

NATANAEL VILELA MORAIS

Estudo da perfusão miocárdica e reserva coronariana pela ecocardiografia sob estresse com perfusão em tempo real em pacientes com diabetes melito descompensado e após tratamento.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Wilson Mathias Junior

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Morais, Natanael Vilela

Estudo da perfusão miocárdica e reserva coronariana pela ecocardiografia sob estresse com perfusão em tempo real em pacientes com diabetes melito descompensado e após tratamento / Natanael Vilela Moraes. -- São Paulo, 2010.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientador: Wilson Mathias Junior.

Descritores: 1.*Diabetes mellitus* 2.Ecocardiografia sob estresse 3.Perfusão
4.Doença coronária 5.Microbolhas 6.Microcirculação

USP/FM/DBD-161/10

“Dê-me, Senhor, método e faculdade para aprender, sutileza para interpretar, graça e abundância para falar. Dê-me, Senhor, acerto ao começar, direção ao progredir e perfeição ao concluir”.

(São Tomás de Aquino)

Dedico esta tese

À Deus, que me acompanha fielmente de forma incondicional.

À minha esposa Milena Barbosa Morais, companheira de toda a vida pela sua paciência e generosidade.

Às minhas filhas Lívia e Luize Barbosa Morais que nos seus poucos meses de vida me ensinaram a enxergar o mundo de forma mais humanista e doce.

Aos meus pais Evilásio Morais e Maria Ilza Morais que dentro de tanta simplicidade nos criou humildes e orgulhosos de nossa própria raiz.

Aos meus irmãos Edson, Elizabete, Marisa, Simone Vilela Morais e Evilásio Morais Filho.

À minha irmã Márcia Vilela Barbosa, fiel escudeira de todas as horas.

Aos pacientes que tornaram possível a realização deste estudo e aos meus pacientes que humildemente suportaram minhas ausências.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao **Prof. Dr. Wilson Mathias Júnior**, nosso mentor intelectual e expoente da cardiologia como já disse meu querido Prof. Dr. Sérgio Almeida de Oliveira: um homem que faz com que nossos sonhos se tornem metas e o trabalho de hoje o futuro proveitoso.

À **Prof. Dra. Jeane Mike Tsutsui** que de forma genial transforma nossas rotinas diárias em pesquisa clínica. Guerreira, sempre incansável nos conduzindo para o objetivo proposto.

Ao **Prof. Dr. Sergio Almeida de Oliveira**, meu mestre na cardiologia e na vida. Agradeço por cruzar os meus caminhos e me introduzir na vida acadêmica.

Ao **Dr. Augusto H. Uchida**, muito mais que amigo, cúmplice na vida e irmão de coração.

À **Dra. Carolina Piras de Oliveira** pela amizade e sustentação clínica a todo esse projeto.

AGRADECIMENTOS

Aos **Profs. Drs. Raul Dias dos Santos, Antonio Carlos Lerário e Neusa Helena Moreira Lopes** pelas sugestões dadas na Banca de qualificação que muito enriqueceram esse estudo.

Ao Núcleo de diabetes do INCOR, em especial ao **Prof. Dr. Bernardo Leo Wajchenberg** e **Dr. Sergio Ferreira Oliveira**.

Aos meus colegas de pós-graduação: **Marta Fernandes Lima, Daniela Aleixo, Viviane Tiemi Hotta, Sandra Falcão, Angele Azevedo Alves, Elisa Kaori, Fabio de Cerqueira Lario e João Manoel Theotônio**, companheiros fieis na condução de nossas angústias.

Aos grandes amigos, **João Sbano, Marcelo Luiz Campos Vieira, Mirian M. Pardi, Ana Clara Tude, Ana Lucia Arruda e Luciana Hanouche**, a minha gratidão eterna.

À **Telma Cristina Bastos de Souza** pelo apoio constante durante todo o projeto e pelo acompanhamento dos prazos junto às questões burocráticas. A todas as secretárias pela colaboração constante em especial a **Eliane Ribeiro Da Silva, Sandra Regina Pedro Silva e Marineuza Gomes Rangel**.

Aos amigos **Vladmir Miguel, Elizete Marçal e Julia Marçal**, família querida que me acolheu com carinho em seu lar durante todos esses anos.

À equipe de enfermagem, técnicas e auxiliares da Unidade de Ecocardiografia em especial à **Helena Leiko Ogino, Sra. Elaine Cristina**

Rodrigues, Sra. Claudete Helena Dutra De Santana Rocha, Sra Neuza Regina Guedes Dos Santos, Sra. Ivaneide Oliveira Do Nascimento, Clarice Pereira e aos funcionários do setor de Radiografia, em especial, **Elaine Clotilde Demachi e Gilberto Oliveira Xavier.**

Ao **Setor de Diagnóstico por Imagem** do InCor-HCFMUSP pelo apoio a este projeto.

À **Dra Silmara Regina Coimbra** e à enfermeira **Marisa Góes** do laboratório de aterosclerose.

Às sempre amigas **Neusa Rodrigues Dini, Juliana Lattari Sobrinho** e **Eva Malheiros G. de Oliveira** da comissão de pós-graduação.

À **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pela organização e seriedade ao apoio financeiro.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de símbolos

Lista de figuras e gráficos

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	16
3 MÉTODOS	18
3.1 Casuística	19
3.2 Fluxograma do estudo	19
3.3 Controle clínico do Diabetes	20
3.3.1 Critérios de inclusão	22
3.3.2 Critérios de exclusão	22
3.4 Eletrocardiografia sob estresse com estudo da perfusão em tempo real	23
3.4.1 Protocolo	23
3.4.2 Determinação qualitativa da perfusão miocárdica	25
3.5 Análise da anatomia coronariana por angiotomocoronariografia	30
3.5.1 Quantificação das placas coronárias	31
3.6 Análise estatística	32
4 RESULTADOS	33
4.1 Casuística	34
4.2 Níveis glicêmicos durante o ecocardiograma sob estresse	37
4.3 Eletrocardiografia	38

4.4 Angiotomografia de coronárias	39
4.5 Análise quantitativa do fluxo sanguíneo miocárdico	39
4.6 Análise dos pacientes diabéticos que atingiram a meta de redução de HbA _{1c} > 1% (valor absoluto).....	45
5 DISCUSSÃO	56
5.1 Limitações	63
6 CONCLUSÕES	65
7 REFERÊNCIAS	67

LISTA DE ABREVIATURAS

A	intensidade acústica de platô ou volume sanguíneo miocárdico
A_M	intensidade acústica de platô no miocárdio
A_N	intensidade acústica de platô no miocárdio, normalizada para a cavidade ventricular esquerda ou volume sanguíneo relativo do miocárdio
$A_N \times \beta$	fluxo sanguíneo miocárdico normalizado (absoluto)
A_{VE}	intensidade acústica de platô na cavidade ventricular esquerda
$A \times \beta$	fluxo sanguíneo miocárdico
β	taxa de replechimento do miocárdico por microbolhas ou velocidade de fluxo miocárdico
CT	colesterol total
DAC	doença arterial coronária
DM2	diabetes melito tipo 2
DP	desvio padrão
ECG	Eletrocardiograma
EPMTR	ecocardiografia de perfusão miocárdica em tempo real
FC	frequência cardíaca
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL-C	lipoproteína de alta densidade
HF	Hipercolesterolemia
InCor	Instituto do Coração
LDL-C	lipoproteína de baixa densidade
N	quantidade indivíduos por grupo estudado
NS	não significativo
O ₂	Oxigênio
PAD	pressão arterial diastólica

PAS	pressão arterial sistólica
PET	Tomografia por emissão de Positrons
PFP	Perfluoropropano
RFC	reserva de fluxo coronário
RI ou ROI	regiões de interesse
seg	segmento
t	tempo
SPECT	<i>single photon emission computed tomography</i>
TEP	tomografia por emissão de pósitrons
TGC	triglicérides
TSH	hormônio estimulante da tireóide
VE	ventrículo esquerdo
vs	<i>versus</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

bpm	batimentos por minuto
cm	centímetro
dB	decibel
dL	decilitro
HU	<i>Housfield Unit</i>
kg	quilograma
m	metro
mcg	micrograma
MHz	mega-hertz
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
mmHg	milímetro de mercúrio
ms	milissegundo
N	quantidade de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos
°C	grau Celsius
s	segundo
µg	micrograma
µm	micrometro
%	porcentagem
±	mais ou menos
<	menor que
>	maior que

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

- Figura 1** Ilustração do modelo de avaliação da perfusão miocárdica proposto por Wei et al. Com a infusão contínua do contraste, ocorre saturação do miocárdio por microbolhas (quadro E). A aplicação de pulsos ultrassônicos de alta intensidade (*flash*) provoca a destruição das microbolhas no miocárdio (quadro A) e o subsequente reenchimento (quadros B a E). S = região de interesse considerada; W = espessura do campo ultrassônico; d = distância percorrida pelas microbolhas; t = tempo; T = tempo no qual ocorreu saturação das microbolhas no campo ultrassônico..... 10
- Figura 2** Demonstração do reenchimento miocárdico por microbolhas nos batimentos posteriores a um pulso de alta energia (*flash*) e método de quantificação do fluxo miocárdico regional pela ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real. RI = região de interesse; vol = volume; vel = velocidade..... 12
- Figura 3** Fluxograma do estudo. EPMTR = Ecocardiografia perfusional miocárdica em tempo real..... 20
- Figura 4** Protocolo para avaliação da reserva de fluxo coronariano com ecocardiografia transtorácica sob estresse induzido por dipiridamol. EPMTR = ecocardiografia com contraste em tempo real. ECG = eletrocardiograma; EPMTR = ecocardiografia de perfusão miocárdica em tempo real. 4C, 3C e 2C = planos apicais de quatro câmaras, duas e três câmaras.. 24

Figura 5	Seqüência de imagens obtidas durante o <i>flash</i> , quadro A. Observam-se imagens sequenciais ao final da sístole ventricular - no primeiro quadro (quadro A) utiliza-se uma alta energia ultrassônica alta que permite destruir todas as microbolhas presentes no miocárdio (quadro B). A partir daí, nota-se o reenchimento das microbolhas no miocárdio (quadros B a H).....	27
Figura 6	Demonstração do método de posicionamento das amostras no miocárdio dos 17 segmentos estudados do ventrículo esquerdo: (A) disposição de sete regiões de interesse em corte apical quatro câmaras; (B) seis regiões de interesse no apical duas câmaras; e, (C) quatro regiões de interesse em apical três câmaras.	28
Figura 7	Demonstração esquemática do miocárdio dos 17 segmentos estudados do ventrículo esquerdo. Disposição de sete regiões de interesse em corte apical quatro câmaras, seis regiões de interesse no apical duas câmaras e quatro regiões de interesse em corte apical três câmaras.	29
Figura 8	Curva exponencial que mostra a quantificação da perfusão miocárdica com auxílio do <i>softawe</i> Q-Lab 6.0 no segmento médio do septo ventricular. Em vermelho, a curva de intensidade acústica da parede miocárdica. À direita da tela, nota-se os valores de A (3,62 dB) e β ($0,84 \text{ s}^{-1}$).....	30
Gráfico 1	Representação dos parâmetros de Reserva A_N obtidos por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol, nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1 e 2.	41

Gráfico 2	Parâmetros de Reserva β obtidos por ecocardiografia de perfusão sob estresse, nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1 e 2.	42
Gráfico 3	Parâmetros de Reserva $A\beta$ obtidos por ecocardiografia de perfusão nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos , nas Fases 1 e 2.	44
Gráfico 4	Parâmetros de Reserva A de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada acima de 1% (valor absoluto)	50
Gráfico 5	Parâmetros de Reserva β dos indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada	52
Gráfico 6	Parâmetros de Reserva $A\beta$ dos indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada em pelo menos 1% (valor absoluto)	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados do perfil medicamentoso dos indivíduos saudáveis e dos pacientes diabéticos	21
Tabela 2	Dados clínicos de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos	35
Tabela 3	Parâmetros ecocardiográficos de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos	36
Tabela 4	Valores do perfil glicêmico e lipídico de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos	36
Tabela 5	Principais fatores de risco para coronariopatia dos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos	38
Tabela 6	Parâmetros de Reserva A_N obtidas por perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol, nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1e 2	40
Tabela 7	Parâmetros de Reserva β de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos	42
Tabela 8	Parâmetros de Reserva $Ax\beta$ nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos	43
Tabela 9	Dados clínicos dos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada	46
Tabela 10	Parâmetros Ecocardiográficos de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada	47
Tabela 11	Parâmetros do perfil glicêmico e lipídico de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada	48

Tabela 12	Parâmetros clínicos dos pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada	49
Tabela 13	Parâmetros de Reserva A dos pacientes do grupo controle e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada	49
Tabela 14	Parâmetros de Reserva β de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada	51
Tabela 15	Parâmetros de Reserva $A\alpha\beta$ de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada	53

RESUMO

Morais N.V. Estudo da perfusão miocárdica e reserva coronariana pela ecocardiografia sob estresse com perfusão em tempo real em pacientes com diabetes melito descompensado e após tratamento [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010.106p.

Introdução: O diabetes melito (DM) está associado com alterações na reserva de fluxo coronariano a nível microcirculatório e a ecocardiografia sob estresse com perfusão em tempo real (EPMTR) é uma técnica útil para avaliação não invasiva dessas alterações. O objetivo deste estudo foi avaliar se o controle do DM teria influência sobre os valores da Reserva de Fluxo Microvascular (RFM) em pacientes livres de coronariopatia obstrutiva.

Métodos: Estudamos 30 pacientes com DM tipo 2 (GD) e 11 pacientes saudáveis do grupo controle (GC). A RFM foi avaliada pela EPMTR utilizando contraste a base de microbolhas. Os diabéticos foram estudados na fase descompensada (Fase 1) e após a otimização do tratamento quatro meses depois (Fase 2). Analisamos três parâmetros na quantificação miocárdica: Volume relativo de sangue do miocárdio (A_N), velocidade do fluxo (β) e fluxo miocárdico absoluto ($A_N \times \beta$). Todos os pacientes realizaram angiotomografia de coronárias (64 detectores) para confirmar a ausência de coronariopatia obstrutiva. Os grupos foram pareados por idade, sexo, peso, índice de massa corpórea e separados os pacientes com melhora (GCM) dos níveis de hemoglobina glicosilada maiores que 1% (valor absoluto) e os sem melhora (GSM). **Resultado;** durante a EPMTR na Fase 1 foram: Valores β (s^{-1}): $1,16 \pm 0,59$ (GCM) vs. $1,72 \pm 1,08$ (GSM) vs. $2,33 \pm 1,75$ (GC), com $p < 0,001$ e valores $A_N \times \beta$ (dBs^{-1}): $1,53 \pm 0,83$ (GCM) vs. $2,08 \pm 1,33$ (GSM) vs. $2,61 \pm 1,66$ (GC) com $p < 0,001$. Na Fase 2 obtivemos valores de β (s^{-1}): $1,84 \pm 1,11$ (GCM) vs. $1,29 \pm 0,76$ (GSM) vs. $2,20 \pm 1,53$ (GC) com $p < 0,001$ e valores $A_N \times \beta$ (dBs^{-1}): $1,70 \pm 1,01$ (GCM) vs. $1,43 \pm 0,87$ (GSM) vs. $2,69 \pm 1,57$ (GC) com $p < 0,001$. **Conclusão:** Pacientes diabéticos tipo 2 com controle clínico inadequado apresentam redução na reserva de fluxo microvascular. Uma melhora dos níveis de hemoglobina glicosilada maior que 1% está associada a uma melhora na perfusão miocárdica.

Descritores: Diabetes melito, Ecocardiografia sob estresse, Perfusão, Doença coronária, Microbolhas.

ABSTRACT

Morais NV. *Myocardial perfusion study and coronary flow reserve by real-time utilizing myocardial contrast echocardiography in decompensated diabetic patients after treatment*. [thesis]. "São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2009. 106p.

Background: Diabetes mellitus (DM) is associated with alterations in coronary flow reserve on microvascular circulation. Real-time myocardial contrast echocardiography has proven to be a useful method for non-invasive evaluation of microvascular alterations. The objective of this study was to assess whether the control of diabetes would influence the values of Microvascular Flow Reserve (MFR) in patients free of obstructive coronary artery disease (CAD). **Methods:** Thirty patients were studied with DM (DG) and eleven healthy subjects (CG). MFR was determined by quantitative contrast echocardiography during dipyridamole stress using intravenous microbubbles based contrast. Diabetic individuals were studied in a decompensated state (Phase 1) and after optimization of medical treatment four months later (Phase 2). We evaluated three parameters of myocardial blood flow quantification. Relative myocardial blood volume (A_N), blood flow velocity (β) and myocardial absolute flow ($A_N \times \beta$). All patients underwent computed coronary angio-tomography (64 Slices) to determine the absence of obstructive CAD. The groups were paired by age, sex, weight, body mass index and separated patients that improvement (IG) in levels of glycosylated hemoglobin greater than 1% (absolute value) and those that showed no improvement (NIG). **Results:** β and $A_N \times \beta$ reserve values in phase 1 were respectively: 1.163 ± 0.587 (IG) vs. 1.724 ± 1.077 (NIG) vs. 2.328 ± 1.752 (CG), with $p < 0.001$ and $A_N \times \beta$ (dBs^{-1}) values: 1.527 ± 0.828 (IG) vs. 2.080 ± 1.328 (NIG) vs. 2.609 ± 1.659 (CG) with $p < 0.001$. Values in Phase 2: β (s^{-1}): 1.839 ± 1.112 (IG) vs. 1.284 ± 0.761 (NIG) vs. 2.199 ± 1.528 (CG) with $p < 0.001$ and $A_N \times \beta$ (dBs^{-1}) values: 1.696 ± 1.012 (IG) vs. 1.426 ± 0.866 (NIG) vs. 2.687 ± 1.574 (CG) with ($p < 0.001$). Patients that reached the goal HbA_{1c} levels had a significant enhancement in coronary reserve (from $10.42 \pm 2.03\%$ to $8.73 \pm 1.77\%$; $p < 0.001$). **Conclusion:** These results suggest that diabetic individuals with poor blood glucose control and no obstructive coronary artery disease have impaired MFR. Improvement in glycosylated hemoglobin greater than 1% is associated with increase in microvascular function.

Keywords: Diabetes mellitus, Stress Echocardiography, Perfusion, Coronary artery disease, Microbubbles.

1 INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

Cerca de 80% dos óbitos em diabéticos do tipo 2 (DM2) são causados por doenças cardiovasculares.⁽¹⁾ Portanto, é essencial direcionar esforços no sentido de diagnosticar as complicações cardiovasculares do diabético, numa fase subclínica ou pré-clínica, para definir um tratamento que previna efetivamente uma morte precoce.

Dentre as doenças cardiovasculares que afetam o paciente com DM2, destacamos a aterosclerose coronária. Esta possui forma mais difusa e mais agressiva, e agrava o prognóstico dos eventos isquêmicos nesses pacientes. O infarto agudo do miocárdio no diabético com frequência é mais extenso, e ocasiona taxas de sobrevivência, em médio prazo, mais baixas que em pacientes não diabéticos.

Os prováveis mecanismos da aterosclerose acelerada nesses pacientes são os efeitos tóxicos diretos da glicose sobre a vasculatura, a resistência insulínica e a associação do diabetes a outros fatores de risco para doença cardiovascular.⁽²⁾ Estudos prospectivos demonstraram que pessoas com DM2 têm um risco duas a quatro vezes maior de óbito por doença arterial coronária (DAC) e acidente vascular cerebral (AVC) quando comparado com pessoas sem diabetes.⁽³⁻⁶⁾

A influência do diabetes na DAC é sinérgica com outros fatores de risco, como a idade, a hipercolesterolemia, a hipertensão arterial e o tabagismo; mas o diabetes é também um fator de risco independente. No

DM2, a disfunção endotelial micro e macrovascular é observada nas fases iniciais da moléstia, mesmo antes do aparecimento da hiperglicemia, e tem papel fundamental no acometimento aterosclerótico macrovascular e possivelmente está associada à inflamação e à resistência à insulina. A interação diabetes e aterosclerose sugere a contribuição concomitante do processo inflamatório na patogenia de ambas as doenças.⁽⁷⁾

A existência de um paralelo entre resistência insulínica e insuficiência cardíaca foi observada há mais de um século. Já em 1881, Leyden⁽⁸⁾ percebeu que a insuficiência cardíaca era a complicação mais frequente e notável do diabetes, e Mayer^(9,10) especulou sete anos mais tarde que as doenças cardíacas nessa doença poderiam resultar de anormalidades no metabolismo.

No Brasil, no final dos anos oitenta, um estudo com 21.847 pacientes, permitiu verificar que a prevalência da diabetes no país era de 7,6% na população de 30 a 69 anos, e que tal prevalência chegava em torno de 17% nos indivíduos acima de 60 anos. Este mesmo estudo multicêntrico mostrou que a prevalência dessa doença no país era semelhante à de países mais desenvolvidos. As maiores taxas de prevalência foram encontradas no sul e sudeste, regiões economicamente mais desenvolvidas do país. As mesmas taxas foram observadas em homens e mulheres e em brancos e não brancos.⁽¹¹⁾ Em um estudo no final dos anos noventa, em população no interior do estado de São Paulo, a prevalência chegou a 12,1% e 21,7%, respectivamente para indivíduos entre 30 e 69 anos e acima de 60 anos.⁽¹²⁾

Em 2001, Iribarren et al.⁽¹³⁾ constatou que para cada 1% de aumento na hemoglobina glicosilada observa-se 8% de aumento no risco de insuficiência cardíaca, mesmo após ajuste para outros fatores, incluindo a DAC.

A despeito dos grandes avanços na abordagem da DAC, ainda observamos um grande número de óbitos em indivíduos sem sintomatologia prévia. Métodos considerados muito sofisticados mostram-se também insuficientes para identificar pacientes de alto risco e até o momento, mesmo os modelos preditivos mais complexos falham na estratificação adequada dos pacientes.⁽¹⁴⁾ As limitações na estratificação destes pacientes são:

- Muitos fatores de risco são considerados de forma dicotômica: presente ou ausente. Na realidade, os fatores de risco obedecem a uma proporcionalidade gradativa, ou seja, são tratados de forma categórica, quando na verdade deveriam ser avaliados de forma contínua;
- Não se considera tempo de exposição ao fator de risco, mesmo porque, isso é de difícil determinação;
- Não há avaliação consistente da importância da influência genética sobre o risco de eventos;
- Parte-se do pressuposto de que os fatores de risco são fixos, quando na verdade, são dinâmicos. Exemplo: um indivíduo é sedentário no momento da avaliação, mas pode iniciar um programa de exercícios;

- Muitos fatores de risco podem ser facilmente controlados ou minimizados mediante tratamento farmacológico;
- Existem problemas de validade externa mesmo nos trabalhos com grande casuística;
- Assintomáticos tendem a apresentar um número pequeno de eventos ao longo do tempo. Muitos estudos utilizam o recurso de análise de desfechos combinados para caracterizar a análise prognóstica.

Além disso, a prevalência real da DAC é subestimada em nosso meio, pois ainda é pequeno o número de diabéticos assintomáticos que se submetem a uma investigação rigorosa preventiva.

Dentro dos métodos considerados não invasivos para avaliação desses pacientes destacamos a ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real (EPMTR) que tem se mostrado uma técnica útil para avaliação da DAC usando estímulos físicos ou farmacológicos.⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ Este método apresenta, ainda, acurácia diagnóstica e prognóstica similar à cintilografia miocárdica, mas com um custo substancialmente menor, sem impacto ambiental ou uso de radiação ionizante.⁽¹⁸⁾

O efeito contraste ecocardiográfico foi descrito pela primeira vez, em 1968, por Gramiak e Shah⁽¹⁹⁾ que após injeção de solução salina endovenosa, observaram melhora na avaliação da raiz da aorta durante um cateterismo cardíaco. Meltzer et al.⁽²⁰⁾, em 1980, constataram que o efeito contraste ocorria graças a presença de microbolhas de ar que geravam uma interface com o sangue, possibilitando uma intensa reflexão do sinal do

ultrassom. A partir de então, muitos agentes de contraste ultrassonográficos foram utilizados com a finalidade de melhorar a captação da cor, a definição do sinal espectral do Doppler e a imagem em modo Bidimensional, com aumento da definição da parede vascular e das cavidades cardíacas. Tanto do ponto de vista teórico quanto prático, o principal atrativo clínico das técnicas de ecocardiografia com contraste deriva do potencial de expansão, no domínio do diagnóstico por ultrassom, para a perfusão miocárdica, possibilitando a representação simultânea do fluxo regional e função contrátil em tempo real.⁽²¹⁾

O desenvolvimento dos contrastes ecocardiográficos à base de microbolhas capazes de ultrapassar a barreira capilar pulmonar representou um avanço na melhoria da qualidade de imagens ecocardiográficas⁽²²⁾, possibilitando uma análise mais eficiente das funções miocárdicas global e segmentar, incluindo o potencial de estudar a perfusão miocárdica.

Apesar deste desenvolvimento, os contrastes ecocardiográficos de primeira geração, como o Levovist[®] e o Albunex[®], que consistiam de microbolhas compostas de ar ambiente, sofriam colapso precoce na circulação, pois o nitrogênio e o oxigênio contidos nas microbolhas difundiam-se rapidamente para o plasma.

Para aumentar o tempo de sobrevivência das microbolhas, Porter et al.⁽²³⁾ utilizaram gases da classe dos perfluorocarbonados para o preparo dos contrastes de segunda geração. Atualmente, existem vários contrastes ecocardiográficos que são comercializados em vários países, entre eles o Optison[®], Sonovue[®] e o Definity[®]. Estas microbolhas possuem gases de alto

peso em seu interior, o que dificulta sua difusão para o plasma, conferindo alta estabilidade, mantendo-as intactas por um tempo mais prolongado na circulação.

O Definity[®] (Bristol-Myers Squibb, Canadá) é um agente de contraste ultrassonográfico novo (solução injetável de microesferas lipídicas), que é utilizado para melhorar a qualidade das imagens ecocardiográficas e ultrassonográficas, aumentando a ecogenicidade dos órgãos e tecidos de interesse. É uma suspensão estéril, não pirogênica, composta por microbolhas de perfluoropropano (PFP) encapsuladas em fosfolípide, ativada pela agitação rápida por meio de equipamento específico (Vialmix[®], Bristol-Myers Squibb Medical Imaging, N. Billerica, Massachusetts, EUA).

O contraste possui estabilidade suficiente para, quando injetado por via intravenosa, atravessar a barreira capilar pulmonar e contrastar as cavidades cardíacas esquerdas e a circulação coronariana, permitindo um delineamento excelente de bordas endocárdicas, e mapeando toda a microcirculação miocárdica.

O componente PFP é um gás estável não metabolizado do Definity[®] que é rapidamente eliminado da circulação sistêmica pelos pulmões, e não é mais detectado após 10 minutos da sua injeção intravenosa na maioria dos indivíduos. As concentrações máximas são atingidas após 1 ou 2 minutos do início da infusão. Os três componentes lipídicos do Definity[®] são naturalmente encontrados na circulação sanguínea humana e representam menos de 1% dos níveis desses lipídeos no plasma seguindo vias metabólicas similares às dos fosfolípídeos naturais.

A sua administração é apenas contra-indicada em pacientes com conhecida hipersensibilidade aos componentes da fórmula, também durante a gestação ou lactação e em pacientes com significativas comunicações entres as câmaras cardíacas esquerdas e direitas, além de ser contra-indicado para uso obstétrico.⁽²⁴⁾

A reserva de fluxo coronário (RFC), conceitualmente, foi estudada pela primeira vez nos anos 70 por Gould et al.⁽²⁵⁾ num modelo experimental de obstrução progressiva das artérias coronárias em cães. Os autores demonstraram que uma artéria coronária com obstrução luminal menor que 50% era capaz de aumentar o seu fluxo coronariano em até quatro vezes o seu valor basal, em resposta a um estímulo isquêmico. Este fenômeno se reduzia progressivamente à medida que o grau de obstrução coronária aumentava, e se exaure completamente quando a lesão atingia valores superiores a 90%.

Assim, a razão entre o fluxo coronariano em estado de hiperemia, induzida farmacologicamente ou por isquemia transitória, e o fluxo coronariano em estado basal foi definida como RFC, e reflete a capacidade funcional do leito coronário de aumentar a oferta de sangue diante de um aumento da demanda miocárdica por oxigênio.⁽²⁵⁻²⁷⁾ Em estudos experimentais em animais, a disfunção endotelial e a redução da reserva de fluxo coronário foram detectadas antes mesmo da formação de placas ateroscleróticas.⁽²⁸⁾

A disfunção microcirculatória também pode ser, assim, provocada por alterações funcionais, que podem envolver fatores neuro-humorais⁽²⁹⁻³¹⁾ ou

disfunção endotelial.⁽³²⁾ Desta forma, já foi demonstrado que a reserva de fluxo coronário pode estar diminuída em função de alterações da microcirculação coronária em condições como diabetes melito⁽³³⁻³⁵⁾, hipercolesterolemia^(36,37), hipertensão arterial sistêmica⁽³⁸⁻⁴⁰⁾, e Síndrome X.^(41,42)

Na microcirculação coronária o fluxo sanguíneo é regulado, basicamente, por dois mecanismos principais: o aumento da velocidade de fluxo microvascular em resposta à vasodilatação coronária ou aos estímulos metabólicos^(43,44), e o “recrutamento” capilar (aumento do número de capilares com fluxo sanguíneo), secundário aos estímulos metabólicos desencadeados por aumento do consumo miocárdico de oxigênio.⁽⁴⁵⁾

As arteríolas coronárias, capazes de regular o fluxo arteriolar, agem como vasos de resistência, mantendo a pressão capilar constante (autorregulação) por integração dos diversos estímulos, que agem de maneira compensatória, para manter essa homeostase circulatória.⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾ As vênulas coronárias também possuem tênues respostas de reatividade muscular lisa, e controlam a resistência local alterando as propriedades da cinética do sangue.^(49,50)

Ao avaliar a reserva de fluxo coronário podemos, assim, avaliar a integridade dos mecanismos homeostáticos da circulação coronária.⁽⁵¹⁾

A EPMTR permite avaliar bem o fluxo microcirculatório por sua excelente resolução espacial e temporal, ou seja, mostra a extensão e tempo de isquemia, além de utilizar traçadores, cujas propriedades cinéticas intravasculares são muito semelhantes às das hemácias.^(52,53) Estes

contrastes nos permitem acompanhar a passagem das hemácias pelos tecidos.⁽⁵⁴⁾

O contraste ecocardiográfico por microbolhas é administrado em infusão constante e, em 2 a 3 minutos, é atingido um estado de equilíbrio, quando sua concentração em qualquer amostra sanguínea (cavidade ventricular esquerda, miocárdio, etc.) é constante e proporcional à fração de volume sanguíneo dessa amostra. Na EPMTR, a emissão de um pulso de alta energia ultrassônica no estado de equilíbrio destrói as microbolhas dentro do miocárdio (quadro A). Depois disso, pode-se observar o preenchimento progressivo de toda a microcirculação em um determinado campo ultrassônico – vide seqüência dos quadros B a E na Figura 1.

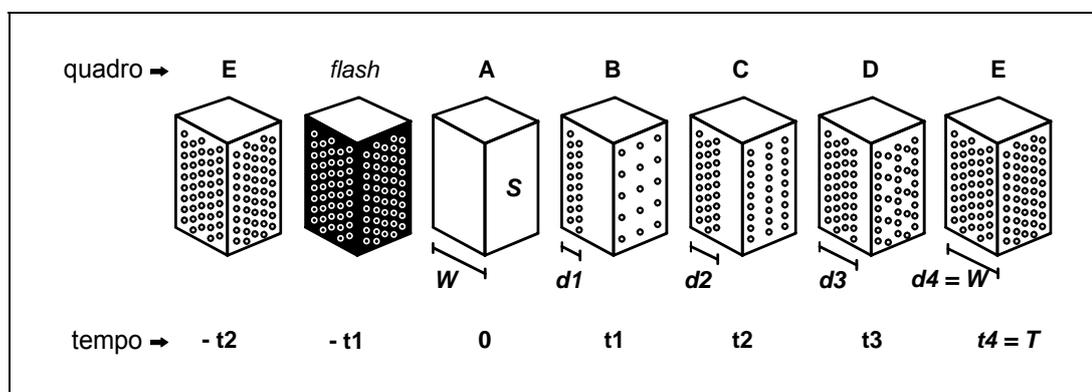


Figura 1 - Ilustração do modelo de avaliação da perfusão miocárdica proposto por Wei et al.⁽⁵⁶⁾. Com a infusão contínua do contraste, ocorre saturação do miocárdio por microbolhas (quadro E). A aplicação de pulsos ultrassônicos de alta intensidade (*flash*) provocam a destruição das microbolhas no miocárdio (quadro A) e o subsequente preenchimento (quadros B a E). S = região de interesse considerada; W = espessura do campo ultra-sônico; d = distância percorrida pelas microbolhas; t = tempo; T = tempo no qual ocorreu saturação das microbolhas no campo ultrassônico.

O replechimento das microbolhas no miocárdio em função do tempo pode então ser medido pelo aumento da intensidade acústica a cada quadro da sequência de imagens. Isto resulta em uma curva de intensidade acústica pelo tempo de replechimento do miocárdio por microbolhas e que pode ser matematicamente aproximada pela função seguinte⁽⁵⁵⁾:

$$y = A (1 - e^{-\beta t})$$

Onde:

- t é o instante no tempo, em segundos (s);
- y é a intensidade acústica no instante t , em decibéis (dB);
- A é a intensidade acústica no platô (concentração máxima das microbolhas), em decibéis (dB); e,
- β é a taxa de replechimento das microbolhas (taxa de crescimento de y), em segundos (s^{-1}).

Dessa forma, duas variáveis podem ser obtidas: a velocidade de replechimento microcirculatório (taxa de replechimento por microbolhas) (β) e, após a saturação microcirculatória por microbolhas, a intensidade acústica no platô (A), que é proporcional ao volume sanguíneo miocárdico regional.⁽⁵⁵⁾

Como o fluxo é resultante de um volume de sangue que se move a certa velocidade média, o produto da fração do volume sanguíneo do miocárdio (A) pela velocidade do sangue no miocárdio (β) reflete o fluxo miocárdico microvascular $A \times \beta$ (Figura 2).

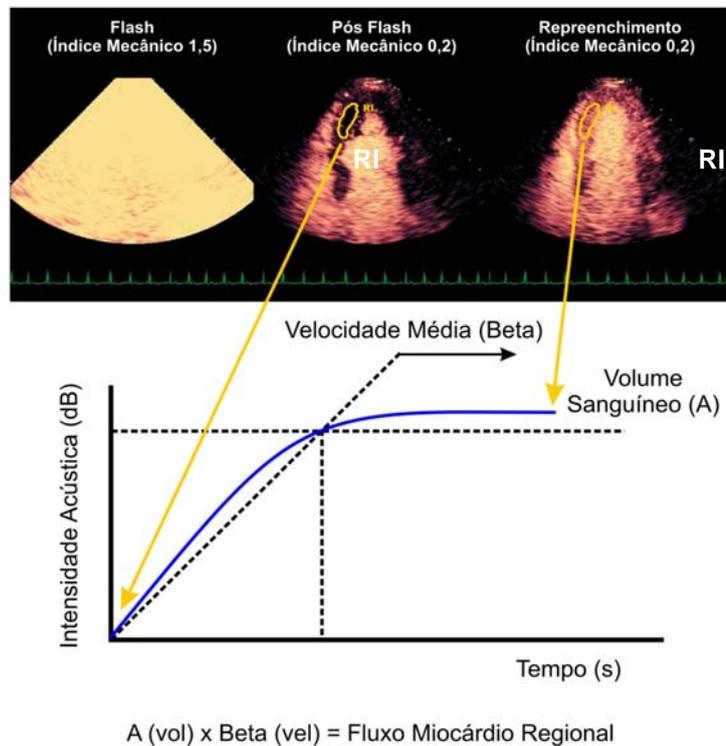


Figura 2 - Demonstração do repleenchimento miocárdico por microbolhas nos batimentos posteriores a um pulso de alta energia (*flash*) e método de quantificação do fluxo miocárdico regional pela ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real. RI = região de interesse; vol = volume; vel = velocidade.

Sob condições fisiológicas, o volume de sangue miocárdico é modulado pela demanda de oxigênio dos miócitos e, em repouso, apenas cerca de metade dos capilares ao redor dos mesmos apresenta fluxo sanguíneo.^(56,57) Um aumento discreto na demanda de oxigênio (O_2) resulta em aumento discreto na velocidade sanguínea nesses capilares. Aumentos maiores na demanda miocárdica de O_2 estão associados à presença de fluxo sanguíneo em maior número de capilares, que reflete um aumento no volume sanguíneo miocárdico detectado por meio da ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real.

Quando o fluxo sanguíneo está presente em todos os capilares, o volume de sangue miocárdico atinge um platô, aproximadamente duas vezes mais alto que na condição de base. Adicionalmente, como o produto de A por β representa um índice de fluxo microvascular, pode-se calcular sua reserva por meio da razão deste produto, obtido sob estresse físico ou farmacológico, por aquele obtido em repouso:

$$\text{Reserva} = (A \times \beta)_{\text{sob estresse}} / (A \times \beta)_{\text{em repouso}}$$

Conforme o progresso no desenvolvimento de programas computacionais específicos para a quantificação do contraste miocárdico, foi possível fazer a análise da sequência de imagens e a quantificação do fluxo miocárdico regional (Figura 2), tanto para pacientes em estado de repouso, como após a indução de estresse cardiovascular, e este avanço possibilitou utilizar a ecocardiografia sob estresse farmacológico com perfusão miocárdica em tempo real para a avaliação da reserva de fluxo miocárdico (reserva $Ax\beta$).

Vários fatores podem influenciar negativamente a quantificação absoluta do volume miocárdico, como a concentração do contraste, o ângulo de análise da estrutura (posição onde se coloca o transdutor de ultrassom), e falta de homogeneidade no campo ultrassonográfico.⁽⁵⁸⁾

Para minimizar esse efeito deletério, Vogel et al.⁽⁵⁹⁾ propuseram normalizar ou corrigir a intensidade acústica obtida nas regiões de interesse no miocárdico (A), dividindo-a pelo valor obtido em regiões de interesse na cavidade ventricular esquerda adjacente (A_{VE}), e demonstraram que o valor da intensidade acústica normalizada (A_N) obtido dessa forma, reflete o

volume sanguíneo relativo do miocárdico, tornando possível a comparação entre a reserva de fluxo miocárdico obtido por ecocardiografia de perfusão com a obtida por tomografia por emissão de pósitrons. E como vantagem adicional, ainda fornece os valores do volume sanguíneo miocárdico relativo (A_N) e da velocidade de fluxo miocárdico (β), além do valor absoluto de um índice proporcional ao fluxo miocárdico ($A_N \times \beta$).⁽⁶⁰⁾ O produto de A_N por β permite analisar a microcirculação tanto em repouso, quanto durante a vasodilatação obtida sob estresse físico ou farmacológico.⁽⁶¹⁾

Korosoglou et al.⁽⁶²⁾, em 2004, avaliaram 50 pacientes por EPMTR e SPECT, verificando que a análise visual da ecocardiografia teve boa correlação com o SPECT ($kappa = 0,67$). A EPMTR apresentou sensibilidade de 64%, especificidade de 97% e acurácia global de 87% para detectar defeitos de perfusão miocárdica. Quando o fluxo sanguíneo miocárdio foi analisado quantitativamente, observaram-se sensibilidade, especificidade e acurácia diagnóstica de 80%, 78% e 79%, respectivamente, em relação ao SPECT. Peltier et al.⁽⁶³⁾, em 2004, estudaram 35 pacientes sob estresse por dipiridamol, utilizando a EPMTR e o SPECT. Os autores demonstraram que o avanço da velocidade e do fluxo sanguíneo miocárdico nos territórios supridos por artéria coronariana com estenose significativa, definida por obstrução coronariana acima de 70%, foi menor. A acurácia para a detecção de DAC por território foi de 87%, quando se utilizou a quantificação da velocidade do fluxo sanguíneo miocárdico, e de 85%, quando se utilizou a quantificação do fluxo sanguíneo miocárdico. A EPMTR, sob estresse por dipiridamol, foi capaz de identificar 97% dos territórios com

DAC, enquanto o SPECT permitiu identificar 71% dos mesmos.

Kaul et al.⁽⁶⁴⁾ foram os primeiros a demonstrar uma concordância excelente (90% a 92%, *kappa* = 0,88 a 0,99) entre a localização e o tipo de defeito de perfusão detectado por SPECT e por ecocardiografia com contraste miocárdio, ao utilizar a imagem harmônica intermitente.

Apesar de a literatura estar repleta de estudos demonstrando sua acurácia na detecção de DAC, não há estudos que utilizaram EPMTR na detecção das alterações dinâmicas da RFM em pacientes com DM descompensado antes e após o tratamento.

2 OBJETIVOS



2 OBJETIVOS

1. Analisar os efeitos das alterações do Diabetes Melito tipo 2 descompensado sobre a reserva de fluxo coronário em pacientes sem coronariopatia obstrutiva.
2. Avaliar o comportamento da perfusão miocárdica após otimização do tratamento em pacientes que melhoraram os níveis de hemoglobina glicosilada, comparando-os com os pacientes que não apresentaram melhora.

3 MÉTODOS

3.1 Casuística

Foram estudados prospectivamente 42 pacientes no período de fevereiro de 2006 a janeiro de 2009 de um total de 300 pacientes diabéticos tipo 2 atendidos consecutivamente e elegíveis para o estudo. Todos matriculados no ambulatório da Unidade de Diabetes da disciplina de endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFM-USP). Esses pacientes foram avaliados e selecionados segundo os critérios de inclusão e exclusão sendo somente 30 pacientes que foram até o final do estudo.

Adicionalmente foi composto um grupo controle de 11 indivíduos saudáveis, voluntários que aceitaram participar do estudo. O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão Científica do InCor e pela Comissão Científica e de Ética para análise de projetos de pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, documento N^o 546/05. Esta pesquisa recebeu o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, documento N^o 2005/57793-6. Todos os pacientes foram orientados sobre os exames realizados e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

3.2 Fluxograma do estudo

A Figura 3 mostra o delineamento do estudo.

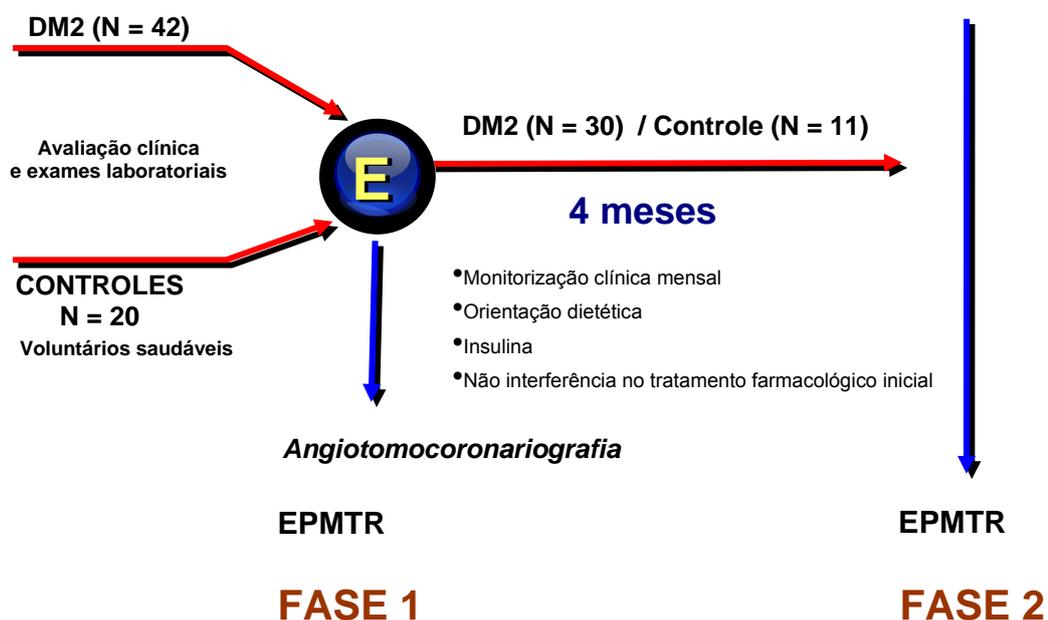


Figura 3 - Fluxograma do estudo. (DM2 = diabetes melito tipo 2; EPMTR = Ecocardiografia perfusional miocárdica em tempo real; N = quantidade de indivíduos).

Posteriormente, os pacientes do grupo diabetes foram divididos em dois grupos: um grupo formado pelos pacientes que atingiram a meta de redução dos níveis de HbA1c (queda de 1%). O outro grupo foi formado pelos pacientes que não atingiram a meta terapêutica.

3.3 Controle clínico do diabetes

Os pacientes diabéticos descompensados foram acompanhados por endocrinologista com avaliação mensal. As medicações dos pacientes diabéticos nas Fases 1 e 2 estão descritas na Tabela 1. Os medicamentos

hipoglicemiantes em uso, na Fase 1, sofreram ajustes de dose para obtenção do controle clínico. A insulina foi sempre a primeira opção no caso de necessidade de introdução de novas drogas. As medicações anti-hipertensivas não sofreram reajuste de dose. Todos os pacientes diabéticos tiveram acompanhamento nutricional mensal.

Tabela 1 - Dados do perfil medicamentoso dos indivíduos saudáveis e dos pacientes diabéticos. Valores expressos em percentual (%) de pacientes sob uso dos medicamentos.

Medicamentos	Grupo controle (N = 11)	Grupo diabetes	
		Fase 1 (N = 30)	Fase 2 (N = 30)
Metformina	0	87	87
Acarbose	0	0	0,3
Glibenclamida	0	23	30
Gliclazida	0	13	23
Glimeperida	0	0,3	0,3
Insulina	0	37	40
Inibidores da ECA	0	53	53
BRA	0	13	13
Beta-bloqueadores	0	17	17
Antagonistas do cálcio	0	20	20
Diuréticos	0	23	23
Aspirina	0	27	27
Sinvastatina	0	17	17

N = quantidade de indivíduos por grupo estudado; ECA = enzima conversora do Angiotensina; BRA = bloqueadores dos receptores da angiotensina.

3.3.1 Critérios de inclusão

No grupo diabetes, foram incluídos pacientes com diabetes tipo 2 descompensados segundo os critérios da *American Diabetes Association*⁽⁶⁵⁾ e idade entre 30 e 65 anos, que apresentavam função ventricular esquerda global e segmentar normal em repouso comprovada por ecocardiograma transtorácico e ausência de doença coronária obstrutiva pela angiotomocoronariografia computadorizada de 64 cortes.

No grupo controle foram incluídos voluntários saudáveis e assintomáticos, sem história de cardiopatias ou diabetes. Todos os indivíduos do grupo controle foram incluídos após comprovação ecocardiográfica de função ventricular normal e ausência de doença coronária obstrutiva pela angiotomocoronariografia.

3.3.2 Critérios de exclusão

Excluimos os indivíduos com doença arterial coronária documentada por angiotomocoronariografia, história de revascularização miocárdica prévia, sintomas de insuficiência cardíaca, hipertensão arterial sistêmica significativa, ritmo cardíaco não sinusal, doenças valvares significativas, cardiomiopatia hipertrófica, doença pulmonar obstrutiva crônica, bloqueio atrioventricular avançado e pacientes portadores de janela ecocardiográfica inadequada.

3.4 Ecocardiografia sob estresse com estudo da perfusão em tempo real

Após coleta dos dados clínicos, foi realizado o estudo ecocardiográfico em repouso com monitorização eletrocardiográfica, da pressão arterial e da frequência cardíaca.

Um eletrocardiograma de 12 derivações foi obtido em repouso, durante o estresse e na fase de recuperação para documentação de eventuais alterações morfológicas ou do ritmo cardíaco.

3.4.1 Protocolo

Todos os pacientes foram submetidos ao ecocardiograma sob estresse com dipiridamol em tempo real, com microbolhas. Todos os pacientes estudados foram orientados a abster-se de comidas e bebidas com xantinas por pelo menos 24 horas antes do estudo e manter-se em jejum absoluto nas 3 horas que antecederiam o exame. Realizava-se o preparo da pele, monitoração eletrocardiográfica e punções de dois acessos venosos independentes no membro superior direito, com catéter venoso número 22: um para a infusão da solução de dipiridamol e outro para infusão de microbolhas. Mantivemos o paciente na mesma maca, em repouso, por 15 minutos em decúbito dorsal horizontal em sala climatizada.

O protocolo utilizado foi o consagrado na prática clínica, sem associação de atropina, com administração endovenosa de dipiridamol de

ecocardiograma em repouso e sob estresse foram avaliadas de forma semi-quantitativa da função regional do ventrículo esquerdo em três planos ecocardiográficos padronizados: apical quatro, duas e três câmaras, definindo-se 17 segmentos, como recomendações da *American Society of Echocardiography and Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association* ⁽⁶⁶⁾. A avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo em repouso foi aferida a partir das imagens apicais de quatro e duas câmaras, utilizando o método de Simpson modificado.

3.4.2 Determinação quantitativa da perfusão miocárdica

No início, os pacientes foram submetidos a um estudo ecocardiográfico basal, com medidas lineares das estruturas cardíacas e dos fluxos valvares obtidas de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia. ⁽⁶⁷⁾

O contraste ecocardiográfico foi injetado via endovenosa periférica por infusão contínua como descrito anteriormente, em condições de repouso. Foram então realizados ajustes específicos do equipamento ecocardiográfico e incluíram o índice mecânico baixo (0,2) e frequência de repetição de pulsos acima de 25Hz. Todos os ajustes e a velocidade de infusão de contraste foram otimizados no estado basal, e mantidos constantes para permitir comparação válida entre as imagens obtidas em repouso e sob estresse farmacológico por dipiridamol na dose máxima de

0,84mg/kg. Um pulso ultrassônico rápido, com utilização de índice mecânico elevado (1,5), de cinco quadros (*flash*), era manualmente disparado no pico de intensidade do contraste para destruir as microbolhas dentro do miocárdio. Na seqüência, eram analisadas as imagens com índice mecânico baixo (0,2) por pelo menos 15 ciclos cardíacos consecutivos, para permitir o repleenchimento miocárdico (Figura 5). As imagens ecocardiográficas do ventrículo esquerdo foram capturadas em três planos padronizados: apical quatro, duas e três câmaras.⁽⁶⁸⁾

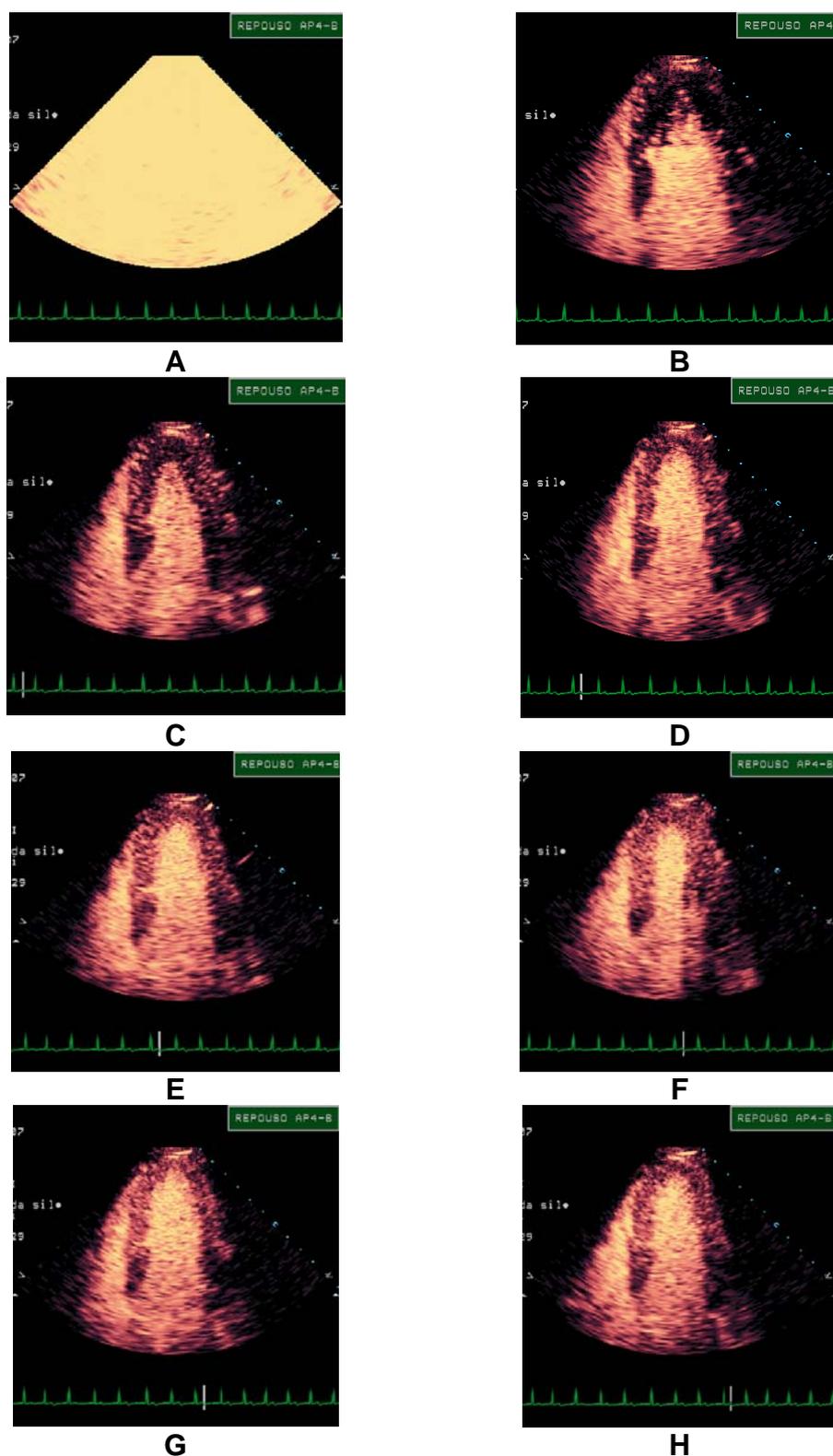


Figura 5 - Sequência de imagens obtidas durante o *flash*, quadro A. Observam-se imagens sequenciais ao final da sístole ventricular - no primeiro quadro (quadro A) utiliza-se uma energia ultrassônica alta que permite destruir todas as microbolhas presentes no miocárdio (quadro B). A partir daí, nota-se o reenchimento das microbolhas no miocárdio (quadros B a H).

Após aquisição das imagens de pico, o paciente permaneceu em repouso durante 30 minutos sob observação, até o retorno às condições basais.

A perfusão miocárdica foi avaliada por quantificação da intensidade acústica das imagens, utilizando um *software* específico para análise de imagens digitais (Q Lab 6.0, *Philips Medical Systems*). Foram realizadas análises quantitativas da perfusão miocárdica nas regiões de interesse (ROI) do ventrículo esquerdo, localizadas nas camadas meso e subendocárdica de cada um dos 17 segmentos do ventrículo esquerdo⁽⁶⁹⁾ no período basal e durante o pico do estresse, isto é, sete segmentos no corte apical quatro câmaras, seis segmentos no apical duas câmaras e quatro segmentos no plano de três câmaras (Figura 6) e de forma esquemática (Figura 7).

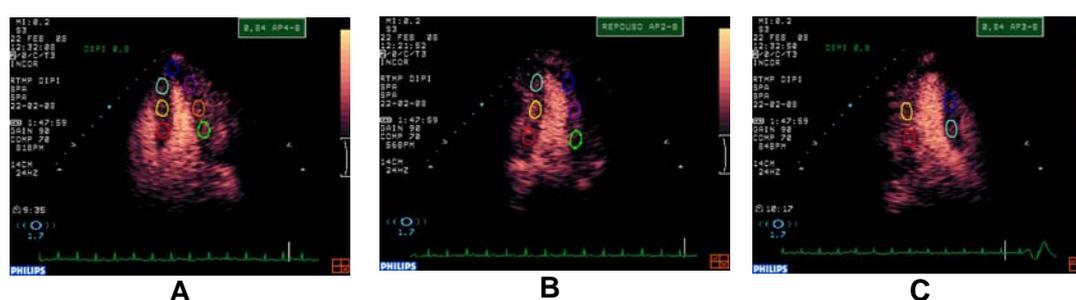


Figura 6 - Demonstração do método de posicionamento das amostras no miocárdio dos 17 segmentos estudados do ventrículo esquerdo: (A) disposição de sete regiões de interesse em corte apical quatro câmaras; (B) seis regiões de interesse no apical duas câmaras; e, (C) quatro regiões de interesse em apical três câmaras.

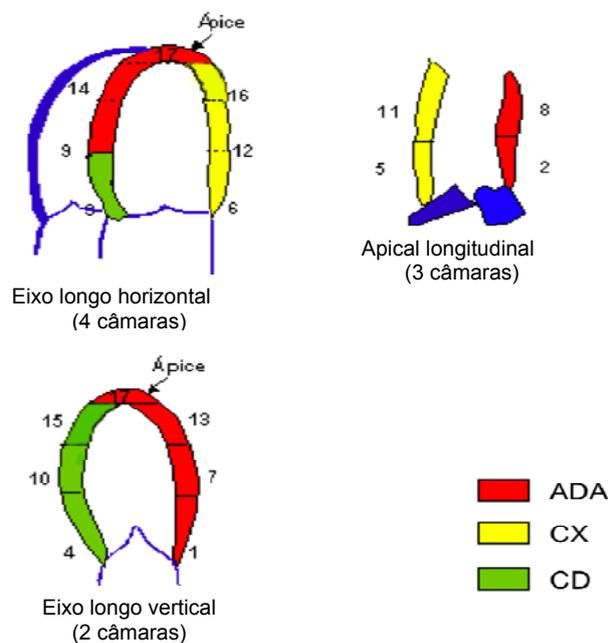


Figura 7 - Demonstração esquemática do miocárdio dos 17 segmentos estudados do ventrículo esquerdo. Disposição de sete regiões de interesse em corte apical quatro câmaras, seis regiões de interesse no corte apical três câmaras e quatro regiões de interesse em corte apical duas câmaras (ADA = artéria descendente anterior; CX = artéria circunflexa; CD = artéria coronária direita).

Foram construídas curvas de intensidade acústica em função exponencial, para análise de 10 ciclos cardíacos, em média, para cada seqüência de imagens, no mesmo indivíduo, nos momentos basal e pico do estudo em cada uma das fases (Fase 1), e após a otimização do tratamento (Fase 2), (Figura 8).



Figura 8 - Curva exponencial que mostra a quantificação da perfusão miocárdica com auxílio do *software* Q-Lab 6.0 no segmento médio do septo ventricular. Em vermelho, a curva de intensidade acústica da parede miocárdica. À direita da tela, nota-se os valores de A (3,62 dB) e β (0,84 s⁻¹).

3.5 Análise da anatomia coronariana por angiotomocoronariografia

A angiografia não invasiva foi realizada com auxílio do aparelho de tomografia computadorizada com múltiplas colunas de detectores (Aquilion® 64R - Toshiba, com 64 detectores). Foram obtidas até 160 imagens por segundo, e o sistema de resolução temporal máxima de 125-250ms e a espessura de corte de 0,5mm. As imagens foram analisadas em estação de trabalho da Toshiba (VITREA-2®).

Durante a realização da angiografia coronária não invasiva, o paciente recebeu de 60mL a 80mL de contraste iodado não-iônico (proporcional à massa corporal do paciente), injetados por via endovenosa a uma velocidade de $3,5-5,0\text{mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Segundo orientação do serviço de Tomografia, os pacientes suspenderam o uso de hipoglicemiantes (Glibenclamida, Clorpropamida e Insulina) no dia do exame. A Metformina e a Glicazida foram suspensos 48h antes e 48h após a realização do exame. Foi utilizado beta bloqueador quando a frequência cardíaca era maior que 65bpm.

3.5.1 Quantificação das placas coronárias

Utilizamos um *software* (Sure Plaque[®] - Toshiba) para a aferição da densidade radiológica dos diferentes componentes da placa. Foram consideradas placas calcificadas aquelas com densidade superior a 130HU. Esse método permite a avaliação da composição das placas ateroscleróticas.^(70,71)

Os pacientes que apresentaram calcificações coronárias ou lesões com obstrução acima de 50% da luz arterial, foram excluídos da análise final.⁽⁷²⁾

3.6 Análise estatística

Empregamos o *software* SPSS versão 15.0 (Chicago, IL) para realizar a análise estatística dos dados. A estatística descritiva (média e desvio-padrão) foi utilizada para a caracterização dos pacientes nos grupos. As variáveis contínuas dos grupos foram comparadas por meio do teste *t-student* ou ANOVA (dois ou três grupos respectivamente, para variáveis com distribuição normal) e do teste de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis (dois ou três grupos respectivamente, para variáveis com distribuição não considerada normal).

Utilizamos o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov ou o de Shapiro-Wilk, dependendo da quantidade de pessoas (N) em cada grupo. Para comparar as Fases 1 e 2 de cada variável quantitativa, para cada grupo, usamos o teste de Wilcoxon para medidas pareadas. As variáveis categóricas foram avaliadas por meio do teste Qui-quadrado. A exeqüibilidade da quantificação dos parâmetros de perfusão miocárdica foi calculada como a soma do total de segmentos da população do estudo divididos pelo número de segmentos adequadamente quantificados e foi descrita em percentual.

O nível de significância estatística adotado foi de 5%, ou seja, as quantidades eram consideradas significativamente diferentes para $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Casuística

Foram estudados 62 indivíduos: 42 pacientes diabéticos e 20 indivíduos saudáveis que compreendem o grupo controle. Dos pacientes diabéticos, três foram excluídos por se recusarem a repetir o ecocardiograma após o tratamento, três por apresentarem doença coronária obstrutiva significativa pela angiotomografia de coronárias, dois por apresentarem bradicardia importante durante o estresse pelo dipiridamol e quatro pacientes foram excluídos por não apresentarem imagens adequadas para a quantificação.

Dentre os 20 indivíduos do grupo controle que iniciaram o estudo, 6 foram excluídos por se recusarem a repetir o ecocardiograma após o tratamento, um por apresentar doença coronária obstrutiva significativa pela angiotomografia de coronária e dois por não apresentarem imagens adequadas para a quantificação (janela ecográfica inadequada).

A quantificação da reserva de fluxo coronário por EPMTR foi realizada, assim, em 30 pacientes diabéticos com tempo médio do diagnóstico da doença de $6,3 \pm 2,8$ anos e em 11 indivíduos saudáveis que constituíram o grupo controle. Sabemos que a análise da perfusão miocárdica por meio da ecocardiografia com contraste apresenta algumas limitações por presença de artefatos e por perda de resolução na parede lateral do ventrículo esquerdo. Consideramos que em nosso estudo isto não se constituiu em limitação significativa, pois a exequibilidade total da quantificação dos parâmetros de perfusão miocárdica por segmento foi de

82% (697/569).

Os dados clínicos de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Dados clínicos de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos.

Característica clínica	Grupo controle (N = 11)	Grupo diabetes (N = 30)	Valor de p
Idade (anos)	51,3 ± 9,3	55,0 ± 8,2	0,220
Sexo masculino (N%)	5 (45,5%)	10 (33,3%)	0,475
Peso (kg)	72,4 ± 10,6	75,2 ± 15,4	0,539
Altura (m)	165,9 ± 9,6	161,4 ± 10,5	0,216
IMC (kg/m ²)	26,0 ± 3,4	28,7 ± 4,3	0,062
PAS (mmHg)	122,7 ± 11	121,8 ± 23,2	0,591
PAD (mmHg)	76,4 ± 5,0	80,3 ± 6,1	0,116

As variáveis categóricas estão descritas como frequências absolutas (n) e relativas (%) e as variáveis contínuas como média e desvio padrão. N = quantidade de indivíduos por grupo; p = significância; IMC = índice de massa corpórea; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica

Ao analisar a Tabela 2, pode-se notar que a população estudada é homogênea e não existe diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos quanto às características clínicas. A Tabela 3 ilustra os parâmetros ecográficos e os mesmos também não apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 3 - Parâmetros ecocardiográficos de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos.

Parâmetros ecocardiográficos	Grupo controle	Grupo diabetes	Valor de p
	(N = 11)	(N = 30)	
Aorta (mm)	32,18 ± 2,60	31,77 ± 3,54	0,632
Átrio esquerdo (mm)	34,91 ± 2,42	34,30 ± 2,53	0,532
Septo (mm)	9,36 ± 0,67	9,40 ± 0,89	0,375
Parede posterior (mm)	8,63 ± 0,92	8,83 ± 0,87	0,653
DDVE (mm)	47,90 ± 2,38	48,90 ± 2,55	0,828
DSVE (mm)	31,36 ± 1,85	32,10 ± 1,92	0,873
Fração de ejeção (%)	0,68 ± 0,05	0,69 ± 0,04	0,571

As variáveis contínuas estão descritas como média e desvio padrão. N = quantidade de indivíduos por grupo; p = significância; NS = não significativo; DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; Valores do ecocardiograma em milímetros. Fração de ejeção avaliada pelo método de Simpson.

Os valores do perfil glicêmico e lipídico de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos estão relacionados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores do perfil glicêmico e lipídico de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos.

Características Laboratoriais	Grupo controle		Grupo diabetes	
	(N = 11)		(N = 30)	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Perfil Glicêmico				
Glicemia (mg/dL)	87 ± 10	88 ± 9	163 ± 62	188 ± 83
HBA1C	5,68±0,37*	5,73±0,36*	9,03±2,10**	8,45±1,91**
Perfil Lipídico				
CT (mg.dL ⁻¹)	182 ± 18	185 ± 43	186 ± 11	193 ± 41
HDL-C (mg.dL ⁻¹)	48 ± 20	49 ± 19	51 ± 13	46 ± 9
LDL-C (mg.dL ⁻¹)	118 ± 32	122 ± 36	115 ± 21	119 ± 24
TGC (mg.dL ⁻¹)	125 ± 27	124 ± 52	149 ± 69	145 ± 73

Valores expressos em média e DP (desvio padrão). N = quantidade de indivíduos por grupo; CT = colesterol total sérico; HDL-C = colesterol de lipoproteínas de alta densidade; LDL-C = colesterol de lipoproteínas de baixa densidade; TGC = triglicérides; * p = 0,623; ** p = 0,034.

4.2 Níveis glicêmicos durante a ecocardiografia sob estresse

Os níveis glicêmicos foram avaliados antes da realização do Ecocardiograma sob estresse induzido por dipiridamol com a finalidade de avaliar se o método é capaz de alterar a glicemia de forma significativa. Utilizamos o aparelho de glicemia capilar Glucômetro Advantage[®], Model N^o 589, Boeringer-Manheim.Lab. Roche. Indianapolis/USA, imediatamente antes e após o exame.

No grupo diabetes a média de glicemia pré-exame, na Fase 1, foi de 158 ± 59 mg/dL *versus* glicemia pós-exame de 159 ± 61 mg/dL e $p = 0,574$. Na Fase 2 a média de glicemia pré-exame foi de 161 ± 72 mg/dL *versus* a média de glicemia pós-exame de 157 ± 75 mg/dL e $p = 0,082$.

No grupo controle na Fase 1, a média de glicemia pré-exame na Fase 1 foi de 87 ± 13 mg/dL *versus* glicemia pós exame de 89 ± 17 mg/dL com $p = 0,250$. Na Fase 2 a média de glicemia pré-exame foi de 90 ± 11 mg/dL *versus* glicemia pós-exame de 89 ± 15 mg/dL com $p = 0,701$.

Na análise do perfil glicêmico de ambos os grupos apresentados na Tabela 4, nota-se que o grupo diabéticos apresentava em média, níveis glicêmicos e de hemoglobina glicosilada maiores que o grupo controle. A glicemia de jejum inicial do grupo diabetes da Fase 1 para Fase 2 não apresentou redução significativa com o tratamento, entretanto na comparação evolutiva os níveis de hemoglobina glicosilada reduziram significativamente ($p = 0,034$) com a otimização do tratamento. O grupo controle não apresentou alteração estatisticamente significativa no perfil

glicêmico entre as fases.

Quanto ao perfil lipídico não houve diferença significativa entre os grupos e nem entre as fases. As características dos fatores de risco de todos os pacientes estão relacionadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Principais fatores de risco para coronariopatia dos indivíduos saudáveis e dos pacientes diabéticos.

Fatores de risco para DAC	Grupo controle (N = 11)	Grupo diabetes (N = 30)
Tabagismo	0	5 (17%)
Hipercolesterolemia	0	18 (60%)
HAS	0	20 (67%)
História familiar	0	4 (13%)

Valores expressos em número (%) de pacientes. N = quantidade de indivíduos por grupo; HAS = Hipertensão arterial sistêmica; DAC = doença arterial coronária.

4.3 Eletrocardiografia

Após analisar a população total do estudo (41 pacientes), o traçado eletrocardiográfico basal se mostrou normal em 76% dos exames, 22% do total com alterações difusas da repolarização e 2% com sobrecarga ventricular esquerda. A análise do pico do estresse da Fase 1 demonstrou ausência de sinais de isquemia miocárdica em 100% dos traçados. Na Fase 2 do estudo somente um paciente mostrou critérios de positividade para isquemia miocárdica.

Como alterações eletrocardiográficas adicionais no pico do estresse da Fase 1 do estudo, um paciente apresentou bloqueio atrioventricular de primeiro grau e quatro pacientes (10%) apresentaram arritmia ventricular benigna (Extrassistolia isolada). Na Fase 2 também um paciente apresentou bloqueio atrioventricular de primeiro grau e quatro pacientes (10%) apresentaram arritmia ventricular benigna.

4.4 Angiotomografia de coronárias

A angiotomografia de coronárias mostrou algum grau obstrução coronária em 16 pacientes diabéticos e em um indivíduo do grupo controle. Dentre os pacientes diabéticos, apenas três apresentavam estreitamento luminal considerado importante no exame de angiotomografia e foram excluídos da casuística. Destes, dois apresentaram imagens de hipoperfusão miocárdica à EPMTR. Um destes apresentou também área de hipocontratilidade em parede anterior, compatível com território detectado por angiotomografia (artéria interventricular anterior).

4.5 Análise quantitativa do fluxo sanguíneo miocárdico

Os parâmetros A , β e $Ax\beta$ foram quantificados no estado de repouso e durante o estresse induzido por dipiridamol a fim de determinar a reserva

de volume sanguíneo relativo (reserva A_N), reserva de velocidade de fluxo (reserva β) e a reserva de fluxo sanguíneo miocárdico relativo (reserva $A_N \times \beta$). Os parâmetros de reserva A_N , obtidas por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse por dipiridamol, nos pacientes diabéticos e controle, nas Fases 1 e 2 estão relacionados na Tabela 6.

Tabela 6 - Parâmetros de Reserva A_N obtidas por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol, nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1 e 2

Variável	Grupo controle (N = 11) (111 segmentos)	Grupo diabetes (N = 30) (387 segmentos)
Fase 1		
Reserva A_N (dB)	1,23 ± 0,35	1,17 ± 0,27
Fase 2		
Reserva A_N (dB)	1,18 ± 0,33	1,12 ± 0,30

Valores expressos como média e desvio padrão (valores mínimos e máximos). N = quantidade de indivíduos por grupo; Reserva A_N = reserva de volume sanguíneo relativo com análise por segmento miocárdico; dB = decibel

No Gráfico 1 estão representados os parâmetros de Reserva A_N obtidos por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse pelo dipiridamol, nos pacientes diabéticos e controle, nas Fases 1 e 2.

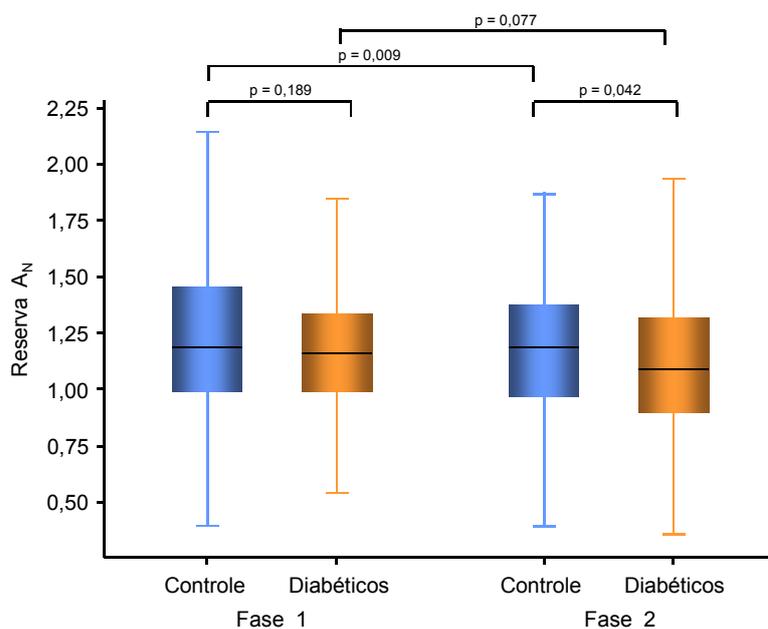


Gráfico 1 – Representação dos parâmetros de Reserva A_N obtidos por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol, nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1 e 2

Os dados foram considerados homogêneos no teste de homogeneidade. Ao analisar o Gráfico 1, observa-se que os parâmetros da reserva A_N foi similar nos grupos diabetes e controle na Fase 1 (teste de Mann-Whitney com $p = 0,189$) e com diferença após o tratamento otimizado na Fase 2 (teste de Mann-Whitney com $p = 0,042$). Na análise entre as fases encontramos diferença estatística no grupo controle com $p = 0,009$ e não houve diferença para o grupo diabetes com $p = 0,077$.

Os parâmetros de Reserva β obtidos por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol, nos pacientes diabéticos e no grupo controle, nas Fases 1 e 2, estão listados na Tabela 7.

Tabela 7 - Parâmetros de Reserva β de indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos.

Variável	Grupo controle (N = 11) (163 segmentos)	Grupo diabetes (N = 30) (338 segmentos)
Fase 1		
Reserva β (1/s)	2,33 \pm 1,75	1,51 \pm 0,91
Fase 2		
Reserva β (1/s)	2,20 \pm 1,53	1,41 \pm 0,85

Valores expressos como média e desvio padrão (valores mínimo e máximo). N = quantidade de indivíduos por grupo; Reserva β = reserva de velocidade de fluxo com análise por segmento miocárdico; s = segundos. $p < 0,001$ entre os grupos diabetes e controle.

Os parâmetros de Reserva β obtidos por ecocardiografia de perfusão sob estresse com dipiridamol, nos pacientes diabéticos e controle, nas Fases 1 e 2 são ilustrados no Gráfico 2.

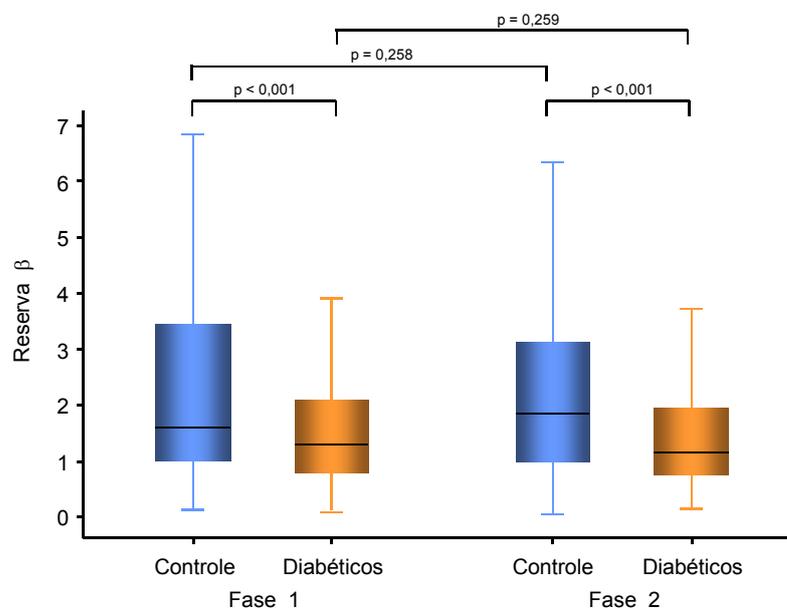


Gráfico 2 – Parâmetros de Reserva β obtidos por ecocardiografia de perfusão sob estresse, nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1 e 2

Os dados foram considerados homogêneos no teste de homogeneidade. Portanto, comparando os dois grupos nos dois momentos (Fase 1 e Fase 2) por meio do teste de Mann-Whitney, encontramos diferenças significativas na média de β entre os grupos ($p < 0,001$), ou seja, o grupo Diabéticos possui β significativamente menor que o grupo controle. Na análise entre as fases não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controle ($p = 0,258$) e nem para o grupo diabetes ($p = 0,259$).

Os parâmetros de Reserva $A_{N \times \beta}$ obtidos por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol, nos pacientes diabéticos e indivíduos do grupo controle, nas Fases 1 e 2 estão na Tabela 8.

Tabela 8 - Parâmetros de Reserva $A_{N \times \beta}$ nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos.

Variável	Grupo controle (N = 11) (113 segmentos)	Grupo diabetes (N = 30) (295 segmentos)
Fase 1		
Reserva $A_{N \times \beta}$ (dB/s)	2,61 ± 1,66	1,91 ± 1,22
Fase 2		
Reserva $A_{N \times \beta}$ (dB/s)	2,69 ± 1,57	1,56 ± 0,97

Valores expressos como média e desvio padrão (valores mínimo e máximo). N = quantidade de indivíduos por grupo; Reserva $A_{N \times \beta}$ = reserva de fluxo sanguíneo miocárdico com análise por segmento miocárdico; dB/s = decibel por segundo. $P < 0,001$ entre os grupos diabetes e controle.

Os parâmetros de Reserva $A_{N\alpha}\beta$ obtidos por ecocardiografia de perfusão sob estresse induzido por dipiridamol, nos pacientes diabéticos e indivíduos do grupo controle, nas Fases 1 e 2, são ilustrados no Gráfico 3.

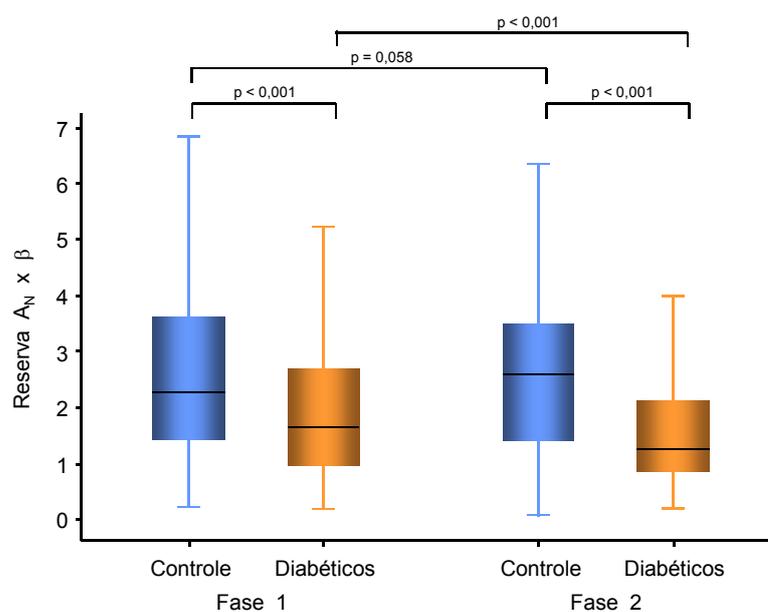


Gráfico 3 – Parâmetros de Reserva $A_{N\alpha}\beta$ obtidos por ecocardiografia de perfusão nos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos, nas Fases 1 e 2.

Os dados foram considerados homogêneos no teste de homogeneidade. Portanto, comparando os dois grupos nas Fases 1 e 2 de acordo com o teste de Mann-Whitney, encontramos diferenças significativas na média de $A_{N\alpha}\beta$ entre os grupos ($p < 0,001$), ou seja, os diabéticos possuem $A_{N\alpha}\beta$ significativamente menor que os indivíduos do grupo controle. No grupo diabetes observamos uma piora na reserva $A_{N\alpha}\beta$ da Fase 1 para a Fase 2 ($p = 0,001$). Esse fato pode ser explicado pela contaminação de três

pacientes que realmente pioraram muito a hemoglobina glicosilada. No grupo controle não houve diferença da Fase 1 para a Fase 2 ($p = 0,058$).

4.6 Análise dos pacientes diabéticos que atingiram a meta de redução de HbA_{1C} > 1% (valor absoluto).

Em outra análise dos pacientes diabéticos, encontramos 10 pacientes que evoluíram com melhora da hemoglobina glicosilada (HbA_{1C}) > 1% (valor absoluto) da Fase 1 para a Fase 2 e 20 evoluíram sem melhora. A Tabela 9 mostra os dados clínicos desses pacientes. O valor da hemoglobina glicosilada no grupo que atingiu a meta de melhora em pelo menos 1% foi de $10,42 \pm 2,03^*$ na Fase 1 e de $8,73 \pm 1,77$ ($*p = 0,001$) na Fase 2.

O valor da hemoglobina glicosilada no grupo que não atingiu a meta de melhora em pelo menos 1% foi de $8,3 \pm 1,79$ na Fase 1 e de $8,39 \pm 2,02$ na Fase 2 com $p = 0,775$.

Tabela 9 - Dados clínicos dos indivíduos saudáveis e pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada.

Característica Clínica	Grupo controle (N=11)	Grupo diabetes¹ (N=10)	Grupo diabetes² (N = 20)	Valor de p
Idade (anos)	51,3 ± 9,3	58,3 ± 7,0	53,3 ± 8,4	0,152
Sexo masculino (%)	5 (45,5%)	4 (40%)	9 (45%)	0,699
Massa (kg)	72,4 ± 10,6	75,2 ± 13,0	75,7 ± 16,4	0,695
Altura (m)	165,9 ± 9,6	161,9 ± 8,8	160,6 ± 11,4	0,457
IMC kg/m ²)	26,0 ± 3,4	28,6 ± 3,8	29,2 ± 4,2	0,096
PAS (mmHg)	123 ± 11,0	138 ± 9,2	129 ± 13,7	0,022
PAD (mmHg)	76 ± 5,0	84 ± 5,1	82 ± 6,1	0,030

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; As variáveis categóricas estão descritas como frequências absolutas (n) e relativas (%) e as variáveis contínuas como média e desvio padrão. N = quantidade de indivíduos por grupo; p = significância; IMC = índice de massa corpórea

Os parâmetros ecográficos dos pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada estão demonstrados na Tabela 10.

Tabela 10 - Parâmetros ecocardiográficos de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada.

Característica Clínica	Grupo Controle (N=11)	Grupo diabetes¹ (N=10)	Grupo diabetes² (N=20)	Valor de p
Aorta (mm)	32,2 ± 2,6	31,6 ± 3,5	32,1 ± 3,3	0,861
Átrio esquerdo (mm)	34,9 ± 2,4	33,2 ± 1,9	35,2 ± 2,3	0,303
Septo (mm)	9,36 ± 0,67	9,4 ± 0,69	9,4 ± 0,99	0,628
Parede posterior (mm)	8,63 ± 0,92	8,9 ± 0,74	8,8 ± 0,95	0,872
DDVE (mm)	47,90 ± 2,38	47,6 ± 2,1	47,5 ± 2,79	0,987
DSVE (mm)	31,36 ± 1,85	31,5 ± 1,84	30,1 ± 1,98	0,705
FEVE (Simpson)	0,68 ± 0,07	0,66 ± 0,04	69% ± 0,04	0,116

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; As variáveis contínuas estão expressas como média e desvio padrão. DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; N = quantidade de indivíduos por grupo; p = significância; DSVE = diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo por meio do Método Simpson.

Os dados do perfil glicêmico e lipídico dos pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada estão descritos na Tabela 11. Na análise do perfil glicêmico dos grupos ilustrados nessa tabela, nota-se que tanto o grupo 1 de diabetes (grupo com melhora da hemoglobina glicosilada) quanto o grupo 2 (grupo sem melhora da hemoglobina glicosilada) apresentava em média, níveis glicêmicos e de hemoglobina glicosilada maiores que o grupo controle. A glicemia de jejum inicial do grupo 1 e 2 de diabetes da Fase 1 para Fase 2 não apresentaram melhora.

Quanto ao perfil lipídico não houve diferença significativa entre os grupos e nem entre as fases.

Tabela 11- Parâmetros do perfil glicêmico e lipídico de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada.

Características Laboratoriais	Grupo controle (N= 11)		Grupo diabetes ¹ (N=10)		Grupo diabetes ² (N=20)	
	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2	Fase 1	Fase 2
Perfil glicêmico						
Glicemia	87 ± 10	88 ± 9	190 ± 68	205 ± 89	155 ± 58	179 ± 81
HB glicosilada	5,68±0,37	5,73±0,36	10,42±2,03	8,73±1,77	8,33±1,79	8,31±2,04
Valor de p	0,623		0,001		0,775	
Perfil lipídico (mg/L)						
CT	182 ± 18	185 ± 43	182 ± 32	179 ± 36	202 ± 29	200 ± 42
HDL-C	48 ± 20	49 ± 19	51 ± 13	45 ± 8	51 ± 14	47 ± 9
LDL-C	118 ± 32	122 ± 36	106 ± 29	112 ± 33	119 ± 26	122 ± 33
TGC	125 ± 27	124 ± 52	124 ± 64	112 ± 50	159 ± 69	161 ± 76

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; Valores expressos em média e desvio padrão. N = quantidade de indivíduos por grupo; HB = hemoglobina; p = significância; CT = colesterol total sérico; HDL-C = colesterol de lipoproteínas de alta densidade; LDL-C = colesterol de lipoproteínas de baixa densidade; TGC = triglicérides.

Os parâmetros clínicos dos pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da Hemoglobina Glicosilada estão descritos na Tabela 12. Observe-se que os dois grupos são homogêneos e que não existe diferença estatisticamente significativa.

Tabela 12 - Parâmetros clínicos dos pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada.

Fatores de Risco	Grupo diabetes ¹	Grupo diabetes ²
	(N=10)	(N=20)
Tabagismo	2 (20%)	3 (15%)
Hipercolesterolemia	6 (60%)	12 (60%)
HAS	7 (70%)	13 (65%)
História familiar para DAC	1 (10%)	3 (15%)

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; Valores expressos em quantidade de indivíduos por grupo (N) e porcentagem (%); HAS = Hipertensão arterial sistêmica; DAC = doença arterial coronária.

Parâmetros de Reserva A obtidas por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol dos pacientes do grupo controle e de diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada estão listados na Tabela 13 e Gráfico 4.

Tabela 13 - Parâmetros de Reserva A dos pacientes do grupo controle e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada.

Variável	Grupo Controle (N=11) (123 seg)	Grupo diabetes ¹ (N=10) (150 seg)	Grupo diabetes ² (N=20) (259 seg)	Valor de p
Fase 1				
Reserva A _N (dB)	1,23 ± 0,35	1,17 ± 0,20	1,20 ± 0,33	0,63
Fase 2				
Reserva A _N (dB)	1,18 ± 0,33	1,16 ± 0,33	1,11 ± 0,29	0,06

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; Valores expressos como média e desvio padrão (valores mínimos e máximos). N = quantidade de indivíduos por grupo; seg = segmentos; p = significância; Reserva A = reserva de volume sanguíneo com análise por segmento miocárdico, dB = decibel.

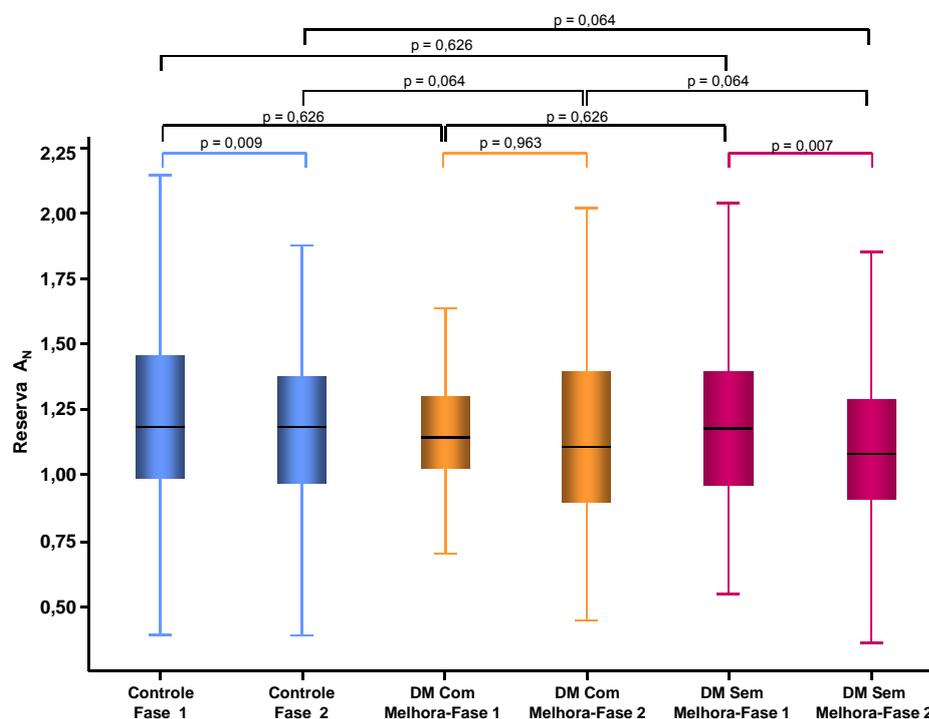


Gráfico 4 - Parâmetros de Reserva A_N de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada acima de 1% (valor absoluto).

A comparação entre os grupos na Fase 1 não mostrou diferenças significativas entre os grupos de diabéticos com melhora, diabéticos sem melhora e o grupo controle na Fase 1 (teste de Kruskal-Wallis, $p = 0,626$). Ao comparar todos esses grupos na Fase 2 não encontramos diferenças significativas na Fase 1 (teste de Kruskal-Wallis, $p = 0,064$)

Na comparação entre as fases para o grupo de diabéticos que atingiram a meta não encontramos diferenças significativas entre a Fase 1 e a Fase 2 (teste de Wilcoxon, $p = 0,963$). Na comparação entre as fases para o grupo de diabéticos que não atingiram a meta de redução da hemoglobina

glicosilada encontramos diferenças significativas entre as Fases 1 e 2 (teste de Wilcoxon, $p = 0,007$).

Os parâmetros de Reserva β obtidos por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol nos pacientes do grupo controle e diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada estão descritos na Tabela 14 e Gráfico 5.

Tabela 14 - Parâmetros de Reserva β de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada.

Variável	Grupo controle (N = 11) (163 seg)	Grupo diabetes¹ (N = 10) (103 seg)	Grupo diabetes² (N = 20) (240 seg)	Valor de p
Fase 1				
Reserva β (s^{-1})	2,33 \pm 1,75	1,16 \pm 0,59	1,72 \pm 1,08	0,001
Fase 2				
Reserva β (s^{-1})	2,20 \pm 1,53	1,84 \pm 1,11	1,28 \pm 0,76	0,001
Valor de p	0,258	< 0,001	< 0,001	

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; Valores expressos como média e desvio padrão (valores mínimos e máximos). N = quantidade de indivíduos por grupo; seg = segmentos; p = significância; Reserva β = reserva de velocidade de fluxo com análise por segmento miocárdico; s = segundo.

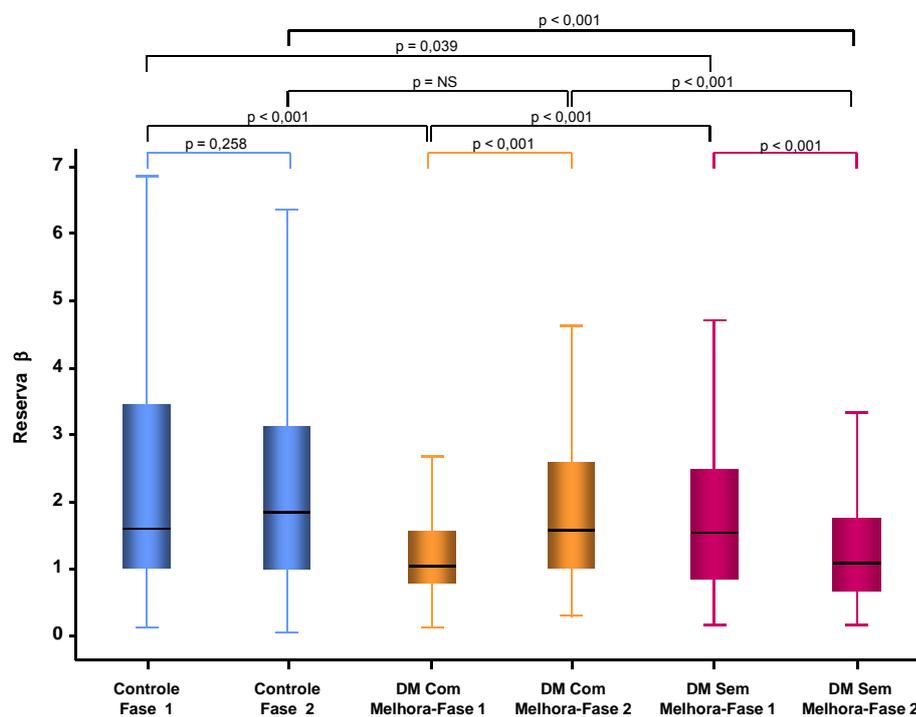


Gráfico 5 – Parâmetros de Reserva β dos indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada.

Ao compararmos os grupos na Fase 1, encontramos diferenças significativas entre os grupos de diabéticos com melhora, diabéticos sem melhora e o grupo controle (teste de Kruskal-Wallis, $p = 0,039$). A diferença ocorreu entre diabéticos sem melhora e diabéticos com melhora ($p = 0,001$).

Comparando os grupos na Fase 2, encontramos diferenças significativas entre os grupos de diabéticos que melhoraram, diabéticos que não melhoraram e o grupo controle (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). A diferença ocorreu entre diabéticos com melhora e diabéticos sem melhora ($p = 0,001$).

Comparando as fases para o grupo controle, não encontramos diferenças significativas entre a Fase 1 e a Fase 2 no grupo controle (teste de Wilcoxon, $p = 0,258$).

Quando comparamos as fases para o grupo de diabéticos sem melhora, encontramos piora significativa entre a Fase 1 e a Fase 2 (teste de Wilcoxon, $p < 0,001$). Comparando as fases para o grupo diabéticos com melhora, encontramos melhora significativa entre a Fase 1 e a Fase 2 (teste de Wilcoxon, $p < 0,001$).

Os parâmetros de Reserva $A_{Nx}\beta$, obtidas por ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real, sob estresse induzido por dipiridamol dos pacientes do grupo controle e diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada estão relacionados na Tabela 15 e Gráfico 6.

Tabela 15 - Parâmetros de Reserva $A_{Nx}\beta$ de indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que atingiram ou não a meta da hemoglobina glicosilada.

Variável (dB/s)	Grupo controle (N=11) (113 seg)	Grupo diabetes ¹ (N=10) (96 seg)	Grupo diabetes ² (N=20) (200 seg)	Valor de p
Fase 1				
Reserva $A_{Nx}\beta$	2,61 ± 1,66	1,53 ± 0,83	2,08 ± 1,33	< 0,001
Fase 2				
Reserva $A_{Nx}\beta$	2,69 ± 1,57	1,70 ± 1,01	1,43 ± 0,87	< 0,001
Valor de p	0,058	0,535	< 0,001	

¹ com melhora da hemoglobina glicosilada; ² sem melhora da hemoglobina glicosilada; N = quantidade de indivíduos por grupo; seg = segmentos; p = significância; Valores expressos como média e desvio padrão (valores mínimos e máximos); Reserva β = reserva de fluxo sanguíneo miocárdico com análise por segmento miocárdico. dB = decibel; s = segundo.

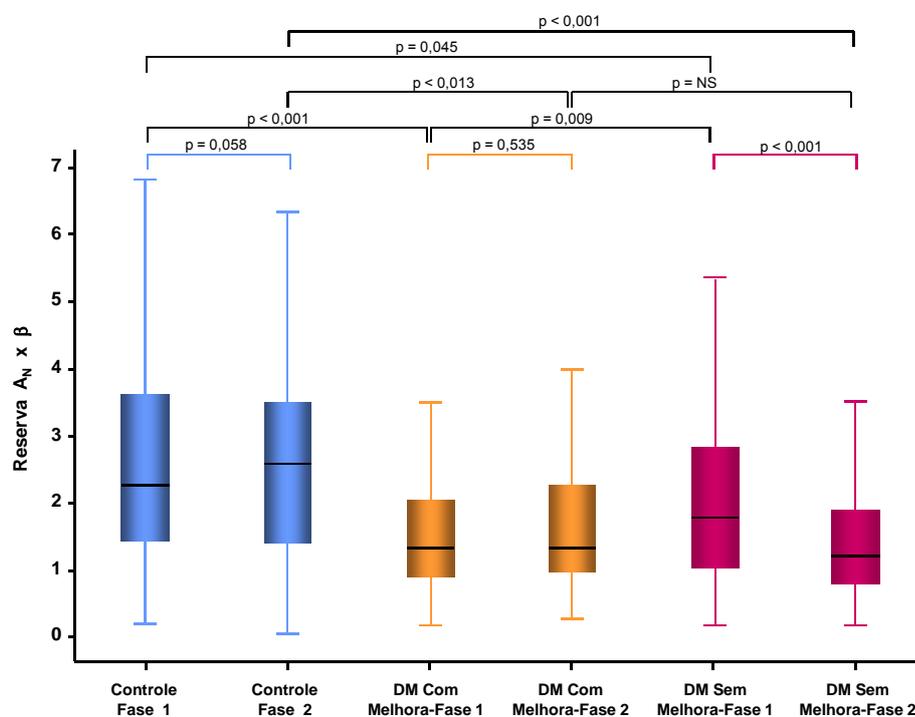


Gráfico 6 – Parâmetros de Reserva $A_N \times \beta$ dos indivíduos saudáveis e de pacientes diabéticos que evoluíram com e sem melhora da hemoglobina glicosilada em pelo menos 1% (valor absoluto).

Comparando os grupos na Fase 1 encontramos diferenças significativas entre os grupos diabéticos com melhora, diabéticos sem melhora e o grupo controle (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). A diferença ocorreu entre o grupo dos diabéticos que não melhoraram e o grupo controle ($p = 0,045$), entre o grupo dos diabéticos que melhoraram e o grupo controle ($p < 0,001$), e entre o grupo dos diabéticos que melhoraram e o grupo dos diabéticos que não melhoraram ($p = 0,009$).

Ao compararmos todos os grupos na Fase 2 encontramos diferenças significativas entre os grupos de diabéticos com melhora, diabéticos sem

melhora e o grupo controle (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). A diferença ocorreu entre o grupo dos diabéticos sem melhora e o grupo controle ($p < 0,001$), e entre o grupo dos diabéticos com melhora e o grupo controle ($p = 0,013$). Ao compararmos o grupo controle não encontramos diferenças significativas entre a Fase 1 e a Fase 2 (teste de Wilcoxon, $p = 0,058$). Analisando o grupo de diabetes com melhora da hemoglobina glicosilada não houve diferença estatisticamente significativa da Fase 1 para a Fase 2. Já o grupo dos diabéticos que não atingiram a meta de hemoglobina glicosilada, encontramos uma piora na reserva coronária com diferenças significativas entre a Fase 1 e a Fase 2 (teste de Wilcoxon, $p < 0,001$).

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O diabetes melito tipo 2 apresenta uma alta prevalência na população, e tende a se manter nos próximos anos^(73,74). Estimativas demonstram que há mais de duzentos milhões de pessoas diabéticas em todo mundo, e em 30 anos este contingente chegará a 360 milhões⁽⁷⁵⁾.

A hiperglicemia induz um grande numero de alterações vasculares que potencialmente promovem aterosclerose acelerada. Evidências epidemiológicas mostraram que os pacientes envolvidos no *UK Prospective Diabetes Study* (UKPDS) tiveram risco de doenças cardiovasculares aumentado de forma linear com o aumento da glicemia.⁽⁷⁶⁾ Assim, a exposição prolongada da hiperglicemia é reconhecida como fator causal primário na patogenia das complicações do diabetes.^(77,78) Vários mecanismos tem emergido como principais envolvidos nas alterações patológicas encontradas na vasculatura animal e humana de diabéticos: glicosilação não enzimática de proteínas e lípidos⁽⁷⁷⁾, ativação de proteinoquinases C (PKC)⁽⁷⁸⁾, aumento do estresse oxidativo⁽⁷⁹⁾ e inflamação⁽⁸⁰⁾. Buscando correlacionar o impacto da hiperglicemia, stress oxidativo, ativação de COX-2, integridade simpática cardíaca e disfunção ventricular esquerda, Kellogg et al.⁽⁸¹⁾ realizaram um estudo experimental com ratos, onde realizou Ecocardiografia e medidas do stress oxidativo miocárdico. Puderam concluir ao final do estudo que os resultados sugerem que a inativação seletiva da COX-2 conferia proteção contra disfunção

ventricular esquerda e perda simpática, reduzindo o estresse oxidativo, inflamação e fibrose miocárdica.

As complicações cardiovasculares estão com frequência presentes já no diagnóstico do diabetes melito tipo 2 e tem impacto substancial na sobrevida e qualidade de vida, particularmente como resultado da associação de doenças cardiovasculares, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade nos pacientes diabéticos.⁽⁸²⁾ Estima-se que 80% morrem de doenças cardiovasculares sendo 75% deles atribuídos a doença arterial coronária (DAC).⁽⁸³⁾ Como o risco das complicações da doença arterial coronária podem ser modificadas por intervenções apropriadas, a detecção precoce é de suma importância.

Em média, os métodos diagnósticos detectam uma alta prevalência da doença arterial coronária em diabéticos, de 55% comparados com 2 a 4% quando avaliamos pacientes não diabéticos.⁽⁸⁵⁾ Adicionalmente, doença arterial coronária em assintomáticos foi observada em 10 a 20% dos diabéticos, ressaltando a necessidade de um diagnóstico precoce por meio de exames de alta precisão.⁽⁸³⁻⁸⁸⁾

A Ecocardiografia sob estresse é um exame não invasivo que detecta anormalidades de contração segmentar induzidas pela isquemia. Já a Ecocardiografia com contraste miocárdico (ECM) é uma ferramenta para avaliação quantitativa da microcirculação coronária. A ECM utiliza microbolhas inertes, cheias de gás que permanecem inteiramente dentro do espaço vascular, e possuem uma cinética intravascular semelhante ao sangue.^(89,53) Wei et al.⁽⁵⁵⁾ avaliaram a capacidade da ECM para calcular as

reservas de fluxo coronário a partir de medições em seres humanos⁽⁹⁰⁾ usando angiografia coronária. Ecocardiografia com contraste miocárdico quantitativo e medida invasiva de fluxo coronariano (*Doppler flow wire*) foram realizados em repouso, e após estresse vasodilatador. Em indivíduos normais, a velocidade do fluxo sanguíneo miocárdico (β) e das reservas de fluxo sanguíneo miocárdico ($A \times \beta$) demonstraram uma relação linear com medidas invasivas da reserva do fluxo sanguíneo coronariano. Assim, a reserva de fluxo miocárdico parece ser uma medida viável não-invasiva da reserva coronária em seres humanos, o que pode permitir a avaliação não invasiva da DAC e da disfunção microvascular.

Recentes avanços nos aparelhos de ecocardiografia e nos agentes de contraste tem aumentado substancialmente o valor desta técnica na avaliação da isquemia miocárdica. A associação da imagem de perfusão miocárdica em tempo-real com pulsos de alta energia ultrassônica que destroem as microbolhas permitem a quantificação do platô de intensidade acústica (volume sanguíneo miocárdico relativo, A_N) e da velocidade de replechimento do miocárdio por microbolhas (β), e oferece a oportunidade singular para mensurar o fluxo sanguíneo miocárdico ($A_N \times \beta$) por intermédio da imagem através da EPMTR.

Em estudo prévio, ao analisar a exequibilidade da quantificação miocárdica por EPMTR, foi relatado que a maioria dos segmentos (74%) não analisáveis por este método eram segmentos basais, e resultaram em exequibilidade global de 81%, similar à por nos encontrada no presente estudo.⁽⁹¹⁾

Os resultados obtidos em relação aos valores das reservas β e $A_{NX}\beta$ demonstram que pacientes diabéticos descompensados sem DAC obstrutiva apresentam redução da reserva de velocidade de reenchimento microvascular (reserva β) e da reserva de fluxo miocárdico (reserva $A_{NX}\beta$) quando comparados com o grupo controle. No entanto, dentre estes parâmetros, um estudo prévio demonstrou que, por ser independente da baixa homogeneidade do feixe ultrassônico, o parâmetro β foi o melhor e mais confiável parâmetro para a avaliação quantitativa da perfusão.⁽⁹²⁾

Outro achado interessante em nosso estudo refere-se ao fato dos pacientes que atingiram a meta de redução dos níveis de hemoglobina glicosilada apresentarem melhora significativa da reserva de velocidade de reenchimento microvascular (reserva β) da Fase 1 para a Fase 2, enquanto os pacientes que não atingiram a meta de redução dos níveis de hemoglobina glicosilada não apresentarem modificações significativas da reserva de fluxo coronário. Isto indica um acometimento microvascular, mesmo antes do surgimento da coronariopatia obstrutiva, visto que todos os nossos pacientes não possuíam coronariopatia obstrutiva ou escore de cálcio elevado pela angiotomografia de artérias coronárias. Observações preliminares sugerem que a disfunção miocárdica precoce e microcirculatória, induzida por níveis elevados de glicose, é dinâmica e pode ser revertida por um melhor controle metabólico.^(93,94)

Esses achados concordam com estudos prévios que o controle glicêmico rigoroso pode retardar a disfunção microvascular e o processo de aterosclerose⁽⁹⁵⁾ associados ao diabetes. Como consequência, espera-se

que a instituição precoce de agentes de redução de glicose, já nas fases iniciais de intolerância à glicose ou do diabetes recém detectado,⁽⁹⁶⁾ possam diminuir o número de eventos coronarianos subsequentes.

Em nosso estudo, ao utilizar a EPMTR sob estresse provocado por dipiridamol, demonstrou-se que, nos indivíduos com diabetes melito descompensado, sem lesões coronárias epicárdicas obstrutivas, a reserva coronária está diminuída quando comparada com a reserva coronária dos indivíduos do grupo controle. Este é o primeiro estudo controlado a demonstrar o papel da EPMTR sob estresse induzido por dipiridamol como método não-invasivo de avaliação das alterações de microcirculação coronária em pacientes diabéticos com controle clínico inadequado sem DAC obstrutiva comprovada antes e após a otimização da terapêutica farmacológica. Em um estudo controlado, experimental em ratos,⁽⁹⁷⁾ utilizando streptozotocin para indução de diabetes avaliou-se a reserva de fluxo coronário através de ecocardiografia com contraste miocárdico inicialmente e após seis meses. Verificou-se que a reserva de fluxo coronário foi significativamente menor em ratos diabéticos comparado aos controles ($3,09 \pm 0,98$ x $1,28 \pm 0,67$; $p < 0,05$). Esses achados são concordantes com os resultados encontrados em nosso estudo.

Num estudo similar ao nosso, Jarnert et al.⁽⁹⁸⁾ não conseguiram confirmar a hipótese de que a melhora do controle glicêmico reverte as alterações da reserva de fluxo coronário avaliadas pela EPMTR. A população estudada foi randomizada em dois grupos para tratamento com insulina (21 pacientes) e hipoglicemiantes orais (18 pacientes). A média da

hemoglobina glicosilada no estudo para o grupo tratado com insulina foi de $6,0 \pm 0,8$ no início do estudo e $5,3 \pm 0,8$ no final, com variação de $-0,6 \pm 0,4$. Para o grupo tratado com hipoglicemiantes orais foi de $5,9 \pm 0,8$ no início e $5,1 \pm 0,9$ no final com variação de $-0,7 \pm 0,4$. Provavelmente, os achados deste estudo foram influenciados pela população incluída que apresentava níveis basais de hemoglobina glicosilada normais ou muito próximos do normal e adicionalmente não houve certeza de exclusão de indivíduos com coronariopatia obstrutiva. Nosso estudo foi prospectivo e controlado com níveis médios de hemoglobina glicosilada bem mais elevados $10,42 \pm 2,03$ no início e de $8,73 \pm 1,77$ ($p = 0,001$) no final do estudo, ou seja o nível de descompensação do controle clínico na população do nosso estudo foi bem maior. Outra limitação do estudo de Jarnet et al. é que incluía a falta de um grupo controle normal ou submetido a tratamento com placebo. Fato que consideramos no nosso estudo.

O racional para pesquisa da microcirculação coronária no diabetes é o mesmo da avaliação da microalbuminúria. A microalbuminúria é um marcador precoce de lesão glomerular e ocorre antes da proteinúria e da elevação da creatinina plasmática. Assim entendemos que, a avaliação da reserva de fluxo coronário microvascular nos pacientes sem lesão coronariana estabelecida poderá representar melhor os diferentes estágios de evolução da doença, assim como se correlacionar com outros sintomas, observados neste grupo de pacientes na ausência de obstruções coronarianas ou disfunção ventricular.

Estudos *in vitro* sugerem que as mudanças no substrato metabólico

miocárdico podem prejudicar a função miocárdica na cardiomiopatia diabética. A proposta de Van den Brom et al.⁽⁹⁹⁾ foi estudar em ratos, a cardiomiopatia diabética precoce, as mudanças do substrato metabólico miocárdico e suas associações com a função miocárdica. Utilizando PET e Ecocardiografia os autores encontraram aumento na oxidação dos ácidos graxos miocárdicos com concomitante diminuição da glicose miocárdica insulino-mediada e tardiamente associada a piora da função miocárdica. Estes resultados *in vivo* expandem os prévios achados *in vitro* que alterações precoces no substrato metabólico miocárdico contribuem para a disfunção miocárdica. Assim, a reserva de fluxo coronário microvascular reduzida nessa população, mesmo na ausência de obstruções em coronárias epicárdica pode estar relacionada à cardiomiopatia diabética precoce e a um número maior de eventos cardiovasculares.

A dificuldade no controle glicêmico encontrada em nosso estudo são compatíveis com relatos prévios, que mostram a dificuldade de controle glicêmico de populações de diabéticos em diversos países e do número elevado de eventos, dependendo dos valores séricos de hemoglobina glicada. O STENO-2 foi um estudo prospectivo que randomizou portadores de diabetes tipo 2 e microalbuminúria persistente para receber um tratamento intensivo versus convencional, visando avaliar o impacto dos níveis de hemoglobina glicosilada sobre a morbi-mortalidade.

Este estudo mostrou que o tratamento intensivo teve efeito positivo em promover redução de mortalidade e de ocorrência de eventos cardiovasculares em diabéticos tipo 2 portadores de microalbuminúria. Isto

representou 50% menos risco de eventos cardiovasculares, incluindo morte de causas cardiovasculares, infarto não fatal, acidente vascular cerebral não fatal, revascularização e amputação de membros inferiores. Outras complicações do diabetes também diminuíram como nefropatia, retinopatia e neuropatia autonômica. Essa redução de complicações manteve-se até 5,5 anos após o término da otimização do tratamento.⁽¹⁰⁰⁾

Conhecer as alterações da microcirculação que ocorrem com reduções da hemoglobina glicosilada em pacientes diabéticos, ainda que de pequena magnitude, pode ser de grande importância para entender a fisiopatologia da disfunção endotelial e da inflamação vascular e, como consequência, da morbi-mortalidade nesta população de alto risco.

Em nosso estudo, pudemos avaliar a reserva de fluxo coronário através da EPMTR em diabéticos sem lesão coronária obstrutiva. Criando uma analogia com o estudo STENO-2, podemos inferir que as alterações documentadas podem refletir uma lesão vascular endotelial indicativa de doença arterial coronária subclínica com potencial para impactar o prognóstico dos diabéticos com esse perfil clínico.

A EPMTR tem vantagens sobre a cintilografia radioisotópica em imagem de perfusão miocárdica. Em primeiro lugar, EPMTR oferece maior resolução espacial do que a cintilografia. Em segundo lugar, as microbolhas são marcadores puros de fluxo sanguíneo e ao contrário os radioisótopos não são extraídos do sangue miocárdico. Em terceiro lugar, permite a avaliação simultânea e em tempo real da perfusão miocárdica e da função, que não é possível durante a cintilografia radioisotópica. A EPMTR é um

exame que pode se tornar amplamente disponível, e no qual não se utiliza radiação ionizante, o que a torna uma substituta promissora para a tomografia por emissão de pósitrons para a avaliação não invasiva do fluxo miocárdico, atual padrão-ouro para tal finalidade.⁽⁵⁹⁾ Mostrou-se de grande importância para a avaliação da perfusão miocárdica, e é capaz de detectar pequenas alterações na regulação do fluxo miocárdico. Esse estudo consolida a base para novos estudos experimentais *in vivo* que possam ajudar a aumentar os conhecimentos sobre os mecanismos de regulação do fluxo coronário e também para estudos clínicos de prognóstico em pacientes assintomáticos com fatores de risco para DAC, que avaliem a implicação de alterações incipientes da perfusão miocárdica no desenvolvimento de eventos cardiovasculares.

Com a capacidade de se demonstrar aumento da vascularização microcirculatória por meio da EPMTR, a sua utilização pode ser expandida para o diagnóstico e estudo de outras doenças que apresentem alterações na microcirculação. Por fim, por se tratar de um exame não invasivo, a EPMTR pode ser adotada como uma modalidade de seguimento do paciente diabético sem aterosclerose coronária documentada. Em caso de redução na reserva de fluxo coronário, poderia se optar por uma abordagem terapêutica mais intensa com o objetivo de prevenir a progressão da alteração endotelial para placas ateroscleróticas, o que se traduziria em redução do risco cardiovascular no futuro.

5.1 Limitações

As limitações desse estudo incluíram um pequeno número de pacientes que atingiram a meta terapêutica desejada e tamanho limitado da amostra geral, contudo, houve poder estatístico suficiente para detectar pequenas diferenças nos desfechos.

Adicionalmente, cuidados foram tomados para que dentre as estratégias terapêuticas habituais, o clínico não mudasse a prescrição de fármacos que pudessem afetar diretamente a função endotelial. Também a atividade física, que poderia auxiliar no controle glicêmico, não foi permitida para que esse aspecto não representasse mais um viés.

A realização e interpretação do exame de Ecocardiografia com perfusão miocárdica em tempo real requer treinamento específico, o que pode limitar a validade externa do estudo. A análise quantitativa da perfusão miocárdica requer experiência na técnica e um tempo considerável para análise, fatores que podem, contudo, melhorar com o aperfeiçoamento e atualização dos *softwares* de quantificação, ou desenvolvimento de novos programas automatizados.

Mesmo com as limitações atuais, a EPMTR mostrou ser um exame de grande valor na análise da perfusão miocárdica, conforme já havia sido demonstrado previamente pelo nosso grupo em indivíduos com lesões coronárias obstrutivas.⁽¹⁰¹⁾

Vários fatores podem afetar a intensidade do contraste e os parâmetros derivados da EPMTR. Muitos cuidados foram tomados para não

alterarmos os parâmetros de imagem após a otimização inicial do exame. Vale ressaltar a dificuldade no controle dos níveis glicêmicos da população aqui estudada. Apesar dos pacientes terem sido acompanhados por uma equipe médica especializada em diabetes observamos que a otimização do tratamento resultou em redução discreta dos níveis de hemoglobina glicosilada.

6 CONCLUSÕES



6 CONCLUSÕES

- Pacientes com diabetes melito tipo 2, descompensados, apresentam reserva coronária reduzida em comparação com indivíduos saudáveis.
- O grupo de pacientes diabéticos que atingiram a meta de redução dos níveis de hemoglobina glicosilada após a otimização do tratamento, apresentou melhora da reserva de fluxo coronário (Reserva β).

7 REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS¹

1. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993;16:434-44.
2. Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;339:229-34.
3. Folsom AR, Rasmussen ML, Chambless LE, et al. Prospective associations of fasting insulin, body fat distribution, and diabetes with risk of ischemic stroke. *Diabetes Care*. 1999;22:1077–1083.
4. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97:1837–47.
5. Folsom AR, Szklo M, Stevens J, et al. A prospective study of coronary heart disease in relation to fasting insulin, glucose, and diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes Care*. 1997;20:935–42.

¹ De acordo com:

Adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

6. Panzram G. Mortality and survival in type 2 (on-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1987;30:123–31.
7. Oliveira SF, Wajchenberg BL. Endotélio e Diabetes. *Endotélio e doenças cardiovasculares*. 2003;20:269-79.
8. Leyden E. Asthma and diabetes mellitus. *Zeitschr Klin Med* 1881;3:358–64.
9. Mayer J. Ueber den zusammenhang des diabetes mellitus miterkrankungen des herzens. *Zeitschr Klin Med* 1888;14:212–39.
10. Taegtmeyer H, Passmore JM. Defective energy metabolism of the heart in diabetes. *Lancet* 1985;1:139–41.
11. Malerbi DA, Franco LJ. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. *Diabetes Care*. 1992;15(11):1509-16.
12. Torquato MTCG, Montenegro RM, Viana LA, et al. *Sao Paulo Med J*. 2003;121(6):224-30.
13. Iribarren C, Karter AJ, Go AS, et al. Glycemic control and heart failure among adult patients with diabetes. *Circulation*. 2001;103:2668–73.
14. Diverse Populations Collaborative Group. Prediction of mortality from coronary heart disease among diverse populations: is there a common predictive function? *Heart*. 2002;88:222–8.
15. Tsutsui JM, Elhendy A, Xie F, O'Leary E, McGrain AC, Porter TR. Safety of dobutamine stress real-time myocardial contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1235-42.

16. Elhendy A, O'leary EL, Xie F, McGrain AC, Anderson JR, Porter TR. Comparative accuracy of real-time myocardial contrast perfusion imaging and wall motion analysis during dobutamine stress echocardiography for the diagnosis of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:2185-91.
17. Tsutsui JM, Xie F, O'leary EL, Elhendy A, Anderson JR, McGrain AC, et al. Diagnostic accuracy and prognostic value of dobutamine stress myocardial contrast echocardiography in patients with suspected acute coronary syndromes. *Echocardiography.* 2005;22:487-95.
18. Picano E. Stress echocardiography. Institute of Clinical Physiology, Pisa, CNR, Italy. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2004;2(1):77-88.
19. Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiology.* 1968;3:356.
20. Meltzer RS, Tickner G, Schines TP, et al. The source of the ultrasound contrast effect. *J Clin Ultrasound.* 1980;8:121-7.
21. Rovai D, De Maria A, L'Abbate A. Myocardial contrast echo effect: the dilemma of coronary blood flow and volume. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26:12-7.
22. Feinstein et al. Safety and efficacy of a new transpulmonary ultrasound contrast agent: initial multicenter clinical results. *J Am Coll Cardiol.* 1990;16(2):316-24.

23. Porter et al. Visually discernible myocardial echocardiographic contrast after intravenous injection of sonicated dextrose albumin microbubbles containing high molecular weight, less soluble gases. *J Am Coll Cardiol.* 1995; 25(2):509-15.
24. Definity® Label. Disponível em: <http://www.fda.gov> - Acesso em: 08/10/2004.
25. Gould KL, Lipscomb K, Hamilton GW. Physiologic basis for assessing critical coronary stenosis. Instantaneous flow response and regional distribution during coronary hyperemia as measures of coronary flow reserve. *Am J Cardiol.* 1974;33(1):87-94.
26. Gould KL, Lipscomb K. Effects of coronary stenoses on coronary flow reserve and resistance. *Am J Cardiol.* 1974;34(1):48-55.
27. Wilson RF, Laughlin DE, Ackell PH, Chilian WM, Holida MD, Hartley CJ, et al. Transluminal, subselective measurement of coronary artery blood flow velocity and vasodilator reserve in man. *Circulation.* 1985;72(1):82-92.
28. Sellke FW, Armstrong ML, Harrison DG. Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation.* 1990;81(5):1586-93.
29. Larkin SW, Clarke JG, Keogh BE, Araujo L, Rhodes C, Davies GJ, et al. Intracoronary endothelin induces myocardial ischemia by small vessel constriction in the dog. *Am J Cardiol.* 1989;64(14):956-8.

30. Clarke JG, Davies GJ, Kerwin R, Hackett D, Larkin S, Dawbarn D, et al. Coronary artery infusion of neuropeptide Y in patients with angina pectoris. *Lancet*. 1987;1(8541):1057-9.
31. McFadden EP, Clarke JG, Davies GJ, Kaski JC, Haider AW, Maseri A. Effect of intracoronary serotonin on coronary vessels in patients with stable angina and patients with variant angina. *N Engl J Med*. 1991 7;324(10):648-54.
32. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlager H, Just H. Endothelial dysfunction of the coronary microvasculature is associated with coronary blood flow regulation in patients with early atherosclerosis. *Circulation*. 1991;84(5):1984-92.
33. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR. Impairment of coronary vascular reserve and ACh-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes*. 1993;42(7):1017-25.
34. Arora GD, Reeves WC, Movahed A. Alteration of coronary perfusion reserve in hypertensive patients with diabetes. *J Hum Hypertens*. 1994;8(1):51-7.
35. Galderisi M, Capaldo B, Sidiropulos M, D'Errico A, Ferrara L, Turco A, et al. Determinants of reduction of coronary flow reserve in patients with type 2 diabetes mellitus or arterial hypertension without angiographically determined epicardial coronary stenosis. *Am J Hypertens*. 2007;20(12):1283-90.

-
36. Kaufmann PA, Gneccchi-Rusccone T, Schafers KP, Luscher TF, Camici PG. Low density lipoprotein cholesterol and coronary microvascular dysfunction in hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(1):103-9.
 37. Pitkanen OP, Raitakari OT, Niinikoski H, Nuutila P, Iida H, Voipio-Pulkki LM, et al. Coronary flow reserve is impaired in young men with familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28(7):1705-11.
 38. Brilla CG, Janicki JS, Weber KT. Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension. Role of interstitial fibrosis and medial thickening of intramyocardial coronary arteries. *Circ Res.* 1991;69(1):107-15.
 39. Opherk D, Mall G, Zebe H, Schwarz F, Weihe E, Manthey J, et al. Reduction of coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with arterial hypertension and normal coronary arteries. *Circulation.* 1984;69(1):1-7.
 40. Hamasaki S, Al Suwaidi J, Higano ST, Miyauchi K, Holmes DR, Jr., Lerman A. Attenuated coronary flow reserve and vascular remodeling in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(6):1654-60.
 41. Cannon RO, Quyyumi AA, Schenke WH, Fananapazir L, Tucker EE, Gaughan AM, et al. Abnormal cardiac sensitivity in patients with chest pain and normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol.* 1990;16(6):1359-66.

42. Panting JR, Gatehouse PD, Yang GZ, Grothues F, Firmin DN, Collins P, et al. Abnormal subendocardial perfusion in cardiac syndrome X detected by cardiovascular magnetic resonance imaging. *N Engl J Med.* 2002;346(25):1948-53.
43. Chatzizisis YS, Coskun AU, Jonas M, Edelman ER, Feldman CL, Stone PH. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(25):2379-93.
44. Papaioannou TG, Karatzis EN, Vavuranakis M, Lekakis JP, Stefanadis C. Assessment of vascular wall shear stress and implications for atherosclerotic disease. *Int J Cardiol.* 2006;113(1):12-8.
45. Le DE, Bin JP, Coggins MP, Wei K, Lindner JR, Kaul S. Relation between myocardial oxygen consumption and myocardial blood volume: a study using myocardial contrast echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2002;15(9):857-63.
46. Hein TW, Belardinelli L, Kuo L. Adenosine A2A Receptors Mediate Coronary Microvascular Dilation to Adenosine: Role of Nitric Oxide and ATP-Sensitive Potassium Channels. *J Pharmacol Experim Therap.* 1999;291(2):655-64.
47. Miura H, Bosnjak JJ, Ning G, Saito T, Miura M, Gutterman DD. Role for hydrogen peroxide in flow-induced dilation of human coronary arterioles. *Circ Res.* 2003;92(2):e31-40.

-
48. Saitoh S, Zhang C, Tune JD, Potter B, Kiyooka T, Rogers PA, et al. Hydrogen peroxide: a feed-forward dilator that couples myocardial metabolism to coronary blood flow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(12):2614-21.
 49. Yuan Y, Mier RA, Chilian WM, Zawieja DC, Granger HJ. Interaction of neutrophils and endothelium in isolated coronary venules and arterioles. *Am J Physiol.* 1995Jan;268(1 Pt 2):H490-8.
 50. Yasu T, Greener Y, Jablonski E, Killam AL, Fukuda S, Suematsu M, et al. Activated leukocytes and endothelial cells enhance retention of ultrasound contrast microspheres containing perfluoropropane in inflamed venules. *Int J Cardiol.* 2005;98(2):245-52.
 51. Larkin SW, Clarke JG, Keogh BE, Araujo L, Rhodes C, Davies GJ, et al. Intracoronary endothelin induces myocardial ischemia by small vessel constriction in the dog. *Am J Cardiol.* 1989;64(14):956-8.
 52. Lindner JR, Song J, Jayaweera AR, et al. Microvascular rheology of Definity micro-bubbles after intra-arterial and intravenous administration. *J Am Soc Echocardiogr.* 2002;15:396-403.
 53. Keller MW, Segal SS, Kaul S, et al. The behavior of sonicated albumin microbubbles within the microcirculation: a basis for their use during myocardial contrast echocardiography. *Circ Res.* 1989;65:458-67.
 54. Jayaweera AR, Edwards N, Glasheen WP, et al. In vivo myocardial kinetics of air-filled albumin microbubbles during myocardial contrast echocardiography: comparison with radiolabeled red blood cells. *Circ Res.* 1994;74:1157-65

-
55. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, et al. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*. 1998;97(5):473-83.
 56. Henquell L, Honig CR. Intercapillary distances and capillary reserve in right and left ventricles: significance for control of tissue PO₂. *Microvasc Res*. 1976;12:35-41.
 57. Greenland P, Bonow NO, Brundage BH, et al. ACCF/AHA Clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography) developed in collaboration with the Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention and the Society of Cardiovascular Computed Tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(3):378-402
 58. Lafitte S, Masugata H, Peters B, Togni M, Strachan M, Yao B, et al. Accuracy and reproducibility of coronary flow rate assessment by real-time contrast echocardiography: in vitro and in vivo studies. *J Am Soc Echocardiogr*. 2001;14(10):1010-9.

-
59. Vogel R, Indermuhle A, Reinhardt J, Meier P, Siegrist PT, Namdar M, et al. The quantification of absolute myocardial perfusion in humans by contrast echocardiography: algorithm and validation. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(5):754-62.
 60. Indermuhle A, Vogel R, Meier P, Wirth S, Stoop R, Mohaupt MG, et al. The relative myocardial blood volume differentiates between hypertensive heart disease and athlete's heart in humans. *Eur Heart J.* 2006;27(13):1571-8.
 61. Pacella JJ, Villanueva FS. Effect of coronary stenosis on adjacent bed flow reserve - Assessment of microvascular mechanisms using myocardial contrast echocardiography. *Circulation.* 2006;114(18):1940-7.
 62. Korosoglou G, da Silva KG Jr, Labadze N, Dubart AE, Hansen A, Rosenberg M, Zehelein J, Kuecherer H. Real-time myocardial contrast echocardiography for pharmacologic stress testing: is quantitative estimation of myocardial blood flow reserve necessary?. *J Am Soc Echocardiogr.* 2004;17:1-9.
 63. Peltier M, Vancraeynest D, Pasquet A, Ay T, Roelants V, D'hondt AM, Melin JA, Vanoverschelde JL J. Assessment of the physiologic significance of coronary disease with dipyridamole real-time myocardial contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:257-64.

-
64. Kaul S, Senior R, Dittrich H, Raval U, Khattar R, Lahiri A. Detection of coronary artery disease with myocardial contrast echocardiography: comparison with 99mTc-sestamibi single-photon emission computed tomography. *Circulation*. 1997;96:785-92.
 65. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes (Position statement). *Diabetes Care*. 2006;29(1):S4-S42.
 66. Cerqueira MD, Weissman NJ, Dilsizian V, et al. Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. *Circulation*. 2002;105:539-42.
 67. Stamm RB, Carabelo B.A, Mayers DL, et al. Two-dimensional echocardiographic measurement of left ventricular ejection fraction: prospective analysis of what constitutes an adequate determination. *Am. Heart. J.* 1982;104:136-44.
 68. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18:1440-63.
 69. Cerqueira MD, Weissman NJ, Dilsizian V, et al: Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. *Circulation*. 2002;105:539-42.

-
70. Nikolaou K, Sagmeister S, Knez A, Klotz E, Wintersperger BJ, Becker CR, et al. Multidetector-row computed tomography of the coronary arteries: predictive value and quantitative assessment of non-calcified vessel-wall changes. *Eur Radiol.* 2003;13(11):2505-12.
 71. Hong C, Bae KT, Pilgram TK. Coronary artery calcium: accuracy and reproducibility of measurements with multi-detector row CT--assessment of effects of different thresholds and quantification methods. *Radiology.* 2003;227(3):795-801.
 72. Miller JM, Rochitte CE, Dewey M, Arbab-Zadeh A, Niinuma H, Gottlieb I, et al. Diagnostic performance of coronary angiography by 64-row CT. *N Engl J Med.* 2008;359(22):2324-36.
 73. Newham, A.; Ryan, R. Prevalence of diagnosed diabetes mellitus in general practice in England and Wales, 1994 to 1998. *Health Stat Quart.* 2002;14:5-13.
 74. Schaan, BD; Harzhein, E; Lima, NGL; Gus, I. Fatores de risco para a doença arterial coronária em indivíduos com diferentes graus de tolerância à glicose no Rio Grande do Sul (RS). *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002;46 (1): S394
 75. Morrish NJ, Wang SI, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational study of vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia.* 2001;44(2):S14-S21.

-
76. UK Prospective Diabetes Study Group: Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 23). *BMJ*. 1998;316:823-8.
 77. Laakso M: Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;48:937–942.
 78. Aronson D, Rayfield EJ: How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol* 2002;1:1.
 79. Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414:813–820.
 80. Ulrich P, Cerami A: Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog Horm Res*. 2001;56:1–21.
 81. Kellogg AP, Converso K, Wiggin T, Stevens M, Pop-Busui R. Effects of cyclooxygenase-2 gene inactivation on cardiac autonomic and left ventricular function in experimental diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 296: H453–H461, 2009.
 82. Pyörälä K, Laakso M, Uusitupa M: Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view. *Diabetes Metab Rev*. 1987;3:463-524.
 83. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on the Diagnosis of Coronary Heart Disease in People with Diabetes: 10–11 February 1998, Miami, Florida. *Diabetes Care*. 1998;21:1551–1559.

-
84. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2002; 25:S33–S49.
 85. Hammoud T, Tanguay J-F, Bourassa MG. Management of coronary artery disease: therapeutic options in patients with diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 36:355–365.
 86. Janand-Dellene B, Savin B, Habib G, Bory M, Vague P, Lassmann-Vague V. Silent myocardial ischemia in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22:1396–1400.
 87. Koistinen MJ. Prevalence of asymptomatic myocardial ischaemia in nondiabetic subjects. *Br Med J*. 1990;301:92–5.
 88. Naka M, Hiramatsu K, Aizawa T, et al. Silent myocardial ischemia in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus as judged by treadmill exercise testing and coronary angiography. *Am Heart J*. 1992; 123:46–53.
 89. Jayaweera AR, Edwards N, Glasheen WP, et al. In vivo myocardial kinetics of air-filled albumin microbubbles during myocardial contrast echocardiography: comparison with radio-labeled red blood cells. *Circ Res*. 1994;74:1157–1165.
 90. Wei K, Ragosta M, Thorpe J, Coggins M, Moos S, Kaul S: Noninvasive quantification of coronary blood flow reserve in humans using myocardial contrast echocardiography. *Circulation*. 2001, 103:2560-2565.

-
91. Osório AF, Tsutsui JM, Kowatsch I, Guerra VC, Ramires JA, Lemos PA, Cesar LA, Mathias W Jr. Evaluation of blood flow reserve in left anterior descending coronary artery territory by quantitative myocardial contrast and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2007;20(6):709-16.
 92. Peltier M, Vancraeynest D, Pasquet A, Ay T, Roelants V, D'Hondt AM, et al. Assessment of the physiologic significance of coronary disease with dipyridamole real-time myocardial contrast echocardiography. Comparison with technetium-99m sestamibi single-photon emission computed tomography and quantitative coronary angiography. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(2):257-64.
 93. Rask-Madsen C, Ihlemann N, Krarup T, Christiansen E, Kober L, Nervi Kistorp C, Torp-Pedersen C. Insulin therapy improves insulin-stimulated endothelial function in patients with type 2 diabetes and ischemic heart disease. *Diabetes.* 2001;50:2611–2618.
 94. Von Bibra H, Hansen A, Dounis V, Bystedt T, Malmberg K, Ryden L. Augmented metabolic control improves myocardial diastolic function and perfusion in patients with non-insulin dependent diabetes. *Heart.* 2004;90:1483–1484.
 95. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive bloodglucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet.* 1998;352:854–865.

-
96. Anselmino M, Ohrvik J, Malmberg K, Standl E, Ryden L. Glucose lowering treatment in patients with coronary artery disease is prognostically important not only in established but also in newly detected diabetes mellitus: a report from the Euro Heart Survey on Diabetes and the Heart. *Eur Heart J*. 2008;29:177–184.
 97. Cosyns B, Droogmans S, Hernot S, Degallier C, Garbar C, Weytjens C, Roosens B, Schoors D, Lahoutte T, Franken PR, Van Camp G. Effect of streptozotocin-induced diabetes on myocardial blood flow reserve assessed by myocardial contrast echocardiography in rats. *Cardiovascular Diabetology*. 2008 Sep 2;7:26.
 98. Jarnert C, Landstedt-Hallin L, Malmberg K, Melcher A, Ohrvik J, Persson H, Rydén L. A randomized trial of the impact of strict glycaemic control on myocardial diastolic function and perfusion reserve: a report from the DADD (Diabetes mellitus And Diastolic Dysfunction) study. *Eur J Heart Fail*. 2009 Jan;11(1):39-47.
 99. Van den Brom Charissa E; Huisman Marc C; Vlasblom Ronald; Boontje Nicky M; Duijst Suzanne; Lubberink Mark; Molthoff Carla F M; Lammertsma Adriaan A; van der Velden Jolanda; Boer Christa; Ouwens D Margriet; Diamant Michaela. Altered myocardial substrate metabolism is associated with myocardial dysfunction in early diabetic cardiomyopathy in rats: studies using positron emission tomography. *Cardiovascular Diabetology*. 2009;8():39.

100. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GV, Parving HH, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2003;348(5):383-93.
101. Kowatsch I, Tsutsui JM, Osorio AF, Uchida AH, Machiori GG, Lopes ML, et al. Head-to-head comparison of dobutamine and adenosine stress real-time myocardial perfusion echocardiography for the detection of coronary artery disease. *J Am Soc Echocardiogr.* 2007;20(9):1109-17.