



LUCIENE BARBOSA GOMIDE

**MÉTODOS DE MEDIDA DA ESPESSURA DA
TÚNICA ÍNTIMA-MÉDIA DA ARTÉRIA
FEMORAL DE CÃES SAUDÁVEIS POR MEIO
DA ULTRASSONOGRAFIA BIDIMENSIONAL**

LAVRAS - MG

2014

LUCIENE BARBOSA GOMIDE

**MÉTODOS DE MEDIDA DA ESPESSURA DA TÚNICA ÍNTIMA-
MÉDIA DA ARTÉRIA FEMORAL DE CÃES SAUDÁVEIS POR MEIO
DA ULTRASSONOGRAFIA BIDIMENSIONAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Rodrigo Bernardes Nogueira

LAVRAS – MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Gomide, Luciene Barbosa.

Métodos de medidas da espessura da túnica íntima-média da
artéria femoral de cães saudáveis por meio da ultrassonografia
bidimensional / Luciene Barbosa Gomide. – Lavras : UFLA, 2014.
69 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.
Orientador: Rodrigo Bernardes Nogueira.
Bibliografia.

1. Artéria femoral. 2. Túnica íntima-media. 3. Vascular. 4. Cão.
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.70892133

LUCIENE BARBOSA GOMIDE

**MÉTODOS DE MEDIDA DA ESPESSURA DA TÚNICA ÍNTIMA-
MÉDIA DA ARTÉRIA FEMORAL DE CÃES SAUDÁVEIS POR MEIO
DA ULTRASSONOGRAFIA BIDIMENSIONAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 10 de outubro de 2014.

Dra. Graziela Barioni	UFES
Dr. Fladimir Wouters	UFLA
Dr. Antônio Carlos da Cunha Lacrete Júnior	UFLA

Dr. Rodrigo Bernardes Nogueira
Orientador

LAVRAS- MG

2014

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Medicina Veterinária (DMV), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Aos professores do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência.

Ao professor Rodrigo Bernardes Nogueira pela orientação, paciência, amizade, dedicação e seus ensinamentos que foram de grande importância para a realização deste trabalho e meu crescimento profissional.

Ao professor Fladimir Wouters pelos ensinamentos de grande valia para a realização deste trabalho.

Ao professor Antônio Carlos Cunha Lacreta Júnior por se dispor a participar como membro na banca examinadora.

À professora Graziela Barioni por aceitar o convite para participar como membro na banca examinadora e se dispor em vir de tão longe para acrescentar valiosa contribuição para este trabalho.

Aos amigos graduandos, Fernanda Junqueira e Vinícius Brandão, pela preciosa ajuda na condução dos experimentos.

Agradeço o apoio de meus familiares que me deram um suporte para conquistar este objetivo. Ao Rinaldo e Rozimara que me acolheram em sua casa. A minha mãe Helena Barbosa Gomide que confiou no meu potencial e me incentivou a acreditar que tudo é possível.

RESUMO

Os estudos sobre as alterações vasculares periféricas têm despertado interesse por auxiliar na compreensão das variações de perfusão em órgãos e tecidos periféricos. Em seres humanos está comprovado que os distúrbios associados à túnica íntima-média (TIM) exercem efeitos capazes de influenciar a dinâmica vascular e o débito cardíaco. No entanto, ainda pouco se sabe sobre tal assunto na prática da clínica veterinária. Como a artéria femoral é o principal vaso responsável pela perfusão sanguínea muscular do membro pélvico de animais, as influências sofridas na espessura de sua TIM, decorrentes de diferentes enfermidades sistêmicas, promovem alterações na geometria e na dinâmica vascular, que podem exercer sobrecarga cardíaca. Assim sendo, o presente estudo foi realizado com o principal objetivo de avaliar a aplicação clínica da ultrassonografia bidimensional em obter a espessura da TIM da artéria femoral de cães saudáveis, pelos métodos manual e automático (QIMT) e estabelecer os parâmetros normais. Para isso, foram obtidas medidas da espessura da TIM, por meio da ultrassonografia bidimensional da artéria femoral de 24 cães saudáveis, adultos, machos (n=12) e fêmeas (n=12). Pelos resultados demonstrou-se diferença estatística entre os métodos e não se apresentou significância na comparação entre as medidas de espessura da TIM entre machos e fêmeas. Pode-se concluir que a metodologia deste trabalho permitiu a mensuração da espessura da TIM da artéria femoral de cães saudáveis por meio da ultrassonografia bidimensional com os diferentes métodos empregados.

Palavras-chave: Artéria femoral. Túnica íntima-média. Vascular. Cão.

ABSTRACT

Studies on the periphery vascular alterations have awakened interest in aiding in understanding perfusion variations in periphery organs and tissues. In human beings, it is proven that disturbances associated to the intima-media tunica (IMT) exercise effects capable of influencing the vascular dynamics and the cardiac debit. However, little is known of such subject in veterinary clinic practices. As the femoral artery is the vessel mainly responsible for muscular blood perfusion of the pelvic member in animals, the influences underwent in the thickness of its IMT, derived from different systemic infirmities, cause alterations in the vascular geometry and dynamics, which might exercise cardiac overload. Therefore, the present study was conducted with the main objective of evaluating the clinical application of bi-dimensional ultrasound in obtaining the IMT thickness of the femoral artery in healthy dogs, by means of the manual and automatic methods (QIMT) and establish the normal parameters. In order to do this, we obtained measurements of the IMT thickness by means of bi-dimensional ultrasound of the femoral artery of 24 adult healthy, male (n=12) and female (n=12) dogs. With the results we demonstrated the statistical differences between the methods and that there was no significance in the comparison between the thickness measurements of the IMT between males and females. We can conclude that the methodology of this work allowed the measuring the IMT thickness of the femoral artery of healthy dogs by means of bi-dimensional ultrasound with different methods employed.

Keywords: Femoral artery. Intima-mediatúnica. Vascular. Dog.

LISTA DE ABREVIATURAS

VE	Ventrículo esquerdo
TIM	Túnica íntima-média
QIMT	Método de quantificação automático da TIM
T4	Tiroxina
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
DVP	Doença vascular periférica
VOP	Velocidade de onda de pulso
LONG	Método manual longitudinal
TRANSV	Método manual transversal
HIST	Análise histológica
TIM LONGIT	Método manual de quantificação da medida da TIM em corte longitudinal
TIM TRANSV	Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
CR	Coefficiente de Repetibilidade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Vista medial de uma peça anatômica do membro pélvico direito de um cão.....	16
Figura 2	Representação esquemática que demonstra comparativamente as diferenças das camadas elásticas da túnica média de artérias elásticas (p.ex. aorta) e de artérias musculares (p.ex. femoral)	18
Figura 3	À esquerda: representação esquemática do transdutor ultrassonográfico posicionado sobre a artéria para a obtenção da imagem. À direita: imagem ultrassonográfica em modo bidimensional associada à rádio frequência (QIMT), demonstrando a obtenção da medida da TIM (abreviada como cIMT)	21
Figura 4	Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional. A: parede proximal do vaso; B: lúmen; C: túnicas íntima-média (parede distal); D: túnica adventícia.....	22
Figura 5	Imagens ultrassonográficas em modo bidimensional demonstrando a região da TIM (contornada por linhas brancas) da parede arterial, e suas respectivas medidas (EMIA) em milímetros (mm)	22
Figura 6	Posicionamento do transdutor linear para a realização da ultrassonografia bidimensional da artéria femoral direita de um cão.....	31
Figura 7	Representação esquemática dos locais de medição da túnica distal (setas vermelhas) da TIM na artéria femoral direita. A , Corte Longitudinal; B , Corte Transversal	33

- Figura 8 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional demonstrando os limites da artéria femoral e a obtenção da medida da TIM em um cão. Observar (setas estreitas e pretas) indicando a TIM e as (setas brancas e largas) indicando os cursores mensurando a espessura da TIM, e as respectivas medidas em milímetros (mm) apresentadas no canto superior esquerdo (D1, D2 e D3)42
- Figura 9 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional demonstrando os limites da artéria femoral (corte transversal) e a obtenção da medida da TIM em um cão. Observar (setas estreitas e pretas) indicando a TIM e as (setas brancas e largas) indicando os cursores mensurando a espessura da TIM, e a respectiva medida em milímetros (mm) apresentada no canto superior esquerdo (D1).....43
- Figura 10 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional associada à radiofrequência (QIMT) demonstrando os limites da artéria femoral (corte longitudinal) e a obtenção da medida da TIM em um cão. Observar (linhas vermelhas) indicando a delimitação da parede da artéria femoral e a emissão da radiofrequência (pontos verdes) mensurando a espessura da TIM (Software QIMT – ESAOTE®).....43
- Figura 11 Diagramas de caixa (box-plot) demonstrando diferenças na comparação entre os métodos manual (longitudinal e transversal) e automático (QIMT) da espessura da TIM, em milímetros, da artéria femoral direita em cães (n=24). TIM – Medidas da Túnica íntima-média em milímetros; QIMT – Método de quantificação automático da TIM (Software – Esaote®); TIM LONGIT – Método manual de quantificação da

medida da TIM em corte longitudinal; TIM TRANSV – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas44

Figura 12 Diagramas de caixa (box-plot) demonstrando diferenças estatísticas entre machos (n=12) e fêmeas (n=12) na comparação entre A, método manual longitudinal; B, método manual transversal; C, método automático (QIMT); da TIM em milímetros da artéria femoral direita em cães. QIMT – Método de quantificação automático da TIM (Software – Esaote); TIM LONGIT – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte longitudinal; TIM TRANSV – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal. Medidas da Túnica íntima-média em milímetros. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas.....47

Figura 13 Imagem histopatológica da artéria femoral de animais (n=3) submetidos à eutanásia. Os cortes histológicos foram corados em lâmina com Hematoxilina-Eosina (HE) para aferição da túnica íntima média em objetiva de 20x, empregando-se microscópio Olympus acoplado à câmera fotográfica, que envia imagens digitais a computador dotado de programa de análise de imagens Image-Pro Express 6.3 (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA)52

Figura 14 Diagramas de caixa (box-plot) demonstrando diferenças na comparação entre as 12 repetições de medidas da TIM em milímetros obtidas pela histologia com os métodos manual (longitudinal e transversal) e automático (QIMT) da TIM da

artéria femoral direita em cães (n=3). TIM – Medidas da Túnica íntima-média em milímetros; QIMT – Método de quantificação automático da TIM (Software – Esaote); TIM LONGIT – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte longitudinal; TIM TRANSV – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas.....53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição das raças de cães incluídas no estudo realizado (n=24).....	40
Tabela 2	Estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, Pressão Arterial Sistólica [PAS], Pressão Arterial Diastólica [PAD] e Pressão Arterial Média [PAM]) de todos os cães saudáveis avaliados por meio da ultrassonografia bidimensional (n=24).....	41
Tabela 3	Estatística descritiva correspondente aos diferentes métodos de avaliação da espessura da TIM (mm) por meio da ultrassonografia bidimensional (n=24).....	42
Tabela 4	Estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, PAS, PAD e PAM) dos cães saudáveis machos avaliados por meio da ultrassonografia bidimensional (n=12).....	45
Tabela 5	Estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, PAS, PAD e PAM) dos cães saudáveis fêmeas avaliados por meio da ultrassonografia bidimensional (n=12).....	45
Tabela 6	Estatística descritiva correspondente aos diferentes métodos de avaliação da espessura da TIM (mm) por meio da ultrassonografia bidimensional em machos (n=12) e fêmeas (n=12).....	46
Tabela 7	Estatística descritiva correspondente à histologia da TIM (mm) por meio de microscopia óptica, comparada aos métodos de avaliação da espessura da TIM por meio da ultrassonografia bidimensional feita antes da eutanásia (n=3).....	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Anatomia e Histofisiologia das Artérias	16
2.2	Métodos de avaliação da espessura da túnica íntima-média	19
2.3	Enfermidades clínicas com repercussão vascular	23
2.3.1	Aterosclerose	23
2.3.2	Hipotireoidismo	24
2.3.3	Hipertireoidismo	25
2.3.4	<i>Diabetes mellitus</i>	25
2.3.5	Outras enfermidades	26
3	OBJETIVOS	27
4	METODOLOGIA	28
4.1	Animais Avaliados	28
4.1.1	Animais Saudáveis	28
4.1.2	Animais Eutanasiados	29
4.2	Frequência Cardíaca	29
4.3	Pressão Arterial	29
4.4	Ecocardiografia	29
4.5	Exame Ultrassonográfico	30
4.6	Protocolos de mensuração da TIM	31
4.6.1	Mensuração Manual da TIM da Artéria Femoral	31
4.6.2	Mensuração Automática da TIM da Artéria Femoral	33
4.6.3	Mensuração da TIM da Artéria Femoral por Histologia	34
4.7	Análise Estatística	35
4.8	Comparação Intra e Interobservador	37
5	RESULTADOS	38
6	DISCUSSÃO	57
7	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

Os estudos sobre a fisiologia vascular periférica atualmente têm despertado interesse na pesquisa científica da clínica veterinária, pois como já demonstrado em medicina, diversos conceitos são capazes de auxiliar na compreensão das variações da dinâmica de perfusão sanguínea em órgãos e tecidos periféricos. Estes aspectos, muitas vezes, devem-se às influências funcionais neuro-hormonais sistêmicas e do endotélio vascular sobre a regulação da perfusão vascular periférica. Em seres humanos está comprovado que os distúrbios associados à túnica íntima-média (TIM) das artérias, como as arterioscleroses e ateroscleroses, exercem efeitos capazes de influenciar a dinâmica vascular periférica e o débito cardíaco. Também, tem sido observada a presença de alterações na TIM de importante repercussão hemodinâmica em pacientes idosos, obesos e portadores de enfermidades sistêmicas, como o *Diabetes mellitus* (DM) ou com distúrbios associados à tireoide. Uma das consequências de tais alterações é o “enrijecimento” arterial, que favorece o aumento sobre a carga de ejeção ventricular esquerda, o que acaba ao longo do tempo promovendo ou agravando a progressão de algumas doenças cardíacas.

Em animais ainda pouco se sabe a respeito das alterações vasculares decorrentes de diferentes distúrbios clínicos que atuam sobre a dinâmica da perfusão cardiovascular.

Como a artéria femoral é o principal vaso responsável pela perfusão sanguínea muscular do membro pélvico, as modificações sofridas em sua estrutura e função (túnica íntima-média) são plausíveis de estudo, uma vez que podem promover alterações que refletem na dinâmica de perfusão muscular, além de exercer efeitos sobre pós-carga cardíaca.

Atualmente, uma das técnicas utilizadas em medicina, que colabora para determinação da estrutura morfológica arterial, é a ultrassonografia em modo

bidimensional. No entanto, apesar de ser um teste rápido, de custo acessível e com boa reprodutibilidade, não existe padronização da técnica, nem limites de normalidade desta estrutura vascular, o que dificulta a utilização do método na rotina e na investigação clínica veterinária. Desse modo, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar, por meio da ultrassonografia bidimensional, os parâmetros dimensionais da TIM da artéria femoral em cães saudáveis. O conhecimento de tais parâmetros, obtidos por uma técnica de comprovada acurácia em seres humanos, não-invasiva e indolor, permitirá avanços nos escassos conhecimentos existentes até o momento sobre alterações na circulação periférica de cães, decorrentes de diferentes enfermidades clínicas. Além disso, os dados aqui obtidos poderão dar início a projetos futuros e, também, poderão colaborar como subsídio técnico científico para o aprimoramento de estudos fisiopatológicos, relacionados à dimensão da TIM da artéria femoral, na prática clínica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Anatomia e Histofisiologia das Artérias

A artéria femoral comum é a continuação da íliaca externa com base no ligamento inguinal. Ela segue no canal femoral na face medial da coxa, em companhia do nervo safeno, cranialmente, e da veia femoral, caudalmente. A artéria femoral inclina-se ao longo da borda lateral de inserção do músculo adutor, onde é coberta pela porção caudal do músculo semimembranoso (SISSON; GROSSMAN, 1986).

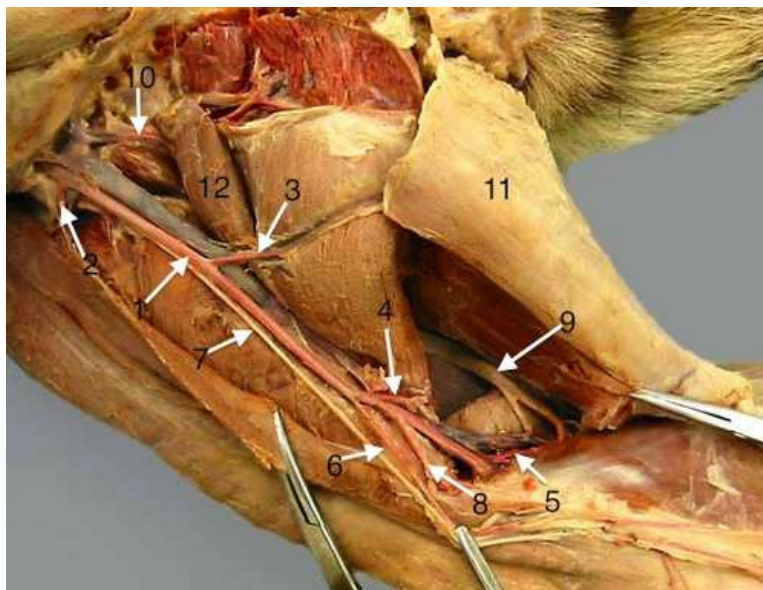


Figura 1 Vista medial de uma peça anatômica do membro pélvico direito de um cão

Legenda: 1: Artéria femoral; 2: Artéria circunflexa lateral; 3: Artéria femoral caudal proximal; 4: Artéria femoral caudal média; 5: Artéria femoral caudal distal; 6: Artéria safena; 7: Nervo safeno; 8: Artéria genicular; 9: Nervo tibial; 10: Femoral circunflexa; 11: Músculo grácil; 12: Músculo Pectíneo.

Fonte: ANATOMY BELLRINGER, 2014.

Os vasos sanguíneos são, normalmente, compostos das seguintes camadas ou túnicas: íntima, média e adventícia (PIGNOLI et al., 1986; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). As artérias musculares de diâmetro médio, como a artéria femoral, possuem a túnica média formada, essencialmente, por células musculares lisas. Nas artérias musculares, a íntima possui uma camada subendotelial um pouco mais espessa do que aquela das arteríolas. A lâmina elástica interna, componente mais externo da íntima, é proeminente e a túnica média pode conter até 40 camadas de células musculares lisas. Estas células são entremeadas por um número variado de lamelas elásticas (dependendo do tamanho do vaso), como também por fibras reticulares e proteoglicanos, todos sintetizados pela própria célula muscular lisa. A lâmina elástica externa, o último componente da túnica média, só está presente nas artérias musculares maiores. A adventícia consiste em tecido conjuntivo frouxo. As artérias musculares podem controlar o fluxo de sangue para todos os órgãos, contraindo ou relaxando as células musculares lisas de sua túnica média (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

As artérias levam sangue com alta pressão para leitos vasculares periféricos. O sistema arterial pode ser funcionalmente (assim como estruturalmente), dividido em dois subsistemas: A) o das grandes artérias elásticas (p. ex. aorta, carótida, ilíacas), onde o sangue é armazenado ao ser ejetado pelo coração, durante a sístole e é lançado para a periferia durante a diástole, assegurando, assim, que a circulação periférica receba um fluxo constante de sangue, durante os dois ciclos cardíacos, que são significativamente diferentes em termos de pressão; B) o das artérias musculares, especialmente aquelas do membro pélvico (p. ex. femoral, poplítea, tibial posterior), as quais são capazes de alterar o seu tônus (estado basal ligeiramente contraído do músculo liso vascular), modulando a velocidade da onda de pressão, que é conduzida a elas com base no maior vaso (SHIRWANY; ZOU, 2010).

Nas grandes artérias elásticas do sistema arterial, há uma região altamente espessa e dominante formada por fibras elásticas. As fibras elásticas estão reunidas em placas dispostas em camadas concêntricas em toda a espessura. Na aorta, estas camadas concêntricas elásticas estão dispostas em cerca de 50 camadas distintas (Figura 2). Em contraste, em uma artéria muscular (p. ex. braquiais, coronárias, ou tibial anterior), as fibras elásticas se limitam a dois anéis circunscritos: (a) da lâmina elástica interna, que faz parte da camada íntima, e (b) da lâmina elástica externa, da adventícia. A interface destes vasos de tamanho intermediário são relativamente espessas e são constituídas por fibras de músculo liso. É o músculo liso da camada média nestes vasos que lhes permite contrair ou dilatar, manter o tônus e, finalmente, regular o fluxo de sangue perto de suas respectivas regiões (SHIRWANY; ZOU, 2010).

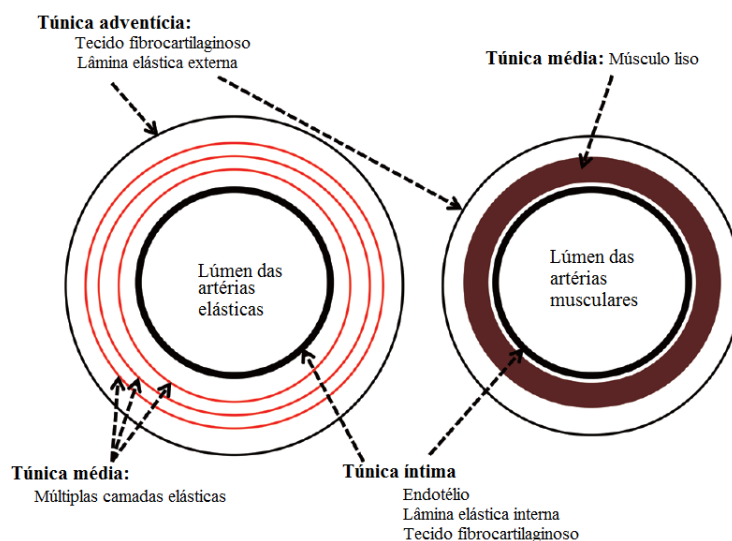


Figura 2 Representação esquemática que demonstra comparativamente as diferenças das camadas elásticas da túnica média de artérias elásticas (p.ex. aorta) e de artérias musculares (p.ex. femoral)

Fonte: Shirwany; Zou (2010).

2.2 Métodos de avaliação da espessura da túnica íntima-média

Em humanos, determinações mais precisas das propriedades elásticas da aorta e das grandes artérias, incluindo medidas angiográficas, ecocardiografia, medidas ultrassonográficas da aorta abdominal e do diâmetro carotídeo, ressonância nuclear magnética, angiografia radioisotópica e velocidade de onda de pulso, têm mostrado associações com eventos cardiovasculares e, também, com aterosclerose coronária (BORTOLOTTI, 2004).

De acordo com Takamura et al. (2009), avanços tecnológicos, como a ultrassonografia em modo bidimensional e de alta resolução, possibilitam o acesso não invasivo para quantificação da rigidez arterial e têm demonstrado a importância da TIM da artéria carótida na avaliação de alterações cardiovasculares. Os princípios e a validação da ultrassonografia modo bidimensional para avaliação da TIM foram descritos pela primeira vez por Pignoli et al. (1986). Nas artérias, o ultrassom permite a visualização de duas linhas ecogênicas (brilhantes) criadas pela interface entre a luz arterial e a túnica íntima, e entre a túnica média e a adventícia (WENDELHAG et al., 1991). O espaço compreendido entre essas duas linhas corresponde à soma das túnicas íntima e média e pode ser identificado tanto na parede proximal ao transdutor, quanto na parede distal, mais afastada do transdutor no vaso examinado (Figuras 3, 4 e 5). A reprodutibilidade das medidas da TIM depende do segmento avaliado, da espessura total medida (STENSLAND-BUGGE; BONAA; JOAKIMSEN, 1997) e do tipo de aferição realizada, automática ou manual (GRAF; GARIÉPY, 1999). Tem-se sugerido que a variabilidade da medida é menor quando se determina a espessura média do segmento distal da túnica íntima-média da artéria carótida comum em mais de uma direção (longitudinal e transversal). Além disso, grande parte da variabilidade na medida é causada por

diferenças entre observadores, enquanto a intraobservador parece ser menor (STENSLAND-BUGGE; BONAA; JOAKIMSEN, 1997).

De acordo com o Consenso de Mannheim (TOUBOUL et al., 2004), a análise da mensuração da TIM depende de um equipamento padrão, que inclui um sistema em modo bidimensional de alta resolução operacional com transdutores de ultrassom, preferencialmente lineares em frequências acima de 7 MHz. Configurações de profundidade de foco apropriado (por exemplo, 30-40 mm), taxa de frames (115 Hz), e configurações de rendimento (artefatos intraluminais mínimos) são recomendados para obter a melhor qualidade de imagem. Vários procedimentos de averiguação são usados como segue. Primeiro, os segmentos da parede arterial devem ser avaliados em um plano longitudinal, perpendicular ao feixe de ultrassom, com ambas as paredes claramente visualizadas, a fim de alcançar medições de diâmetro. A incidência lateral do transdutor é a mais recomendada, pois oferece a melhor visualização no campo central, em que a resolução é conhecida, por ser superior à da área próxima ou distante. Segundo, a TIM deve ser medida de preferência na parede oposta, distal ao transdutor do ultrassom. Isto porque os valores de TIM da parede mais próxima ao transdutor dependem, em parte, de configurações de rendimento e são menos confiáveis. Terceiro, para reproduzir medições seriadas ao longo de um segmento arterial de 10 mm de comprimento, é necessária a aquisição de imagens de alta qualidade.

O método realizado com Rádio Frequência, *Quality Intima Media Thickness* [Qualidade da Espessura Íntima-Média] (QIMT), baseado na análise direta do sinal de radiofrequência, esta técnica é o padrão ouro para a mensuração, em tempo real, da espessura íntima-média da parede do vaso com alta precisão e reprodutibilidade, indicada para detecção precoce de doenças cardiovasculares (p. ex. diabetes, hipercolesterolemia, hipertensão etc) e para a detecção precoce de aterosclerose (PALOMBO, 2012).

Mensuração da TIM de artérias periféricas, por meio de ultrassonografia, pode revelar uma fase precoce da aterosclerose e pode prever futuras alterações cardiovasculares em humanos. Além disso, Takamura et al. (2009) revelaram que a TIM, em pacientes com hipotireoidismo, eram maiores quando comparadas à TIM de pacientes com função tireoide a normal.

Estas técnicas permitem o estudo do estado arterial e a sua remodelação fisiológica ou patológica (geométrica ou funcional). Além disso, estas novas técnicas são muito promissoras para a detecção subclínica de placas de ateroma e do grau de infiltração da parede arterial medindo a espessura da TIM, a rigidez arterial e do grau de disfunção endotelial pela vasodilatação mediada pelo fluxo (CASTELLON; BOGDANOVA, 2013).

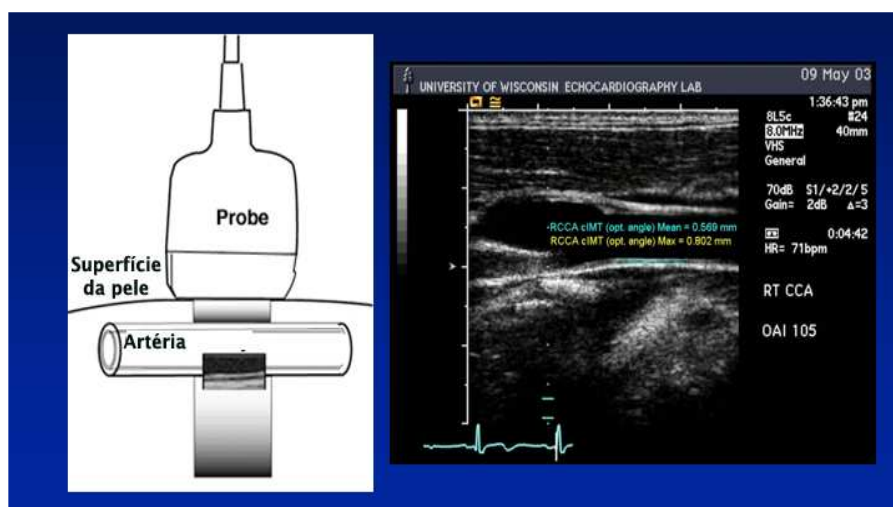


Figura 3 À esquerda: representação esquemática do transdutor ultrassonográfico posicionado sobre a artéria para a obtenção da imagem. À direita: imagem ultrassonográfica em modo bidimensional associada à rádio frequência (QIMT), demonstrando a obtenção da medida da TIM (abreviada como cIMT)

Fonte: adaptado Matos-Souza (2013).

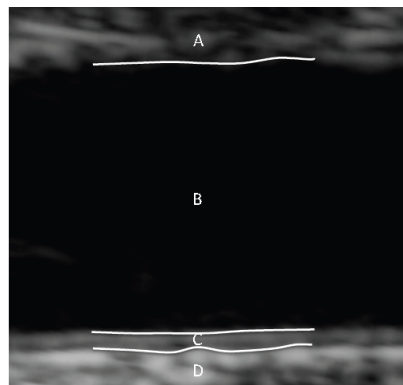


Figura 4 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional. A: parede proximal do vaso; B: lúmen; C: túnica íntima-média (parede distal); D: túnica adventícia

Fonte: Reis (2013)

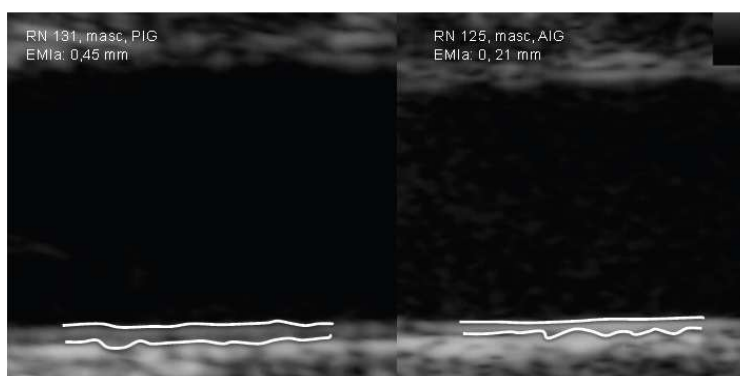


Figura 5 Imagens ultrassonográficas em modo bidimensional demonstrando a região da TIM (contornada por linhas brancas) da parede arterial, e suas respectivas medidas (EMIA) em milímetros (mm)

Fonte: Reis (2013)

García-Ortiz et al. (2009) demonstraram existir em humanos uma correlação positiva do espessamento da TIM com a hipertensão arterial sistêmica ($r = 0,27$). Em outro estudo, Lim et al. (2009) confirmaram esta informação estudando adolescentes, na faixa etária de 15 anos, que apresentavam

hipertensão arterial não sintomática e espessamento da TIM, constatado pelo estudo ultrassonográfico da carótida externa dos mesmos. Desse modo, as técnicas de diagnóstico por imagem, de caráter não invasivo, para avaliação da TIM, permitiram o diagnóstico precoce, indolor e de custo acessível, possibilitando prever o prognóstico clínico após intervenção terapêutica e fizeram com que a utilização da ultrassonografia, associada à ferramenta de leitura pela radiofrequência, ganhasse destaque (HURST et al., 2007).

2.3 Enfermidades clínicas com repercussão vascular

As doenças vasculares periféricas em pacientes humanos são comumente relacionadas ao desenvolvimento de eventos cardiovasculares, predisponentes de complicações clínicas importantes, como formação de trombos arteriais, acidente vascular encefálico e infarto no miocárdio (LITWIN; NIEMIRSKA, 2009).

2.3.1 Aterosclerose

A aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica, relacionada com a idade, tendo uma fase assintomática lenta e longa. Dados recentes mostram que ela começa a se desenvolver no início da vida e se manifesta, clinicamente, em uma fase relativamente avançada na idade do paciente humano (CASTELLON; BOGDANOVA, 2013).

É possível que os diversos mecanismos existentes para a associação entre lipídios plasmáticos e rigidez arterial envolvam situações e fatores de risco concomitantes, como o desenvolvimento de placas ateroscleróticas, estresse oxidativo, inflamação local e sistêmica, disfunção endotelial, baixa biodisponibilidade de óxido nítrico e ação de endotelinas (PIZZI et al., 2013).

Em cães, Haidet et al. (1996) demonstraram que a idade é um fator responsável por alterações estruturais em artérias periféricas, uma vez que os animais idosos apresentaram complacência diminuída na rede femoral (HAIDET et al., 1996). Outro estudo postulou que a arteriosclerose coronária pode ter sido a causa de infarto em 51 dos 65 cães com isquemia cardíaca avaliados (FALK; JÖNSSON, 2000).

2.3.2 Hipotireoidismo

Outro fator relacionado ao espessamento da TIM em seres humanos envolve os hormônios produzidos pela tireoide (CINI et al., 2009; ICHIKI, 2010). A cardiomiopatia dilatada pode ocorrer associada ao hipotireoidismo (SCOTT-MONCRIEFF et al., 2007; CINI et al., 2009).

Os hormônios tireoidianos desempenham uma grande variedade de funções metabólicas no organismo. Dentre os vários órgãos e sistemas acometidos pelo hipotireoidismo, pode-se destacar o coração, que apresenta uma sensibilidade particular à ação dos hormônios tireoidianos. Em humanos, o hipotireoidismo está associado ao aumento da resistência vascular sistêmica, à disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, que por sua vez é responsável pelo atraso no relaxamento, diminuindo a pré-carga cardíaca e aumentando a pós-carga com conseqüente redução do volume sistólico (CINI et al., 2009).

Em pacientes humanos hipotireoideos, submetidos ao tratamento com levotiroxina sódica (T4 sintético), foi observada a redução do aumento na espessura da TIM (NAGASAKI et al., 2005). As alterações na elasticidade da parede arterial podem ocorrer antes ou durante o estágio precoce da aterosclerose e, em conseqüência, podem levar ao grave detrimento da função ventricular e perfusão coronária (ICHIKI, 2010).

A aterosclerose, também, apresentou alta incidência em um estudo *post-mortem* de cães com hipotireoidismo (HESS; KASS; VAN WINKLE, 2003).

2.3.3 Hipertireoidismo

O hipertireoidismo está relacionado a um estado hiperdinâmico cardiovascular, incluindo taquicardia, hipertensão arterial sistêmica, aumento na contração e relaxamento do ventrículo esquerdo, além da fibrilação atrial. Alternado desta forma, o perfil do fluxo sanguíneo local aumenta a força de atrito entre as lâminas do sangue e a parede arterial, favorecendo o cisalhamento endotelial e, conseqüentemente, as arterioescleroses (HASHIMOTO; ITO, 2010; ICHIKI, 2010).

De acordo com Norsworthy e Crystal (2011), o hipertireoidismo é a principal endocrinopatia presente em felinos, visto que entre 20% a 85% dos animais desenvolvem hipertensão arterial.

2.3.4 *Diabetes mellitus*

A presença de *Diabetes mellitus* (DM) é um fator de risco independente para doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, doença vascular periférica (DVP) e insuficiência cardíaca, que são as principais causas de morte nos pacientes humanos. O risco de desenvolver isquemia crítica dos membros com DVP, associada ao DM, é a principal causa de amputação não traumática de membros inferiores nos Estados Unidos (TRICHES; SCHAAN, 2009). Além do aumento da frequência de DVP, o DM afeta a distribuição da aterosclerose nos membros inferiores, atingindo tipicamente as artérias tibiais, peroneais, femorais e poplíteas. Ainda, as lesões ateroscleróticas nos pacientes diabéticos

apresentam calcificações vasculares com maior frequência do que nos pacientes não diabéticos (ASSOCIATION, 2003).

Considerando-se o conceito de risco cardiovascular global, pacientes humanos com DM, mesmo sem doença aterosclerótica estabelecida, apresentam risco elevado de desenvolver eventos vasculares no futuro. Este dado determinou que o DM passasse a ser considerado como um “equivalente de doença cardiovascular estabelecida” (TRICHES; SCHAAN, 2009). Hoje em dia, a disponibilidade de ultrassom intravascular pôde confirmar que os humanos com DM têm placas ateroscleróticas maiores e mais vulneráveis do que aquelas de pacientes não diabéticos, achado este capaz de prever eventos cardiovasculares em longo prazo (KIM et al., 2009).

Em cães, aterosclerose espontânea tem sido relatada *post-mortem* em casos de DM e, principalmente, em razão do desenvolvimento de distúrbios relacionados à hipercolesterolemia (HESS; KASS; VAN WINKLE, 2003).

2.3.5 Outras enfermidades

Em humanos as doenças vasculares estão associadas a diferentes situações clínicas, como uremia (LONDON, 2005), e com doenças inflamatórias crônicas, independente da presença de aterosclerose, mas, sim, com a duração da doença e da presença de mediadores inflamatórios, que estimulam a produção de interleucinas (ROMAN et al., 2005).

3 OBJETIVOS

- a) Avaliar a aplicação clínica da ultrassonografia bidimensional e obter a espessura da TIM da artéria femoral de cães saudáveis, pelos métodos manual e automático (QIMT);
- b) Verificar a reprodutibilidade das medidas ultrassonográficas determinadas pelo método manual (transversal e longitudinal);
- c) Verificar a precisão de cada método ultrassonográfico, por meio da comparação das medidas da espessura da TIM encontradas, com as conseguidas em histologia, por microscopia ótica, considerando um estudo amostral.

4 METODOLOGIA

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFLA, em 28/07/2013, sob protocolo nº 040/13 (anexo).

4.1 Animais Avaliados

Utilizamos um total de 27 cães, adultos, macho e fêmeas, com mais de 15 kg de peso corporal que foram atendidos no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Lavras.

Dente estes 27 cães, 3 foram submetidos a eutanásia por recomendação médica, utilizamos os dados ultrassonográficos destes animais ainda em vida, para comparação da histologia da artéria femoral dos mesmos e verificar a acurácia das medidas obtidas.

4.1.1 Animais Saudáveis

Os dados foram obtidos de 24 cães saudáveis, adultos, machos e fêmeas, com mais que 15 kg de peso corporal que foram atendidos no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Lavras. Para a definição da homeostase corporal, todos os animais foram avaliados por meio de anamnese, hemograma, dosagem sérica de glicose, colesterol e triglicérides, eletrocardiografia e ecocardiografia. Foi obtido o consentimento do proprietário para a inclusão de seu animal no estudo.

4.1.2 Animais Eutanasiados

Foram utilizados 3 artérias femorais do membro direito de cães que foram submetidos à eutanásia por recomendação médica (positivos para Leishmaniose), para comparação da histologia com os métodos ultrassonográficos manual automático, manual transversal e automático.

4.2 Frequência Cardíaca

A frequência cardíaca foi obtida por eletrocardiografia sincrônica no momento da realização do exame ultrassonográfico. Os cães que apresentaram arritmias cardíacas patológicas foram excluídos da coleta de dados do experimento.

4.3 Pressão Arterial

As pressões sanguíneas sistólica, diastólica e média foram obtidas em todos os cães, por meio do método indireto oscilométrico, como recomendado por Brown e Henik (1998). Pelo menos três medidas de cada variável foram obtidas e a média foi calculada.

4.4 Ecocardiografia

O exame ecocardiográfico foi realizado em todos os animais sem qualquer tipo de sedação ou anestesia em modos bidimensional, M, Doppler pulsado, contínuo, por mapeamento de fluxo em cores. Foram quantificadas as estruturas anatômicas das câmaras cardíacas e das cúspides das valvas cardíacas, foi verificada a presença de efusão pericárdica, além do cálculo de índices

sistólicos e diastólicos conforme as recomendações de Boon (2011), para determinar se os animais estavam saudáveis. Foi utilizado um aparelho de ultrassonografia (MyLab 40, Esaote®), com transdutores de varredura setorial eletrônica e com acompanhamento eletrocardiográfico no monitor.

4.5 Exame Ultrassonográfico

As medidas da TIM da artéria femoral foram realizadas, utilizando equipamento de ultrassonografia (MyLab 40, Esaote®), com Doppler pulsado bidirecional, com base em um transdutor linear eletrônico de 10Mhz de frequência. Foi avaliada sempre a primeira porção (1 – 2 cm distal da origem) da artéria femoral direita com tricotomia da região avaliada sempre que necessário (Figura 6).

O lúmen da artéria femoral foi observado como área anecogênica, limitado por linhas hipoecogênicas referente à parede arterial. O Doppler em cores foi utilizado para confirmar a presença e a direção do fluxo sanguíneo, além da dimensão arterial e o ponto de bifurcação da artéria femoral em superficial e profunda.



Figura 6 Posicionamento do transdutor linear para a realização da ultrassonografia bidimensional da artéria femoral direita de um cão

4.6 Protocolos de mensuração da TIM

A TIM da artéria femoral direita foi avaliada por quatro métodos distintos:

- a) Método Manual em corte longitudinal
- b) Método Manual em corte transversal
- c) Método Automático (QIMT)
- d) Histologia da Artéria Femoral

4.6.1 Mensuração Manual da TIM da Artéria Femoral

O operador localizou, por meio da ultrassonografia bidimensional, o ponto de medição da TIM da artéria femoral direita na sua primeira porção (1 – 2 cm distal da sua origem), onde o transdutor linear foi mantido em um ângulo de 90° e paralelo em relação ao corte longitudinal do vaso. O controle de zoom

do equipamento de ultrassom foi ajustado para 2 cm de profundidade, com o objetivo de obter a melhor qualidade de imagem bidimensional das paredes vasculares e da TIM. Esta técnica foi utilizada em todos os animais para a obtenção das medidas manuais da TIM em corte longitudinal.

Após a localização do corte longitudinal da artéria femoral, o transdutor foi girado em 90° em relação ao seu próprio eixo, e imagens em corte transversal da artéria foram registradas. Em cada um dos eixos, a TIM foi identificada na parede arterial distal em relação ao transdutor. As imagens obtidas em cada uma destas posições foram congeladas e armazenadas para posterior medição manual “offline”.

Na avaliação “offline”, o observador elegeu até três imagens da artéria femoral que apresentassem melhor visualização da TIM, tanto para o corte longitudinal como para o corte transversal. Primeiro, o observador elegeu o vaso em corte longitudinal e a TIM foi medida pela técnica manual com os “cursors” disponibilizados pelo software de medidas do MyLab 40-ESAOTE. Os cursores foram posicionados nos limites (bordas) visualizados da TIM distal. Foi utilizado o método de Sidhu e Desai (CASELLA et al., 2008). Pelo menos três pontos da TIM foram medidos na túnica distal. Em cada ponto foram obtidas duas medidas, perfazendo o total de seis medições. A média das seis aquisições foi, então, calculada. Em seguida, a medida da TIM foi efetuada na túnica distal na imagem da artéria femoral em corte transversal. O valor médio da TIM no corte transversal foi obtido como descrito para corte longitudinal.

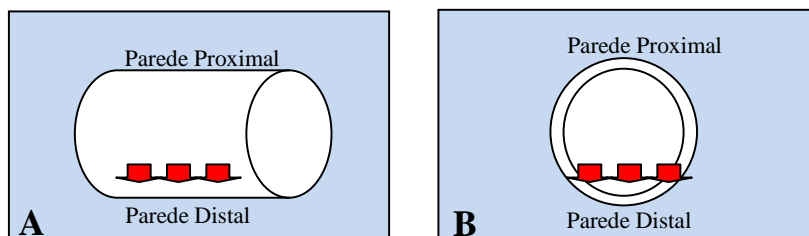


Figura 7 Representação esquemática dos locais de medição da túnica distal (setas vermelhas) da TIM na artéria femoral direita. **A**, Corte Longitudinal; **B**, Corte Transversal

4.6.2 Mensuração Automática da TIM da Artéria Femoral

O operador ajustou o ponto da área de medição automatizado na mesma porção da artéria femoral em que obteve as medidas manuais (1 – 2 cm distal da sua origem). O transdutor linear foi mantido em um ângulo de 90° e paralelo em relação ao vaso. O Doppler em cores foi utilizado para confirmar a presença e direção do fluxo sanguíneo, a dimensão arterial e o ponto de bifurcação da artéria femoral em superficial e profunda. O controle de zoom do equipamento de ultrassom foi ajustado entre 2 e 4 cm de profundidade, com o objetivo de obter a melhor qualidade de imagem bidimensional das paredes vasculares e da TIM. Em seguida, o operador ativou o software de medidas QIMT-ESAOTE. Duas linhas ao longo dos limites da parede da artéria femoral foram automaticamente desenhadas pelo software, delimitando o diâmetro do vaso. A porção referente aos limites da TIM, em sua parte distal em relação ao transdutor, foi automaticamente reconhecida e medidas automatizadas por radiofrequência foram registradas em modo “online” de vários pontos da TIM selecionados pelo referido software. A média da espessura da TIM foi calculada com base em seis medidas automaticamente obtidas. Esta técnica (QIMT) foi utilizada em todos os animais para a obtenção das medidas automáticas da TIM,

em corte longitudinal. As imagens obtidas com as referidas medidas foram congeladas e armazenadas para posterior avaliação “offline”.

4.6.3 Mensuração da TIM da Artéria Femoral por Histologia

Com o objetivo de obter medidas de referência para a determinação do tamanho da TIM e verificar a precisão dos diferentes métodos ultrassonográficos empregados neste estudo, foram utilizadas as artérias femorais direitas de três animais [aproximadamente 10% do total de animais utilizados em todo o experimento (n=24)] submetidos, por recomendação médica (positivos à Leishmaniose), à eutanásia. Para comparação com os métodos ultrassonográficos anteriormente descritos, previamente à eutanásia, as medidas da TIM da artéria femoral direita destes três animais foram obtidas de modo idêntico ao descrito anteriormente para os métodos manual e automático (QIMT). Seis medidas da TIM foram tomadas pelo QIMT para serem comparadas com as medidas obtidas na histologia da parede da artéria femoral. Logo após a obtenção das medidas da TIM pelo QIMT, a eutanásia foi realizada, por meio de aprofundamento anestésico com tiopental sódico na dose mínima de 15mg/kg de peso vivo, seguida da administração de cloreto de potássio até a indução de parada cardíaca sob auscultação. Após a eutanásia, a porção inicial da artéria femoral direita (1 – 2 cm distal da sua origem), avaliada pela ultrassonografia, foi excisada, mantida em formol 10% e enviada para análise histológica da TIM por microscopia óptica. As peças foram coradas com hematoxilina-eosina e avaliadas em objetiva de 20 vezes. Cada porção da TIM sofreu, então, seis medições na histologia.

4.7 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS, Microsoft Windows. O teste estatístico de Shapiro-Wilk foi utilizado para a comparação das variáveis estudadas de acordo com o tipo de distribuição de normalidade (paramétrico ou não paramétrico). Foi avaliada a influência do sexo sobre as medidas ultrassonográficas da TIM mensuradas pelo método manual e automático. Para as comparações entre machos (n=12) e fêmeas (n=12) utilizou-se o teste T, para amostras independentes, para as variáveis normais. Para as variáveis sem distribuição normal, utilizou-se o teste de Mann-Whitney, sendo, portanto, o contraste das variáveis realizado com o valor da mediana. Os resultados das variáveis estão apresentados em tabelas de modo descritivo.

Para a comparação das medidas da espessura da TIM, obtidas entre os métodos manual longitudinal (LONG), transversal (TRANSV) e automático (QIMT), por meio da ultrassonografia (n=24), foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

Para determinar a precisão dos métodos ultrassonográficos (manual e automático) de avaliação da TIM, utilizou-se como referência, para a determinação do tamanho da TIM, a análise histopatológica (HIST), que foi considerada a mais confiável para a estimativa da TIM. Dessa maneira, compararam-se seis medidas da TIM, obtidas de cada artéria pela ultrassonografia pelos diferentes métodos, com seis medidas da TIM efetuadas na HIST da artéria femoral de cada cão eutanasiado (n=3). Assim, as comparações estabelecidas foram HIST x QIMT, HIST x LONG e HIST x TRANSV. Em virtude da pequena repetição de amostras, os procedimentos estatísticos adotados foram análise de variância de medidas repetidas, com comparação entre as medianas, pelo teste de comparações múltiplas de Friedman (ALTMAN, 1990).

Pelo método de concordância de Bland e Altman (1986) permitiu-se estabelecer a diferença média, os intervalos de concordância e o coeficiente de repetibilidade dos resultados relacionados à espessura da TIM, obtidos por duas técnicas diferentes.

O método de Bland e Altman (1986) é um procedimento estatístico e gráfico, para comparação de duas medidas repetidas da mesma variável, usados para mensuração de variáveis clínicas. O procedimento é o seguinte: calcula-se a diferença entre as medidas obtidas pelos dois métodos e a média e o desvio padrão dessas diferenças. Caso os valores das diferenças tenham distribuição normal, é esperado que 95% dos valores da diferença fiquem entre a média ± 2 SD. Esse intervalo é chamado de “limite de concordância”. Para obter o coeficiente de repetibilidade (CR), foi utilizada a seguinte fórmula: Desvio Padrão das diferenças multiplicado por dois, o que mostra a variação nos resultados esperados para as medições repetidas.

Os limites clinicamente aceitáveis foram definidos como menos de 0,10 mm de variação da TIM, conforme sugerido por Freire et al. (2009). Caso a faixa de variação desse intervalo seja maior que os valores limites estabelecidos, conclui-se não haver concordância entre os dois métodos. Com o exame visual do gráfico gerado, observa-se a dispersão dos dados. Caso os dois métodos sejam concordantes, os valores da diferença entre os dois situam-se próximos ao valor zero (BLAND; ALTMAN, 1986). As análises pelo método de Bland e Altman (1986) foram realizadas com o pacote de análises estatísticas MedCalc (Mariakerke, Bélgica). Em todos os testes do presente estudo a significância foi estabelecida em $p < 0,05$.

4.8 Comparação Intra e Interobservador

Para a comparação estatística interobservadores, os parâmetros relacionados às medidas manuais da TIM (n=24) analisados foram mensurados outra vez por outros dois observadores, sendo um deles responsável pelas medidas longitudinais e o outro pelas medidas transversais. Para isso, utilizaram-se as imagens armazenadas “offline”. Para a comparação estatística intraobservador, uma amostragem de 10 cães, do total de animais estudados (n=24), teve a TIM da artéria femoral em sua porção distal avaliada em dois momentos distintos (intervalo de cerca de 15 dias) pelo mesmo observador, pelas técnicas manuais (corte longitudinal e transversal).

O teste de correlação de Spearman e o método de concordância de Bland & Altman permitiram estabelecer os valores da diferença entre as observações e os intervalos de concordância entre os resultados relacionados à espessura da TIM, obtidas pelas comparações nas diferentes observações.

5 RESULTADOS

As raças incluídas no estudo estão apresentadas na Tabela 1. Os dados referentes à descrição estatística das características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, Pressão Arterial Sistólica [PAS], Pressão Arterial Diastólica [PAD] e Pressão Arterial Média [PAM]) estão apresentados na Tabela 2 e das variáveis estudadas correspondentes aos diferentes métodos de avaliação da espessura da TIM (mm), por meio da ultrassonografia bidimensional (n=24), na Tabela 3. A imagem ultrassonográfica, em modo bidimensional, demonstrando os limites da artéria femoral e a obtenção da medida da TIM pelo método manual em corte longitudinal e transversal está demonstrada nas Figuras 8 e 9, respectivamente. A medida da TIM obtida pelo método automático (QIMT) em corte longitudinal está demonstrada na Figura 10.

Não foram encontradas correlações significativas entre as medidas da TIM avaliadas pelos diferentes métodos e as diferentes variáveis estudadas (peso, idade, glicemia, colesterol, triglicerídeos, PAS, PAD e PAM).

A comparação entre os métodos manual (longitudinal e transversal) e automático (QIMT) de avaliação da espessura da TIM, por meio da ultrassonografia (n=24), apresentou diferença significativa ($p < 0,001$). Os valores da mediana da TIM, medida pelo método manual no corte longitudinal, foram maiores que os da TIM, medida pelo método manual no corte transversal, que foi maior que a TIM obtida pelo QIMT, respectivamente (Figura 11).

De todos os animais avaliados (n=24), doze foram machos e 12 foram fêmeas. Os dados da estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, PAS, PAD e PAM) dos cães saudáveis machos (n=12) e das fêmeas (n=12) estão apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Os dados da estatística descritiva correspondente aos diferentes métodos de avaliação da espessura da TIM (mm), por meio da ultrassonografia bidimensional em machos (n=12) e fêmeas (n=12), estão na Tabela 6. Não se observou diferença estatística entre as medidas da TIM entre machos (n=12) e fêmeas (n=12), realizadas pelo manual longitudinal ($p=0,954$), transversal ($p=1,000$) e QIMT ($p=0,273$) (Figura 12).

Em relação às associações entre as medidas dos dois observadores, houve correlação estatisticamente significativa entre as medidas da TIM no corte longitudinal e no corte transversal, com coeficiente de correlação ($r=0,641$ e $p=0,001$) e ($r=0,445$ e $p=0,029$), respectivamente. A diferença entre as medidas da TIM no corte longitudinal obtidas pelos dois observadores foi de apenas 0,02 mm e o intervalo de concordância variou de 0,04 a -0,07mm, sugerindo alta concordância entre eles (Gráfico 1). Na comparação das medidas da TIM no corte transversal, obtidas pelos dois observadores, a diferença entre eles foi de apenas -0,01 mm e o intervalo de concordância variou de 0,06 a -0,09mm, sugerindo alta concordância entre eles (Gráfico 2).

Nas associações entre as medidas dos dois momentos de um mesmo observador, houve correlação estatisticamente significativa entre as medidas da TIM no corte longitudinal e no corte transversal, com coeficiente de correlação ($r=0,765$ e $p=0,001$) e ($r=0,865$ e $p<0,001$), respectivamente. A diferença entre as medidas da TIM no corte longitudinal obtidas nos dois momentos foi de apenas 0,01 mm e o intervalo de concordância variou de 0,05 a -0,04mm, sugerindo alta concordância entre eles (Gráfico 3). Na comparação das medidas da TIM no corte transversal, obtidas nos dois momentos, a diferença entre eles foi de apenas 0,005 mm e o intervalo de concordância variou de 0,04 a -0,03mm, sugerindo alta concordância entre eles (Gráfico 4).

Imagens histológicas da artéria femoral dos animais (n=3) submetidos à eutanásia estão apresentadas na Figura 13. Os dados da estatística descritiva

correspondente a tal estudo amostral comparados com a histologia da TIM (mm), por meio de microscopia óptica, para avaliar a precisão dos diferentes métodos ultrassonográficos empregados neste estudo, obtidos antes da eutanásia, estão apresentados na Tabela 7. A comparação estatística entre os métodos HIST x TRANSV, HIST x LONG e HIST x QIMT não apresentou diferença estatística ($p=0,789$). Desse modo, a próxima etapa foi analisar o intervalo de concordância de cada um dos dois métodos comparados. A diferença média entre a medida histológica da TIM da artéria femoral e a avaliação ultrassonográfica em corte longitudinal (HIST x LONG) foi de apenas $-0,01\text{mm}$, e o intervalo de concordância variou de $0,06$ a $-0,08$ mm, sugerindo alta concordância entre eles (Gráfico 5). Já, a diferença entre a medida histológica da TIM da artéria femoral e a avaliação ultrassonográfica em corte transversal (HIST x TRANSV) foi muito próxima a zero; porém, o intervalo de concordância variou de $0,14$ a $-0,14\text{mm}$, sugerindo baixa concordância entre eles (Gráfico 6). A média da diferença entre as medidas da histologia e da TIM no QIMT foi muito próxima a zero; porém, o intervalo de concordância variou de $0,12$ a $-0,11\text{mm}$, sugerindo baixa concordância entre eles (Gráfico 7).

Tabela 1 Distribuição das raças de cães incluídas no estudo realizado (n=24)

Raça	Total
Sem Padrão Racial Definido	7
Boxer	6
Labrador Retriever	4
Shar Pei	2
Australian Cattle Dog	1
Bernese Mountain Dog	1
Dálmata	1
American Pit Bull Terrier	1
Rottweiler	1
Total	24

Tabela 2 Estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, Pressão Arterial Sistólica [PAS], Pressão Arterial Diastólica [PAD] e Pressão Arterial Média [PAM]) de todos os cães saudáveis avaliados por meio da ultrassonografia bidimensional (n=24)

Estatística	Peso (Kg)	Idade (anos)	Glicemia (mg/dl)	Triglic. (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)
Média	25,75	4,27	98,79	107,33	206,21	137,85	84,80	106,67
Desvio Padrão	1,33	0,43	4,13	10,64	13,03	2,56	3,54	3,38
Interv. Inferior	22,99	3,37	90,23	85,31	179,24	132,54	77,47	99,68
Confiança 95% Superior	28,51	5,16	107,34	129,36	233,18	143,16	92,12	113,67
Mínimo	15,50	1,00	46,00	50,00	50,00	115,00	48,00	73,50
Máximo	44,00	8,00	128,00	267,00	300,00	154,00	107,00	135,00
25%	20,62	2,25	92,75	81,25	170,25	125,35	68,00	91,50
Quartil Mediana	24,50	4,00	102,00	97,50	192,00	141,00	92,00	109,50
75%	28,75	5,75	111,00	117,00	239,75	147,45	100,30	119,22
Coef. Variação %	5,16	10,00	4,18	9,91	6,32	1,86	4,17	3,17

Tabela 3 Estatística descritiva correspondente aos diferentes métodos de avaliação da espessura da TIM (mm) por meio da ultrassonografia bidimensional (n=24)

Estatística	Métodos		
	Manual		Automático
	Longitudinal (mm)	Transversal (mm)	QIMT (mm)
Média	0,35	0,34	0,30
Desvio Padrão	0,03	0,03	0,05
Interv. Confiança 95%			
Inferior	0,34	0,32	0,28
Superior	0,37	0,35	0,32
Mínimo	0,30	0,30	0,20
Máximo	0,43	0,43	0,37
Quartil			
25%	0,33	0,31	0,26
Mediana	0,35	0,33	0,29
75%	0,38	0,37	0,34
Coef. Variação %	8,57	8,82	16,66

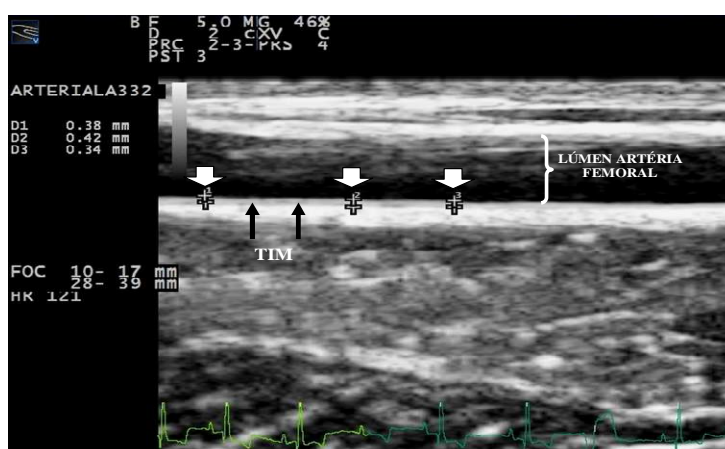


Figura 8 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional demonstrando os limites da artéria femoral e a obtenção da medida da TIM em um cão. Observar (setas estreitas e pretas) indicando a TIM e as (setas brancas e largas) indicando os cursores mensurando a espessura da TIM, e as respectivas medidas em milímetros (mm) apresentadas no canto superior esquerdo (D1, D2 e D3)

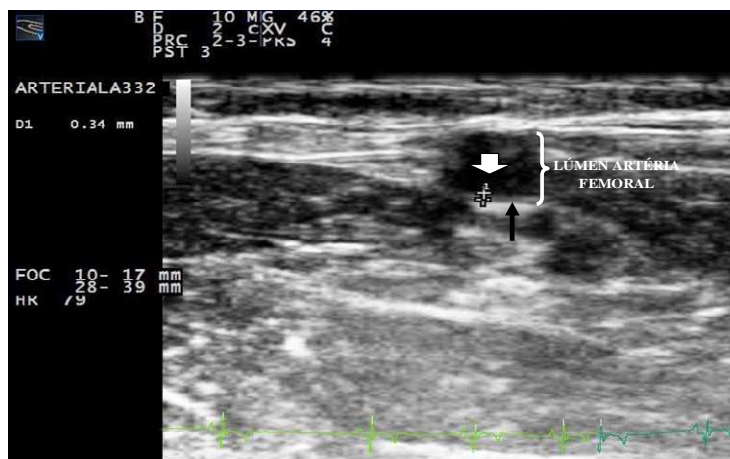


Figura 9 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional demonstrando os limites da artéria femoral (corte transversal) e a obtenção da medida da TIM em um cão. Observar (setas estreitas e pretas) indicando a TIM e as (setas brancas e largas) indicando os cursores mensurando a espessura da TIM, e a respectiva medida em milímetros (mm) apresentada no canto superior esquerdo (D1)

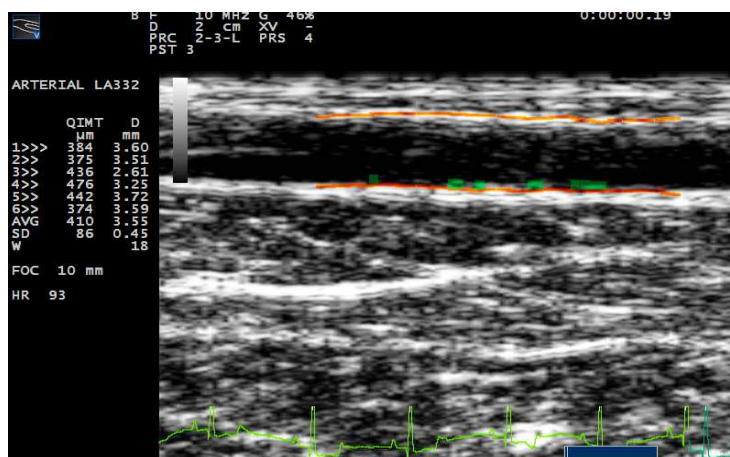


Figura 10 Imagem ultrassonográfica em modo bidimensional associada à radiofrequência (QIMT) demonstrando os limites da artéria femoral (corte longitudinal) e a obtenção da medida da TIM em um cão. Observar (linhas vermelhas) indicando a delimitação da parede da artéria femoral e a emissão da radiofrequência (pontos verdes) mensurando a espessura da TIM (Software QIMT – ESAOTE®)

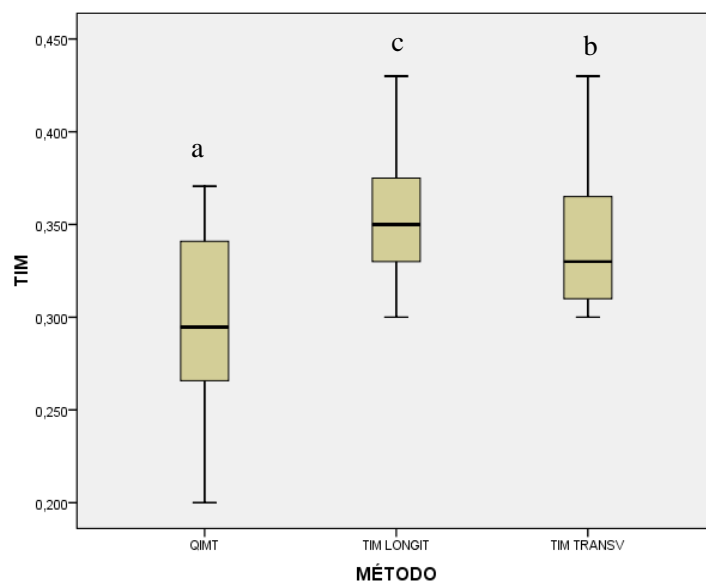


Figura 11 Diagramas de caixa (box-plot) demonstrando diferenças na comparação entre os métodos manual (longitudinal e transversal) e automático (QIMT) da espessura da TIM, em milímetros, da artéria femoral direita em cães (n=24). TIM – Medidas da Túnica íntima-média em milímetros; QIMT – Método de quantificação automático da TIM (Software – Esaote[®]); TIM LONGIT – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte longitudinal; TIM TRANSV – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas

Tabela 4 Estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, PAS, PAD e PAM) dos cães saudáveis machos avaliados por meio da ultrassonografia bidimensional (n=12)

Estatística Machos	Peso (Kg)	Idade (anos)	Glicemia (mg/dl)	Triglic. (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)
Média	26,78	3,87	94,75	87,83	182,50	139,28	86,35	107,90
Desvio Padrão	7,30	2,11	26,27	25,74	55,01	11,75	16,20	14,89
Interv. Inferior	22,14	2,53	78,05	71,47	147,55	131,81	76,05	98,43
Confiança 95% Superior	31,42	5,21	111,44	104,19	217,45	146,75	96,64	117,36
Mínimo	15,50	1,00	46,00	50,00	50,00	119,40	60,40	81,80
Máximo	44,00	8,00	126,00	127,00	276,00	152,00	107,00	130,00
25%	24,00	2,00	77,50	70,00	168,00	127,00	67,50	92,55
Quartil Mediana	25,65	4,00	102,00	82,50	178,50	143,00	92,00	111,00
75%	28,45	4,75	111,75	109,25	223,25	149,40	99,75	118,75
Coef. Variação %	27,25	54,52	27,72	29,30	30,14	8,43	18,76	13,80

Tabela 5 Estatística descritiva correspondente às características clínicas (peso, idade, glicemia, triglicerídeos, colesterol, PAS, PAD e PAM) dos cães saudáveis fêmeas avaliados por meio da ultrassonografia bidimensional (n=12)

Estatística Fêmeas	Peso (Kg)	Idade (anos)	Glicemia (mg/dl)	Triglic. (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)
Média	24,72	4,66	102,83	126,83	221,58	136,43	83,25	105,45
Desvio Padrão	5,82	2,13	11,47	64,78	44,90	13,71	19,01	18,67
Interv. Inferior	21,02	3,30	95,53	85,67	193,05	127,71	71,16	93,59
Confiança 95% Superior	28,42	6,02	110,12	167,99	250,12	145,14	95,33	117,32
Mínimo	16,80	1,50	85,00	77,00	170,00	115,00	48,00	73,50
Máximo	34,20	8,00	128,00	267,00	300,00	154,00	104,30	135,00
25%	20,37	3,25	96,00	87,75	177,50	121,97	68,00	91,50
Quartil Mediana	22,90	4,50	101,00	107,50	220,00	138,50	87,00	105,50
75%	30,85	6,00	106,75	121,00	244,75	146,82	100,30	121,90
Coef. Variação %	23,54	45,70	11,15	51,07	20,26	10,05	22,83	17,70

Tabela 6 Estatística descritiva correspondente aos diferentes métodos de avaliação da espessura da TIM (mm) por meio da ultrassonografia bidimensional em machos (n=12) e fêmeas (n=12)

Estatística	Machos			Fêmeas		
	Manual		Automático	Manual		Automático
	Longitudinal (mm)	Transversal (mm)	QIMT (mm)	Longitudinal (mm)	Transversal (mm)	QIMT (mm)
Média	0,35	0,33	0,30	0,35	0,34	0,29
Desvio Padrão	0,03	0,03	0,05	0,03	0,04	0,04
Interv. Inferior	0,33	0,32	0,27	0,33	0,31	0,26
Confiança Superior 95%	0,38	0,35	0,34	0,37	0,36	0,32
Mínimo	0,31	0,30	0,20	0,30	0,30	0,22
Máximo	0,43	0,39	0,37	0,42	0,43	0,36
25%	0,32	0,31	0,28	0,33	0,31	0,26
Quartil Mediana	0,35	0,33	0,31	0,34	0,33	0,28
75%	0,37	0,36	0,34	0,38	0,37	0,33
Coef. Variação %	8,57	9,09	16,66	8,57	11,76	13,79

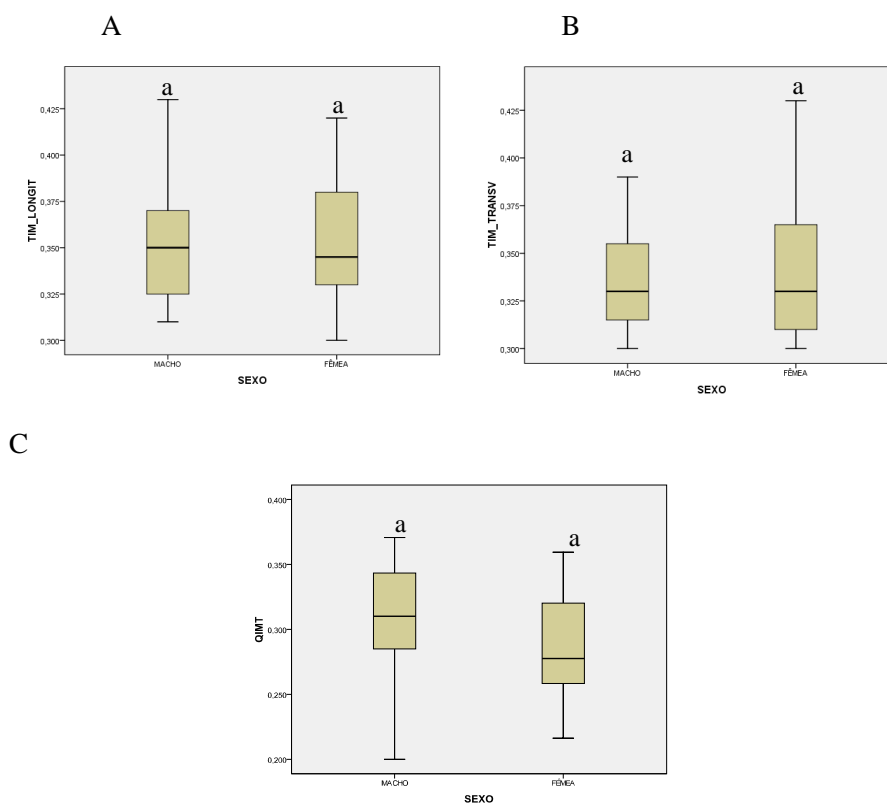


Figura 12 Diagramas de caixa (box-plot) demonstrando diferenças estatísticas entre machos (n=12) e fêmeas (n=12) na comparação entre A, método manual longitudinal; B, método manual transversal; C, método automático (QIMT); da TIM em milímetros da artéria femoral direita em cães. QIMT – Método de quantificação automático da TIM (Software – Esaote); TIM LONGIT – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte longitudinal; TIM TRANSV – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal. Medidas da Túnica íntima-média em milímetros. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas

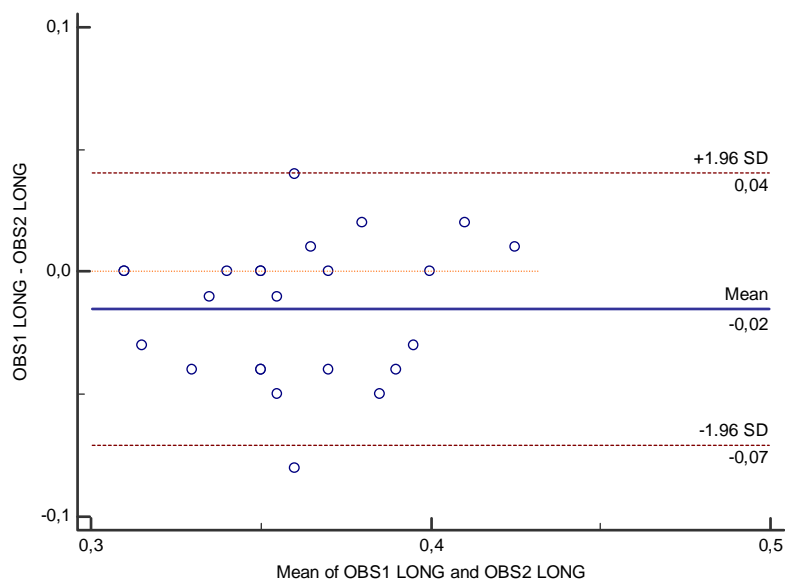


Gráfico 1 Intervalo de concordância entre os dois observadores (OBS1 e OBS2) para medida da TIM em milímetros em corte longitudinal da artéria femoral. Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre os dois observadores para obter medida da TIM em corte longitudinal da artéria femoral, e, no eixo x, os valores das médias dos resultados obtidos pelos dois observadores. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,06

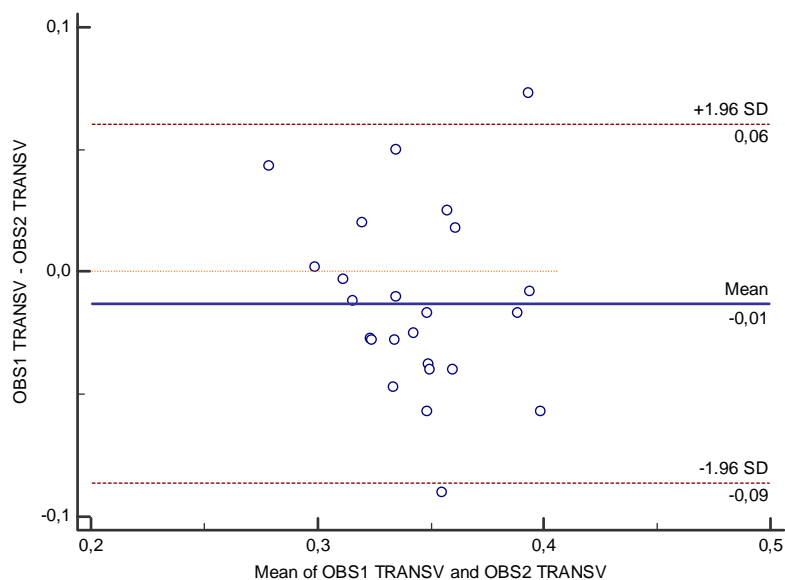


Gráfico 2 Intervalo de concordância entre os dois observadores (OBS1 e OBS2) para medida da TIM em milímetros em corte transversal da artéria femoral. Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre os dois observadores para obter medida da TIM em corte transversal da artéria femoral, e, no eixo x, os valores das médias dos resultados obtidos pelos dois observadores. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,07

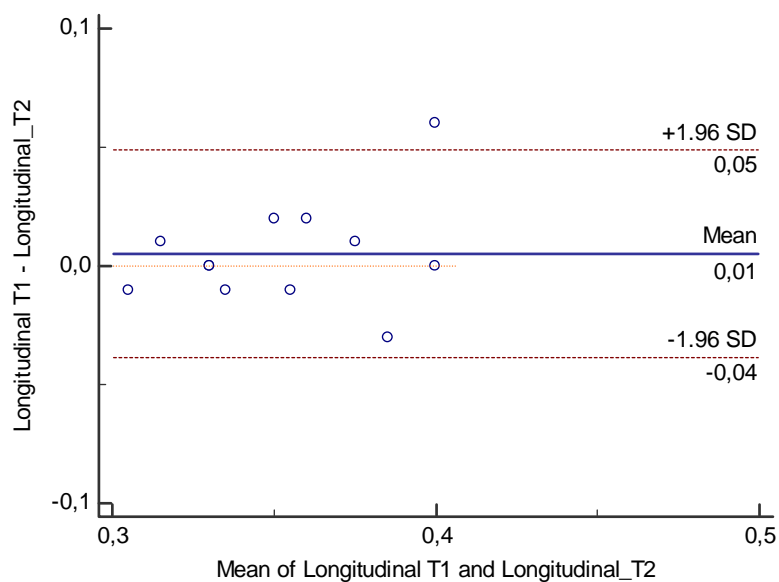


Gráfico 3 Intervalo de concordância entre dois momentos [intervalo de cerca de 15 dias (T1 e T2)] de um mesmo observador, de uma amostragem de 10 cães do total de animais estudados (n=24), para medida da TIM em milímetros em corte longitudinal da artéria femoral. Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre os momentos para obter medida da TIM em corte longitudinal da artéria femoral, e, no eixo x, os valores das médias dos resultados obtidos nos dois momentos. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,04

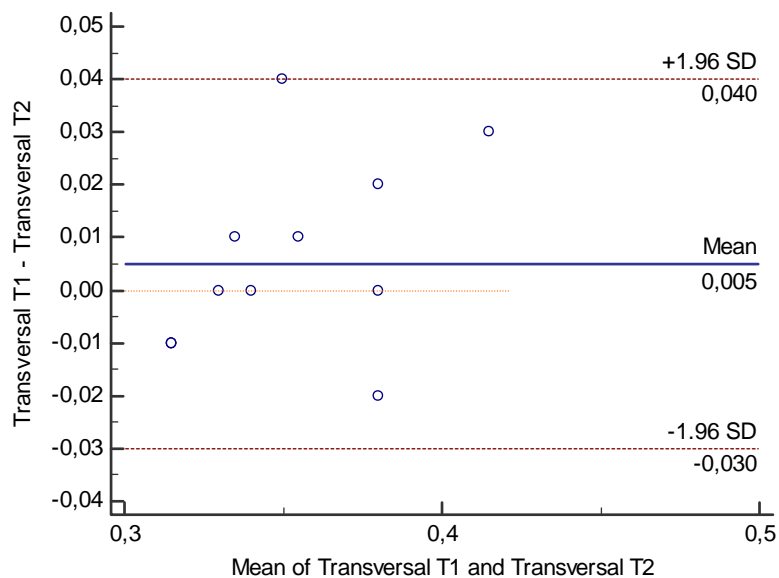


Gráfico 4 Intervalo de concordância entre dois momentos [intervalo de cerca de 15 dias (T1 e T2)] de um mesmo observador, de uma amostragem de 10 cães do total de animais estudados (n=24), para medida da TIM em milímetros em corte transversal da artéria femoral. Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre os momentos para obter medida da TIM em corte transversal da artéria femoral, e, no eixo x, os valores das médias dos resultados obtidos nos dois momentos. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,04

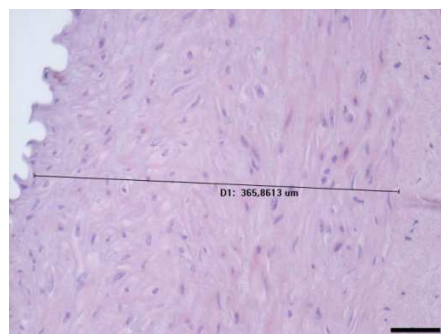


Figura 13 Imagem histopatológica da artéria femoral de animais (n=3) submetidos à eutanásia. Os cortes histológicos foram corados em lâmina com Hematoxilina-Eosina (HE) para aferição da túnica íntima média em objetiva de 20x, empregando-se microscópio Olympus acoplado à câmera fotográfica, que envia imagens digitais a computador dotado de programa de análise de imagens Image-Pro Express 6.3 (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA)

Tabela 7 Estatística descritiva correspondente à histologia da TIM (mm) por meio de microscopia óptica, comparada aos métodos de avaliação da espessura da TIM por meio da ultrassonografia bidimensional feita antes da eutanásia (n=3)

Métodos		Manual		Automático
Estatística	Histologia (mm)	Longitudinal (mm)	Transversal (mm)	QIMT (mm)
Média	0,29	0,29	0,28	0,28
Desvio Padrão	0,07	0,07	0,05	0,02
Interv. Inferior	0,24	0,25	0,25	0,27
Confiança Superior 95%	0,33	0,34	0,31	0,29
Mínimo	0,21	0,21	0,21	0,26
Máximo	0,40	0,42	0,35	0,30
Quartil 25%	0,23	0,22	0,25	0,26
Quartil Mediana	0,26	0,27	0,25	0,28
Quartil 75%	0,36	0,37	0,34	0,30
Coef. Variação (%)	24,13	24,13	17,85	7,14

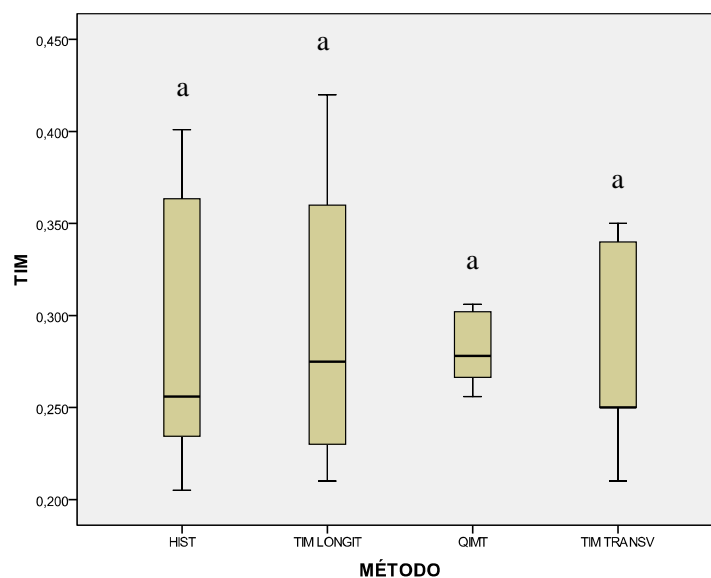


Figura 14 Diagramas de caixa (box-plot) demonstrando diferenças na comparação entre as 12 repetições de medidas da TIM em milímetros obtidas pela histologia com os métodos manual (longitudinal e transversal) e automático (QIMT) da TIM da artéria femoral direita em cães (n=3). TIM – Medidas da Túnica íntima-média em milímetros; QIMT – Método de quantificação automático da TIM (Software – Esaote); TIM LONGIT – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte longitudinal; TIM TRANSV – Método manual de quantificação da medida da TIM em corte transversal. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas

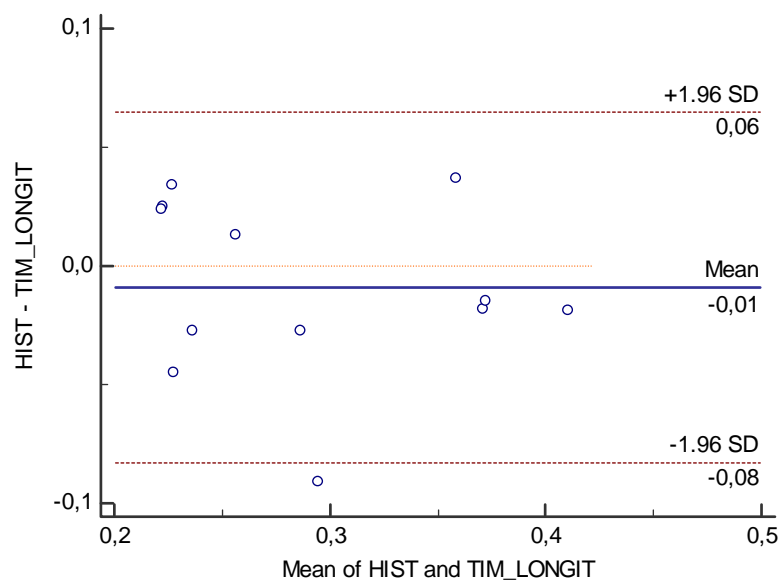


Gráfico 5 Intervalo de concordância entre os métodos para medida da TIM na histologia (HIST) e no método manual no corte longitudinal da artéria femoral (TIM_LONGIT). Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre HIST e TIM_LONGIT, e, no eixo x, os valores das médias dos valores da TIM em milímetros obtidos pela HIST e pela TIM_LONGIT. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes ao valor médio, a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,07

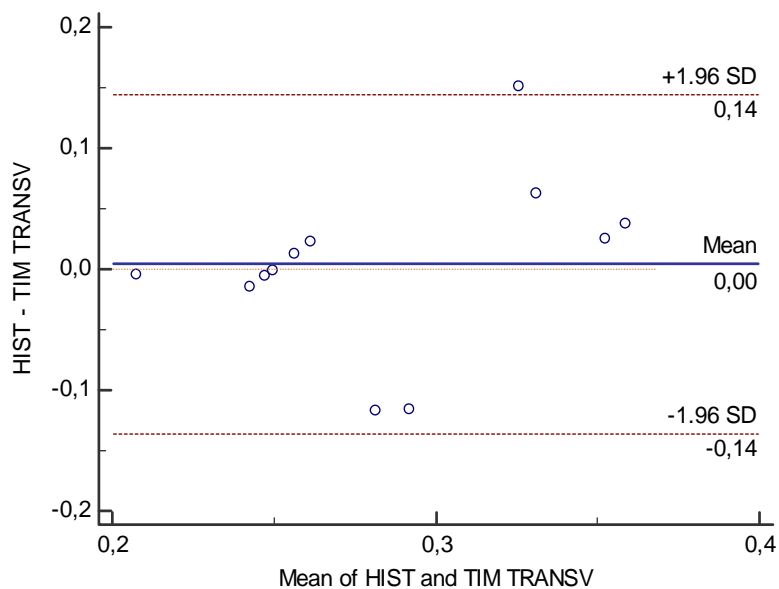


Gráfico 6 Intervalo de concordância entre os métodos para medida da TIM na histologia (HIST) e no método manual no corte transversal da artéria femoral (TIM TRANSV). Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre HIST e TIM TRANSV, e, no eixo x, os valores das médias dos valores da TIM em milímetros obtidos pela HIST e pela TIM TRANSV. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes ao valor médio, a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,14

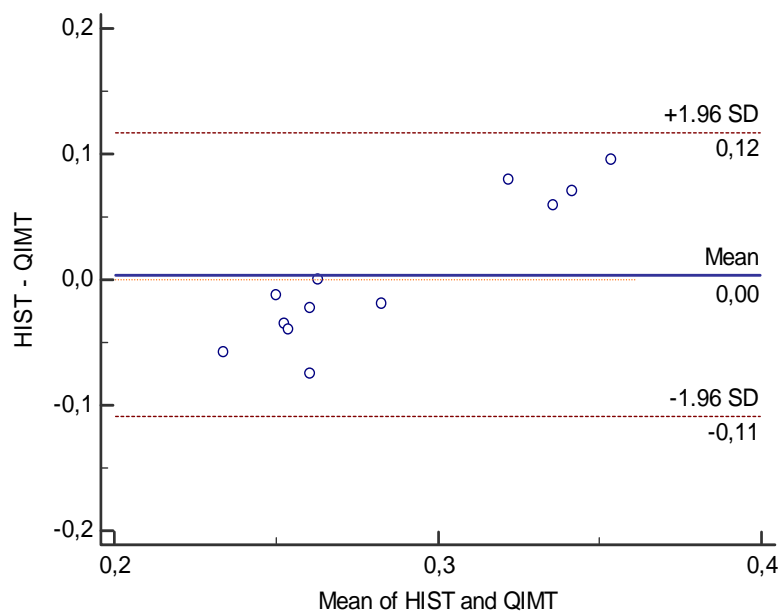


Gráfico 7 Intervalo de concordância entre os métodos para medida da TIM na histologia (HIST) e no método automático no corte longitudinal da artéria femoral (QIMT). Estão projetados, no eixo y, os valores da diferença entre HIST e QIMT, e, no eixo x, os valores das médias dos valores da TIM em milímetros obtidos pela HIST e pela QIMT. Foram traçados os limites de concordância, ou seja, os valores da média das diferenças + 2 SD e a média das diferenças - 2SD. Além disso, foram traçadas as linhas correspondentes ao valor médio, a zero e a linha correspondente ao viés (o quanto as diferenças se afastam do valor zero). CR= 0,11

6 DISCUSSÃO

A ultrassonografia bidimensional associada ou não ao QIMT, empregada conforme a descrição de Freire et al. (2009), demonstrou ser uma técnica adequada, não-invasiva e capaz de determinar a espessura da TIM da artéria femoral em cães.

Tradicionalmente, em seres humanos, a TIM é determinada principalmente na artéria carótida, por ser um importante marcador de risco cardiovascular (PIGNOLI et al., 1986; BORTOLOTTI, 2004; TAKAMURA et al., 2009). No entanto, a artéria femoral, também, tem se mostrado ser um indicador de doença vascular periférica e coronária em pessoas de meia idade a idosos (CHENG et al., 2002; PAUL et al., 2005) e, em alguns casos, até mais sensível que a carótida (WENDELHAG; WIKLUND; WIKSTRAND, 1993).

Em cães, postula-se que a ocorrência de arteriosclerose possa ser mais elevada do que se considera, uma vez que já se comprovou uma alta incidência de infarto de miocárdio e de morte súbita em tais animais, possivelmente, em virtude da tal afecção (FALK; JÖNSSON, 2000).

No presente estudo não foram observadas influências da diferença entre os sexos sobre a espessura da TIM. Estes resultados não estão em acordo com o estudo de Paul et al. (2005) na espécie humana, que demonstrou que os homens apresentam a espessura da TIM da artéria femoral significativamente maior que as mulheres.

A idade e o peso, também, não foram correlacionados significativamente com as variações nas medidas da TIM na maioria dos métodos avaliados. Cabe salientar que o presente estudo foi delineado para obter as medidas da TIM em animais clinicamente saudáveis, de raças médias e adultos e, não, para verificar os efeitos da obesidade e/ou da idade sobre a espessura da TIM. Por outro lado, estudos específicos futuros, delineando a influência do peso corporal, da idade e

de alguns distúrbios clínicos sobre a parede arterial de cães poderiam ser realizados, tendo em vista que está comprovado que cães com hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia apresentam achados histopatológicos e imunohistoquímicos de lesões ateroscleróticas similares às de seres humanos (KAGAWA et al., 1998), que poderiam impactar sobre as medidas da TIM. Também, há evidências de que na literatura a arteriosclerose pode estar associada à baixa amplitude de onda pulsátil na artéria femoral (TARNOW et al., 2004), ou pode ser um achado comum em cães idosos (JÖNSSON, 1971; VALTONEN; OKSANEN, 1972, FALK; JÖNSSON, 2000). Além disso, Haidet et al. (1996) observaram, em estudo controlado, que animais mais velhos apresentaram menor complacência na artéria femoral em relação aos mais jovens, o que poderia ser decorrente de uma maior espessura da TIM.

As medidas de pressão arterial sistêmica (PAS, PAD e PAM) não apresentaram associação com a espessura da TIM avaliada pelos diferentes métodos no presente estudo, e tal resultado pode se dever ao fato deste estudo incluir apenas animais clinicamente saudáveis e de meia idade e, conseqüentemente, por não haver distúrbios clínicos associados capazes de modificar as medidas da TIM. Apesar destes resultados, estudos específicos com animais hipertensos, principalmente, por distúrbios endócrinos (p.ex. hipertireoidismo em felinos), poderiam demonstrar a utilização clínica, a sensibilidade e a especificidade de modificações na espessura da TIM e da dinâmica das artérias periféricas em tais pacientes.

Pela comparação entre os métodos manual e automático (n=24) demonstrou-se que o método manual longitudinal apresentou medidas significativamente superiores ao método manual transversal e ao QIMT. Provavelmente isto ocorreu porque no modo manual os cursores do software do equipamento de ultrassonografia são deslocados manualmente, nos limites da TIM, o que pode ter superestimado a sua espessura, pois os cursores disponíveis

neste equipamento se mostraram muito grosseiros para a sutil estrutura, que é a TIM arterial. Desse modo, o método automático (QIMT) pode ter definido com maior exatidão tais medidas, uma vez que um grande número de pontos de radio frequência é lançado, definindo os limites da TIM do vaso explorado, calculando a espessura da TIM por centímetro arterial, em um curto espaço e tempo.

Em seres humanos está comprovado que a técnica automatizada permite a avaliação mais rápida, com menor variabilidade, sendo atualmente recomendado pela *American Heart Association* como “padrão ouro” para medidas da TIM de artérias periféricas (FREIRE et al., 2009). Por outro lado, no presente estudo, a reprodutibilidade das medidas de espessura da TIM, pelo método manual, em corte longitudinal e transversal, apresentou forte associação e alta concordância nas condições aqui definidas de avaliação intra e interobservações. Isto demonstra que, se houve uma superestimação das medidas da TIM pelos métodos manuais, com os cursores do software de medidas nos diferentes cortes de avaliação, a mesma apresentou boa reprodutibilidade. Desse modo, apesar de uma possível superestimação de tais medidas, os respectivos valores de normalidade da espessura da TIM da artéria femoral, aqui definidos pelos métodos manuais de medida ultrassonográfica, podem ser utilizados com confiabilidade como parâmetro de normalidade na prática clínica. Uma limitação deste estudo é que a reprodutibilidade do método automático (QIMT) para avaliar a espessura da TIM da artéria femoral não foi avaliada. No entanto, tem sido descrito que os métodos automatizados para medir a TIM em diferentes artérias com equipamentos de ultrassom tem boa reprodutibilidade de resultados entre diferentes observadores, bem como reduzem, consideravelmente, o tempo necessário para a avaliação da imagem e os erros de interpretação das medidas (BALDASSARRE et al., 1994).

O estudo amostral planejado, para avaliar a precisão dos métodos avaliados pela ultrassonografia em relação ao estudo histológico da espessura da

TIM da artéria femoral, não apontou diferenças significativas entre nenhum deles. Entretanto, pelo estudo de Bland & Altman demonstrou-se que o método manual longitudinal apresentou alta concordância em relação às demais comparações entre métodos, inclusive o QIMT, considerado padrão ouro em medicina (FREIRE et al., 2009). Na análise destes resultados é necessário considerar que o número amostral foi pequeno ($n=3$), assim como o número de repetições de medidas da TIM, o que pode ter interferido na acurácia dos resultados. Em contrapartida, os intervalos de concordância entre a medida histológica e o QMIT foram muito próximos ao limite clínico estabelecido neste estudo (0,10 mm). Outro aspecto a ser considerado é que o QIMT foi o método que apresentou o menor coeficiente de variação nas medidas da TIM em relação aos demais e à histologia. De maneira geral, uma interferência que pode haver influenciado a análise de concordância é o fato de as medidas histológicas e ultrassonográficas não terem sido precisamente coincidentes, em relação ao ponto de mensuração da TIM na artéria femoral. Além disso, podem ter ocorrido mudanças geométricas na amostra arterial, mantida em formol até a análise microscópica, que podem ter influenciado estes resultados (GARIEPY et al., 1993) verificando que *in vivo* a mensuração é feita com a artéria em pulsação e que durante o processo de fixação pode haver desidratação do tecido alterando a concordância entre os métodos. O limite estabelecido como clinicamente aceitável (0,10mm) neste estudo foi determinado baseado em um estudo de seres humanos e a comparação de métodos foi realizada com a carótida e não com a artéria femoral, em tal espécie (FREIRE et al., 2009). Por outro lado, o pior intervalo de concordância foi observado entre a análise da TIM na histologia e no método manual transversal, o que está em acordo com a literatura (CASELLA et al., 2008), que sugere que este método seja o menos preciso na avaliação da espessura da TIM arterial. Por fim, os resultados referentes à avaliação da precisão dos métodos ultrassonográficos permitem inferir que, nas

condições experimentais do presente estudo, o método manual longitudinal apresentou os resultados mais precisos e o método manual transversal apresentou a pior concordância entre os métodos, quando comparados às medidas histológicas analisadas. O QIMT foi um método intermediário, mas apresentou a menor variabilidade nos resultados e teve os limites de concordâncias muito próximos ao limite clínico aceitável, aqui determinado.

Considerando que este estudo incluiu o maior número de animais saudáveis da rotina clínica hospitalar, uma limitação do presente trabalho se deu pela falta de padronização de uma raça como objeto de investigação, fazendo com que o resultado da espessura da TIM aqui encontrado pudesse servir como um guia para a espécie canina em geral, mas, principalmente, aos animais com características de peso corporal e idade semelhante aos avaliados. Em seres humanos já está demonstrado que há influência racial sobre as medidas de espessura da TIM arterial (KRUGER et al., 2012), e tais aspectos não estão totalmente elucidados em animais. Desse modo, um estudo futuro específico com raças puras de cães poderia ser interessante de ser realizado para determinar parâmetros raciais de medida da espessura da TIM.

Desse modo, baseando-se nos conhecimentos médicos, as medidas da espessura da TIM, conseguidas na artéria femoral dos cães do presente estudo, poderão servir de base para estudos futuros, em pacientes sob afecções, que possam repercutir sobre a espessura da TIM arterial. Além disso, o uso da ultrassonografia bidimensional sobre a artéria femoral, para estimar a espessura da TIM em animais, parece uma atraente forma de avaliação, uma vez que, em pacientes veterinários, dependendo da abordagem clínica, do temperamento do animal, da gordura cervical e de seu estado de alerta, a aferição da TIM da carótida pode não ser realizada adequadamente, tendo em vista a maior dificuldade de se posicionar o transdutor do ultrassom na região cervical.

Finalmente, a grande questão ainda é saber se uma medida simples como a obtenção da espessura da TIM, perante a estimativa de outros parâmetros avaliativos de função cardiovascular, acrescenta benefícios na prática da clínica veterinária. A verdade é que a medida da TIM, como marcador de um processo vascular em cães, será tanto mais útil quanto mais informação acrescentar sobre a associação de presença ou risco de doença. Em seres humanos já se observa que as doenças vasculares estão associadas a diferentes situações clínicas, como uremia, (LONDON, 2005) e com doenças inflamatórias crônicas, que apresentam mediadores inflamatórios que estimulam a produção de interleucinas (ROMAN et al., 2005). Em cães, ainda pouco se verifica sobre o verdadeiro envolvimento das modificações estruturais ou funcionais da parede vascular com tais assuntos.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que a ultrassonografia bidimensional permitiu a mensuração da espessura da TIM da artéria femoral de cães saudáveis, por meio dos diferentes métodos estudados que foram o manual longitudinal, manual transversal e método automático e que a ultrassonografia, além de boa reprodutibilidade para os métodos manuais (transversal e longitudinal), apresentou alta precisão, principalmente, para o método manual longitudinal e possivelmente para o QIMT.

REFERÊNCIAS

ALTMAN, D. G. **Practical statistics for medical research**. London: CRC Press, 1990.

ANATOMY BELLRINGER. Disponível em: < <http://quizlet.com/3794905/anatomy-bellringer-flash-cards/>>. Acesso em: 14 mar. 2014.

ASSOCIATION, A. D. Peripheral arterial disease in people with diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 26, n. 12, p. 3333–3341, Dec. 2003.

BALDASSARRE, D. et al. Common carotid intima-media thickness measurement: a method to improve accuracy and precision. **Stroke: a journal of cerebral circulation**, Dallas, v. 25, n. 8, p. 1588–1592, Aug. 1994.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The lancet**, London, v. 1, n. 8476, p. 307–310, Feb. 1986.

BOON, J. **Veterinary echocardiography**. 2. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011.

BORTOLOTTI, L. A. Alterações da rigidez arterial na hipertensão, diabetes, insuficiência renal e doenças sistêmicas. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 161-168, ago. 2004.

BROWN S. A.; HENIK, R. A. Diagnosis and treatment of systemic hypertension. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v. 28, n. 6, p. 1481-1494, Nov. 1998.

CASELLA, I. B. et al. A practical protocol to measure common carotid artery intima-media thickness. **Clinics**, Philadelphia, v. 63, n. 4, p. 515–520, May 2008.

CASTELLON, X.; BOGDANOVA, V. Screening for subclinical atherosclerosis by noninvasive methods in asymptomatic patients with risk factors. **Clinical Interventions in Aging**, Auckland, v. 8, p. 573–580, 2013.

CHENG, K. S. et al. A review of the carotid and femoral intima-media thickness as an indicator of the presence of peripheral vascular disease and cardiovascular risk factors. **Cardiovascular Research**, London, v. 54, n. 3, p. 528–38, June 2002.

CINI, G. et al. Thyroid hormones and the cardiovascular system: pathophysiology and interventions. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 63, n. 10, p. 742-753, Aug. 2009.

FALK, T.; JÖNSSON, L. Ischemic heart disease in the dog: a review of 65 cases. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 97-103, Mar. 2000.

FREIRE, C. M. V. et al. Comparison between automated and manual measurements of carotid intima-media thickness in clinical practice. **Vascular Health and Risk Management**, Washington, v. 5, p. 811–817, Jan. 2009.

GARCÍA-ORTIZ, L. et al. Presión arterial clínica y ambulatoria y su relación com el grossor íntima-media de carótida (LOD-RISK Study). **Clínica e Investigación em Arteriosclerosis**, Madrid, v. 21, n. 1, p. 1-10, Jan. 2009.

GARIEPY, J. et al. Evidence for in vivo carotid and femoral wall thickening in human hypertension. **Hypertension**, Dallas, v. 22, n. 1, p. 111–118, July 1993.

GRAF, S.; GARIEPY, J. Experimental and clinical validation of arterial diameter waveform and intimal media thickness obtained from B-mode ultrasound image processing. **Ultrasound in Medicine & Biology**, Oxford, v. 25, n. 9, p. 1353–1363, June 1999.

HAIDET, G. C. et al. Effects of aging per se on arterial stiffness: systemic and regional compliance in beagles. **American Heart Journal**, Saint Louis, v. 132, n. 2, p. 319-327, Aug. 1996.

HASHIMOTO, J.; ITO, S. Pulse pressure amplification, arterial stiffness, and peripheral wave reflection determine pulsatile flow of the femoral artery. **Hypertension**, Dallas, v. 56, n. 5, p. 926-933, Nov. 2010.

HESS, R. S.; KASS, P. H.; VAN WINKLE, T. J. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 17, n. 4, p. 489–94, July/Aug. 2003.

HURST, R. T. et al. Clinical use of carotid intima-media thickness: review of the literature. **Journal of the American Society Echocardiography**, Saint Louis, v. 20, n.7, p. 907-914, July 2007.

ICHIKI, T. Thyroid hormone and atherosclerosis. **Vascular Pharmacology**, New York, v. 52, n. 3-4, p. 151-156, Mar./Apr. 2010.

JÖNSSON, L. Coronary arterial lesions and myocardial infarcts in the dog: a pathological and microangiographic study. **Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum**, Kobenhavn, v. 38, n. 3, p. 1-80, 1971.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KAGAWA, Y. et al. Systemic atherosclerosis in dogs: histopathological and immunohistochemical studies of atherosclerotic lesions. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 118, n. 3, p. 195-206, Apr. 1998.

KIM, S. H. et al. Impact of plaque characteristics analyzed by intravascular ultrasound on long-term clinical outcomes. **The American Journal of Cardiology**, New York, v. 103, n. 9, p. 1221-1226, May 2009.

KRUGER, R. et al. NT-proBNP and potential vascular calcification in Black and Caucasian African men: the SAfrEIC study. **Ethnicity and Disease**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 398, Apr. 2012.

LIM, S. M. et al. Association between blood pressure and carotid intima-media thickness. **The Journal of Pediatrics**, Cincinnati, v.154, n.5, p.667-671, May 2009.

LITWIN, M.; NIEMIRSKA, A. Intima-media thickness measurements in children with cardiovascular risk factors. **Pediatric Nephrology**, Elmsford, v. 24, n. 4, p. 707-719, Apr. 2009.

LONDON, G. M. Vascular disease and atherosclerosis in uremia. **Nefrologia**, SãoPaulo, v. 25, Suppl. 2, p. 91-95, 2005.

MATOS-SOUZA, J. R. **Echotalk - ecocardiografia e cardiologia**. [S.l.: s.n], 2013. Disponível em: <www.echotalk.blogspot.com.br/2013/01/espessura-da-carotida-e-outros.html>. Acesso em: 23 ago 2013.

- NAGASAKI, T. et al. Increased pulse wave velocity in subclinical hypothyroidism. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Baltimore, v. 91, n. 1, p. 154-158, Oct. 2005.
- NORSWORTHY, G. D.; CRYSTAL, M. A. Hyperthyroidism. In: NORSWORTHY, G. D. (Ed.). **The feline patient**. 4. ed. New Jersey: John Wiley, 2011. p. 256-260.
- PALOMBO, C. **Markers of early atherosclerosis in T1DM**. For Esaote. Italy: University of Pisa, 2012. Disponível em: <http://www.esaote.com/modules/core/page.asp?p=DOWN_LOAD&fGUID=1AFA939E-3F13-4CB5-BD39-26FA925A28C2>. Acesso em: 01 set. 2013.
- PAUL, T. K. et al. Impact of multiple cardiovascular risk factors on femoral artery intima-media thickness in asymptomatic young adults (the Bogalusa Heart Study). **The American Journal of Cardiology**, New York, v. 95, n. 4, p. 469-73, Feb. 2005.
- PIGNOLI, P. et al. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. **Circulation**, Baltimore, v. 74, n. 6, p. 1399-406, Dec. 1986.
- PIZZI, O. L. et al. Velocidade da onda de pulso, pressão arterial e adipocitocinas em adultos jovens: estudo do Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro Cardiolgia**, São Paulo, v. 100, n. 1, p. 60-66, 2013.
- REIS, M. A. de S. K. dos. **Espessamento médio-intimal da aorta segundo peso ao nascer** □: estudo tipo caso-controle. 2013. 126 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2013.
- ROMAN, M. J. et al. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. **Hypertension**, Dallas, v. 46, n.1, p. 194-199, May 2005.
- SCOTT-MONCRIEFF, J. C. Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats. **Veterinary Clinical of American Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 37, n. 4, p. 709-722, July 2007.
- SHIRWANY, N.; ZOU, M. Arterial stiffness: a brief review. **Acta pharmacologica Sinica**, Beijing, v. 31, n. 10, p. 1267-76, June 2010.

SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. **Sisson/Grossman: anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986.

STENSLAND-BUGGE, E.; BONAA, K. H.; JOAKIMSEN, O. Reproducibility of ultrasonographically determined intima-media thickness is dependent on arterial wall thickness. **The Tromso Study. Stroke**, Dallas, v. 28, n. 10, p.1972-1980, Oct. 1997.

TAKAMURA, N. et al. Thyroid function is associated with carotid intima-media thickness in euthyroid subjects. **Atherosclerosis**, Limerick, nesp., v. 204, p. 77-81, June 2009.

TARNOW, I. et al. Determinants of weak femoral artery pulse in dogs with mitral valve prolapse. **Research in Veterinary Science**, Limerick, v. 76, n. 2, p. 113-120, Apr. 2004.

TOUBOUL, P.-J. et al. Mannheim intima-media thickness consensus. **Cerebrovascular Diseases**, Basel, v. 18, n. 4, p. 346–349, Dec. 2004.

TRICHES, C.; SCHAAN, B. Complicações macrovasculares do diabetes melito: peculiaridades clínicas, de diagnóstico e manejo. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, v. 6, n. 56, p. 698-708, dez. 2009.

VALTONEN, M. H.; OKSANEN, A. Cardiovascular disease and nephritis in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 13, n. 12, p. 687-697, Dec. 1972.

WENDELHAG, I. et al. Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. **Clinical Physiology**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 565-577, Nov. 1991.

WENDELHAG, I.; WIKLUND, O.; WIKSTRAND, J. Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia: ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Dallas, v. 13, n. 10, p. 1404–1411, Oct. 1993.

ANEXO

ANEXO A - Certificado de aprovação na Comissão de ética no Uso de Animais da UFLA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº 040/13, relativo ao projeto intitulado Espessura da túnica íntima-média da artéria femoral de cães e gatos saudáveis obtida por meio da ultrassonografia associada a radiofrequência, que tem como responsável Rodrigo Bernardes Nogueira está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, adotados pela comissão de ética no uso de animais (comissões permanentes/prp-ufla), tendo sido aprovado na reunião de 28/07/2013.

início do projeto:01/07/2013 - término do projeto:01/07/2014

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº 040/13, related to the project entitled "Thickness of the intima-media of the femoral artery of healthy dogs and cats obtained by ultrasonography associated with radiofrequency.", under the supervision of Rodrigo Bernardes Nogueira, is in agreement with the Ethics Principles in Animal Experimentation, adopted by the Institutional Animal Care and Use Committee (Standing Committees/PRP-UFLA), and was approved in July 28, 2013.

Project's beginning:01/07/2013 - Project's end:01/07/2014

Lavras, 28 de julho de 2013

###ERRO - VARIFICAR DATA DE APROVAÇÃO E DATA DE INÍCIO###

Prof. Gabriela Rodrigues Sampaio
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa / Comissões Permanentes
Câmpus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200-000 - Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.nip.ufla.br