

MÉTODO NÃO-INVASIVO PARA A CARACTERIZAÇÃO DA MECÂNICA VASCULAR
NA PLETISMOGRAFIA POR OCLUSÃO VENOSA E AVALIAÇÃO PARAMÉTRICA DO
COMPORTAMENTO VASCULAR PÓS-HIPEREMIA REATIVA

Adriana Ribeiro de Macedo

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS PROGRAMAS
DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE
JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO
DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Aprovada por:

Prof. Márcio Nogueira de Souza, D.Sc.

Prof. João Carlos Machado, Ph.D.

Prof. Jurandir Nadal, D.Sc.

Prof. Antônio Cláudio Lucas da Nóbrega, Ph.D.

Prof^a. Eliete Bouskela, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

JULHO DE 2007

MACEDO, ADRIANA RIBEIRO DE

Método não-invasivo para a caracterização da mecânica vascular na pletismografia por oclusão venosa e avaliação paramétrica do comportamento vascular pós-hiperemia reativa [Rio de Janeiro] 2007

XIII, 152 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, D.Sc., Engenharia Biomédica, 2007)

Tese – Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE

1. Dinâmica vascular
2. Modelagem matemática
3. Modelagem eletro-hidráulica
4. Comportamento do fluxo sanguíneo
5. Hiperemia reativa

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

AGRADECIMENTOS

A Leonardo Muller Sarcinelli Luz, que não só apoiou como participou ativamente desse trabalho, assim como de todos os momentos importantes desse período da minha vida.

A Deus por eu não ter desistido nos momentos de impotência e pelos amigos que se fizeram sempre presentes nesses momentos. A eles, os amigos, Igor, Danilo, Arthur, Heidi.

Aos voluntários que permitiram que esse estudo se concretizasse.

Aos pesquisadores Márcio Nogueira de Souza, João Carlos Machado e Antônio Cláudio Lucas da Nóbrega pela orientação e colaboração a mim dispensada. Aos integrantes do Laboratório de Ciências do Exercício da Universidade Federal Fluminense, muito especialmente à Kelb Bousquet e à Fabrícia, pela ajuda na realização desse projeto e ao Jean, por disponibilizar parte do banco de dados de sua dissertação de mestrado para a validação dos métodos propostos no presente trabalho.

A Amauri Xavier, Diniz Silva e à secretaria, em especial à Daisy, ao Wesley e à Sabrina, pela disponibilidade, carinho e paciência.

Ao CEPEM pela colaboração na realização de exames laboratoriais e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

MÉTODO NÃO-INVASIVO PARA A CARACTERIZAÇÃO DA MECÂNICA VASCULAR NA PLETISMOGRAFIA POR OCLUSÃO VENOSA E AVALIAÇÃO PARAMÉTRICA DO COMPORTAMENTO VASCULAR PÓS-HIPEREMIA REATIVA

Adriana Ribeiro de Macedo

Julho/2007

Orientador: Márcio Nogueira de Souza

Programa: Engenharia Biomédica

O presente trabalho apresenta um novo modelo de mecânica vascular na pletismografia por oclusão venosa composto pelas resistências e complacências dos sistemas arterial (R_a e C_B) e venoso (R_v e C_v). Usando-se tal modelo um sistema de estimação de parâmetros foi desenvolvido, mantendo-se fixo o valor de C_B . A mecânica vascular, na pletismografia basal e pós-hiperemia, foi analisada em dez indivíduos saudáveis em condições normais, de alteração induzida por ibuprofeno e pós-exercício. Os resultados indicaram que na pletismografia basal, houve diminuição significativa de R_a (132,1 para 95,4 mmHg s/ ml) e R_v (11,6 para 8,8 mmHg s/ ml) com o exercício. Em hiperemia reativa os grupos apresentaram diminuição de R_a e R_v e aumento de C_v , com gradual retorno dos parâmetros, às condições prévias. O modelo pôde detectar diferenças entre os grupos na condição de hiperemia, havendo significativa diminuição de R_v (3,2 para 0,3 mmHg s/ ml) e R_a (69,6 para 26,1 mmHg s/ ml) com ibuprofeno e aumento C_v com o exercício (de 0,51 para 0,81 ml/ mmHg). Em etapa paralela do trabalho, foram estimados valores de fluxo normalizado a partir do sinal de pletismografia pós-hiperemia, sendo sua evolução temporal modelada por uma função matemática contendo um termo exponencial, um termo oscilatório e um termo constante. A estimação dos parâmetros da função para o seu ajuste aos dados experimentais não mostrou diferença entre os grupos.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

NON-INVASIVE METHOD FOR THE CHARACTERIZATION OF THE
VASCULAR MECHANICS IN VENOUS OCCLUSION PLETHYSMOGRAPHY AND
PARAMETRIC EVALUATION OF THE VASCULAR BEHAVIOR IN REACTIVE
HYPEREMIA

Adriana Ribeiro de Macedo

July/2007

Advisor: Marcio Nogueira de Souza

Department: Biomedical Engineering

The present study presents a novel model for the vascular mechanics in venous occlusion plethysmography composed by arterial and venous resistances (R_a and R_v) and compliances (C_B and C_v). Using the model, a system for parametric estimation was developed, maintaining C_B value fixed. The vascular mechanics, in basal and post-hyperemia plethysmography, was analyzed in ten healthy subjects in normal condition, in post-exercise condition and after ibuprofen administration. The results show that, in basal plethysmography, there was significant reduction of R_a (132.1 to 95.4 mmHg s/ml) and R_v (11.6 to 8.8 mmHg s/ml) with exercise. In reactive hyperemia, the experimental groups show R_a e R_v reduction and C_v rise, then, a gradual parameters return, to previous conditions, with time. The model had detected differences among groups in hyperemia condition. There was R_v (3.2 to 0.3 mmHg s/ml) and R_a (69.6 to 26.1 mmHg s/ml) reduction with ibuprofen and C_v augment with exercise (0.51 to 0.81 ml/mmHg). In a parallel study, normalized flow values were estimated from the post-hyperemia plethysmographic signals. A math function presenting three terms, an exponential, an oscillatory and a constant one, modeled flow temporal evolution. The parameters estimated of such function, aimed to fit experimental data, did not show difference among groups.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ach: Acetilcolina
ADMA: Dimetilarginina assimétrica
AMP: Adenosina-5'-Monofosfato
AMPC: AMP Cíclico
AT: Receptores de Angiotensina
BH₄ : Tetraidrobiopterina
CO: Monóxido de Carbono
COX: Ciclooxigenase
DMF: Dilatação arterial Mediada por Fluxo
DMF: dilatação arterial mediada por fluxo (%);
DNA: Ácido Desoxirribonucléico
ECA: Enzima Conversora de Angiotensina
ECE: Enzima Conversora de Endotelina
EDCF_S : Fatores Constrictores Derivados do Endotélio
EDRF_S : Fatores Relaxantes Derivados do Endotélio
ELAM: Moléculas de Adesão Endotelial de Leucócitos
eNOS ou SNO III: Isoforma Endotelial da Enzima Óxido Nítrico Sintase
EROx: Espécies Reativas do Oxigênio
ET: Endotelina
FC: Frequência cardíaca;
GMP_C: Monofosfato Guanilato Ciclase
H₂: Prostaglandina
HDL: Lipoproteína de Alta Densidade
ICAM: Moléculas de Adesão Intercelular
iSNO ou SNO II: Isoforma Indutível da Enzima Óxido Nítrico Sintase
LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade
I-like-GF: Fator de Crescimento Insulina-Símile
L-NAME: L-nitroarginina metil-ester
L-NMMA: L-N^G-monometil arginina
MAP-quinase: Proteína Quinase Ativadora de Mitógeno
Mch: Metilcolina
NADPH: Nicotinamida Adenosina Difosfato
NO: Óxido Nítrico

NOS: Óxido Nítrico Sintase
nSNO ou SNO I: Isoforma Neural da Enzima Óxido Nítrico Sintase
ONOO⁻: Peróxido Nitrito
OxLDL: LDL oxidada
PAD: Pressão arterial diastólica (mmHg);
PAM: Pressão arterial média (mmHg);
PAS: pressão arterial sistólica (mmHg);
PDGF: Fator de Crescimento Derivado da Plaqueta
PGE: Prostaglandina da série E
PGF: Fator de Crescimento de Fibroblasto
PGF: Prostaglandina da série F
PGH₂: Prostaglandina da série H
PGI₂: Prostaciclina
POV: Petismografia por oclusão venosa;
POV: Pletismografia por oclusão venosa
RNA: Ácido Ribonucleico
SRA: Sistema Renina-Angiotensina
TXA₂: Tromboxano A₂
VCAM: Moléculas de Adesão de Células Vasculares

LISTA DE SÍMBOLOS

- A: Área de secção transversa (cm^2);
- A_{\max} : área máxima;
- A_{\min} : área mínima;
- C: Complacência (ml/ mmHg);
- c : velocidade média de propagação do ultra-som no tecido;
- C_a : complacência arterial (ml/ mmHg);
- C_{sec} : Complacência seccional (cm^2/mmHg);
- C_V : Complacência venosa (ml/ mmHg);
- c_w : velocidade de onda de pulso (m/s);
- D: Diâmetro (cm);
- D_{BASAL} é o diâmetro basal da artéria (cm);
- D_{HR} é o diâmetro na hiperemia reativa (cm);
- Dis : Distensibilidade (cm^2/N);
- D_{\max} : diâmetro máximo;
- D_{\min} : diâmetro mínimo;
- E_p : Módulo de elasticidade de Peterson (N/cm^2);
- $F(t)$: Fluxo arterial;
- f_d : Desvio Doppler (Hz);
- IMT_D : espessura da camada íntima-média na diástole;
- L: Comprimento (cm);
- P: Pulso de pressão (mmHg);
- P_a : Pressão arterial (mmHg);
- P_V : Pressão venosa (mmHg);
- Q (t): Fluxo sangüíneo (ml/min);
- Q_B : fonte de fluxo do modelo eletro-hidráulico de POV;
- r: raio do vaso sangüíneo;
- R: resistência vascular (mmHg.s/ ml);
- R_a = resistência arteriolar (mmHg.s/ ml);
- R_{cuff} : resistência do *cuff* (mmHg.s/ ml);
- R_V : resistência venosa (mmHg.s/ ml);
- S: Posição da parede arterial (cm);

θ é o ângulo entre o feixe emitido pelo transdutor de ultra-som e a direção do fluxo sanguíneo;

ΔA : diferença entre os pontos de área máxima (A_{\max}) e mínima (A_{\min});

ΔD : diferença de diâmetro entre os pontos de máximo (D_{\max}) e mínimo (D_{\min}) diâmetro;

ΔP : diferença entre as pressões sistólica (PAS) e a diastólica (PAD);

ΔV : diferença de volume interno do vaso entre os pontos de máximo e mínimo;

Y : Módulo de Young (N/cm^2);

β : Índice de dureza;

η : viscosidade do sangue ($mmHg.s$);

ρ : densidade do sangue Tabelada em 1000 Kg/m^3 (BRANDS *et al.*, 1998);

τ : Tensão de cisalhamento;

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	vi
LISTA DE SIMBOLOS	viii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivo Geral	2
1.2 Objetivos Específicos	2
2 FISIOLOGIA DO CONTROLE DA MECÂNICA VASCULAR	4
2.1 O Endotélio Vascular	5
2.1.1 <u>Estrutura e Funções do Endotélio Vascular</u>	6
2.1.1.1 <i>Endotélio no Controle da Mecânica Vascular</i>	7
2.1.2 <u>Fatores Relaxantes Derivados do Endotélio (EDRF_S)</u>	7
2.1.3 <u>Fatores Constrictores Derivados do Endotélio (EDCF_S)</u>	10
2.1.3.1 <i>Produtos da Ciclooxygenase (COX)</i>	12
2.1.3.2 <i>Sistema Renina-Angiotensina (SRA)</i>	12
2.1.4 <u>Fatores Envolvidos no Crescimento da Musculatura Lisa Vascular</u>	14
2.1.5 <u>Moléculas de Adesão</u>	14
2.1.6 <u>Fatores Pró e Anti-Trombóticos</u>	15
2.2 Disfunção Endotelial	15
2.3 Principais Linhas de Pesquisa sobre o Endotélio Vascular	17
2.4 Métodos no Estudo do Endotélio Vascular	18
2.4.1 <u>Morfologia e Caracterização Molecular do Endotélio</u>	18
2.4.2 <u>Estudo da Função Endotelial em Células Cultivadas</u>	18
2.4.3 <u>Estudo da Função Endotelial em Animais e Órgãos Isolados</u>	19
2.4.4 <u>Estudos da Função Endotelial na Dinâmica Vascular em Humanos</u>	20
2.4.4.1 <i>Hiperemia Reativa</i>	20
2.4.4.2 <i>Utilização de Substâncias Vasomotoras</i>	22
2.4.4.3 <i>Estresse Mental</i>	23
2.4.4.4 <i>Exercícios</i>	25
2.4.4.5 <i>Cold Test</i>	26
2.4.4.6 <i>Ingestão de Alimentos Hipercalóricos</i>	26
2.5 Outros Mecanismos Envolvidos no Controle da Mecânica Vascular	27
2.5.1 <u>Auto-regulação do Fluxo Sangüíneo</u>	28
2.5.1.1 <i>Fator Metabólico Local</i>	28
2.5.1.2 <i>Fator Miogênico no Controle Vascular</i>	29

2.5.2	<u>Sistema Nervoso no Controle Vascular</u>	29
2.5.2.1	<i>Sistema Nervoso Autônomo</i>	30
2.5.2.1.1	Regulação Reflexa	31
2.5.2.2	<i>Regulação Hormonal</i>	32
3	MÉTODOS E TÉCNICAS NA AVALIAÇÃO DA MECÂNICA E DA REATIVIDADE VASCULAR	34
3.1	Características Mecânicas Estimadas a Partir de Valores de Diâmetro, Volume ou Área e Valores de Pressão Sanguínea.	34
3.1.1	<u>Complacência</u>	35
3.1.2	<u>Distensibilidade</u>	36
3.1.3	<u>Módulo de Elasticidade de Peterson</u>	36
3.1.4	<u>Módulo de Young</u>	37
3.1.5	<u>Resistência</u>	37
3.1.6	<u>Índice de Dureza β</u>	37
3.1.7	<u>Velocidade de Onda de Pulso</u>	38
3.1.8	<u>Tensão de Cisalhamento</u>	38
3.2	Características dos Vasos e Mecânica Vascular	39
3.3	Ferramentas Utilizadas no Estudo da Mecânica Vascular	42
3.3.1	<u>Pressão arterial</u>	43
3.3.1.1	<i>Medição Não-invasiva da Pressão Arterial</i>	46
3.3.2	<u>Espessura da Parede Arterial</u>	47
3.3.3	<u>Diâmetro Arterial e Forma de Onda de Distensão</u>	48
3.3.3.1	<i>Diâmetro Arterial</i>	49
3.3.3.1.1	Obtenção de Diâmetro por Ultra-som Doppler	49
3.3.3.1.2	Obtenção de Diâmetro através do Tempo de Vôo do Sinal de Eco Ultra-sônico	50
3.3.3.2	<i>Forma de onda de Diâmetro Arterial Obtida Através de Informação de Posição Absoluta das Paredes do Vaso</i>	51
3.3.3.3	<i>Forma de Onda de Diâmetro Arterial Obtida Através do Processamento de Imagens de Ultra-sonografia</i>	53
3.3.4	<u>Velocidade de Fluxo Sanguíneo</u>	54
3.3.5	<u>Velocidade de Onda de Pulso</u>	54
3.3.6	<u>Fluxo Sanguíneo</u>	55
4	MODELO PARAMÉTRICO DA MECÂNICA VASCULAR NA PLETISMOGRAFIA POR OCLUSÃO VENOSA	58
4.1	Materiais	59

4.2 Procedimentos para a Pletismografia	60
4.2.1 <u>Protocolo de Aquisição dos Dados de Pletismografia</u>	60
4.3 Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV	63
4.3.1 <u>Equacionamento do modelo</u>	64
4.3.2 <u>Simulações</u>	65
4.3.2.1 <i>Fonte de Fluxo</i>	65
4.3.2.2 <i>Valores de Resistência Utilizados</i>	67
4.3.2.3 <i>Valores de Complacência Utilizados</i>	68
4.3.2.4 <i>Variação de Volume do Segmento na POV</i>	69
4.4 Validação do Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV	69
4.4.1 <u>Protocolo de Alteração Vasomotora Utilizado pelo LACE</u>	70
4.4.2 <u>Ajuste dos Parâmetros do Modelo de POV aos dados Experimentais</u>	70
4.5 Resultados do Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV	72
Basal	
4.6 Discussão dos Resultados do Modelo Paramétrico da Mecânica	75
Vascular na POV Basal	
4.6.1 <u>O Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV</u>	75
4.6.2 <u>Análise dos Valores de Fluxo, Complacência e Resistências obtidos</u>	76
4.6.3 <u>Análise do Comportamento dos Parâmetros do Modelo entre os Grupos</u>	78
<u>Experimentais</u>	
4.7 Resultados do Comportamento dinâmico do Sistema Cardiovascular	80
na POV	
4.8 Análise do Comportamento Temporal dos Parâmetros do Modelo pós-	84
hiperemia Reativa	
4.8.1 <u>Análise do Comportamento dos Parâmetros do Modelo entre os Grupos</u>	85
<u>Experimentais</u>	
5 FUNÇÃO DE RESTAURAÇÃO DO FLUXO PÓS-ISQUEMIA PROLONGADA	89
5.1 Resultados	91
5.2 Discussão	95
5.2.1 <u>Erro Médio Quadrático no Ajuste</u>	95
5.2.2 <u>Comportamento do Termo Exponencial da Equação 5.1</u>	96
5.2.3 <u>Comportamento do Termo Exponencial entre os Grupos</u>	97
5.2.4 <u>Comportamento do Termo Oscilatório entre os Grupos</u>	98
5.3 Protocolo Adaptado para a Obtenção de Maior Número de Pontos	99
Experimentais de Fluxo	
5.3.1 <u>Amostra</u>	100

5.3.2 <u>Procedimentos para a Coleta dos Sinais de Pletismografia</u>	101
5.3.3 <u>Resultados</u>	102
5.3.4 <u>Discussão</u>	104
6 DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE ULTRA-SOM PARA AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA FORMA DE ONDA DE DIÂMETRO ARTERIAL	106
6.1 Medidor de Diâmetro Arterial	106
6.1.1 <u>Materiais e Métodos para a Aquisição da Forma de Onda de Diâmetro</u>	107
6.1.1.1 <i>Tratamento do Sinal em Hardware</i>	107
6.1.1.2 <i>Tratamento do Sinal em Software</i>	110
6.2 Protocolo para Avaliação do Sistema Desenvolvido	111
7 DISCUSSÃO GERAL	113
8 CONCLUSÃO	115
BIBLIOGRAFIA	118
ANEXO A	129
ANEXO B	151

Capítulo I

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morbidade (LUZ e CESENA, 2001) e mortalidade no mundo ocidental (LUZ *et al.*, 2003; NIEMAN, 1999). Existem evidências de que a disfunção do endotélio vascular preceda alterações na estrutura do vaso, assim como os sinais e sintomas das doenças cardiovasculares, sendo um indicativo precoce de comprometimento vascular (PULLIN *et al.*, 2002). Adicionalmente, as alterações da função endotelial são consideradas importantes fatores contribuintes para o desenvolvimento e a progressão da aterosclerose e das doenças cardiovasculares (LÜSCHER e BARTON, 1997). Por conseqüência, busca-se atualmente, no estudo do endotélio vascular, o conhecimento e o desenvolvimento de métodos que possibilitem diagnóstico e tratamento precoces de disfunção endotelial, a estratificação de risco cardiovascular, a identificação dos fatores de risco para a instalação e progressão das doenças cardiovasculares e o direcionamento de estratégias de prevenção e tratamento (VALLANCE e CHAN, 2001).

O endotélio vascular atua na regulação do fluxo sanguíneo através da liberação de substâncias que estimulam a contração ou o relaxamento da musculatura lisa vascular, controlando o tônus e diâmetro do vaso (LÜSCHER e BARTON, 1997), em associação com outros mecanismos de manutenção da homeostasia vascular. Sendo assim, o estudo da mecânica vascular permite inferir sobre a integridade funcional do vaso. A avaliação não-invasiva da mecânica vascular vem tendo importância cada vez maior na investigação da normalidade ou disfunção endotelial por proporcionar maior praticidade, conforto e segurança ao paciente e também pela possibilidade de emprego das técnicas visando diagnóstico e tratamento precoces (BRANDS *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997).

O emprego de ferramentas que possibilitem maior conhecimento do comportamento vascular e maior capacidade de controle das doenças cardiovasculares resulta no aumento da capacidade de diagnóstico e intervenção precoce e específica. Os métodos atualmente empregados no estudo do comportamento vascular usam a magnitude ou o aumento do diâmetro ou do fluxo sanguíneo vascular, entre outras variáveis, para inferir sobre a normalidade funcional do sistema vascular (GREEN *et al.*, 2005; ALOMARI *et al.*, 2004; GOTO *et al.*, 2003; MYERS *et al.*, 2002; CARDILLO *et al.*, 1998; CABALLERO *et al.*, 1999; ANASTASIOU

et al., 1998; FONTANA *et al.*, 1997). Tais métodos não avaliam o comportamento dinâmico do diâmetro ou do fluxo sanguíneo (MOYNA e THOMPSON, 2004). As propriedades mecânicas do vaso, como complacência e resistência, entre outras, também são analisadas em um único instante de tempo ou a partir do valor médio de algumas observações (MYERS *et al.*, 2002; HILTAWSKY e ERMERT, 2002; SELZER *et al.*, 2001; GRAF *et al.*, 1999; BRANDS *et al.*, 1998; HOEKS *et al.*, 1997), logo, não é feita a avaliação do comportamento desses parâmetros durante um processo dinâmico de busca pela homeostasia do sistema.

1.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral desenvolver técnicas não-invasivas para avaliação da mecânica vascular e da dinâmica da reatividade vascular em resposta a estímulos perturbadores do equilíbrio do sistema vascular.

Pretendeu ainda que as técnicas desenvolvidas tivessem potencial para aplicação no auxílio ao diagnóstico de alterações da função vascular e na identificação do grau de comprometimento vascular.

1.2 Objetivos Específicos

Os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos visando atender ao objetivo geral:

- Caracterizar a mecânica arterio-venosa durante a pletismografia por oclusão venosa (POV) através de um modelo eletro-hidráulico;
- Analisar a dinâmica vascular na busca da homeostasia do sistema pós-hiperemia reativa, através da análise dos parâmetros do modelo eletro-hidráulico com o tempo pós-hiperemia;
- Desenvolver um modelo matemático que auxilie na compreensão da dinâmica de restauração do fluxo sanguíneo após um estímulo perturbador dos níveis basais de fluxo;
- Estimar parâmetros dos modelos propostos e investigar suas capacidades em caracterizar alterações do comportamento vascular induzidas em indivíduos normais;
- Desenvolver um sistema para a monitoração da forma de onda de diâmetro arterial.

No trabalho foram processados sinais de pletismografia para a obtenção de valores de fluxo sanguíneo. O processo de obtenção dos sinais de pletismografia por oclusão venosa (POV) foi considerado para o desenvolvimento do modelo eletro-hidráulico. A isquemia prolongada foi utilizada como estímulo perturbador do fluxo sanguíneo basal. A função vascular de indivíduos normais foi alterada por administração de ibuprofeno por via oral e pela prática de exercício, visando a extração de parâmetros do modelo descritores das alterações do comportamento vascular determinadas por uma tendência supostamente vasoconstritora no primeiro caso e vasodilatadora no segundo.

Na divisão do texto, o próximo capítulo apresenta um resumo da importância do endotélio vascular, da relação entre sua disfunção e as doenças cardiovasculares, dos métodos e técnicas empregados no estudo endotelial e de outros mecanismos fisiológicos de controle da dinâmica vascular.

O terceiro capítulo enfatiza o sistema vascular e os métodos e técnicas empregados investigação não-invasiva da mecânica vascular.

Como o presente trabalho possui algumas etapas distintas, a seção de materiais e métodos foi dividida em três capítulos. Os resultados e a discussão de cada etapa do trabalho é feita, também de forma segmentada, em subseções dentro de cada capítulo.

No Capítulo quatro são apresentados os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento do modelo eletro-hidráulico para o estudo da mecânica arterio-venosa na POV basal e pós-hiperemia reativa e o protocolo experimental para a coleta dos sinais de pletismografia por oclusão venosa. Neste mesmo capítulo, os resultados desta etapa do trabalho são apresentados e discutidos.

No Capítulo cinco é proposta uma função matemática de restauração do fluxo sanguíneo pós-hiperemia reativa e feita a análise do comportamento do fluxo. Os resultados e a discussão são feitos em subseções dentro do próprio capítulo.

O Capítulo seis apresenta o sistema desenvolvido para monitorização da forma de onda de diâmetro arterial e os resultados desta etapa.

No Capítulo sete é feita uma discussão geral de todo o trabalho e o Capítulo oito apresenta as conclusões do estudo.

Capítulo 2

FISIOLOGIA DO CONTROLE DA MECÂNICA VASCULAR

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morbidade (LUZ e CESENA, 2001) e mortalidade no mundo ocidental, apesar de sua incidência estar em declínio (LUZ *et al.*, 2003; NIEMAN, 1999) devido a intervenções farmacológicas e a cuidados relativos ao estilo de vida (SCHELL e MYERS, 1997). Segundo Nieman (1999), com exceção do ano de 1918, desde 1900 as doenças cardiovasculares têm sido a principal causa de morte entre os norte-americanos.

A etiologia das doenças cardiovasculares é multifatorial. Engloba fatores genéticos e ambientais (PULLIN *et al.*, 2002). Atualmente reconhece-se hipercolesterolemia, hipertensão arterial, sedentarismo, diabetes melito, obesidade, sobrepeso, tabagismo, história familiar de doenças cardiovasculares e envelhecimento (LUZ *et al.*, 2003; PULLIN *et al.*, 2002; LUZ e CESENA, 2001; GEBARA *et al.*, 1997a; GEBARA *et al.*, 1997b; LÜSCHER e BARTON, 1997) como alguns dos fatores envolvidos ou que predispõem à patogênese vascular e a eventos agudos (VALLANCE e CHAN, 2001).

A aterosclerose é apontada como o principal fator envolvido na causa desse grupo de doenças. A aterosclerose consiste em uma enfermidade inflamatória caracterizada por resposta inflamatória, imunológica e proliferativa local, acúmulo de LDLs oxidadas e redução da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) na parede arterial (LUZ *et al.*, 2003) e apresenta como característica a alteração da função endotelial (LUZ *et al.*, 2003; LUZ e CESENA, 2001; VALLANCE e CHAN, 2001; CABALLERO *et al.*, 1999; ANASTASIOU *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997).

O endotélio vascular consiste na camada mais interna do vaso. Através da atividade de suas células, o endotélio modula o tônus vascular, o crescimento da musculatura lisa vascular, a trombogênese e a adesão de moléculas ao endotélio, a coagulação e as respostas inflamatória e imune, o transporte de substâncias, o equilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes e o remodelamento vascular.

A disfunção endotelial está presente em indivíduos com doenças cardiovasculares e também naqueles que apresentam fatores de risco para desenvolvê-las (LUZ *et al.*, 2003; VAPAATALO e MERVAALA, 2001; LUZ e CESENA,

2001; VALLANCE e CHAN, 2001; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000; CABALLERO *et al.*, 1999; MANDINOV *et al.*, 1998; ANASTASIOU *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997), mesmo que não apresentem sinais de aterosclerose (LUZ *et al.*, 2003).

A disfunção endotelial representa um indício precoce de comprometimento vascular, pois precede a manifestação de alterações na estrutura vascular e o aparecimento de sinais e sintomas clínicos evidentes de doenças cardiovasculares (PULLIN *et al.*, 2002; KUVIN *et al.*, 2001; ANASTASIOU *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997). Acredita-se que a alteração da função endotelial possa predispor à aterosclerose (VALLANCE e CHAN, 2001) e ser uma das causas das doenças vasculares (LÜSCHER e BARTON, 1997). Acredita-se ainda que esta disfunção desencadeie alterações vasculares mais importantes, contribuindo substancialmente para progressão das doenças cardiovasculares (LUZ e CESENA, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997).

Esse capítulo aborda a estrutura e função do endotélio vascular. Aborda também relação da disfunção endotelial com algumas doenças ligadas ao sistema cardiovascular e os materiais e métodos usados na investigação do endotélio vascular. Por último, faz uma revisão de outros sistemas, além do endotélio, envolvidos no controle da mecânica vascular.

2.1 O Endotélio Vascular

O endotélio consiste na porção mais interna da parede vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). É formado por uma única camada celular e faz a interface entre o sangue e a musculatura lisa vascular (VALLANCE e CHAN, 2001), possuindo posição estratégica na manutenção da homeostase circulatória (LÜSCHER e BARTON, 1997). Durante muito tempo, acreditou-se que o endotélio desempenhasse apenas função de revestimento, pois recobre todos os vasos sangüíneos e linfáticos, independentemente do calibre.

A primeira comprovação da necessidade de endotélio na modulação da resposta vascular veio através de Furchgott e Zawadzki (1980), citados por vários autores (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997) como os pioneiros em desconsiderar o endotélio como uma camada inerte. Esse trabalho demonstrou que a vasodilatação causada por acetilcolina em anéis de aorta de coelho vasoconstritos por noradrenalina só ocorre na presença de endotélio íntegro (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001).

Atualmente sabe-se que o endotélio atua dinamicamente na manutenção da homeostasia corporal e, pela extensa rede de informações que forma, é hoje considerado o maior órgão sensorial do corpo humano (LUZ *et al.*, 2003).

2.1.1 Estrutura e Funções do Endotélio Vascular

O endotélio secreta mediadores solúveis difusíveis, capazes de agir em células fisicamente contíguas como as da musculatura lisa vascular, sendo considerado um órgão parácrino. Adicionalmente, responde a estímulos humorais, neurais, mecânicos e químicos com a síntese e liberação de substâncias para o controle da homeostase corporal, sendo considerado também um órgão endócrino (STEER, 2003; LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Os mediadores e/ou fatores envolvidos na dinâmica endotelial podem ser desativados dentro da própria célula endotelial, difundirem-se para o sangue ou atravessar a membrana muscular e agir sobre a musculatura lisa vascular. Através de sua extensa rede sensorial de células, o endotélio pode emitir respostas locais ou sistêmicas, dependendo da necessidade corporal. Em caso de morte de uma célula endotelial, outra célula mais próxima entra em processo de replicação e migração. Para manter a integração endotelial, os fenômenos de replicação e migração ocorrem inclusive em casos de implante de vaso sintético (LUZ *et al.*, 2003).

A célula endotelial possui forma alongada, núcleo proeminente e é repleta de organelas intracelulares. Quando adulta, possui invaginações na porção luminal da membrana citoplasmática, denominadas cavéolas e apresenta-se mais fenestrada em locais onde o transporte de substância é alto, como no intestino e no glomérulo. Acredita-se que as cavéolas aumentem a eficiência de moléculas que, quando estimuladas, produzem substâncias biologicamente ativas, denominadas moléculas efetoras. Adicionalmente, acredita-se que tais invaginações favoreçam a atuação de outros sinalizadores, bombas iônicas e de receptores nelas localizados (LUZ *et al.*, 2003).

A membrana endotelial em contato com o lúmen vascular encontra-se exposta a leucócitos, plaquetas, citocinas, hormônios, lipídeos, moléculas sinalizadoras, concentração de oxigênio e proteínas, entre outras substâncias, também circulantes no sangue, que podem servir de estímulo à atividade endotelial. O endotélio apresenta-se sensível à variação de pressão e do fluxo sanguíneo, a sinais de inflamação ou de coagulação, à ativação do sistema imune e ao balanço oxidativo.

Através da atividade de suas células, o endotélio modula o tônus vascular, o

crescimento da musculatura lisa vascular, a trombogênese e a adesão de moléculas ao endotélio, a coagulação e as respostas inflamatória e imune, pelo controle de interações celulares com plaquetas e leucócitos, o transporte de substâncias, o equilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes e o remodelamento vascular. O equilíbrio entre as substâncias liberadas pelo endotélio com funções antagônicas resulta em resposta fisiológica adequada (LUZ *et al.*, 2003; VAPAATALO e MERVAALA, 2001; VALLANCE e CHAN, 2001; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000; MANDINOV *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997). As substâncias liberadas pelo endotélio e algumas de suas funções serão abordadas nas seções seguintes.

2.1.1.1 *Endotélio no Controle da Mecânica Vascular*

Através da liberação de substâncias vasoativas, o endotélio induz a contração ou o relaxamento da musculatura lisa vascular, controlando alterações no tônus e nas dimensões do vaso, auxiliando na regulação da pressão e do fluxo sanguíneo, entre outras funções que lhe permitem contribuir para a homeostasia vascular (VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997). A normalidade da função endotelial é obtida pelo equilíbrio entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras. Equilíbrio no qual predomina a vasodilatação (LÜSCHER e BARTON, 1997). As substâncias vasoativas produzidas pelo endotélio são denominadas fatores derivados do endotélio, que são divididos em relaxantes e constritores (LUZ *et al.*, 2003).

2.1.2 Fatores Relaxantes Derivados do Endotélio (EDRF_s)

Inicialmente, denominou-se fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) o mediador endógeno, até aquele momento desconhecido, que induziu o relaxamento vascular por acetilcolina no experimento conduzido por Furchgott e Zawadzki (1980). Em seguida, o óxido nítrico (NO) foi identificado como este mediador. Atualmente, a lista de fatores relaxantes derivados do endotélio é composta principalmente pelo óxido nítrico, a bradicinina, a prostaciclina, a serotonina, a histamina, a substância P e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (LUZ *et al.*, 2003; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000).

O NO é considerado o principal fator relaxante derivado do endotélio (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; McCARTY, 2000; VERHAAR e RABELINK, 1998). Este radical livre (LÜSCHER e BARTON, 1997) participa da modulação de todas as

funções endoteliais conhecidas (LUZ *et al.*, 2003). Qualquer alteração em sua síntese ou degradação pode comprometer a função endotelial. Desta forma, a disfunção endotelial é sempre relacionada, ao menos parcialmente, à alteração do balanço na produção ou à diminuição da atividade desse gás (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; McCARTY, 2000; VERHAAR e RABELINK, 1998). A vasodilatação é freqüentemente associada apenas ao NO, ainda que outros mediadores influenciem no relaxamento da musculatura lisa vascular. Da mesma forma, a disfunção endotelial é muitas vezes justificada somente pela diminuição na sua produção ou biodisponibilidade (STEER, 2003; LUZ *et al.*, 2003; LOVELL *et al.*, 2000; VARIN *et al.*, 1997).

São destacadas como funções do NO a inibição da agregação plaquetária, da coagulação, da trombogênese, da migração de leucócitos, da inflamação, da proliferação, a migração das células da musculatura lisa vascular e a promoção da vasodilatação (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; McCARTY, 2000). O NO interage também com enzimas da cadeia respiratória influenciando a respiração mitocondrial (VALLANCE e CHAN, 2001).

A síntese de NO ocorre sob a ativação da enzima óxido nítrico sintase (NOS). Essa enzima está presente nas células endoteliais, macrófagos, plaquetas, musculatura lisa vascular, nervos e no cérebro (LÜSCHER e BARTON, 1997). Existem três isoformas conhecidas dessa enzima: a endotelial, a neural e a indutível (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001) ou macrofagócita (VALLANCE e CHAN, 2001). Cada uma das isoformas possui papel distinto na regulação do tônus vascular. As isoformas endotelial e neural estão presentes em células saudáveis. A indutível se faz presente principalmente em condições de infecção e inflamação (VALLANCE e CHAN, 2001).

A isoforma endotelial (eNOS ou NOS III) é a mais importante na regulação cardiovascular (STEER, 2003), estimulando constantemente a liberação de NO (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997) a partir de estímulos provenientes de estrógenos e da tensão de cisalhamento decorrente da passagem do sangue no interior do vaso. A tensão de cisalhamento resulta numa produção basal de NO (LUZ *et al.*, 2003) e na manutenção do tônus de repouso da musculatura lisa vascular (VALLANCE e CHAN, 2001). A eNOS é encontrada no endotélio vascular (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003), nas células epiteliais, nos monócitos, nos miócitos cardíacos, nos neurônios do hipocampo, nos macrófagos (LUZ *et al.*, 2003), nas plaquetas (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003) e no endocárdio (STEER, 2003). Entretanto, as cavéolas das células endoteliais concentram 80% da eNOS (STEER, 2003). A isoforma neural (nNOS ou NOS I) é encontrada nos neurônios, células

endoteliais, ilhotas pancreáticas, músculos esqueléticos, células da mácula densa glomerular, queratinócitos humanos e tecido retiniano (LUZ *et al.*, 2003). A eNOS e a nNOS são cálcio-dependentes. Estas respondem prontamente aos estímulos endoteliais e liberam NO em baixa quantidade. A isoforma indutível (iNOS ou NOS II) é regulada por estímulo da transcrição (LUZ *et al.*, 2003) e encontra-se presente na musculatura lisa vascular e nos macrófagos (LÜSCHER e BARTON, 1997). Requer horas para ser expressa, é cálcio-independente e produz altos níveis de NO por tempo prolongado (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997).

O óxido nítrico possui meia-vida de poucos segundos (LÜSCHER e BARTON, 1997), aproximadamente 50 s *in situ* (LUZ *et al.*, 2003) meia-vida inferior a 4 s em soluções biológicas (VALLANCE e CHAN, 2001). A biodisponibilidade do óxido nítrico depende da quantidade de oxigênio no meio (LUZ *et al.*, 2003). Como a célula endotelial vive em ambiente rico em oxigênio, existe uma produção constante de espécies reativas de oxigênio (ERO_x), conhecidas moduladoras de óxido nítrico. A meia-vida do óxido nítrico é maior que a das ERO_x. Entretanto, as ERO_x são fortemente reativas com proteínas, lipoproteína de baixa densidade (LDL), óxido nítrico e ácido desoxirribonucléico (DNA) por possuírem um elétron não-pareado na órbita externa de seu átomo. O produto da reação entre essas substâncias em geral é tóxico à célula endotelial e pode resultar em lesão de cadeias enzimáticas, da membrana celular ou pode danificar o DNA (Figura 2.1). Além disso, a reação indevida evita que o gás, a proteína ou lipoproteína desempenhem suas funções na integridade estrutural e funcional do vaso (LUZ *et al.*, 2003). O NO quando interage com as ERO_x, ainda dentro da célula endotelial, é convertido em, por exemplo, peróxido nitrito, tornando-se inativo em suas funções e reativo e lesivo à célula endotelial, estando esse produto envolvido na fisiopatologia da aterosclerose (LUZ *et al.*, 2003; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000).

O estresse oxidativo encontra-se relacionado com a fisiopatologia da diabetes, da hipertensão arterial, da hiperglicemia, da resistência insulínica e do câncer; com situações de deficiência de estrógeno, tabagismo e poluição e com o processo de envelhecimento (LUZ *et al.*, 2003). Segundo Vallance e Chan (2001), o aumento dos níveis de LDL resultam na maior formação da LDL oxidada (oxLDL). Desta forma, o estresse oxidativo é também observado na hipercolesterolemia (LUZ *et al.*, 2003).

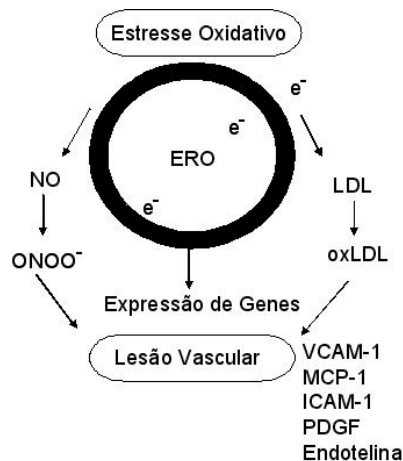


Figura 2.1: Interação do óxido nítrico com as EROx. Conseqüente lesão endotelial e desequilíbrio de sua função em situações de estresse oxidativo. Figura adaptada de Luz *et al.* (2003).

Em condições normais, substâncias antioxidantes como o superóxido dismutante, a catalase, a glutatona peroxidase e as vitaminas C, A e E desativam em parte as ERO_x, dentro da célula endotelial, mantendo o balanço oxidativo e a disponibilidade do óxido nítrico para suas funções. O equilíbrio oxidativo é quebrado quando há uma maior produção de EROx ou menor ação dos antioxidantes (LUZ *et al.*, 2003).

2.1.3 Fatores Constrictores Derivados do Endotélio (EDCF_s)

A vasoconstrição é causada pelo aumento da concentração de cálcio dentro da célula muscular lisa, o que pode ser estimulado por ação endotelial (LUZ *et al.*, 2003). A concentração intracelular de cálcio em condição de repouso é da ordem de 10⁻⁷ M. Durante a despolarização, essa atinge ordem de 10⁻⁵ M. Nas células excitadas ocorre o deslizamento dos filamentos de actina sobre os de miosina, desencadeando a contração. A proporção actina/miosina é maior na musculatura lisa que na estriada. Os filamentos de miosina, em menor número, são rodeados por um arranjo tridimensional de filamentos de actina, o que permite a formação de um maior número de pontes transversas e, conseqüentemente, intensa força de contração. A musculatura lisa vascular não apresenta sarcômeros, os filamentos de actina se ancoram em corpúsculos densos que são funcionalmente semelhantes às linhas Z. O fim da contração se dá com a remoção do cálcio mediada pela Ca⁺²-ATPase (AIRES, 1999).

Dentre os fatores constrictores derivados do endotélio (EDCF_s) estão a endotelina (ET₁), os prostanóides constrictores, que são produtos da ciclooxigenase como

endoperóxidos (PGH₂) e tromboxano A₂ (TXA₂), os componentes do sistema renina-angiotensina como a angiotensina II, e as espécies reativas do oxigênio (EROx), como o ânion superóxido (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997).

Existem três isoformas de endotelina identificadas, ET₁, ET₂ e ET₃ (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Dessas, apenas a ET₁ é produzida pelas células endoteliais. Os níveis plasmáticos de endotelina são baixos em condições normais (AIRES, 1999), sugerindo que sua formação ocorre em grande parte na parede vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). Lüscher e Barton relatam que em baixas concentrações, a ET₁ promove vasodilatação transitória em órgãos ou organismos íntegros. Nesses casos, a ET₁ promove a liberação de óxido nítrico e prostaciclina pelas células endoteliais através dos receptores ET_B, agindo como um sistema de realimentação negativa que reduz a produção de ET₁ (LÜSCHER e BARTON, 1997).

O papel vasoconstritor da ET₁ ocorreria em concentrações elevadas desse peptídeo, o que ocorre na presença de doença vascular (AIRES, 1999) severa (LUZ *et al.*, 2003) e falência renal (AIRES, 1999). A alta concentração de ET₁ pode levar a isquemias, arritmias e à morte. Vários antagonistas dos receptores de endotelina vêm sendo desenvolvidos e estudados em indivíduos normais e em pacientes (LÜSCHER e BARTON, 1997). A síntese de endotelina e alguns fatores que a estimulam ou inibem estão apresentados esquematicamente na Figura 2.2.

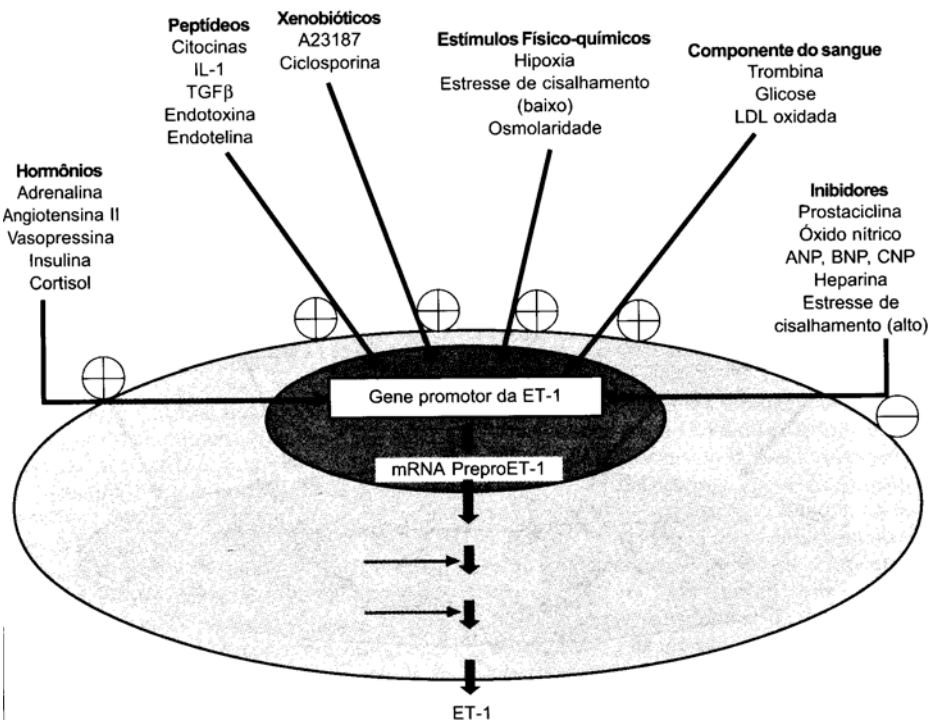


Figura 2.2: Fatores que estimulam ou inibem a síntese de endotelina pelo endotélio vascular. Figura de Luz *et al.* (2003).

2.1.3.1 *Produtos da Ciclooxygenase (COX)*

Através da via da ciclooxygenase (COX), as células endoteliais produzem prostaglandinas a partir do ácido araquidônico (AIRES, 1999). Essa via é ativada por hipóxia, tensão de cisalhamento (STEER, 2003; AIRES, 1999) e substâncias como acetilcolina, serotonina (STEER, 2003; AIRES, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997), histamina (AIRES, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997) noradrenalina e trombina (AIRES, 1999). A COX catalisa a conversão de ácido dihomo- γ -linoleico em PGE₁ e 15-OH-DGLA. O primeiro produto causa vasodilatação, inibição de agregação plaquetária e inibição de inflamação e o segundo leva ao aumento de agentes pró-inflamatórios (STEER, 2003).

Das prostaglandinas produzidas no endotélio via ciclooxygenase, o tromboxane A₂ (TXA₂) e a prostaglandina da série H (PGH₂) causam vasoconstrição (STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997), enquanto que a prostaciclina (PGI₂) causa relaxamento vascular (STEER, 2003) e, em conjunto com o óxido nítrico, maximiza a vasodilatação e a inibição da agregação plaquetária (LÜSCHER e BARTON, 1997), sendo esta última sua mais importante função (STEER, 2003). O TXA₂, produzido pela célula endotelial e plaquetas, induz, além da vasoconstrição, agregação plaquetária (AIRES, 1999). O TXA₂ e os PGH₂ ativam o receptor tromboxane nas plaquetas e nas células da musculatura vascular contrabalaneando os efeitos da prostaciclina e do óxido nítrico em ambas as células (STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Adicionalmente, a COX é uma importante fonte de superóxidos ânions, capazes de desativar rapidamente o óxido nítrico (STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Outras prostaglandinas citadas por Aires (1999) com ação vasomotora são as da série E (PGE), vasodilatadoras, e as da série F (PGF), potentes vasoconstritoras.

2.1.3.2 *Sistema Renina-Angiotensina (SRA)*

O endotélio também regula o sistema renina-angiotensina, SRA, (LÜSCHER e BARTON, 1997) localizado na cavéola. O SRA possui quatro componentes protéicos: a renina, o angiotensinogênio, a enzima conversora da angiotensina (ECA) e o receptor de angiotensina II, e participa ativamente do controle da pressão arterial (LUZ *et al.*, 2003).

A elevação de renina plasmática está associada a um maior risco de doença cardiovascular. A concentração de renina encontra-se elevada cerca de 30% em pacientes hipertensos (LUZ *et al.*, 2003). Os receptores de angiotensina II conhecidos,

ATI e o ATII, são localizados no músculo liso vascular (LUZ *et al.*, 2003). O ATII provoca vasodilatação mediada pelo óxido nítrico. A angio1-7, metabólito intermediário da conversão da angiotensina II, também promove vasodilatação mediada pelo óxido nítrico. O óxido nítrico atua na diminuição da atividade da ECA e do receptor ATI (LUZ *et al.*, 2003). O ATI quando ativado estimula a produção de endotelina, estimulando a proliferação celular (LUZ *et al.*, 2003) e potencializando o aumento do tônus vascular (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Nesse processo ocorre a produção de ânion superóxido através da NAD(P)H oxidase (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). A atuação da angiotensina II em diversas estruturas é apresentada na Figura 2.3.

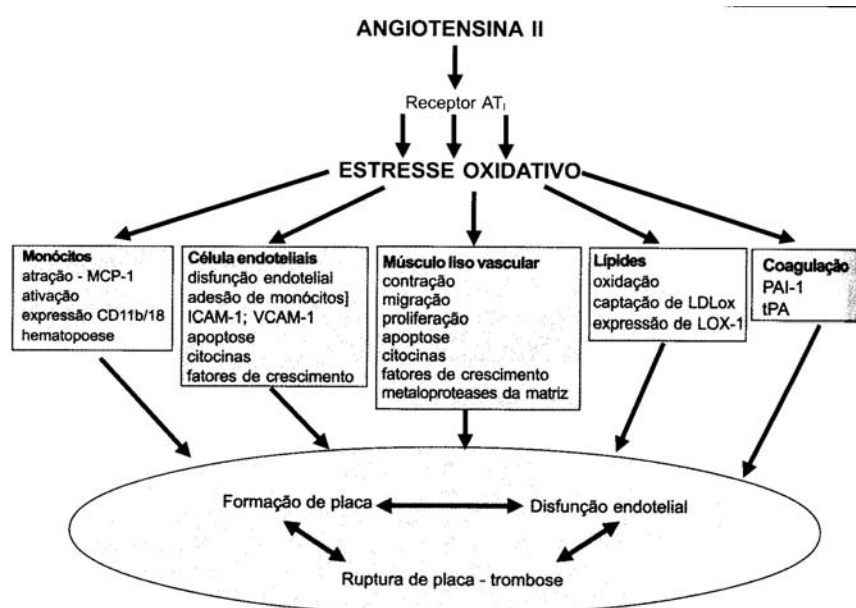


Figura 2.3: Efeitos da angiotensina sobre diferentes estruturas e sua relação com a lesão vascular. Figura de Luz *et al.* (2003).

Como visto anteriormente, o endotélio encontra-se envolvido não só no controle do diâmetro do vaso, como também na manutenção da estrutura da parede vascular. A disfunção endotelial pode favorecer a proliferação da musculatura lisa vascular e a agregação plaquetária. A integridade endotelial possui um papel protetor da estrutura e função vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). Lüscher e Barton (1997) relatam que a remoção de células endoteliais ocasionadas por alguns métodos invasivos leva à imediata deposição de plaquetas e células sanguíneas brancas no local da lesão e que a hiperplasia da camada íntima do vaso ocorre dentro de dias ou semanas. Isso ocorre porque as células endoteliais produzem fatores promotores e inibidores de crescimento. Em condições fisiológicas, predomina a inibição dos fatores promotores, o que resulta na ausência de crescimento da musculatura lisa vascular. A denudação endotelial e sua disfunção permitem a aderência plaquetária à parede vascular, a

vasoconstrição e estimulam a proliferação e migração de células da musculatura lisa vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). Alguns dos fatores envolvidos nesses processos serão apresentados nas seções seguintes.

2.1.4 Fatores Envolvidos no Crescimento da Musculatura Lisa Vascular

O fator de crescimento derivado da plaqueta (PDGF), o fator de crescimento de fibroblasto (PGF), o fator de crescimento semelhante à insulina ou insulina-símile (I-like-GF), a endotelina, o ânion superóxido e a angiotensina II são fatores liberados pelo endotélio e envolvidos na proliferação da musculatura lisa vascular. O receptor do PDGF, quando ativado, promove a mobilização do cálcio intracelular e a proliferação das células da musculatura lisa vascular. Esse fator e a endotelina estão envolvidos na fisiopatologia da aterosclerose e da hipertensão arterial severa (LUZ *et al.*, 2003).

Entre as substâncias liberadas pelo endotélio que inibem o crescimento da musculatura lisa vascular encontram-se o óxido nítrico, a prostaciclina, a bradicinina, o sulfato de heparina e o fator de transformação de crescimento- β . O óxido nítrico é um importante e potente agente regulador da proliferação e migração das células musculares e da adesão de leucócitos. A prostaciclina auxilia a prevenção de adesão e agregação plaquetária (LUZ *et al.*, 2003).

2.1.5 Moléculas de Adesão

Os leucócitos, linfócitos e monócitos circulantes geralmente não aderem na parede dos vasos. Entretanto, estes podem se tornar aderentes e cruzar a interface lúmen-íntima sob influência endotelial (LUZ *et al.*, 2003). As moléculas de adesão produzidas pelo endotélio evitam a ruptura da integridade vascular durante um processo inflamatório, regulam a resposta imunológica e a migração de linfócitos. Na inflamação, citocinas ativam a NOS indutível no endotélio, musculatura lisa vascular e plaquetas, causando o aumento da liberação de óxido nítrico, o que contribui para uma melhora da perfusão local. O óxido nítrico é o principal modulador das moléculas de adesão, que são as moléculas de adesão intercelular (ICAM), as moléculas de adesão de células vasculares (VCAM) e as moléculas de adesão endotelial de leucócitos, ELAM, (STEER, 2003).

2.1.6 Fatores Pró e Anti-Trombóticos

O fator tecidual ativador de plasminogênio facilita a fibrinólise. Esse fator pode ser estimulado pela bradicinina e pelo óxido nítrico, potente inibidor da trombogênese. O inibidor do ativador de plasminogênio I é um fator que favorece a trombogênese. Quando estimulado pela angiotensina II e pela endotelina, este provoca a formação de trombos intravasculares. A trombomodulina é o terceiro fator trombolítico liberado pelo endotélio, que também modula a formação desse trombo (LUZ *et al.*, 2003).

2.2 **Disfunção Endotelial**

Os mecanismos de disfunção endotelial são vários e complexos (LUZ *et al.*, 2003). Além da perda do equilíbrio oxidativo e da disponibilidade do NO, pode haver a diminuição da produção de co-fatores, o aumento de agentes inibidores da síntese de NO, diminuição da atividade da eNOS e a diminuição da sensibilidade da musculatura lisa vascular ao óxido nítrico (MAXWELL, 2002; VALLANCE e CHAN, 2001). A síntese de NO pode ser inibida por aminoácidos circulantes e pela dimetilarginina assimétrica (ADMA), um inibidor endógeno da NOS que se acumula em indivíduos com insuficiência renal (VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997), aterosclerose periférica oclusiva (LÜSCHER e BARTON, 1997) e hipercolesterolemia (VALLANCE e CHAN, 2001). A resistência à insulina encontra-se associada à deficiência do co-fator BH₄, outro envolvido na síntese do óxido nítrico. O tabagismo também contribui para a depleção deste co-fator. Entretanto, na maioria das doenças vasculares ocorre um aumento na produção de desativadores de óxido nítrico e não a diminuição em sua produção (LUZ *et al.*, 2003).

A disfunção endotelial pode ser causada por agressões mecânicas, químicas ou metabólicas ao vaso. A perda da integridade endotelial expõe as células da musculatura lisa vascular à ação direta de substâncias vasoconstritoras derivadas do endotélio ou transportadas pelo sangue (LUZ *et al.*, 2003). A denudação endotelial é percebida apenas em estágios avançados de aterosclerose. Entretanto, as mudanças na morfologia celular são quase invariavelmente associadas a alterações na função endotelial (LÜSCHER e BARTON, 1997). A disfunção endotelial é caracterizada pelo desequilíbrio na produção ou liberação de substâncias dependentes do endotélio, resultando em perda do balanço oxidativo com tendência do sistema à vasoconstrição, trombogênese, inflamação, aumento na expressão de moléculas de adesão, adesão de plaquetas e monócitos e proliferação das células da musculatura lisa vascular (LUZ

et al., 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997).

A disfunção endotelial é atualmente apontada como um marcador de risco para doenças cardiovasculares. A magnitude da vasodilatação, categorizada em normal ou reduzida, é considerada preditora independente de eventos cardiovasculares (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003), assim como a presença de aterosclerose em leito não-coronário, a hipertensão arterial e o estresse oxidativo, este último observado através da resposta nula ou diminuída à administração de ácido ascórbico intra-arterialmente (LUZ *et al.*, 2003).

A Figura 2.4 apresenta a associação entre alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares e a disfunção endotelial.

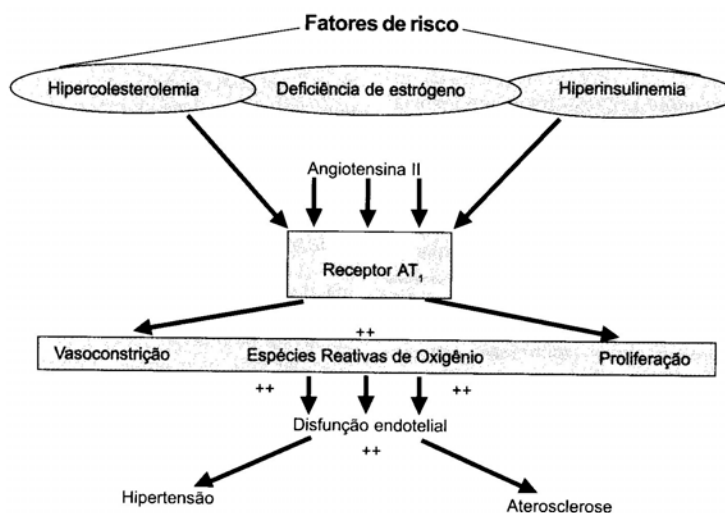


Figura 2.4: Associação entre alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares, a produção aumentada de angiotensina e a influência do desequilíbrio endotelial no comprometimento da estrutura e função do vaso. Figura de Luz *et al.* (2003).

A melhoria da função endotelial é muitas vezes possível com o uso de medicamentos, mas nem todas as medicações apresentam efeito duradouro (LUZ *et al.*, 2003). A administração de ácido ascórbico, por exemplo, tem sido capaz de melhorar a vasodilatação de diabéticos, fumantes, hipercolesterolêmicos e de pacientes com insuficiência cardíaca após duas horas, com a possibilidade de manutenção do efeito por dias (VALLANCE e CHAN, 2001). Por outro lado, certos medicamentos visando melhorar a mecânica vascular, como alguns anti-hipertensivos, aumentam o estresse oxidativo, o que aumenta o comprometimento da função endotelial. Os mecanismos de disfunção endotelial são vários, complexos e não são totalmente conhecidos, assim como as vias de atuação dos diferentes recursos terapêuticos (LUZ *et al.*, 2003).

Uma revisão mais detalhada do endotélio vascular e da relação entre sua disfunção e as doenças cardiovasculares é conduzida no ANEXO A.

2.3 Principais Linhas de Pesquisa sobre o Endotélio Vascular

Como visto anteriormente, a disfunção endotelial está associada não só às doenças cardiovasculares como aos fatores de risco e parece aumentar a incidência de eventos clínicos cardiovasculares (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003; LUZ e CESENA, 2001; CABALLERO *et al.*, 1999; ANASTASIOU *et al.*, 1998). A importância do endotélio vascular aumenta uma vez que a disfunção endotelial precede sinais clínicos de alterações na estrutura da parede vascular (PULLIN *et al.*, 2002). Atualmente os estudos sobre endotélio buscam conhecimentos direcionados ao diagnóstico precoce e à determinação dos fatores de risco, além de ferramentas que possibilitem intervenção terapêutica precoce e específica sobre as doenças cardiovasculares.

Em termos de função endotelial, tenta-se estabelecer os processos químicos pelos quais as substâncias dependentes do endotélio são liberadas, a função dessas substâncias e os fatores que estimulam ou inibem a sua liberação ou atuação. Adicionalmente, é objeto de estudo a resposta vascular a essas substâncias na presença de lesão endotelial. Substâncias capazes de proteger o endotélio e influenciar a síntese de óxido nítrico, principal vasodilatador dependente do endotélio, também vêm sendo amplamente estudadas. Outras linhas de pesquisa enfocadas na literatura são a influência da diminuição, supressão ou excesso de outras substâncias dependentes do endotélio sobre a resposta motora vascular e a capacidade de drogas em restaurar a integridade do endotélio em diversas doenças cardiovasculares (ZICCARDI *et al.*, 2002; MAIORANA *et al.*, 2001; BONNIN *et al.*, 2001; Van MOURIK, 1999; MAXWELL, 2002; VALLANCE e CHAN, 2001; VAPAATALO e MERVAALA, 2001; MANDINOV *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997).

O exercício físico é outro foco de estudos e vem sendo considerado um fator importante na redução do risco de doenças cardiovasculares, na recuperação da normalidade da função endotelial e no tratamento não farmacológico de doenças como hipertensão por promover resposta adaptativa de dilatação vascular, estando seus benefícios intimamente ligados à função endotelial (MOYNA e THOMPSON, 2004; ARVOLA *et al.*, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997). Além do combate ao sedentarismo, a mudança de outros hábitos como tabagismo, estresse emocional e a adoção de dietas equilibradas, entre outros, é apontada como adequada à restauração

da função endotelial (VERHAAR e RABELINK, 1998). O controle dos fatores de risco é tido como medida terapêutica básica na reversão da disfunção endotelial (LUZ *et al.*, 2003).

A manipulação genética das células endoteliais ou suas precursoras é outra linha de pesquisa e abre amplas perspectivas no controle do envelhecimento dessas células e na neovascularização de regiões isquêmicas (LUZ *et al.*, 2003).

Alguns métodos utilizados na investigação do endotélio vascular serão abordados na próxima seção.

2.4 Métodos no Estudo do Endotélio Vascular

Para o estudo do endotélio, cujas principais linhas de pesquisa foram apresentadas na seção anterior, são utilizados diferentes métodos e técnicas. Alguns recursos usuais no estudo da estrutura e função endotelial são abordados a seguir.

2.4.1 Morfologia e Caracterização Molecular do Endotélio

A caracterização molecular e celular do tecido endotelial pode ser feita através da cultura do tecido endotelial, associada a ferramentas da biologia molecular. As células para cultura são retiradas, por exemplo, de veias do cordão umbilical e de safena humanas e de artérias aorta e coronária de animais. A cultura pode ser feita em placas de Petri ou em objetos de teste (*phantoms*) que mimetizam capilares. Ainda pode ocorrer o cultivo de células endoteliais e da musculatura lisa vascular em camadas adjacentes, separadas por uma membrana de polímero permeável a macromoléculas, visando inferir sobre a interação entre essas camadas na parede dos vasos (LUZ *et al.*, 2003).

2.4.2 Estudo da Função Endotelial em Células Cultivadas

O estudo da vasodilatação pela atuação do endotélio pode ser realizado em monocamadas de células endoteliais cultivadas. São observadas as moléculas produzidas pelas células em cultura e a atividade protéica em resposta a diferentes estímulos bioquímicos, farmacológicos ou físicos.

A tensão de cisalhamento é o principal estímulo mecânico para a vasodilatação endotélio-dependente (LUZ *et al.*, 2003). A vasodilatação é induzida através de um mecanismo complexo que permite resposta rápida e de curta duração assim como uma vasodilatação sustentada em resposta às variações da tensão de cisalhamento. Esse mecanismo envolve canais iônicos, transcrição genética e fosforilação de proteínas (VALLANCE e CHAN, 2001).

A mimetização do fluxo sanguíneo atuando sobre as células cultivadas é feita através de um sistema em placa e cone (*cone plate*), que permite estimar a tensão de cisalhamento (*shear stress*) ao qual essas células estão submetidas em diferentes fluxos. Caso a cultura do tecido endotelial seja feita em capilares artificiais, pode-se gerar variação não só de fluxo sanguíneo, como também de pressão, possibilitando condicionar ambos os parâmetros para estimação do funcionamento endotelial em veias, submetidas à menor pressão, e em artérias, submetidas à pressão maior (LUZ *et al.*, 2003).

2.4.3 Estudo da Função Endotelial em Animais e Órgãos Isolados

Vasos de animais saudáveis ou que apresentem alguma doença de interesse como diabetes, hipertensão e dislipidemia, são utilizados para análise da função endotelial. Anéis de aorta de coelho contendo a camada íntima da parede do vaso e animais como ratos e *hamsters*, cujos vasos podem ser observados em microscópio por transiluminação, são bastante estudados (LUZ *et al.*, 2003). Para avaliar a integridade vascular, a vasodilatação é induzida por medicamentos ou substâncias vasodilatadoras dependentes e independentes do endotélio (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997). A administração de substâncias vasoconstritoras pode preceder o estímulo vasodilatador exógeno e este último pode ser aplicado em diferentes doses para observação da magnitude dos efeitos (LUZ *et al.*, 2003).

Os valores de diâmetro vascular são obtidos por sistemas de imagem digital. O fluxo sanguíneo pode ser estimado através da utilização de sistemas laser Doppler. A permeabilidade capilar pode ser avaliada através da marcação fluorescente de moléculas a serem injetadas na circulação, permitindo detectar o extravasamento de líquido para o espaço intersticial, extravasamento que, quando aumentado, representa um fator importante na fisiopatologia do colapso vascular (LUZ *et al.*, 2003).

2. 4.4 Estudos da Função Endotelial na Dinâmica Vascul ar em Humanos

Procedimentos invasivos são inadequados para crianças, adolescentes e adultos assintomáticos (MOYNA e THOMPSON, 2004). Os estudos invasivos em humanos são, geralmente, realizados em pacientes durante algum procedimento necessário ao seu diagnóstico ou tratamento (LUZ *et al.*, 2003). Segundo Moyna e Thompson (2004), avaliações não-invasivas da função endotelial de artérias periféricas podem ser estendidas para as artérias coronárias. Adicionalmente, a avaliação funcional do endotélio por técnicas não-invasivas apresenta boa reprodutibilidade (LUZ *et al.*, 2003) e capacidade prognóstica para eventos cardiovasculares (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003), com cerca de 90% de valor preditivo negativo, devendo ser incluída como alvo terapêutico na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (LUZ *et al.*, 2003).

O estado funcional do endotélio pode ser avaliado através do estudo da resposta vascular a determinado estímulo, devido à participação do endotélio no controle da mecânica vascular. Alguns fatores que estimulam a função endotelial são bastante aplicados para inferir sobre a integridade vasomotora. Os recursos mais usuais são os farmacológicos e mecânicos. Estímulos fisiológicos como o exercício e o estresse mental também são amplamente utilizados (GREEN *et al.*, 2005; MOYNA e THOMPSON, 2004; GOTO *et al.*, 2003; HILTAWSKY e EMERT, 2002; MYERS *et al.*, 2002; CARDILLO *et al.*, 1998; CARDILLO *et al.*, 1997; FONTANA *et al.*, 1997; SUNG *et al.*, 1997; MILLS e DIMSDALE, 1996). Os principais estímulos utilizados na literatura estão descritos a seguir.

2.4.4.1 *Hiperemia Reativa*

A hiperemia reativa consiste na elevação acentuada do fluxo durante o restabelecimento da circulação após oclusão temporária (AIRES, 1999) e representa um importante estímulo à ação endotelial (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003). Para o estabelecimento do processo de hiperemia reativa, geralmente é realizada a oclusão do fluxo sangüíneo nos segmentos braço ou antebraço por aproximadamente cinco minutos (MOYNA e THOMPSON, 2004; ALOMARI *et al.*, 2004; VOGEL, 2001). A isquemia causa dilatação arteriolar e queda da resistência vascular periférica. Após a liberação do fluxo sangüíneo, este apresenta-se aumentado resultando em exposição da camada endotelial à grande tensão de cisalhamento. Ocorre então a hiperpolarização do endotélio, o que resulta na liberação

de substâncias vasodilatadoras, levando à chamada dilatação arterial mediada por fluxo, DMF (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003), que consiste na variação percentual do diâmetro arterial em relação ao diâmetro basal durante a hiperemia reativa, e é calculada por (LUZ *et al.*, 2003):

$$DMF(\%) = \frac{D_{HR} - D_{BASAL}}{D_{BASAL}} \times 100 \quad (2.1)$$

onde D_{HR} é o diâmetro na hiperemia reativa e D_{BASAL} é o diâmetro basal da artéria.

Em geral são usados aparelhos de ultra-sonografia comuns na prática médica, que disponibilizam Modo-B e Doppler, para observar, respectivamente, diâmetro arterial e fluxo sanguíneo, o segundo estimado a partir da velocidade de fluxo (LUZ *et al.*, 2003; HILTAWSKY e EMERT, 2002; VOGEL *et al.*, 1997; ANDERSON e MARK, 1989). Os resultados quanto à vasodilatação em protocolos de hiperemia reativa permitem inferir sobre o prognóstico de algumas doenças cardiovasculares (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003). Há evidências de que a vasodilatação mais próxima ao normal em resposta à isquemia diminui o risco de eventos como morte, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, angina instável e fibrilação ventricular, sendo preditora independente de eventos ao lado da idade, insuficiência renal e cirurgia vascular fora do leito carotídeo (LUZ *et al.*, 2003). A variação do diâmetro vascular também resulta em menor risco de complicações circulatórias no pós-operatório de cirurgias vasculares. Sendo assim, Luz *et al.* (2003), defendem que a reatividade vascular por hiperemia reativa deva ser incorporada em exames de risco cirúrgico em pacientes a serem submetidos a procedimentos vasculares. Uma vez constatada a disfunção endotelial, que esta seja tratada com medicamentos capazes de reverter o quadro, como as estatinas. A estabilização das placas de ateroma incorreria em menor risco de eventos no pós-operatório.

Entretanto, há uma divergência entre diversos autores quanto ao valor de referência para o comportamento vascular normal. Segundo Luz *et al.* (2003), durante o processo de hiperemia reativa, o fluxo sanguíneo pode alcançar valores 100 a 300% maiores. No experimento conduzido por Anderson e Mark (1989), a hiperemia reativa induzida por 10 min de isquemia resultou em aumento de fluxo de aproximadamente 290%. Porém, muitos protocolos utilizam tempos de oclusão menores que 10 min. Quanto ao diâmetro vascular, uma vasodilatação de 10% após oclusão do fluxo braquial é estabelecida como normal para Hiltawsky e Emert (2002). Vogel (2001) considera valores maiores que 10% para a oclusão do fluxo feita no braço. Luz *et al.* (2003) consideram valores acima de 8% normais para indivíduos do sexo masculino.

Para Vogel (2001) na oclusão do antebraço, o aumento de diâmetro superior a 6% é considerado adequado. Segundo Betik *et al.* (2004) e Berry *et al.* (2000), os valores de DMF considerados normais variam de 5% a 22%. Adicionalmente, o que é considerado normal em um estudo é apontado em outro como indicativo de disfunção. O protocolo utilizado para as medições pode explicar em parte a disparidade de resultados. Dentre os fatores pode estar o método utilizado para medição (*echo-tracking* ou velocimetria por Doppler, por exemplo), o sítio arterial sob observação (BETIK *et al.*, 2004; BERRY *et al.*, 2000), uma vez que a dilatação é inversamente relacionada ao diâmetro inicial da artéria (VOGEL, 2001), o local da oclusão (mais proximal ou distal), a duração da oclusão, entre outros (BETIK *et al.*, 2004; BERRY *et al.*, 2000).

2.4.4.2 Utilização de Substâncias Vasomotoras

Procedimentos utilizando substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras também são empregados para a observação da variação de diâmetro do vaso por ação do endotélio ou de outros sistemas de controle vascular (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003). A influência das substâncias vasoativas no diâmetro arterial pode ser observada com ultra-sonografia (LUZ *et al.*, 2003; JOANNIDES *et al.*, 1997). Uma possibilidade é utilizar inicialmente substâncias vasoconstritoras para posterior observação da vasodilatação estimulada pela administração de substâncias vasodilatadoras dependentes do endotélio, a fim de avaliar a normalidade ou não da vasodilatação endotélio-dependente. Pode-se também traçar curvas de vasodilatação endotélio-dependente em função da dosagem dessas substâncias vasodilatadoras (LUZ *et al.*, 2003).

A administração de acetilcolina estimula a liberação de óxido nítrico pelo endotélio e é comumente utilizada em experimentos (MOYNA e THOMPSON, 2004; STEER, 2003; JOANNIDES *et al.*, 1997). A observação de quadros de vasoconstrição em resposta à administração de acetilcolina em pessoas com doenças coronarianas consiste em marcador prognóstico com valor preditivo independente de eventos cardiovasculares (LUZ *et al.*, 2003). Outras substâncias, como a bradicinina, a substância-P, a noradrenalina e a serotonina, podem ser empregadas no estudo da vasodilatação endotélio-dependente (MOYNA e THOMPSON, 2004). Substâncias vasodilatadoras independentes do endotélio, como a nitroglicerina e o nitroprussiato de sódio, podem ser usadas para descartar a hipótese de que uma possível diminuição da vasodilatação seja consequência de disfunções da musculatura lisa

vascular. Essas substâncias estimulam a musculatura vascular de forma direta, contornando a necessidade de produção de óxido nítrico para a promoção da vasodilatação (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003).

A vasodilatação endotélio-dependente induzida pelo óxido nítrico pode ser farmacologicamente inibida por análogos da L-arginina como L-N^G-monometil arginina (L-NMMA) e L-nitroarginina metil-ester (L-NAME). Essas substâncias competem com a L-arginina na interação com a enzima NOS, resultando em constrição vascular sem oposição do sistema simpático ou endotelial (STEER, 2003; JOANNIDES *et al.*, 1997). Sua ação pode ser revertida pela administração intravenosa de L-arginina (VALLANCE e CHAN, 2001).

Através da utilização de substâncias vasoativas, foi possível estabelecer a importância do óxido nítrico na manutenção da mecânica vascular em diversos sítios vasculares como braquial, radial, cerebral, pulmonar, renal e coronário. Tanto em artérias condutoras quanto nas de resistência e nas veias, a administração de L-NMMA resulta em inibição da vasodilatação endotélio-dependente induzida por agonistas do óxido nítrico como acetilcolina, bradicinina, serotonina e substância P. O grau de inibição varia com o sítio vascular. Os vasos condutores parecem ter menor quantidade de óxido nítrico basal que os vasos de resistência. O Tônus basal no sistema venoso de animais e humanos parece não ser alterado pela inibição da NOS (VALLANCE e CHAN, 2001). A infusão local de L-NMMA na circulação do antebraço humano provoca vasoconstrição e aumento da resistência vascular periférica e, infundida intravenosamente, resulta no aumento da pressão sanguínea, indicando que a musculatura vascular encontra-se em constante estado de vasodilatação devido à liberação constante de óxido nítrico pelo endotélio, o que mantém as condições hemodinâmicas basais do vaso (VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997). Clinicamente, drogas que mimetizam o óxido nítrico e/ou melhoram a síntese ou disponibilidade dessa substância já são administradas com efeitos positivos em animais e humanos no controle da aterosclerose, na diminuição da resistência vascular periférica, na melhoria do fluxo sanguíneo e na redução dos níveis pressóricos e em afecções pulmonares como hipertensão pulmonar e algumas síndromes respiratórias, visando reduzir a pressão arterial pulmonar e aumentar a oxigenação (VALLANCE e CHAN, 2001).

2.4.4.3 *Estresse Mental*

O endotélio participa da modulação vasomotora em resposta a uma variedade

de estímulos psicológicos e pode estar envolvido no mecanismo fisiopatológico no qual ocorre lesão cardiovascular em situações de estresse (CARDILLO *et al.*, 1998).

A reação cardiovascular ao estresse mental é atribuída principalmente à ativação do sistema nervoso simpático, que resulta no aumento da pressão sanguínea através de variações no débito cardíaco e na resistência periférica. Nesse processo, ocorre a diminuição do fluxo sanguíneo renal e esplênico e o aumento do fluxo na musculatura esquelética. O endotélio vascular contribui para o aumento do fluxo muscular. Neste caso, especula-se que o aumento da tensão de cisalhamento sobre o endotélio, decorrente do aumento do fluxo sanguíneo, desencadeie maior produção de óxido nítrico, auxiliando a vasodilatação. Outras teorias relacionam a maior atividade endotelial com estímulos colinérgicos e com a estimulação de adrenoceptores atuando sobre as células endoteliais (CARDILLO *et al.*, 1997).

A participação do endotélio no controle da vasodilatação durante o estresse mental foi demonstrada por Cardillo *et al.* (1997). Os autores observaram a redução da vasodilatação em resposta a um protocolo de estresse mental após a aplicação de L-NMMA. Não houve alteração significativa das respostas de pressão sanguínea e frequência cardíaca ao estresse mental após a administração da substância. A vasodilatação em resposta à administração de nitroprussiato de sódio, vasodilatador independente do endotélio, não foi reduzida por L-NMMA. Os autores atribuíram a diminuição da vasodilatação durante o protocolo de estresse mental à inibição da produção de óxido nítrico.

Alguns protocolos são utilizados para causar estresse psicológico. O teste aritmético é um recurso bastante utilizado para promoção de estresse mental com respostas cardiovasculares confiáveis (FONTANA *et al.*, 1997; CARDILLO *et al.*, 1998; SUNG *et al.*, 1997). No protocolo de Cardillo *et al.* (1997) foram utilizados números de três dígitos destes foram subtraídos o número sete por três minutos. O voluntário deveria fazer a subtração da forma mais rápida e acurada possível. Os participantes eram incomodados intencionalmente para fazerem os cálculos mais rapidamente e corrigidos quando os resultados ditos eram incorretos. No protocolo de SUNG *et al.* (1997) os números de três algarismos foram subtraídos de três ou sete unidades durante períodos de cinco minutos. Neste caso o voluntário era forçado a refazer a subtração em caso de erro. Mills e Dimsdale (1996) adotaram um protocolo de estresse mental diferente do teste aritmético. Cada voluntário era orientado a defender-se de uma falsa acusação de roubo, durante três minutos, em frente a uma câmera de vídeo. Estes deveriam falar de forma lógica e sem pausas durante o decorrer do teste.

2.4.4.4 Exercícios

O exercício tem importância destacada na análise do comportamento mecânico do vaso por apresentar-se como um estímulo fisiológico, real e envolvido na dinâmica vascular (MYERS *et al.*, 2002).

É sabido que exercícios intensos podem oferecer risco vascular (GOTO *et al.*, 2003). Contudo, a prática de exercícios leva à importante resposta adaptativa da musculatura vascular ao exercício (LÜSCHER e BARTON, 1997), diminuindo a morbidade e mortalidade por eventos cardiovasculares (GOTO *et al.*, 2003).

Há evidências do envolvimento do endotélio na hiperemia decorrente do exercício (GOTO *et al.*, 2003; GREEN *et al.*, 2002; MAIONARA *et al.*, 2001; TUNE *et al.*, 2000). A atuação endotelial é estimulada pelo aumento do fluxo sanguíneo. O exercício provoca o incremento do fluxo nos músculos dos segmentos em atividade, no miocárdio (MOYNA e THOMPSON, 2004) e também nos segmentos não exercitados (GREEN *et al.*, 2005). Esse incremento resulta em maior tensão de cisalhamento sobre as paredes dos vasos, o que estimula a vasodilatação endotélio-dependente (MOYNA e THOMPSON, 2004). A tensão de cisalhamento sobre os vasos varia com o tipo e com a intensidade dos exercícios (GREEN *et al.*, 2005; GOTO *et al.*, 2003), assim como com a posição do indivíduo durante a execução do exercício (SORENSEN *et al.*, 2000), resultando em diferentes respostas vasculares.

O óxido nítrico encontra-se envolvido na modulação da resposta vascular ao exercício estático (CARDILLO *et al.*, 1997) e dinâmico. Green *et al.* (2005), compararam o fluxo sanguíneo do antebraço, estimado a partir de informações de velocidade de fluxo obtidas com ultra-som Doppler, em dois exercícios dinâmicos diferentes. Usaram L-NMMA como antagonista do óxido nítrico para caracterizar que a vasodilatação durante os exercícios sofre influência endotelial. No exercício de *handgrip* com contrações isotônicas a cada dois segundos, iniciadas com carga de 1,25 Kg, incrementada com 1,25 Kg a cada três minutos, até a carga máxima de 4,75 Kg, a resposta endotelial foi menor que a obtida no exercício com cicloergômetro com cargas de 60, 80 e 120 W, cujo incremento também acontecia a cada 3 minutos. A coleta de dados foi realizada no último minuto de trabalho para cada carga no braço contralateral ao membro em atividade no *handgrip*. Este estudo e o de 2002, conduzido pelo mesmo grupo de pesquisa, mostram que a ativação endotelial pode ser observada mesmo quando o local de medição não corresponde ao segmento em exercício.

2.4.4.5 Cold Test

Luz *et al.* (2003) citam o *cold test* como um dos métodos usados na investigação do endotélio vascular. Entretanto, os próprios autores afirmam que a vasoconstrição ocorre predominantemente por ativação simpática. Na técnica descrita, o membro superior do indivíduo é submerso em água a 0 °C e são observadas as variações de fluxo e calibre nas artérias coronárias.

2.4.4.6 Ingestão de Alimentos Hipercalóricos

A manutenção de uma dieta rica em gorduras encontra-se associada ao aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos e colesterol e pode contribuir para um quadro de disfunção endotelial e aterosclerose (BAE *et al.*, 2003; BAE *et al.*, 2001; VOGEL *et al.*, 1997), havendo uma relação direta entre os níveis de colesterol e triglicerídeos e o risco de doenças coronarianas (BAE *et al.*, 2003; VOGEL *et al.*, 1997). A ingestão continuada de alimentos ricos em gordura é responsável também pelo aumento da magnitude e da duração da lipemia pós-prandial. Inversamente, uma dieta equilibrada contribui para o controle e reversão da aterosclerose (CHUNG *et al.*, 1998).

Uma única refeição rica em gorduras pode causar alterações transitórias na mecânica vascular. Tais alterações vêm sendo estudadas por diversos autores (BAE *et al.*, 2003; BAE *et al.*, 2001; GOKCE *et al.*, 2001; MARCHESI *et al.*, 2001; RAITAKARI *et al.*, 2000; WILLIAMS *et al.*, 1999; CHUNG *et al.*, 1998; VOGEL *et al.*, 1997). O achado mais freqüente é a diminuição da dilatação mediada por fluxo (BAE *et al.*, 2003; BAE *et al.*, 2001; WILLIAMS *et al.*, 1999; VOGEL *et al.*, 1997), comumente justificada pelos níveis aumentados de triglicerídeos na fase pós-prandial e pelo estresse oxidativo decorrente de produtos da oxidação de lipídeos. Bae *et al.* (2003) constataram o aumento do fluxo durante a hiperemia reativa na fase pós-prandial. Em contrapartida, muitos estudos encontram picos de fluxo pré e pós-prandial semelhantes (RAITAKARI *et al.*, 2000; WILLIAMS *et al.*, 1999; MARCHESI *et al.*, 2001; VOGEL *et al.*, 1997). O aumento do diâmetro basal também é observado (RAITAKARI *et al.*, 2000) e relacionado ao aumento da liberação de insulina. Porém, a maioria dos estudos não encontra diferença estatística no fluxo sanguíneo basal pré e pós-prandial (BAE *et al.*, 2003; WILLIAMS *et al.*, 1999; MARCHESI *et al.*, 2001; VOGEL *et al.*, 1997), apesar de observarem o aumento dos valores médios na fase pós-prandial (BAE *et al.*, 2003; BAE *et al.*, 2001; MARCHESI *et al.*, 2001; VOGEL *et al.*, 1997).

2.5 Outros Mecanismos Envolvidos no Controle da Mecânica Vascular

Além do endotelial, existem outros sistemas de controle da resposta vascular em repouso, durante estímulos fisiológicos ou exógenos e em situações de doença. Assim, muitos fatores que servem de estímulo à atividade endotelial acionam outras vias de controle do sistema cardiovascular. Esta seção tem por objetivo apontar outros mecanismos importantes envolvidos no controle da resposta vascular.

A circulação periférica é controlada tanto por fatores teciduais locais quanto pelo sistema nervoso (BERNE e LEVY, 1996). O sistema vascular é controlado pelo endotélio vascular e por atividade miogênica a nível local. É submetido também à influência bulbar que, através de barorreceptores e quimiorreceptores, realiza o controle neuro-humoral do sistema cardiovascular. Por último, envolve os centros neurais superiores, incluindo estruturas neocorticais, límbicas e hipotalâmicas, que geram respostas coerentes com estímulos comportamentais, viscerais e hormonais (TIBIRIÇÁ, 2001), conforme o esquema apresentado na Figura 2.5. A importância relativa dos mecanismos de regulação não é a mesma em todos os tecidos. Na pele e região esplênica predomina a regulação neural, enquanto que no coração e cérebro, a regulação neural é secundária. Nas estruturas vitais e no músculo esquelético, predominam os fatores metabólicos (BERNE e LEVY, 1996).

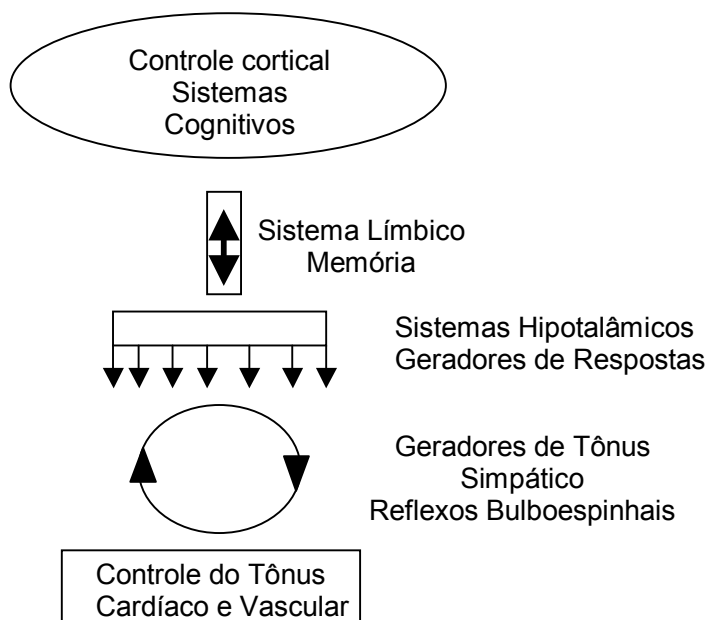


Figura 2.5: Vias de regulação extrínseca do coração e da circulação e intrínseca do coração. Figura adaptada de Tibiriçá (2001).

2.5.1 Auto-regulação do Fluxo Sangüíneo

Em muitos tecidos, o ajuste do fluxo sangüíneo parece estar relacionado à atividade metabólica local. As variações de pressão arterial com níveis constantes de metabolismo tecidual promovem alterações na resistência vascular de forma a manter o patamar do fluxo sangüíneo na região. Este mecanismo é denominado de auto-regulação do fluxo sangüíneo. O mecanismo responsável pela manutenção de níveis adequados de fluxo sangüíneo em condições de metabolismo estável é desconhecido, mas considera-se que haja atuação endotelial e a existência de um mecanismo miogênico de controle (BERNE e LEVY, 1996).

O mecanismo miogênico propõe que o estiramento da musculatura lisa vascular seja responsável por sua contração e que a diminuição da tensão sob os músculos vasculares resulte no relaxamento muscular. Assim, o acréscimo de pressão, acompanhado do aumento do fluxo sangüíneo, levaria ao aumento da distensão tecidual e da tensão sobre a parede vascular e à constrição vascular, que regularia o fluxo no sentido oposto (BERNE e LEVY, 1996). Os vasos de resistência mostram contração e relaxamento intermitentes, não havendo uma simples contração sustentada em resposta ao estiramento. Contudo, acredita-se que a elevação da pressão de perfusão resulte em contrações mais freqüentes e duradouras, controladas pelos potenciais de ação na musculatura lisa vascular (BERNE e LEVY, 1996).

Em condições normais, a pressão arterial é mantida em níveis constantes. Entretanto, o fluxo sangüíneo encontra-se diretamente relacionado às demandas metabólicas teciduais, havendo a influência de um mecanismo metabólico na regulação do fluxo sangüíneo. Nesse mecanismo, uma oferta de oxigênio inferior à demanda tecidual levaria ao aumento da quantidade de metabólitos vasodilatadores e à dilatação dos vasos de resistência. Condições metabólicas contrárias levariam à elevação da resistência pré-capilar (BERNE e LEVY, 1996). Várias substâncias vêm sendo propostas como mediadoras da vasodilatação metabólica. Os tópicos seguintes abordam as substâncias apontadas como vasodilatadoras metabólicas e outros mecanismos de controle intrínseco e extrínseco do vaso.

2.5.1.1 *Fator Metabólico Local*

Entre as principais substâncias mediadoras da vasodilatação metabólica estariam o ácido láctico, o gás carbônico e íons hidrogênio. A tensão de oxigênio também é um fator responsável pela modificação do tônus basal da musculatura lisa vascular. A

tensão de oxigênio diminuída promove o relaxamento vascular, enquanto que aumentada, leva à contração da musculatura lisa vascular. Entretanto, Berne e Levy (1996) afirmam não haver correlação entre a tensão de oxigênio nos vasos de resistência e o diâmetro a nível arteriolar. Íons potássio, fosfato inorgânico e o aumento da osmolaridade do líquido intersticial também são sugeridos como vasodilatadores de ação transitória e menos importante. Adicionalmente, quimioceptores periféricos, localizados nos corpos carotídeos e no arco aórtico, e quimioceptores centrais no bulbo são sensíveis à diminuição da tensão de oxigênio e ao aumento da tensão de dióxido de carbono no sangue e, quando estimulados, produzem primariamente aumento da frequência cardíaca e da profundidade da respiração e, de maneira menos significativa, levam à vasoconstrição periférica (BERNE e LEVY, 1996).

2.5.1.2 Fator Miogênico no Controle Vascular

Certas células da musculatura lisa vascular possuem automatismo, ou seja, sofrem despolarização espontânea. Essa despolarização pode propagar-se às células vizinhas num raio de um a vários milímetros formando uma unidade funcional. Várias unidades funcionais agindo assincronicamente auxiliam no controle do tônus basal do vaso. O controle miogênico é local, não se propagando para outras regiões. Em teoria, o fator miogênico também seria responsável pela auto-regulação do fluxo a nível pré-capilar. A distensão do vaso poderia levar ao aumento da frequência de despolarização dessas células, causando contração transitória do vaso. Em presença de menor deformação, ocorreria a vasodilatação pela redução da atividade dessas células. Órgãos como rins, cérebro e baço e a musculatura esquelética possuem elevado automatismo da musculatura lisa vascular, logo, elevado tônus basal, importante para a auto-regulação, principalmente em situações de redução das necessidades nutricionais (AIRES, 1999).

2.5.2 Sistema Nervoso no Controle Vascular

O envolvimento do sistema nervoso central na modulação do tônus vascular e na manutenção de níveis normais de pressão arterial é conhecido há mais de um século (TIBIRIÇÁ, 2001). O sistema nervoso central governa a contração da musculatura lisa vascular e a atividade cardíaca por via endócrina e através do sistema autonômico, por ativação principalmente simpática (AIRES, 1999).

2.5.2.1 *Sistema Nervoso Autônomo*

Várias regiões do bulbo influenciam a atividade cardiovascular. A estimulação da região dorso-lateral, denominada região pressora, ocasiona vasoconstrição, aceleração cardíaca e aumento da contratilidade miocárdica. A região caudal e ventromedial à região pressora induz a queda da pressão arterial por inibição da região pressora e por inibição medular direta. As regiões vasoconstritoras são permanentemente ativas. Sua atividade pode ser aumentada por estímulos humorais e reflexos, desencadeando maior frequência dos impulsos nervosos (BERNE e LEVY, 1996). A síntese das catecolaminas adrenalina e noradrenalina, hormônios neurais responsáveis pela aceleração da frequência cardíaca e o aumento do volume sistólico estimula a vasoconstrição. A adrenalina é produzida pela região medular da glândula supra-renal e liberada na corrente sanguínea. A supra-renal libera também noradrenalina, mas em quantidades muito pequenas. As fibras vasoconstritoras do sistema simpático, denominadas adrenérgicas, também sintetizam noradrenalina, liberadas por vesículas das terminações nervosas, auxiliando a vasoconstrição (McARDLE, 1998; BERNE e LEVY, 1996).

A inibição da área pressora do bulbo resulta em menor atividade desta (McARDLE, 1998). O sistema nervoso simpático, através de suas fibras colinérgicas, sintetizam acetilcolina, auxiliando a vasodilatação (McARDLE, 1998). As fibras simpáticas colinérgicas representam apenas 10% das fibras simpáticas e parecem ser controladas por núcleos hipotalâmicos. Têm sido relacionadas à vasodilatação moderada que precede o exercício, com o corpo ainda em repouso e determinam também o estado de alerta e defesa. Nos órgãos genitais, auxiliariam a vasodilatação parassimpática (AIRES, 1999).

O sistema simpático vasoconstritor atua sobre todos os territórios vasculares. Inerva os vasos de resistência e capacitância, promovendo contração arterial e venosa (AIRES, 1999). Porém, a influência neural sobre os vasos maiores tem importância funcional muito menor que sobre os vasos de resistência. Ainda assim, os vasos de capacitância atingem contração máxima em atividade neural mais baixa que a necessária aos vasos de resistência (BERNE e LEVY, 1996). O sistema simpático consiste no controle mais importante do sistema nervoso central sobre a resistência vascular periférica, a perfusão tecidual e o retorno venoso (AIRES, 1999).

O sistema simpático só disponibiliza uma ação global, em bloco, em situações de emergência. Em condições normais, há uma regulação regional do vaso que pode ser diferente em regiões distintas (AIRES, 1999).

As fibras adrenérgicas são responsáveis pela manutenção do tônus vasomotor basal. Sendo assim, a vasodilatação é mais influenciada pela diminuição da descarga adrenérgica que pelo aumento da ação colinérgica (McARDLE, 1998). As terminações nervosas desse sistema nos vasos são difusas e se concentram na interface média-adventícia do vaso. Estas terminações raramente penetram a camada média. A ativação das camadas mais profundas deve se dar pela condução do potencial de ação por propagação célula a célula, proveniente das camadas próximas à adventícia, ou pela difusão hormonal (AIRES, 1999).

Os neurônios do sistema parassimpático, por sua vez, quando estimulados, liberam acetilcolina, responsável pela bradicardia no coração e pela dilatação vascular (McARDLE, 1998). Aproximadamente 80% das fibras parassimpáticas são conduzidas pelo par de nervos vagos. Deixando o tronco cerebral e a medula espinhal, essas fibras vão atuar sobre o corpo. A inervação vascular parassimpática é restrita a algumas regiões como genitália externa, bexiga, reto, glândulas salivares e sudoríparas, vasos cerebrais (AIRES, 1999), pele, esfíncteres e peristalse intestinais, músculo ciliar da íris, vesícula e ductos biliares, brônquios e artérias coronárias (McARDLE, 1998). Desta forma, a inervação parassimpática colinérgica é pequena quando comparada à inervação simpática (AIRES, 1999).

A vasodilatação decorrente de ação colinérgica parassimpática é auxiliada por outros fatores promotores de vasodilatação. A acetilcolina, entretanto, produz vasodilatação marcante quando administrada endovenosamente. Esta é mediada por receptores muscarínicos presentes no endotélio, que induzem a liberação de óxido nítrico (AIRES, 1999).

2.5.2.1.1 Regulação Reflexa

As áreas do bulbo que auxiliam no controle vascular são influenciadas por impulsos neurais com origem nos barorreceptores. Os barorreceptores localizam-se nos grandes vasos do tronco e do pescoço (TIBIRIÇÁ, 2001), mais especificamente nos seios carotídeos e na crosse da aorta (BERNE e LEVY, 1996). São inervados por ramos dos pares cranianos IX e X, glossofaríngeo e vago, respectivamente, conforme ilustra a Figura 2.6. Esses receptores são sensíveis à distensão das paredes das artérias aorta e carótidas, induzida por variação de pressão, e promovem a regulação reflexa ou

autônômica da pressão arterial (TIBIRIÇÁ, 2001). A ativação dos barorreceptores resulta no aumento da atividade vagal, ocorrendo a diminuição da atividade simpática e, conseqüentemente, a diminuição da pressão arterial e da freqüência cardíaca. A desativação dos barorreceptores por diminuição da pressão causa aumento da atividade simpática, da pressão arterial e da freqüência cardíaca (TIBIRIÇÁ, 2001).

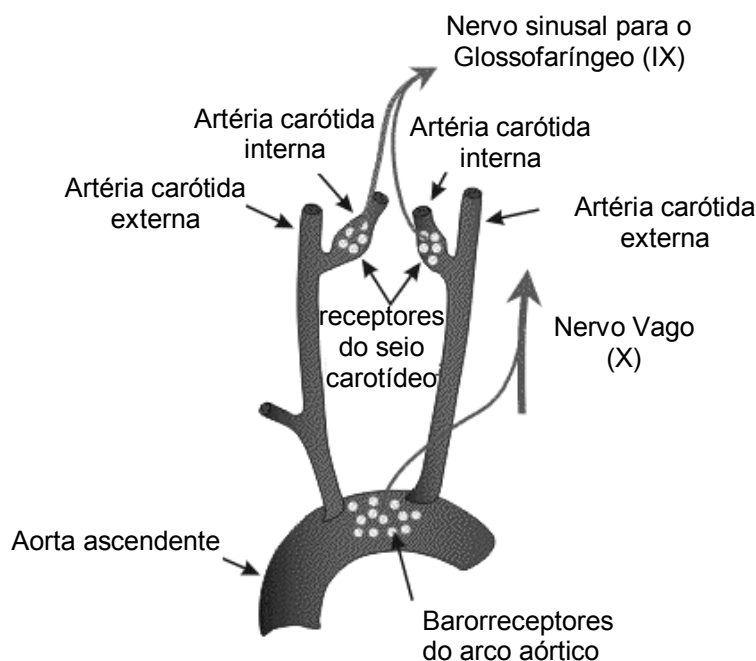


Figura 2.6: Localização dos barorreceptores arteriais. Figura adaptada de Klabunde (2004).

Existem também receptores localizados nas câmaras cardíacas e nos grandes vasos dos pulmões (barorreceptores cardiopulmonares). Estes apresentam menor influência sobre a pressão arterial. Contudo, participam da regulação do volume sanguíneo (BERNE e LEVY, 1996).

A atividade tônica basal simpática é modificada por estímulos neurais aferentes, estímulos hormonais e cognitivos, esses últimos envolvendo o nível cortical (TIBIRIÇÁ, 2001). Exercício, estresse mental, e hipoglicemia são exemplos de fatores que estimulam a produção das catecolaminas (AIRES, 1999).

2.5.2.2 Regulação Hormonal

Alguns outros hormônios circulantes possuem ação vasomotora, dentre eles:

- Angiotensina II - hormônio mais importante do sistema renina-angiotensina. Envolve o endotélio vascular e possui ação vasoconstritora

(AIRES, 1999). No terminal simpático, estimula a síntese de noradrenalina, potencializa sua liberação e bloqueia sua recaptção neural, aumentando a resposta simpática. No endotélio, induz a síntese de endotelina (AIRES, 1999). Nos pré-capilares, provoca aumento de resistência. Possui também efeito trófico sobre a musculatura lisa (AIRES, 1999).

- Vasopressina - hormônio liberado pela neuro-hipófise, é um potente vasoconstritor de vasos de resistência, determinando, via receptores V_1 , aumento da resistência vascular local e redução do fluxo. Essa substância também induz a liberação de endotelina pelo endotélio (AIRES, 1999).
- Fator natriurético atrial - hormônio sintetizado e lançado à circulação pelos miócitos atriais, quando distendidos. Possui ação vasodilatadora, causando queda da resistência e aumento de fluxo local (AIRES, 1999).

Alguns dos estímulos, citados neste capítulo, que permitem observar o comportamento vascular, como a hiperemia reativa e a hiperemia ativa, causada pelo exercício, serão utilizados neste estudo para a análise das resposta mecânica do vaso a estes.

O comportamento vasomotor será alterado pela administração de ibuprofeno, que possui ação antiinflamatória, analgésica e antipirética. O ibuprofeno atua sobre a via ciclooxigenase, inibindo a síntese de prostaglandinas. Espera-se assim, um efeito vasoconstritor com a sua administração. As alterações da mecânica vascular e do comportamento vascular pós isquemia prolongada, que tem como resultado a hiperemia reativa, com a administração de ibuprofeno serão analisadas.

Capítulo 3

MÉTODOS E TÉCNICAS NA AVALIAÇÃO DA MECÂNICA E DA REATIVIDADE VASCULAR

Em estudos clínicos, a função endotelial é avaliada geralmente através da magnitude da dilatação do vaso ou do incremento do fluxo sanguíneo em resposta a diferentes estímulos abordados na seção anterior. Entretanto, parâmetros de mecânica vascular são bastante utilizados no meio científico para a investigação da integridade endotelial. A atribuição da regulação da mecânica do vaso ao endotélio desconsidera os outros mecanismos de controle. Todavia, resposta vascular adequada indica integridade funcional das vias de controle da mecânica vascular, inclusive do endotélio vascular.

O comportamento cardíaco e dos vasos é influenciado por diversos fatores na dinâmica cardiovascular. Os vasos sanguíneos possuem tanto características elásticas, como diâmetros diferentes. Adicionalmente, esses se ramificam e se anastomosam, tornando difícil o total entendimento do funcionamento do sistema vascular. Contudo, considerável grau de conhecimento se faz possível através de princípios da mecânica dos fluidos (BERNE e LEVY, 1996). Este capítulo apresenta alguns conceitos básicos da hemodinâmica, os métodos mais usuais e algumas técnicas utilizadas na avaliação da mecânica vascular e da reatividade vascular.

3.1 Características Mecânicas Estimadas a Partir de Valores de Diâmetro, Volume ou Área e Valores de Pressão Sanguínea.

Várias características mecânicas dos vasos são avaliadas a partir do comprimento desses vasos em uma, duas ou três dimensões. Um desses parâmetros em conjunto com valores de pressão arterial permite estimar a elasticidade, complacência, resistência e distensibilidade dos vasos sob observação. A maioria das pesquisas utiliza o diâmetro em vez da área ou do volume interno do vaso para inferir sobre a mecânica vascular, devido à maior facilidade em realizar a aquisição de informações sobre o movimento vascular em apenas um plano. Graf *et al.* (1999)

consideram importante a aquisição de informações sobre a espessura da parede vascular, uma vez que o aumento dessa espessura é um fator de risco estabelecido para doenças arteriais cardiovasculares. Assim, os autores acreditam que um estudo mais cuidadoso da mecânica vascular requer a determinação da relação entre carga e deformação na parede do vaso, estudo que necessita do conhecimento da espessura da camada íntima-média vascular na diástole. Algumas das propriedades mecânicas, obtidas a partir de valores de pressão e diâmetro, área ou volume, levando ou não em consideração a espessura das camadas vasculares íntima e média, são listadas a seguir, onde considera-se:

ΔD a diferença de diâmetro entre os pontos de máximo (D_{\max}) e mínimo (D_{\min}) diâmetro;

ΔP a diferença entre as pressões arteriais sistólica (PAS) e a diastólica (PAD);

ΔA a diferença entre os pontos de área máxima (A_{\max}) e mínima (A_{\min});

ΔV a diferença de volume interno do vaso entre os pontos de máximo e mínimo;

ρ a densidade do sangue Tabelada em 1000 Kg/m^3 (BRANDS *et al.*, 1998);

η é a viscosidade do sangue em mmHg.s;

$IMT_{D_{\min}}$ a espessura da camada íntima-média na diástole.

3.1.1 Complacência

A complacência vascular é definida como a relação entre a variação de volume interno do vaso e a variação de pressão (Equação 3.1), e é expressa em unidade de volume por unidade de pressão (MEKKAOUI *et al.*, 2001; BERNE e LEVY, 1996).

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P} \text{ (ml/mmHg)}, \quad (3.1)$$

Contudo, muitos trabalhos consideram a área de secção transversa do vaso em vez do volume para o cálculo da complacência (SELZER *et al.*, 2001; JOANNIDES *et al.*, 1997), estimando uma complacência seccional (Equação 3.2).

$$C_{\text{sec}} = \frac{D_{\max}^2 - D_{\min}^2}{\Delta P}, \quad (3.2)$$

3.1.2 Distensibilidade

Esse parâmetro carrega informação sobre a distensão do vaso com o aumento da pressão interna neste (NICHOLS e O'ROURKE, 1990) e é dado em unidade de área por unidade de força. Nos trabalhos científicos, este parâmetro é estimado a partir da variação relativa de volume, área ou diâmetro (SMULYAN e SAFAR, 1997). Estimativas de distensibilidade a partir de informações de diâmetro são obtidas pela Equação 3.3. Brands *et al.* (1998) consideram a variação relativa de área pela variação de pressão (Equação 3.4) e denominam essa relação como coeficiente de distensibilidade.

$$Dis = \frac{\left(\frac{\Delta D}{D_{\min}} \right)}{\Delta P}, \quad (\text{SMULYAN e SAFAR, 1997}) \quad (3.3)$$

$$Dis = \frac{\left(\frac{\Delta A}{A_{\min}} \right)}{\Delta P}, \quad (\text{SMULYAN e SAFAR, 1997; BRANDS } et al., 1998) \quad (3.4)$$

3.1.3 Módulo de elasticidade de Peterson

O módulo de elasticidade de Peterson é o inverso da distensibilidade (SMULYAN e SAFAR, 1997), sendo dado em unidade de força por unidade de área (MEKKAOUI *et al.*, 2001) e calculado pela Equação 3.5 (SELZER *et al.*, 2001; BERNE e LEVY, 1996).

$$E_p = \frac{\Delta P}{\left(\frac{\Delta D}{D_{\min}} \right)}, \quad (3.5)$$

Segundo Mekkaoui *et al.* (2001), o módulo de elasticidade de Peterson pode também ser calculado a partir da variação de pressão pela variação relativa da resistência vascular.

3.1.4 Módulo de Young

O módulo de *Young* considera o módulo de elasticidade apenas na direção longitudinal (NICHOLS e O'ROURKE, 1990), sendo também expresso em unidade de força por unidade de área (BRANDS *et al.*, 1998). O módulo de elasticidade descreve a variação de pressão incidente sobre um plano do vaso e a deformação deste. Assim, considera a espessura da parede vascular, diferentemente do módulo de elasticidade de Peterson. Todavia, este último é mais utilizado no estudo da mecânica vascular (NICHOLS e O'ROURKE, 1990). O módulo de Young é calculado por Selzer *et al.* (2001) a partir da Equação 3.6:

$$\Upsilon = 0,5 \times E_p \times \frac{D_{\min}}{IMT_{D_{\min}}}, \quad (3.6)$$

3.1.5 Resistência

A resistência hemodinâmica ou resistência periférica é a oposição imposta pelos vasos ao fluxo sanguíneo. A resistência vascular é determinada pelas dimensões do vaso e pela viscosidade sanguínea, atrito interno das camadas do sangue. A dimensão é o fator mais importante, segundo a Equação de Poiseuille (3.7), extraída de Anderson *et al.* (1986), válida para líquidos Newtonianos, aqueles cujas variações de velocidade de escoamento não alteram seu valor de viscosidade. Para líquidos não-Newtonianos, o fluxo é inversamente proporcional à viscosidade (BERNE e LEVY, 1996). A resistência é expressa em unidade de pressão por unidade de fluxo (GUYTON e HALL, 2002).

$$R = \frac{128\eta L}{\pi D^4}, \quad (3.7)$$

onde L é o comprimento vascular.

3.1.6 Índice de dureza β

O índice de dureza β é adimensional. Este considera a razão entre o logaritmo da relação entre as pressões máxima e mínima e a variação relativa de diâmetro (SELZER *et al.*, 2001):

$$\beta = \frac{\ln\left(\frac{PAS}{PAD}\right)}{\left(\frac{\Delta D}{D_{\min}}\right)}, \quad (3.8)$$

3.1.7 Velocidade de onda de pulso

A propagação da forma de onda de pressão sanguínea ao longo do segmento arterial pode ser descrita pela Equação 3.9, onde a velocidade de onda do pulso de pressão é dada pela distância entre dois pontos ao longo de um segmento vascular (L) e pelo intervalo de tempo (Δt) que o pulso leva do primeiro ao segundo ponto. Esta distância é assumida constante e igual à distância entre os dois pontos de medição determinados sobre a pele (PANNIER *et al.*, 2002; BRANDS *et al.*, 1998).

$$c_w = \frac{L}{\Delta t}, \quad (\text{PANNIER } et al., 2002) \quad (3.9)$$

Pannier *et al.* (2002) e Brands *et al.* (1998) apresentam outras equações (3.10 e 3.11) para a determinação da velocidade de onda de pulso.

$$c_w = \sqrt{\frac{V \times \Delta P}{\Delta V \times \rho}} \quad (\text{PANNIER } et al., 2002) \quad (3.10)$$

$$c_w = \sqrt{\frac{1}{\rho \times \left(\frac{\Delta A}{A_{\min}}\right) \Delta P}} \quad (\text{BRANDS } et al., 1998) \quad (3.11)$$

3.1.8 Tensão de Cisalhamento

Tensões de compressão e cisalhamento agem sobre a parede dos vasos, decorrentes, respectivamente, da pressão sanguínea sobre a parede do vaso e do atrito entre a parede do vaso e o sangue em movimento (AIRES, 1999). A tensão de cisalhamento ou tensão tangencial é considerada o fator mecânico mais importante de estímulo à produção de fatores de relaxamento derivados do endotélio (LUZ *et al.*,

2003; BRANDS *et al.*, 1995). Como a velocidade de fluxo varia com o fluxo sangüíneo, que é pulsátil, a tensão tangencial varia durante o ciclo cardíaco (AIRES, 1999). A tensão de cisalhamento na parede do vaso pode ser estimada com ultra-som Doppler (SMULYAN e SAFAR, 1997) e é dada pela Equação 3.12.

$$\tau = \frac{4\eta Q}{\pi r^3}, \quad (\text{AIRES, 1999; BERNE e LEVY, 1996}) \quad (3.12)$$

onde Q é o fluxo sangüíneo e r é o raio do vaso.

3.2 Características dos Vasos e Mecânica Vascular

A parede vascular é composta por três camadas: a camada íntima, que limita a luz do vaso, seguida pelas camadas média e adventícia (HOEKS *et al.*, 1997). A proporção de cada camada na estrutura da parede vascular varia com o tipo de vaso sangüíneo, conforme ilustra a Figura 3.1. Assim como a estrutura dos vasos, as propriedades mecânicas destes também variam (BERNE e LEVY, 1996). Algumas das características dos vasos sangüíneos da circulação sistêmica serão discutidas nessa seção.

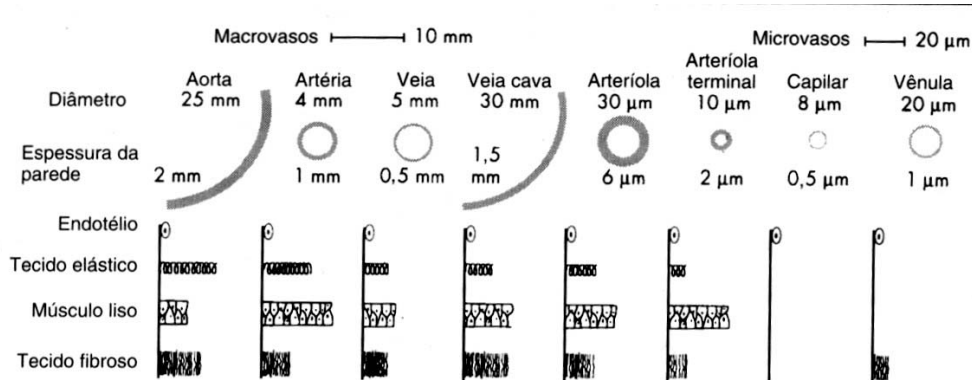


Figura 3.1: Diâmetro interno, espessura e quantidade relativa dos componentes da parede vascular em diferentes tipos de vasos sangüíneos. Figura extraída de Berne e Levy (1996).

Os vasos considerados elásticos possuem paredes distensíveis e elásticas, pois apresentam grande quantidade de elastina em suas túnicas médias. São artérias como a aorta e seus ramos maiores, as artérias ilíacas e artéria pulmonar. Permitem a expansão das paredes vasculares, a acomodação do volume sistólico e o retorno ao calibre normal após a passagem daquele volume maior. Seu movimento durante o ciclo cardíaco resulta em fluxo contínuo nos vasos sangüíneos, apesar da ejeção do sangue se processar de forma intermitente (AIRES, 1999).

Os vasos condutores são vasos de baixa resistência. Estes são representados por artérias submetidas à forte influência da camada muscular, cujo desempenho do papel contrátil depende de influência endotelial e autonômica. A importante contribuição da camada muscular no controle da vasodilatação é decorrente da maior relação túnica média/ diâmetro vascular. Os vasos condutores são também denominados vasos musculares e são exemplos desse grupo de vasos a artéria poplítea, a radial, a cerebral e as coronárias (AIRES, 1999).

Os vasos de resistência, compostos pelas artérias menores e arteríolas. Esses vasos apresentam maior resistência à passagem do fluxo sanguíneo e consistem em regiões de alta pressão. Exercem papel importante no controle do fluxo regional, através da vasodilatação ou constrição (AIRES, 1999). Cada arteríola dá origem a vários capilares. Assim, apesar do menor calibre dos capilares sanguíneos, sua área de secção transversa total é grande, conforme ilustra a Tabela 3.1, o que resulta em velocidade de fluxo bastante reduzida e facilita a troca de substâncias difusíveis entre o sangue e os tecidos (BERNE e LEVY, 1996).

Os vasos capilares são considerados vasos de troca. Estes apresentam paredes finas, o que permite rápida transferência de substâncias entre o sangue e os tecidos (AIRES, 1999). Não possuem musculatura lisa vascular em sua parede, não se submetendo à influência vasomotora endotelial importante (LUZ *et al.*, 2003). As trocas entre o vaso e os tecidos podem ocorrer também nos vasos pós-capilares ou em pequenas arteríolas (AIRES, 1999).

Há também a presença de anastomoses arteriovenosas, junções entre arteríolas e vênulas, sem a presença de capilares. Não ocorrem em todos os tecidos, mas em alguns como a pele e a mucosa nasal (AIRES, 1999).

Os vasos de capacitância são representados pelas veias e vênulas. Recebem esse nome por conterem cerca de dois terços do sangue circulante, o que é possível devido ao grande número e tamanho desses vasos no corpo (AIRES, 1999). São cerca de oito vezes mais distensíveis e tem volume três vezes maior que as artérias correspondentes, sendo 24 vezes mais complacentes do que essas artérias (GUYTON e HALL, 2002). São facilmente distendidos ou colapsados, agindo como reservatórios de sangue. Esses vasos são compostos pela camada endotelial, seguida por uma fina camada de músculo e colágeno e, por fim, a camada adventícia. A diferença entre veias e vênulas reside principalmente no diâmetro que apresentam. As veias dos membros possuem válvulas semilunares que impedem o fluxo retrógrado. As grandes veias centrais e aquelas da cabeça e pescoço não possuem válvulas. Muitas vênulas são inervadas por fibras vasoconstritoras, permitindo o controle ativo do volume de sangue nos reservatórios (AIRES, 1999).

Tabela 3.1: Análise de vasos em cão de 20 Kg

Vasos	Número de Vasos	Área total de Secção Transversa (cm²)	Volume total de sangue (%)
Sistêmicos			
Aorta	1	2,8	
Artérias	40 a 110.000	40	11
Arteriolas	2.800.000	55	
Capilares	2.700.000.000	1.357	5
Vênulas	10.000.000	785	
Veias	660.000 a 110	631	67
Veias cavas	2	3,1	
Pulmonares			
Artérias e arteriolas	1 a 1.500.000	137	3
Capilares	2.700.000.000	1.357	4
Veias e vênulas	2.000.000 a 4	210	5
Coração			
Átrios	2		
Ventrículos	2		5

Os parâmetros que possuem faixas de variação, são apresentados na direção do fluxo sanguíneo. Tabela adaptada de Berne e Levy (1996).

Como visto na seção 3.1, há uma dependência entre a estrutura vascular e o comportamento mecânico deste vaso. Existe uma relação inversa entre o diâmetro e a resistência vascular, conforme a Equação de Poiseuille (3.7). A velocidade de fluxo tem relação direta com o fluxo e inversa com a área de secção transversa do vaso, de acordo com a Equação 3.13.

$$v = \frac{Q}{A}, \quad (3.13)$$

onde Q é o fluxo em ml/ min, v é a velocidade do fluxo em cm/s e A é a área de secção transversa do vaso em cm² (BERNE e LEVY, 1996).

A velocidade decresce progressivamente da aorta aos capilares, onde atinge valores mínimos. No sistema venoso, a velocidade do fluxo aumenta progressivamente em direção às veias cavas (BERNE e LEVY, 1996). A pressão arterial, considerada na estimativa de diversos parâmetros de mecânica vascular,

decrece a nível arteriolar e a área de secção transversa total é máxima a nível capilar. A Figura 3.2 apresenta uma estimativa da área de secção transversa, da velocidade de fluxo, da proporção de volume de sangue e do comportamento da pressão nos diferentes compartimentos vasculares.

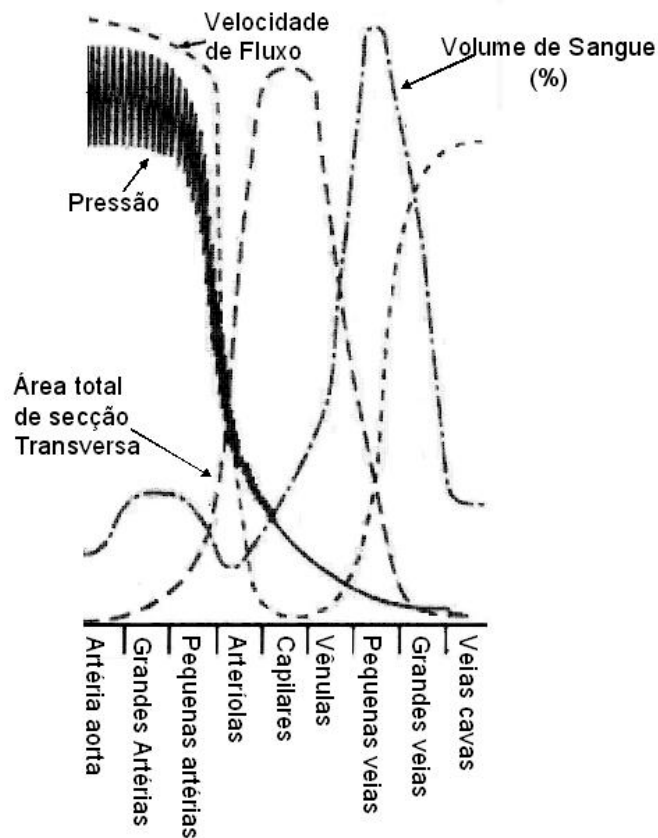


Figura 3.2: Comportamento da pressão sanguínea, da velocidade de fluxo, da distribuição do volume sanguíneo e da área de secção transversa na circulação sistêmica. Figura adaptada de Berne e Levy (1996).

3.3 Ferramentas Utilizadas no Estudo da Mecânica Vascular

Para avaliar a motricidade do vaso de interesse e analisar o comportamento mecânico do vaso, geralmente são utilizados valores de diâmetro vascular, pressão arterial, espessura da camada íntima-média, velocidade de fluxo sanguíneo, fluxo sanguíneo e velocidade de onda de pulso, como visto anteriormente. Essa seção relata alguns métodos não-invasivos bastante utilizados para a obtenção desses parâmetros em humanos.

3.3.1 Pressão arterial

A pressão arterial consiste na força por unidade de área exercida pelo sangue sobre a parede vascular (GUYTON e HALL, 2002). Essa pressão é gerada e mantida pela interação entre a força propulsora cardíaca, a capacidade de dilatação elástica da aorta e a resistência ao fluxo exercida principalmente pelas arteríolas e artérias de calibre inferior a 200 μm de diâmetro (AIRES, 1999; SMULYAN e SAFAR, 1997).

Ao deixar o ventrículo esquerdo rumo à circulação sistêmica e encontrar a resistência da parede vascular da artéria aorta, oitenta e cinco a noventa por cento do sangue ejetado segue seu trajeto através da rede vascular sistêmica e os 10 a 15% restantes são acomodados no próprio segmento aórtico (AIRES, 1999; SMULYAN e SAFAR, 1997). A característica complacente da artéria aorta permite a acomodação do volume sistólico com uma pressão sistólica relativamente baixa. Parte da energia gasta para distender a parede arterial, durante a sístole, retorna à circulação na diástole (SMULYAN e SAFAR, 1997), havendo um retorno gradual do vaso ao seu calibre anterior. Se não houvesse a distensibilidade do sistema arterial, o fluxo sanguíneo ocorreria somente durante a sístole ventricular (GUYTON e HALL, 2002). A elasticidade arterial faz com que a pressão assumira natureza pulsátil, oscilando durante o ciclo cardíaco (AIRES, 1999).

A pressão arterial deve manter-se em níveis adequados à perfusão dos tecidos (TIBIRIÇÁ, 2001). O valor máximo de pressão (PAS) é alcançado durante a sístole e o mínimo (PAD), durante a diástole. A pressão arterial média (PAM), por vezes é usada como valor representativo da pressão no sistema arterial. A pressão arterial média é dada pela razão entre a área sob o pulso de pressão (P) e a duração do pulso (AIRES, 1999):

$$PAM = \frac{\int_{t_1}^{t_2} P dt}{t_2 - t_1}, \quad (3.14)$$

A PAM pode ser estimada pela Equação 3.15 (McARDLE *et al.*, 1998) a partir da aproximação da forma do pulso de pressão por um triângulo retângulo (AIRES, 1999):

$$PAM = PAD + \frac{(PAS - PAD)}{3}, \quad (3.15)$$

O pulso de pressão arterial originado na aorta ascendente propaga-se pelo sistema arterial (AIRES, 1999). A pressão de pulso (Figura 3.3) decorre do incremento de volume arterial proveniente do volume de sangue ejetado pelo ventrículo esquerdo subtraído do volume que escoou para a periferia durante a fase de ejeção ventricular rápida (BERNE e LEVY, 1996).

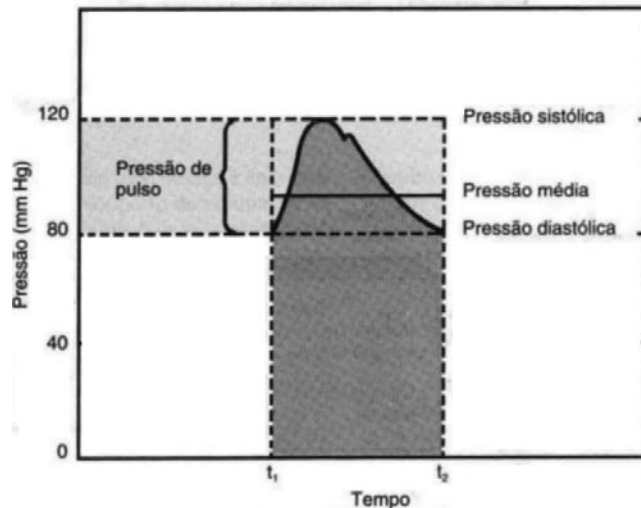


Figura 3.3: Forma de onda de pressão. Indicações das pressões arteriais sistólica, diastólica, média e da pressão de pulso em um ciclo cardíaco. Figura de Berne e Levy (1996).

Como os vasos arteriais tornam-se mais rígidos no sentido do fluxo sanguíneo, as formas de onda de pressão vão se modificando. A pressão sistólica aumenta progressivamente (AIRES, 1999; SMULYAN e SAFAR, 1997). A resistência periférica faz com que parte da energia pulsátil retorne sob forma de onda refletida. Desta forma, a pressão em qualquer ponto da árvore arterial é a soma algébrica das ondas anterógradas incidentes e retrógradas refletidas (AIRES, 1999). A onda refletida influencia na pressão arterial diastólica (SMULYAN e SAFAR, 1997), que tende a diminuir ao longo do trajeto. A pressão de pulso aumenta (AIRES, 1999) e a incisura dicrótica diminui. Uma depressão e uma elevação secundárias desenvolvem-se na diástole nos segmentos mais distais, conforme ilustra a Figura 3.4.

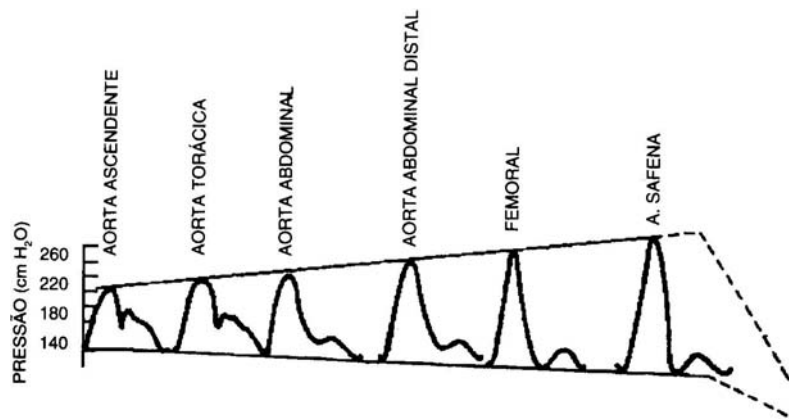


Figura 3.4: Forma de onda de pressão do sistema arterial de cão em diferentes regiões. Figura de Aires (1999). A linha tracejada indica a posterior diminuição da pressão em direção ao sistema venoso. As diminuições da pressão e da pulsatilidade podem ser melhor observadas nas Figuras 3.2 e 3.5.

Em indivíduos jovens, a onda refletida pode atingir a aorta, aumentando a pressão diastólica. Nas artérias mais periféricas, mais próximas aos sítios onde a reflexão ocorre, o pulso retrógrado influencia no aumento da pressão arterial sistólica, pois a velocidade da onda retrógrada é maior no início e depois diminui (SMULYAN e SAFAR, 1997). Quando ocorre a diminuição da distensibilidade aórtica, há mudanças nas características das ondas incidentes e retrógradas. As ondas incidentes percorrem os vasos mais rapidamente. Desta maneira, as ondas refletidas retornam mais rapidamente podendo chegar à aorta durante ou próxima à fase de sístole, aumentando a pressão arterial sistólica ou produzindo um segundo pico sistólico. Adicionalmente, ocorre um aumento da duração da pressão de pulso, o que aumenta o trabalho cardíaco (SMULYAN e SAFAR, 1997).

Como conseqüência da distensibilidade das grandes artérias e da resistência da parede arteriolar (BERNE e LEVY, 1996), ocorre o amortecimento do pulso de fluxo através da resistência periférica conduzindo ao fluxo constante (SMULYAN e SAFAR, 1997) atingido a nível capilar (BERNE e LEVY, 1996). As complacências e resistências da árvore arterial amortecem os pulsos de pressão levando quase à ausência de pulsação a nível capilar, conforme ilustra a Figura 3.5. O grau de amortecimento é diretamente proporcional ao produto da resistência pela complacência (GUYTON e HALL, 2002).

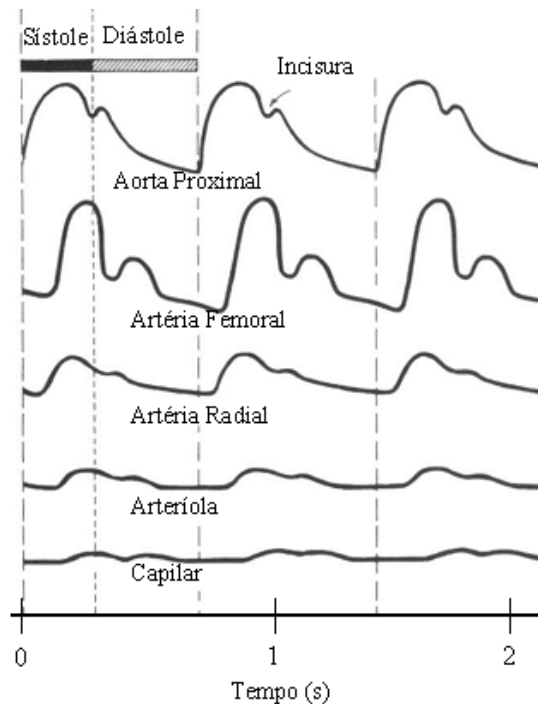


Figura 3.5: Variações na forma de onda do pulso de pressão em direção aos vasos menos calibrosos. Figura adaptada de Guyton e Hall (2002).

3.3.1.1 Medição Não-invasiva da Pressão Arterial

A pressão arterial pode ser obtida contínua e não-invasivamente com fotopletismografia infravermelha digital ou com tonometria (PANNIER *et al.*, 2002).

A técnica de fotopletismografia infravermelha foi comercialmente disponibilizada pela Ohmeda (EUA) num aparelho denominado Finapres ou finômetro. O método de medição de pressão consiste em ajustar um pequeno *cuff* no quirodático e inflá-lo numa faixa normal de pressão sanguínea. O *cuff* apresenta um transmissor de infravermelho em um lado e um receptor do lado oposto. A luz infravermelha transmitida oscila durante o ciclo cardíaco. A pressão de *cuff* na máxima oscilação durante o ciclo corresponde à pressão média arterial digital. O valor médio da intensidade de luz transmitida nesta pressão é usado como ponto de ajuste de calibração. Uma vez calibrado, ocorrem várias e contínuas inflações e deflações do *cuff* num sistema realimentado, de forma a manter a luz transmitida constante. A pressão de *cuff* requerida para manter a luz emitida constante dá o registro da forma de onda de pressão (Figura 3.6) de forma contínua e não-invasiva (BIRCH e MORRIS, 2003).

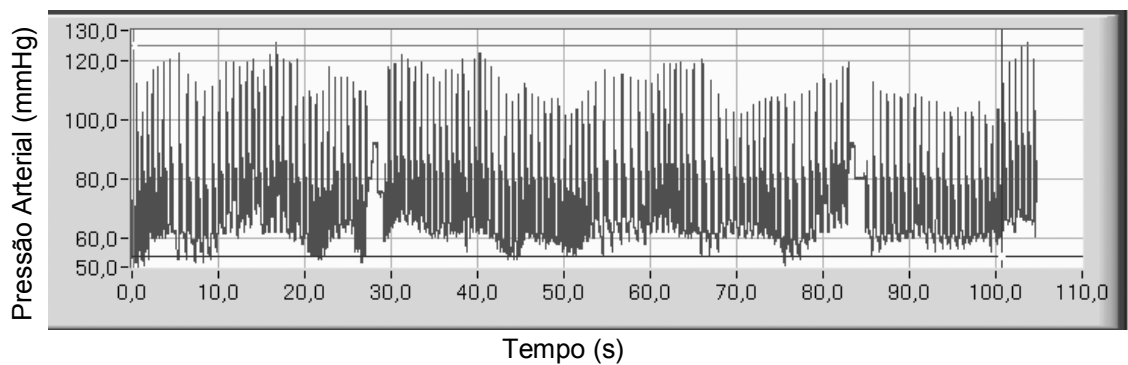


Figura 3.6: Sinal de pressão proveniente da fotopletismografia digital, contendo o registro do sinal de pressão ao longo do tempo, intercalado por dois períodos de calibração próximos a 30 e a 80,5 s.

A tonometria, por sua vez, utiliza um transdutor de pressão sobre a pele, na direção de localização do vaso de interesse. O transdutor deve pressionar parcialmente a artéria contra um anteparo ósseo, com pressão menor que a pressão arterial, de forma a não perder esta informação. A forma de onda de pressão é então transmitida diretamente para o transdutor. Aponta-se a artéria radial como um local ideal para a tonometria, uma vez que a artéria é superficial e que, no seu trajeto, passa ao lado do osso rádio no antebraço (BIRCH e MORRIS, 2003).

3.3.2 Espessura da parede arterial

A espessura da parede do vaso pode ser observada por ultra-som, pois a amplitude do pulso de eco de ultra-som refletido na parede do vaso é cerca de 40 dB superior à do refletido no sangue (RABBEN *et al.*, 2002a; BRANDS *et al.*, 1995). No entanto, lesões iniciais na parede do vaso são da ordem de 5 a 10 vezes inferiores à resolução axial conseguida com ultra-som entre 5 e 10 MHz, geralmente entre 0,2 e 0,4 mm (GRAF *et al.*, 1999). Mesmo assim, o sistema de ultra-som em Modo-B (ultra-som de imagem) é usualmente utilizado para estimar a espessura da parede e esta informação pode ser incorporada na avaliação da mecânica arterial (HOEKS *et al.*, 1997).

A interface entre o sangue e a camada íntima apresenta baixa reflexão ao ultra-som. Ainda assim, é possível detectá-la uma vez que a reflexão na interface é superior à do sangue. A camada média também apresenta muito baixa ecogenicidade, sendo a amplitude do sinal de eco ultra-sônico baixa na interface íntima-média. A reflexão na interface média-adventícia é maior e a porção mais externa da adventícia não é

detectada. Desta forma, é considerada a espessura do composto íntima-média para estimar parâmetros de mecânica vascular. Na parede anterior do vaso, mais próxima ao transdutor de ultra-som, a reflexão da interface adventícia-média pode dificultar a visualização da interface média-íntima. Logo, a acurácia na determinação do diâmetro na parede posterior da artéria é maior. O valor médio da espessura íntima-média em alguns pontos discretos ao longo do segmento arterial na interface é usado para os cálculos (HOEKS *et al.*, 1997). É usado o valor médio obtido no final da diástole, quando a espessura da parede arterial é máxima. Porém esta pode ser monitorizada em seus extremos (SELZER *et al.*, 2001).

Métodos de interpolação de subpixel podem ser usados para estimar automaticamente a espessura requerida (GRAF *et al.*, 1999).

A Figura 3.7 ilustra as paredes vasculares e suas camadas, o posicionamento do transdutor de ultra-som em relação ao vaso e os parâmetros diâmetro e espessura, utilizados para análise da função vasomotora.

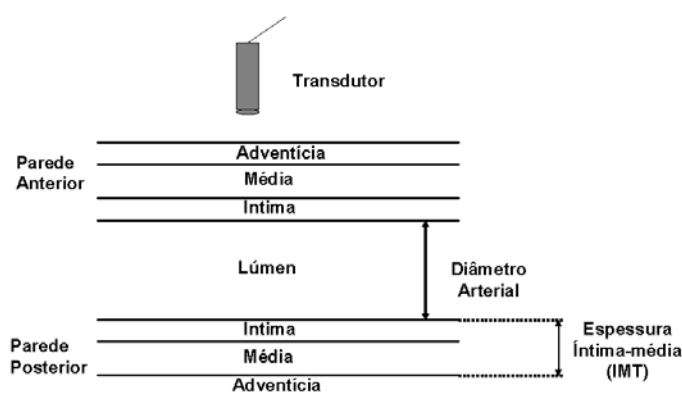


Figura 3.7: Esquema ilustrativo das camadas do vaso e dos parâmetros diâmetro e espessura utilizados para a extração de informações sobre a mecânica vascular. Figura adaptada de Hiltawsky e Ermert (2002).

3.3.3 Diâmetro Arterial e Forma de Onda de Distensão

O diâmetro arterial é definido como a distância entre as interfaces lúmen-íntima das paredes anterior e posterior do vaso (HILTAWSKY e ERMERT, 2002), conforme ilustrado na Figura 3.7. O diâmetro, assim como a forma de onda de distensão arterial, geralmente é observado com ultra-som. A ressonância magnética é um recurso também capaz de fornecer tais informações de forma não-invasiva (PANNIER *et al.*, 2002). Esta possui maior acurácia e é menos dependente do observador (SILBER *et al.*, 2001). Todavia, possui aplicação clínica limitada (PANNIER *et al.*, 2002).

3.3.3.1 Diâmetro arterial

O diâmetro pode ser acessado pelos sistemas de ultra-som Pulso-eco, Modo-A, Modo-M, Modo-B, e Doppler (HILTAWSKY e ERMERT, 2002; STADLER *et al.*, 1996a; HOEKS *et al.*, 1990; GROVES *et al.*, 1982). A medição do diâmetro a partir do ultra-som Doppler é baseada em informações diferentes das utilizadas para medição com Pulso-eco, Modo-A, Modo-M e Modo-B (STANDLER *et al.*, 1997; STANDLER *et al.*, 1996; HOEKS *et al.*, 1990). O princípio de medição usado nos dois casos é sumarizado nas próximas duas subseções.

3.3.3.1.1 Obtenção de Diâmetro por Ultra-som Doppler

O diâmetro arterial é obtido por Doppler a partir de informações sobre a velocidade de movimento das paredes arteriais. A sistemática baseia-se no princípio Doppler, que descreve a mudança da frequência emitida devido ao movimento relativo entre a fonte emissora e o objeto atingido.

A variação na frequência emitida (desvio do Doppler) é proporcional à velocidade do movimento relativo entre a fonte e o objeto, de acordo com a equação (FISH, 1990):

$$f_d = \frac{2vf_0 \cos(\theta)}{c}, \quad (3.16)$$

onde f_0 é a frequência emitida pela fonte, c é a velocidade do ultra-som no meio, v é a velocidade de movimento do objeto e θ é o ângulo entre o feixe emitido pelo transdutor e a direção do movimento do objeto.

Conhecendo a frequência central do espectro de desvio do Doppler decorrente do movimento de cada parede, que é diferente da proveniente da velocidade do fluxo sanguíneo (Figura 3.8), pode-se obter a forma de onda de velocidade das paredes. A integral do registro das velocidades no tempo fornece a distensão das paredes do vaso (RABBEN *et al.*, 2002a). A diferença entre os deslocamentos das duas paredes estima a variação de diâmetro arterial em função do tempo (HOEKS *et al.*, 1990).

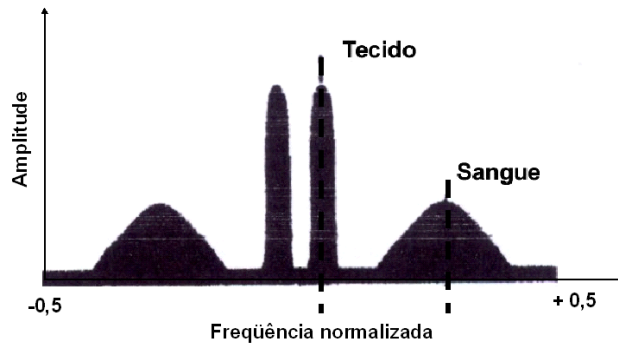


Figura 3.8: Desvio Doppler obtido a partir das velocidades de movimento das partículas do sangue e da parede do vaso. O espectro de freqüência está normalizado pela freqüência de repetição de pulso (FRP) e a linha pontilhada indica a freqüência central do desvio Doppler devido ao movimento do vaso e do sangue. Figura adaptada de Brands *et al.* (1995).

3.3.3.1.2 Obtenção de Diâmetro através do Tempo de Vôo do Sinal de Eco Ultra-sônico

Através do tempo de vôo (Δt), tempo entre a emissão do pulso de ultra-som e recepção do eco da interface, é possível estimar a posição absoluta (S) das paredes arteriais (STANDLER *et al.*, 1996), o que, baseado na Figura 3.7 seria a profundidade das estruturas da parede vascular em relação ao transdutor. A posição de cada parede da artéria, anterior e posterior (Figura 3.9a), é estimada com base na Equação 3.17 (FISH, 1990):

$$\Delta t = \frac{2 \times S}{c} \Rightarrow S = \frac{c \times \Delta t}{2} \quad (3.17)$$

onde S é a profundidade das paredes anterior e posterior do vaso e c é a velocidade de propagação média do som nos tecidos moles, 1540 m/s.

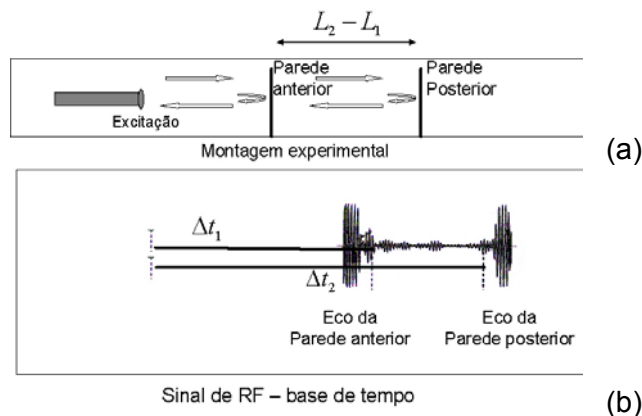


Figura 3.9: Esquema do posicionamento do transdutor e irradiação do vaso (a) e do sinal de eco posicionado na tela de acordo com o tempo de vôo do sinal, tempo entre a emissão do pulso de ultra-som e recepção do eco da interface.

A partir da posição absoluta de cada parede da artéria (S), o diâmetro arterial é dado pela diferença entre a profundidade da parede anterior e posterior da artéria em observação (STANDLER *et al.*, 1997).

A partir da captação do sinal de eco, dependendo do modo de trabalho do ultrassom, esse sinal é processado de maneira diferente para a obtenção do diâmetro arterial.

Dentre os sistemas que utilizam o tempo de vôo para estimar o diâmetro, o pulso-eco informa apenas tempo de vôo e amplitude do sinal de eco, sendo necessário calcular os valores de profundidade e posteriormente o diâmetro. O sistema Modo-A fornece além da amplitude, uma escala de tempo de vôo e outra de profundidade da interface. Porém, Groves *et al.* (1982) usaram o Modo-A para obter informações de tempo e estimaram a posição das interfaces através de processamento do sinal.

No sistema Modo-B o sinal de eco é convertido em imagem onde o brilho é proporcional à amplitude do eco refletido e a posição na tela proporcional ao tempo de vôo dos refletores. O diâmetro é obtido através de processamento de imagem (BEUX *et al.*, 2001; MEINDERS *et al.*, 2001; STADLER *et al.*, 1996a). O sistema Modo-M fornece apenas um registro da posição dos ecos ao longo do tempo (FISH, 1990).

3.3.3.2 Forma de Onda de Diâmetro Arterial Obtida Através de Informação de Posição Absoluta das Paredes do Vaso

A partir da diferença entre as posições dos ecos das paredes arteriais anterior e posterior ao longo do tempo (Figura 3.10a), é obtida a forma de onda de diâmetro (Figura 3.10b), também chamada de forma de onda de distensão arterial, definida como a variação do diâmetro arterial durante o ciclo cardíaco (STANDLER *et al.*, 1997).

O acesso à forma de onda de diâmetro requer informações sucessivas sobre o deslocamento das interfaces no tempo. Algoritmos de rastreamento das paredes arteriais, denominados algoritmos de *echo-tracking*, são utilizados para fornecer estas informações através de medições repetidas da posição absoluta dos ecos das paredes do vaso ou da velocidade de movimento destes (PANNIER *et al.*, 2002; STANDLER *et al.*, 1996). Sistemas baseados em imagem também possibilitam obter a forma de onda de diâmetro (PANNIER *et al.*, 2002).

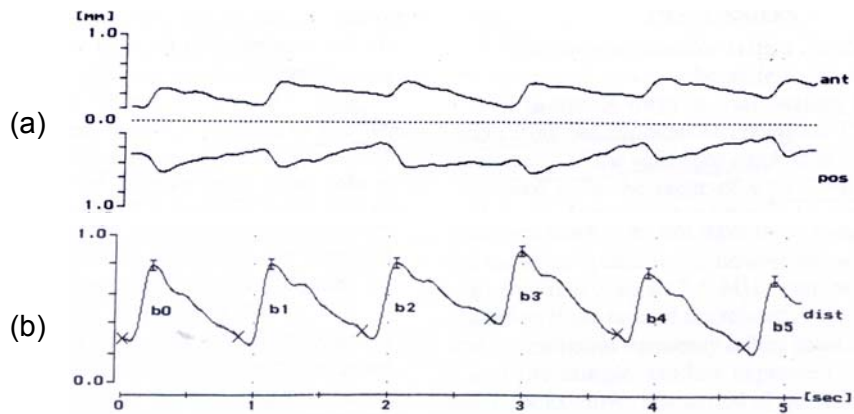


Figura 3.10: Deslocamento das paredes anterior (ant) e posterior (post) da artéria carótida comum de um indivíduo saudável (a) e a forma de onda de distensão desta mesma artéria. Figura adaptada de Hoeks *et al.* (1990).

Os algoritmos de *echo-tracking* são aplicados ao sinal de radiofrequência (RF) processado ou não. Tais algoritmos podem ser baseados na detecção de cruzamentos dos sinais de eco por um limiar estabelecido. Esse limiar é determinado de forma que o ruído seja desprezado pelo algoritmo e que a posição absoluta de cada parede arterial seja detectada (Figura 3.11a) quando os sinais provenientes dos ecos das paredes cruzam esse limite (RABBEN *et al.*, 2002a; RABBEN *et al.*, 2002b; STANDLER *et al.*, 1996). A posição pode ser também detectada através da procura pela máxima amplitude do envelope do sinal de RF (STANDLER *et al.*, 1996), como demonstrado na Figura 3.11b.

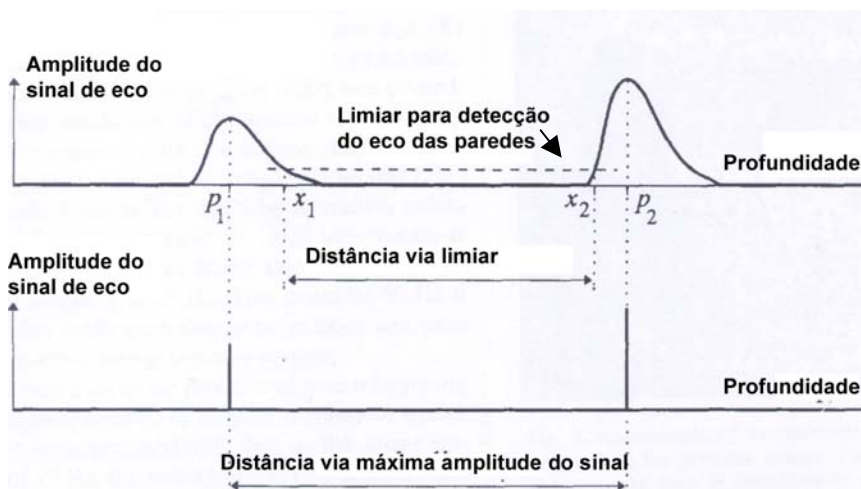


Figura 3.11: Sistemas de *echo-tracking* baseados em cruzamento de limiar (a) e detecção de máxima amplitude do envelope do sinal de RF (b) para o rastreamento das paredes arteriais. Figura adaptada de Willink e Evans (1995).

Métodos de *echo-tracking* baseados na correlação do sinal de RF também podem ser utilizados para detectar a posição dos ecos das paredes (RABBEN *et al.*, 2002a; RABBEN *et al.*, 2002b; STANDLER *et al.*, 1996a; HOEKS *et al.*, 1990). O

máximo da função de correlação nem sempre coincide com o ponto de máxima correlação real do sinal, devido à amostragem do sinal no tempo. Para maior precisão na localização, alguns autores reportam a utilização de interpolação associada ao método de correlação (RABBEN *et al.*, 2002a; RABBEN *et al.*, 2002b; STANDLER *et al.*, 1996a).

Todos os métodos *echo-tracking* incorrem no acúmulo de erro com o tempo, tornando-se menos robustos à medida em que o tempo evolui. O acúmulo de erro se dá pelo movimento do transdutor ou do indivíduo sob exame e pelo movimento da artéria em direções que não a de insonação (STANDLER *et al.*, 1996a). Os algoritmos que utilizam a integral da velocidade de movimento arterial, obtida por ultra-som Doppler, para localizar as paredes arteriais também são influenciados pelo acúmulo de erro inerente ao método de medição indireta da posição da parede vascular (STANDLER *et al.*, 1996a).

3.3.3.3 Forma de Onda de Diâmetro Arterial Obtida Através do Processamento de Imagens de Ultra-sonografia

No ultra-som em Modo-B, os algoritmos baseiam-se em processamento de imagem (Figura 3.12). A forma de onda de diâmetro pode ser determinada por interpolação de subpixel da imagem e informações de gradiente a partir do centro do vaso, na direção das paredes. O lúmen do vaso pode ser determinado automaticamente como a região de menor valor da função de intensidade de cinza e o limite lúmen-intima como a máxima variação de intensidade de pixel, aproximadamente 100 na escala de 0 a 255 tons de cinza (HILTAWSKY e ERMERT, 2002; BRUSSEAU *et al.*, 2002; BEUX *et al.*, 2001).

Outro método também apresentado na literatura é baseado no contorno ativo ou *snakes*. A partir do contorno definido *a priori*, automática ou manualmente através da utilização dos cursores do aparelho, são observadas as propriedades (forma, continuidade, intensidade) da região próxima à marcação. O contorno inicial é deformado de acordo com as características da imagem nessa região, separando regiões de diferentes textura e propriedades estatísticas. Os *snakes* dão o alisamento final do contorno, ignorando pontos extremos isolados, diminuindo problemas decorrentes de baixo contraste e ruído na imagem (BRUSSEAU *et al.*, 2002; BEUX *et al.*, 2001). A utilização do filtro de Kalman e da transformada de Hilbert como recursos para detecção das paredes do vaso e de seu contorno interno também são apresentados em alguns trabalhos da literatura (HILTAWSKY e ERMERT, 2002;

MEINDERS *et al.*, 2001). A utilização de mínimo erro quadrático para ajuste do contorno é proposta por Stadler *et al.* (1997).

A maioria dos trabalhos com Modo-B requer a seleção manual da região de interesse ao menos no primeiro quadro da série, para posteriormente fazer a detecção automática de bordas, não sendo possível a observação em tempo-real da forma de onda de distensão arterial (BEUX *et al.*, 2001; SELZER *et al.*, 2001; STADLER *et al.*, 1996b).

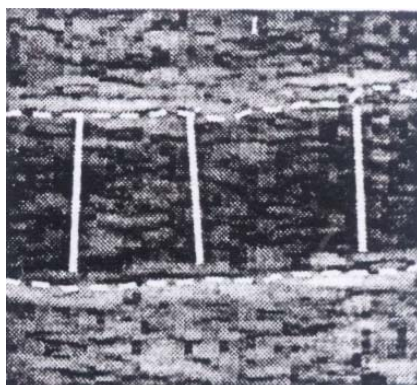


Figura 3.12: Resultado do sistema desenvolvido por Hiltawsky e Ermert (2002) para detecção automática do contorno do vaso e obtenção de diâmetro a partir da imagem da artéria em Modo-B.

3.3.4 Velocidade de Fluxo Sangüíneo

A velocidade de fluxo sangüíneo é obtida com ultra-som Doppler, utilizando o mesmo princípio de medição de velocidade de movimento das paredes arteriais. A velocidade de fluxo é obtida a partir do desvio do Doppler referente ao movimento das partículas sangüíneas (Figura 3.8). Assumindo que cada partícula do sangue contribui igualmente para o sinal Doppler recebido, o espectro de freqüência do desvio do Doppler fornece a distribuição de velocidade das partículas na amostra de volume considerada, permitindo uma estimativa da velocidade média (WILLINK e EVANS, 1995). A ressonância magnética é um recurso capaz de estimar tanto a velocidade média de fluxo sangüíneo (SILBER *et al.*, 2001) como a velocidade de onda de pulso. Porém, possui aplicabilidade clínica limitada (PANNIER *et al.*, 2002).

3.3.5 Velocidade de Onda de Pulso

A velocidade de onda de pulso é convencionalmente medida através da diferença de tempo de captação da forma de onda de pressão, de diâmetro ou de

velocidade de fluxo em dois diferentes pontos e da distância entre esses pontos de medição (PANNIER *et al.*, 2002; BRANDS *et al.*, 1998). Assim, ultra-som (PANNIER *et al.*, 2002; BRANDS *et al.*, 1998), ressonância magnética (BRANDS *et al.*, 1998) e medidores de pressão (PANNIER *et al.*, 2002; FERREIRA, 2002) podem ser utilizados para tal finalidade. Quanto mais rígido o vaso, maior será a velocidade da onda de pulso (SMULYAN e SAFAR, 1997).

3.3.6 Fluxo Sangüíneo

O fluxo sangüíneo possui unidade de volume por tempo. O fluxo apresenta característica pulsátil no sistema arterial, devido à ação intermitente da bomba cardíaca. Essa característica pulsátil é amortecida com a queda da pressão a nível arteriolar e capilar e pela maior resistência arteriolar à passagem do sangue (BERNE e LEVY, 1996).

O fluxo sangüíneo pode ser estimado a partir da integral da velocidade de fluxo, obtida com ultra-som Doppler ou através das variações de volume de um segmento com o método de pletismografia.

3.3.6.1 *Estimativa de Fluxo no Segmento por Pletismografia*

A pletismografia vem sendo usada há cerca de um século na avaliação do fluxo sangüíneo periférico (ALAM *et al.*, 2005). É utilizada para a avaliação da resposta ao exercício, à hiperemia reativa, ao aquecimento corporal, ao estresse mental e à administração de substâncias vasomotoras (JOYNER *et al.*, 2001). Esse recurso permite estimar o aumento de fluxo sangüíneo em um determinado segmento a partir do aumento de volume nesse segmento. Nos membros isso é mais viável uma vez que a variação de volume decorre basicamente da variação de fluxo sangüíneo na região.

Para a pletismografia, um sensor de estiramento (*strain-gauge*) contendo mercúrio é colocado ao redor do segmento, permitindo a mensuração da variação de volume local (LUZ *et al.*, 2003). Os protocolos geralmente utilizam o antebraço para

análise, mas as medições de influxo arterial podem ser realizadas também nas pernas e nos dedos (HOKANSON, 1998).

A variação de volume dada pelo pletismógrafo é uma variação relativa ao volume inicial do segmento, assim, é necessário que o tônus vasomotor basal seja mantido constante. Desta maneira, deve haver um controle da temperatura ambiente e a aquisição dos dados deve ser realizada em ambiente silencioso, com o indivíduo relaxado e reclinado. Os indivíduos não devem ingerir alimentos gordurosos, bebidas alcoólicas ou com cafeína e não devem fumar pelo menos nas 6 horas que antecedem o exame (ALAM *et al.*, 2005).

Para a avaliação do fluxo no antebraço (Figura 3.13), o *strain-gauge* pode ser posicionado cinco centímetros abaixo da prega cubital (LUZ *et al.*, 2003), na maior circunferência do antebraço (HOKANSON, 1998) ou a 10 cm do olecrano, com o antebraço em supinação (ALOMARI *et al.*, 2004). O braço deve estar elevado acima da linha do coração (ALOMARI *et al.*, 2004), cerca de 10 cm, e apoiado (LUZ *et al.*, 2003). Antes da colocação do *strain-gauge*, dois manguitos de pressão são posicionados ao redor do punho e do braço, respectivamente.

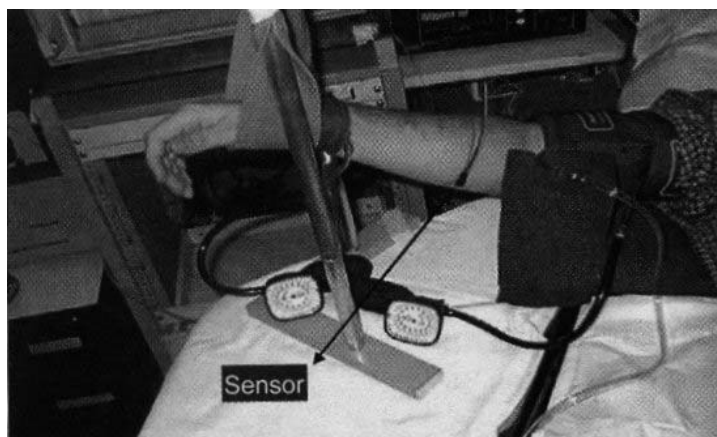


Figura 3.13: Montagem experimental num protocolo utilizando pletismografia para estimativa de fluxo sanguíneo do antebraço. Dois manguitos são posicionados, um no punho e outro no braço e o *strain gauge* é colocado ao redor do antebraço. Figura de Luz *et al.* (2003).

O manguito localizado ao redor do punho é ajustado a uma pressão acima da sistólica, que pode ser de 200 (BETIK *et al.*, 2004; LUZ *et al.*, 2003) ou 240 mmHg (ALOMARI *et al.*, 2004). Este é acionado um minuto antes do início das medições de

fluxo (ALOMARI *et al.*, 2004) para excluir a mão do sistema. O isolamento da mão é necessário, pois o fluxo sanguíneo nas extremidades é altamente sensível a variações de temperatura e contém uma grande proporção de *shunts* arterio-venosos. O período de aquisição não deve passar de 10 min devido à isquemia ocasionada na mão.

O manguito localizado no braço tem por objetivo obstruir seletivamente o retorno venoso da região. Por isso, é ajustado para 35-40 (LUZ *et al.*, 2003) ou 50 mmHg (ALOMARI *et al.*, 2004; LUZ *et al.*, 2003). A pressão usada na literatura excede a pressão venosa, mas não a pressão arterial, permitindo o influxo arterial e bloqueando o retorno venoso no segmento.

A oclusão venosa no braço é feita de forma intermitente. Esta é realizada de forma rápida e sustentada por 7 a 10 s. Posteriormente, ocorre a liberação rápida do fluxo e o esvaziamento venoso é permitido por 7 a 10 s. No momento da obstrução, ocorre um represamento de sangue no antebraço e o aumento do seu volume. A pressão venosa aumenta com a insuflação do *cuff* de pressão e a taxa de influxo arterial decresce (HOKANSON, 1998). Quando ocorre a desobstrução, o sangue é rapidamente escoado e o antebraço retorna ao volume original (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003).

O registro da variação de volume no tempo (Figura 3.14) é feito em variação percentual de volume ou em variação de volume por 100 ml de tecido (HOKANSON, 1998). As inclinações das retas nas fases de aumento do volume (Figura 17b) dão uma estimativa de fluxo (HOKANSON, 1998; LUZ *et al.*, 2003). Os valores de fluxo obtidos por pletismografia geralmente são documentados em unidades de mililitros por 100 ml de antebraço por minuto (LUZ *et al.*, 2003; HOKANSON, 1998; HOKANSON *et al.*, 1975).

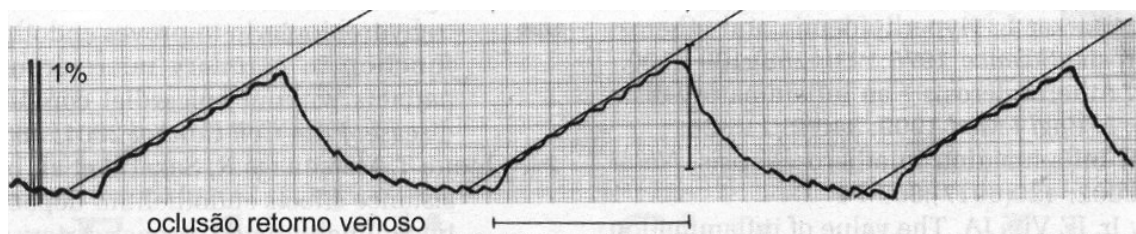


Figura 3.14: Sinais de variação relativa de volume do segmento corporal no tempo. A inclinação da reta representa uma estimativa de fluxo sanguíneo. Figura adaptada de Luz *et al.* (2003).

Capítulo 4

MODELO PARAMÉTRICO DA MECÂNICA VASCULAR NA PLETISMOGRAFIA POR OCLUSÃO VENOSA

Este capítulo abordará a parte do trabalho relacionada ao desenvolvimento de um modelo da mecânica vascular, usado para a interpretação de dados de POV, que incorpora características arteriais e venosas. De modo a facilitar a leitura do trabalho, serão apresentados nas várias seções deste capítulo os aspectos metodológicos, os resultados e as conclusões relativas a esta etapa do estudo.

Como mencionado no Capítulo I, os objetivos do presente trabalho relacionaram-se ao desenvolvimento de uma técnica não-invasiva para a caracterização da mecânica arteriovenosa na pletismografia por oclusão venosa (POV). Tal técnica foi baseada num modelo eletro-hidráulico representativo do sistema arteriovenoso no antebraço durante a POV. De modo a avaliar a dinâmica vascular, a técnica deveria utilizar dados de POV obtidos em resposta a um estímulo perturbador do equilíbrio do sistema vascular e estimar parâmetros do modelo capazes de caracterizar alterações do comportamento vascular induzidas em indivíduos normais.

Os dados experimentais utilizados para a avaliação do modelo foram sinais de variação de volume do antebraço decorrentes do influxo arterial no segmento cedidos pelo Laboratório de ciências do Exercício (LACE) da Universidade Federal Fluminense (UFF). Tais sinais foram coletados, para a dissertação de mestrado de Figueiredo (2006), pelo próprio autor, em condições de repouso do sistema arterial, sendo observadas apenas as alterações causadas pelo protocolo de pletismografia, e após a realização de um protocolo de isquemia prolongada. A partir dos dados originais, o fluxo sanguíneo no segmento foi estimado seguindo-se procedimentos descritos pelo próprio fabricante do pletismógrafo usado para coletar os dados e que são amplamente utilizados por vários autores.

Os materiais e métodos empregados nesta parte do trabalho estão descritos a seguir.

4.1 Materiais

Para aquisição de sinais de fluxo sanguíneo foi utilizado um pletismógrafo EC (Hokanson, Bellevue, EUA) em associação com um sistema de aquisição e processamento do sinal proveniente do equipamento citado, tendo sido tal sistema desenvolvido no decorrer do presente trabalho.

O pletismógrafo fornece um sinal analógico proporcional à variação relativa de volume do segmento dada em percentual ou em mililitros por 100 ml de tecido (HOKANSON, 1998). O sinal de saída do pletismógrafo foi coletado por uma placa de aquisição AT-MIO 16 (*National Instruments, Austin, USA*), controlada por um programa desenvolvido em LabView® (*National Instruments, Austin, EUA*) que permite o monitoramento, a gravação e o processamento desse sinal, conforme mostra o esquema simplificado da Figura 4.1.

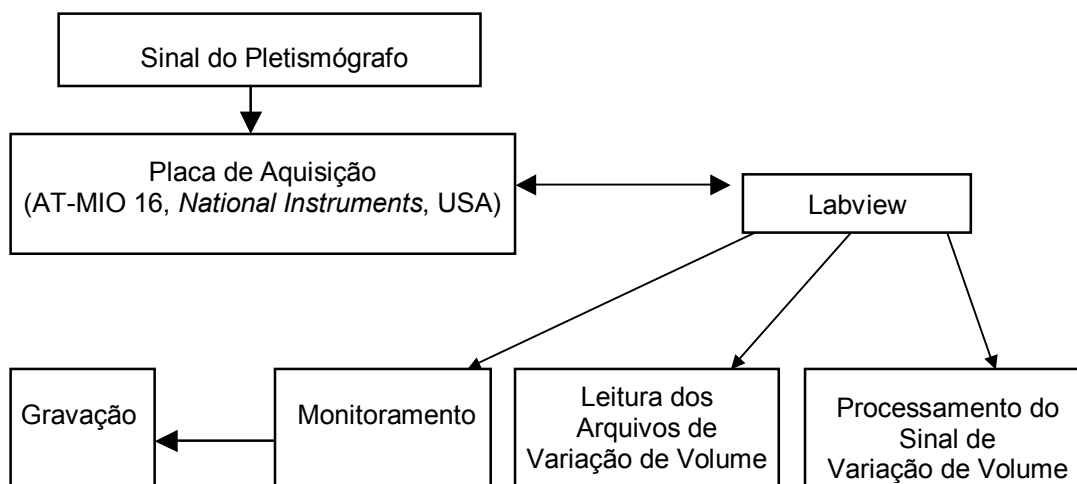


Figura 4.1: Sistema em *Labview* para monitoramento, leitura e gravação do sinal de variação de volume proveniente do pletismógrafo.

O processamento do sinal de volume relativo fornecido pelo pletismógrafo teve por objetivo a obtenção do influxo arterial no segmento. Apesar de o programa desenvolvido em LabView® permitir a obtenção de informações de fluxo sanguíneo na região para cada ciclo pletismográfico, foi utilizado o programa Matlab® versão 5.3 para o processamento *offline* de todo o sinal de pletismografia.

4.2 Procedimentos para a Pletismografia

Após um registro do sinal de pletismografia por oclusão venosa (POV) em condições basais, foi realizada uma coleta após a hiperemia reativa, induzida por 5 min de isquemia. A isquemia prolongada foi utilizada como recurso para promover a perturbação do equilíbrio do sistema vascular, permitindo assim o estudo da dinâmica vasomotora durante o processo de retorno do sistema vascular às condições basais. Os protocolos para a indução da hiperemia reativa e para a aquisição dos sinais de interesse durante o processo de busca pela homeostasia estão descritos a seguir.

4.2.1 Protocolo de Aquisição dos Dados de Pletismografia

O voluntário foi conduzido a uma sala de coleta, provida de isolamento acústico e mantida a uma temperatura controlada entre 22 e 25° C. O voluntário se acomodava confortavelmente em decúbito dorsal, estando o seu membro superior direito posicionado sobre um suporte de modo que permanecesse acima do nível cardíaco (ALOMARI *et al.*, 2004) durante a coleta (FIGURA 4.3). Dois manguitos pneumáticos, acessórios do pletismógrafo, foram utilizados para variação das pressões sobre o membro superior estudado: um foi posicionado ao redor do braço e outro ao redor do punho direito do voluntário. O manguito do braço foi conectado ao sistema de insuflação do pletismógrafo *Hokanson* (*Hokanson*, Bellevue, USA), sendo o mesmo capaz de alterar rapidamente a pressão do manguito em no máximo 0,3 s (HOKANSON, 1998). O manguito do punho foi controlado por um esfigmomanômetro. Um extensômetro (*strain gauge*) de mercúrio foi utilizado para a avaliação indireta de volume, sendo posicionado sobre a pele na maior circunferência do antebraço direito do voluntário. Após o adequado posicionamento do voluntário e da colocação dos manguitos e do *strain gauge*, e respeitado um período de adaptação de 30 min, foi feito um registro de POV basal (Figura 4.4). Em seguida, foi conduzido o protocolo de hiperemia reativa.



Figura 4.3: Aparato experimental para a pletismografia. Fotografia cedida pelo LACE/ UFF.

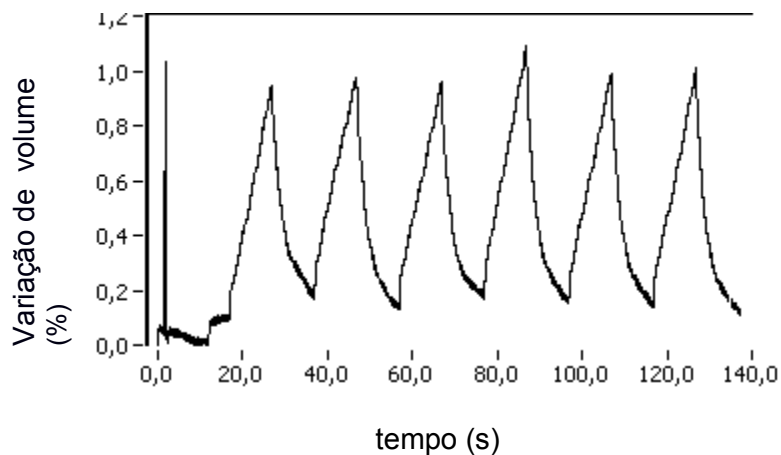


Figura 4.4: Registro do sinal basal de POV.

A Figura 4.5 esquematiza as etapas de isquemia e de registro do sinal de pletismografia. Para estabelecer a isquemia prolongada, o manguito do braço foi insuflado a 200 mmHg por cinco minutos (BETIK *et al.*, 2004). No quarto minuto de isquemia, o manguito do punho foi insuflado para uma pressão supra-sistólica de forma a impedir a interferência de alterações de fluxo da extremidade nas medições (ALOMARI *et al.*, 2004).

Decorridos os cinco minutos de isquemia, a circulação do braço foi liberada (Figura 4.5a) e após 10 s a pressão do manguito localizado no braço foi elevada para 50 mmHg (ALOMARI *et al.*, 2004). Esta pressão possui magnitude superior à da pressão venosa e inferior à da pressão arterial diastólica, ocasionando assim uma interrupção seletiva do retorno venoso (HOKANSON, 1998); resultando num represamento de sangue no antebraço e, conseqüentemente, no aumento de volume

do segmento em decorrência do influxo arterial. Essa pressão foi mantida por 10 segundos e removida rapidamente, permitindo igual tempo de esvaziamento venoso, antes da próxima oclusão venosa, concluindo desta forma um ciclo pletoisomográfico. Cada ciclo gera uma forma de onda como aquela apresentada anteriormente na Figura 4.4.

O registro do sinal pletoisomográfico de cada voluntário teve duração de 3 min, considerando 10 s de influxo arterial e 10 s de efluxo venoso (Figura 4.5b), o que resultou em arquivos com 9 ciclos pletoisomográficos (Figura 4.6), que registram a variação de volume na hiperemia reativa e durante o processo de retorno do fluxo às condições basais, e que, em tese, carregam informação sobre comportamento do sistema vascular na busca da homeostasia local.

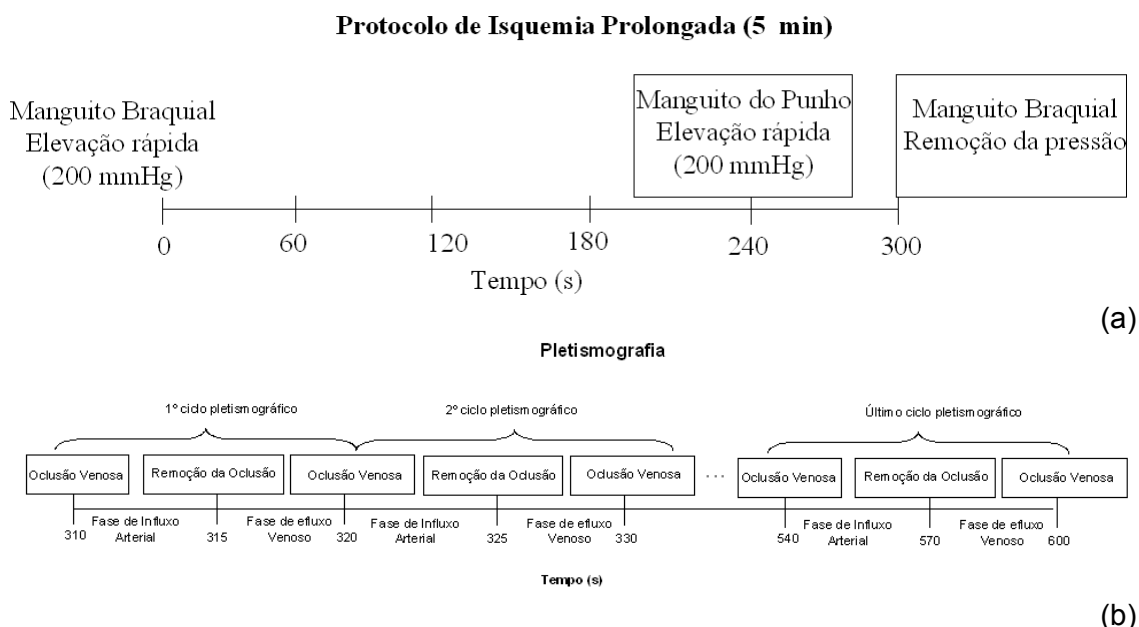


Figura 4.5: Representação do protocolo para isquemia prolongada (a) seguido de 3 minutos de registro pletoisomográfico considerando ciclos com duração de 20 s (b).

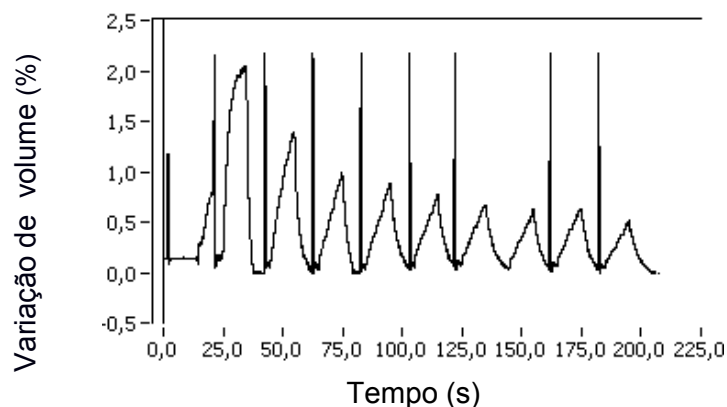


Figura 4.6: Sinal pletoisomográfico de antebraço coletado após-isquemia de cinco minutos durante 3 minutos com ciclos pletoisomográficos de 20 s.

4.3 Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV

Para o estudo do comportamento mecânico do vaso durante a oclusão venosa e durante o processo de restauração das condições basais após-isquemia prolongada o sinal de pletismografia por oclusão venosa (POV) foi inicialmente simulado.

A circulação no antebraço durante o protocolo de POV foi modelada pelo sistema eletro-hidráulico apresentado na Figura 4.7b. O modelo considera a circulação sanguínea em um único segmento vascular (Figura 4.7a). Apesar de simples, por não representar as ramificações e anastomoses dos vasos, o modelo contempla as contribuições arterial e venosa para o sinal de variação de volume do antebraço por POV. O presente documento apresenta voltagens e correntes elétricas como seus análogos hidráulicos, pressões e fluxos, respectivamente.

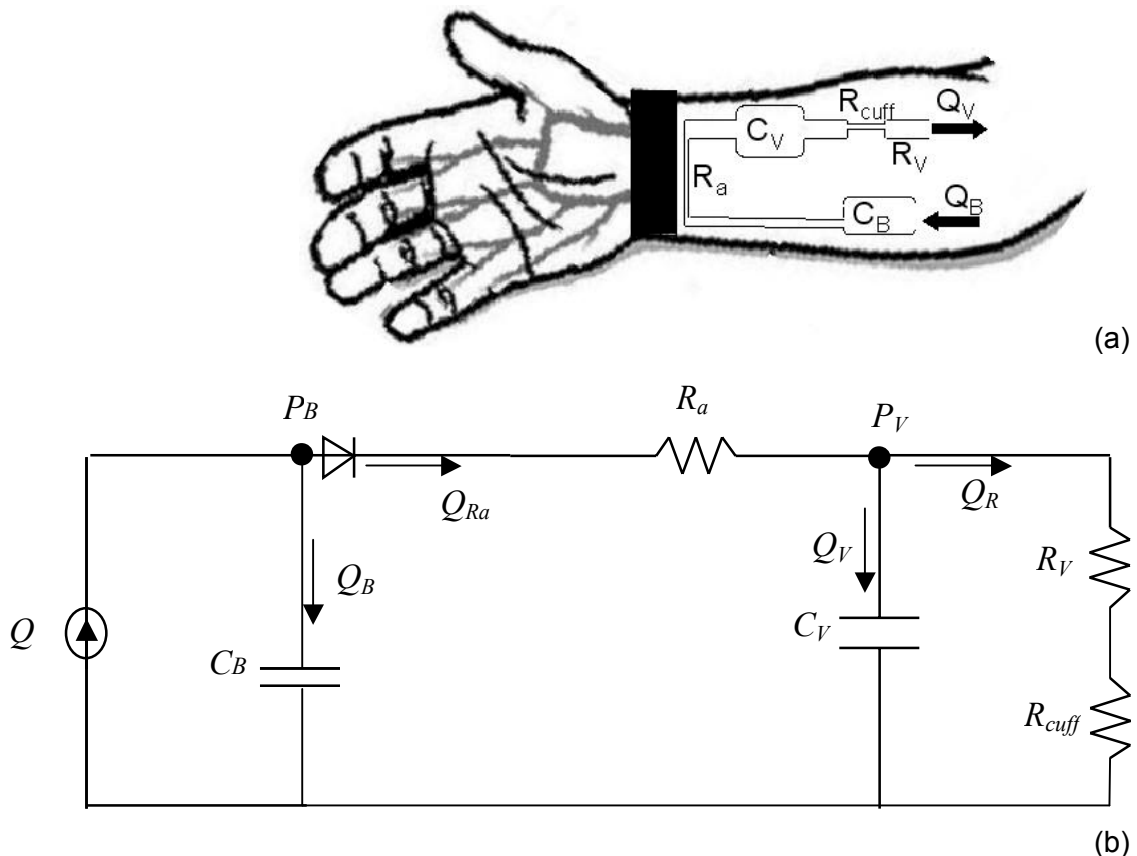


Figura 4.7: Modelo paramétrico da circulação do membro superior durante a oclusão venosa. Q é a fonte de fluxo, C_B é a complacência braquial, R_a é a resistência do sistema arteriolar, C_V é a complacência venosa, R_{cuff} é a resistência ao retorno venoso, imposta experimentalmente pelo manguito de pressão localizado no braço, e R_V é a resistência venosa. P_B e P_V são, respectivamente, as pressões no sistema arterial (braquial) e venoso. Q_B é o fluxo por C_B , Q_V é o fluxo por C_V , Q_{Ra} é o fluxo por R_a e Q_R é o fluxo por $R_V + R_{cuff}$.

4.3.1 Equacionamento do modelo

O modelo paramétrico de mecânica vascular na POV proposto pode ser descrito pelas seguintes equações relacionais:

$$P_B = P_B^0 + \frac{1}{C_B} \int Q_B dt \therefore Q_B = C_B \frac{dP_B}{dt} \therefore \dot{P}_B = \frac{Q_B}{C_B} \quad (4.1)$$

$$P_V = P_V^0 + \frac{1}{C_V} \int Q_V dt \therefore Q_V = C_V \frac{dP_V}{dt} \therefore \dot{P}_V = \frac{Q_V}{C_V} \quad (4.2)$$

Sendo:

$$Q = Q_B + Q_{Ra} \therefore Q_B = Q - Q_{Ra} \quad (4.3)$$

E sendo a diferença de potencial:

$$P_B - P_V = Q_{Ra} \times R_a \therefore Q_{Ra} = \frac{P_B - P_V}{R_a} \quad (4.4)$$

Então:

$$\dot{P}_B = \frac{Q_B}{C_B} = \frac{Q - \frac{P_B - P_V}{R_a}}{C_B} = \frac{Q}{C_B} - \frac{P_B}{R_a C_B} + \frac{P_V}{R_a C_B} \quad (4.5)$$

Sendo ainda:

$$Q_{Ra} = Q_R + Q_V \therefore Q_V = Q_{Ra} - Q_R \quad (4.6)$$

e $R = R_v + R_{cuff}$; tem-se que:

$$P_V = R \times Q_R \therefore Q_R = \frac{P_V}{R} \quad (4.7)$$

Logo:

$$\dot{P}_V = \frac{Q_V}{C_V} = \frac{P_B}{R_a C_V} - \frac{P_V}{R_a C_V} - \frac{P_V}{R C_V} = \frac{P_B}{R_a C_V} - \frac{P_V}{C_V} \left(\frac{1}{R_a} + \frac{1}{R} \right) \quad (4.8)$$

Considerando-se a forma genérica de uma equação de estado (QUEVEDO, 2000):

$$\dot{X} = AX + BU \text{ onde } X = \begin{bmatrix} P_B \\ P_V \end{bmatrix} \text{ e } \dot{X} = \begin{bmatrix} \dot{P}_B \\ \dot{P}_V \end{bmatrix} \quad (4.9)$$

as equações 4.1 a 4.9 levam a seguinte descrição do modelo eletro-hidráulico:

$$\begin{bmatrix} \dot{P}_B \\ \dot{P}_V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -\frac{1}{R_a C_B} & \frac{1}{R_a C_B} \\ \frac{1}{R_a C_V} & -\frac{1}{C_V} \left(\frac{1}{R_a} + \frac{1}{R} \right) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} P_B \\ P_V \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \frac{1}{C_B} \\ 0 \end{bmatrix} \times Q \quad (4.10)$$

Tal equação matricial pode ser resolvida para o tempo discreto utilizando-se a aproximação de Eüler (QUEVEDO, 2000):

$$\begin{bmatrix} \dot{P}_B \\ \dot{P}_V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{P_B^{i+1} - P_B^i}{\Delta t} \\ \frac{P_V^{i+1} - P_V^i}{\Delta t} \end{bmatrix} = \frac{1}{\Delta t} \left\{ \begin{bmatrix} P_B \\ P_V \end{bmatrix}^{i+1} - \begin{bmatrix} P_B \\ P_V \end{bmatrix}^i \right\} \quad (4.11)$$

Deste modo, o modelo eletro-hidráulico passa a ter o vetor de pressões P_B e P_V descrito como:

$$\begin{bmatrix} P_B^{i+1} \\ P_V^{i+1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 - \frac{\Delta t}{R_a C_B} & \frac{\Delta t}{R_a C_B} \\ \frac{\Delta t}{R_a C_V} & 1 - \frac{\Delta t}{C_V} \left(\frac{1}{R_a} + \frac{1}{R} \right) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} P_B^i \\ P_V^i \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \frac{\Delta t}{C_B} \\ 0 \end{bmatrix} \times Q \quad (4.12)$$

4.3.2 Simulações

Para a simulação da POV baseada no modelo proposto, foram usados valores de fluxo de entrada e de complacências e resistências arterial e venosa relatados na literatura científica, conforme detalhado a seguir.

4.3.2.1 Fonte de Fluxo

Os modelos de POV utilizam, usualmente, valores médios de pressão arterial como entrada (LEE *et al.*, 2001, TURNER *et al.*, 2000, SINTON e SEAGAR, 1988, ANDERSON *et al.*, 1986, SEAGAR *et al.*, 1984). Visando um modelo mais realista e que permita observar o comportamento da pressão arterial em seus extremos e na média, foi implementada na simulação do modelo de POV uma fonte de fluxo pulsátil (Equação 4.1) proposta por Ruchti *et al.* (1990).

$$Q(t) = \begin{cases} F(t), & \text{se } F(t) \geq 0 \\ 0, & \text{se } F(t) < 0 \end{cases} \quad (4.13)$$

$$F(t) = A \sin(\omega t) - \frac{A}{2} \quad \text{ml/s}$$

onde $\omega = 2\pi \frac{FC}{60}$, sendo FC a frequência cardíaca, e o valor de A foi determinado de forma que fosse obtido como resultado o fluxo braquial médio estimado para cada indivíduo, conforme detalhado a seguir.

A estimativa do fluxo médio da artéria braquial para cada voluntário foi feita utilizando o próprio sinal de pletismografia. A partir do sinal de pletismografia, dado em variação percentual ou em unidade de ml por 100 ml de tecido por min, é possível estimar o comportamento do fluxo médio do antebraço na POV. Considerando que os segmentos braço e antebraço apresentam o mesmo fluxo por 100 ml de tecido e sabendo o volume do braço, é possível calcular o fluxo médio na artéria braquial. Um volume do braço de 1.484 ml foi obtido a partir do volume do tronco de um cone calculado com valores compatíveis com as circunferências maior e menor do braço e com o comprimento do segmento. Em seqüência, o fluxo médio braquial para cada voluntário foi calculado como (Equação 4.14):

$$\bar{F}(t) = F_{Pletis} \times 14,84 \quad \text{ml/min} \quad (4.14)$$

onde \bar{F} é o fluxo na artéria braquial, F_{Pletis} é o fluxo no antebraço dado em ml/ 100 ml de tecido/ min, e 14,84 ml é o volume do braço ($V_{braço}$) dividido por 100.

O fluxo médio braquial estimado pela POV para 9 voluntários em condições de reatividade vascular normal foi de 31,02 ml/min. Esse valor é inferior aos relatados na literatura para essas condições, entre 65 ml/min (EIKEN e KOLEGARD, 2004) e 123 ml/ min (ANDERSON e MARK, 1989). Contudo, tais coletas foram conduzidas sem oclusão da circulação da mão. Anderson e Mark (1989) relatam a obtenção de fluxo de 21 ml/ min quando conduzida a oclusão do antebraço, o que torna o valor utilizado para as simulações bastante razoável.

A forma de onda de fluxo possui um período de sístole que corresponde a um terço do período cardíaco e um padrão de velocidade de fluxo próximo do fisiológico (RUCHTI *et al.*, 1990). A forma de onda obtida considerando uma frequência cardíaca de 70 batimentos por minuto é apresentada na Figura 4.8.

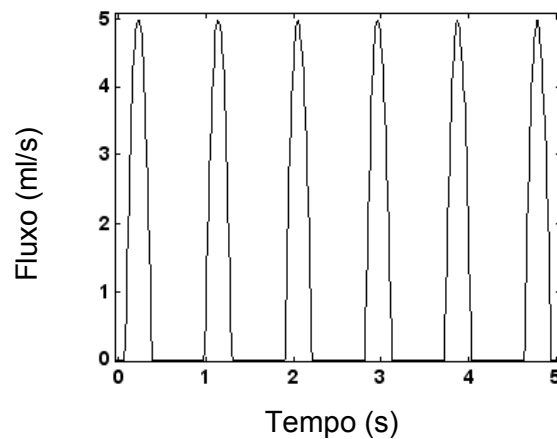


Figura 4.8: Forma de onda de fluxo simulada para uma frequência cardíaca de 70 batimentos por minuto.

4.3.2.2 Valores de Resistência Utilizados

A resistência venosa foi estimada a partir da Equação de Poiseuille (4.15) (ANDERSON *et al*, 1986).

$$R = \frac{128\eta L}{\pi D^4}, \quad (4.15)$$

onde R é a resistência do vaso sanguíneo ao fluxo, η é a viscosidade do sangue, L é o comprimento e D é o diâmetro vascular.

Assumiu-se que a oposição ao fluxo venoso no antebraço é dada pela resistência de suas veias basílica e cefálica, dispostas em paralelo, e que ambas se opõem igualmente à passagem do fluxo. Desta forma, considerando que as veias possuem 2,9 cm de diâmetro, valor relatado por Eiken e Kölegard (2004) para a veia cefálica, e 20 cm de comprimento, valor estimado por Anderson *et al.* (1986) para as veias profundas da perna e que a viscosidade do sangue é de $2,63 \times 10^{-5}$ mmHg.s (HOEKS *et al.*, 1995), foi calculado uma R_v de 1,5 mmHg.s/ml.

A relação entre as resistências do sistema arterial (R_a) e venoso (R_v) foi estabelecida a partir das diferenças de pressão nos dois sistemas, dada pela Equação (TURNER *et al.*, 2000):

$$\frac{\Delta P_a}{R_a} = \frac{\Delta P_v}{R_v}, \quad (4.16)$$

onde P_a é a pressão arterial e P_v é a pressão venosa.

Considerando uma pressão arterial média entre 85 (SEAGAR *et al.*, 1984) e 90 mmHg (TURNER *et al.*, 2000) e uma pressão venosa média entre 5 (ANDERSON *et al.*, 1986) e 10 mmHg para um indivíduo em decúbito (TURNER *et al.*, 2000; SEAGAR *et al.*, 1984), a resistência arterial poderia ficar entre 7,5 e 18 vezes maior que a venosa. Seagar *et al.* (1984) usaram $R_a = 7,5 R_v$. Contudo, Turner *et al.* (2000) consideraram $R_a = 6 R_v$. Foi adotada nesse trabalho a relação $R_a = 16 R_v$.

A resistência do *cuff* (R_{cuff}) é igual a zero quando a pressão do manguito posicionado ao redor do braço, responsável pela oclusão do retorno venoso, é igual a zero. O valor de R_{cuff} quando o manguito é acionado não é relatado em nenhum dos trabalhos de modelagem de POV citados. Assim, o R_{cuff} foi determinado heurísticamente através de simulações, uma vez que este determina a forma dos degraus gerados pelo influxo arterial em cada batimento cardíaco e influencia também na variação de volume do segmento. Foi estabelecido um $R_{cuff} = 20 R_v$.

4.3.2.3 Valores de Complacência Utilizados

Os modelos interpretativos da pletismografia por oclusão venosa descritos na literatura possuem como meta, em sua totalidade, a análise das características mecânicas de complacência e resistência das veias dos membros inferiores, visando observar o comportamento desses parâmetros na presença de trombose venosa profunda (LEE *et al.*, 2001; TUNER *et al.*, 2000; SEAGAR *et al.*, 1984). Desta maneira, nenhum dos modelos de POV encontrados na literatura inclui a complacência do sistema arterial. Tais modelos normalmente a desprezam por ser muito menor que a complacência venosa (LEE *et al.*, 2001; TUNER *et al.*, 2000; SINTON e SEAGAR, 1988; ANDERSON *et al.*, 1986; SEAGAR *et al.*, 1984). Soma-se ainda o fato dos autores estarem interessados no estudo seletivo do sistema venoso. Contudo, visando monitorizar a evolução da pressão arterial durante a POV, o presente estudo considerou a complacência da artéria braquial. Esta foi estabelecida como 24 vezes inferior à complacência venosa do mesmo segmento (GUYTON e HALL, 2002).

Para o cálculo da complacência venosa, assume-se que a variação de volume do segmento decorre apenas da variação de volume nas veias (ANDERSON *et al.*, 1986; SEAGAR *et al.*, 1984) e que a pressão venosa atinge, no máximo, valores equivalentes a 90% da pressão do *cuff* (ANDERSON *et al.*, 1986), que é geralmente ajustada em 50 mmHg (ANDERSON *et al.*, 1986). Anderson *et al.* (1986) estimaram

uma complacência de 1,1 ml/mmHg para os membros inferiores. Para a estimativa, os autores consideraram o volume da perna, obtido a partir de suas dimensões, e assumiram uma variação percentual de volume de 3,2% com uma variação de pressão venosa de 40 mmHg. No presente trabalho, a complacência do antebraço foi calculada considerando os mesmos valores de variação percentual de volume e de variação de pressão venosa utilizados por Anderson *et al.* (1986). Todavia, estimando o volume inicial do antebraço a partir do volume do tronco de um cone, considerando a maior e a menor circunferência e o comprimento do antebraço. Foi obtido um valor de complacência venosa de 0,66 ml/ mmHg.

4.3.2.4 Variação de Volume do Segmento na POV

A restrição ao retorno venoso foi considerada através do aumento do valor da R_{cuff} . Enquanto a R_{cuff} assume valor diferente de zero, considera-se a ocorrência do influxo arterial e a ausência de retorno venoso, o que resulta no aumento de volume do antebraço. A variação de volume do antebraço foi estimada pelo modelo a partir do produto entre a variação de pressão venosa e a complacência venosa. Todavia, o sinal de saída do pletismógrafo fornece informação de variação relativa percentual de volume. Assim, os valores de variação de volume obtidos pela simulação foram divididos pelo volume inicial, estimado a partir das dimensões do antebraço, e multiplicados por 100 %, para que ficassem na mesma escala, conforme descrito pela equação (4.17).

$$\Delta V = \frac{\Delta P_v \times C_v}{V_0} \times 100\% \quad (4.17)$$

4.4 Validação do Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV

Para avaliar o modelo proposto no presente trabalho foram utilizados os sinais de POV do banco de dados do LACE/ UFF. Os registros são provenientes de coletas realizadas para uma dissertação de mestrado da UFF, realizadas por Figueiredo (2006), seguindo condutas aprovadas pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal Fluminense.

4.4.1 Protocolo de alteração vasomotora utilizado pelo LACE

Foram cedidos pelo LACE dados de 10 sujeitos jovens, do sexo masculino, sedentários, em três condições discriminadas no próximo parágrafo. Os voluntários eram não-fumantes, apresentavam exames laboratoriais de glicose, colesterol e triglicérides normais, não possuíam doenças cardiovasculares, renais ou de qualquer tipo de doença crônica que necessitasse de tratamento, não faziam uso de psicoativos, anti-hipertensivos, broncodilatadores, entre outros medicamentos. A idade média (\pm desvio padrão) dos voluntários era de 30,3 anos (\pm 6,0), altura de 1,8 (\pm 0,07) m, peso de 74,7 (\pm 8,1 Kg) e índice de massa corporal estimado de 24,1 (\pm 2,5).

A coleta foi feita após-isquemia prolongada nas condições placebo (*condição 1*) e após dois estímulos controlados: ibuprofeno (*condição 2*) e exercício (*condição 3*), de acordo com o seguinte protocolo duplo cego:

Cada voluntário ingeria duas drágeas, sendo estas placebo ou contendo um total de 1.200 mg de ibuprofeno. Duas horas após a ingestão, o exame pletismográfico era realizado. O voluntário era então submetido a exercício aeróbico de esforço máximo. Foi utilizado um protocolo do teste de esforço em esteira, de intensidade progressiva, previamente calculada para que o voluntário atingisse o pico de esforço em 8 a 12 minutos. Ao final do esforço, os voluntários receberam nova dose de ibuprofeno (600 mg via oral) ou placebo e foram encaminhados à sala de experimentos para outro registro pletismográfico. O período de repouso em posição supina antes das novas medições foi de 10 min.

O voluntário retornava em outro dia, ingeria a outra dupla de drágeas e repetia o protocolo. Foram utilizados para análise nesse estudo os dados coletados duas horas após a administração das drágeas de placebo e ibuprofeno e os dados coletados após o exercício para a condição placebo.

4.4.2 Ajuste dos Parâmetros do Modelo de POV aos dados Experimentais

Utilizando um programa desenvolvido em Matlab® 5.3 (Mathworks, Natick, MA, EUA), as regiões ascendentes de cada ciclo pletismográfico eram inicialmente delimitadas manualmente com o auxílio de cursores (Figura 4.9). Essa informação servia posteriormente de condição para que R_{cuff} assumisse valor diferente de zero. A variação de volume no trecho ascendente e o tempo de duração desse trecho foram utilizados também para o cálculo do fluxo arterial médio para cada voluntário em

condições basais e do fluxo médio em cada um dos nove ciclos de cada voluntário em condições dinâmicas, pós-hiperemia reativa. A linha de base dos sinais foi removida, quando necessário, para que todos os ciclos pletismográficos começassem em zero.

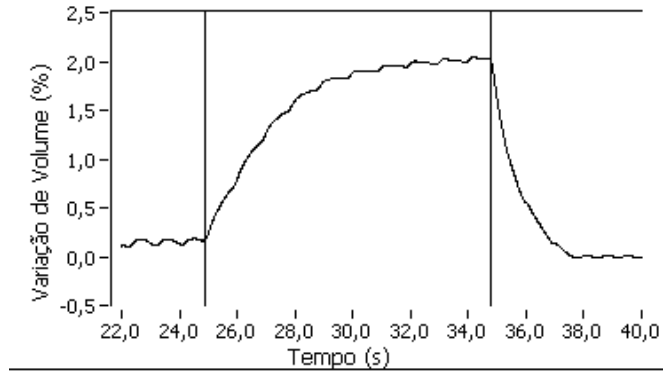


Figura 4.9: Seleção da porção ascendente de cada ciclo pletismográfico.

O fluxo sanguíneo de entrada utilizado no modelo, $Q(t)$, foi ajustado considerando a frequência cardíaca de cada indivíduo. A frequência cardíaca para cada voluntário, em cada uma das três condições, foi estimada a partir do próprio sinal de POV, considerando-se três degraus do sinal pletismográfico, que correspondem a três batimentos cardíacos, e o período de tempo do início do primeiro degrau ao término do terceiro (Figura 4.10).

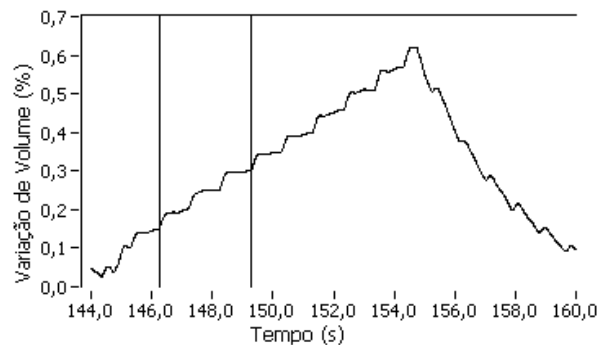


Figura 4.10: Estimativa da frequência cardíaca dos voluntários em cada uma das três condições experimentais: placebo (*condição 1*), pós ibuprofeno (*condição 2*) e pós-exercício (*condição 3*). A estimativa é feita através da divisão do número de batimentos selecionados (três) pelo período de tempo delimitado pelos cursores.

Nesta etapa do trabalho foi atribuído à complacência arterial (C_B) um valor fixo. Utilizando os dados experimentais e as equações descritivas do modelo, foi realizado um procedimento de ajuste linear multiparamétrico (sub-rotina *fmincon* do Matlab®) para a estimação dos parâmetros C_V , R_V e R_a para as três condições experimentais. A função erro utilizada durante o ajuste dos parâmetros do modelo aos dados

experimentais privilegiou em primeira instância a forma de onda do ciclo pletismográfico. O segundo fator mais importante para o ajuste foi a manutenção da pressão arterial média na fase de efluxo arterial ($R_{cuff} = \text{zero}$) próxima ao valor médio registrado para cada condição, antes da realização do experimento para o registro do sinal de POV.

4.5 Resultados do Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV Basal

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos com o modelo eletro-hidráulico proposto.

As etapas do trabalho apresentadas anteriormente consistiram em: (1) processamento dos sinais de pletismografia basal e pós-hiperemia reativa (cedidos pelo LACE) em três condições experimentais distintas (placebo, ibuprofeno e pós-exercício); (2) no ajuste do modelo proposto aos dados experimentais e (3) na extração e análise dos parâmetros do modelo para cada uma das três condições.

O processamento teve por objetivo remover a linha de base dos sinais de forma que todos os ciclos de todos os sinais pletismográficos começassem em zero. Neste caso, o zero seria o ponto demarcador do início da variação de volume decorrente do influxo arterial no antebraço. Foram também obtidas informações dos sinais, tais como o número de ciclos de cada sinal e a duração do trecho ascendente de cada ciclo pletismográfico. Tais informações foram utilizadas na etapa posterior de ajuste do modelo aos dados experimentais.

Alguns exemplos de ajustes do modelo aos dados experimentais coletados em condições basais são apresentados na Figura 4.11. É considerada condição basal aquela na qual o sinal de pletismografia foi coletado antes de ser conduzido o protocolo de hiperemia reativa, independente da ingestão de ibuprofeno ou da realização prévia de exercício.

A primeira linha da Figura 4.11 mostra os ajustes dos parâmetros do modelo aos dados experimentais de POV para o mesmo voluntário, antes da aplicação do protocolo de hiperemia reativa, nas situações: *placebo* (Figura 4.11a), após a ingestão de *ibuprofeno* (Figura 4.11b) e após a realização de *exercício* (Figura 4.11c). Os sinais das condições *placebo* e *exercício* foram coletados no mesmo dia e os da condição *ibuprofeno*, em dia separado. As segunda e terceira linhas da Figura 4.11, apresentam, respectivamente, as formas de onda de pressão arterial e venosa estimadas pelo modelo.

Devido à falta do arquivo de POV basal de um voluntário na condição placebo, um dos dez voluntários iniciais foi excluído do estudo. Assim, foram considerados apenas os resultados de nove indivíduos nas três condições para a análise dos resultados dessa etapa.

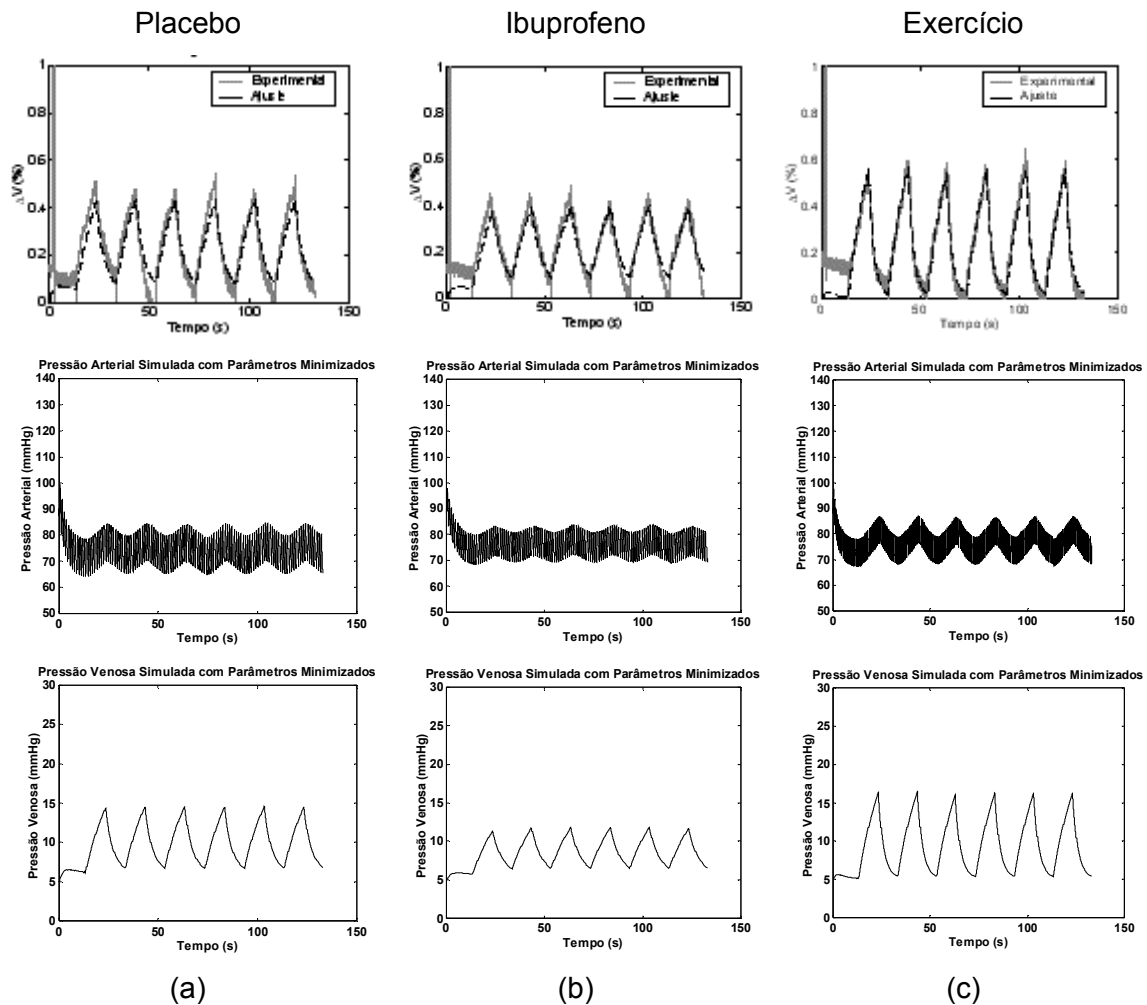


Figura 4.11: Exemplos de ajuste do modelo paramétrico de mecânica vascular na POV aos dados experimentais (1ª linha da Figura) e simulação do comportamento da pressão arterial (2ª linha da Figura) e venosa no sistema (3ª linha da Figura) para as condições *placebo* (a), *ibuprofeno* (b) e *exercício* (c).

A Figura 4.12 destaca a forma de onda da pressão arterial sistólica, que varia com as fases de influxo arterial e escoamento venoso, gerando uma oscilação de mais baixa frequência, determinada pelo ciclo pletismográfico. A pressão varia ainda, conforme o esperado, com a frequência cardíaca. Desta forma, pode-se observar oscilações da pressão arterial dentro do próprio ciclo pletismográfico.

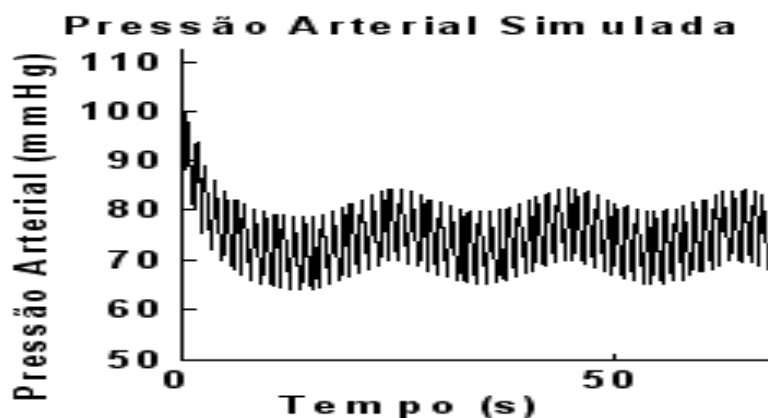


Figura 4.12: Influência do protocolo de pletismografia (fases de influxo arterial e escoamento venoso) e da frequência cardíaca na pressão arterial.

A Tabela 4.1 apresenta os valores brutos dos parâmetros complacência venosa (C_v), resistência arterial (R_a) e resistência venosa (R_v) estimados pelo método e modelo propostos, para os nove indivíduos nos três grupos experimentais *Placebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício*. Os valores médios dos referidos parâmetros podem ser visualizados na Tabela 4.2, para os nove indivíduos nos três grupos experimentais. Para a avaliação do comportamento entre os grupos, foi feita a análise de variância com o teste de Friedman para dados não-paramétricos pareados. Os pares foram comparados com o pós-teste de Dunns. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

Tabela 4.1: Valores de Fluxo Braquial, C_v , R_v e R_a , estimados para as condições *Placebo* (P), *Ibuprofeno* (I) e *Exercício* (E)

Voluntários	Fluxo (ml/ min)			C_v (ml/ mmHg)			R_a (mmHg.s/ ml)			R_v (mmHg.s/ ml)		
	P	I	E	P	I	E	P	I	E	P	I	E
1	22,6	20,0	26,3	0,23	0,38	0,33	172,25	203,80	155,32	15,00	15,00	11,25
2	37,2	33,4	48,7	0,34	0,26	0,19	106,22	118,97	78,25	8,31	10,27	8,87
3	30,4	38,4	39,8	0,30	0,29	0,23	127,59	100,70	99,25	11,06	10,28	8,97
4	30,7	38,3	48,2	0,32	0,39	0,17	125,22	103,75	78,11	11,55	9,11	11,40
5	21,4	30,7	47,9	0,34	0,19	0,26	184,56	127,00	82,04	14,65	12,60	6,52
6	45,4	46,9	42,1	0,39	0,35	0,24	85,09	84,91	93,03	8,89	7,17	8,81
7	33,1	39,6	67,5	0,53	0,36	0,30	119,70	100,45	57,74	8,83	7,95	5,61
8	24,9	30,1	31,8	0,28	0,30	0,33	154,75	132,86	124,93	15,00	11,20	11,41
9	33,8	28,2	44,8	0,35	0,45	0,38	113,88	142,98	89,58	10,62	11,66	6,77

Tabela 4.2: Valores médios de Fluxo Braquial, C_v , R_v e R_a , estimados para as condições *Placebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício*

Grupos	Placebo	Ibuprofeno	Exercício	Valor de p
Fluxo (ml/ min)	31,02 (7,87)*	33,84 (7,87)	44,82 (11,72)*	0,01
C_v (ml/ mmHg)	0,34(0,08)	0,33 (0,07)	0,27 (0,07)	0,33
R_v (mmHg.s/ ml)	11,55 (2,57) *	10,58 (2,26)	8,84 (2,08) *	0,03
R_a (mmHg.s/ ml)	132,14 (30,30)*	123,93 (33,13)	95,36 (27,39)*	0,01

* Para cada parâmetro, os grupos que apresentaram diferença significativa entre si.

4.6 Discussão dos Resultados do Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV Basal

Nesta seção, será conduzida a análise dos resultados de forma segmentada. Primeiramente serão feitas considerações sobre o modelo proposto. Em seguida serão avaliados os valores de fluxo, complacência e resistências vasculares obtidos neste trabalho em comparação a outros trabalhos científicos. Posteriormente, será comparado o comportamento dos parâmetros entre os grupos de estudo.

4.6.1 O Modelo Paramétrico da Mecânica Vascular na POV

Vários modelos eletro-hidráulicos, usados na interpretação de dados da pletismografia por oclusão venosa, vêm sendo propostos ao longo dos anos para estimar valores de complacência e resistência venosas dos membros inferiores (LEE *et al.*, 2001; TURNER *et al.*, 2000; SINTON e SEAGAR, 1988; ANDERSON *et al.*, 1986; SEAGAR *et al.*, 1984). Contudo, como já mencionado, os trabalhos têm como objeto de estudo o sistema venoso em condições normais e na presença de trombose venosa profunda. Assim, tais modelos não consideram a complacência do sistema arterial, impossibilitando a observação do comportamento da pressão arterial com a oclusão venosa. Por estarem voltados para aplicabilidade na área de angiologia, os trabalhos, apesar de incorporarem nos modelos a resistência arteriolar, não relatam os valores estimados pelo modelo para este parâmetro.

A análise do componente arterial do modelo é importante, uma vez que a pletismografia é amplamente utilizada no estudo do fluxo sanguíneo durante o exercício, a hiperemia reativa, o aquecimento corporal, o estresse mental e a administração de substâncias vasomotoras (JOYNER *et al.*, 2001). Tais estímulos causam alteração no diâmetro arterial, diretamente relacionado ao fluxo direcionado às veias.

A possibilidade de análise da mecânica arterial e venosa simultaneamente é um ponto bastante relevante do modelo proposto, pois os trabalhos existentes priorizam uma ou outra abordagem. Pang (2001) destaca que a escassez de informações sobre o sistema venoso, quando o sistema cardiovascular ou a reatividade vascular são estudadas, ocorre apesar de o sistema venoso ser de grande importância para o débito cardíaco e para a manutenção e controle da pressão arterial

média. A autora afirma que o sistema venoso, por conter aproximadamente 70% do volume sangüíneo, ao alterar sua complacência, afeta todos os componentes do sistema cardiocirculatório e que o estudo da regulação do sistema cardiovascular requer o conhecimento do funcionamento do sistema venoso.

A fonte de excitação utilizada no modelo proposto para a POV é outro diferencial do presente trabalho. Os modelos existentes para a POV (LEE *et al.*, 2001; TURNER *et al.*, 2000; SINTON e SEAGAR, 1988; ANDERSON *et al.*, 1986; SEAGAR *et al.*, 1984) utilizam valores médios de pressão arterial como entrada, o que impossibilita observar um comportamento mais realista da pressão venosa durante a POV. O modelo proposto utiliza uma fonte pulsátil de fluxo, que, além de mais realística, permite a observação de um comportamento mais fidedigno da pressão venosa, o que foi registrada invasivamente em estudos prévios.

O modelo proposto considera também os componentes de complacência e resistência do sistema arterial, não apenas a resistência, como realizado em trabalhos anteriores (LEE *et al.*, 2001; TURNER *et al.*, 2000; SINTON e SEAGAR, 1988; ANDERSON *et al.*, 1986; SEAGAR *et al.*, 1984), o que permite analisar o comportamento da pressão arterial durante o protocolo de POV. Por utilizar uma fonte de fluxo pulsátil, o modelo permite monitorizar não apenas o comportamento médio da pressão arterial, como também as pressões sistólica e diastólica.

4.6.2 Análise dos Valores Estimados de Fluxo, Complacência e Resistências

O fluxo médio na artéria braquial foi estimado com ultra-som Doppler por Eiken e Kolegard (2004) e Anderson e Mark (1989). Os valores relatados pelos autores são respectivamente 65 ml/min e 123 ml/min. Todavia, Anderson e Mark relatam que quando a oclusão distal é conduzida, o fluxo braquial é reduzido significativamente. Os autores observaram fluxo médio de 21 ml/min quando realizada a oclusão da porção proximal do antebraço com o manguito de pressão do pletismógrafo ajustado a 200 mmHg. A oclusão conduzida no presente trabalho foi mais distal que a realizada por Anderson e Mark, próximo à região do punho. Contudo, os valores de fluxo braquial estimados no presente trabalho, a partir do produto entre a variação de fluxo medida pelo pletismógrafo e a estimativa do volume do braço (Equação 4.2), estão igualmente abaixo dos valores relatados por Eiken e Kolegard (2004) e Anderson e Mark (1989) para condições onde não há restrição do fluxo distalmente ao sítio de medição, além dos valores obtidos parecerem clinicamente plausíveis.

Para as principais veias da perna, Anderson *et al.* (1986) estimaram uma complacência de 1,1 ml/ mmHg. Catherine Pang (2001) diz que as veias do antebraço são menos distensíveis que as da perna. Utilizando o método descrito por Anderson *et al.* (1986) estimou-se (seção 4.3.2.3) a complacência venosa do antebraço em 0,66 ml/ mmHg. Watenpaugh (1996), afirma na introdução de seu memorando técnico, que a diferença entre as complacências das veias do braço e as da perna favorece a manutenção da pressão de enchimento cardíaco e, conseqüentemente, o débito cardíaco e a perfusão cerebral durante o ortostatismo, apesar de ter encontrado valores maiores para a complacência venosa nos membros superiores que inferiores em seus experimentos. Os valores estimados pelo procedimento de ajuste multiparamétrico (0,27 – 0,34 ml/ mmHg) são próximos a estimativa inicial feita para o antebraço, baseada no procedimento descrito por Anderson *et al.* (1986). O comportamento da pressão venosa apresentado na Figura 4.11 pode ser considerado um indicativo da adequação dos valores de complacência obtidos, uma vez que os valores de pressão foram calculados considerando o volume do antebraço e os valores de complacência do modelo e encontram-se dentro da faixa de normalidade, conforme discutido a seguir.

Segundo Anderson *et al.* (1989) a pressão venosa atinge 90% da pressão do *cuff* quando manguitos de cerca de 20 cm são utilizados e 50% da pressão do *cuff* com manguitos entre 10 e 16 cm. Os dados experimentais utilizados no presente trabalho foram coletados com manguito mais estreito que 20 cm, tendo sido sua pressão ajustada para 50 mmHg. Assim, considerando que a pressão venosa fica em torno de 50 % da pressão do *cuff*, quando a pressão venosa atinge seu máximo e se estabiliza, os valores de pressão deveriam estar em torno de 25 mmHg após a estabilização. A estimativa de pressão obtida com o procedimento e modelo propostos apresentou valores inferiores a 25 mmHg. Contudo, durante a fase experimental observou-se que o tempo de insuflação utilizado não foi suficiente para que o sinal de variação de volume e, conseqüentemente, a pressão venosa atingisse a estabilização. Outra característica que merece destaque é que a pressão venosa estimada quando a pressão do *cuff* vale zero também assumiu valores dentro da faixa esperada, entre 5 mmHg (ANDERSON *et al.*, 1986) e 10 mmHg (TURNER *et al.*, 2000; SEAGAR, 1984).

Os valores médios de resistência venosa estimados pelo modelo para os três grupos encontram-se cerca de 5,9 a 7,7 vezes acima do valor esperado (1,5 mmHg. s/ ml), calculado considerando o diâmetro das veias cefálica e basilica como 2,9 cm e calculando a resistência a partir da Equação de Pouiselle (Equação 4.3). Contudo, o valor de 2,9 cm de diâmetro foi obtido por Eiken e Kölegard (2004)

para a veia cefálica com o *cuff* do pletismógrafo mantendo uma pressão de 30 mmHg sobre a região do braço, o que pode ter ocasionado o aumento de volume do vaso e conseqüentemente de seu diâmetro. Considerando que de acordo com a equação de Poiseuille (Equação 4.15) a resistência é inversamente proporcional à quarta potência do diâmetro, pequenos aumentos no diâmetro podem levar a importantes reduções na resistência vascular, podendo tornar o valor esperado inferior ao real. Por outro lado, há escassez na literatura de informações sobre a dimensão das veias cefálica e basílica, o que impossibilita a análise da pertinência dos valores obtidos.

Em contrapartida, na relação estabelecida por Tuner *et al.* (2000), apresentada na Seção 4.3.2.2 deste documento, a resistência arteriolar poderia ficar numa faixa entre 7,5 e 18 vezes a resistência venosa. A relação entre os valores médios de resistência arterial e venosa para três grupos experimentais ficou entre 10, 8 e 11,4, conseqüentemente dentro da faixa esperada. Adicionalmente, os valores de resistência arteriolar estimados contribuem para a manutenção da pressão arterial dentro da faixa de normalidade, conforme demonstram os dados apresentados na Figura 4.11. Estes valores têm influência bastante expressiva na pressão arterial, uma vez que a complacência arterial assume valor constante durante o processo de minimização.

4.5.3 Análise do Comportamento dos Parâmetros do Modelo entre os Grupos Experimentais

Os parâmetros fluxo e resistência arteriolar apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) entre os grupos *placebo* e exercício. O grupo *exercício* apresentou valores de fluxo maiores e de resistência arteriolar menores que o grupo *placebo*, conforme o esperado. O exercício provoca o incremento do fluxo nos músculos em atividade (MOYNA e THOMPSON, 2004; PANG, 2001) e no miocárdio (MOYNA e THOMPSON, 2004). O aumento do fluxo decorre da diminuição da resistência arteriolar, do aumento do retorno venoso e do débito cardíaco (PANG, 2001).

Considerando o comportamento do sistema venoso, tanto a resistência quanto a complacência apresentaram valores maiores no grupo *placebo* quando comparado ao grupo *exercício*. Contudo, a análise de variância, seguida do pós-teste de Dunns, considerando os três grupos não apontou a existência de diferença significativa para o parâmetro complacência venosa entre os grupos. Para uma melhor exploração dos dados, usando-se o teste de Wilcoxon para dados pareados, foram verificados valores marginais entre os grupos *placebo* e *exercício* ($p < 0,098$) e *ibuprofeno* e *exercício*

(p 0,074). Um maior número de dados experimentais poderia favorecer a melhor observação desse parâmetro como descritor de diferenças na mecânica vascular em situações e populações distintas.

A complacência venosa local entre os grupos *Placebo* e *Exercício* seguiu a mesma tendência de comportamento relatado na literatura para a complacência sistêmica durante o exercício. A diminuição da complacência venosa sistêmica durante o exercício é relatada por Pang (2001). Segundo Sandblom *et al.* (2006), essa diminuição, assim como o aumento do tônus venoso, pode ser necessária para prevenir a congestão venosa nas veias mais flexíveis e vênulas. Congestão essa decorrente do aumento do fluxo capilar durante o exercício: com o objetivo de restringir o aumento de volume venoso passivo. Os autores apontam ainda a diminuição da complacência venosa durante o exercício como um dos mecanismos responsáveis pelo aumento da pressão venosa proximalmente, aumentando o gradiente de pressão venoso, o fluxo venoso e favorecendo a pré-carga cardíaca.

A nível local, Thompson *et al.* (1998) e Tripathi *et al.* (1990) observaram através de POV a diminuição da complacência venosa do antebraço com o exercício em indivíduos normais.

A resistência venosa apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) quando considerados os grupos *placebo* e *exercício*. Porém, a tendência da resistência venosa com a prática do exercício é mais difícil de ser analisada devido à sua menor contribuição para a resistência periférica total, o que torna mais escassa a quantidade de informações sobre o comportamento desse parâmetro durante o exercício (AELLING, 1994). Adicionalmente, nos estudos do comportamento venoso durante o exercício, os efeitos sistêmicos são mais relatados que efeitos locais. É relatada a ocorrência de venoconstrição e o aumento da pressão venosa centrais, diminuição da complacência (PANG, 2001) e aumento do fluxo venoso (MUNNS *et al.*, 2004). Todavia, Munns *et al.* (2004) afirmam que, em mamíferos, ocorre a redução da pressão venosa intramuscular, visando aumentar o gradiente de pressão arteriovenosa e facilitar o fluxo sanguíneo durante o relaxamento muscular. Uma possibilidade é que a redução da pressão venosa decorra da diminuição da resistência venosa a nível local, fenômeno observado no presente trabalho.

Pang (2001), analisando o fenômeno da venoconstrição, afirma que a constrição venosa causa o aumento da resistência e da pressão venosa e que tal efeito é um importante determinante do retorno venoso. Afirma ainda que o aumento da resistência venosa reduz o fluxo e aumenta a pressão de distensão proximalmente no corpo, causando acúmulo de sangue nas veias. O pensamento inverso corrobora os achados do presente trabalho. Como é possível observar na Figura 4.11, o

escoamento do sangue é mais rápido no grupo *exercício* que no grupo *placebo*, possivelmente devido a um maior fluxo venoso local.

Os resultados decorrentes da administração do ibuprofeno contrariaram as expectativas iniciais deste estudo. O ibuprofeno é um medicamento antiinflamatório que age através da inibição de prostaglandinas (WIN e MARSHALL, 2005; NAYLOR *et al.*, 1999; ENGELKE *et al.*, 1996). Assim, era esperado um efeito vasoconstritor, que poderia ser observado através da diminuição do fluxo e do aumento da resistência arteriolar. Entretanto, os parâmetros descritores da mecânica vascular seguem a mesma tendência observada com o exercício, apesar da menor magnitude dos efeitos do ibuprofeno quando comparados aos do exercício. Todavia, os resultados obtidos são coerentes com os achados de Naylor *et al.* (1999). Tais autores também observaram o aumento do fluxo com a administração de ibuprofeno.

Apesar de o ibuprofeno ter causado alterações nos parâmetros fluxo, complacência e resistências vasculares nesse estudo, e de tais parâmetros terem a mesma tendência observada no pós-exercício, os efeitos do ibuprofeno não foram tão expressivos quanto os do exercício, não resultando em diferença significativa quando comparados os grupos *placebo* e *ibuprofeno*.

4.7 Resultados do Comportamento dinâmico do Sistema Cardiovascular na POV

Para avaliar a mecânica vascular durante o processo de restabelecimento da homeostasia do sistema cardiovascular, ajustou-se o modelo paramétrico da mecânica vascular na POV aos dados experimentais coletados após cinco minutos de isquemia prolongada. O registro do sinal foi iniciado 10 s após a liberação do manguito de pressão que bloqueava o fluxo para o antebraço e teve duração de 3 min, totalizando o ajuste de nove ciclos pletismográficos por sinal registrado.

Os ajustes foram feitos para os dados dos dez indivíduos nas condições *placebo*, *ibuprofeno* e *exercício*. Entretanto, o primeiro ciclo de todos os sinais foi retirado da análise devido a erros no ajuste induzidos pela saturação do sinal (Figura 4.13a). O primeiro ciclo pletismográfico encontrava-se saturado em nove dos dez sinais do grupo *exercício*, três sinais do grupo *ibuprofeno* e três do grupo *placebo*.

Alguns sinais apresentavam saturação em mais de um ciclo pletismográfico (Figura 4.13b). Tais sinais foram retirados da análise. A exclusão dos sinais resultou numa amostra de cinco sujeitos. Para cada sujeito, os sinais coletados nas situações

placebo, *ibuprofeno* e *exercício* foram analisados, desconsiderando os resultados do ajuste do primeiro ciclo pletismográfico de cada sinal.

A Figura 4.14 apresenta os ajustes do modelo para um sujeito cujos sinais nas três condições, *placebo*, *ibuprofeno* e *exercício*, não apresentavam saturação. A primeira linha da figura mostra os ajustes do modelo aos dados experimentais de POV, obtidos para o mesmo voluntário em período pós-isquemia, nas condições *placebo* (Figura 4.14a), após a ingestão de *ibuprofeno* (Figura 4.14b) e após a realização de *exercício* (Figura 4.14c). Os sinais das condições *placebo* e *exercício* foram coletados no mesmo dia e os da condição *ibuprofeno*, em dia separado. As segunda e terceira linhas da Figura 4.14, apresentam, respectivamente, as formas de onda de pressão arterial e venosa estimadas pelo modelo.

Sinal com o primeiro ciclo saturado e
ajuste do modelo para esse sinal

Sinal com mais de um ciclo saturado e
ajuste do modelo para esse sinal

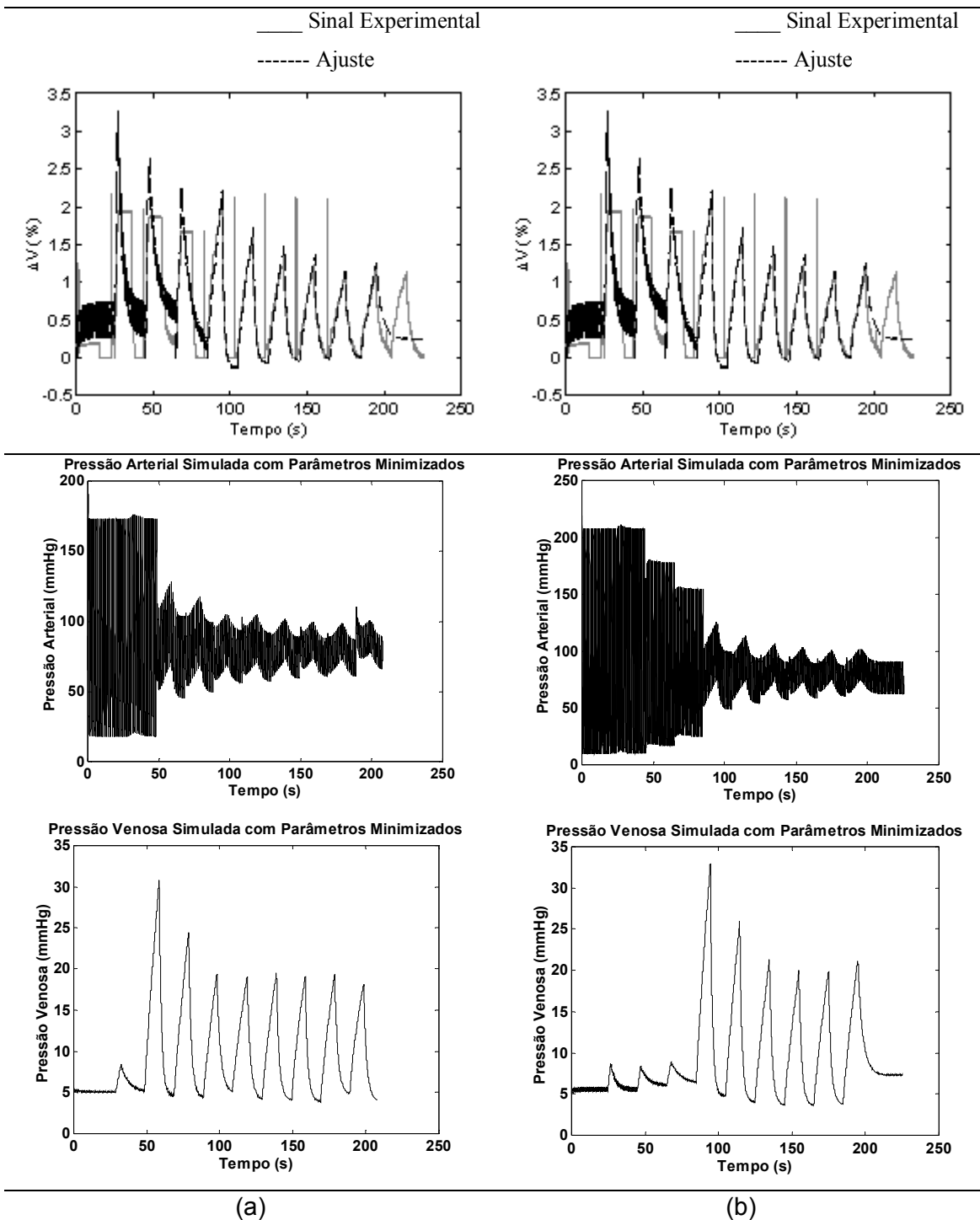


Figura 4.13: Sinal com o primeiro ciclo saturado e o ajuste do modelo para esse sinal (a). Sinal com mais de um ciclo saturado e o ajuste do modelo para esse sinal (b). Pressões arterial (2ª linha) e venosa (3ª linha) estimadas pelo modelo para cada um dos sinais.

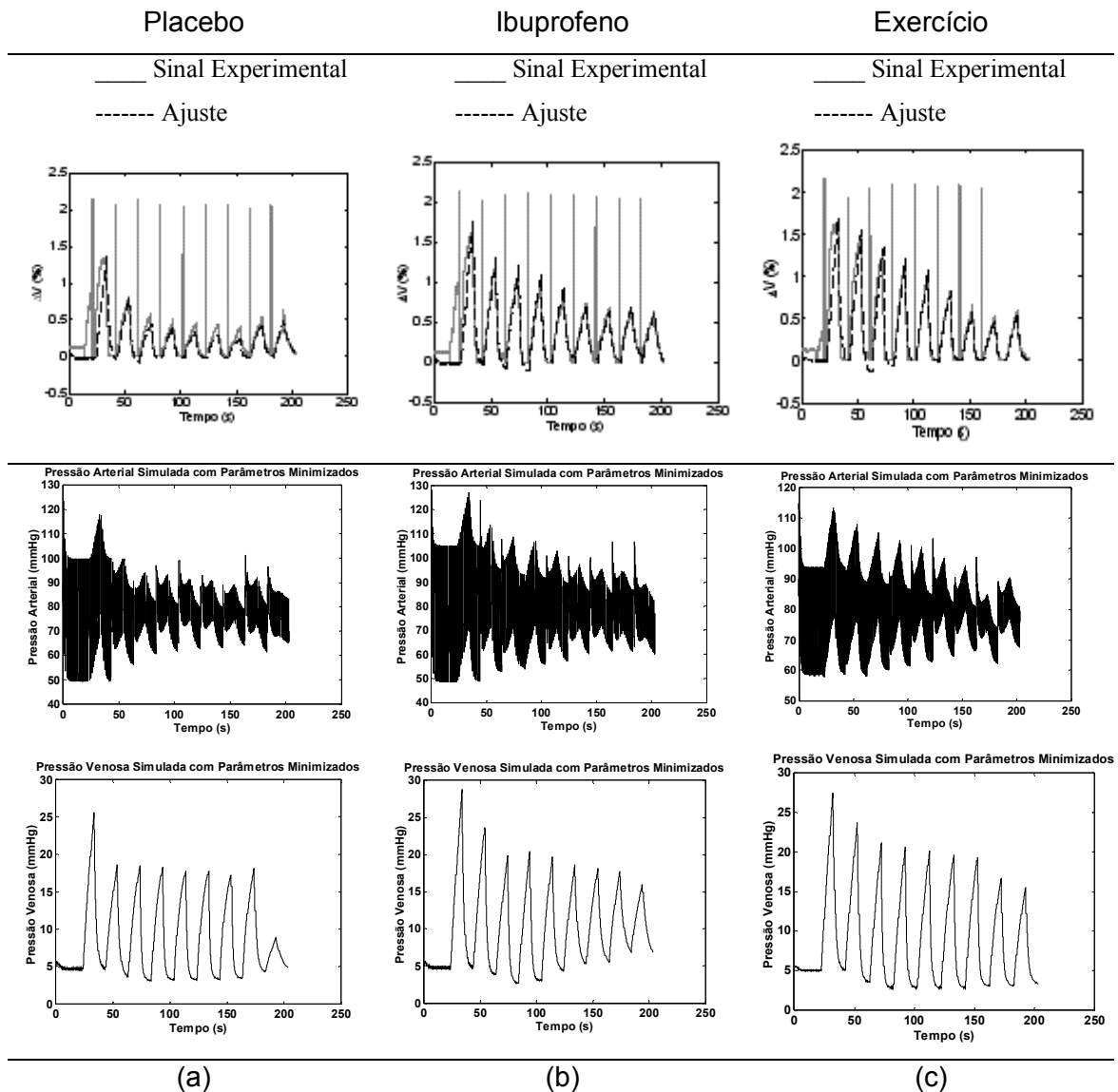


Figura 4.14: Ajuste do modelo paramétrico de mecânica vascular na POV aos dados experimentais (1ª linha da Figura) e simulação do comportamento da pressão arterial (2ª linha da Figura) e venosa no sistema (3ª linha da Figura) para as condições *placebo* (a), *ibuprofeno* (b) e *exercício* (c) no período de tempo de três minutos subsequentes ao término da isquemia.

Na primeira linha da figura acima observa-se maior variação de volume nos primeiros ciclos pletismográfico, o que indica maior fluxo nestes ciclos, e gradual retorno aos valores basais apresentados na Figura 4.11. Observa-se ainda que, mesmo com a hiperemia reativa, os valores de pressão arterial continuam dentro de uma faixa de normalidade.

Os valores de complacência venosa, resistência venosa e resistência arteriolar atribuídos pelo modelo a cada ciclo, exceto o primeiro, representam a situação da mecânica vascular naquele instante de tempo (Figura 4.15).

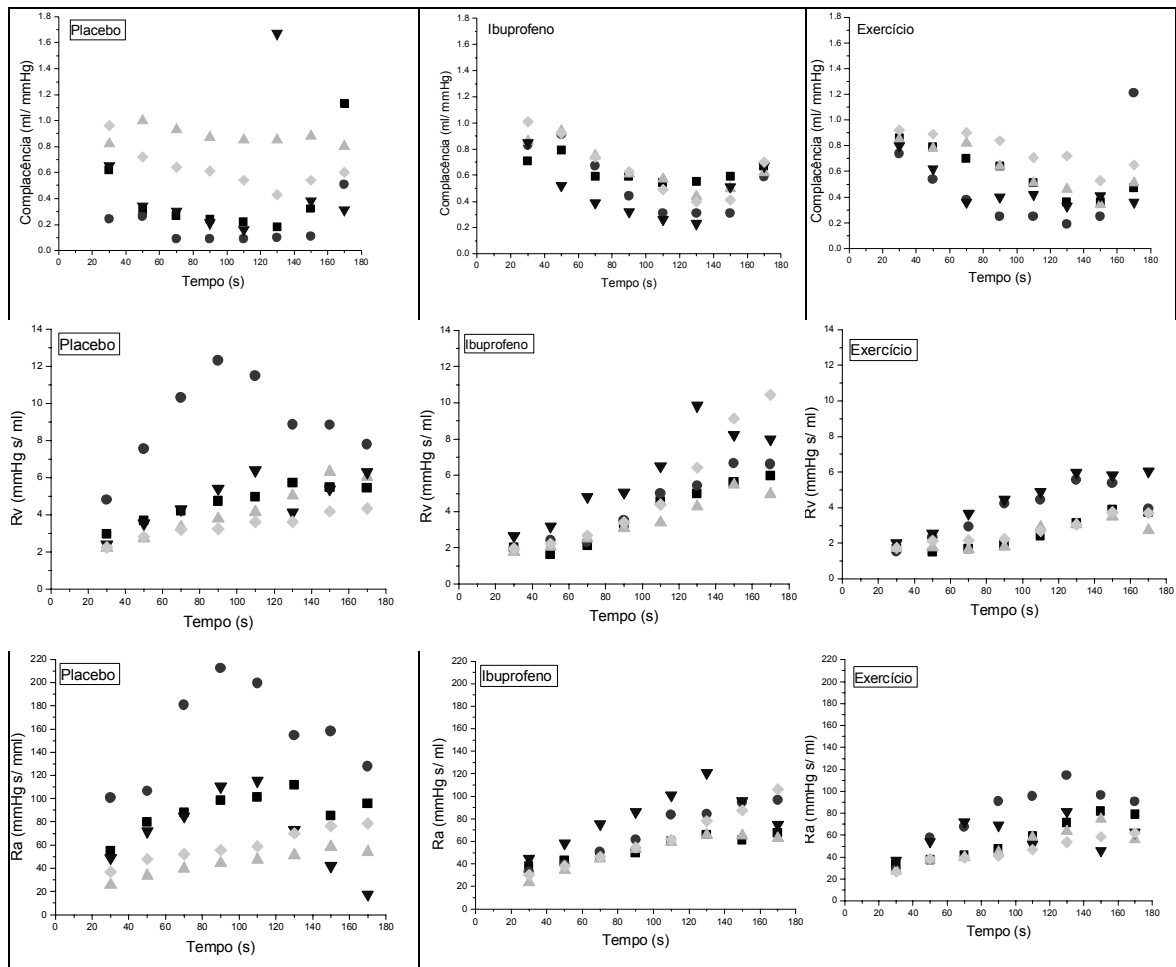


Figura 4.15: Valores de complacência venosa (1^a linha), resistência venosa (2^a linha) e resistência arterial (3^a linha) calculados pelo modelo para cada um dos oito ciclos pletismográficos de cada voluntário em cada uma das condições experimentais. Cada símbolo representa um voluntário.

Na figura acima é observada uma tendência à diminuição das resistências arteriolar e venosa e um aumento da complacência venosa com a hiperemia reativa e o gradual retorno às condições pré-isquemia.

4.8 Análise do Comportamento Temporal dos Parâmetros do Modelo Pós-hiperemia Reativa

A hiperemia reativa consiste na elevação acentuada do fluxo durante o restabelecimento da circulação após oclusão temporária (AIRES, 1999). A oclusão do fluxo causa dilatação arteriolar e queda da resistência vascular periférica (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003). Adicionalmente, após a liberação do fluxo sanguíneo, este se apresenta aumentado, resultando em exposição da camada endotelial à grande tensão de cisalhamento. Ocorre então a hiperpolarização do

endotélio, o que resulta na liberação de substâncias vasodilatadoras, levando à dilatação arterial mediada por fluxo (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003). Após a liberação do fluxo, o sistema deve tender a retornar aos valores basais. Como a resistência diminuiu com a oclusão do fluxo e com a hiperemia reativa, é esperado um aumento dessa resistência com o tempo pós-hiperemia.

A Figura 4.15 mostra o aumento das resistências, tanto arteriolar quanto venosa, com o passar do tempo após a liberação da circulação do antebraço. O aumento da resistência arteriolar é esperado, uma vez que ocorreu uma vasodilatação com a hiperemia reativa.

O comportamento da resistência venosa a nível local é pouco descrito na literatura. Contudo, os resultados obtidos na análise do comportamento dinâmico da mecânica vascular são coerentes com os obtidos na análise da mecânica vascular em condições basais (Seção 4.6). Considerando que a hiperemia reativa provoca nos parâmetros de mecânica vascular a mesma tendência do exercício (Tabela 4.2), a redução da resistência venosa estimada parece adequada.

A primeira linha da Figura 4.15 mostra a tendência da complacência com o tempo pós-hiperemia reativa. A complacência venosa nas condições *Ibuprofeno* e *Exercício* parecem ter uma tendência descendente, apesar de pouco acentuada. Assumindo que a resposta na hiperemia reativa deveria seguir a mesma tendência encontrada para o exercício no ajuste do modelo para os sinais coletados em condições basais (Tabela 4.2), seria esperado uma diminuição da complacência, seguida de um aumento gradativo até atingir o equilíbrio. Todavia, não foram encontrados estudos que avaliem a complacência venosa durante a hiperemia reativa e que permitam fazer uma melhor análise dos resultados obtidos.

A comparação do comportamento dos parâmetros entre os grupos será conduzida na próxima subseção.

4.8.1 Análise do Comportamento dos Parâmetros do Modelo entre os Grupos Experimentais

A evolução temporal dos parâmetros estimados de mecânica vascular foi realizada considerando dois descritores do comportamento: a estimativa de magnitude do parâmetro no momento da liberação do *cuff* que obstruía a circulação do antebraço (tempo = zero) e a taxa de variação desse parâmetro com o tempo. Tais informações foram obtidas através do ajuste de uma reta (Figura 4.16). Para o conjunto de valores de complacência de cada sinal (oito pontos estimados) foi ajustada uma reta e

extraídos os coeficientes angular e linear. Posteriormente esse mesmo procedimento foi realizado para os valores de resistência arteriolar ajustados pelo modelo para o mesmo sinal. O ajuste foi feito também para a resistência venosa. Esse procedimento foi repetido para todos os sinais dos cinco sujeitos nas três condições experimentais. A Tabela 4.3 expõe os coeficientes do ajuste das retas para cada um dos parâmetros de todos os voluntários. O resumo dos achados está apresentado nas Tabelas 4.4 e 4.5. Para a avaliação do comportamento entre os grupos, foi feita a análise de variância com o teste de Friedman para dados pareados. Os pares foram comparados com o pós-teste de Dunns. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

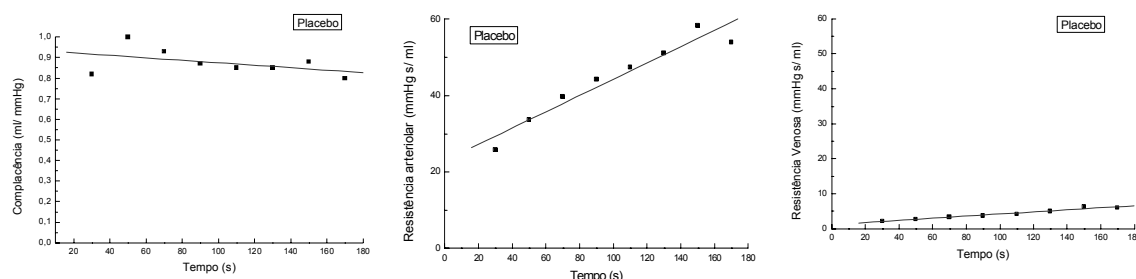


Figura 4.16: Evolução temporal dos parâmetros estimados de mecânica vascular, C_v , R_v e R_a , para um voluntário na condição *Placebo* e os ajuste de uma reta para cada um dos parâmetros. O coeficiente linear da reta representa a estimativa de magnitude do parâmetro no momento da liberação do *cuff* que obstruía a circulação do antebraço (tempo = zero) e o coeficiente angular estima a taxa de variação desse parâmetro com o tempo.

Tabela 4.3: Coeficientes (a e b) das retas ($ax+b$) para cada um dos parâmetros de todos os voluntários nas condições placebo (*PLA*), ibuprofeno (*IBU*) e exercício (*EXE*)

Parâm.	Grupos	Coefic.	Voluntários				
			1	2	3	4	5
C_v	<i>PLA</i>	a	0,002	0,001	-0,001	0,001	-0,002
		b	0,21	0,12	0,94	0,39	0,88
	<i>IBU</i>	a	-0,001	-0,004	-0,003	-0,001	-0,004
		b	0,72	0,90	0,95	0,58	1,01
	<i>EXE</i>	a	-0,004	0,001	-0,003	-0,003	-0,003
		b	0,95	0,40	0,96	0,71	1,03
R_a	<i>PLA</i>	a	0,23	0,21	0,21	-0,24	0,29
		b	66,5	133,9	22,9	94,1	30,3
	<i>IBU</i>	a	0,22	0,50	0,30	0,33	0,52
		b	31,9	17,6	21,3	49,3	10,4
	<i>EXE</i>	a	0,38	0,46	0,28	0,09	0,24
		b	18,2	34,1	22,1	50,1	22,1
R_v	<i>PLA</i>	a	0,02	0,01	0,03	0,02	0,01
		b	2,8	7,7	1,2	2,5	2,0
	<i>IBU</i>	a	0,03	0,04	0,03	0,05	0,06
		b	0,4	0,4	0,8	1,3	-1,3
	<i>EXE</i>	a	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02
		b	0,6	1,4	1,1	1,3	1,2

Tabela 4.4: Valores médios (desvio padrão) do coeficiente linear, ou intercepto, da reta para cada grupo experimental

Parâmetros	Placebo	Ibuprofeno	Exercício	Valor <i>p</i>
<i>Cv</i>	0,51 (0,38)*	0,83 (0,18)	0,81 (0,26) *	0,009
<i>Rv</i>	3,24 (2,55)*	0,31 (0,96)*	1,14 (0,29)	0,009
<i>Ra</i>	69,55 (46,01)*	26,08 (15,11)*	29,32 (13,07)	0,009

* Para cada parâmetro, os grupos que apresentaram diferença significativa entre si.

Tabela 4.5: Valores médios (desvio padrão) do coeficiente angular da reta para cada grupo experimental

Parâmetros	Placebo	Ibuprofeno	Exercício	Valor <i>p</i>
<i>Cv</i>	0,0002 (0,0017)	- 0,0024 (0,0013)	- 0,0023 (0,0018)	0,12
<i>Rv</i>	0,019 (0,07)	0,042 (0,014)	0,020 (0,007)	0,12
<i>Ra</i>	0,14 (0,22)	0,37 (0,13)	0,29 (0,14)	0,18

* Para cada parâmetro, os grupos que apresentaram diferença significativa entre si.

Observa-se uma ausência de tendência no grupo *Placebo* e uma tendência de diminuição da complacência nos grupos *Ibuprofeno* e *Exercício* (Figura 4.15). Essa tendência é confirmada pela média dos coeficientes angulares dos grupos *Ibuprofeno* e *Exercício*. A menor tendência para o grupo *Placebo* também pode ser observada pelo coeficiente angular do grupo placebo, com valor absoluto dez vezes inferior ao dos outros dois grupos experimentais.

Foi relatado anteriormente que o primeiro ciclo pletismográfico foi retirado para todos os voluntários. Desta forma, a análise começa 30 s após a suspensão da isquemia prolongada. Como o grupo *placebo* caracteriza o grupo sem alterações vasomotoras, é esperado que esse grupo atinja mais rapidamente o equilíbrio. A menor tendência da complacência com o tempo nesse grupo pode indicar que esta se estabiliza em até 30 s após a liberação da circulação do antebraço. Com a ausência de tendência do grupo *Placebo*, o coeficiente linear da reta (Tabela 4.4) é de 0,51 ml/mmHg s, valor próximo ao valor de complacência estimado para o antebraço (0,66 ml/mmHg) e mais próximo que o dos outros dois grupos dos valores dados pelo ajuste do modelo aos dados experimentais em condições basais (Tabela 4.2). O que pode ser considerado outro indicativo de que 30 s após a liberação da circulação do antebraço, a complacência já se encontra próxima ao normal.

Considerando que a complacência já retornou, ou encontra-se bastante próxima, às condições basais no grupo *Placebo* e que há uma tendência decrescente da complacência com o tempo pós-isquemia, é razoável que os valores de complacência estimados para os grupos *Ibuprofeno* e *Exercício* no momento da liberação do *cuff* que

obstrui a circulação do antebraço (coeficiente linear da reta) sejam maiores, devido à inclinação da reta para os outros grupos, que projetam para cima o valor de complacência no momento $t = 0$.

A análise realizada entre os grupos para condições basais de mecânica vascular (Seção 4.6) mostrou que a complacência média foi menor nos grupos *Ibuprofeno* e *Exercício* quando comparadas com a do grupo *placebo*. Esses resultados divergem dos projetados agora através do coeficiente linear da reta para os três grupos. Considerando que o resultado tenha sido influenciado pela ausência de tendência no grupo placebo, torna-se necessário o ajuste do modelo a ciclos pletismográficos coletados antes dos 30 s para uma adequada comparação entre grupos do comportamento desse parâmetro.

No presente trabalho, as condições *Ibuprofeno* e o *Exercício* foram utilizadas como recursos para alterar a mecânica vascular. Esperavam-se efeitos opostos sobre a reatividade vascular; contudo, constatou-se uma resposta vasodilatadora em ambos os casos. Tal efeito deve perdurar, tornando mais lento o retorno da complacência e das resistências às condições anteriores ao estímulo medicamentoso ou físico. A resposta mais lenta do sistema pode estar determinando a maior demora na estabilização da complacência nos grupos *Ibuprofeno* e *Exercício*. Esse fenômeno é também observado para as resistências arteriolar e venosa (Figura 4.15).

Na verdade, a resposta mais lenta do sistema deveria ser caracterizada por coeficientes angulares menores. Todavia, se são utilizados para análise de ciclos pletismográficos coletados no momento em que o sistema já está próximo à homeostasia, como é o caso do grupo *Placebo*, serão encontrados valores menores de coeficiente angular (Tabela 4.5).

A ausência de diferença significativa entre os grupos para o coeficiente angular descritivo da evolução temporal pode ser caracterizada principalmente pela dispersão dos resultados (Tabela 4.5), o que poderia ser minimizado caso ciclos pletismográficos presentes nos 30 segundos iniciais fossem utilizados para o ajuste, caracterizando o comportamento dinâmico de cada grupo incluindo o registro da resposta do sistema no momento em que esta é mais efetiva.

Em relação ao intercepto (Tabela 4.4), valores menores de resistência arterial e venosa foram estimados para os grupos *Ibuprofeno* e *Exercício* em relação ao grupo *Placebo* no momento da liberação da circulação ($t = \text{zero}$). Tais resultados condizem com o efeito vasodilatador observado na Seção 4.2.

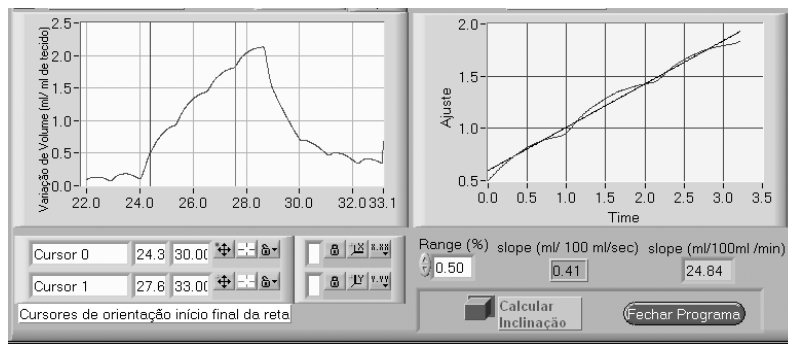
Capítulo 5

FUNÇÃO DE RESTAURAÇÃO DO FLUXO APÓS-ISQUEMIA PROLONGADA

Este capítulo descreve a parte do trabalho que objetivou caracterizar o processo de normalização do fluxo sanguíneo pós-isquemia prolongada em condições normais e as mudanças nesse processo em indivíduos com alteração vasomotora induzida. Novamente, de modo a facilitar a leitura, as várias seções do capítulo abordam aspectos metodológicos, os resultados e as conclusões desta etapa do estudo.

A descrição temporal do perfil de fluxo sanguíneo, utilizada para se investigar a ação dos mecanismos de controle vascular, foi obtida de modo indireto, nas condições *Plabebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício*. Os procedimentos utilizados para obtenção da série temporal de fluxo e para a análise da dinâmica de restauração do mesmo podem ser resumidos em:

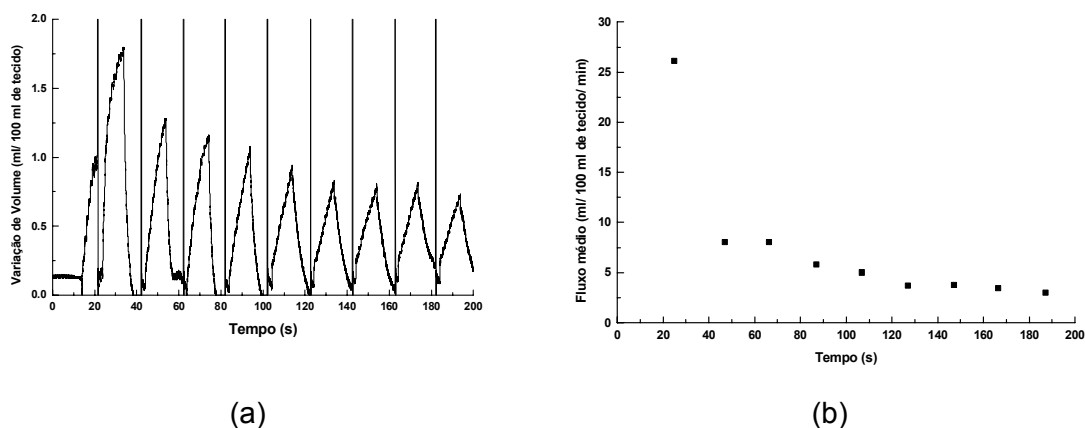
- Os três primeiros degraus de cada ciclo dos 30 registros pletismográficos realizados após-isquemia prolongada foram selecionados conforme demonstra a Figura 5.1a. Os 30 registros correspondem a três sinais para cada um dos 10 voluntários e cada um dos três arquivos corresponde a uma condição experimental. Os sinais são os mesmos utilizados anteriormente para o estudo da mecânica vascular na POV. Nenhum sinal foi descartado por estar saturado, pois apenas os três primeiros degraus de cada ciclo pletismográfico foram utilizados para análise.
- A estimativa de fluxo para cada ciclo pletismográfico foi determinada pela relação entre variação de volume medida no trecho demarcado pelos cursores e o período de duração dos degraus (Figura 5.1b). Cada um dos 30 registros geraram nove dados de fluxo ao longo do tempo pós-isquemia, um valor de fluxo normalizado para cada ciclo pletismográfico (Figura 5.2).



(a)

(b)

Figura 5.1: Demarcação com cursores de três degraus de um ciclo pletismográfico (a) e a sistemática para o cálculo do influxo arterial através do coeficiente de inclinação de uma reta ajustada para três degraus (b). Em (a), observa-se os cursores nas posições $t = 24,3$ s e $t = 27,6$ s delimitando os três pulsos utilizados para o cálculo em (b), onde o valor de fluxo na unidade usual é indicado no campo inferior direito da Figura.



(a)

(b)

Figura 5.2: Ciclos pletismográficos de um voluntário (a) e os nove pontos de fluxo estimados a partir deste registro (b).

A hiperemia reativa é caracterizada pelo aumento acentuado de fluxo sanguíneo visando o restabelecimento da circulação local. No processo de normalização do fluxo sanguíneo, é esperado que este decresça gradualmente até atingir as condições basais. Acredita-se que neste retorno aos níveis iniciais, as características mecânicas do vaso sejam moduladas por um mecanismo fisiológico de *feedback* no qual, na busca pelo ponto ótimo de fluxo, este oscile em torno do ponto ideal, e que essa oscilação diminua gradualmente e se aproxime do limiar desejado. Espera-se que quanto mais eficiente o sistema na retomada do ponto de equilíbrio, menor a amplitude da oscilação em torno deste ponto e menor o tempo necessário para atingi-lo.

Foi proposta, então, uma função matemática composto por dois termos: um termo exponencial, que estabelece a variação do fluxo com o estímulo perturbador, o tempo que este leva para a retomada do equilíbrio e o fluxo basal quando o equilíbrio do sistema é atingido; e outro oscilatório, que expressa a amplitude da oscilação em torno do ponto de fluxo ótimo, a frequência desta oscilação e o tempo que esta oscilação dura durante o processo de busca pela homeostasia. A Equação 5.1 apresenta a função descritora da dinâmica de restauração do fluxo sanguíneo proposta no presente trabalho.

$$y = k_1 e^{-\alpha_1 t} + k_2 e^{-\alpha_2 t} \cos(\omega t + th) + k_3 \quad (5.1)$$

onde k_1 e α_1 são, respectivamente, a amplitude e a taxa de decaimento do termo exponencial, k_2 , α_2 , ω e th são, respectivamente, a amplitude, a taxa de amortecimento, a frequência e a fase da função oscilatória e k_3 é uma estimativa do limiar basal de fluxo. As amplitudes k_1 , k_2 e k_3 são dadas em ml/ 100 ml de tecido/ min, α_1 e α_2 em s^{-1} , ω em Hz e th em graus.

A função matemática proposta foi ajustada aos dados experimentais através do método *Nelder Mead simplex*, disponível como uma sub-rotina do Matlab®.

Os parâmetros da função foram extraídos para os grupos *Placebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício* e a análise estatística entre os grupos foi conduzida utilizando a análise de variância com o teste de Friedman para dados pareados e não paramétricos. A comparação entre os grupos experimentais, aos pares, foi feita utilizando o teste de comparação múltipla de Dunn. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

5.1 Resultados

A média (\pm desvio padrão) dos parâmetros da Equação 5.1 estão apresentadas na Tabela 5.1 para k_1 , α_1 e k_3 , e na Tabela 5.2 para k_2 , α_2 e ω , considerando os três grupos experimentais. Estão incluídos nas Tabelas os valores de p resultantes da comparação entre grupos.

Tabela 5.1: Ajuste dos parâmetros do termo exponencial da Função 5.1 para os grupos *Placebo*, *buprofeno* e *Exercício*

Grupos	Amplitude (K_1) (ml/ ml de tecido/min)	Taxa de Decaimento (α_1) (s^{-1})	Estimativa de fluxo basal (K_3) (ml/ ml de tecido/min)
Placebo	19,55 ($\pm 5,78$)	0,078 ($\pm 0,027$)	2,58 ($\pm 1,38$)
Ibuprofeno	18,69 ($\pm 5,51$)	0,046 ($\pm 0,031$)	2,61 ($\pm 1,22$)
Exercício	39,49 ($\pm 20,77$)*	0,040 ($\pm 0,022$)	3,15 ($\pm 1,72$)
Valor de p	0,008	0,07	0,97

Média (\pm desvio padrão) de k_1 , α_1 e k_3 . * Grupo estatisticamente diferente em relação aos demais.

Tabela 5.2: Ajuste dos parâmetros do termo oscilatório da Função 5.1 para os grupos *Placebo*, *buprofeno* e *Exercício*

Grupos	Amplitude (K_2) (ml/ ml de tecido/ min)	Taxa de amortecimento (α_2) (s^{-1})	Frequencia (ω) ($rd. s^{-1}$)
Placebo	1,90 ($\pm 1,67$)*	0,010 ($\pm 0,009$)	0,010 ($\pm 0,004$)
Ibuprofeno	4,28 ($\pm 4,41$)	0,012 ($\pm 0,029$)	0,014 ($\pm 0,008$)
Exercício	17,43 ($\pm 13,62$)*	0,028 ($\pm 0,020$)	0,009 ($\pm 0,006$)
Valor de p	0,01	0,05	0,07

Média (\pm desvio padrão) de k_2 , α_2 e ω . A fase (th) foi usada apenas para favorecer o ajuste da função senoidal, não tendo sido considerada na análise entre grupos. * Para cada parâmetro, os grupos que apresentaram diferença significativa entre si.

Um gráfico contendo os pontos experimentais e o ajuste da função para dois voluntários nas três condições experimentais *Placebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício* estão apresentados na Figura 5.3.

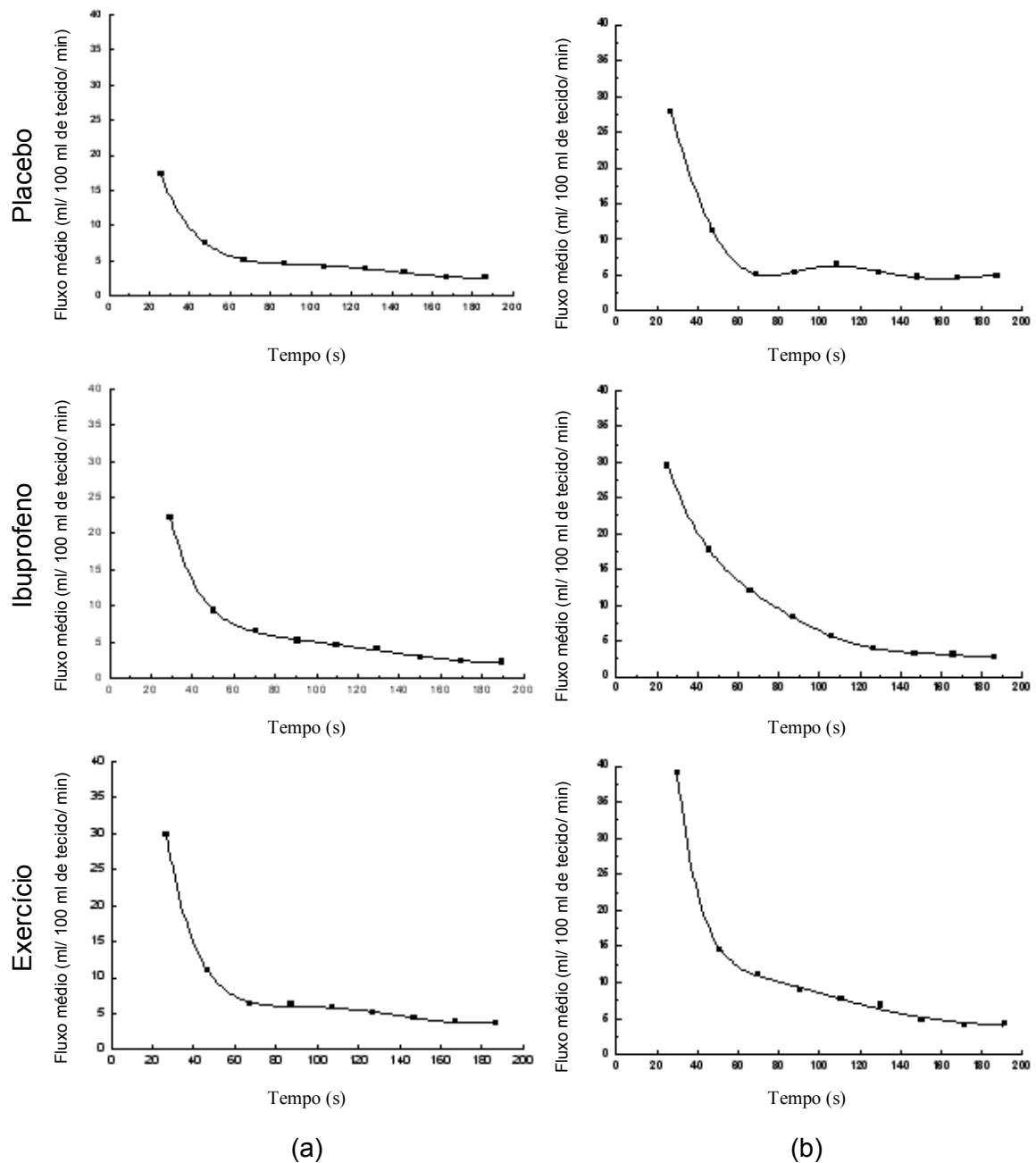
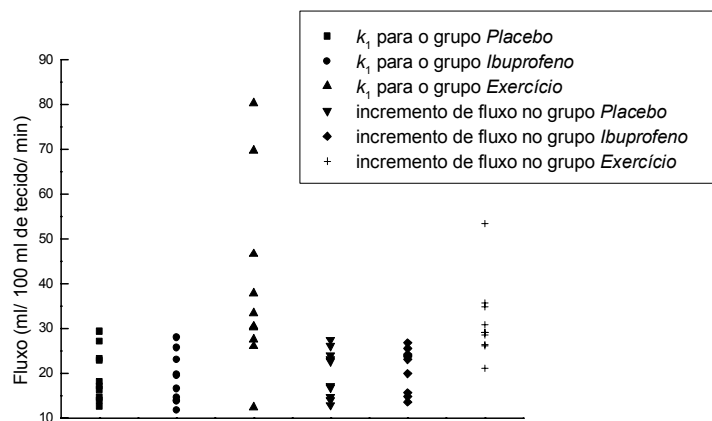


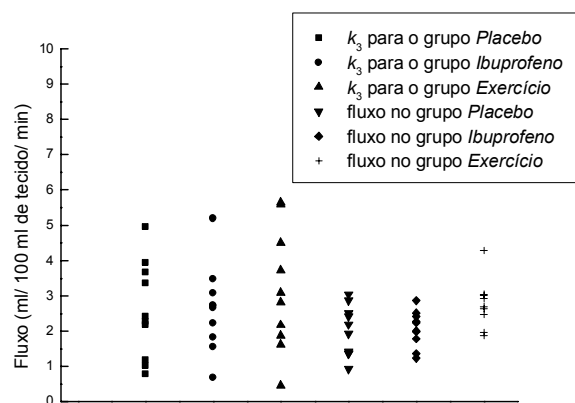
Figura 5.3: Ajuste do modelo aos dados de séries temporais de fluxo sanguíneo médio, estimados a partir do sinal de pletoisografia para dois diferentes voluntários nos grupos *Placebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício*. Cada coluna apresenta os resultados do ajuste de um voluntário nas três condições experimentais.

Para uma melhor análise da capacidade da função em estimar os parâmetros k_1 e k_3 , os mesmos foram comparados com os dados de fluxo diretamente do sinal de pletoisografia. O parâmetro k_3 , que representa a estimativa de fluxo basal, foi comparado com o fluxo basal do sinal coletado antes do procedimento de isquemia

prolongada. A amplitude da exponencial, k_1 , foi comparada com o incremento de fluxo para cada registro. O incremento de fluxo consiste no valor resultante da subtração do pico de hiperemia, caracterizado pelo fluxo no primeiro ciclo pletismográfico, do valor mínimo de fluxo do registro pletismográfico conduzido após a isquemia prolongada. A Figura 5.4 apresenta os dados de fluxo estimados pela função matemática e calculados diretamente do sinal de pletismografia para cada um dos voluntários. A Tabela 5.3 apresenta a média desses valores e o resultado da análise estatística utilizando o teste de Wilcoxon para dados pareados e não paramétricos.



(a)



(b)

Figura 5.4: Dados individuais de fluxo basal (b) e incremento de fluxo (a) estimados pela função matemática através dos parâmetros k_3 e k_1 , respectivamente, e a partir da análise direta do sinal de pletismografia.

Tabela 5.3: Valores médios fluxo basal e incremento de fluxo estimados pela função matemática através dos parâmetros k_3 e k_1 , respectivamente, e a partir da análise direta do sinal de pletismografia.

Grupos	Amplitude (k_1) (ml/ ml de tecido/min)	Incremento de fluxo (ml/ ml de tecido/min)	Valor de p
Placebo	19,55 (\pm 5,78)	19,90 (\pm 5,33)	0,85
Ibuprofeno	18,69 (\pm 5,51)	21,17 (\pm 4,80)	0,28
Exercício	39,49 (\pm 20,77)*	31,55 (\pm 8,76)*	0,28
Valor de p	0,008	< 0,0001	
	Fluxo basal (k_3) (ml/ ml of tissue/min)	Fluxo basal (ml/ ml of tissue/min)	
Placebo	2,58 (\pm 1,38)	2,00 (\pm 0,71)	0,16
Ibuprofeno	2,61 (\pm 1,22)	2,07 (\pm 0,51)	0,05
Exercício	3,15 (\pm 1,72)	3,51 (\pm 2,44)	0,56
Valor de p	0,97	0,14	

Média (\pm desvio padrão). * Grupo que apresentou diferença estatística em relação aos demais para o parâmetro analisado.

5.2 Discussão

Esta etapa do trabalho foi conduzida com três objetivos. Propor uma função matemática representativa da dinâmica do fluxo sanguíneo na hiperemia reativa (1), utilizar dados pletismográficos obtidos em diferentes condições vasculares proporcionadas pela ingestão de ibuprofeno e pela realização de exercício (2) e identificar os parâmetros da função capazes de discriminar diferenças no comportamento da dinâmica vascular entre os grupos (3).

5.2.1 Erro Médio Quadrático no Ajuste

O ajuste da função para as diferentes condições experimentais indica a existência de diferenças no processo de restauração do fluxo entre os grupos.

A função proposta contém dois termos, um termo exponencial acrescido de uma função oscilatória decrescente. O ajuste apresentou um erro médio quadrático de $0,19 \pm 0,16$ ml/ 100 ml de tecido/ min para o grupo *Placebo* e de $0,18 \pm 0,14$ ml de tecido/ min para o grupo *Ibuprofeno*. Considerando que esse erro representa cerca de 7% do valor do fluxo basal para a maioria dos voluntários, essa função parece descrever

adequadamente a maneira como os dados experimentais de fluxo sanguíneo decaem, assim como a tendência oscilatória dos dados para esses dois grupos. O erro para o grupo *Exercício* foi de $0,32 \pm 0,27$ ml de tecido/ min, o que corresponde a um percentual de aproximadamente 10%.

6.2.2 Comportamento do Termo Exponencial da Equação 5.1

Os valores de k_1 estimados pela função matemática proposta são similares, para os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno*, aos valores decorrentes do cálculo do incremento de fluxo obtido a partir do próprio sinal de pletismografia, a partir da subtração entre o pico de hiperemia e o fluxo basal. Contudo, para o grupo *exercício*, observa-se uma dispersão bem maior dos dados estimados pelo ajuste (Figura 5.4 e Tabela 5.3). A maior dispersão dos dados pode estar relacionada à maior amplitude da oscilação (k_2) e também com a fase da função oscilatória, uma vez que o valor de fluxo resultante, a cada instante de tempo, é um somatório das amplitudes da exponencial e da senóide.

A amplitude da oscilação (k_2) é cerca de 10 vezes menor que a amplitude de fluxo estimada por k_1 para o grupo *Placebo*, quatro vezes menor para o grupo *Ibuprofeno* e duas vezes menor para o grupo *Exercício*. A grande amplitude da oscilação no grupo *Exercício* parece ter sido influenciada por uma taxa de decaimento bem mais lenta do fluxo, que leva, muitas vezes, a um valor de fluxo calculado para segundo ciclo pletismográfico superior ao calculado para o primeiro ciclo (Figura 5.5a) ou ainda a uma queda “em degraus” que dificultam o ajuste adequado da frequência da senóide (Figura 5.5b).

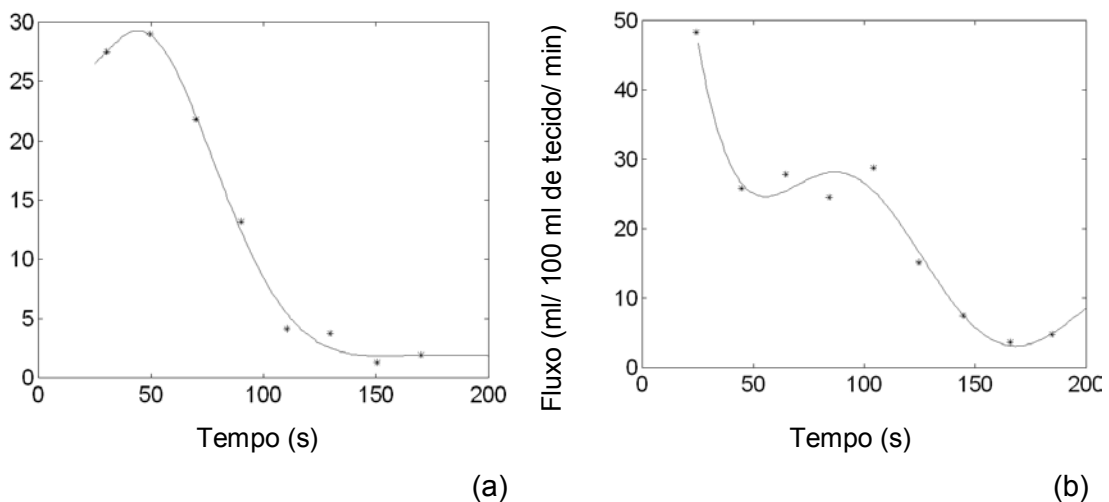


Figura 5.5: Ajustes considerados ruins para o grupo *Exercício*.

Os erros de ajuste mostrados na Figura 5.5 poderiam ser minimizados caso houvesse um maior número de dados experimentais, que poderiam ser obtidos através de um maior tempo de registro do sinal ou pela diminuição da duração de cada ciclo pletismográfico.

O fluxo basal estimado por k_3 também apresenta dispersão superior a do fluxo basal obtido diretamente do sinal pletismográfico (Figura 5.4). Adicionalmente, houve diferença significativa entre os valores de fluxo basal estimados a partir do sinal pletismográfico e através do ajuste da função matemática aos dados de fluxo, mostrando uma subestimação do fluxo basal no ajuste, o que também pode ser decorrente da amplitude inicial da oscilação e da taxa de amortecimento desta.

5.2.3 Comportamento do Termo Exponencial entre os Grupos

Considerando o termo exponencial da Equação 5.1, não houve diferença entre os valores de fluxo basal (k_3) estimados pelo ajuste da função aos dados experimentais para os três grupos. A amplitude (k_1) foi o único parâmetro da exponencial que apresentou diferença estatística. Essa amplitude foi significativamente maior no grupo *Exercício* que nos outros dois grupos. Esse resultado é coerente uma vez que a vasodilatação decorrente do exercício promove um aumento do fluxo sanguíneo local. Não foi encontrada diferença significativa na amplitude de fluxo (k_1) entre os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno*.

O pico de fluxo na hiperemia e o fluxo basal são parâmetros comumente usados para identificar diferentes populações ou situações. Entretanto, algumas vezes esses parâmetros não são sensíveis (GOKCE *et al.*, 2001; VOGEL *et al.*, 1997; TOOKE *et al.*, 1982). No presente estudo, o fluxo basal (k_3) não se mostrou um parâmetro sensível à diferença entre os grupos, e a amplitude do fluxo (k_1) não discriminou os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno*.

Quando inibidores da ciclooxigenase, como a aspirina e o ibuprofeno são utilizados em protocolos experimentais, é esperada uma redução na hiperemia reativa devido à inibição de prostaglandinas que contribuem para o aumento do fluxo (NAYLOR *et al.*, 1999, ENGELKE *et al.*, 1996). Entretanto, Naylor *et al.* (1999) encontrou significativo aumento do fluxo após-isquemia prolongada após a combinação de ibuprofeno e exercício isquêmico, o que contrariou a expectativa dos autores. Os valores de amplitude de fluxo encontrados no presente estudo também

foram maiores para o grupo *Ibuprofeno* em relação ao grupo *Placebo*, apesar desse aumento não ter sido significativo. Esses achados foram similares aos de Naylor *et al.* (1999). Parte do protocolo conduzido pelos autores usou isquemia prolongada antes e após a administração de ibuprofeno, sem a execução de exercício. Os autores observaram maiores valores de fluxo para o grupo que ingeriu ibuprofeno. Contudo, a diferença não foi significativa.

Quanto à taxa de decaimento da exponencial (α_1), observa-se um valor de p próximo ao limiar estabelecido ($p < 0,05$). Caso fosse detectada diferença, essa seria do grupo *Placebo* em relação aos outros dois grupos experimentais. Tal afirmativa baseia-se na análise dos dados par a par, para esse parâmetro, utilizando o teste de Wilcoxon, onde obteve-se um p próximo a 0,02 para a comparação entre os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno* e *Placebo* e *Exercício*. Uma amostra maior poderia favorecer este parâmetro como diferenciador do comportamento do fluxo entre os grupos.

A taxa de decaimento do fluxo (α_1) foi maior para o grupo *Placebo*, o que parece ser um resultado coerente. Em indivíduos normais, é esperado que o fluxo seja normalizado mais rapidamente. O estudo conduzido por Engelke *et al.* (1996) observou a redução da hiperemia após a administração de ibuprofeno. Todavia, o excesso total de fluxo após a isquemia não foi reduzido com o ibuprofeno. Isso porque no segundo minuto de hiperemia, o fluxo no grupo que havia ingerido ibuprofeno superava o fluxo calculado para o grupo controle. Os achados de Engelke *et al.* (1996) corroboram com os resultados obtidos no presente estudo, apesar de os autores não terem analisado os resultados como a menor capacidade de retorno do fluxo às condições iniciais do grupo que ingeriu ibuprofeno. Após o exercício, predomina a vasodilatação, o que pode também fazer com que uma taxa de decaimento menor seja estimada devido à estabilização do fluxo em um limiar basal superior ao do grupo *Placebo*.

5.2.4 Comportamento do Termo Oscilatório entre os Grupos

O termo oscilatório da Equação 5.1 representa uma característica do mecanismo fisiológico, normalmente observado em sistemas de feedback de ordem elevada. A importância do fluxo e da ação muscular sobre este mecanismo foi reportada por Ursino *et al.* (1998). Através de modelos matemático e experimental com hamsters, os autores mostraram que o mecanismo de feedback na microvasculatura do músculo esquelético é fortemente dependente do fluxo e da taxa de resposta miogênica. Dos parâmetros do termo oscilatório, a amplitude foi o único atributo capaz de discriminar

grupos, e este parâmetro só foi sensível na diferenciação dos grupos *Placebo* e *Exercício*. Contudo, conforme relatado anteriormente, essa amplitude excessiva de oscilação no grupo *Exercício* deve ter sido influenciada pela disposição dos pontos de fluxo obtidos para os sinais analisados de alguns sujeitos na condição *Exercício*, que fugiram do padrão apresentado pelos outros dois grupos. A menor amplitude de oscilação no grupo *Placebo* em relação ao grupo *Ibuprofeno* é esperada, pois um sistema vascular íntegro deve ser capaz de um ajuste mais fino do fluxo.

Os valores de p para os outros parâmetros ficaram próximos ao limiar estabelecido. Uma amostra maior poderia favorecer esses parâmetros como discriminadores entre os grupos, apesar de no parâmetro taxa de amortecimento da senóide (α_2), ser o grupo *Exercício* quem se diferencia, e, como visto, o ajuste não ficou adequado em alguns dos sinais desse grupo. Comparando os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno*, observa-se uma taxa de amortecimento mais lenta e uma frequência de oscilação menor para o grupo *Placebo*, possivelmente pela menor amplitude inicial da oscilação.

A maioria dos parâmetros da função 5.1 não aponta diferenças entre os grupos. Tais resultados podem ser consequência de um pequeno número de dados experimentais para o ajuste da função. Um maior número de dados, obtidos através de ciclos pletismográficos mais curtos, o que encurtaria o intervalo entre os pontos, ou de um período de coleta mais longo poderiam favorecer uma menor dispersão dos parâmetros e a capacidade da função proposta de distinguir diferentes condições vasculares.

5.3 Protocolo Adaptado para a Obtenção de Maior Número de Pontos Experimentais de Fluxo

Visando obter um maior número de pontos experimentais, foram realizados novos experimentos nos quais o tempo de coleta foi estendido para 5 min e os tempos de influxo arterial e efluxo venoso reduzidos para 5 s cada (Figura 5.6), gerando arquivos com 29 ciclos pletismográficos (Figura 5.7).

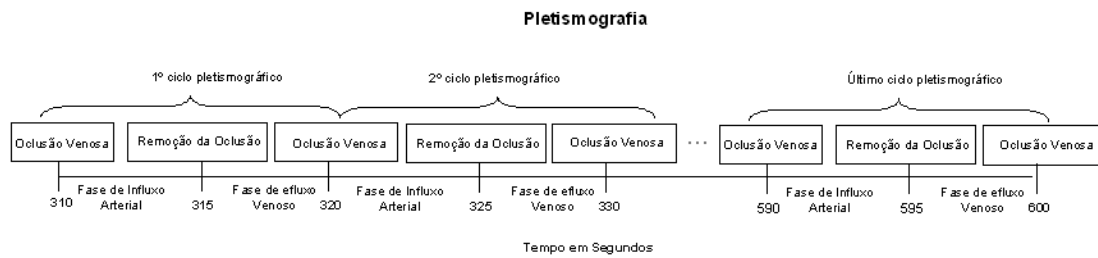


Figura 5.6: Protocolo de pletismografia por oclusão venosa adaptado para a obtenção de um maior número de informações de fluxo. O tempo de registro do sinal foi de 5 min. O registro foi iniciado após-isquemia de 5 min. A Figura ilustra a fase de registro e mostra os tempos de influxo arterial e efluxo venoso, determinados pela oclusão e remoção da oclusão venosa, que foram reduzidos de 10 para 5 s cada.

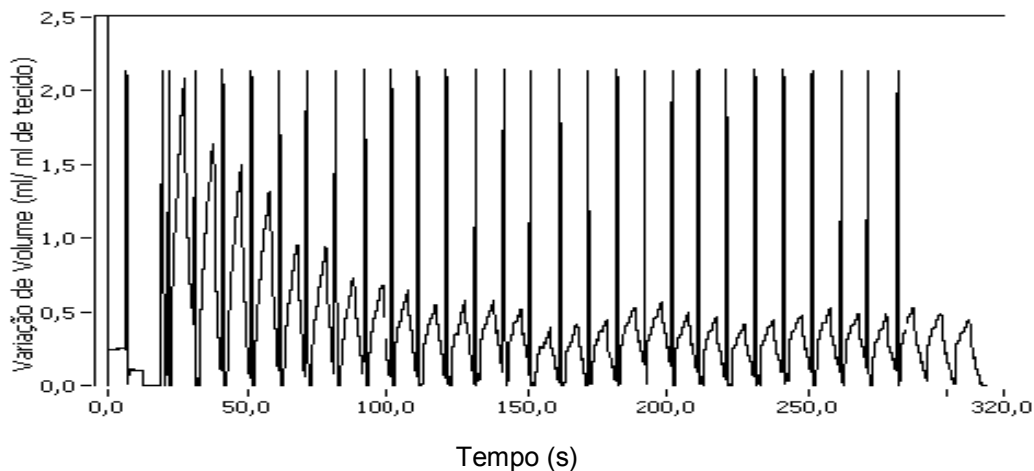


Figura 5.7: Sinal coletado no protocolo desenvolvido para a aquisição de um maior número de dados de fluxo. O registro de 5 min de coleta resulta em 29 ciclos pletismográficos.

5.3.1 Amostra

Vinte e seis indivíduos se propuseram a participar desta nova etapa do estudo. Os voluntários responderam um questionário para coleta de dados de identificação e de informações que permitissem a sua localização. Foram também coletadas informações quanto a fatores de risco para doenças cardiovasculares e ao uso de medicamentos, e realizadas algumas medidas antropométricas e hemodinâmicas. Posteriormente, os voluntários foram submetidos ao exame de pletismografia e encaminhados para o Centro de Estudos e Pesquisa da Mulher (CEPEM) para a realização de exames laboratoriais.

Foram excluídos do estudo tabagistas, hipertensos, indivíduos que fizessem uso de medicamentos psicoativos, anti-hipertensivos, broncodilatadores, portadores de doenças cardiovasculares ou de qualquer tipo de doença crônica que necessitasse de tratamento, e voluntários cujos exames laboratoriais indicassem colesterol LDL

superior a 130 e colesterol total superior a 200. Assim, os dados de 11 indivíduos, dois homens e nove mulheres, foram usados para o estudo. As características da amostra estão sumarizadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Algumas características antropométricas e hemodinâmicas da amostra.

Parâmetros	Média (\pm Desvio padrão)	Faixa
IMC (Kg/ m ²)	21,6 (\pm 2,4)	18,3 – 24,8
Circunf. Cintura (cm)	72,2 (\pm 7,1)	63 – 85
Relação Cintura/ Quadril	0,73 (\pm 0,04)	0,69 – 0,81
Colesterol total (mg/ dl)	168 (\pm 18)	142 – 193
Colesterol LDL (mg/ dl)	106 (\pm 16)	81- 124
Colesterol HDL (mg/ dl)	48 (\pm 11)	35 – 70
Colesterol VLDL (mg/ dl)	14,4 (\pm 2,9)	11 – 18
Triglicerídeos (mg/ dl)	60 (\pm 17)	32- 91
Glicose (mg/ dl)	85 (\pm 7,6)	72 – 96
PAS (cmHg)	98 (\pm 9,9)	85 – 115
PAD (cmHg)	62 (\pm 5,9)	51 – 70
FC (bpm)	63 (\pm 9)	49 – 82

5.3.2 Procedimentos para a Coleta dos Sinais de Pletismografia

Os voluntários foram divididos em dois diferentes grupos experimentais. Três voluntários fizeram parte dos dois grupos, tendo comparecido para as coletas em dois dias diferentes. Assim, cada grupo foi composto por sete indivíduos.

Um dos grupos, *Grupo Placebo*, foi submetido à pletismografia antes e após a ingestão de comprimidos de placebo. O outro, *Grupo Ibuprofeno*, foi submetido à pletismografia antes e após a ingestão de 1800 mg de ibuprofeno, 600 mg a mais do que a administrada nos dados trabalhados anteriormente. As coletas realizadas antes e depois da ingestão dos comprimidos, para ambos os grupos, tiveram espessamento de duas horas.

Os materiais, o posicionamento dos voluntários e o protocolo para a realização da isquemia prolongada foram os mesmos utilizados anteriormente, descritos no item 4.2.1 deste documento. Cada um dos registros foi realizado após a isquemia prolongada. Assim, não foi realizado um registro basal antes de ser conduzido o protocolo de isquemia prolongada.

A função matemática proposta (Equação 5.1) foi ajustada aos dados experimentais através do método *Nelder Mead simplex*, disponível como uma subrotina do Matlab®. Os parâmetros da função foram extraídos para os grupos *Placebo*, e *Ibuprofeno* e a análise estatística entre os parâmetros, para os dois grupos, antes e

após a administração dos comprimidos de placebo ou ibuprofeno, foi conduzida utilizando a análise de variância com o teste de Kruskal-Wallis. A comparação entre os grupos foi feita com o pós-teste de Dunns para dados não-paramétricos. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

Estes dados poderiam ser analisados também pelo modelo eletro-hidráulico proposto no Capítulo anterior. Entretanto, por cada ciclo pletismográfico possuir metade dos pontos experimentais, o que diminuiria a precisão do ajuste, tal procedimento não foi realizado.

5.3.3 Resultados

Um gráfico contendo os pontos experimentais e o ajuste da função de um indivíduo nos dois grupos experimentais, nas situações pré e pós-comprimido de placebo ou ibuprofeno estão apresentados na Figura 5.8.

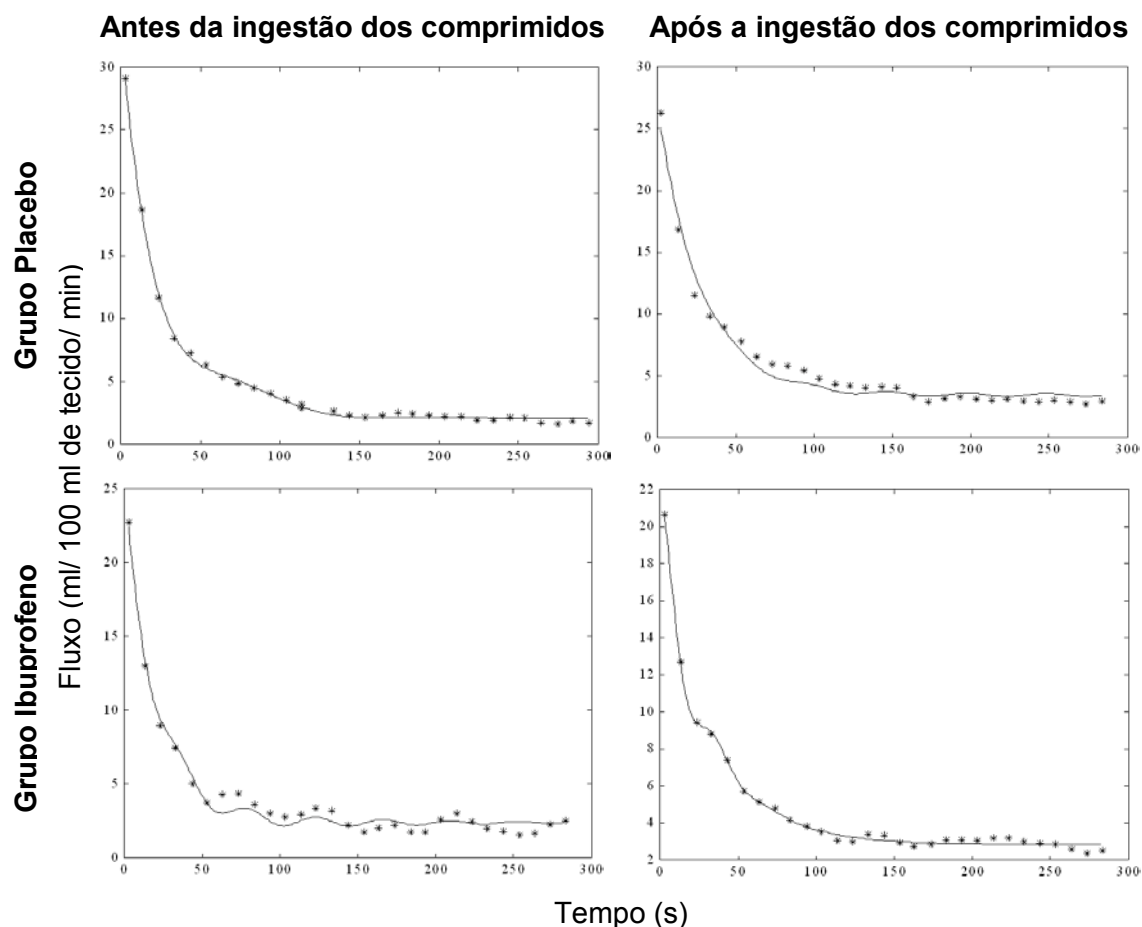


Figura 5.8: Ajuste do modelo aos dados de séries temporais de fluxo sanguíneo médio, estimados a partir do sinal de pletismografia para voluntário nos grupos *Placebo* e *Ibuprofeno*.

A média (\pm desvio padrão) dos parâmetros da Equação 5.1 estão apresentadas na Tabela 5.2 para k_1 , α_1 e k_3 , e na Tabela 5.3 para k_2 , α_2 e ω , considerando os dois grupos experimentais nas situações pré e pós ingestão de placebo ou ibuprofeno. Estão incluídos nas Tabelas os valores de p resultantes da comparação entre grupos.

Tabela 5.2: Ajuste dos parâmetros do termo exponencial da Função 5.1 para os grupos *Placebo* e *ibuprofeno*

Grupos	Amplitude (k_1) (ml/ ml de tecido/min)	Taxa de decaimento (α_1) (s^{-1})	Estimativa de fluxo basal (k_3) (ml/ ml de tecido / min)
Pré-placebo	19,38 (\pm 6,20)	0,036 (\pm 0,011)	2,29 (\pm 0,69)
Pós-placebo	18,47 (\pm 5,45)	0,040 (\pm 0,025)	2,68 (\pm 0,95)
Pré-ibuprofeno	21,94 (\pm 16,65)	0,046 (\pm 0,010)	2,12 (\pm 0,32)
Pós-ibuprofeno	19,01 (\pm 6,14)	0,037 (\pm 0,010)	2,35 (\pm 0,86)
Valor de p	0,94	0,22	0,68

Média (\pm desvio padrão) de k_1 , α_1 e k_3 .

Tabela 5.3: Ajuste dos parâmetros do termo oscilatório da função 5.1 para os grupos *Placebo* e *ibuprofeno*

Grupos	Amplitude (k_2) (ml/ ml of tissue/min)	Taxa de amortecimento (α_2) (s^{-1})	Frequência (ω) ($rd. s^{-1}$)
Pré-placebo	5,12 (\pm 3,49)	0,041 (\pm 0,022)	0,021 (\pm 0,008)
Pós-placebo	3,11 (\pm 3,48)	0,023 (\pm 0,025)	0,019 (\pm 0,006)
Pré-ibuprofeno	7,29 (\pm 12,64)	0,032 (\pm 0,026)	0,023 (\pm 0,007)
Pós-ibuprofeno	6,20 (\pm 5,94)	0,044 (\pm 0,040)	0,021 (\pm 0,010)
Valor de p	0,51	0,44	0,55

Média (\pm desvio padrão) de k_2 , α_2 e ω . A fase (th) foi usada apenas para favorecer o ajuste da função senoidal, não tendo sido considerada na análise entre grupos.

A Figura 5.9 mostra os valores ajustados para cada parâmetro da função matemática, exceto a fase do termo oscilatório, para cada um dos voluntários.

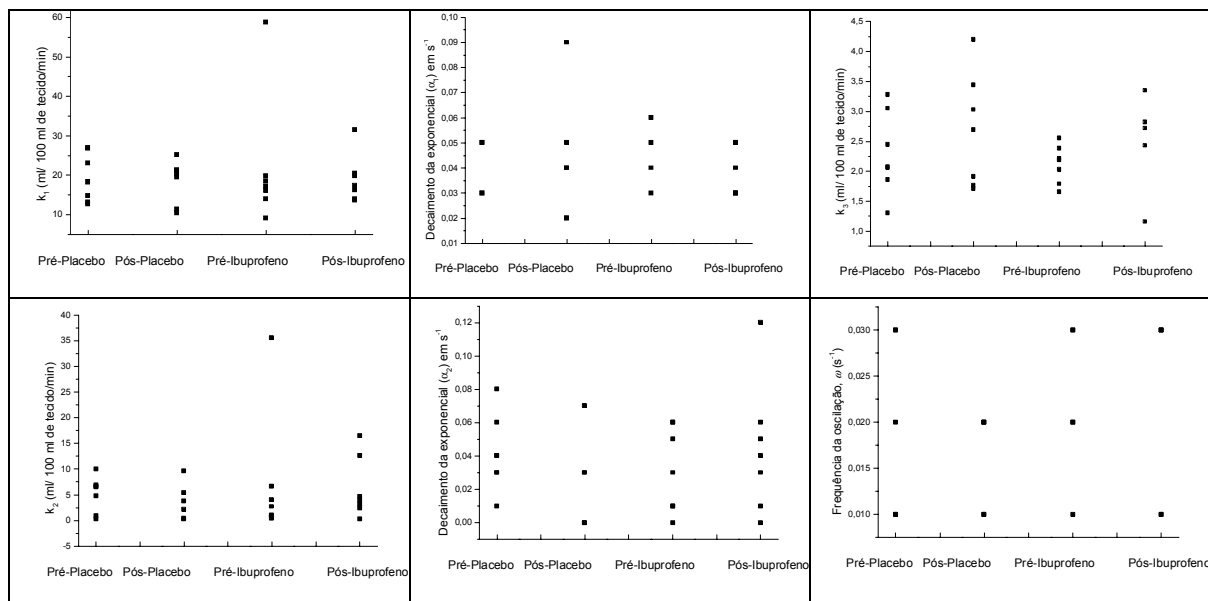


Figura 5.9: valores ajustados para cada parâmetro, sob análise, da função matemática para cada um dos voluntários.

5.3.4 Discussão

Nesta nova etapa do trabalho, o exercício não foi utilizado como recurso para a alteração, no caso, com tendência vasodilatadora. Essa escolha levou em conta a menor praticidade do protocolo de exercício em relação à administração do ibuprofeno e o tempo necessário para reunir voluntários interessados em participar de experimentos envolvendo exercício físico.

A amostra foi composta por jovens, em sua maioria mulheres, que não se encaixaram nos critérios de exclusão descritos na Seção 6.3.1. Se fossem utilizados critérios de exclusão mais rígidos, incluindo no estudo apenas indivíduos com glicemia de jejum entre 68 e 110 mg/ dl, triglicerídeos com valores inferiores a 150 mg/ dl, colesterol total < 200 mg/ dl, colesterol LDL < 130 mg/ dl, colesterol VLDL < 30 mg/ dl, colesterol HLD > 40 mg/ dl (valores de referência utilizados pelo CEPEN), índice de massa corporal entre 18,5 e 25 e diâmetro de cintura inferior a 80 cm para mulheres e 90 cm para homens e relação quadril-cintura inferior a 0,8 para mulheres e 0,9 para homens (NIEMANN, 1999), apenas seis voluntários fariam parte do estudo. Todavia, os parâmetros sob análise teriam a mesma tendência e também não haveria diferença estatística entre os grupos para nenhum dos parâmetros. Essas afirmativas são baseadas na análise dos dados dos seis voluntários em seus respectivos grupos.

Os grupos foram submetidos à pletismografia antes e após a ingestão dos comprimidos, fossem eles de placebo ou de ibuprofeno. O protocolo anterior, de onde

vieram os dados fornecidos pelo LACE/ UFF, realizava a pletismografia apenas após a ingestão dos comprimidos e placebo e ibuprofeno, que eram administrados em dias diferentes. O protocolo em discussão permitiu então a análise dos resultados para dados de pletismografia coletados no mesmo dia, permitindo analisar a influência da primeira experiência com a pletismografia sobre a segunda coleta, através dos registros pré e pós placebo e a análise dos efeitos do ibuprofeno sobre os parâmetros estudados, através dos registros pré e pós ibuprofeno, além de descartar a influência das possíveis modificações fisiológicas com a temperatura, as atividades prévias, estado emocional, qualidade do sono na noite anterior ao exame, entre outros fatores.

Não foi encontrada diferença significativa entre as medições pré e pós placebo e pré-ibuprofeno, o que era esperado, uma vez que em nenhuma das condições havia sido administrado o ibuprofeno.

Apesar do aumento da quantidade de ibuprofeno administrada em 600 mg, em relação ao estudo anterior com os dados do LACE, não houve diferença entre a situação pós-ibuprofeno e as outras. A amplitude da exponencial, k_1 e a estimativa de fluxo basal, k_3 , não apresentaram diferenças significativas. Esses resultados são similares aos obtidos com os dados cedidos pelo LACE/ UFF quando da comparação entre os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno*.

A taxa de decaimento do termo exponencial, α_1 , não apresentou diferenças significativas após a ingestão de ibuprofeno. No estudo anterior, com nove pontos experimentais para o ajuste da função matemática, quando foi realizada uma análise isolada entre os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno* esse parâmetro revelou diferença estatística. Entretanto, um maior número de pontos experimentais revela uma taxa de decaimento similar entre os grupos e entre as situações pré e pós-comprimido.

Os parâmetros do termo oscilatório da função matemática, k_2 , α_2 e ω , no estudo anterior, assim como neste, não mostram diferença entre os grupos placebo e ibuprofeno. Todavia, esse novo ajuste contou com um maior número de pontos experimentais, o que deveria ressaltar as diferenças entre os grupos, caso existissem. Os dados parecem apresentar mais de uma frequência de oscilação. Talvez uma análise dos dados no domínio da frequência fosse mais adequada para inferir sobre o mecanismo de feedback na busca do equilíbrio do sistema após-isquemia prolongada.

Capítulo 6

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE ULTRA-SOM PARA AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA FORMA DE ONDA DE DIÂMETRO ARTERIAL

Segundo Myers et al. (2002), a normalidade da mecânica vascular é geralmente estimada a partir da observação das propriedades vasculares em um ou alguns poucos instantes durante o processo de ajuste das condições ótimas de fluxo sanguíneo para cada sítio vascular. Assim, um dos objetivos do presente trabalho era o desenvolvimento um sistema de ultra-som capaz de propiciar a observação em tempo real das variações de diâmetro arterial. As informações de diâmetro seriam correlacionadas com as estimativas de mecânica vascular obtidas pelos métodos previamente apresentados. Apesar de tal etapa de comparação não ter sido realizada, este capítulo apresenta a parte do trabalho relacionada ao desenvolvimento do mencionado sistema de ultra-som. As seções deste capítulo apresentam os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento desta etapa do trabalho, os resultados obtidos e a discussão de tais resultados.

6.1 Medidor de Diâmetro Arterial

O sistema de ultra-som seria usado para a obtenção de informações de diâmetro da artéria radial, durante todo o ciclo cardíaco em um intervalo de tempo estipulado *a priori*, reunindo informações mais completas da dinâmica vascular (MYERS *et al.*, 2002). A monitoração do diâmetro seria conduzido em tempo-real permitindo o ajuste e acompanhamento da qualidade do sinal (TORTOLI *et al.*, 2001), através do posicionamento do transdutor e da fixação dos segmentos do paciente.

6.1.1 Materiais e Métodos para a Aquisição da Forma de Onda de Diâmetro

O sistema de captação da forma de onda de diâmetro em tempo real foi estruturado com os seguintes materiais:

- Um transdutor de ultra-som de acoplado a um sistema de excitação já existente no Laboratório de Ultra-Som (LUS);
- Um sistema de rastreamento simultâneo de duas interfaces hiperecogênicas móveis, que representariam as interfaces do vaso com os tecidos adjacentes, desenvolvido no LUS;
- Um sistema de aquisição dos dados.

O protótipo do sistema de rastreamento das interfaces de interesse e de obtenção da forma de onda de diâmetro foi desenvolvido em duas etapas. A primeira consistiu no processamento em *hardware* do sinal de ultra-som operado em modo pulso-eco, o que reduz o custo computacional. A segunda etapa foi realizada em *software* e fica incumbida da aquisição do sinal proveniente do *hardware*, do processamento adicional desse sinal para obtenção de valores de diâmetro e visualização da forma de onda desejada. A lógica desses sistemas integrados estão descritos a seguir.

6.1.1.1 *Tratamento do Sinal em Hardware*

Foi utilizado um transdutor de ultra-som operado em modo pulso-eco e excitado por um pulsador SR 9000 (*Matec*, EUA), que consiste em uma placa instalada em um microcomputador. Através dessa placa foram controlados alguns parâmetros como a aplicação de filtros ao sinal, a frequência de repetição de pulso, entre outros. O pulsador contém um pré-amplificador cuja saída fornece os sinais de eco. Esses sinais são processados em *hardware* seguindo o diagrama da Figura 6.1.

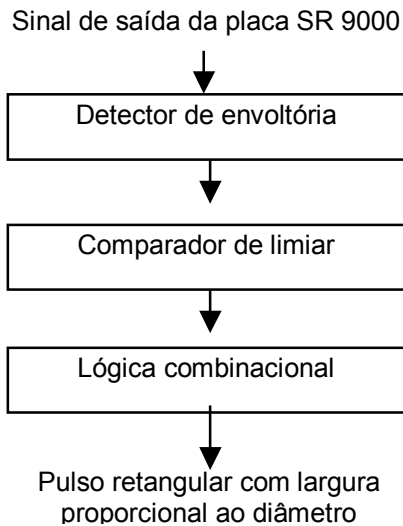


Figura 6.1: Diagrama de blocos do funcionamento do *hardware* no tratamento do sinal do pulsador.

A seqüência de sinais envolvidos na obtenção do pulso final via *hardware* foi simulada em *Matlab*® e é apresentada na Figura 6.2. O sinal de saída do pré-amplificador da placa SR 9000 (Figura 6.2A) é proveniente da irradiação da artéria radial no antebraço de um voluntário por um transdutor de ultra-som de 12 MHz. As Figuras 6.2B e 6.2C mostram, respectivamente, a saída do filtro passa-banda, atualmente desativado, e o sinal de energia, obtido através de um detector de envoltória.

O sistema requer que o usuário posicione, através de potenciômetros, uma janela de forma que contenha os ecos das paredes anterior e posterior da artéria durante todo o ciclo cardíaco (Figura 6.2D). Utilizando a envoltória do sinal foi possível localizar essas paredes dentro das respectivas janelas de observação através do método de por cruzamento por limiar e da utilização de uma lógica combinacional. O algoritmo de *echo-tracking* baseado em cruzamentos por limiar viabiliza a medição repetida da posição absoluta dos ecos das paredes do vaso, permitindo obter sucessivas informações de diâmetro.

O limiar estabelecido pelo usuário deve estar acima da amplitude do sinal de eco do sangue, cerca de 40 dB inferior à da parede do vaso (BRANDS *et al.*, 1995). É necessário que o limiar exceda também a amplitude do sinal de eco dos tecidos externos ao vaso para que a parede anterior do vaso seja detectada (Figura 6.2E). O sinal que ultrapassa o limiar é transformado em pulsos lógicos (Figura 6.2F). Um circuito digital (lógica combinacional) gera, a partir das informações dos pulsos de limiar e da janela de observação, um pulso retangular final (Figura 6.2G). A duração

desse pulso (Δt), que corresponde à diferença entre o tempo de recepção do eco das paredes anterior e posterior do vaso pelo transdutor de ultra-som, é proporcional ao diâmetro arterial (D), segundo a equação:

$$D = \frac{c \times \Delta t}{2} \quad (6.1)$$

onde c é a velocidade de propagação do ultra-som no meio.

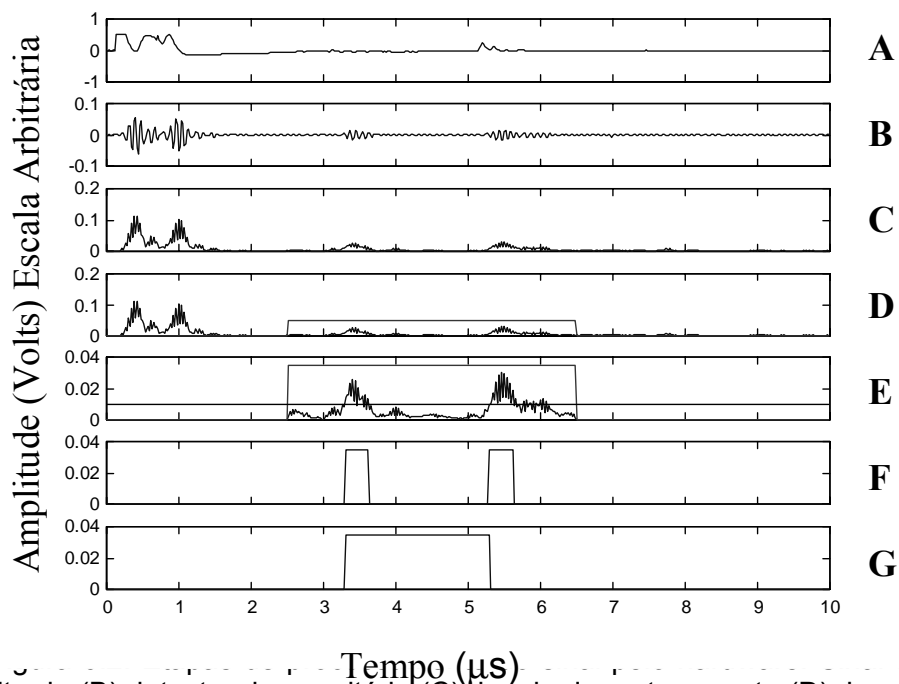


Figura 6.1: Sinal original (A), sinal filtrado (B) detector de envoltória (C), janela de rastreamento (D), janela sobre os sinais de eco do vaso e limiar para detecção de cruzamentos por zero (E), ecos das paredes transformados em pulsos lógicos (F) e pulso retangular com duração proporcional ao diâmetro arterial (G).

6.1.1.2 Tratamento do Sinal em Software

O pré-processamento do sinal de alta frequência de ultra-som resulta numa onda retangular de baixa frequência com duração proporcional ao diâmetro, como visto anteriormente. Os sucessivos pulsos retangulares são enviados à placa de aquisição (DAC CARD 6062E, *National Instruments*, USA). A duração de cada pulso é obtida com a utilização do contador de 20 MHz da placa de aquisição, sendo o próprio pulso retangular utilizado como *gate*. Desta forma, são lidos e contados pulsos de 50 ns

contidos no intervalo de tempo determinado pelo *gate* através de um programa desenvolvido em LabView® (National Instruments, EUA). Posteriormente, essa informação temporal é convertida em informação de largura, fornecendo o registro do diâmetro. A medição de pulsos sucessivos resulta no registro da forma de onda de diâmetro, que no caso da artéria é definida como a variação do diâmetro arterial durante o ciclo cardíaco (STANDLER *et al.*, 1997).

6.2 Protocolo para a Avaliação do Sistema Desenvolvido

Para testar o funcionamento do protótipo desenvolvido, foi utilizado um modelo hidráulico simulador da circulação sistêmica, que consiste no trajeto do sangue do ventrículo esquerdo ao átrio direito e é responsável pela nutrição tecidual e a remoção de produtos do catabolismo celular. O modelo físico foi baseado no trabalho de Ferreira *et al.* (2004).

O modelo hidráulico consiste em uma bomba hidráulica conectada a uma válvula unidirecional, que simulam respectivamente o ventrículo esquerdo e a válvula aórtica. A bomba é controlada por um circuito eletrônico que permite alterar a duração e a frequência de ejeção. Um dreno de penrose nº 1 (Waltex, Cirúrgica Brasil, Brasil) foi usado para simular o vaso arterial sob observação. O dreno foi posicionado dentro de um recipiente de plástico contendo água destilada como meio de propagação para o ultra-som. A montagem experimental utilizada para testar o funcionamento do sistema está ilustrado na Figura 6.3.

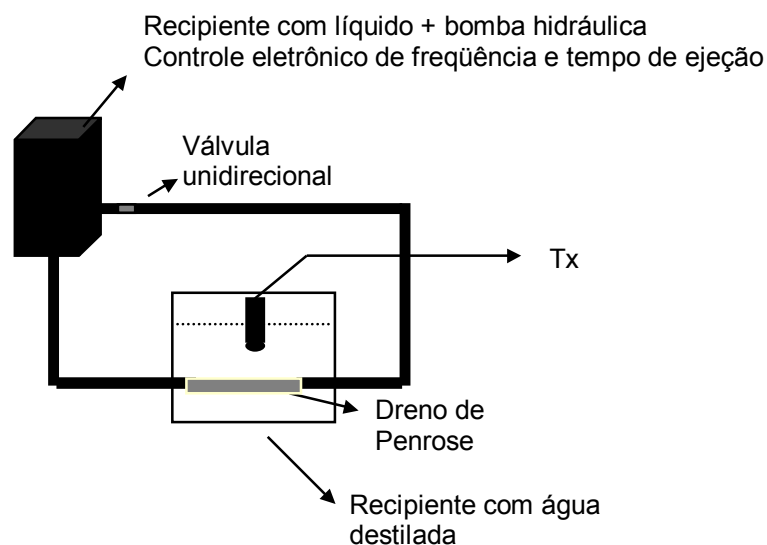


Figura 6.3: *Phantom* mimetizador do movimento arterial.

6.3 Resultados

O transdutor de ultra-som foi excitado e o sinal proveniente do movimento das paredes do dreno na direção de propagação do ultra-som foi registrado pelo sistema. O resultado para a forma de onda de diâmetro obtido com o sistema apresentado é mostrado na Figura 6.4.

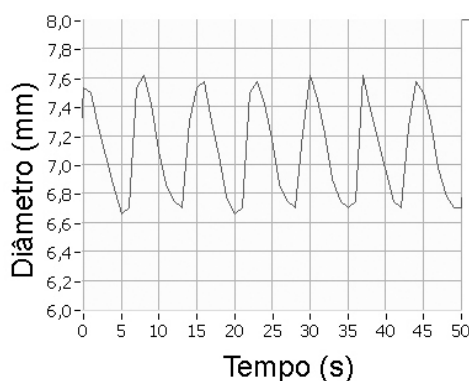


Figura 6.4: Forma de onda de diâmetro do obtida a partir de um modelo físico de artéria.

O protótipo desenvolvido para a observação da variação temporal do diâmetro dispensa a necessidade de processamento de imagens, utilizado em modo-B, que torna tal processo lento para aquisição em tempo-real. Também dispensa a imagem do vaso no plano, usada com Doppler para obter informação da orientação do transdutor em relação ao vaso.

Todavia, o sistema apresentado necessitava de ajustes para uma melhor resolução do sinal desejado. Durante os experimentos observou-se a perda da qualidade do sinal de eco das paredes do *phantom* (Figura 6.5) devido à dificuldade em irradiar consistentemente o vaso em movimento. Assim, algumas adaptações foram realizadas.

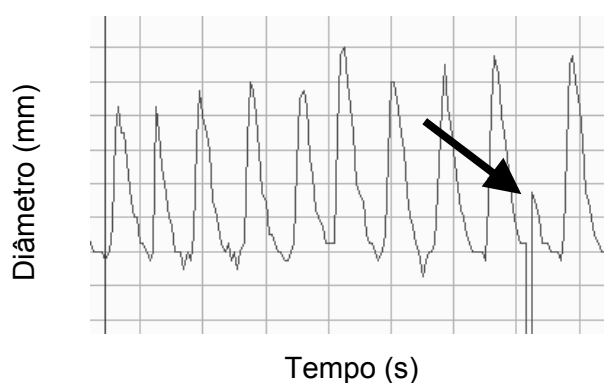


Figura 6.5: Momento da perda do sinal de eco das paredes do *phantom* indicado pela seta, em preto na imagem.

Tentou-se desenvolver um *phantom* mais adequado, que permitisse avaliar e ajustar o sistema de aquisição. O dreno de Penrose, utilizado como simulador do sítio vascular sob observação, se deteriorava e perdia sua capacidade de reflexão da onda sônica quando imerso por tempo prolongado em água. Então, um tubo de silicone o substituiu. O novo *phantom* apresentou maior durabilidade e possuía amplitude de reflexão da onda ultra-sônica adequada aos propósitos do trabalho. O tanque acústico também foi substituído por um mais robusto.

Mesmo após os ajustes, observou-se que a bomba hidráulica utilizada para mimetizar o ventrículo esquerdo vibrava o sistema hidráulico, inclusive o tanque acústico, gerando um desalinhamento no sistema de posicionamento do transdutor. Uma bomba peristáltica (GITELMAN *et al.*, 2006) foi então utilizada para substituir a primeira. Entretanto, essa bomba não gerou variação de diâmetro compatível com a real, em torno de 10% (MEINDERS *et al.*, 2001, BRANDS *et al.*, 1995, STADLER *et al.*, 1996a, WILLINK e EVANS, 1995), ficando bem aquém deste valor.

O sistema de monitoração da forma de onda de diâmetro em tempo real não foi concluído no decorrer deste trabalho. Algumas propostas de trabalhos futuros para a implementação de um sistema mais robusto são: aumentar a quantidade de água mobilizada pela bomba peristáltica ou diminuir o diâmetro do sistema vascular, construir um transdutor de área ativa retangular e focalização cilíndrica, de forma a evitar a perda do sinal com o movimento do vaso sintético, e fazer os ajustes necessários nos sistemas de *hardware* e *software* desenvolvidos.

As atividades de pesquisa envolveram também o desenvolvimento de outros sistemas de análise do comportamento vascular, não relatados no corpo do presente documento. Detalhes de tais sistemas estão listados no Anexo B (MACEDO *et al.*, 2003, NOBREGA *et al.*, 2003, NOBREGA *et al.*, 2002). Tal seção contém ainda a lista de manuscritos submetidos à revista científica *Physiological Measurement*, em processo de apreciação e artigos apresentados em congressos para a divulgação de algumas etapas do presente trabalho.

Capítulo 7

DISCUSSÃO GERAL

Esse trabalho almejou desenvolver uma técnica não-invasiva para a observação e análise do comportamento da reatividade vascular na restauração do equilíbrio da mecânica vascular após a aplicação do estímulo perturbador. Os resultados obtidos apontaram a existência de parâmetros indicativos da normalidade ou alteração da mecânica vascular da região do antebraço durante o processo de regulação do fluxo.

Durante o trabalho, a isquemia prolongada foi utilizada como estímulo perturbador da reatividade vascular basal. Esta isquemia leva à hiperemia reativa (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003), o que viabiliza a observação da resposta do sistema vascular ao estímulo e o processo de regulação do fluxo na tentativa de restabelecer o equilíbrio do sistema. Tal estímulo perturbador foi considerado satisfatório, provocando respostas fisiológicas adequadas, como o aumento da variação de volume do antebraço nos ciclos pletismográficos iniciais durante o protocolo de POV, o que permitiu a caracterização das diferenças na mecânica vascular durante o processo de regulação do fluxo.

Observa-se, nos documentos levantados nesse período, uma tendência de utilização de técnicas não-invasivas no estudo da reatividade vascular visando o diagnóstico e tratamento precoce (BRANDS *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997) e o aumento da possibilidade de cura das doenças cardiovasculares (SCHELL e MYERS, 1997). Entretanto, existe na literatura uma carência de recursos que quantifiquem o comprometimento da função vascular e que estabeleçam uma faixa de normalidade funcional. Adicionalmente, não existem estudos visando a análise das características da resposta vascular na busca da homeostasia após um estímulo perturbador qualquer. Desta maneira, a forma de análise proposta consiste numa contribuição do presente trabalho. As técnicas relatadas nesse sentido parecem avaliar a reatividade vascular pela magnitude do aumento do diâmetro ou do fluxo sanguíneo. Os valores de normalidade obtidos a partir da dilatação arterial mediada por fluxo, por exemplo, são valores relativos ao valor inicial e são obtidos através da observação do parâmetro de interesse em um único momento. Da mesma forma, os parâmetros de resistência e complacência, entre outros extraídos a partir da mecânica vascular, são analisados em um ou alguns instantes de tempo, através do valor médio de algumas observações (MYERS *et al.*, 2002), não havendo a preocupação em

avaliar o comportamento desses parâmetros durante um processo de busca da homeostasia.

Quanto ao modelo proposto para o estudo da mecânica vascular na pletismografia, pode-se destacar que, na literatura, os modelos interpretativos da pletismografia por oclusão venosa estimam apenas os parâmetros complacência e resistência das veias dos membros inferiores, visando observar o comportamento desses parâmetros na presença de trombose venosa profunda. Os modelos não consideram a complacência do sistema arterial, não possibilitando observar o comportamento da pressão arterial com a oclusão venosa, dadas as complacências e resistências por eles estimadas. O presente trabalho apresentou um modelo eletro-hidráulico do sistema arterio-venoso que permite monitorar o comportamento das pressões arterial e venosa durante o protocolo de pletismografia por oclusão venosa. Os parâmetros de complacência e resistências estimados pelo modelo apresentaram-se coerentes com os valores relatados na literatura e, adicionalmente, geraram sinais de pressão dentro dos níveis esperados. A técnica e o modelo mostraram-se também capazes de propiciar a estimação dos parâmetros de maneira satisfatória em condições hemodinâmicas distintas, sendo o ajuste dos dados coerente com efeitos fisiológicos relatados na literatura. Adicionalmente, estes foram capazes de identificar alterações na mecânica vascular durante o processo de regulação do fluxo dentro do protocolo de pletismografia associada à hiperemia reativa pós-isquemia prolongada, e ainda possibilitaram a identificação de tendência ao retorno da normalidade do sistema com o tempo, através do comportamento dos parâmetros do modelo na direção de normalização do sistema arterio-venoso. As complacências venosas e as resistências arteriais comportaram-se de maneira fisiológica durante o processo de hiperemia reativa. A resistência venosa seguindo o mesmo comportamento da arterial. Contudo, os estudos do sistema venoso normalmente não avaliam o comportamento da resistência venosa a nível local.

Em síntese, o modelo proposto permitiu a estimação de parâmetros de maneira satisfatória e com sensibilidade suficiente para distinguir diferentes comportamentos fisiológicos desses parâmetros durante o processo de regulação do fluxo sanguíneo entre os três grupos experimentais.

Quanto ao modelo matemático proposto, o comportamento dos parâmetros em indivíduos normais e com alterações controladas foi analisado, sendo que os resultados não apontaram a rejeição da hipótese de igualdade da amplitude de fluxo atingida, representada no modelo pelo parâmetro k_1 , nos indivíduos normais e com alteração vascular induzida por medicamento, embora essa amplitude seja apontada na literatura

como parâmetro determinante da normalidade da função vasomotora. No entanto foi observada diferença significativa quando o grupo *Exercício* foi considerado, apesar de não terem sido realizados registros pletismográficos com 29 ciclos para a condição exercício. A taxa de decaimento do fluxo (α_1) aos níveis basais não apresentou diferença significativa entre os grupos *Placebo*, *Ibuprofeno* e *Exercício* para sinais com nove ciclos pletismográficos. Todavia, o valor de p encontrado foi próximo ao limiar de corte. O grupo *Placebo* apresentou taxa de decaimento mais rápida que os outros dois, o que foi considerado coerente, uma vez que no exercício há uma tendência à manutenção da vasodilatação e que com ibuprofeno era esperado que houvesse maior dificuldade de retorno aos níveis basais. Contudo, a comparação entre os grupos *Placebo* e *Ibuprofeno* para 29 valores de fluxo ao longo do tempo mostram valores similares para a taxa de decaimento do fluxo. Quanto à representação do mecanismo de *feedback* pela parte oscilatória do modelo matemático, observou-se uma grande dispersão dos dados para todos os parâmetros. A amplitude de oscilação foi significativamente maior para o grupo *Exercício* quando nove ciclos pletismográficos foram considerados. Entretanto, esse ajuste não foi considerado correto uma vez que a amplitude da oscilação apresentou magnitude muito grande em relação à K_1 . O ajuste para 29 pontos de fluxo mostrou que a frequência (ω) e a taxa de amortecimento α_2 foram subestimados no ajuste realizado para nove pontos experimentais. Além disso, os dados parecem apresentar mais de uma frequência de oscilação. Acredita-se que uma análise dos dados no domínio da frequência fosse mais adequada para inferir sobre o mecanismo de *feedback* na busca do equilíbrio do sistema pós-isquemia prolongada.

Capítulo 8

CONCLUSÃO

Em relação aos modelos de POV existentes, o modelo eletro-hidráulico proposto neste trabalho acrescenta a complacência arterial e utiliza fonte de fluxo intermitente ao invés de uma fonte de pressão média como entrada do sistema, permitindo monitorar a pressão arterial média e seus valores extremos e permitindo ainda avaliar simultaneamente os sistemas arterial e venoso, o que representa uma importante contribuição deste estudo.

Os valores estimados pelo modelo para POV basal mostraram-se coerentes com as hipóteses assumidas e com achados experimentais relatados na literatura. O modelo proposto mostra-se ainda capaz de ser utilizado na análise da reatividade vascular, apesar de potencialmente poder apresentar resultados mais fidedígnos com a inclusão do primeiro ciclo pletismográfico, o que permitiria a comparação entre grupos.

A função matemática descritiva do comportamento do fluxo sanguíneo não foi capaz de discriminar os grupos experimentais. O aumento do número de pontos experimentais para o ajuste da função mostrou-se importante. Com um maior número de pontos experimentais foram observadas a subestimação dos parâmetros do termo oscilatório e a superestimação da taxa de decaimento do termo exponencial. Observou-se também que o sinal de fluxo apresenta mais de uma frequência de oscilação, apontando para uma possível análise futura do mecanismo de *feedback* no domínio da frequência.

Como propostas para estudos futuros que possam contribuir para a melhoria das técnicas e modelos desenvolvidos no presente trabalho podem ser citadas:

- O aumento do tamanho amostral para melhor a caracterização das diferentes condições vasculares estudadas;
- A diminuição da resolução do pletismógrafo em relação à variação de volume, para evitar a saturação do primeiro ciclo pletismográfico em hiperemia reativa;
- A inclusão do primeiro ciclo pletismográfico para melhor caracterização da dinâmica vascular no processo de restauração do fluxo no antebraço;
- A análise do incremento de fluxo, do fluxo basal e da taxa de decaimento do fluxo através da função exponencial aplicada isoladamente e a análise da seqüência de dados de fluxo no domínio da frequência, visando inferir sobre

o mecanismo de *feedback* na busca do equilíbrio do sistema pós-isquemia prolongada.

- A inclusão de dados pós-exercício para a análise proposta no item anterior.
- Dentre outras possibilidades podem ser citadas também a análise espectral dinâmica, a observação de resposta ao degrau, através de modelos de controle, e a análise de componentes principais.

BIBLIOGRAFIA

- AELLING, W. H., 1994, "Clinical Pharmacology, physiology and pathophysiology of superficial veins", *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 38, n. 3, pp. 181-196.
- AIRES, M. M., 1999, *Fisiologia*, 2.ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- ALAM, T. A., SEIFALIAN, A. M., BAKER, D., 2005, "A Review of Methods Currently used for Assessment of *in vivo* Endothelial Function", *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, v. 29, pp. 269-276.
- ALOMARI, M. A., SOLOMITO, A., REYES, R., KHALIL, S. M., WOOD, R. H., WELSCH, M. A., 2004, "Measurements of Vascular Function using Strain-Gauge Plethysmography: Technical Considerations, Standardization and Physiological Findings" *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, v. 286, pp. H99-H107.
- ANASTASIOU, E., LEKAKIS, J. P., ALEVIZAKI, M., PAPAMICHAEL, C. M., MEGAS, J., SOUVATZOGLOU, A., STAMATELOPOULOS, S. F., 1998, "Impaired Endothelium-dependent Vasodilatation in Women with Previous Gestational Diabetes", *Diabetes Care*, v. 21, n. 12, pp. 2047-2049.
- ANDERSON Jr., F. A., DURGIN, W. W., WHEELER, H. B., 1986, "Interpretation of venous Occlusion Plethysmography using a Nonlinear Model", *Medical & Biological Engineering & Computing*, v. 24, pp. 379-385.
- ANDERSON, E. A., MARK, A. L., 1989, "Flow-Mediated and Reflex Changes in Large Peripheral Artery Tone in Humans", *Circulation*, v. 79, pp. 93-100.
- ARVOLA, P., WU, X., KAHONEN, M., MÄKYNEN, H., RIUTTA, A., MUCHA, I., SOLAKIVI, T., KAINULAINEN, H., PÖRSTI, I., 1999, "Exercise Enhances Vasorelaxation in Experimental Obesity Associated Hypertension", *Cardiovascular Research*, v. 43, n. 4, pp. 992-1002.
- BAE, J. H., BASSENGE, E., KIM, K. B., KIM, Y. N., KIM, K. S., LEE, H. J., MOON, K. C., LEE, M. S., PARK, K. Y., SCHWEMMER, M., 2001, "Postprandial Hypertriglyceridemia Impairs Endothelial Function by Enhanced Oxidant Stress", *Atherosclerosis*, v. 155, pp. 517-523.
- BAE, J. H., SCHWEMMER, M., LEE, I. K., LEE, H. J., PARK, K. R., KIM, K. Y., BASSENGE, E., 2003, "Postprandial Hypertriglyceridemia-induced Endothelial Dysfunction in Healthy Subjects is Independent of Lipid Oxidation", *International Journal of Cardiology*, v. 87, pp. 259-267.

- BERNE, R. M., LEVY, M. N., 1996, *Fisiologia*, 3 ed., Rio de Janeiro, Guanabara koogan.
- BERRY, K. L., SKYRME-JONES, A. P., MEDEDITH, I. T., 2000, "Occlusion Cuff Position is an Important Determinant of the Time Course and magnitude of Human Brachial Artery Flow-mediated Dilation", *Clinical Science*, v. 99, pp. 261-267.
- BETIK, A. C., LUCKHAM, V. B., HUGHSON, R. L., 2004, "Flow-mediated Dilation in Human Brachial Artery after Different Circulatory Occlusion Conditions", *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, v. 286, pp. H442-H448.
- BEUX, F., CARMASSI, S., SALVETTI, M. V., GHIADONI, L., HUANG Y., TADDEI, S., SALVETTI, A., 2001, "Automatic Evaluation of Arterial Diameter Variation from Vascular Echographic Images", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 27, n. 12, pp. 1621-1629.
- BIRCH A. A., MORRIS, S. L., 2003, "Do the Finapres and Colin Radial Artery Tonometer Measure the Same Blood Pressure Changes Following Deflation of the Thigh Cuffs", *Physiological Measurement*, v. 24, pp. 653-660.
- BONNIN, P., BEN DRISS, A., BENESSIONO, J., MAILLET, A., PAVY LE TRAON, A., LEVY, B. I., 2001, "Enhanced Flow-Dependent Vasodilatation after Bed Rest, a Possible Mechanism for Orthostatic Intolerance in Humans", *European Journal of Applied Physiology*, v. 85, n. 5, pp. 420-426.
- BRANDS, P. J., HOEKS, A. P. G., HOFSTRA, L., RENEMAN, R. S., 1995, "A Noninvasive Method to Estimate Wall Shear Stress Rate Using Ultrasound", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 21, n. 2, pp. 171-185.
- BRANDS, P. J., WILLINGERS, J. M., LEDOUX, L. A. F., RENEMAN, R. S., HOEKS, A. P. G., 1998, "A Noninvasive Method to Estimate Pulse Wave Velocity in Arteries Locally by Means of Ultrasound", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 24, n. 9, pp. 1325-1335.
- BRUSSEAU, E., KORTE, C. L., MASTIK, F., SCHAAR, J., STEEN, A. F. W., 2002, "Fully Automated Endoluminal Contour Detection in Intracoronary Ultrasound Images A Pre-processing for Intravascular Elastography", *IEEE Ultrasonics Symposium*, Monique, pp. 1869-1872.
- CABALLERO, A. E., ARORA, S., SAOUAF, R., LIM S. C., SMAKOWSKI, P., PARK, J. Y., KING, G. L., LoGERFO, F. W., HORTON, E. S., VEVES, A., 1999, "Microvascular and Macrovascular Reactivity Is Reduced in Subjects at Risk for Type 2 Diabetes", *Diabetes*, v. 48, pp. 1856-1862.
- CARDILLO C., KILCOYNE, C. M., CANNON, R. O., PANZA, J. A., 1998, "Impairment of the Nitric Oxide-Mediated Vasodilator Response to Mental Stress in Hypertensive

- but not Hypercholesterolemic Patients”, *Journal of the American College of Cardiology: JACC*, v. 32, n. 5, pp. 1207-1213.
- CARDILLO, C., KILCOYNE, C. M., QUYYUMI, A. A., CANNON III, R. O., PANZA, J. A., 1997, “Role of Nitric Oxide in the Vasodilator Response to Mental Stress in Normal Subjects”, *The American Journal of Cardiology*, v. 80, pp. 1070-1074.
- CHUNG, H. C., HENNIG, B., CHO, B. H. S., DARNELL, B. E., 1998, “Effect of the Fat Composition of a Single Meal on the Composition and Cytotoxic Potencies of Lipolytically-releasable Free Fatty Acids in Postprandial Plasma”, *Atherosclerosis*, v. 141, pp. 321-332.
- EIKEN, O., KÖLEGARD, R., 2004, “Comparation of Vascular Distensibility in the Upper and Lower Extremity”, *Scandinavian Physiological Society*, v. 181, pp. 281-287.
- ENGELKE, HALLIWILL, J. R., PROCTOR, D. N., DIETZ, N. M., JOYNER, M. J., 1996, “Contribution of nitric oxide and prostaglandins to reactive hyperemia in human forearm”, *Journal of Applied Physiology* v. 81, pp. 1807-1814.
- FERREIRA A. S., SANTOS M. A. R., BARBOSA FILHO J., CORDOVIL, I., SOUZA, M. N., 2004, “Determination of radial artery compliance can increase the diagnostic power of pulse wave velocity measurement”, *Physiological Measurement*, v. 25, pp. 37-50.
- FERREIRA, A. S., 2002, *Comportamento da Velocidade de Onda de Pulso e da Complacência Estimada em Modelo Experimental e Indivíduos Normais e Hipertensos*. Dissertação de Mestrado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- FIGUEIREDO, J. M., 2006, *Efeitos Hemodinâmicos do Bloqueio Sistêmico de Prostaglandinas após Exercício Físico Máximo em Homens Saudáveis*. Dissertação de Mestrado em Ciências Cardiovasculares, UFF, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- FISH, P., 1990, *Physics and Instrumentation of Diagnostic Medical Ultrasound*. England, John Wiley & Sons Ltd..
- FONTANA, F., BERNARDI, P., PICH, E. M., BOSCHI, S., De IASIO, R., SPAMPINATO, S., GROSSI, G., 1997, “Opioid Peptide Modulation of Circulatory and Endocrine Response to Mental Stress in Humans”, *Peptides*, v. 18, n. 2, pp. 169-175.
- FURCHGOTT, R. F., ZAWADSKI, J. V., 1980, “The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine”, *Nature*, v. 288, pp 373-376.
- GEBARA, O. C. E., MULLER, J. E., TOFLER, G. H., 1997, “Fatores desencadeadores de Trombose Arterial e Infarto do Miocárdio”, *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, v. 7, n. 3, pp. 348-356.
- GEBARA, O. C. E., WAJNGARTEN, M., BARRETO, A. C. P., 1997, “Novos Fatores de

Risco da Doença Arterial Coronária”, *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, v. 7, n. 3, pp. 340-347.

- GITELMAN, G. W., PEREIRA, W. C. A., ROSA, I. G., Von KRUGER, M. A., “Implementação de um Sistema Capaz de Mimetizar o Fluxo Sangüíneo para Ensaio de Equipamento Doppler”, 2006, XX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica e II Congresso Brasileiro de Engenharia Clínica, São Pedro, SP, Brasil, 22 a 26 Out, p. 858-861.
- GOKCE, N., DUFFY, S. J., HUNTER, L. M., KEANEY, J. F., VITA J. A., 2001, “acute Hypertriglyceridemia is Associated with Peripheral Vasodilation and Increased Basal Flow in Healthy Young Adults”, *The American Journal of Cardiology*, v. 88, pp. 153-159.
- GOTO C., HIGASHI, Y., KIMURA, M., NOMA, K., HARA, K., NAKAGAWA, K., KAWAMURA, M., CHAYAMA, K., YOSHIKUNI, M., NARA, I., 2003, “Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilatation in Human: Role of Endothelium-Dependent Nitric Oxide and Oxidative Stress”, *Circulation*, v. 108, n. 5, pp. 530-535.
- GRAF, S., GARIEPY, J., MASSONNEAU, M., ARMENTANO, R. L., MANSOUR, S., BARRA, J. G., SIMON, A., LEVENSON, J., 1999, “Experimental and Clinical Validation of Arterial Diameter Waveform and Intimal Media thickness Obtained from B-mode Ultrasound Image Processing”, *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 25, n. 9, pp. 1353-1363.
- GREEN, D. J., BILSBOROUGH, W., NAYLOR, L. H., REED, C., WRIGHT, J., O’DRISCOLL, G., WALSH, J. H., 2005, “Comparison of Forearm Blood Flow Responses to Incremental Handgrip and Cycle Ergometer Exercise: Relative Contribution of Nitric Oxide”, *Journal of Physiology*, v. 562, n. 2, pp. 617-628.
- GREEN, D., CHEETHAM, C., HENDERSON, C., MAVADDAT, L., WATTS, K., BEST, M., TAYLOR, R., O’DRISCOLL, G., 2002, “Effect of Lower Limb Exercise on Forearm Vascular Function: Contribution of Nitric Oxide”, *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, v. 283, pp. H899-H907.
- GROVES, D. H., POWALOWSKI, T., WHITE, D. N., 1982, “A Digital Technique for Tracking Moving Interfaces”, *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 8, n. 2, pp. 185-190.
- GUYTON, A. C., HALL, J. E., 2002, *Tratado de Fisiologia Médica*, 10. ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- HILTAWSKY, K. M., ERMERT H., 2002, “Measurement of Flow-Mediated Vasodilatation Using Kalman Filtering”, *IEEE Ultrasonics Symposium*, pp. 1747-1750.

- HOEKS, A. P. G., BRANDS, P. J., SMEETS, F. A. M., RENEMAN, 1990 "Assessment of the Distensibility of Superficial Arteries", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 16, n. 2, pp. 121-128.
- HOEKS, A.P.G., SAMIJO, S.K., BRANDS, P.J., RENEMAN, R.S., 1995, "Noninvasive Determination of Shear-rate Distribution Across the Arterial Lumen", *Hypertension*, v. 26, pp. 26-33.
- HOEKS, A. P. G., WILLEKES C., BOUTOUYRIE, P., BRANDS, P. J., WILLIGERS, J. M., RENEMAN, R. S., 1997 "Automatic Detection of Local Artery Wall Thickness Based on M-line Signal Processing", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 23, n. 7, pp. 1017-1023.
- HOKANSON, 1998, *EC6 Plethysmograph Manual*, Hokanson, EUA.
- HOKANSON, D. E., SUMNER, D. S., STRANDNESS JR., D. E., 1975, "An Electrically Calibrated Plethysmograph for Direct Measurement of Lomb Blood Flow", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, v. 22, n. 1, pp. 21-25.
- JOANNIDES, R., RICHARD, V., HAEFELI, W. E., BENOIST, A., LINDER, L., LÜSCHER, T. F., THUILLEZ, C., 1997, "Role of Nitric Oxide in the Regulation of the Mechanical properties of the Peripheral Conduit Arteries in Human", *Hypertension*, v. 2, pp. 26-33.
- JOYNER M.J., DIETZ N.M., SHEPHERD J.T., 2001, "From Belfast to Mayo and Beyond: the Use and Future of Plethysmography to Study Blood Flow in Human Limbs", *Journal of Applied Physiology*, v. 91, n. 6, pp. 2431-2441.
- KLABUNDE, R. E., 2004, *Cardiovascular Physiology Concepts*, in: www.cvphysiology.com/Blood%20Pressure/BP012.htm, published by Lippincott Williams & Wilkins.
- KUVIN, J. T., PATEL, A. R., SLINEY, K. A., PANDIAN N. G., RAND W. M., UDELSON J. E., KARAS, R. H., 2001, "Peripheral Vascular Endothelial Function Testing as a Noninvasive Indicator of Coronary Artery Disease", *Journal of the American College of Cardiology: JACC: JACC*, v. 38, n. 7, pp. 1843-1849.
- LEE, J., NOH, H. J., YOON, Y. R., YOON, H. R., LEE, K. J., 2001, "Mathematical Model of Venous Occlusion Plethysmography for Diagnosing Deep Vein Thrombosis", *Proceedings of the 23rd Annual EMBS International Conference*, October, Istanbul, Turkey, pp. 25-28.
- LOVELL, S. L., STEVENSON, H., YOUNG, I. S., McDOWELL, G., McENEANEY, D., RILEY, M. S., NICHOLLS, D. P., 2000, "Exhaled Nitric Oxide During Incremental and Constant Workload Exercise in Chronic Cardiac Failure", *European Journal of Clinical Investigation*, v. 30, n. 3, pp. 181-187.
- LÜSCHER, T. F., BARTON, M., 1997, "Biology of the Endothelium", *Clinical Cardiology*,

- v. 20, Suppl. II, pp. II-3-II-10.
- LUZ, P. L., CESENA, F. H. Y., 2001, "Prevenção da Doença Coronariana", *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, v. 11, n. 2, pp. 6-18.
- LUZ, P. L., LAURINDO, F. R. M., CHAGAS, A. C. P., 2003, *Endotélio e Doenças Cardiovasculares*, 1 ed., São Paulo, Atheneu.
- MACEDO, A. R., ROCHA, N. N., OLIVEIRA, L. P. J., NÓBREGA, A. C. L., SOUZA, M. N., "Semi-automatic System Developed to Quantify Arterial Baroreflex Sensitivity", 2003, 25th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Cancun, México, 17 a 21 Sept, p. 260-263.
- MAIORANA, A., O'DRISCOLL, G., CHEETHAM, C., DEMBO, L., STANTON, K., GOODMAN, C., TAYLOR, R., GREEN, D., 2001, "The Effect of Combined Aerobic and Resistance Exercise Training on Vascular Function in Type 2 Diabetes", *Journal of the American College of Cardiology*, v. 38, n. 3, pp. 860-866.
- MANDINOV, L., KAUFMANN, P., MAIER W., HESS, O. M., 1998, "Flow-Dependent Vasodilatation in the Coronary Circulation: Alterations in Diseased States", *Seminars in Interventional Cardiology*, v. 3, n.1, pp. 5-12.
- MARCHESI, S., LUPATTELLI, G., SCHILLACI, G., PIRRO, M., SIEPI, D., ROSCINI, A. R., PASQUALINI, L., MANNARINO, E., 2000, "Impaired Flow-mediated Vasoactivity during Post-prandial Phase in Young Healthy Men" *Atherosclerosis*, v. 153, pp. 397-402.
- MAXWELL, A. J., 2002, "Mechanism of Dysfunction of the Nitric Oxide Pathway in Vascular Diseases", *Biology and Chemistry*, v. 6, n. 2, pp. 101-124.
- McARDLE, W.D., KATCH, F. I., KATCH, V. L., 1998, *Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano*, 4 ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- McCARTY, M. F., 2000, "Up-regulation of Endothelial Nitric Oxide Activity as a Central Strategy for Prevention of Ischemic Stroke – Just Say NO to Stroke", *Medical Hypotheses*, v. 55, n. 5, pp. 386-403.
- MEINDERS, J. M., BRANDS, P. J., WILLIGERS, J. M., KORNET, L., HOEKS, A. P. G., 2001, "Assessment of the Spatial Homogeneity of Artery Dimension Parameters with High Frame Rate 2-D B-Mode", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 27, n. 6, pp. 785-794.
- MEKKAOUI, C., FRIGGI, A., ROLLAND, P. H., BODARD, H., PIQUET, P., BARTOLI, J. M., MESANA, T., 2001, "Simultaneous Measurements of Arterial Diameter and Blood Pressure to Determine the Arterial Compliance, Wall Mechanics and Stresses *in vivo*", *European Journal of Endovascular Surgery*, v. 21, pp. 208-213.
- MILLS, P. J., DIMSDALE, J. E., 1996, "The Effects of Acute Psychological Stress on

- Cellular Adhesion Molecules”, *Journal of Psychosomatic Research*, v. 41, n. 1, pp. 49-53.
- MOYNA, N. M., THOMPSON, P. D., 2004, “The Effect of Physical Activity on Endothelial Function in Man”, *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 180, pp. 113-123.
- MUNNS, S. L., HARTZLER, L. K., BENNETT, A. F., HICKS, J. W., 2004, “elevated Intra-abdominal Pressure Limits Venous Return During Exercise in *Varanus exanthematicus*”, *The Journal of Experimental Biology*, v. 207, pp. 4111-4120.
- MYERS, C. W., FARQUHAR, W. B., FORMAN, D. E., WILLIAMS, T. D., DIERKS, D. L., TAYLOR, J. A., 2002, “Carotid Distensibility Characterized via Isometric Exercise Pressor Response”, *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, v. 283, pp. H2592-H2598.
- NAYLOR, H. L., SHOEMAKER, J. K., BOCK, R. W., HUGHSON, R. L., 1999, “Prostaglandin Inhibition Causes an Increase in Reactive Hyperemia after Ischemia Exercise in Human Forearm”, *Clinical Physiology*, v. 19, pp. 211-220.
- NICHOLS, W. W., O’ROURKE, M. F., 1990, *Mc Donald’s Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles*, Philadelphia, London, Lea & Febiger.
- NIEMAN, D. C., 1999, *Exercício e Saúde: Como se prevenir de Doenças Usando o Exercício como seu Medicamento*, 1 ed., São Paulo, Manole.
- NÓBREGA, A. C. L., SOUZA, M. N., ROCHA, N. N., OLIVEIRA, L. P. J., MACEDO, A. R., SOARES, L. N. S., “Sistema de Medida e Avaliação da Sensibilidade do Barorreflexo Arterial Espontâneo”, 2002, XXV Semana Científica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense – UFF, 2 a 6 de dezembro.
- NÓBREGA, A. C. L., SOUZA, M. N., ROCHA, N. N., OLIVEIRA, L. P. J., MACEDO, A. R., SOARES, L. N. S., “Sensibilidade do Barorreflexo Arterial: Validação de Sistema Semi-automático de Quantificação”, 2003, 20º Congresso de Cardiologia da SOCERJ, Rio de Janeiro, RJ, 31 de Julho a 2 Agosto.
- PANG, C. C. Y., 2001, “Autonomic Control of the Venous System in Health and Disease Effects of Drugs”, *Pharmacology and Therapeutics*, v. 90, pp. 179-230.
- PANNIER, B. M., AVOLIO, A. P., HOEKS, A., MANCIA, G., TAKAZAWA, K., 2002, “Methods and Devices for Measuring Arterial Compliance in Humans”, *American Journal of Hypertension*, v. 15, pp. 743-753.
- PULLIN, C. H., WILSON, J. F., ASHFIELD-WATT, P. A., CLARK, Z. E., WHITING, J. M., LEWIS, M. J., McDOWELL, I.F., 2002, “Influence of Methylene tetrahydrofolate Reductase Genotype, Exercise and Other Risk

- Factors on Endothelial Function in Healthy Individuals”, *Clinical Science*, v. 102, n. 1, pp. 45-50.
- QUEVEDO, C. P., 2000, *Circuitos Eléctricos e Eletrônicos*, 2.ed, Rio de Janeiro, LTC Editora.
- RABBEN, S. I., BJERUM, S., SORHUS, V., TORP, H., 2002a, “Ultrasound-based Vessel Wall Tracking: an Autocorrelation Technique with RF Center Frequency Estimation”, *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 28, n. 4, pp. 507-517.
- RABBEN, S. I., SEGERS, P., BACKER, J., SUTTER, J., VERDONCK, P., GILLEBERT, T. C., 2002b, “Vessel Wall Tracking Based on the Modified Autocorrelation Estimator”, *IEEE Ultrasonics Symposium*, Monique, pp. 1743-1746.
- RAITAKARI, O. T., LAI, N., GRIFFITHS, K., CELERMAJER, D. S., 2000, “Enhanced Peripheral Vasodilation in Humans After a Fatty Meal”, *Journal of the American College of Cardiology:JACC*, v. 36, n. 2, pp. 417-422.
- RUCHTI, T. L., BROWN, R. H., FENG, X., JEUTTER, D. C., 1990, “Estimation of Systemic Arterial Parameters for Control of an Electrically Actuated Total Artificial Heart”, *IEEE*, pp. 640-643.
- SANDBLOM, E., AXELSSON, M., MCKENZIE, D. J., 2006, “Venous Responses during Exercise in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*: α -adrenergic Control and Antihypotensive Function of the Renin-Angiotensin System”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A, pp. 401-409.
- SCHACHINGER, V., ZEIHNER, A. M., 2000, “Atherosclerosis-associated Endothelial Dysfunction”, *Zeitschrift für Kardiologie*, v. 89, Suppl. 9, pp. IX-70-IX-74.
- SHELL, W. D., MYERS, J. N., 1997, “Regression of Atherosclerosis: A Review”, *Progress in Cardiovascular Diseases*, v. 39, n. 5, pp. 483-496.
- SEAGAR, A. D., GIBBS, J. M., DAVIS, F. M., 1984, “Interpretation of Venous Occlusion Plethysmography Measurements using a Simple Model”, *Medical & Biological Engineering & Computing*, v. 22, pp. 12-18.
- SELZER, R. H., MACK, W. J., LEE, P. L., KWONG-FU, H., HODIS, H. N., 2001, “Improved Common Carotid Elasticity and Intima-media Thickness Measurements from Computer Analysis of Sequential Ultrasound Frames”, *Atherosclerosis*, v. 154, pp. 185-193.
- SILBER, H. A., BLUEMKE, D. A., OUYANG, P., DU, Y. P., POST, S. W., LIMA, J. A. C., 2001, “The relationship Between Vascular Wall Shear Stress and Flow-Mediated Dilatation: Endothelial Function Assessed by Phase-Contrast Magnetic Resonance Angiography”, *Journal of the American College of Cardiology*, v. 38, n. 7, pp. 1859-1865.
- SINTON, A. M., SEAGAR, A. D., 1988, “Automated Venous Occlusion

- Plethysmography”, *Medical & Biological Engineering & Computing*, v. 26, pp. 295-302.
- SMULYAN, H., SAFAR, E. M., 1997, “Systolic Blood Pressure Revisited”, *Journal of the American College of cardiology: JACC*, v. 29, n. 7, pp. 1407-1413.
- SORENSEN, V. B., WROCLOWSKI, H., GALATIUS, S., HAUNSO, S., KASTRUP, J., 2000, “Assessment of continuous Skeletal Muscle Blood Flow during Exercise in Human”, *Microvascular Research*, v. 59, pp. 301-309.
- STADLER, R. W., KARL, W. C., LEES, R. S., 1996a, “The Application of Echo-tracking Methods to Endothelium-dependent Vasoreactivity and Arterial Compliance Measurements”, *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 22, n. 1, pp. 35-42.
- STADLER, R. W., KARL, W. C., LEES, R. S., 1996b, “New Method for Arterial Diameter Measurement from B-mode Images”, *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 22, n. 1, pp. 25-34.
- STADLER, R. W., TAYLOR, J. A., LEES, R. S., 1997, “Comparison of B-mode, M-mode and Echo-tracking Methods for Measurement of the Arterial Distension Waveform”, *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 23, n. 6, pp. 879-887.
- STEER, P., 2003, *Lipids and Endothelium-Dependent Vasodilation*, Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine, Uppsala ISBN 91-5545633-2.
- SUNG, B. H., IZZO, J. L., WILSON, M. F., 1997, “Effects of Cholesterol Reduction on BP Response to Mental Stress in Patients With High Cholesterol”, *American Journal of Hypertension*, v. 10, pp. 592-599.
- THOMPSON, H. L., MORRIS-THURGOOD, J., ATHERTON, J., MCKENNA, W. J., FRENNEAUX, M. P., 1998, “Reflex Response of Venous Capacitance Vessels in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy”, *Clinical Science*, v. 94, pp. 339-346.
- TIBIRIÇÁ, E., 2001, *Fisiopatologia em Medicina Cardiovascular*, v. 1, Rio de Janeiro, Revinter.
- TOOKE, J. E., MENYS, V. C., TINDALL, H., FEELY, M., DAVIES, J. A., 1982, “Aspirin, Protacyclin and Post-Occlusive Reactive Hyperemia in Man”, *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, v. 9, n. 4, pp. 379-385.
- TORTOLI, P., BETTARINI, R., GUIDI, F., ANDREUC CETTI, A., RIGHI, D., 2001, “A simplified approach for real-time detection of arterial wall velocity and distension”, *IEEE Transactions on Ultrasound, Ferroelectrics, and Frequency Control*, v. 48, n. 4, pp. 1005-1012.
- TRIPATHI, A., MACK, G. W., NADEL, E. R., 1990, “Cutaneous Vascular Reflexes during Exercise in Heat”, *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 22, pp. 796-803.

- TUNE, J. D., RICHMOND, K. N., GORMAN, M. W., FEIGL, E. O., 2000, "Role of Nitric Oxide and Adenosine in Control of Coronary Blood Flow in Exercising Dogs", *Circulation*, v. 101, pp. 2942-2948.
- TURNER, I. C., McNALLY, M. A., O'CONNELL, B. M., COOKE, E. A., KERNOHAN, W. G., MOLLAN, R. A. B., 2000, "Numerical Model of Deep Venous Thrombosis Detection using Venous Occlusion Plethysmography", *Medical & Biological Engineering & Computing*, v. 38, pp. 348-355.
- VALLANCE P., CHAN, N., 2001, "Endothelial Functions and Nitric Oxide: Clinical Relevance", *Heart*, v. 85, pp. 342-350.
- Van MOURIK, J. A., BOERTJES, R., HUISVELD, I. A., FIJNVANDRAAT, K., PAJKRT, D., van GENDEREN, P. J., FIJNHEER, R., 1999, "von Willebrand Factor Propeptide in Vascular Disorders: A Tool to Distinguish Between Acute and Chronic Endothelial Cell Perturbation", *Blood*, v. 94, n. 1, pp. 179-185.
- VAPAATALO, H., MERVAALA, E., 2001, "Clinically Important Factors Influencing Endothelial Function", *Medical Sciencei Monitor*, v. 7, n. 5, pp. 1075-1085.
- VARIN, R., MULDER, P., RICHARD, V., THUILLEZ, C., 1997, "Endothelial Dysfunction in Cardial Failure: Potential Mechanisms", *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*, v. 90, n. 6, pp. 29-34.
- VERHAAR, M. C., RABELINK, T. J., 1998, "Endothelial Function: Strategies for Early Intervention", *Cardiovascular Drugs and Therapy*, v. 12, Suppl. 1, pp. 125-134.
- VOGEL, R. A., CORRETTI, M. C., PLOTNICK, G. D., 1997, "Effect of a Single High-Fat Meal on Endothelial Function in Healthy Subjects", *The American Journal of Cardiology*, v. 79, pp. 350-354.
- VOGEL, R., 2001, "Measurement of Endothelial Function by Brachial Artery Flow-Mediated Vasodilatation", *The American Journal of Cardiology*, v. 88 (2A), pp.31E-34E.
- WATENPAUGH, D. E., 1996, "Upper Body Venous Compliance Exceeds Lower Body Venous Compliance in Humans", *NASA Technical Memorandum* 110409, Julho.
- WILLIAMS, M. J. A., SUTHERLAND, W. H. F., McCORMICK, M. P., JONG, S. A., WALKER, R. J., WILKINS, G. T., 1999, "Impaired Endothelial Function Following a Meal Rich in Used Cooking Fat", *Journal of the American College of Cardiology: JACC*, v. 33, n. 4, pp. 1050-1055.
- WILLINK, R., EVANS, D. H., 1995, "Volumetric Blood Flow Measurement by Simultaneous Doppler and B-mode Image Processing: a Feasible Study", *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 21, n. 4, pp. 481-492.
- WIN, T. S., MARSHALL, J. M., 2005, "The Contribution of Prostaglandins to the Dilation that Follows Isometric Forearm Contraction in Human Subjects: effects of

aspirin and hyperoxia”, *Journal of Applied Physiology*
doi:101152/jappphysiol.01289.2004.

ZICCARDI, P., NAPPO, F., GIUGLIANO, G., ESPOSITO, K., MARFELLA, R., CIOFFI, M., D'ANDREA, F., MOLINARI, A. M., GIUGLIANO, D., 2002, “Reduction of Inflammatory Cytokine Concentrations and Improvement of Endothelial Functions in Obese Women After Weight Loss Over One Year”, *Circulation*, v. 105, n. 7, pp. 804-809.

ANEXO A

BASES FISIOLÓGICAS DO ENDOTÉLIO VASCULAR

O endotélio consiste na porção mais interna da parede vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). É formado por uma única camada celular e faz a interface entre o sangue e a musculatura lisa vascular (VALLANCE e CHAN, 2001), possuindo posição estratégica na manutenção da homeostase circulatória (LÜSCHER e BARTON, 1997). Durante muito tempo, acreditou-se que o endotélio desempenhasse apenas função de revestimento, pois recobre todos os vasos sanguíneos e linfáticos, independentemente do calibre. Entretanto, este atua dinamicamente na manutenção da homeostase corporal, através da extensa rede de informações que forma, sendo atualmente considerado o maior órgão sensorial do corpo humano (LUZ *et al.*, 2003).

O Endotélio Vascular

As células endoteliais se originam do mesmo tecido embrionário das células sanguíneas, o hemangioblasto. Posteriormente, são incorporados tecido conjuntivo e células do músculo liso, estruturando a parede vascular. O sistema circulatório apresenta-se totalmente recoberto pelo endotélio antes de se iniciarem os batimentos cardíacos. Posteriormente, a pressão relativa do sangue sobre a parede do vaso influenciará o desenvolvimento das características vasculares. Os vasos submetidos à maior pressão e menor volume adquirirão características de artérias, enquanto que os que forem submetidos à menor pressão e maior volume tornar-se-ão veias. As células endoteliais ou suas precursoras participam também da diferenciação celular que leva à formação de órgãos como fígado, pâncreas, rins, glândulas endócrinas e de estruturas do coração como parte do septo atrioventricular e das valvas atrioventriculares, no desenvolvimento embrionário de animais. Acredita-se que essas células possam, futuramente, ser envolvidas em técnicas de regeneração ou transplante de órgãos (LUZ *et al.*, 2003).

Funções do Endotélio Vascular

O endotélio secreta mediadores solúveis difusíveis, capazes de agir em células fisicamente contíguas como as da musculatura lisa vascular, sendo considerado um órgão parácrino. Adicionalmente, responde a estímulos humorais, neurais, mecânicos e químicos com a síntese e liberação de substâncias para o controle da homeostase corporal, sendo considerado também um órgão endócrino (STEER, 2003; LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Os mediadores e/ou fatores envolvidos na dinâmica endotelial podem ser desativados dentro da própria célula endotelial, difundirem-se para o sangue ou atravessar a membrana muscular e agir sobre a musculatura lisa vascular (LUZ *et al.*, 2003). Através de sua extensa rede sensorial de células, o endotélio pode emitir respostas locais ou sistêmicas, dependendo da necessidade corporal. Em caso de morte de uma célula endotelial, outra célula mais próxima entra em processo de replicação e migração. Para manter a integração endotelial, os fenômenos de replicação e migração ocorrem inclusive em casos de implante de vaso sintético. A reparação endotelial e a neovasogênese dependem da migração de células precursoras do endotélio a partir do tecido hematopoiético da medula óssea (LUZ *et al.*, 2003).

A célula endotelial possui forma alongada, núcleo proeminente e é repleta de organelas intracelulares. Quando adulta, possui invaginações na porção luminal da membrana citoplasmática, denominadas cavéolas e apresenta-se mais fenestrada em locais onde o transporte de substância é alto, como no intestino e no glomérulo. Acredita-se que as cavéolas aumentem a eficiência de moléculas que, quando estimuladas, produzem substâncias biologicamente ativas, denominadas moléculas efetoras. Adicionalmente, acredita-se que tais invaginações favoreçam a atuação de outros sinalizadores, bombas iônicas e de receptores nelas localizados (LUZ *et al.*, 2003).

A membrana endotelial em contato com o lúmen vascular encontra-se exposta a leucócitos, plaquetas, citocinas, hormônios, lipídeos, moléculas sinalizadoras, concentração de oxigênio e proteínas, entre outras substâncias, também circulantes no sangue, que podem servir de estímulo à atividade endotelial. O endotélio apresenta-se sensível à variação de pressão e do fluxo sanguíneo, a sinais de inflamação ou de coagulação, à ativação do sistema imune e ao balanço oxidativo. Através da atividade de suas células, o endotélio modula o tônus vascular, o crescimento da musculatura lisa vascular, a trombogênese e a adesão de moléculas ao endotélio, a coagulação e as respostas inflamatória e imune, pelo controle de interações celulares com plaquetas e leucócitos, o transporte de substâncias, o

equilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes e o remodelamento vascular. O equilíbrio entre as substâncias liberadas pelo endotélio com funções antagônicas resulta em resposta fisiológica adequada (LUZ *et al.*, 2003; VAPAATALO e MERVAALA, 2001; VALLANCE e CHAN, 2001; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000; MANDINOV *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997). Todavia, há indícios de que a célula endotelial possa responder de diferentes maneiras a um mesmo estímulo, dependendo da região de atuação (LUZ *et al.*, 2003). Luz *et al.* (2003) relatam, entre outros exemplos, a ocorrência de vasoconstrição da artéria pulmonar em resposta à hipóxia e de vasodilatação da artéria renal sob o mesmo estímulo. As substâncias liberadas pelo endotélio e algumas de suas funções serão abordadas nas seções seguintes.

Endotélio no Controle da Mecânica Vascular

Através da liberação de substâncias vasoativas, o endotélio induz a contração ou o relaxamento da musculatura lisa vascular, controlando alterações no tônus e nas dimensões do vaso, auxiliando na regulação da pressão e do fluxo sanguíneo, entre outras funções que lhe permitem contribuir para a homeostasia vascular (VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997). A normalidade da função endotelial é obtida pelo equilíbrio entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras. Equilíbrio no qual predomina a vasodilatação (LÜSCHER e BARTON, 1997). As substâncias vasoativas produzidas pelo endotélio são denominadas fatores derivados do endotélio, que são divididos em relaxantes e constritores (LUZ *et al.*, 2003).

Fatores Relaxantes Derivados do Endotélio (EDRF_s)

Inicialmente, denominou-se fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) o mediador endógeno, até aquele momento desconhecido, que induziu o relaxamento vascular por acetilcolina no experimento conduzido por Furchgott e Zawadzki (1980). Posteriormente, o óxido nítrico (NO) foi identificado como este mediador. Atualmente, a lista de fatores relaxantes derivados do endotélio é composta principalmente pelo óxido nítrico, a bradicinina, a prostaciclina, a serotonina, a histamina, a substância P e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (LUZ *et al.*, 2003; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000).

Óxido Nítrico

O NO é um radical livre (LÜSCHER e BARTON, 1997) que participa da modulação de todas as funções endoteliais conhecidas (LUZ *et al.*, 2003). É considerado o principal fator relaxante derivado do endotélio. Qualquer alteração em sua síntese ou degradação pode comprometer a função endotelial. Desta forma, a disfunção endotelial é sempre relacionada, ao menos parcialmente, à alteração do balanço na produção ou à diminuição da atividade desse gás (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; McCARTY, 2000; VERHAAR e RABELINK, 1998). A vasodilatação é frequentemente associada apenas ao NO, ainda que outros mediadores influenciem no relaxamento da musculatura lisa vascular. Da mesma forma, a disfunção endotelial é muitas vezes justificada somente pela diminuição na sua produção ou biodisponibilidade (STEER, 2003; LUZ *et al.*, 2003; LOVELL *et al.*, 2000; VARIN *et al.*, 1997).

São destacadas como funções do NO a inibição da agregação plaquetária, da coagulação, da trombogênese, da migração de leucócitos, da inflamação, da proliferação e migração das células da musculatura lisa vascular e a promoção da vasodilatação (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; McCARTY, 2000). O NO interage também com enzimas da cadeia respiratória influenciando a respiração mitocondrial (VALLANCE e CHAN, 2001).

A síntese de óxido nítrico e vasodilatação

A síntese de NO ocorre sob a ativação da enzima óxido nítrico sintase (NOS). Essa enzima está presente nas células endoteliais, macrófagos, plaquetas, musculatura lisa vascular, nervos e no cérebro (LÜSCHER e BARTON, 1997). Existem três isoformas conhecidas dessa enzima: a endotelial, a neural e a indutível (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; VALLENCE e CHAN, 2001) ou macrofagócita (VALLENCE e CHAN, 2001). Cada uma das isoformas possui papel distinto na regulação do tônus vascular. As isoformas endotelial e neural estão presentes em células saudáveis. A indutível se faz presente principalmente em condições de infecção e inflamação (VALLENCE e CHAN, 2001).

A isoforma endotelial (eNOS ou NOS III) é a mais importante na regulação cardiovascular (STEER, 2003), estimulando constantemente a liberação de NO (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997) a partir de estímulos

provenientes de estrógenos e da tensão de cisalhamento decorrente da passagem do sangue no interior do vaso. A tensão de cisalhamento resulta numa produção basal de NO (LUZ *et al.*, 2003) e na manutenção do tônus de repouso da musculatura lisa vascular (VALLANCE e CHAN, 2001). A eNOS é encontrada no endotélio vascular (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003), nas células epiteliais, nos monócitos, nos miócitos cardíacos, nos neurônios do hipocampo, nos macrófagos (LUZ *et al.*, 2003), nas plaquetas (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003) e no endocárdio (STEER, 2003). Entretanto, as cavéolas das células endoteliais concentram 80% da eNOS (STEER, 2003). A isoforma neural (nNOS ou NOS I) é encontrada nos neurônios, células endoteliais, ilhotas pancreáticas, músculos esqueléticos, células da mácula densa glomerular, queratinócitos humanos e tecido retiniano (LUZ *et al.*, 2003). A eNOS e a nNOS são cálcio-dependentes, respondem prontamente aos estímulos endoteliais e liberam NO em baixa quantidade. A isoforma indutível (iNOS ou NOS II) é regulada por estímulo da transcrição (LUZ *et al.*, 2003) e encontra-se presente na musculatura lisa vascular e nos macrófagos (LÜSCHER e BARTON, 1997). A iNOS requer horas para ser expressa, é cálcio-independente e produz altos níveis de NO por tempo prolongado (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). A iNOS pode ser induzida por citocinas como endotoxina, interleucina 1 β e fator de necrose tumoral α (LÜSCHER e BARTON, 1997), lipossacarídeos bacterianos em macrófagos, hepatócitos, células musculares lisas vasculares, células endoteliais e mesangiais (LUZ *et al.*, 2003). Encontra-se aumentada em processos inflamatórios e choque endotóxico (LÜSCHER e BARTON, 1997), em síndromes isquêmicas agudas e em portadores de cardiopatia congênita cianogênica (LUZ *et al.*, 2003).

A eNOS é a principal molécula efetora da cavéola e nela desempenha toda a sua atividade (STEER, 2003). Quando inativa, encontra-se ligada à caveolina, proteína que, junto ao colesterol, mantém a conformação da cavéola. Estímulos mecânicos ou químicos podem causar o aumento da concentração de cálcio dentro da célula endotelial e dissociar essa ligação. O aumento da concentração intracelular de cálcio decorre do transporte de cálcio através da membrana que acontece sob influência de transportadores de cálcio presentes na cavéola (calmodulina, Ca⁺²-ATPase e trocador Na⁺-Ca⁺²). Esses transportadores são ativados por agonistas como a acetilcolina (Ach), a bradicinina, o estrógeno, a insulina, que ao se ligarem aos receptores muscarínico, B₂K, α e IR₁, respectivamente, promovem a abertura dos canais de cálcio e desencadeiam o processo (LUZ *et al.*, 2003).

Após a dissociação com a caveolina, a eNOS liga-se à calmodulina para a síntese de NO. A partir da reação do oxigênio com o aminoácido L-arginina, na presença de nicotinamida adenosina difosfato (NADPH) e de tetraidrobiopterina (BH₄),

obtem-se, como produto final, o NO, gás biologicamente ativo, e o aminoácido bioativo L-citrulina (LUZ *et al.*, 2003; MAXWELL, 2002; VALLENCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997), conforme ilustrado na Figura A.1. O processo de produção de NO foi relatado pela primeira vez em 1987, onde foi descrito que sua síntese ocorria a partir da L-arginina e foi relatada a necessidade dos co-fatores calmodulina, o NADPH e a BH₄ para a ação enzimática (LUZ *et al.*, 2003).

Uma vez sintetizado, o NO atravessa, por difusão, a membrana basal da célula endotelial e o interstício e atua sobre a musculatura lisa vascular ativando a guanilato ciclase e levando à formação da monofosfato guanilato ciclase (GMP_c), que seqüestra o cálcio intracelular na camada muscular, provocando o relaxamento da musculatura lisa vascular (STEER, 2003; LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997).

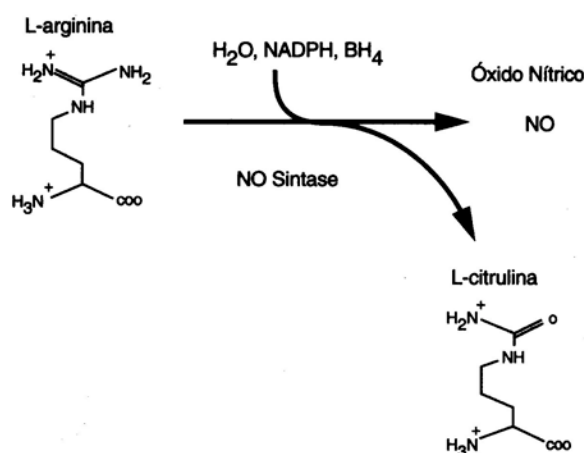


Figura A.1: Síntese do Óxido a partir do aminoácido L-arginina, na presença de nicotinamida adenosina difosfato (NADPH) e de tetraidrobiopterina (BH₄). Figura de Tibiriçá (2001).

Outros canais iônicos, além do de sódio, interferem na contratilidade da musculatura lisa vascular. Os canais de potássio, também presentes na membrana da célula endotelial, contribuem para a contratilidade vascular, mas sua importância na mecânica vascular endotélio-dependente ainda não foi estabelecida. Trabalhos científicos sobre o assunto apresentam resultados divergentes quanto à participação desses canais na dinâmica endotelial (LUZ *et al.*, 2003).

Estímulos químicos e físicos podem ativar a eNOS levando ao aumento da produção de NO (VALLANCE e CHAN, 2001). Alguns dos agonistas do NO e sua atuação sobre a camada muscular são apresentados em forma de esquema na Figura A.2.

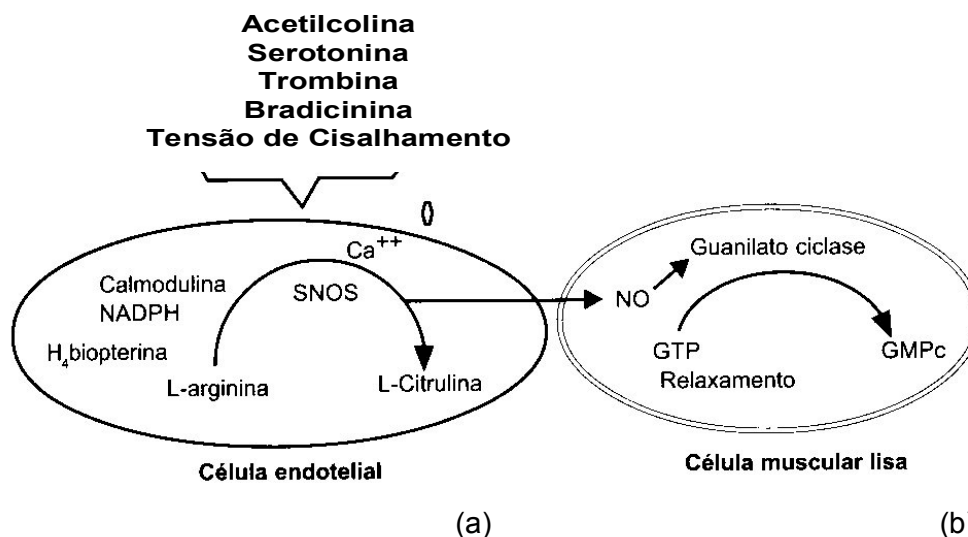


Figura A.2: Síntese do óxido nítrico a partir da tensão de cisalhamento, principal estímulo mecânico dessa via, e da atuação de seus agonistas (a). Atividade do óxido nítrico sobre a musculatura lisa vascular (b). Figura adaptada de Luz *et al.* (2003).

Agonistas do óxido nítrico

A serotonina, assim como os agonistas citados na seção anterior, favorece a síntese de óxido por desencadear a entrada de cálcio no interior da célula endotelial quando ligada ao seu receptor localizado na cavéola (STEER, 2003). A insulina, além auxiliar a vasodilatação através desse processo, promove autofosforilação do receptor, estimulando a entrada de glicose para o interior da célula, através do transportador GLUT₄, controlando também o metabolismo da glicose (LUZ *et al.*, 2003). Alguns antioxidantes encorpam a lista de agonistas do óxido nítrico, não por auxiliarem o transporte de cálcio, mas por favorecerem a biodisponibilidade desse gás (LUZ *et al.*, 2003).

Na ausência de endotélio, os agonistas que auxiliam o aumento da concentração de cálcio na célula endotelial podem atuar diretamente sobre a musculatura lisa vascular gerando vasoconstrição (LUZ *et al.*, 2003). A primeira comprovação da necessidade de endotélio na modulação da mecânica vascular veio através de Furchgott e Zawadzki (1980), citados por vários autores (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997) como os pioneiros em desconsiderar o endotélio como uma camada inerte. Esse trabalho demonstrou que a vasodilatação causada por acetilcolina em anéis de aorta de coelho vasoconstritos por noradrenalina só ocorre na presença de endotélio íntegro (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001).

Diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico

O óxido nítrico possui meia-vida de poucos segundos (LÜSCHER e BARTON, 1997), aproximadamente 50 s *in situ* (LUZ *et al.*, 2003) meia-vida inferior a 4 s em soluções biológicas (VALLANCE e CHAN, 2001). A biodisponibilidade do óxido nítrico depende da quantidade de oxigênio no meio (LUZ *et al.*, 2003). Como a célula endotelial vive em ambiente rico em oxigênio, existe uma produção constante de espécies reativas de oxigênio (ERO_x), conhecidas moduladoras de óxido nítrico. A meia-vida do óxido nítrico é maior que a das ERO_x. Entretanto, as ERO_x são fortemente reativas com proteínas, lipoproteína de baixa densidade (LDL), óxido nítrico e ácido desoxirribonucléico (DNA) por possuírem um elétron não-pareado na órbita externa de seu átomo. O produto da reação entre essas substâncias em geral é tóxico à célula endotelial e pode resultar em lesão de cadeias enzimáticas, da membrana celular ou pode danificar o DNA (Figura A.3). Além disso, a reação indevida evita que o gás, a proteína ou lipoproteína desempenhem suas funções na integridade estrutural e funcional do vaso (LUZ *et al.*, 2003). O NO quando interage com as ERO_x, ainda dentro da célula endotelial, é convertido em, por exemplo, peróxido nitrito, tornando-se inativo em suas funções e reativo e lesivo à célula endotelial, estando esse produto envolvido na fisiopatologia da aterosclerose (LUZ *et al.*, 2003; SCHACHINGER e ZEIHNER, 2000). O estresse oxidativo encontra-se relacionado também com a fisiopatologia da diabetes, da hipertensão arterial, da hiperglicemia, da resistência insulínica e do câncer; com situações de deficiência de estrógeno, tabagismo e poluição e com o processo de envelhecimento (LUZ *et al.*, 2003). O aumento dos níveis de LDL resultam na maior formação da LDL oxidada, oxLDL, (VALLANCE e CHAN, 2001). Desta forma, o estresse oxidativo é também observado em casos de hipercolesterolemia (LUZ *et al.*, 2003).

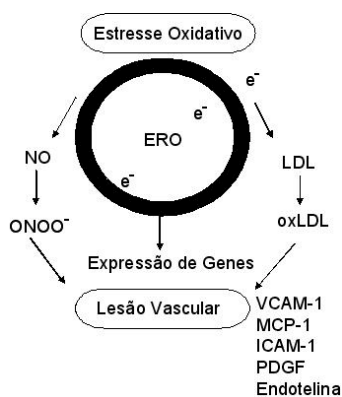


Figura A.3: Interação do óxido nítrico com as ERO_x. Conseqüente lesão endotelial e desequilíbrio de sua função em situações de estresse oxidativo. Figura adaptada de Luz *et al.* (2003).

Em condições normais, substâncias antioxidantes como o superóxido dismutante, a catalase, a glutathione peroxidase e as vitaminas C, A e E desativam em parte as ERO_x, dentro da célula endotelial, mantendo o balanço oxidativo e a disponibilidade do óxido nítrico para suas funções. O equilíbrio oxidativo é quebrado quando há uma maior produção de ERO_x ou menor ação dos antioxidantes (LUZ *et al.*, 2003).

Os mecanismos de disfunção endotelial são vários complexos (LUZ *et al.*, 2003). Além da perda do equilíbrio oxidativo e da disponibilidade do NO, pode haver a diminuição da produção de co-fatores, o aumento de agentes inibidores da síntese de NO, diminuição da atividade da eNOS e a diminuição da sensibilidade da musculatura lisa vascular ao óxido nítrico (MAXWELL, 2002; VALLANCE e CHAN, 2001). A síntese de NO pode ser inibida por aminoácidos circulantes e pela dimetilarginina assimétrica (ADMA), um inibidor endógeno da NOS que se acumula em indivíduos com insuficiência renal (VALLANCE e CHAN, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997), aterosclerose periférica oclusiva (LÜSCHER e BARTON, 1997) e hipercolesterolemia (VALLANCE e CHAN, 2001). A resistência à insulina encontra-se associada à deficiência do co-fator BH₄, outro envolvido na síntese do óxido nítrico. O tabagismo também contribui para a depleção deste co-fator. Entretanto, na maioria das doenças vasculares ocorre um aumento na produção de desativadores de óxido nítrico e não a diminuição em sua produção (LUZ *et al.*, 2003). Em situações de baixa disponibilidade intracelular de L-arginina ou BH₄, a eNOS pode gerar ERO_x, que podem ser produzidas também pela enzima conversora de angiotensina (ECA) e pela interleucina (LUZ *et al.*, 2003), aumentando mais ainda o estresse oxidativo. A resistência insulínica pode estar associada também à diminuição da sensibilidade da musculatura lisa vascular ao NO (VALLANCE e CHAN, 2001).

A melhoria da função endotelial é muitas vezes possível com o uso de medicamentos, mas nem todas as medicações apresentam efeito duradouro (LUZ *et al.*, 2003). A administração de ácido ascórbico, por exemplo, tem sido capaz de melhorar a vasodilatação de diabéticos, fumantes, hipercolesterolêmicos e de pacientes com insuficiência cardíaca após duas horas, com a possibilidade de manutenção do efeito por dias (VALLANCE e CHAN, 2001). Por outro lado, certos medicamentos visando melhorar a mecânica vascular, como alguns anti-hipertensivos, aumentam o estresse oxidativo, o que aumenta o comprometimento da função endotelial. Os mecanismos de disfunção endotelial são vários, complexos e ainda pouco conhecidos, assim como as vias de atuação dos diferentes recursos terapêuticos (LUZ *et al.*, 2003).

Outros Fatores Relaxantes Derivados do Endotélio

Outras substâncias vasodilatadoras produzidas pelo endotélio são:

- a bradicinina: cuja atuação depende da ação do óxido nítrico.
- a prostaciclina (PGI₂): sintetizada sob demanda através da ação da ciclooxigenase sobre o ácido araquidônico (LUZ *et al.*, 2003). São estímulos para a sua síntese a tensão de cisalhamento, condições de hipóxia, entre outros (LÜSCHER e BARTON, 1997). Assim como o óxido nítrico, necessita do aumento da concentração de cálcio dentro da célula endotelial para ser produzida (LUZ *et al.*, 2003).
- a serotonina, a histamina e a substância P, que atuam em receptores específicos produzindo vasodilatação através da adenosina-5'-monofosfato cíclico (AMPC).
- o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (LUZ *et al.*, 2003), substância ainda não identificada (STEER, 2003), provável produto da via ciclooxigenase, que promove abertura dos canais de potássio e fechamento dos canais de cálcio (LUZ *et al.*, 2003) através de um mecanismo atualmente desconhecido (STEER, 2003), causando a hiperpolarização das células musculares e conseqüentes relaxamento da musculatura lisa vascular e dilatação do vaso (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003). Atua mesmo quando o ciclo da L-arginina é inibido farmacologicamente (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Fatores Constritores Derivados do Endotélio (EDCFs)

A vasoconstrição é causada pelo aumento da concentração de cálcio dentro da célula muscular lisa, o que pode ser estimulado por ação endotelial (LUZ *et al.*, 2003). A concentração intracelular de cálcio em condição de repouso é da ordem de 10⁻⁷ M. Durante a despolarização, esse atinge concentração da ordem de 10⁻⁵ M. Nas células excitadas ocorre o deslizamento dos filamentos de actina sobre os de miosina, desencadeando a contração. A proporção actina/miosina é maior na musculatura lisa que na estriada. Os filamentos de miosina, em menor número, são rodeados por um arranjo tridimensional de filamentos de actina, o que permite a formação de um maior número de pontes transversas e, conseqüentemente, intensa força de contração. A

musculatura lisa vascular não apresenta sarcômeros, os filamentos de actina se ancoram em corpúsculos densos que são funcionalmente semelhantes às linhas Z. O fim da contração se dá com a remoção do cálcio mediada pela Ca^{+2} -ATPase (AIRES, 1999).

Dentre os fatores constritores derivados do endotélio (EDCF_s) estão a endotelina (ET₁), prostanóides constritores, que são produtos da ciclooxigenase como endoperóxidos (PGH₂) e tromboxano A₂ (TXA₂), componentes do sistema renina-angiotensina como a angiotensina II, e espécies reativas do oxigênio (EROx), como o ânion superóxido (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997).

Endotelina

Existem três isoformas de endotelina identificadas, ET₁, ET₂ e ET₃ (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Dessas, apenas a ET₁ é produzida pelas células endoteliais. A ET₁ é uma molécula grande e inativa que quando quebrada pela enzima conversora de endotelina ECE-1a, encontrada na membrana plasmática endotelial, torna-se um polipeptídeo ativo (LUZ *et al.*, 2003). Sintetizado e secretado pelas células endoteliais (AIRES, 1999), esse peptídeo liga-se aos receptores ET_A ou ET_B no músculo liso (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997), promovendo vasoconstrição (LÜSCHER e BARTON, 1997) potente (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003) e prolongada (AIRES, 1999) e estimulando a proliferação das células da musculatura lisa vascular (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Caso ocorra a ligação com o receptor A, ocorre a síntese de angiotensina II, que pode estimular a produção de endotelina. Além da angiotensina II, a trombina, a interleucina-1, a adrenalina (LUZ *et al.*, 2003; AIRES, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997), a vasopressina (AIRES, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997), o fator de crescimento tecidual TGF-β e o LDL podem favorecer a síntese de endotelina (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). A enzima ECE-1a pode ser inibida pelo ânion superóxido, possivelmente modulando a vasoconstrição a partir da inibição de outro agente vasoconstritor. Entretanto, essa enzima não é inibida pelo óxido nítrico (LUZ *et al.*, 2003), mas a endotelina inibe o ciclo L-arginina endotelial, o que aumenta a produção de ET₁ induzida por trombina ou angiotensina. Em contrapartida, os nitratos e o peptídeo natriurético atrial, ativado particularmente pela guanililciclase, previnem a liberação de ET₁ induzida pela trombina (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Os níveis plasmáticos de endotelina são baixos em condições normais (AIRES, 1999), sugerindo que sua formação ocorre em grande parte na parede vascular

(LÜSCHER e BARTON, 1997). Lüscher e Barton relatam que em baixas concentrações, a ET₁ promove vasodilatação transitória em órgãos ou organismos íntegros. Nesses casos, a ET₁ promove a liberação de óxido nítrico e prostaciclina pelas células endoteliais através dos receptores ET_B, agindo como um sistema de realimentação negativa que reduz a produção de ET₁ (LÜSCHER e BARTON, 1997). O papel vasoconstritor da ET₁ ocorreria em concentrações elevadas desse peptídeo, o que ocorre na presença de doença vascular (AIRES, 1999) severa (LUZ *et al.*, 2003) e falência renal (AIRES, 1999). A alta concentração de ET₁ pode levar a isquemias, arritmias e à morte. Vários antagonistas dos receptores de endotelina vêm sendo desenvolvidos e estudados em indivíduos normais e em pacientes (LÜSCHER e BARTON, 1997). A síntese de endotelina e alguns fatores que a estimulam ou inibem estão apresentados esquematicamente na Figura A.4.

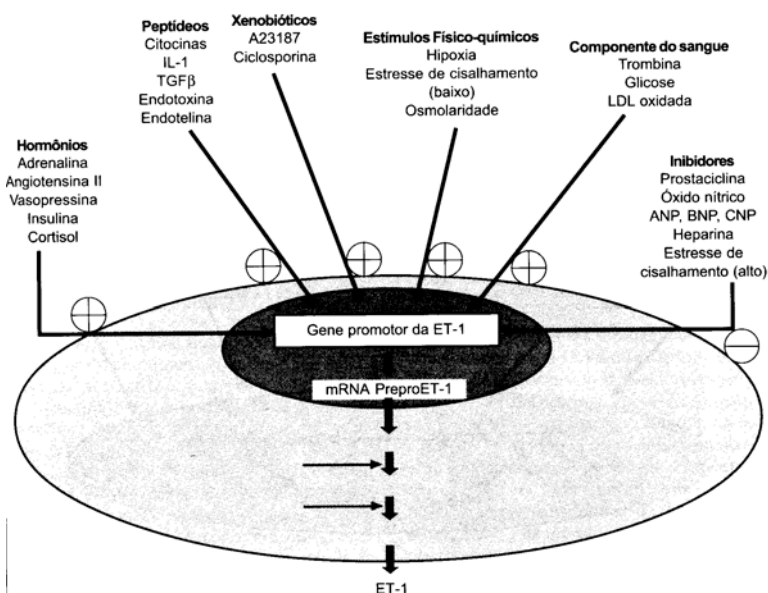


Figura A.4: Fatores que estimulam ou inibem a síntese de endotelina pelo endotélio vascular. Figura de Luz *et al.* (2003).

Produtos da Ciclooxygenase (COX)

Através da via da ciclooxygenase (COX), as células endoteliais produzem prostaglandinas a partir do ácido araquidônico (AIRES, 1999). Essa via é ativada por hipóxia, tensão de cisalhamento (STEER, 2003; AIRES, 1999) e substâncias como acetilcolina, serotonina (STEER, 2003; AIRES, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997), histamina (AIRES, 1999; LÜSCHER e BARTON, 1997) noradrenalina, e trombina (AIRES, 1999). A COX catalisa a conversão de ácido dihomo- γ -linoleico em PGE₁ e 15-OH-DGLA. O primeiro produto causa vasodilatação, inibição de agregação

plaquetária e inibição de inflamação e o segundo leva ao aumento de agentes pró-inflamatórios (STEER, 2003).

Das prostaglandinas produzidas no endotélio via ciclooxigenase, o tromboxane A₂ (TXA₂) e a prostaglandina da série H (PGH₂) causam vasoconstrição (STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997), enquanto que a prostaciclina (PGI₂) causa relaxamento vascular (STEER, 2003) e, em conjunto com o óxido nítrico, maximiza a vasodilatação e a inibição da agregação plaquetária (LÜSCHER e BARTON, 1997), sendo esta última sua mais importante função (STEER, 2003). O TXA₂, produzido pela célula endotelial e plaquetas, induz, além da vasoconstrição, agregação plaquetária (AIRES, 1999). O TXA₂ e os PGH₂ ativam o receptor tromboxane nas plaquetas e nas células da musculatura vascular contrabalaneando os efeitos da prostaciclina e do óxido nítrico em ambas as células (STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Adicionalmente, a COX é uma importante fonte de superóxidos ânions, capazes de desativar rapidamente o óxido nítrico (STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Outras prostaglandinas citadas por Aires (1999) com ação vasomotora são as da série E (PGE), vasodilatadoras e as da série F (PGF) potentes vasoconstritoras.

Sistema Renina-Angiotensina (SRA)

O endotélio também regula o sistema renina-angiotensina, SRA, (LÜSCHER e BARTON, 1997) localizado na cavéola. O SRA possui quatro componentes protéicos: a renina, o angiotensinogênio, a enzima conversora da angiotensina (ECA) e o receptor de angiotensina II, e participa ativamente do controle da pressão arterial (LUZ *et al.*, 2003).

A elevação de renina plasmática está associada a um maior risco de doença cardiovascular. A concentração de renina encontra-se elevada cerca de 30% em pacientes hipertensos (LUZ *et al.*, 2003). A ECA cliva a angiotensina I em angiotensina II e, adicionalmente, promove a degradação da bradicinina (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997), pois é idêntica à Quinase II, que desativa a bradicinina (LÜSCHER e BARTON, 1997). A ECA estimula também a produção de outros mediadores como o inibidor do ativador de plasminogênio (LÜSCHER e BARTON, 1997). Os receptores de angiotensina II conhecidos, ATI e o ATII, são localizados no músculo liso vascular (LUZ *et al.*, 2003). O ATII provoca vasodilatação mediada pelo óxido nítrico. A angio1-7, metabólito intermediário da conversão da angiotensina II, também promove vasodilatação mediada pelo óxido nítrico. O óxido nítrico atua na diminuição da atividade da ECA e do receptor ATI (LUZ *et al.*, 2003). O ATI quando

ativado estimula a produção de endotelina, estimulando a proliferação celular (LUZ *et al.*, 2003) e potencializando o aumento do tônus vascular (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). Nesse processo ocorre a produção de ânion superóxido através da NAD(P)H oxidase (LUZ *et al.*, 2003; STEER, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997). A atuação da angiotensina II em diversas estruturas é apresentada na Figura A.5.

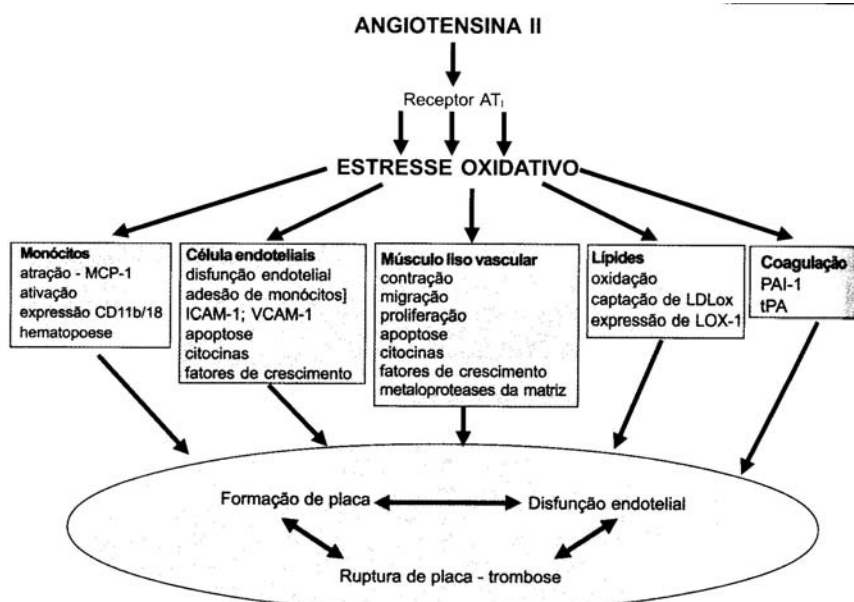


Figura A.5: Efeitos da angiotensina sobre diferentes estruturas e sua relação com a lesão vascular. Figura de Luz *et al.* (2003).

Como visto anteriormente, o endotélio encontra-se envolvido não só no controle do diâmetro do vaso, como também na manutenção da estrutura da parede vascular. A disfunção endotelial pode favorecer a proliferação da musculatura lisa vascular e a agregação plaquetária. A integridade endotelial possui um papel protetor da estrutura e função vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). Lüscher e Barton (1997) relatam que a remoção de células endoteliais ocasionadas por alguns métodos invasivos leva à imediata deposição de plaquetas e células sanguíneas brancas no local da lesão e que a hiperplasia da camada íntima do vaso ocorre dentro de dias ou semanas. Isso ocorre porque as células endoteliais produzem fatores promotores e inibidores de crescimento. Em condições fisiológicas, predomina a inibição dos fatores promotores, o que resulta na ausência de crescimento da musculatura lisa vascular. A denudação endotelial e sua disfunção permitem a aderência plaquetária à parede vascular, a vasoconstrição e estimulam a proliferação e migração de células da musculatura lisa vascular (LÜSCHER e BARTON, 1997). Alguns dos fatores envolvidos nesses processos serão apresentados nas seções seguintes.

Fatores Envolvidos no Crescimento da Musculatura Lisa Vascular

O fator de crescimento derivado da plaqueta (PDGF), o fator de crescimento de fibroblasto (PGF), o fator de crescimento semelhante à insulina ou insulina-símile (I-like-GF), a endotelina, o ânion superóxido e a angiotensina II são fatores liberados pelo endotélio e envolvidos na proliferação da musculatura lisa vascular. O receptor do PDGF, quando ativado, promove a mobilização do cálcio intracelular e a proliferação das células da musculatura lisa vascular. Esse fator e a endotelina estão envolvidos na fisiopatologia da aterosclerose e da hipertensão arterial severa (LUZ *et al.*, 2003).

Entre as substâncias liberadas pelo endotélio que inibem o crescimento da musculatura lisa vascular encontram-se o óxido nítrico, a prostaciclina, a bradicinina, o sulfato de heparina e o fator de transformação de crescimento- β . O óxido nítrico é um importante e potente agente regulador da proliferação e migração das células musculares e da adesão de leucócitos. A prostaciclina auxilia a prevenção de adesão e agregação plaquetária (LUZ *et al.*, 2003).

Moléculas de Adesão

Os leucócitos, linfócitos e monócitos circulantes geralmente não aderem na parede dos vasos. Entretanto, estes podem se tornar aderentes e cruzar a interface lúmen-íntima sob influência endotelial (LUZ *et al.*, 2003). As moléculas de adesão produzidas pelo endotélio evitam a ruptura da integridade vascular durante um processo inflamatório, regulam a resposta imunológica e a migração de linfócitos. Na inflamação, citocinas ativam a iNOS no endotélio, musculatura lisa vascular e plaquetas, causando o aumento da liberação de óxido nítrico, o que contribui para uma melhora da perfusão local. O óxido nítrico é o principal modulador das moléculas de adesão, que são as moléculas de adesão intercelular (ICAM), as moléculas de adesão de células vasculares (VCAM) e as moléculas de adesão endotelial de leucócitos, ELAM, (STEER, 2003).

Fatores Pró e Anti-Trombóticos

O fator tecidual ativador de plasminogênio facilita a fibrinólise. Esse fator pode ser estimulado pela bradicinina e pelo óxido nítrico, potente inibidor da trombogênese.

O inibidor do ativador de plasminogênio I é um fator que favorece a trombogênese. Quando estimulado pela angiotensina II e pela endotelina, este provoca a formação de trombos intravasculares. A trombotomodulina é o terceiro fator trombolítico liberado pelo endotélio, que também modula a formação desse trombo (LUZ *et al.*, 2003).

O Endotélio e as Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morbidade (LUZ e CESENA, 2001) e mortalidade no mundo ocidental, apesar de sua incidência estar em declínio (LUZ *et al.*, 2003; NIEMAN, 1999) devido a intervenções farmacológicas e a cuidados relativos ao estilo de vida (SCHELL e MYERS, 1997). Segundo Nieman (1999), com exceção do ano de 1918, desde 1900 as doenças cardiovasculares têm sido a principal causa de morte entre os norte-americanos.

A etiologia das doenças cardiovasculares é multifatorial. Engloba fatores genéticos e ambientais (PULLIN *et al.*, 2002). Atualmente reconhece-se hipercolesterolemia, hipertensão arterial, sedentarismo, diabetes melito, obesidade, sobrepeso, tabagismo, história familiar de doenças cardiovasculares e envelhecimento (LUZ *et al.*, 2003; PULLIN *et al.*, 2002; LUZ e CESENA, 2001; GEBARA *et al.*, 1997a; GEBARA *et al.*, 1997b; LÜSCHER e BARTON, 1997) como alguns dos fatores envolvidos ou que predispõem à patogênese vascular e a eventos agudos (VALLANCE e CHAN, 2001).

A aterosclerose é apontada como o principal fator envolvido na causa desse grupo de doenças. A aterosclerose consiste em uma enfermidade inflamatória caracterizada por resposta inflamatória, imunológica e proliferativa local, acúmulo de LDLs oxidadas e redução da biodisponibilidade do óxido nítrico na parede arterial (LUZ *et al.*, 2003). Assim sendo, a aterosclerose apresenta como característica a alteração da função endotelial. A disfunção endotelial está presente também em pessoas que apresentam fatores de risco para as doenças cardiovasculares (LUZ *et al.*, 2003; LUZ e CESENA, 2001; VALLANCE e CHAN, 2001; CABALLERO *et al.*, 1999; ANASTASIOU *et al.*, 1998; LÜSCHER e BARTON, 1997), mas que não apresentam sinais de aterosclerose (LUZ *et al.*, 2003). Assim, a alteração da função endotelial pode estar relacionada aos fatores de risco para doenças cardiovasculares. Adicionalmente, essa disfunção representa um indício precoce de comprometimento vascular, pois precede a manifestação de alterações na estrutura vascular e o aparecimento de sinais e sintomas clínicos evidentes de doenças cardiovasculares (PULLIN *et al.*, 2002; KUVIN *et al.*, 2001; ANASTASIOU *et al.*, 1998; LÜSCHER e

BARTON, 1997). Acredita-se que a alteração endotelial possa predispor à aterosclerose (VALLANCE e CHAN, 2001) e ser uma das causas das doenças vasculares (LÜSCHER e BARTON, 1997). Estudos experimentais mostram que a inibição da NOS resulta na instalação de quadros de aterosclerose (VALLANCE e CHAN, 2001). A presença de aterosclerose, por sua vez, resulta em alteração da vasodilatação endotélio-dependente, sem alteração da vasodilatação independente do endotélio *in vitro* e *in vivo* (VALLANCE e CHAN, 2001). Acredita-se que a disfunção endotelial desencadeie alterações vasculares mais importantes, contribuindo substancialmente para progressão das doenças cardiovasculares (LUZ e CESENA, 2001; LÜSCHER e BARTON, 1997). A Figura A.6 apresenta a associação entre alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares e a disfunção endotelial.



Figura A.6: Associação entre alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares, a produção aumentada de angiotensina e a influência do desequilíbrio endotelial no comprometimento da estrutura e função do vaso. Figura de Luz *et al.* (2003).

2.3.1 Disfunção Endotelial

A disfunção endotelial pode ser causada por agressões mecânicas, químicas ou metabólicas ao vaso. A perda da integridade endotelial expõe as células da musculatura lisa vascular à ação direta de substâncias vasoconstritoras derivadas do endotélio ou transportadas pelo sangue (LUZ *et al.*, 2003). A denudação endotelial é percebida apenas em estágios avançados de aterosclerose. Entretanto, as mudanças na morfologia celular são quase invariavelmente associadas a alterações na função endotelial (LÜSCHER e BARTON, 1997). A disfunção endotelial é caracterizada pelo desequilíbrio na produção ou liberação de substâncias dependentes do endotélio, resultando em perda do balanço oxidativo com tendência do sistema à vasoconstrição, trombogênese, inflamação, aumento na expressão de moléculas de adesão, adesão

de plaquetas e monócitos e proliferação das células da musculatura lisa vascular (LUZ *et al.*, 2003; LÜSCHER e BARTON, 1997).

A disfunção endotelial é atualmente apontada como um marcador de risco para doenças cardiovasculares. A magnitude da vasodilatação, categorizada em normal ou reduzida, é considerada preditora independente de eventos cardiovasculares (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003), assim como a presença de aterosclerose em leito não-coronário, a hipertensão arterial e o estresse oxidativo, este último observado através da resposta nula ou diminuída à administração de ácido ascórbico intra-arterialmente (LUZ *et al.*, 2003).

Hipertensão Arterial e Disfunção Endotelial

Na maior parte dos modelos de hipertensão existentes, a hipertensão arterial é associada com a diminuição da vasodilatação endotélio-dependente (LÜSCHER e BARTON, 1997). Lüscher e Barton (1997) colocam a disfunção endotelial como consequência e não causa da hipertensão arterial, uma vez que a disfunção endotelial é mais proeminente em vasos submetidos à maior pressão e parece ocorrer à medida em que ocorre o aumento de pressão. Os autores acreditam que, uma vez estabelecida a disfunção endotelial, esta contribuiria para o aumento da resistência vascular periférica nas artérias de menor calibre e aumentaria as complicações vasculares nas artérias condutoras e de médio calibre (LÜSCHER e BARTON, 1997). Entretanto, estudos realizados em animais mostram que a diminuição da eNOS provoca hipertensão arterial (LUZ *et al.*, 2003). Para Vallance e Chan (2001), os resultados encontrados na literatura apontam mais consistentemente para a hipertensão como causa da diminuição da dilatação dependente do óxido nítrico do que o contrário. Os autores justificam afirmando que a vasodilatação endotélio-dependente pode ser restaurada com tratamento anti-hipertensivo e que a elevação abrupta da pressão arterial em normotensos resulta em disfunção da vasodilatação.

A concentração plasmática de endotelina é normal na maioria dos humanos hipertensos, exceto quando a hipertensão encontra-se associada a evidências de aterosclerose e insuficiência renal. Entretanto, os níveis plasmáticos de endotelina não necessariamente refletem os níveis teciduais. Em modelos animais, os resultados são contraditórios. Em alguns modelos com ratos foi observada uma menor produção de endotelina, em outros a produção encontrava-se aumentada (LÜSCHER e BARTON, 1997). Alguns estudos relatam a diminuição da síntese de óxido nítrico basal em hipertensos e menor vasoconstrição em resposta ao inibidor da NOS L-NMMA, outros

não observam tais efeitos (VALLANCE e CHAN, 2001). Em um modelo de hipertensão com ratos houve o aumento da atividade da NOS. Porém, a vasodilatação mediada pelo óxido nítrico foi prejudicada devido ao aumento da quantidade de superóxidos ânion e da produção de prostaglandina H₂ (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Luz *et al.* (2003) afirmam que o aumento da pressão arterial faz com que o endotélio libere produtos que agem sobre o vaso de forma a normalizar o fluxo sanguíneo. Todavia, a hipertensão arterial e a tensão de cisalhamento aumentada são consideradas fatores de progressão das doenças vasculares uma vez que os sítios vasculares submetidos a maior pressão e/ou fluxo turbulento são mais propensas à formação de placas de ateroma. Desta forma, a circulação sistêmica, submetida à maior pressão, possui maior incidência de placas que a circulação pulmonar (LUZ *et al.*, 2003).

A vasodilatação endotélio-dependente em resposta ao estresse mental é reduzida em hipertensos, o que pode explicar a maior susceptibilidade desse grupo à lesão vascular em situações de estresse (CARDILLO *et al.*, 1998). O tratamento da hipertensão arterial pode normalizar a função endotelial, diminuindo o risco de eventos. A normalização da função endotelial de mulheres pós-menopausa, com hipertensão leve a moderada reduziu em aproximadamente três vezes a incidência de edema agudo de pulmão e acidentes vasculares encefálicos isquêmicos dentro de um período de observação de cinco anos. Agentes anti-hipertensivos normalizam a pressão arterial, o que diminui a agressão sobre a célula endotelial, mas não necessariamente causam regressão ou impedem a progressão de lesões vasculares. Alguns desses agentes estimulam a geração de EROx (LUZ *et al.*, 2003).

Hipercolesterolemia e Disfunção Endotelial

O colesterol é um componente essencial na manutenção da estabilidade estrutural e conformação das cavéolas. Adicionalmente, aumenta a atividade da eNOS (LUZ *et al.*, 2003). Entretanto, a hipercolesterolemia inibe a vasodilatação endotélio-dependente, que pode ser inibida mais significativamente na presença de aterosclerose associada (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Aumento dos níveis de lipídeos por ingestão de alimento rico em lipídeos provoca alterações na vasodilatação mediada por fluxo. A redução da vasodilatação dependente do endotélio é observada em estágios precoces de hipercolesterolemia, mesmo antes de sinais de alteração na estrutura da parede vascular. Por sua vez, a inibição da produção de óxido nítrico em aorta de coelhos hipercolesterolêmicos

desencadeia mudanças da estrutura da parede do vaso (VALLANCE e CHAN, 2001). Tanto na hipercolesterolemia quanto na aterosclerose são observados níveis aumentados de endotelina. Vários mediadores envolvidos na aterosclerose estimulam a produção de endotelina, sendo os níveis plasmáticos de endotelina diretamente correlacionados com o grau de aterosclerose (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Na hipercolesterolemia ocorre o aumento do estresse oxidativo. As espécies reativas de oxigênio e as LDL oxidadas reagem com o óxido nítrico, gerando peroxinitrato e provocando a diminuição de sua biodisponibilidade.

Acredita-se que haja também uma diminuição na síntese de óxido nítrico devido à mobilização do colesterol livre nas cavéolas por meio das LDL oxidadas, entre outros mecanismos (LUZ *et al.*, 2003). Entretanto, há evidências experimentais com aorta de coelhos hipercolesterolêmicos de que a produção de óxido nítrico pode não estar diminuída, estando em alguns casos aumentada. Todavia, o óxido nítrico produzido seria desativado pelos superóxidos. Esses achados também encontram-se presentes em experimentos com modelos animais de aterosclerose (LÜSCHER e BARTON, 1997). As LDLs oxidadas podem adicionalmente levar ao aumento da apoptose endotelial e à diminuição da densidade capilar no miocárdio, levando à diminuição da reserva de fluxo coronário e, conseqüentemente, à disfunção miocárdica (LUZ *et al.*, 2003).

O controle dos níveis de colesterol resulta na melhora da vasodilatação (LUZ *et al.*, 2003; VALLANCE e CHAN, 2001) e na estabilização das placas de ateroma devido ao aumento na produção e disponibilidade do óxido nítrico. O efeito protetor da lipoproteína de alta densidade (HDL) se dá, em parte, pela doação de colesterol às cavéolas, restaurando a atividade de síntese de NO (LUZ *et al.*, 2003). Inibidores da enzima conversora de angiotensina e certos antioxidantes também auxiliam na restauração da função vasomotora endotelial (LUZ *et al.*, 2003). A reatividade vascular é melhorada também com o uso de estatinas em portadores de hipercolesterolemia. As estatinas aumentam o número de células precursoras do endotélio na circulação, independentemente dos níveis de colesterol. Assim, elas podem promover reendotelização em regiões que sofreram lesão, sem promover espessamento da camada íntima vascular. O consumo de vinho tinto ou suco de uva por duas semanas, também sem alteração do perfil lipídico dos pacientes, pode normalizar a vasodilatação endotélio-dependente (LUZ *et al.*, 2003). A administração de L-arginina exógena pode melhorar e até restaurar o condição de “relaxamento” vascular na presença de um quadro de aumento dos níveis de LDLs oxidadas (LÜSCHER e BARTON, 1997). Segundo Luz *et al.* (2003), a disfunção endotelial pode ser revertida em menos de 24 horas com certos procedimentos, mas os autores enfatizam a

necessidade de tratamento a longo prazo.

Senilidade e Disfunção Endotelial

Com o envelhecimento, as células endoteliais encontram-se em menor número e tendem a ficar mais delgadas, fato constatado em animais idosos cuja produção de óxido nítrico encontrava-se diminuída. A microcirculação também é afetada e a permeabilidade vascular pode estar alterada (LUZ *et al.*, 2003). Em humanos, a maioria dos estudos observa a diminuição da vasodilatação endotélio-dependente com a idade. Assim, o envelhecimento está associado ao aumento do risco de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares, mesmo na ausência de fatores de risco (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Tais acontecimentos podem estar relacionados a alterações celulares em resposta ao estresse oxidativo ou ao desequilíbrio entre as substâncias endotélio-dependentes com papéis antagônicos (LÜSCHER e BARTON, 1997). A senescência das células endoteliais é acompanhada de alterações no fenótipo, aumento da expressão da atividade proteolítica, de marcadores inflamatórios e vasoconstritores e diminuição da expressão de fatores vasodilatadores e vasoprotetores. Há também diminuição das células precursoras do endotélio e de reparação das lesões endoteliais. O marcador desses eventos é o comprimento dos telômeros, “capuzes” nas extremidades dos cromossomos que diminuem de comprimento na divisão celular e o recuperam sob atuação da enzima telomerase, que contém em sua composição, além da proteína, uma cadeia simples de RNA, sendo uma transcriptase reversa. Essa enzima evita a perda de material genético no telômero. O fenômeno é comum em células humanas como as epiteliais, endoteliais e fibroblastos. Na ausência de telomerase, o telômero pode perder a capacidade de divisão celular. Agressões ao endotélio aceleram as divisões celulares e desgastam mais rapidamente os telômeros. A manipulação genética das células endoteliais ou de suas precursoras pode reverter a disfunção endotelial via rejuvenescimento celular. A incorporação de gene codificador específico em células precursoras de endotélio resultou em aumento de trinta vezes na neovascularização em região isquêmica de animais de laboratório e redução de 67% da necrose ou amputação em relação aos animais controle. Em humanos a quantidade de células precursoras na circulação humana é cerca de 48% maior no grupo controle que em portadores de cardiopatias (LUZ *et al.*, 2003). A transferência direta de genes de NOS para a parede vascular de ratos, relatada pela primeira vez em 1995, também parece um recurso viável no tratamento das doenças

cardiovasculares em humanos (VALLANCE e CHAN, 2001).

Deficiência de Estrógeno e Disfunção Endotelial

O estrógeno modula a atividade da enzima NOS *in vivo* e *in vitro*. A deficiência de estrógeno encontra-se associada à disfunção endotelial e ao aumento da endotelina, cujos níveis são normalmente modulados pelo estrógeno (LÜSCHER e BARTON, 1997).

Doença Coronariana e Disfunção Endotelial

A presença de disfunção endotelial acentuada em portadores de doenças coronarianas resulta em maior incidência de eventos cardíacos significativos como infarto agudo do miocárdio, angina estável, revascularização miocárdica e morte. Sugere-se que a disfunção endotelial seja marcador de maior atividade e propensão para complicações das placas de aterosclerose (MOYNA e THOMPSON, 2004; LUZ *et al.*, 2003).

A insuficiência cardíaca é acompanhada de disfunção da hemodinâmica vascular devido ao desequilíbrio entre vasodilatadores e constritores. A disfunção é caracterizada pelo aumento da vasoconstrição e pelo aumento da síntese de endotelina, entre outros fatores. A resposta vasodilatadora a agonistas do óxido nítrico mostra-se diminuída em vasos de resistência periféricos. Entretanto, é possível que ocorra um aumento da síntese de óxido nítrico basal em resposta à predominância vasoconstritora. É observada a redução da resposta vasodilatadora também ao exercício. A resposta a vasodilatadores independentes do endotélio pode também estar atenuada, provavelmente pela disfunção de outros mecanismos de controle da mecânica vascular, e essa redução é proporcional à severidade da insuficiência cardíaca. Alguns tratamentos com inibição de enzimas envolvidas no processo de produção de vasoconstritores, como a ECA, vêm sendo aplicados em pacientes para melhorar a vasodilatação endotélio-dependente (VALLANCE e CHAN, 2001).

ANEXO B

Lista de publicações dos trabalhos realizados referentes ao tema de tese e à parceria estabelecida com o LACE

- MACEDO, A. R., LUZ, L. M. S., NÓBREGA, A. C. L., MACHADO, J. C., SOUZA, M., “An arterial-venous model to simulate and interpretate venous occlusion plethysmography data”, submetido à revista *Physiological Measurement* em junho de 2007.
- MACEDO, A. R., NÓBREGA, A. C. L., MACHADO, J. C., SOUZA, M., “Assessment of dynamics characteristics of the vasomotor control based on plethysmographic blood flow measurement”, submetido à revista *Physiological Measurement* em junho de 2007.
- MACEDO, A. R., LUZ L. M. S., MACHADO, J. C., SOUZA, M. N., “Caracterização da Mecânica Arterio-venosa na Pletismografia por Oclusão Venosa”, 2006, XX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Rio Claro, SP, Brasil, p. 925-1517.
- MACEDO, A. R., MACHADO, J. C., SOUZA, M. N., “Sistema de Aquisição de Forma de Onda de Diâmetro em Tempo-Real Utilizando Ultra-som Pulso-eco”, 2004, III Congresso Latino-Americano de Engenharia Biomédica - XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Proceedings of International Federation for Medical and Biological Engineering, João Pessoa, Brasil, v. 5. p. 653-656.
- MACEDO, A. R., ROCHA, N. N., OLIVEIRA, L. P. J., NÓBREGA, A. C. L., SOUZA, M. N., “Semi-automatic System Developed to Quantify Arterial Baroreflex Sensitivity”, 2003, 25th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Cancun, México, 17 a 21 Sept, p. 260-263.
- NÓBREGA, A. C. L., SOUZA, M. N., ROCHA, N. N., OLIVEIRA, L. P. J., MACEDO, A. R., SOARES, L. N. S., “Sensibilidade do Barorreflexo Arterial: Validação de Sistema Semi-automático de Quantificação”, 2003, 20º Congresso de Cardiologia da SOCERJ, Rio de Janeiro, RJ, 31 de Julho a 2 Agosto.
- NÓBREGA, A. C. L., SOUZA, M. N., ROCHA, N. N., OLIVEIRA, L. P. J., MACEDO, A. R., SOARES, L. N. S., “Sistema de Medida e Avaliação da Sensibilidade do

Barorreflexo Arterial Espontâneo”, 2002, XXV Semana Científica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense – UFF, 2 a 6 de dezembro.