de pacientes hipertensos que foram hospitalizados, passagens por procedimentos ambulatoriais e com uso de medicamentos (NILSON et al., 2020).

Nesta última década cerca de 77% dos valores gastos em hospitalizações no SUS, com paciente com doenças cardiovasculares, foi associado a hipertensão arterial, ainda, é importante ressaltar que entre os anos de 2010 e 2019 houve um aumento de 32% nos gastos com o tratamento da hipertensão arterial, sendo este de 1,6 bilhões para aproximadamente 2,2 bilhões de reais neste período (NILSON, SILVA, JAIME, 2020; NILSON et al., 2020).

1.3 Fisiopatologia e Lesões em Órgãos-Alvos na Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é um distúrbio causado no sistema circulatório, com diferentes fatores fisiopatológicos que contribuem para o aumento dos níveis pressóricos. Desse modo, o controle PA envolve interações entre órgãos, sistema nervoso central e periférico, endotélio vascular, carga genética, entre outros fatores (ELLIOTT, 2007).

Quanto aos fatores genéticos, há uma desordem poligênica na qual as variantes dos genes levam ao aumento da PA, podendo incluir mais de 25 mutações raras e 120 polimorfismos de nucleotídeos únicos. Cada variante isoladamente apresenta um pequeno impacto nos níveis de PA, no entanto, quando associadas com fatores ambientais podem produzir alterações significativas na PA (FARIA, CARVALHO, 2020; HALL et al., 2012).

O Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, possui a função de manter a PA equilibrada através do balanço hídrico do organismo, por meio da retenção ou eliminação do sódio, bem como também contribui para regulação do tônus da musculatura lisa das artérias, provocando vasoconstrição ou vasodilatação, alterando assim a tensão que o sangue exerce sobre as paredes dos vasos (RIET et al., 2015).

Quando há uma situação de hipotensão arterial, essa informação é captada pelos receptores presentes nas arteríolas, estimulando o rim para a produção de pró-renina em renina, estimulando os nervos renais a aumentar a secreção de renina nas células, a renina estando no plasma sanguíneo trabalha na conversão de angiotensinogênio em Angiotensina I, assim outra reação é realizada nos pulmões ou rins, convertendo a angiotensina I em angiotensina II, que irá atuar no córtex das glândulas suprarrenais para sintetizar e secretar a aldosterona, fazendo com que os rins aumentem a reabsorção de sódio e a vasoconstrição dos

vasos arteriais. Por outro lado, em indivíduos hipertensos, todo esse mecanismo é estimulado constantemente, fazendo com que os níveis pressóricos fiquem aumentados permanentemente (RIET et al., 2015).

Diante da importância dos rins sob o regulamento da PA destacamos outro dano que pode ocorrer em indivíduos hipertensos, que é a lesão renal. A hipertensão arterial é umas das causas de insuficiência renal crônica, uma vez que, a hipertensão maligna pode levar a nefroangiosclerose por endarterite obliterante e arteriolite necrotizante, somado a isto a hipertensão arterial benigna leva a nefrosclerose hipertensiva e perda progressiva e lenta da função renal (MORAES et al., 2009).

Assim como o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, o sistema nervoso autônomo também apresenta papel importante no controle da PA, por meio de flutuações na atividade simpática. Desse modo, quando há predomínio de ativação do sistema nervoso simpático, ocorrerá o aumento do débito cardíaco, com constrição vascular e aumento da resistência vascular periférica, conseqüentemente elevando PA (JACKSON et al., 2013; MALACHIAS et al., 2016; NAKAGAWA, SIGMUND, 2017).

As alterações hemodinâmicas afetam tanto o coração, como os vasos sanguíneos, pois a pressão arterial é determinada pelo produto do débito cardíaco (DC) e da resistência vascular periférica (RVP). A hipertensão arterial pode ser reflexo de uma desordem no débito cardíaco ou na resistência vascular periférica, sendo que pacientes jovens podem apresentar uma síndrome com DC elevado, manutenção ou redução da RVP e excesso de estímulo do sistema nervoso simpático no miocárdio, levando ao aumento da pressão arterial. Pacientes com diabetes mellitus em sua fase inicial possuem uma característica parecida, que cursa com elevação do DC, mas com RVP normal e fatores influenciadores diferentes, pois alguns autores relatam hiperperfusão renal e glomerular, aumentando a expansão de volume e sobrecarga de sódio, assim aumentando a frequência cardíaca (FC) e o volume sistólico (SANJULIANI, 2002).

É descrito também em pacientes adultos velhos e idosos o aumento da RVP com DC normal ou reduzido, essa alteração da RVP induz um elevado reflexo da onda de pulso, causando um aumento da PA, contribuindo na hipertrofia ventricular esquerda, havendo maior FC, diminuindo débito cardíaco, alterações morfofisiológicas, causando danos ao miocárdio (SANJULIANI, 2002).

O coração sofre alterações estruturais e funcionais com a exposição crônica a níveis pressóricos elevados, levando a uma hipertrofia ventricular esquerda, remodelamento das paredes e dos diâmetros das cavidades cardíacas, alterações no tônus das artérias e veias

presentes no coração, fibrose cardíaca, entre outras manifestações (NWABUO, VASAN, 2020), que culminam em alterações na contração e relaxamento do VE, limitando a capacidade do enchimento do VE com piora em diástole, levando a uma disfunção diastólica (NWABUO, VASAN, 2020).

A fibrose cardíaca atua como um acúmulo de proteínas da matriz extracelular no miocárdio e na microcirculação, que como consequência leva a um desarranjo na estrutura do miocárdio, com rigidez e remodelamento, anormalidades no ritmo cardíaco, disfunção diastólica e sistólica, tanto ventricular como atrial (NWABUO, VASAN, 2020).

Em pacientes com hipertensão arterial há também o remodelamento nas paredes das artérias, com aumento da rigidez arterial e alargamento do início da aorta, essa alteração do tônus e elasticidade diminui o amortecimento do fluxo sanguíneo durante a sístole, levando a danos na microcirculação e inflamação endotelial, com consequentes lesões em outros órgãos-alvos como o cérebro, olhos e rins (NWABUO, VASAN, 2020; BARROSO et al. 2020).

A hipertrofia ventricular esquerda é caracterizada pelo aumento da massa do VE devido a sobrecarga de trabalho consequente do aumento da carga hemodinâmica, que se manifesta de forma secundária a hipertensão arterial, com desenvolvimento de doença cardíaca isquêmica e insuficiência cardíaca, com fração de ejeção preservada ou reduzida (FRACCAROLLO, GALUPPO, BAUERSACHS, 2012; WHELTON et al., 2017).

1.4 Estudos em Modelos Animais

Estudos utilizando animais são de grande importância, pois nos permite investigar mecanismos fisiológicos de determinadas doenças, possibilitando também testar efeitos de novos tratamentos. Protocolos que utilizam ratos como modelo experimental são os mais usados nas pesquisas, devido ao seu sistema circulatório ser parecido com o de humanos, além de ser animais com maior facilidade de acesso devido a sua rápida reprodução e por serem animais de pequeno porte, há facilidade o cuidado no biotério (FARIA, CARVALHO, 2020).

Para pesquisas que envolvem o estudo da hipertensão arterial, existem vários modelos de ratos disponíveis para utilização, alguns deles são geneticamente modificados e já nascem com a doença e evolui com o passar da vida do animal, outros modelos são desenvolvidos por meio de fármacos, alimentação ou até mesmo por procedimentos cirúrgicos (MUÑOZ, BACKMAN, SAM, 2017; HALAPAS et al., 2008).

Um bom exemplo é o rato sensível ao sal (Dahl), este modelo apresenta características genéticas que, ao ser exposto a uma dieta rica em sódio (8%) em aproximadamente 6 a 8 semanas de vida, desenvolvem pressão arterial elevada com hipertrofia concêntrica do VE e, uma vez, continua a dieta até 14 a 19 semanas, podem desenvolver insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (MUÑOZ, BACKMAN, SAM, 2017).

Outro modelo amplamente utilizado para o estudo da hipertensão arterial e algumas doenças cardiovasculares é o Rato Espontaneamente Hipertenso (SHR), desenvolvido por Okamoto e Aoki, por meio do cruzamento entre ratos irmãos Wistar Kyoto (OKAMOTO, AOKI, 1963).

O SHR apresenta o desenvolvimento da hipertensão arterial semelhante aos humanos, uma vez que esse modelo genético faz com que a doença evolua naturalmente, conforme o animal envelhece e, nas fases mais avançadas da doença, na idade adulta e idosa do animal, este apresenta lesões em órgãos-alvos, como coração, rins e cérebro (MUÑOZ, BACKMAN, SAM, 2017).

Tratando-se da agressão ao coração, a hipertensão no SHR, com o avançar da idade, pode desenvolver a hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, com alteração do relaxamento ventricular, associada à disfunção diastólica, aumento da frequência cardíaca, surgimento de fibrose miocárdica, evoluindo para disfunção sistólica com fração de ejeção reduzida (MUÑOZ, BACKMAN, SAM, 2017).

Em um estudo original, recentemente realizado por nosso grupo de pesquisa utilizamos ratos SHR com 22 semanas de idade, com objetivo de caracterizar a perfusão miocárdica e as alterações morfológicas do ventrículo esquerdo neste modelo de hipertensão arterial crônica. Neste estudo nós realizamos exames de Doppler-ecocardiograma e cintilografia de perfusão miocárdica com Sestamibi-Tc-99m (SPECT de alta resolução), em repouso e sob estresse farmacológico. A indução do estresse cardíaco foi feita pela infusão do cloridrato de dobutamina, com dose de 25 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$, durante um minuto de infusão. Nossos resultados evidenciaram que em (animais com 22 semanas de vida), o grupo SHR apresentou valores significativamente maiores da PAS ($160 \pm 20,09$ mmHg) em comparação ao grupo controle (GC), $109,63 \pm 20,53$ mmHg, $p=0,0001$, com discreta hipertrofia ventricular esquerda do tipo concêntrica. Além disso, no grupo SHR em comparação ao GC, evidenciou-se maiores e significativos valores 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 do 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) comparado ao GC ($3,1 \pm 2,6$ segmentos), $p=0,008$. Por fim, o

número de segmentos com defeitos isquêmicos foi significativamente maior no SHR (71 segmentos) em comparação ao GC (30 segmentos), $p=0,01$. Desse modo, em um primeiro estudo utilizando ratos SHR na fase adulta inicial nós documentamos a presença de defeitos de perfusão miocárdica difusos, por meio da SPECT de alta resolução, com a dobutamina e discreto remodelamento ventricular no ecocardiograma (Faria e Carvalho 2020).

1.5 Exames de Imagens com Estresse Farmacológico – Dipiridamol

O uso do vasodilatador para promover estresse farmacológico tornou-se um grande aliado para melhor avaliar imagens de perfusão miocárdica, morfologia e função ventricular, refinando ainda mais a qualidade das imagens (MURTHY et al., 2018).

Atualmente o dipiridamol é um dos fármacos mais utilizados para induzir o estresse cardíaco em exames de imagens. Ele é um vasodilatador que promove o aumentando do fluxo sanguíneo das artérias coronárias por meio do relaxamento da musculatura lisa dos vasos (HEINRICH, 2020). O dipiridamol administrado por via intravenosa em doses altas pode exacerbar a isquemia desviando o fluxo sanguíneo dos vasos lesionados, com estreitamentos fixos, para os vasos saudáveis, que respondem ao estímulo da droga com vasodilação (YUMEI et al., 2010).

A ecocardiografia de estresse baseia-se na aplicação do estresse farmacológico ou físico capaz de induzir isquemia miocárdica, assim com uso do dipiridamol, observa-se uma má distribuição do fluxo sanguíneo, posteriormente, a hipoperfusão causa alterações metabólicas, permitindo documentar alteração de mobilidade segmentar e até mesmo disfunções diastólica e sistólica (PIOVESANA et al., 2016).

A cintilografia de perfusão miocárdica com administração de dipiridamol é usada para simular os efeitos da atividade física em pacientes incapazes de realizar teste de esforço convencional (JAVADI et al., 2010). O diagnóstico da cintilografia de perfusão miocárdica em estresse relaciona-se com aumento do fluxo sanguíneo coronariano com redistribuição do fluxo sanguíneo no coração, assim à área com defeitos apresenta menor concentração do radiofármaco, identificando anormalidades encontradas no miocárdico como os defeitos perfusionais e isquêmicos (BOTVINICK; DAE, 1991).

Nos últimos anos, a tomografia computadorizada surgiu como uma ferramenta poderosa para avaliação de pacientes com doenças cardíacas, com diagnóstico que fornece informações detalhadas sobre a perfusão miocárdica e a angiografia coronária (CURY et al., 2010). Com uso de vasodilatores (adenosina ou dipiridamol), a tomografia computadorizada

permite avaliar imagens estáticas e dinâmicas, com melhor impacto na avaliação, manejo e prognóstico do paciente (SEITUN et al., 2016).

1.6 Justificativa

Como pode ser apreciado no corpo de evidências apresentado acima, a hipertensão arterial é um grave e crescente problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Esta doença está associada a elevados gastos com cuidados médicos e redução da produtividade dos indivíduos afetados por ela.

Somado a isto, a hipertensão arterial é um importante fator de risco para doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, que cursam com mau prognóstico, podendo desenvolver diversas comorbidades, bem como maior índice de mortalidade.

As complicações em longo prazo, de níveis pressóricos arteriais elevados, são as lesões de órgãos-alvo, dentre elas, os danos miocárdicos irreversíveis, dos quais podemos destacar a isquemia miocárdica, com morte celular, a hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo e uma possível insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada. Tais alterações recorrentes podem levar ao aumento da mortalidade.

Diante dessas evidências apresentadas pela literatura, é possível considerar que estudos voltados para entender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos ao dano miocárdico, como alterações de perfusão, de função ventricular, associado a hipertrofia do ventrículo esquerdo e inflamação vascular, podem ser importantes para direcionar terapias que sejam eficazes para retardar a progressão da cardiomiopatia associada à hipertensão arterial.

Estudos experimentais, em modelos animais de ratos geneticamente modificados, como os SHR (Spontaneously hypertensive rat), têm se mostrado eficientes em reproduzir algumas condições que são observadas em humanos. Desse modo, um estudo conduzido com imagens de perfusão miocárdica e função ventricular esquerda *in vivo* em pequenos animais poderia ser utilizado de forma satisfatória para investigar a influência da isquemia miocárdica, disfunção ventricular e hipertrofia ventricular esquerda, secundária a hipertensão arterial crônica, na evolução da doença, em especial nas fases mais avançada da vida do animal, que é o momento em que a doença mais causa danos para órgão-alvos, como o coração.

1.7 Hipótese

O modelo de ratos hipertensos (SHR) permitirá o estudo da evolução dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na progressão da hipertensão arterial: disfunção endotelial da microcirculação cardíaca, dano na perfusão miocárdica e remodelamento ventricular.

O maior tempo de exposição a doença poderá gerar maior dano na microcirculação coronária, devido a presença da inflamação, induzindo defeitos de perfusão miocárdica mais significativos.

Acreditamos que o estímulo farmacológico induzido pelo dipiridamol será eficiente para gerar estresse cardíaco, sendo possível documentar defeitos de perfusão miocárdicas e fibrose mais evidente, após a infusão do dipiridamol.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo é avaliar o remodelamento ventricular esquerdo e a perfusão miocárdica, em repouso e sob estresse farmacológico com o dipiridamol, em um modelo experimental de hipertensão arterial crônica, com ratos SHR.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os níveis pressóricos de ratos SHR com 44 semanas de vida;
- Avaliar a função sistólica do ventrículo esquerdo;
- Comparar as espessuras das paredes e o diâmetro das cavidades ventriculares do grupo SHR com o grupo controle;
- Testar pela primeira vez o uso do dipiridamol para induzir o estresse farmacológico na cintilografia de perfusão miocárdica em animais SHR e controles;

3 MÉTODOS

3.1 Animais e protocolo experimental

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Protocolo: 240/2019).

Foram utilizados 20 animais com idade de 44 semanas, sendo um grupo controle Wistar Kyoto (WKY – n=10) e um grupo de investigação de Ratos Espontaneamente Hipertensos (SHR – n=10), oriundos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Os animais foram mantidos em alojamento climatizado no biotério da Universidade de Uberaba - UNIUBE, com livre acesso a água e ração padrão, submetidos a ritmo de 12 horas de luz/sombra e temperatura controlada (22 ± 2 °C).

3.2 Grupos Experimentais

Os grupos experimentais foram divididos em:

- **Grupo Controle (WKY – n = 10):** Ratos Wistar Kyoto, machos e normotensos com 44 semanas de vida.
- **Grupo de investigação (SHR – n =10):** Ratos Espontaneamente Hipertensos, machos com 44 semanas de vida.

3.3 Delineamento Geral do Estudo

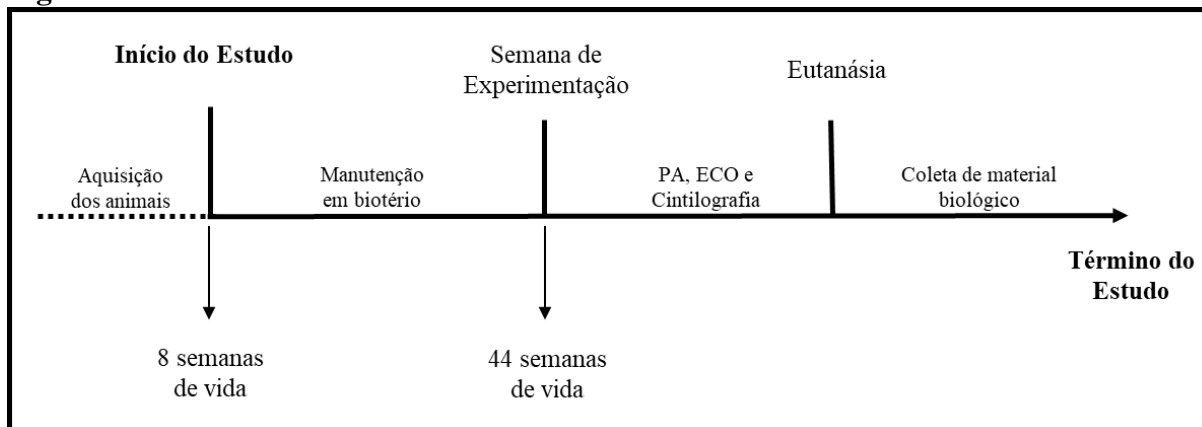
Os animais de ambos os grupos foram adquiridos com oito semanas de idade e mantidos em no máximo três animais por caixa no Bioterio da Universidade de Uberaba por um período de 36 semanas.

Após esse período de manutenção dos animais sem nenhuma intervenção, necessário para que eles atingissem a idade que foi proposta para as avaliações neste estudo, todos foram submetidos à medida da pressão arterial pelo método pletismográfico de cauda em repouso.

Em seguida foram submetidos aos exames de imagem *in vivo*, sendo eles: Doppler-ecocardiograma e cintilografia de perfusão miocárdica de alta resolução com Sestamibi-Tc-99m (SPECT de alta resolução) em repouso e sob estresse farmacológico com uso de dipiridamol.

Por fim, todos os animais foram eutanasiados e coletados materiais biológicos, como soro e tecido miocárdico, para análises futuras.

Figura 1 – Delineamento Geral do Estudo



Fonte: NETO, P.O. (2022).

3.4 Métodos de avaliação

➤ **Pletismografia de cauda para avaliação da pressão arterial**

Os animais foram submetidos à medida da pressão arterial sistólica conscientes em período matutino, registrada pelo pletismógrafo de cauda, que utiliza o sistema de medição CODA®, Kent Scientific Corporation.

O pletismógrafo de cauda registra de forma indireta a pressão arterial dos animais. Para isso, os animais foram colocados dentro de um tubo cilíndrico de acrílico transparente, apoiado sobre uma plataforma aquecida com temperatura média de 38°C e respirando ar ambiente (Figura 2A e 2B).

Em seguida, foi acoplado na região proximal da cauda do animal, um manguito de borracha que insuflou e desinsuflou automaticamente em intervalos fixos de 15 segundos. Próximo a este manguito foi acoplado um transdutor de pulso (sensor) que captou os sinais que foram enviados e registrados em sistema computacional.

Ambos os grupos passaram por um processo de adaptação ao experimento, que correspondeu a três medidas que foram descartadas da análise. Na sequência, 12 novas medidas foram realizadas, assim, a pressão arterial foi considerada como a média de no mínimo 10 registros medidos com boa qualidade de sinal.

Este processo foi realizado com objetivo de avaliar o nível da pressão arterial nos animais normotensos (Wistar Kyoto) e hipertensos (ratos SHR), para garantir que o grupo de investigação (hipertensos) possuisse uma média de pressão arterial superior ao grupo controle, confirmando seu quadro hipertensivo.

Figura 2 – Pletismógrafo de cauda

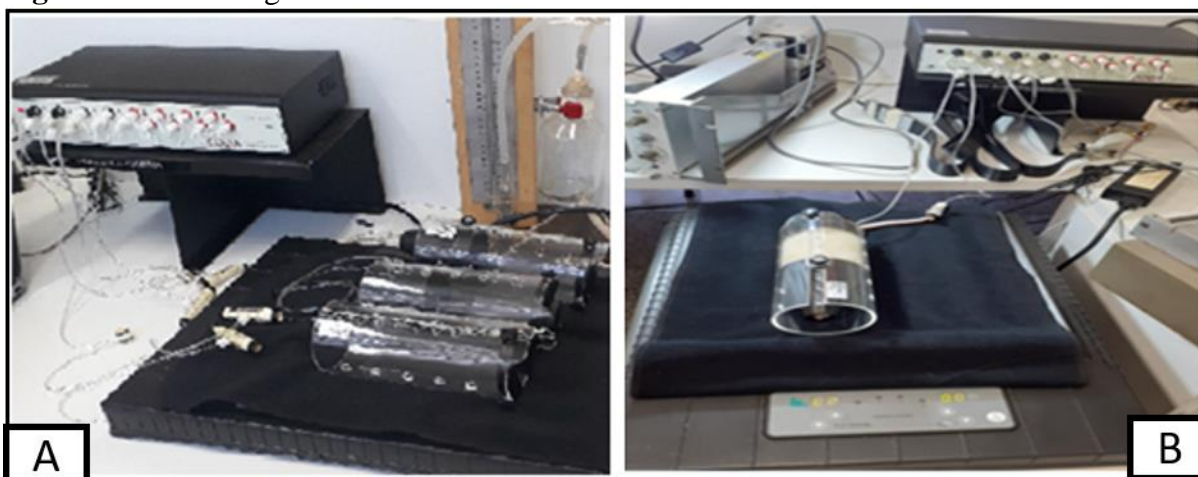


Imagem ilustrativa do equipamento Pletismógrafo de cauda utilizado para avaliação da pressão arterial; **A** = Contendo plataforma aquecida. **B** = Posicionamento do animal em tubo cilíndrico de acrílico, manguito de borracha e transdutor de pulso. Fonte: NETO, P.O. (2022).

➤ **Ecocardiograma – Avaliação da função ventricular**

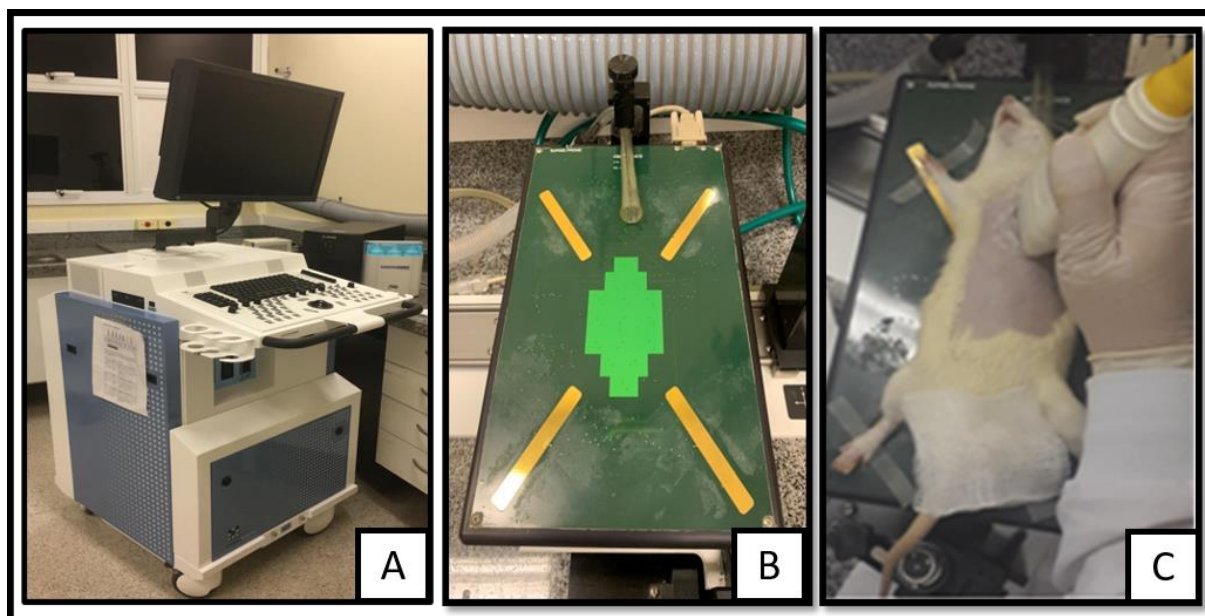
Para obtenção das imagens ecocardiográficas foi utilizado um sistema de imagem de alta resolução Vevo® 2100, (VisualSonics Inc, Toronto, Canadá) dedicado para pequenos animais, utilizando um transdutor linear de 20 MHz (Figura 3A), realizado na sala de ecocardiografia do Biotério de Fisiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

Para isso o animal foi sedado com a combinação de Ketamina e Xilazina (100 e 10 mg/kg) intramuscular e, posteriormente, foi realizado a tricotomia com máquina de cortar pelos e depilação da face anterior do tórax com creme depilatório. Após este preparo, o animal foi pesado e posicionado em uma plataforma inclinável (VisualSonics Inc, Toronto, Canadá), que possui controle de temperatura, para evitar hipotermia, e monitorização com eletrocardiograma de superfície, que foi registrado durante todo período do exame (Figura 3B e 3C).

Os animais foram mantidos em respiração ar ambiente, durante todo procedimento de aquisição de imagens do ecocardiograma transtorácico. Para aquisição da imagem, foi

aplicado gel aquecido no transdutor de alta frequência, posicionado levemente a esquerda do esterno, entre a quarta e a sexta costela, tomando cuidado para não realizar pressão excessiva, evitando assim a indução de bradicardia.

Figura 3 - Imagem ilustrativa da obtenção das imagens ecocardiográficas.



A = Imagem ilustrativa do equipamento Vevo utilizado para aquisição das imagens ecocardiográficas; B e C = Plataforma inclinável e posicionamento do animal, respectivamente. Fonte: NETO, P.O. (2022).

As seqüências de vídeos foram adquiridas com pelo menos três ciclos cardíacos nas seguintes projeções: 1- paraesternal eixo longo e 2- paraesternal eixo curto em nível dos músculos papilares. Foi adquirida uma imagem estática em modo M guiado pela imagem bidimensional na janela paraesternal em eixo longo, obtida perpendicularmente às paredes do ventrículo esquerdo (figura 4), 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, conforme a diretriz de quantificações cavitárias da Sociedade Americana de ecocardiografia e da sociedade Europeia de Imagem Cardiovascular (LANG et al., 2014).

Para o cálculo da FEVE pelo modo bidimensional, foi obtido o melhor vídeo da projeção paraesternal longitudinal e com a melhor definição das bordas do endocárdio, e logo em seguida, foi selecionado o quadro com maior volume diastólico, seguido da marcação das bordas do endocárdio em diástole (figura 5A). Neste mesmo ciclo cardíaco, foi escolhido o

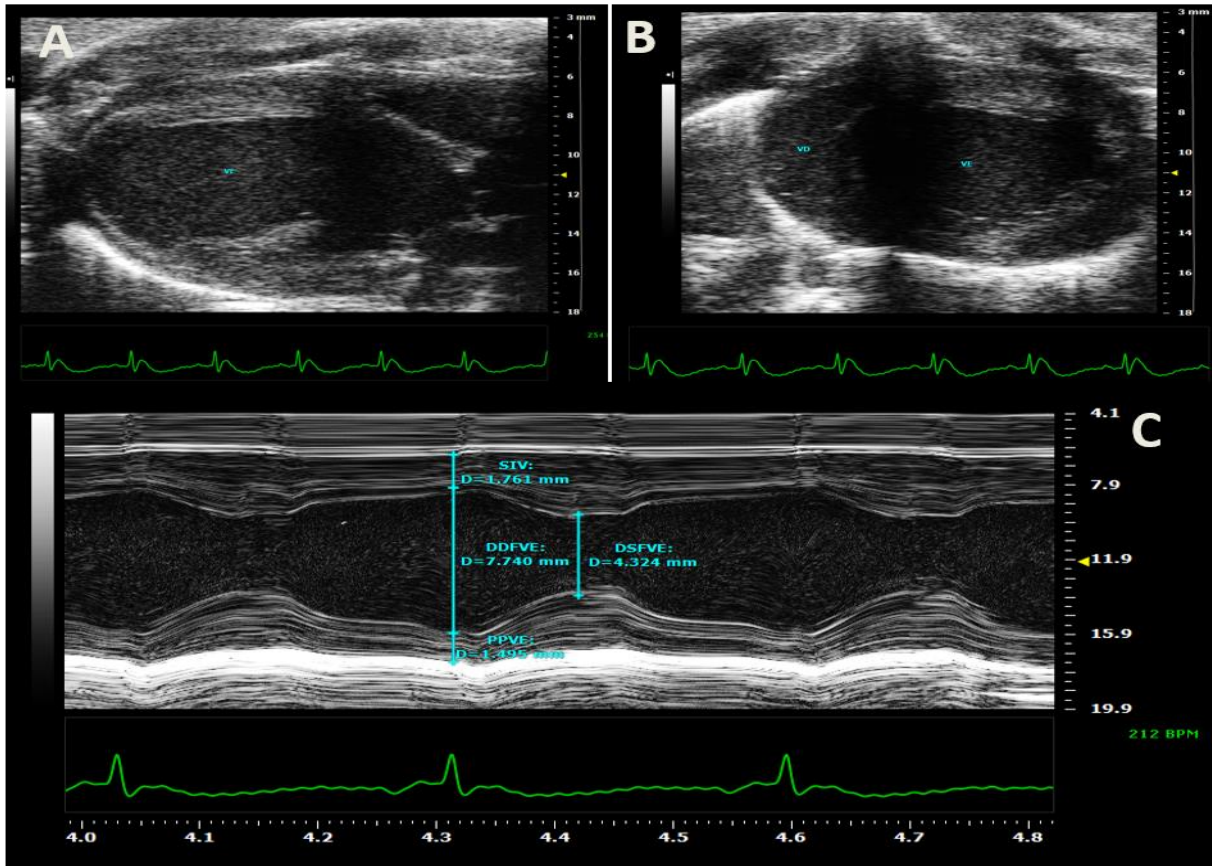
quadro com menor volume sistólico e realizado a marcação das bodas do endocárdio em sístole (figura 5B).

A massa do VE foi calculada seguindo as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia, pela fórmula: $0,8 \times [1,04 \times [(\text{septo interventricular} + \text{dimensão interna ventricular esquerda} + \text{parede posterior})^3 - \text{dimensão interna ventricular esquerda}^3]] + 0,6 \text{ g}$ (LANG et al., 2005). O índice de massa foi obtido a partir da divisão da massa do VE pela superfície corporal (DUBOIS; DUBOIS, 1916). A espessura relativa (ER) da parede ventricular foi calculada de acordo com a fórmula estabelecida pela Sociedade Americana de Ecocardiografia: $2 \times \text{espessura da parede posterior} / \text{diâmetro diastólico do VE}$ (LANG et al., 2005).

Foram obtidas imagens de Doppler no plano apical quatro câmaras no nível da válvula mitral para medidas de função diastólica através da curva de fluxo mitral (onda E, onda A e relação E/A).

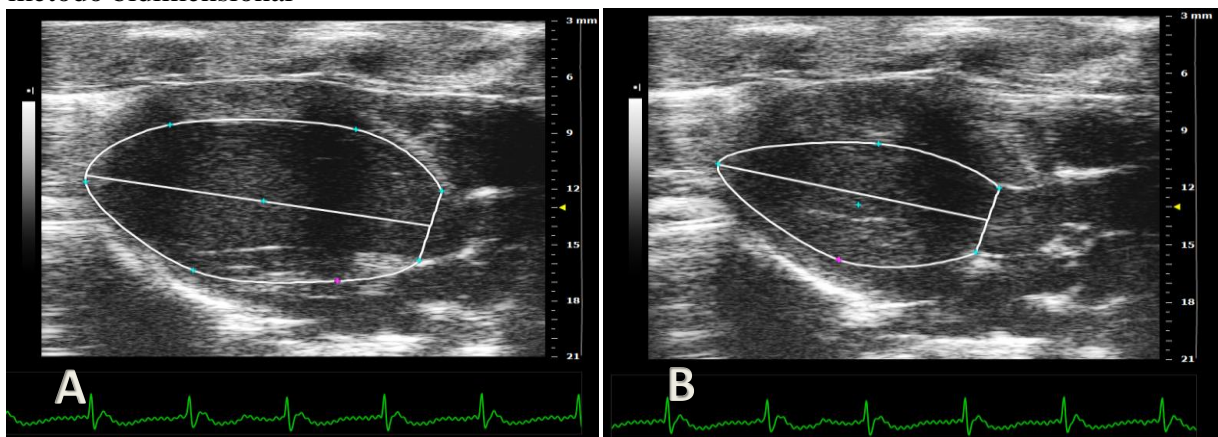
As imagens obtidas foram gravadas para análise “off-line” dos dados ao final do estudo. As medidas ecocardiográficas convencionais de geometria e função sistólica do ventrículo esquerdo foram realizadas em uma estação de trabalho Vevo® Lab (VisualSonics Inc, Toronto, Canadá).

Figura 4 – Imagem ilustrativa adquirida durante o exame de ecocardiografia.



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: NETO, P.O. (2022).

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: FARIA, G.S. (2020).

➤ **Cintilografia de perfusão miocárdica de alta resolução com Sestamibi-Tc-99m (SPECT) em repouso e sob estresse farmacológico**

- ***Sistema de Aquisição de Imagens***

A cintilografia de perfusão é uma técnica desenvolvida para aquisição de imagens de perfusão miocárdica. Para isso, foi utilizada uma gama-câmara de uso clínico (BrightViewXCT; Philips Medical Systems Inc., Cleveland, OH, acoplada a um sistema de aquisição de imagens de alta resolução para pequenos animais, na qual permite a obtenção de imagens de perfusão em alta resolução. Este equipamento foi desenvolvido localmente e validado para pequenos roedores. Esse equipamento consiste em um sistema de blindagem que se encaixa a um colimador de orifício simples (“pinhole”), com um diâmetro de 1,5 mm e abertura total de 150° (OLIVEIRA et al., 2013). 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 (Figura 6A).

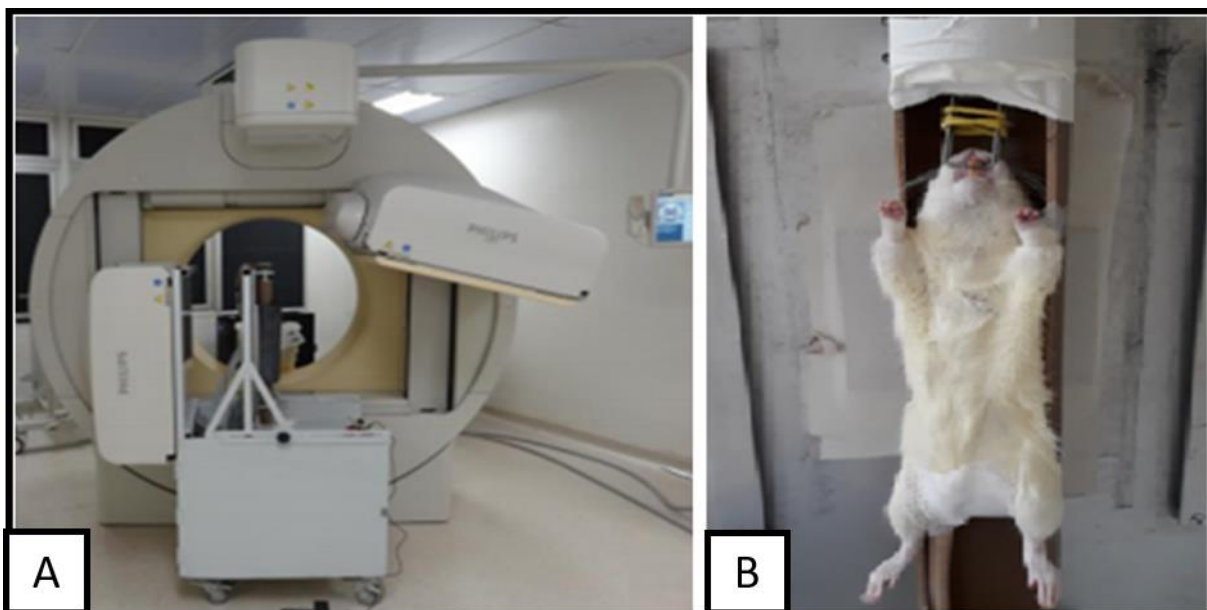
Para aquisição das imagens, o animal foi posicionado em um suporte rotacional com formato cilíndrico, que se acopla a um sistema motorizado, que conduziu a movimentação rotacional do alvo (o foco do coração) para diferentes posições angulares, de acordo com o número de projeções a serem registrados ao longo dos 360° da aquisição tomográfica, figura 6B.

Para registro das imagens, esse sistema foi sincronizado com um protocolo de aquisição da gama câmara clínica e, esta sequência de projeções foi registrada e armazenada em formato DICOM para análise offline.

- ***Aquisição de imagens de perfusão miocárdica em repouso e sob estresse farmacológico***

Para o protocolo em repouso, os animais foram inicialmente anestesiados com isoflurano a 3% durante 1 minuto, possibilitando a aplicação por meio da veia sublingual de uma atividade de 555 MBq de Sestamibi-Tc99m. Logo em seguida, foi permitido que os animais despertassem e eram mantidos em local isolado dos demais. Uma hora e meia após a injeção do radiofármaco, os animais foram anestesiados com Ketamina e Xilazina (100 e 10 mg/kg) e posicionados no sistema rotacional para aquisição de imagens.

Figura 6 – Sistema SPECT de alta resolução 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: NETO, P.O. (2022).

O protocolo em estresse ocorreu após dois a três dias após o protocolo em repouso. Para isso, os animais foram anestesiados com Ketamina e Xilazina (100 e 10 mg/kg) e, após estarem sedados, foi injetado pela veia caudal o dipiridamol (4 mg/kg/min durante 10 minutos) e, em seguida, o radiofármaco foi administrado pela veia sublingual. Depois, os animais seguiram o mesmo protocolo da fase de repouso.

Foram obtidas 40 projeções, igualmente espaçadas em 360 graus, em todos os protocolos de imagens. As projeções foram registradas em uma matriz de 128 x 128 elementos, cada elemento com 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 Tc99m (140 keV). O tempo de aquisição de cada projeção foi de 30 segundos, totalizando aproximadamente 23 minutos de tempo de aquisição por animal.

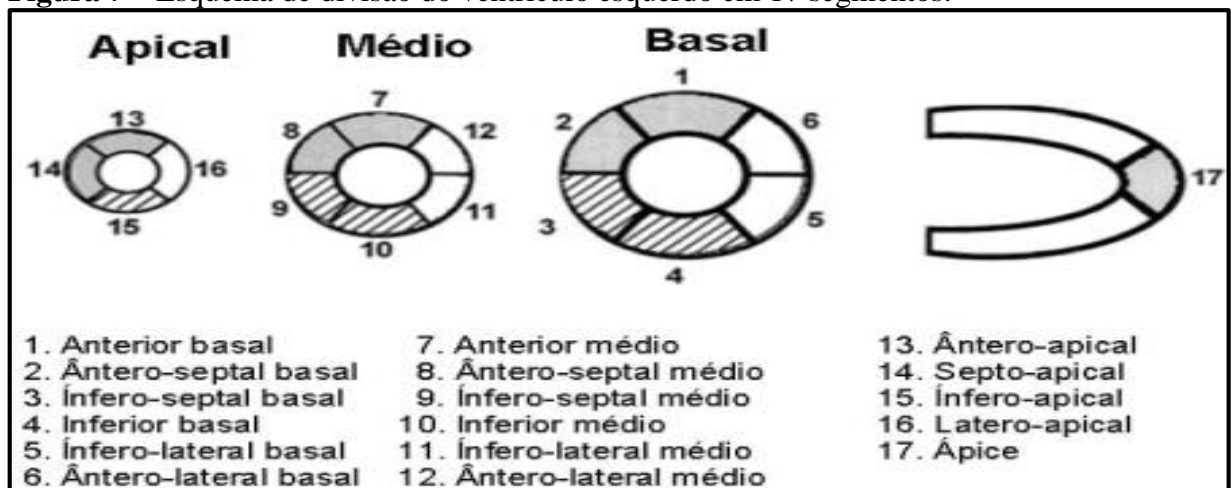
- ***Processamento e Análise das Imagens***

As imagens em formato DICOM foram exportadas para um computador de uso pessoal, na qual foram processadas para obter um modelo tridimensional da distribuição do

radiofármaco no órgão alvo (MEJIA et al., 2010). Assim, foi utilizado um software de reconstruções iterativas 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). Para visualização final das reconstruções, foi utilizado o freeware AMIDE Medical Image Data Examiner (LOENING; GAMBHIR, 2003).

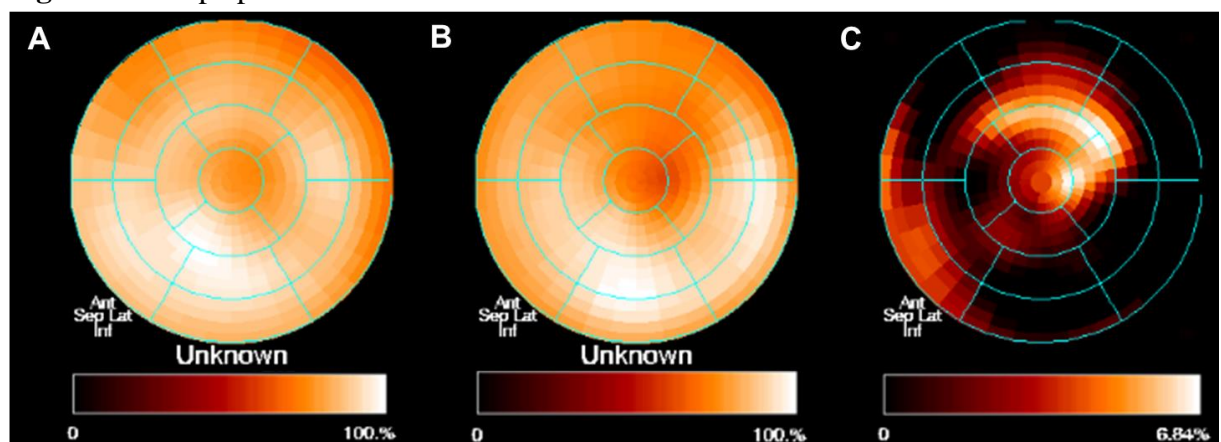
Através do software MunichHeart®, foi feita a análise completa da perfusão miocárdica, com distribuição de radiotraçadores nos 17 segmentos da parede do ventrículo esquerdo, formando um mapa polar de distribuição relativa do radiofármaco em relação ao pixel de máxima contagem, em avaliação semi-quantitativa das áreas de defeitos perfusionais detectados no estresse, repouso e a diferença entre eles (reversibilidade), figura 7 e 8.

Figura 7 – Esquema de divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos.



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

Figura 8 – Mapa polar.



A: Imagem ilustrativa do mapa polar de um animal controle em estresse. **B:** Comparação das áreas de captação do radiotraçador do mesmo animal controle em repouso. **C:** Mapa polar resultante da diferença do mesmo animal controle. Fonte: NETO, P.O. (2022).

Para análise da perfusão miocárdica o ventrículo esquerdo foi dividido em 17 segmentos, na qual cada um deles foi classificado de acordo com a porcentagem de captação do radiofármaco, em repouso e em estresse, com os seguintes escores: normal ou escore 0, com contagens entre 80% a 100%; defeito perfusional leve ou escore 1, com contagens entre 75% a 79,9%; defeito perfusional moderado ou escore 2, com contagens entre 50% a 74,9%; e defeito perfusional grave ou escore 3, com contagens inferior a 50% (HACHAMOVITCH et al., 1996; CHALELA et al., 2002; KLOCKE et al., 2003; FARIA; CARVALHO, 2020).

Posteriormente a classificação em escores, os segmentos com defeitos perfusionais em repouso foram denominado como escore somado em repouso (ESR) e escore somado em estresse (ESE), o grau de reversibilidade ou hipocaptação transitória foi medida através da diferença entre ESE e ESR, chamado de ESD (escore somado da diferença).

Na avaliação da distribuição topográfica dos defeitos de perfusão reversíveis ao longo dos 17 segmentos, foi realizada a soma do número de segmentos com distúrbios de captação no repouso e no estresse, como também a análise da diferença entre o estresse e repouso. Para avaliar a gravidade dos defeitos reversíveis e suas severidades no repouso, estresse e diferença entre ambos, foi realizada a divisão do escore somado pelo número de segmentos com defeitos.

3.5 Aspectos éticos de investigação animal

Os animais estavam em uso de anestesia em todos os procedimentos que foram submetidos, dessa forma, os protocolos não induziram estresse e dor. Não foram utilizados métodos de formas cruéis ou antiéticas nos animais. O projeto foi executado após a devida aprovação pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, sob Protocolo n° 240/2019 (Anexo 1).

3.6 Análise estatística

Os resultados das variáveis contínuas foram apresentados como média \pm desvio padrão da média. As variáveis nominais foram descritas como frequência absoluta (n) e relativa (%).

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk foram usados para determinar se as variáveis apresentavam distribuição gaussiana.

Para comparação das médias das variáveis que apresentaram distribuição normal foi utilizado o teste T não pareado e para as variáveis cujas médias demonstraram distribuição não normal foi usado o teste de Mann-Whitney.

O nível de significância estabelecido foi de $p < 0,05$, bicaudal.

4 RESULTADOS

4.1 Mortalidade e Exclusão

Não foi registrado nenhum óbito durante o protocolo de execução dos experimentos em ambos os grupos.

No entanto, um animal do grupo controle foi excluído do estudo devido a alterações morfológicas do coração, caracterizada por dilatação de todas as câmaras cardíacas, apresentando acinesia das paredes do VE na avaliação ecocardiográfica e qualidade sub-ótima das imagens cintilográficas.

Sendo assim, o estudo foi concluído com 10 animais no grupo SHR e 9 animais no grupos WKY.

4.2 Peso Corporal

Os valores de peso corporal são apresentados em gramas (g). Os animais do grupo WKY ($373 \pm 21,1$ g) apresentaram o peso significativamente maior ($p = 0,01$) do que o grupo SHR ($349,3 \pm 16,8$ g) tabela 1.

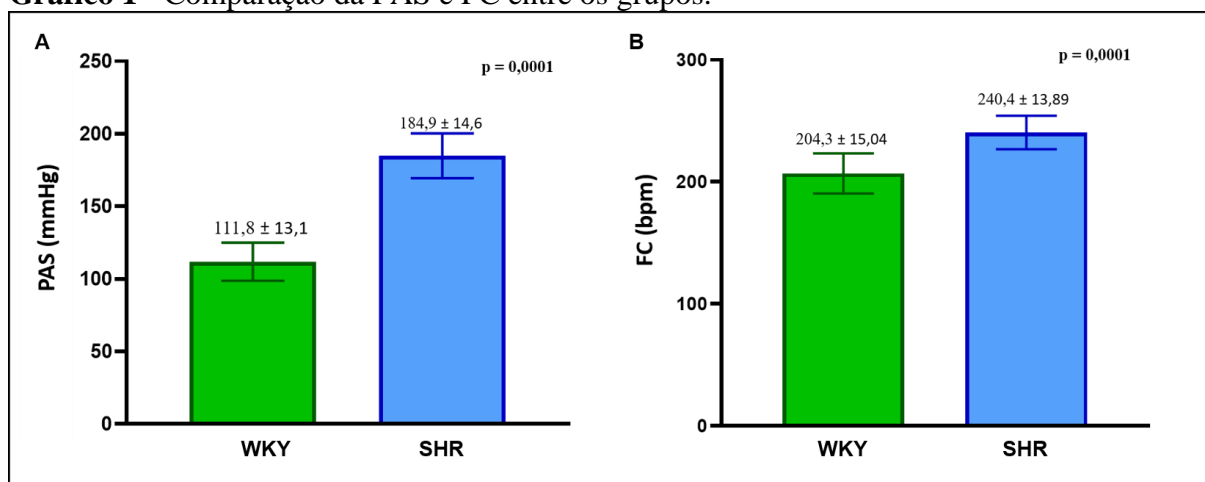
4.3 Pressão arterial e frequência cardíaca

O registro da pressão arterial sistólica dos grupos WKY e SHR foi adquirido pelo método de pletismografia de cauda utilizando o sistema CODA®, Kent Scientific Corporation.

A média da pressão arterial sistólica do grupo WKY foi de $111,8 \pm 13,1$ mmHg e do grupo SHR foi de $184,9 \pm 14,6$ mmHg, sendo significativamente maior ($p = 0,0001$) no grupo SHR em comparação com o WKY (Tabela 1 e gráfico 1A).

Do mesmo modo, foi observado que a FC em repouso foi significativamente maior nos SHR ($240,4 \pm 13,8$ bpm) do que nos animais WKY ($204,3 \pm 15,04$ bpm); $p = 0,0001$. (Tabela 1 e gráfico 1B).

Gráfico 1 - Comparação da PAS e FC entre os grupos.



A: Gráfico comparativo da pressão arterial sistólica entre grupos WKY e SHR; **B:** Gráfico comparativo da frequência cardíaca entre grupos WKY e SHR.

4.4 Ecocardiograma

As variáveis ecocardiográficas estão apresentadas na tabela 1.

A FEVE manteve-se preservada em ambos os grupos, no entanto, foi documentado significativo maior valor para o grupo SHR ($77,12 \pm 5,64$ %), em comparação com ao grupo WKY ($70,08 \pm 4,52$ %), $p = 0,008$.

Do mesmo modo, outras variáveis como espessura de paredes e cavidades ventriculares também apresentaram diferença significativa entre os grupos.

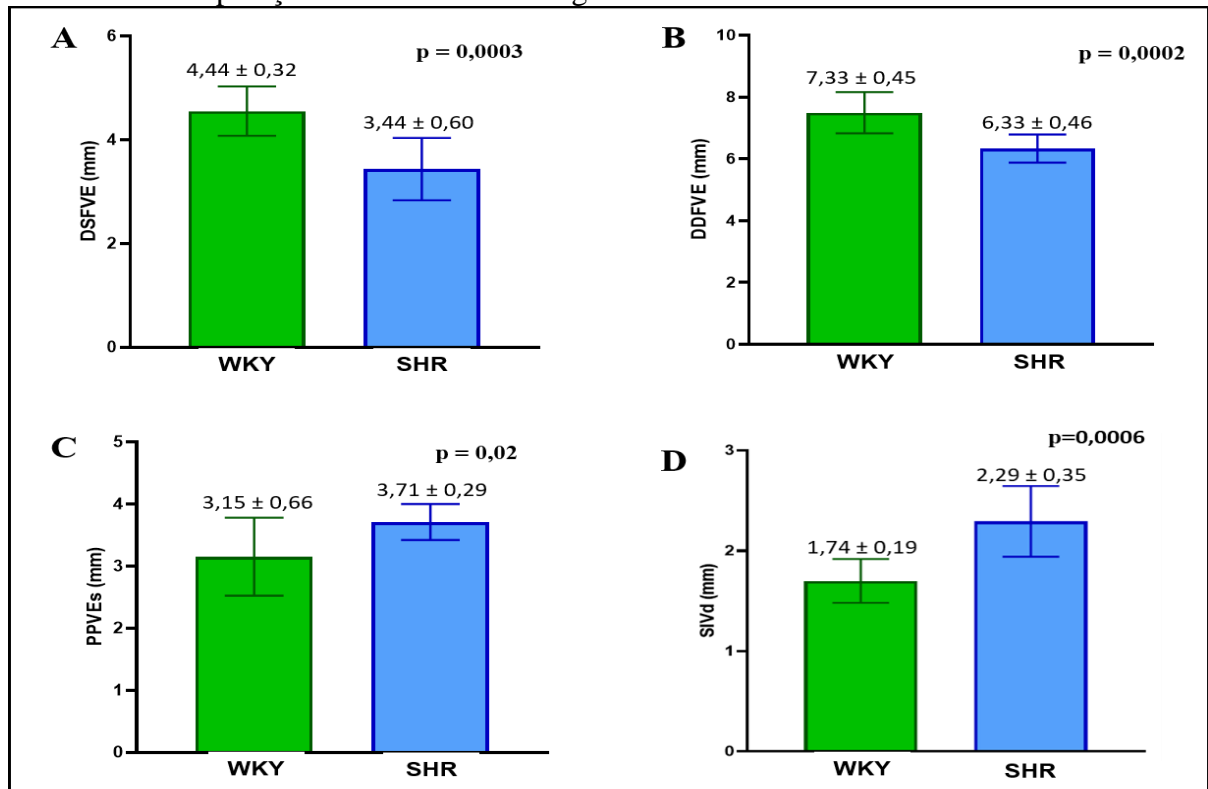
Tanto o diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo ($p = 0,0003$), como o diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo ($p = 0,0002$) foram significativamente menores no grupo SHR ($3,44 \pm 0,60$ mm e $6,33 \pm 0,46$ mm, respectivamente) em comparação ao grupo WKY ($4,44 \pm 0,32$ mm e $7,33 \pm 0,45$ mm, respectivamente), gráfico 2A e 2B.

Por outro lado, a parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole (SHR $3,71 \pm 0,29$ mm vs. WKY $3,15 \pm 0,66$ mm; $p = 0,02$ – Gráfico 2C), o septo interventricular em diástole (SHR $2,29 \pm 0,35$ mm vs. WKY $1,74 \pm 0,19$ mm; $p = 0,0006$ – Gráfico 2D), o índice de massa do ventrículo esquerdo (SHR $2,64 \pm 0,35$ mm vs. WKY $2,25 \pm 0,39$ mm; $p = 0,03$) e a espessura relativa da parede ventricular (SHR $0,77 \pm 0,11$ mm vs. WKY $0,58 \pm 0,13$ mm; $p = 0,002$) foram significativamente maiores no grupo SHR em comparação ao grupo WKY.

Tabela 1 – Resultados dos parâmetros ecocardiográficos entre os grupos experimentais

VARIÁVEIS	Grupo WKY (n=09)	Grupo SHR (n=10)	P
Peso (g)	373 ± 21,1	349,3 ± 16,8	0,01*
PAS (mmHg)	111,8 ± 13,1	184,9 ± 14,6	0,0001*
DC (mL/min)	84,03 ± 18,45	77,18 ± 11,42	0,78
VS (uL)	409,66 ± 81,41	320,93 ± 53,05	0,007*
FC (bpm)	204,3 ± 15,04	240,44 ± 13,89	0,0001*
FEVE (%)	70,08 ± 4,52	77,12 ± 5,64	0,008*
FS (%)	17,70 ± 3,89	19,52 ± 6,53	0,47
DDFVE (mm)	7,33 ± 0,45	6,33 ± 0,46	0,0002*
DSFVE (mm)	4,44 ± 0,32	3,44 ± 0,60	0,0003*
PPVEd (mm)	2,11 ± 0,44	2,45 ± 0,36	0,27
PPVEs (mm)	3,15 ± 0,66	3,71 ± 0,29	0,02*
SIVd (mm)	1,74 ± 0,19	2,29 ± 0,35	0,0006*
SIVs (mm)	3,26 ± 0,65	3,57 ± 0,39	0,08
MV A (mm/s)	410,80 ± 71,28	341,67 ± 79,23	0,06
MV E (mm/s)	764,84 ± 98,24	684,19 ± 111,49	0,11
MV E/A	1,89 ± 0,29	2,08 ± 0,47	0,33
IMVE (g/Kg)	2,25 ± 0,39	2,64 ± 0,35	0,03*
ER	0,58 ± 0,13	0,77 ± 0,11	0,002*

Valores em média ± desvio padrão. PAS – pressão arterial sistólica; DC – débito cardíaco; VS – volume sistólico; 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; MV A – fluxo atrial; MV E – fluxo mitral; MV E/A – diferença entre o fluxo atrial e mitral; IMVE – Índice de massa do ventrículo esquerdo; ER – Espessura relativa da parede ventricular

Gráfico 2. Comparação variáveis ecocardiográficas.

A: Gráfico comparativo do diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo entre os grupos WKY e SHR; B: Gráfico comparativo do diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo entre os grupos WKY e SHR; C: Gráfico comparativo da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole entre os grupos WKY e SHR; D: Gráfico comparativo do septo interventricular em diástole entre os grupos WKY e SHR.

4.5 Cintilografia de Perfusão Miocárdica

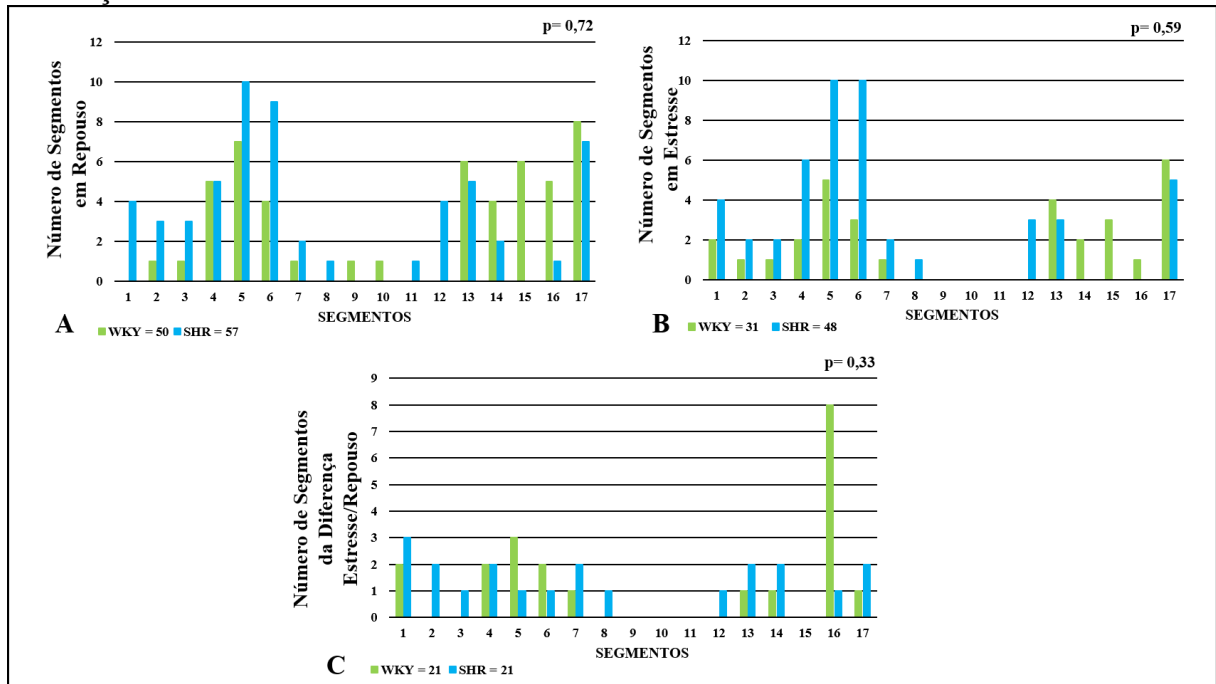
➤ Análise descritiva da distribuição topográfica dos defeitos de perfusão M miocárdica

A distribuição topográfica dos defeitos de perfusão miocárdica estão apresentados nos gráficos 3 e 4.

O ventrículo esquerdo foi dividido em 17 segmentos, como mostra a figura 7.

Observa-se que os grupos WKY e SHR apresentaram redução de captação do radiofármaco em alguns segmentos ventriculares tanto no repouso, como no estresse, gráfico 3A e 3B. Foi documentado também que em ambos os grupos os defeitos de perfusão miocárdica reversíveis apresentam-se difusos, gráfico 3C.

Gráfico 3 – Frequência dos defeitos perfusionais por segmento em repouso, estresse e a diferença.



A: Representação gráfica de cada segmento na avaliação em repouso do VE entre os grupos WKY e SHR. **B:** Representação gráfica na avaliação em estresse do VE entre os grupos WKY e SHR. **C:** Representação gráfica de cada segmento do VE, comparando a diferença entre repouso-estresse dos grupos WKY e SHR.

No grupo WKY, os defeitos perfusionais foram apresentados nos segmentos:

- Basal (1-6): em repouso 18 segmentos (33,33%), em estresse 14 segmentos (25,92%), em diferença estresse/repouso 9 segmentos (16,66%).
- Médio ventriculare (7-12): em repouso 3 segmentos (5,55%), em estresse 1 segmento (1,85%), em diferença estresse/repouso 1 segmento (1,85%).
- Apical (13-17): em repouso 29 segmentos (64,44%), em estresse 16 segmentos (35,55%), em diferença estresse/repouso 11 segmentos (24,44%).

No grupo SHR, os defeitos perfusionais foram apresentados nos segmentos:

- Basal (1-6): em repouso 34 segmentos (56,66%), em estresse 34 segmentos (56,66%), em diferença estresse/repouso 10 segmentos (16,66%).
- Médio ventricular (7-12): em repouso 8 segmentos (13,33%), em estresse 6 segmentos (10%), em diferença estresse/repouso 4 segmentos (6,66%).
- Apical (13-17): em repouso 15 segmentos (30%), em estresse 8 segmentos (16%), em diferença estresse/repouso 7 segmentos (14%).

➤ **Análise visual semiquantitativa**

Os resultados da análise visual semiquantitativa das variáveis obtidas na cintilografia de perfusão miocárdica são apresentados na tabela 2.

Foi observado em ambos os grupos alterações discretas de perfusão miocárdica em todas as fases do experimento, no entanto, não foi documentada diferença significativa dos defeitos de perfusão em repouso, estresse e diferença estresse/repouso ($p > 0,05$).

Tabela 2. Resultados obtidos na cintilografia miocárdica de perfusão em cada grupo experimental.

Variáveis	Grupo Controle (n=09)	Grupo SHR (n=10)	p
<i>ESR</i>	9,3 ± 4,4	8,9 ± 3,3	0,81
<i>ESE</i>	4,6 ± 3,5	7,7 ± 3,7	0,10
<i>ESD</i>	-4,8 ± 5,3	-1,2 ± 4,6	0,14
<i>Número de segmentos em repouso</i>	5,7 ± 2,1	5,7 ± 2,7	0,97
<i>Número de segmentos em estresse</i>	3,3 ± 2	4,8 ± 2,2	0,19
<i>Número de segmentos da diferença</i>	1,4 ± 1,4	1,7 ± 2,1	0,99
<i>GR</i>	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,6	0,79
<i>GE</i>	1,1 ± 0,5	1,3 ± 0,7	0,15
<i>GD</i>	-1,9 ± 3,3	-0,2 ± 1,1	0,52

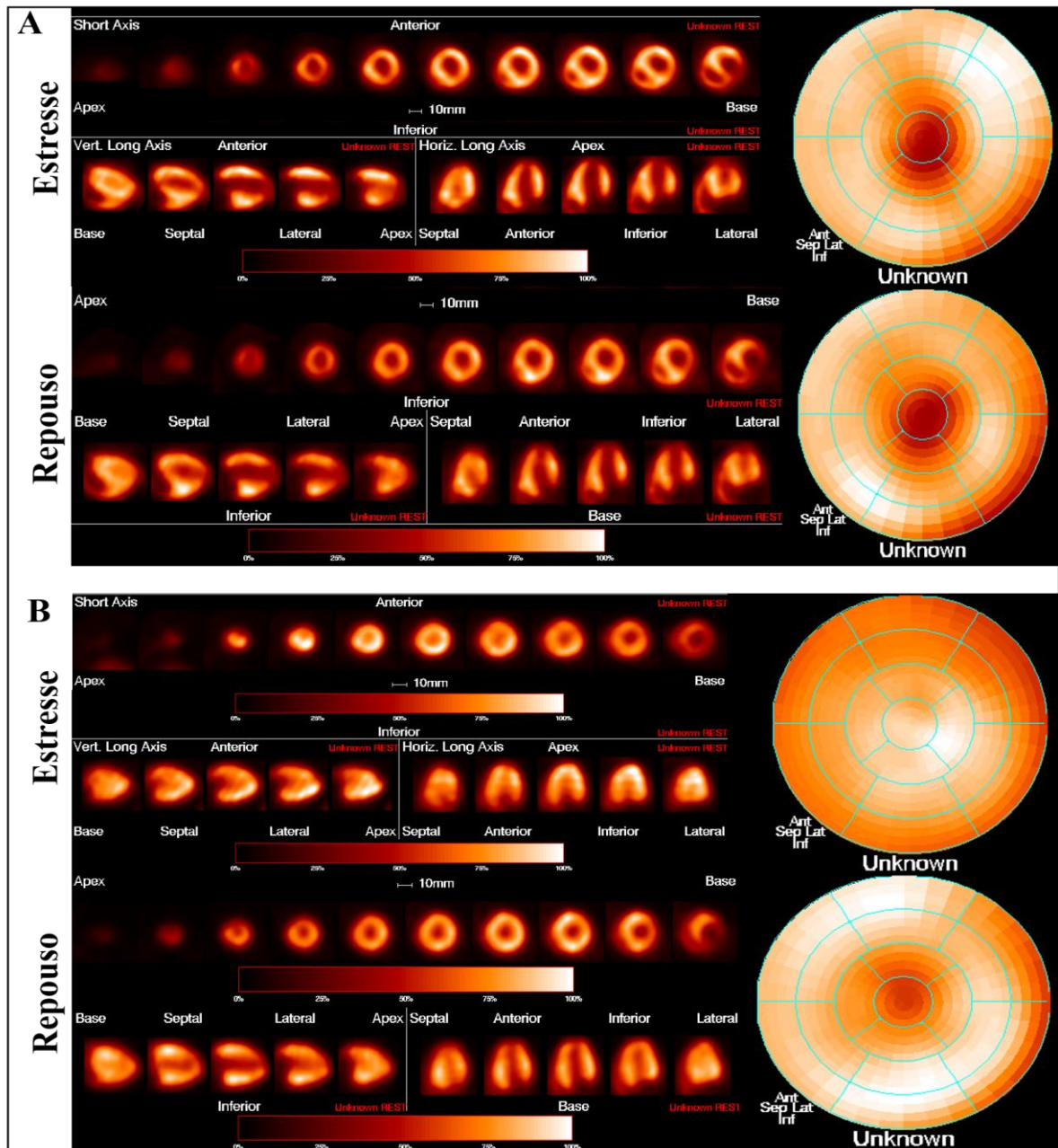
Valores apresentados como média ± desvio padrão; ESR: escore somado em repouso; ESE: escore somado em estresse; ESD: escore somado da diferença do estresse pelo repouso; GR: gravidade dos defeitos em repouso; GE: gravidade dos defeitos em estresse; GD: diferença da gravidade dos defeitos do estresse pelo repouso, teste t não pareado.

Do mesmo modo, nota-se que tanto na análise do número de segmentos com defeitos perfusionais isquêmicos, como na gravidade média dos defeitos reversíveis de ambos os

grupos, no estresse, repouso e na diferença estresse/repouso, não houve diferença significativa entre os grupos estudados ($p > 0,05$).

➤ **Imagem Ilustrativa do Estudo de Perfusão Miocárdica**

Figura 9 – Imagem da perfusão miocárdica em um animal WKY e SHR.



A: Animal WKY. **B:** Animal SHR. Imagens do exame de Cintilografia Miocárdica (SPECT de alta Resolução) obtidas da cavidade ventricular esquerda (basal, médio ventricular e apical) nos eixos curto e longos vertical e horizontal, no estresse e repouso, com o mapa polar resultante exemplificado na extremidade direita da figura. Fonte: NETO, P. O. (2022)

A figura 9 apresenta o exemplo da distribuição de captação do radiofármaco, em estresse e em repouso de um animal de cada grupo experimental.

Observa-se que no animal do grupo WKY, figura 9A, não apresenta defeitos perfusionais reversíveis em nenhum segmento do VE.

Na análise qualitativa, o animal do grupo SHR, figura 8B, apresentou defeitos perfusionais reversíveis nas paredes: anterior basal, septo-anteriorbasal, septo-inferior basal, inferior basal, ínfero-lateral basal, anterior médio, septo anterior médio, ântero-lateral médio.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo nós avaliamos as alterações cardíacas em um modelo experimental de hipertensão arterial crônica (SHR), com objetivo de caracterizar a perfusão miocárdica e o remodelamento ventricular em ratos SHR com 44 semanas de vida.

Os principais resultados mostraram, por meio da avaliação da cintilografia miocárdica de perfusão com SPECT de alta resolução, a presença de discretos defeitos de perfusão miocárdica no repouso, tanto em ratos SHR quanto nos WKY, de intensidade leve a moderada, que se reverteu, em parte, na fase de estresse, após a administração do dipiridamol.

Nesta etapa, com animais já com uma idade mais avançada, foi documentado pelos resultados ecocardiográficos um importante remodelamento ventricular nos animais do grupo SHR, com hipertrofia do tipo concêntrica, com diferenças significativas no diâmetro diastólico e sistólico final do ventrículo esquerdo, parede posterior do ventrículo esquerdo e espessura do septo interventricular em diástole, isto tudo ainda com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo preservada.

5.1 Modelo Experimental

Este modelo experimental vem sendo estudado por mais de 25 anos, cada vez mais vem se aprimorando as análises genéticas do SHR, além de oferecer novos estudos sobre pressão arterial e patologias associadas à hipertensão arterial (DORIS, 2017). Este modelo possui características de progressão da hipertensão arterial semelhantes com o humano, na qual, em algumas semanas de idade, já se evidenciam alterações fisiológicas causadas pela hipertensão arterial (FOLKOW, 1993).

O modelo SHR possui um tempo de vida curto, de aproximadamente três anos, com isso, consegue-se avaliar a evolução fisiológica da hipertensão neste animal com maior facilidade (FOLKOW; SVANBORG, 1993).

Muitos pesquisadores utilizam este modelo, pois este apresenta uma hipertrofia do tipo concêntrica, podendo evoluir para insuficiência cardíaca induzida pela hipertensão, com características muito próximas à dos humanos, tornando-se um modelo interessante para estudos para novos tratamentos farmacológicos e não farmacológicos (HOLJAK et al., 2022).

Os SHR são conhecidos por apresentarem as alterações fisiológicas, morfométricas e hemodinâmicas cardíacas, associado com alteração no tônus autonômico cardíaco, alteração na sensibilidade barorreflexa e aumento da influência do componente simpático cardíaco (OKAMOTO; AOKI, 1963).

Nos animais SHR, aproximadamente no 4^a e 6^o mês de idade, observa-se que com a progressão da doença ocorre o início do desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, havendo uma sobrecarga de trabalho cardíaco, por volta do 6^o e 7^o mês. Observa-se a fase de hipertensão estabelecida e equilibrada, notando-se uma hipertrofia dos vasos sanguíneos, que leva ao aumento da resistência periférica total, progredindo para hipertrofia ventricular esquerda (BOLUYT et al., 1994; BING et al., 1995). Após essa fase, na 18^o e 20^o mês de idade, há o início da fase da insuficiência cardíaca podendo ser observado redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo e complicações metabólicas (BING et al., 1995).

No presente estudo, pudemos documentar alterações cardíacas causadas pela hipertensão arterial, por meio de imagens ecocardiográficas, semelhantes as descritas na literatura, no grupo de ratos SHR expostos a um longo período de doença (44 semanas de vida).

ZHANG et al. (2019) em seu estudo acompanhou a evolução da PAS pelo método pletismográfico de cauda, com 1, 2 e 6 meses de vida dos animais, apresentando uma variação pequena no grupo WKY com variação PAS de 100 a 120 mmHg, já no grupo SHR houve um crescimento gradual de sua PAS variando de ≥ 180 a ≥ 190 mmHg.

Em outro estudo realizado com WKY e SHR de 8, 15, 20, 35 e 80 semanas de vida, os autores obtiveram resultados da PAS de 185 ± 7 nos animais com 35 semanas de idade, além de apresentarem alterações morfofisiológicas no coração (SLAMA et al., 2003).

As principais características descritas deste modelo é a elevação da FC e da PA, um estudo realizado com ratos SHR de 28, 43 e 51 semanas de vida apresentou os seguintes resultados: SHR de 28 semanas com PAS de 195 ± 14 mmHg e FC de 393 ± 50 bpm; 43

semanas com PAS de 179 ± 12 mmHg e FC de 402 ± 54 bpm; e 51 semanas com PAS de 192 ± 11 mmHg e FC de 411 ± 60 bpm (MARZAK et al., 2014).

Ao compararmos nossos resultados de PAS evidenciamos uma semelhança com os achados prévios da literatura, uma vez que nosso grupo de animais SHR apresentou valores médios de PAS de $184,9 \pm 14,6$ mmHg, sendo também, significativamente maior do que nosso grupo WKY que demonstrou valores médios de PAS de $111,8 \pm 13,1$ mmHg ($p = 0,0001$). Por outro lado, ao analisarmos os valores da FC dos nossos animais do grupo SHR observamos resultados inferiores aos apresentados na literatura, fato que pode ter ocorrido devido ao uso da combinação de anestésico adotada no presente estudo (Ketamina e Xilazina), pois esses fármacos são conhecidos por induzir queda da FC. Por outro, o grupo SHR ($240,44 \pm 13,89$ bpm) apresentou valores de FC significativamente maiores do que o grupo WKY ($204,3 \pm 15,04$ bpm), $p = 0,0001$. Este achado evidencia a alteração autonômica com predomínio simpático presente nos animais SHR.

Após uma breve busca na literatura observamos que grande parte dos estudos utilizando modelos experimentais de hipertensão arterial, em especial os que utilizam animais SHR, são realizados com animais mais jovens, fato este que pode limitar importantes avaliações e caracterização da hipertensão arterial, bem como sua influência sobre lesões em órgãos-alvos, em animais mais velhos como no nosso estudo, no entanto, é importante destacar que o SHR mais jovem já apresenta valores de pressão arterial elevada.

Um estudo realizado por CORDEIRO et al. (2017), utilizando ratos SHR e diabéticos com 15 semanas de vida, os autores evidenciaram PA elevada no grupo SHR, evidenciada pela avaliação da PA com o pletismográfico de cauda, na qual o grupo SHR teve uma média PAS de $204,7 \pm 5,8$ mmHg e o grupo controle de $129,8 \pm 5,8$ mmHg, assim identificando o início de uma PA elevada nesta idade dos animais.

Recentemente, nosso grupo desenvolveu um estudo para avaliar alterações cardíacas em ratos SHR mais novos, com 22 semanas de vida. O grupo SHR apresentou média da PAS de $160 \pm 20,09$ mmHg, sobrepondo significativamente ao grupo controle que apresentou média de PAS de $109,63 \pm 20,53$ ($p = 0,001$) (FARIA, CARVALHO, 2020).

5.2 Métodos de Imagem

5.2.1 Ecocardiograma

Neste estudo, foram utilizadas medidas não invasivas para avaliar a função sistólica e estrutura ventricular esquerda, empregando-se a ecocardiografia transtorácica. A ecocardiografia é um exame de referência para avaliar a função e anatomia cardíaca (MARZAK et al., 2014). Com desenvolvimento do Doppler, possibilitou-se ainda mais uma avaliação mais acurada das funções sistólicas e diastólicas, além de obter medições precisas da geometria, morfologia e massa do VE (LITWIN et al., 1994; ONO et al., 2002).

O ecocardiograma avalia parâmetros hemodinâmicos do coração, na qual, um dos mais importantes destes parâmetros é a fração de ejeção do ventrículo esquerdo, pois o mesmo reflete na função cardíaca, sendo um importante marcador fenotípico, tanto em estudos clínicos quanto em experimentais (FAYSSOIL; TOURNOUX, 2013).

Estudo utilizando o ecocardiograma em animais SHR com a PA elevada registraram hipertrofia concêntrica do VE, além de apresentarem uma disfunção diastólica que com o passar da idade do animal evoluiu para disfunção sistólica do ventrículo esquerdo (MARZAK et al., 2014).

Em um estudo realizado por SLAM e colaboradores (2003), foram realizadas análises ecocardiográficas em ratos SHR e WKY com idades de 8, 15, 20, 35 e 80 semanas. Neste estudo, os autores relataram que nas primeiras semanas de vida do animal, não houveram diferenças significativas, em especial no diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo entre os grupos estudados, no entanto, como o passar das semanas o grupo SHR apresentou uma maior disfunção diastólica e perda da contratilidade do VE em comparação ao grupo WKY.

Outro estudo também documentou diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo significativamente menor no grupo SHR (8.1 ± 0.5 mm), de 43 semanas de idade, em relação ao grupo WKY (8.4 ± 0.4 mm), $p < 0,05$. Além de apresentar massa ventricular esquerda significativamente maior no grupo SHR em relação o grupo WKY (2.6 ± 0.3 mm vs 1.97 ± 0.33 mm), $p < 0,05$. Sendo assim, este estudo com animais SHR com 43 semanas de vida documentou uma hipertrofia do VE, associada a disfunções diastólicas (MARZAK et al., 2014).

Corroborando os achados da literatura, documentamos no presente estudo importante remodelamento ventricular no grupo de animais SHR com 44 semanais de vida, por meio da avaliação ecocardiográfica, na qual evidenciamos o diâmetro diastólico ($p = 0,0002$) e

sistólico ($p = 0,0003$) final do ventrículo esquerdo significativamente menor no grupo SHR ($6,33 \pm 0,46$ mm e $3,44 \pm 0,60$ mm, respectivamente) do que no grupo WKY ($7,33 \pm 0,45$ mm e $4,44 \pm 0,32$ mm, respectivamente). Por outro lado, a parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole ($p = 0,02$) e septo interventricular em diástole ($p = 0,0006$) foi significativamente maior no grupo SHR ($3,71 \pm 0,29$ mm e $2,29 \pm 0,35$ mm, respectivamente) em relação ao grupo WKY ($3,15 \pm 0,66$ mm e $1,74 \pm 0,19$ mm, respectivamente).

Outras variáveis medidas que confirmam o expressivo remodelamento do ventricular esquerdo dos animais hipertensos em nosso estudo foram o índice de massa do ventrículo esquerdo ($p = 0,03$) e a espessura relativa ventricular ($p = 0,002$), que no grupo SHR ($2,64 \pm 0,35$ g/Kg e $0,77 \pm 0,11$, respectivamente) foram significativamente maiores do que no grupo WKY ($2,25 \pm 0,39$ g/Kg e $0,58 \pm 0,13$, respectivamente).

Devido a estas alterações morfológicas no ventrículo esquerdo, houve também alterações hemodinâmicas como o volume sistólico do grupo SHR ($320,93 \pm 53,05$ uL) significativamente menor do que o grupo WKY ($409,66 \pm 81,41$ uL), $p = 0,007$ e o débito cardíaco com uma redução não significativa no grupo SHR ($77,18 \pm 11,42$ mL/min) em relação ao grupo WKY ($84,03 \pm 18,45$ mL/min). Por fim, ambos os grupos apresentaram FEVE dentro dos limites da normalidade, no entanto, devido ao remodelamento ventricular apresentado pelo grupo SHR com hipertrofia ventricular concêntrica, caracterizada pelo aumento da espessura das paredes do ventrículo e redução de sua cavidade, o grupo SHR ($77,12 \pm 5,64$ %) apresentou a FEVE significativamente maior do que o grupo WKY ($70,08 \pm 4,52$ %), $p = 0,008$.

Por outro lado, no estudo de Pires et al. (2014) utilizando ratos hipertensos com apenas oito semanas de idade, já evidenciou-se, nessa fase inicial da vida do animal alterações no miocárdio, como septo interventricular (SHR = $0,16 \pm 0$ mm vs GC = $0,14 \pm 0,01$ mm; $p < 0,05$) e parede posterior do ventrículo esquerdo (SHR = $0,17 \pm 0,01$ mm vs GC = $0,14 \pm 0,01$ mm; $p < 0,05$) significativamente maior em relação ao grupo controle, apresentando assim alterações morfológicas cardíacas mesmo na fase inicial da doença.

Recentemente, FARIA e CARVALHO (2020) estudaram ratos SHR com 22 semanas de vida e observaram um discreto remodelamento ventricular com SIVd ($1,98 \pm 0,21$ mm vs $1,69 \pm 0,17$ mm; $0,003$) e SIVs ($3,18 \pm 0,19$ mm vs $2,73 \pm 0,24$ mm; $0,0002$) significativamente maior no grupo SHR do que no grupo WKY. Somado a isto, assim como no presente estudo, os autores também documentaram que o DSFVE ($4,57 \pm 0,55$ mm vs $5,09 \pm 0,45$ mm, $p = 0,03$) foi significativamente menor no grupo SHR em relação ao grupo WKY, evidenciando alterações com idades mais jovens nesses animais SHR.

5.2.2 Cintilografia de Perfusão Miocárdica

Imagens de perfusão miocárdica associadas ao estresse farmacológico tornou-se uma ferramenta favorável para avaliação do risco de doenças cardíacas, refinando ainda mais a precisão para a captação de imagens (MURTHY et al., 2018).

Os exames sob estresse farmacológico são comuns na prática clínica, sendo eles: ecocardiograma, cintilografia de perfusão miocárdica, tomografia computadorizada, ressonância magnética, cujo objetivo é buscar um propósito para investigar as doenças cardiovasculares, identificando isquemia miocárdica, doenças valvares e outras alterações patológicas (ARMSTRONG et al., 1998).

Um dos fármacos mais utilizados para gerar estresse farmacológico na prática clínica é o dipiridamol, que é um vasodilatador, responsável por aumentar o fluxo sanguíneo coronariano por meio do relaxamento máximo do músculo liso vascular. Outro fármaco comumente utilizado é o cloridrato de dobutamina, que promove o aumento do trabalho cardíaco, elevando o consumo de oxigênio e levando ao aumento do fluxo coronário mediado pelo metabolismo para atender o gasto aumentado de oxigênio e substrato do miocárdio (HEINRICH, 2020).

Um de nossos objetivos foi a caracterização da perfusão miocárdica em animais SHR com 44 semanas de vida, em repouso e sob estresse farmacológico utilizando o dipiridamol. Para isto, em estudos prévios de nosso grupo de pesquisa, foi desenvolvido um sistema de captação de imagens de SPECT de alta resolução baseado em um colimador pinhole, com um sistema rotacional de suporte para pequenos animais, que foram adaptados em uma gama câmara de uso clínico, através deste sistema, ela consegue uma imagem com uma resolução 10 vezes maior, com uma resolução espacial em aproximadamente 2 mm, assim, podendo captar melhores imagens para roedores (MEIJA et al., 2010).

Em estudos já realizados com este mesmo sistema de captação de imagens cintilográficas com outro modelo experimental de roedores, os autores apresentaram imagens com boa qualidade, na qual mostraram elevada resolução espacial e imagens de perfusão miocárdica, permitindo a visualização das paredes e cavidades ventriculares, bem como a presença de defeitos perfusionais em repouso e sobre estresse farmacológico (OLIVEIRA et al., 2013; FARIA, CARVALHO, 2020).

Após uma ampla revisão na literatura científica, encontramos apenas um único estudo do nosso grupo de pesquisa que utilizou o sistema de SPECT de alta-resolução para produzir imagens de perfusão cardíaca em repouso e estresse, por meio da cintilografia de perfusão

miocárdica. Neste estudo foi utilizado animais SHR e WKY com 22 semanas de vida. Um diferencial desse estudo prévio para o nosso atual é que as imagens em estresse foram realizadas após a infusão contínua de cloridrato de dobutamina de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, por 1 minuto. Nesta ocasião, também não houve diferença no escore somado de repouso entre os grupos, entretanto, foi documentado maiores e significativos escores somados de estresse e na diferença estresse/repouso dos animais SHR em relação aos WKY, confirmando a presença do defeito perfusional reversível neste modelo de hipertensão arterial (FARIA, CARVALHO, 2020).

No presente estudo, nós também não documentamos diferença significativa no escore somado em repouso entre os grupos SHR ($8,9 \pm 3,3$) e WKY ($9,3 \pm 4,4$), $p = 0,81$. Por outro lado, diferentemente do estudo realizado com estresse farmacológico com dobutamina, neste estudo após a infusão do dipiridamol houve uma redução dos defeitos encontrados no repouso, com consequente melhora da perfusão miocárdica, tanto no grupo SHR ($7,7 \pm 3,7$), como no grupo WKY ($4,6 \pm 3,5$), esta melhora da perfusão foi maior porém não significativa no grupo WKY, $p = 0,10$.

Desta forma, podemos sugerir duas hipóteses para explicar este resultado, uma pautada em que os animais SHR estudados com 44 semanas de vida realmente não apresentam defeitos perfusionais comparados ao grupo controle, uma vez que a doença não evoluiu para dano de perfusão miocárdico. Desse modo, a alteração de perfusão encontrada no repouso e que permaneceu em parte no estresse, poderia ser um defeito fixo, secundário a fibrose miocárdica, que pode ter sido induzida pelos altos níveis pressóricos.

Outra possibilidade plausível de supor seria em relação ao fármaco utilizado para induzir o estresse cardíaco. O dipiridamol induz uma redistribuição de fluxo por vasodilatação secundária ao relaxamento da musculatura lisa das artérias, uma vez que ainda não há estudos na literatura que tenha utilizado o dipiridamol durante o estresse na cintilografia de perfusão miocárdica em animais, podemos considerar que a dilatação induzida pelo fármaco tenha ocasionado uma redistribuição de fluxo difusa no miocárdio, impossibilitando identificar possíveis alterações da função endotelial da microcirculação coronária dos ratos SHR.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo documentou elevados níveis pressóricos nos ratos do grupo SHR com 44 semanas de vida, que induziu importante remodelamento do ventrículo esquerdo, com aumento da espessura de paredes e redução de cavidades ventriculares, no entanto, sem alterar as funções diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo.

As variáveis analisadas na cintilografia de perfusão miocárdica indicam que a principal hipótese aventada neste estudo de que ratos SHR com 44 semanas de vida apresentariam maiores defeitos de perfusão miocárdica, principalmente após o estresse farmacológico induzido pelo dipiridamol não foi confirmada.

O uso do dipiridamol na avaliação sob estresse na cintilografia de perfusão miocárdica, ao contrário do que se esperava, levou a redução dos defeitos perfusionais presentes no repouso, com maior magnitude no grupo WKY.

REFERÊNCIAS

- 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.
- BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial - 2020. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. DATASUS/MS/SVS/CGIAE – Sistema de informações sobre a mortalidade SIM. 2017. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def/2017-CID-10-Capitulos-I00-I99>; <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ibge/cnv/poptuf.def>.
- 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.
- BOTVINICK, E. H.; DAE, M. W. Dipyridamole perfusion Scintigraphy. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 21, n. 3, p. 242-265, 1991
- CARVALHO, T., *et al.* Diretrizes Brasileiras de Reabilitação Cardiovascular – 2020. **Arq Bras Cardiol**, v. 114, n. 5, p. 943-987, 2020.
- CHALELA, W. A. *et al.* Primeira Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia Sobre Cardiologia Nuclear. **Arq Bras Cardiol**, v. 78, p. 16-20, 2002.
- 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.
- CURY, R. C. *et al.* Dipyridamole stress and rest myocardial perfusion by 64-detector row computed tomography in patients with suspected coronary artery disease. **Am J Cardiol**, v. 106, p. 310-315, 2010.
- 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.
- DORIS, P. A. Genetics of hypertension: na assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat. **Physiol Genomics**, v. 49, p. 601-617, 2017.
- ELLIOTT, W. J. Systemic Hypertension. **Current Problems in Cardiology**, v. 32, p. 201-259, 2007.

FARIA, G. S.; CARVALHO, E. E. V. **Caracterização da perfusão miocárdica e remodelamento ventricular em modelo experimental de hipertensão arterial crônica.** 2020. 75 f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2020.

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

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.

FOROUZANFAR, M. H. *et al.* Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mmHg. **JAMA**, v. 317, n. 2, p. 165-182, 2017.

FRACCAROLLO, D.; GALUPPO, P.; BAUERSACHS, J. Novel therapeutic approaches to post-infarction remodelling. **Cardiovasc Res**, v. 94, n. 2, p. 293-303, 2012.

G. B. D. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2016. **Lancet**, v. 16, n. 390, p. 1151-1210, 2017.

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.

HALAPAS, A. P. *et al.* In vivo models for heart failure research. **In vivo**, v. 22, p. 767-780, 2008.

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

HOLJAK, E. J. B. *et al.* An Evaluation of cardiac health in the spontaneously hypertensive rat colony: implications of evolutionary drive increases in concentric hypertrophy. **Am J Hypertens**, v. 35, n. 3, p. 264-271, 2022.

HEINRICH, R. S. On the relativity of dipyridamole and dobutamine flow. **Journal of Nuclear Cardiology**, v. 28, n. 1, p. 46-49, 2020.

JACKSON, K. L. *et al.* A novel interaction between sympathetic overactivity and aberrant regulation of renin by miR-181a in BPH/2J genetically hypertensive. **Hypertension**, v. 62, p. 775-781, 2013.

JAVADI, H. *et al.* The association of dipyridamole side effects with hemodynamic parameters, ECG findings, and scintigraphy outcomes. **Journal of Nuclear Medicine Technology**, v. 38, n. 3, p. 149-152, 2010.

KELM, N. Q.; BEARE, J. E.; LeBLANC, A. J. Evaluation of Coronary Flow Reserve After Myocardial Ischemia Reperfusion in Rats. **J Vis Exp**, v. 148, 2019.

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. 1318-1333, 2003.

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. 2014.

LANG, R. M., *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and 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.

LITWIN, S. E., *et al.* Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. **Circulation**, v. 84, p. 345-354, 1994.

LOENING, A. M.; GAMBHIR, S. S. AMIDE: A Free Software Tool for Multimodality Medical Image Analysis. **Molecular Imaging**, v. 2, p. 131-37, 2003.

MALACHIAS, M. V. B., *et al.* 7ª Diretriz Brasileira da Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 3, n. 107, p. 1-83, 2016.

MARZAK, H., *et al.* Old spontaneously hypertensive rats gather together typical features of human chronic left-ventricular dysfunction with preserved ejection fraction. **Journal of Hypertension**, v. 32, p. 1307-1316, 2014.

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.

MILLS, K. T., *et al.* Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. **Circulation**, v. 134, n. 6, p. 441-450, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pesquisa nacional de Saúde: Percepção do Estado de Saúde, Estilos de Vida, Doenças Crônicas e Saúde Bucal**. Rio de Janeiro, IBGE, 2020.

MORAES, C. E., *et al.* Preditores de insuficiência renal crônica em pacientes de centro de referência em hipertensão arterial. **Ver. Assoc. Med. Bras**. São Paulo, v. 55, n. 3, p. 257-262, 2009.

MUÑOZ, V.; BACKMAN, W.; SAM, F. Murine Models of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. **JACC**, v. 2, n. 6, p. 770-789, 2017.

MURTHY, V. L., *et al.* Clinical quantification of myocardial blood flow using PET: Joint position paper of the SNMMI cardiovascular council and the ASNC. **J Nucl Cardiol**, v. 25, p. 269-297, 2018.

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

NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trend in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population based measurement studies with 19.1 million participants. **Lancet**, v. 389, n. 10064, p. 37-55, 2017.

NILSON, E. A. F., *et al.* Custos atribuíveis à obesidade, hipertensão e diabetes no Sistema Único de Saúde em 2018. **Revista Panam Salud Publica**, v. 44, p. 32, 2020.

NILSON, E. A. F.; SILVA, E. N.; JAIME, P. C. Developing and applying a costing tool for hypertension and related cardiovascular disease: attributable cost to salt/sodium consumption. **J Clin Hypertens**, v. 22, n. 4, p. 642-648, 2020.

ONO, K., *et al.* Echo Doppler assessment of left ventricular function in rats with hypertensive hypertrophy. **J AM Echocardio**, v. 15, p. 109-117, 2002).

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.

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

PIOVESANA, P. *et al.* Addition of exercise to dipyridamole stress echocardiography in order to carry on the ischemic cascade: role in the diagnosis of coronary artery disease and prognostic value. **Journal of Cardiovascular Echography**, v. 26, p. 115-119, 2016.

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.

RIET, L., *et al.* Hypertension: Renin-Angiotensin-Aldosterone System Alterations. **Circulation Research**, v. 116, p. 960-975, 2015.

SANJULIANI, A. F. Fisiopatologia da Hipertensão Arterial: conceitos teóricos úteis para a prática clínica. **Revista SOCERJ**, v.15, n. 4, p. 211-218, 2002.

SEITUN, S. *et al.* Stress computed tomography myocardial perfusion imaging: A new topic in cardiology. **Rev Esp Cardiol**, v. 69, n. 2, p. 188-200, 2016.

SLAMA, M., *et al.* Long-term left ventricular echocardiographic follow-up of SHR and WKY rats: effects of hypertension and age. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, n. 286, p. 181-185, 2003.




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

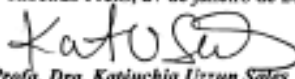
WHO. Causes of Death 2008 (online database). **Lancet**, Geneva, v. 390, p. 1151-1210, 2016.
Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/cod_2008_sources_methods.pdf

YUMEI, Y. E. *et al.* Dipyridamole with low-dose aspirin augments the infarct size-limiting effects of simvastatin. **Cardiovasc Drugs Ther**, v. 24, p. 391-399, 2010.

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

		UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS			
					
<h2>AUTORIZAÇÃO</h2>					
<p>A CEUA-FMRP autoriza a execução do projeto intitulado: <i>"Caracterização da perfusão miocárdica e sua correlação com a disfunção ventricular em modelo experimental de cardiomiopatia hipertensiva crônica"</i>, registrado com o número do protocolo 240/2019, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcus Vinicius Simões, envolvendo a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao <i>filó Chordata, subfiló Vertebrata</i> (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.</p>					
<p>Colaboradores: Eduardo Elias Vieira de Carvalho Antonio Osvaldo Pintya Rafael Brolio Pavão Denise Mayumi Tanaka</p>					
<p>Lembramos da obrigatoriedade do Relatório Final, em modelo da CEUA, para emissão do Certificado, como disposto nas Resoluções Normativas do CONCEA.</p>					
Finalidade			<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica		
Vigência da autorização			27/01/2020 a 10/03/2024		
Espécie/Linhagem	Nº de Animais	Peso/Idade	Sexo	Origem	
Rato / Spontaneously hypertensive rats - SHR	15	150g / 02 dias	Macho	Instituto de Ciências Biomédicas - USP	
Rato / Wistar-KYJ	15	150g / 02 dias	Macho	Serviço de Biotério	

Ribeirão Preto, 27 de janeiro de 2020

Prof. Dra. Katiuchia Uzzun Sales
 Coordenadora da CEUA-FMRP-USP

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP - Av. Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - SP - Brasil - 14049-900 - Tel. (16) 3315-3201 / 3315-3275 - e-mail: ceuafmrp.usp.br