

**PEDRO PARREIRA CRUZ COUCELO**

**Avaliação de Índices de Função Sistólica  
do Ventrículo Esquerdo em *Canis lupus familiaris*  
por Técnica de Ecocardiografia Doppler**

**Orientador:** Dr. Pedro Bragança Parreira

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias  
Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa  
2012**



**PEDRO PARREIRA CRUZ COUCELO**

**Avaliação de Índices de Função Sistólica  
do Ventrículo Esquerdo em *Cannis lupus familiaris*  
por Técnica de Ecocardiografia Doppler**

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária do Curso de Mestrado integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador: Dr. Pedro Bragança Parreira

Co-Orientador: Professora Doutora Ana Godinho

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias  
Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa  
2012**

“AOS MEUS PAIS”  
“À MINHA MULHER”  
“AOS MEUS FILHOS”

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho com vista à apresentação da dissertação da Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, só foi possível com a importante ajuda de várias pessoas. Quero aqui expressar a todos o meu agradecimento.

Em primeiro lugar, agradeço ao Senhor Dr. Pedro Bragança Parreira, da Unidade de Ressonância Referência Veterinária (RRV), de Alcabideche, por ter aceite a orientação da minha tese; o meu especial agradecimento pela orientação do trabalho clínico e de realização e interpretação dos exames ecocardiográficos, bem como pela disponibilização dos meios e apoios da RRV para a sua realização; um imenso obrigado pela amizade que sempre me dispensou em todos os momentos.

À Senhora Professora Doutora Ana Godinho, da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária, o meu reconhecido agradecimento pela sua ajuda imprescindível em todos os passos deste trabalho, sem a qual não teria sido possível a sua realização e conclusão.

Ao Senhor Dr. Manuel Monzo, da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária, pelos valiosos conhecimentos que partilhou, sobre os diversos aspectos de diagnóstico em cardiologia; o meu agradecimento pelo apoio que me permitiu ultrapassar os momentos de organização das diferentes partes do trabalho.

Ao Senhor Professor Doutor José Coucello Tito Martins, da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade Nova de Lisboa, expresso o meu agradecimento pela sua imprescindível ajuda relativamente às questões sobre a utilização das técnicas de ecocardiografia, em particular da aquisição de imagens ecocardiográficas de contraste.

À Senhora Enfermeira Liselore Soares, do Centro Hospitalar do Barlavento Algarvio e às Senhoras Enfermeiras Carla Sousa da ULHT-FMV, Sílvia Ferreira e Susana Ferreira da RRV, o meu agradecimento por toda a pronta disponibilidade e pelo importante apoio técnico na realização dos exames ecocardiográficos.

O meu reconhecido agradecimento ao corpo clínico da SOSVET por todo o apoio.

Ao Senhor Dr. José Sousa agradeço a disponibilidade e apoio em fases importantes do trabalho.

O meu agradecimento a todos os colegas que com a sua amizade e apoio contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A função cardíaca é fortemente condicionada pela mioarquitetura do coração, pelo que o estudo da relação morfologia-função ventricular nos mamíferos é de grande importância no diagnóstico e tratamento de patologias cardíacas. O cálculo dos volumes cardíacos durante todo o ciclo cardíaco tem uma importância fundamental para o estudo da função ventricular e para a definição dos padrões hemodinâmicos. Foi objectivo deste trabalho, o estudo de índices de função sistólica ventricular esquerda, em 25 cães (*Canis lupus familiaris*), através da utilização de diferentes técnicas ecocardiográficas, como o Modo M, ecocardiografia bidimensional, Doppler tecidual e a ecocardiografia de contraste. Foi utilizado contraste ultrasonográfico, para melhorar a definição do endocárdio e possibilitar maior rigor no cálculo dos volumes ventriculares, e na avaliação da função ventricular sistó-diastólica global e regional.

Os resultados apresentados foram sujeitos a tratamento estatístico com software Analyze-it. O Doppler tecidual mostrou ser um método robusto para avaliar a função sistólica. A ecocardiografia de contraste permitiu não só obter uma melhor definição endocárdica, como obter valores de fracção de ejeção com diferença estatisticamente significativa. Como os três métodos utilizados avaliam diferentes aspectos da função sistólica, função ventricular radial, circunferencial e longitudinal, não podem ser comparados directamente entre si.

**Palavras chave:** Ecocardiografia, contraste ultrasonográfico, volumes ventriculares, função ventricular esquerda

## ABSTRACT

Cardiac function is strongly determined by heart's myo-architecture, so that the study of the relationship morphology-ventricular function in mammals is of great importance in the diagnosis and treatment of heart disease. Cardiac volumes evaluation throughout the cardiac cycle is of fundamental importance for the study of ventricular function and to define the hemodynamic patterns. The objective was to analyze echocardiographic left ventricular systolic function indices in 25 dogs (*Canis lupus familiaris*), applying different methodologies such as M mode, 2D, tissue Doppler and contrast echocardiography. Also contrast ultrasound was used to improve endocardium border definition and to increase ventricular volumes calculation accuracy, as better systolic and diastolic ventricular global and regional function. The results were subjected to statistical analysis with Analyze-it software. Different systolic function indices were calculated such as fractional shortening, ejection fraction and systolic tissue velocity. Tissue Doppler did show to be a strong and reliable method to assess systolic function. Contrast left ventricular opacification improved ventricular border endocardium definition, and allowed statistical significance ejection fraction assessment. Because all three used methods really evaluate different aspects of systolic function, radial, circumferential and longitudinal ventricular function, they cannot be compared side by side.

**Key words:** Echocardiography, ultrasound contrast agent, ventricular volumes, left ventricular function.

## ABREVIATURAS SÍMBOLOS

$\alpha$	–	alfa
$\beta$	–	beta
$\theta$	–	tetha
$\Delta$	–	delta
$\Delta F$	–	variação de Frequência
$\mu l$	–	microlitro
2D	–	bidimensional
3D	–	tridimensional
AV	–	Atrioventricular
bpm	–	batimentos por minuto
$Ca^{2+}$	–	Cálcio
$CO_2$	–	Dióxido de Carbono
cos	–	coseno
DTD	–	Diâmetro tele-diástole
DTS	–	Diâmetro tele-sístole
FE	–	Fracção de Ejecção
FEn	–	Fracção de Encurtamento
GE	–	General Electric
$K^+$	–	Potássio
Kpa	–	Kilopascal
m/s	–	metro por segundo
MHz	–	Megahertz
min	–	minuto
ml	–	mililitro
MM	–	modo-M (de <i>Motion</i> )
Modo-A	–	de <i>Amplitude</i>
Modo-B	–	de <i>Brightness</i>
Mpa	–	Megapascal
$Na^+$	–	Sódio
$O_2$	–	Oxigénio
PA	–	Potencial de Acção
pH	–	logaritmo negativo da concentração hidrogeniónica
RRV	–	Referencia Ressonância Veterinária
SA	–	Sinoatrial
SIV	–	Septo Inter ventricular
v	–	velocidade
VE	–	Volume de Ejecção
VS	–	Volume Sistólico
VTD	–	Volume Tele-diastólico
VTS	–	Volume Tele-sistólico

## Índice Geral

<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Introdução .....</b>	<b>10</b>
1.1.1 Anatomia e Morfologia Cardíaca .....	11
1.1.2 Circulação Coronária .....	12
1.1.3 O Tecido Muscular Cardíaco .....	13
1.1.4 Sistema de Condução eléctrico .....	15
1.1.5 Ciclo Cardíaco .....	16
1.1.6 Hemodinâmica .....	17
1.1.7 Função Cardíaca .....	20
<b>1.2 Ecocardiografia .....</b>	<b>22</b>
1.2.1 Desenvolvimento da Ecocardiografia .....	22
1.2.2 Ecocardiografia – os seus princípios .....	23
1.2.2.1 Propriedades dos Ultrasons .....	24
1.2.2.2 Transdutores .....	25
1.2.3 Ecocardiografia Bidimensional e Modo-M .....	25
1.2.4 Ecocardiografia Doppler .....	26
1.2.5 Doppler-cor .....	28
1.2.6 Ecocardiografia de contraste .....	29
1.2.6.1 Agentes de contraste .....	31
1.2.6.2 Características Físicas das Microbolhas .....	32
1.2.6.3 Tipos de Microbolhas .....	33
1.2.6.4 Microbolhas e Ultrasons .....	35
1.2.6.5 Técnicas de Imagem .....	36
<b>Objectivos .....</b>	<b>38</b>
<b>Capítulo 2 .....</b>	<b>39</b>
<b>Material e Métodos .....</b>	<b>39</b>
2.1 População .....	39
2.2 Equipamento .....	39
2.3 Preparação do agente de contraste .....	40
2.4 Exame ecocardiográfico .....	40
2.5 Cálculo de Índices de Função Sistólica .....	41
2.5.1 Cálculo da Fração de Encurtamento .....	41
2.5.2 Cálculo da Fração de Ejecção .....	41
2.5.2.1 Avaliação Qualitativa .....	42
2.5.2.2 Avaliação Quantitativa .....	43
2.5.3 Cálculo da Velocidade Sistólica Tecidual .....	44
2.6 Metodologia de Tratamento de Dados e Análise Estatística de Resultados .....	45

<b>Capítulo 3 .....</b>	<b>48</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>48</b>
<b>3.1 Qualidade das imagens de ecocardiografia 2D.....</b>	<b>48</b>
<b>3.2 Resultados dos Cálculos dos Índices de Função Cardíaca .....</b>	<b>50</b>
3.2.1 Resultados do cálculo da Fração de Encurtamento por Ecocardiografia Modo M.....	50
3.2.3 Resultado do cálculo da Fração de Ejeção por Ecocardiografia Bidimensional.....	55
3.2.4 Análise da Relação entre Índices de Função Sistólica do Ventrículo Esquerdo .....	58
3.2.4.1 Fração de Encurtamento vs Doppler Tecidualar .....	58
3.2.4.3 Fração de Ejeção vs Doppler Tecidualar .....	61
<b>Capítulo 4 .....</b>	<b>64</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>64</b>
<b>Conclusão.....</b>	<b>69</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>71</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>I</b>

## Índice de Tabelas

- Tabela 1** – Características dos agentes de contraste mais utilizados..... – página 34
- Tabela 2** – Classificação da qualidade de definição dos segmentos do ventrículo esquerdo analisados visualmente em “*vídeo clip*” sem e com contraste. (1 – mau, 2 – deficiente, 3 – suficiente, 4 – bom, 5 – muito bom)..... – página 48
- Tabela 3** – Classificação da qualidade de definição dos segmentos do ventrículo esquerdo analisados visualmente “*imagem a imagem*” sem e com contraste. (1 – mau, 2 – deficiente, 3 – suficiente, 4 – bom, 5 – muito bom)..... – página 48
- Tabela 4** – Indicação do número de segmentos não visualizados para cada localização e no total, sem e com contraste, na análise efectuada “*imagem a imagem*” ..... – página 49
- Tabela 5** – Valores lineares da espessura do septo interventricular em diástole (SIV), do diâmetro telediastólico (DTD), do diâmetro tele-sistólico (DTS), da espessura da parede livre em diástole (PPVE) efectuados em modo-M em curto eixo (CE) e longo eixo (LE); valores do cálculo da fracção de encurtamento (FEn). ..... – página 51
- Tabela 6** – Valores das velocidades sistólicas (S) e diastólicas (E e A) tecidulares, analisadas por Doppler Pulsado Tecidular, a nível do anel mitral, em 4 câmaras apical, no septo inter-ventricular (siv) e na parede lateral (pl). O animal nº16 estava em fibrilhação atrial. \*em fibrilhação auricular. .... – página 54
- Tabela 7** – Valores de volumes tele-sistólicos (VTS) e te-diastólicos (VTD) calculados a partir de imagens ecocardiográficas em Bidimensional, via apical 4 câmaras. Os volumes foram calculados sem (sc) e com (cc) a utilização de agente de contraste endovenoso SonoVue. Foi calculada a fracção de ejeção (Fej) para cada animal sem e com contraste. .... – página 56

## Índice de Figuras

- Figura 1** – Relação entre o volume e raio da microbolha e a pressão acústica. Observa-se a variação da resposta oscilatória das microbolhas sujeitas a diferentes grandezas de pressão acústica: Em A para pressões acústicas com amplitudes baixas observa-se a microbolha passar de um volume normal (a) para um volume menor (b) e para um volume maior (c) respectivamente na fase de pressão positiva e negativa. Em B observa-se para pressões acústicas de maior amplitude de oscilação da microbolha..... – página 36
- Figura 2** – Diferentes padrões de resposta das microbolhas em função da potência acústica (índice mecânico). Para potências muito baixas a microbolha responde com oscilações lineares que produzem ondas acústicas na frequência fundamental ( $f_0$ ). Para potências baixas a microbolha responde com oscilações não lineares que produzem ondas acústicas em ambas as frequências, fundamental ( $f_0$ ) e harmónica ( $2f_0$ ). Para potências elevadas a microbolha rompe produzindo intensas ondas acústicas na frequência fundamental ( $f_0$ ) e harmónica ( $2f_0$ ). Esquema modificado de Lindner (Lindner & Wei, 2002)..... – página 37
- Figura 3** – Curvas que relacionam a amplitude do sinal recebido com a frequência recebida para os tecidos e para as microbolhas. A maior separação entre o valor das leituras faz-se para frequências recebidas com o dobro do valor da frequência fundamental ( $2f_0$ )..... – página 37
- Figura 4** – Imagem do ventrículo esquerdo em plano apical de 4 câmaras com indicação dos diferentes segmentos do SIV e Parede lateral. .... – página 41
- Figura 5** – Imagens do ventrículo esquerdo em plano apical de 4 câmaras em tele-sístole (A e B) e em tele-diástole (C e D), sem contraste (A e C) e com contraste (B e D)..... – página 49
- Figura 6** – Imagens de cortes ecotomográficos do ventrículo esquerdo para cálculo da fracção de encurtamento em curto eixo (A) e longo eixo (B). Em cada imagem está representada na parte superior pela imagem bidimensional, com o cursor a indicar o plano tomográfico, representado na parte inferior em modo-M..... – página 50
- Figura 7** – Imagens em plano apical de 4 câmaras do ventrículo esquerdo com representação da posição da “amostra de volume” do Doppler Pulsado no plano do anel mitral no septo interventricular (A) e na parede lateral (B), com os respectivos registos espectrais (figuras em baixo) da velocidade tecidual em cm/s..... – página 52
- Figura 8** – Imagens do ventrículo esquerdo em plano apical de 4 câmaras com representação do cálculo de volume pelo método de Simpson (B). Em cima estão representadas imagens tele-sistólicas e em baixo tele-diastólicas, sem contraste (A, B) e com contraste (C)..... – página 55

# Capítulo 1

## Introdução

Nesta dissertação de Mestrado em “Medicina Veterinária”, procedeu-se ao estudo da função ventricular esquerda, através de técnicas ecocardiográficas, recentemente aplicadas à medicina veterinária, como o Doppler tecidual e a ecocardiografia de contraste. A ecocardiografia é considerada por muitos o “Santo Graal” para avaliação da doença cardíaca, como a doença coronária, anomalias estruturais e cardiomiopatias (Aggeli *et al.*, 2012).

A ecocardiografia é uma técnica não invasiva, amplamente aplicada em mamíferos, que utiliza ultra-sons de alta frequência para avaliar o estado estrutural, funcional e hemodinâmico do sistema cardiovascular. As vantagens decorrentes do carácter não-invasivo desta técnica determinaram um investimento crescente no desenvolvimento técnico, sendo hoje em dia, uma técnica específica e sensível em diagnóstico e em investigação na área da cardiologia no Homem e nos animais.

Tendo em conta a importância da caracterização das estruturas e da função cardíaca ao longo de todo o ciclo cardíaco, para uma correcta abordagem das situações a avaliar, surgiu a necessidade de melhorar o rigor na avaliação da função ventricular sistó-diastólica regional e global em cães, para o cálculo da função ventricular, aumentando a capacidade de diagnóstico das patologias cardíacas e da sua evolução.

A geometria e a estrutura do coração têm sido estudadas amplamente por constituírem factores determinantes da função cardíaca normal. As alterações tanto da geometria como da estrutura do tecido cardíaco parecem estar na origem de algumas patologias cardíacas mais comuns. A determinação dos volumes ventriculares durante todo o ciclo cardíaco tem uma importância fundamental para o estudo da função ventricular e para a definição dos padrões hemodinâmicos.

Dado que se pressupõe que a doença coronária na espécie em estudo é rara, foi focada a atenção deste trabalho, no cálculo da função ventricular esquerda, através da utilização de técnicas ecocardiográficas – modo M, ecocardiografia bidimensional, Doppler tecidual e ecocardiografia de contraste - que permitem aumentar o rigor na avaliação da função ventricular sistó-diastólica regional e global.

## 1.1 Morfologia e Função Cardíaca no Cão

### 1.1.1 Anatomia e Morfologia Cardíaca

O coração situa-se na cavidade torácica e estende-se desde o terceiro até ao sexto espaço intercostal, está contido dentro do mediastino, espaço central entre as cavidades pleurais e a zona que separa o espaço pleural esquerdo e direito. O pulmão envolve o coração lateralmente, cranialmente, dorsalmente e caudalmente. A porção ventral do coração atinge o esterno na cavidade torácica, a porção cranial alcança o mediastino cranial e a porção dorsal do coração toca o mediastino medial (Kittleson & Kienle, 1998; Fox *et al.*, 1999).

O coração está organizado em quatro câmaras, duas câmaras direitas e duas câmaras esquerdas. As câmaras superiores são denominadas átrios (átrio direito e átrio esquerdo) e as câmaras inferiores são denominadas ventrículos (ventrículo direito e ventrículo esquerdo). Os átrios estão separados dos ventrículos pelas válvulas atrioventriculares; do lado direito encontra-se a válvula tricúspide e do lado esquerdo a válvula mitral. Longitudinalmente os átrios estão separados pelo septo intratrial, e os ventrículos pelo septo interventricular. Os dois átrios formam a base do coração e a ponta do ventrículo esquerdo forma o ápex. As aurículas são umas extensões dos átrios (Fox *et al.*, 1999).

O coração é formado por 3 camadas, o miocárdio que compreende o músculo cardíaco, o endocárdio que delimita a cavidade dos átrios e ventrículos e por fim o epicárdio que é a camada mais externa e cobre o miocárdio (Fox *et al.*, 1999).

A envolver o coração existe o pericárdio, formado por dois folhetos, um aderente à superfície externa do coração, o outro contacta com os pulmões e outros órgãos adjacentes. Entre os dois folhetos existe um líquido que tem a função de lubrificação para permitir uma contracção e um relaxamento eficiente (Mohrman & Heller, 1991).

Actualmente pode-se dizer que a função sistólica do ventrículo esquerdo representa uma interacção e sincronismo complexo de vários mecanismos que determinam variações da geometria do ventrículo esquerdo durante o ciclo cardíaco. A arquitectura do ventrículo esquerdo revela uma estrutura transmural formada por várias camadas de fibras com orientações espaciais diferentes (Emilsson *et al.*, 2001).

Do endocárdio para o epicárdio existe uma progressiva variação da orientação das fibras. Assim as fibras sub-endocárdicas têm uma orientação helicoidal predominantemente longitudinal. À medida que se avança para o pericárdio a inclinação vai diminuindo, tendo as

fibras do meio da parede ventricular uma orientação circunferencial. Avançando para o pericárdio as fibras sub-epicárdicas acabam por voltar a ter uma disposição longitudinal (Emilsson *et al.*, 2001).

Do ponto de vista prático podem identificar-se três grupos de camadas na espessura do ventrículo esquerdo, orientadas de forma contínua mas em direcções diferentes: a) uma camada helicoidal sub-endocárdica com uma inclinação em relação ao eixo longitudinal ventricular para a direita, com um ângulo de cerca de 80° em relação ao plano transversal; b) uma camada sub-epicárdica com uma inclinação em relação ao eixo longitudinal ventricular para a esquerda, com um ângulo de cerca de 60° em relação ao plano transversal; c) uma camada central, entre as camadas longitudinais, com fibras com orientação circular. Desta forma compreende-se que a função ventricular esquerda envolve movimentos de rotação, contracção e encurtamento (Emilsson *et al.*, 2001).

### **1.1.2 Circulação Coronária**

O tecido cardíaco que forma as paredes do coração tem o seu próprio sistema de suplementação sanguínea - a circulação coronária - que fornece nutrientes e oxigénio ao coração. Na face anterior do coração, externamente, o ramo da artéria coronária esquerda e direita sai da aorta ascendente no ostio coronário (anel de *Valsalva*) e direcciona-se para o sulco que separa os átrios dos ventrículos. A irrigação coronária do coração é extensa e o músculo cardíaco tem uma rede capilar de elevada densidade. Uma vez que o coração usa primariamente vias aeróbicas para gerar energia é primordialmente dependente de um aporte contínuo de oxigénio. Assim, para manter uma normal actividade cardíaca é requerido um fluxo coronário contínuo. Um aumento da actividade cardíaca depende do aumento do metabolismo, o que por seu lado, implica um aumento do fluxo coronário (Randall *et al.*, 2001).

A adenosina é um metabolito chave para manter a relação entre o fluxo coronário e a actividade cardíaca. A adenosina formada a partir do ATP (adenosina trifosfato) durante o metabolismo cardíaco, bem como outros factores metabólicos locais, causam dilatação dos vasos coronários aumentando assim o fluxo coronário. A formação de adenosina aumenta com o aumento do metabolismo ou durante a hipoxia do miocárdio, o que conduz a um elevado fluxo coronário. A estimulação simpática é outro mecanismo igualmente importante para aumentar o fluxo coronário; as catecolaminas circulantes aumentam a contractilidade

cardíaca e provocam uma vasodilatação coronária mediada pelos beta-1 adrenoreceptores. O fluxo coronário faz-se predominantemente durante a diástole; durante a sístole a pressão intramiocárdica do ventrículo esquerdo aumenta para valores que diminuem a progressão do fluxo através dos vasos intramiocárdicos (Beyar R & S., 1997; Fox *et al.*, 1999; Randall *et al.*, 2001).

### **1.1.3 O Tecido Muscular Cardíaco**

O tecido muscular cardíaco é constituído por miócitos e por uma matriz de tecido conjuntivo. Cada miócito possui uma membrana celular, o sarcolema, e numerosas subunidades paralelas as miofibrilhas, que constituem os elementos contrácteis. As miofibrilhas repetem-se longitudinalmente em unidades designadas por sarcómeros, estão envolvidas pelo citoplasma contendo numerosas mitocôndrias e um sistema membranoso de túbulos transversos (túbulos T). Cada miofibrilha apresenta uma estriação transversal devido à alternância de bandas de proteínas de densidade diferente; as bandas A (anisótropas) são densas, formadas por filamentos (finos) de actina e por filamentos (grossos) de miosina; as bandas (isótropas) I são menos densas e constituídas por filamentos de actina; a zona H é constituída por filamentos de miosina. Os miócitos possuem um núcleo central e um complexo retículo sarcoplasmático. O sarcómero constitui a unidade morfológica e funcional do músculo estriado, sendo constituído pelo segmento da miofibrilha compreendido entre duas linhas Z (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

Os miócitos cardíacos têm um arranjo estrutural em sincício, com as células unidas através de discos intercalares e fibra ramificadas, o que permite que um potencial de acção (PA) iniciado na região do marca-passo se propague rapidamente de uma célula muscular para outra célula muscular. Um anel fibroso divide o coração num sincício ventricular e num sincício atrial (Cunningham & Klein, 2007).

O tecido muscular cardíaco é constituído por três tipos de fibras musculares, que apresentam tamanho e propriedades funcionais diferentes: nos nódulos sinoatrial e atrioventricular as células do miocárdio são geralmente de menor tamanho, têm fraca contractilidade, têm capacidade de automaticidade e apresentam uma baixa velocidade de condução; na parede interna do ventrículo, as células miocárdicas são de grande tamanho, têm fraca contractilidade, apresentam uma elevada condução constituindo o sistema para a propagação da onda de excitação pelo coração; as células miocárdicas de tamanho intermédio

são fortemente contrácteis e constituem a estrutura ou massa do coração (Kittleson & Kienle, 1998; Randall *et al.*, 2001).

As fibras do tecido muscular estriado cardíaco, na maioria dos vertebrados, apresentam apenas uma enervação difusa por neurónios (excitadores) do sistema simpático e por neurónios (inibidores) do sistema parassimpático. A enervação do tecido muscular cardíaco é moduladora, traduzindo-se a sua acção por um aumento ou diminuição da força das contracções espontâneas miogénicas, que são induzidas pela actividade eléctrica a partir das regiões do marca-passo do coração. Os músculos miogénicos produzem endogenamente potenciais de despolarização das membranas, permitindo que a contracção seja independente da chegada de qualquer impulso neuronal (Randall *et al.*, 2001).

Uma característica das células musculares cardíacas é a sua conexão eléctrica que permite que um potencial de acção (PA) iniciado na região do marca-passo se propague rapidamente de uma célula muscular para outra célula muscular, através de uma via de condução rápida, assegurando que os átrios e ventrículos contraíam como uma unidade (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

No tecido muscular cardíaco, os PA apresentam uma fase em *platô* com uma duração de centenas de milésimas de segundos após a despolarização. A longa duração dos PA deste tecido, associada a um longo período refractário (de centenas de milésimos de segundos) previne as contracções tetânicas e permite o relaxamento do músculo, permitindo o enchimento ventricular com sangue, entre os PA. Estas características permitem uma frequência de contracção e relaxamento do coração, adequadas à sua função como bomba no sistema circulatório (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

Os principais iões a ter em conta no mecanismo de contracção cardíaca são: o potássio ( $K^+$ ), que tem maior concentração intracelular, o sódio ( $Na^+$ ) e o cálcio ( $Ca^{2+}$ ), que têm maior concentração extracelular. De forma semelhante à do tecido muscular esquelético, a contracção do tecido muscular cardíaco é activada pelo aumento da concentração do  $Ca^{2+}$  citosólico. Este aumento da concentração do  $Ca^{2+}$  citosólico depende quer do fluxo de  $Ca^{2+}$  para o interior da célula muscular, através da membrana plasmática, quer da sua segregação a partir do retículo sarcoplasmático. As células do tecido muscular cardíaco dos mamíferos possuem um retículo sarcoplasmático e um sistema de túbulos T muito elaborados. O fluxo de  $Ca^{2+}$  a partir do espaço extracelular para o citoplasma das células musculares cardíacas, resulta da despolarização das membranas plasmáticas que activam os portões dos canais de  $Ca^{2+}$  tipo – L dos túbulos T, complementando a grande quantidade de  $Ca^{2+}$  segregada pelo

retículo sarcoplasmático através dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  das suas membranas, conduzindo à contracção. O cálcio é rapidamente removido a partir do citoplasma através das bombas de cálcio das membranas do retículo sarcoplasmático e pelos transportadores proteicos  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  do sarcolema. A quantidade de tensão que pode ser desenvolvida pelo músculo cardíaco depende da quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma dos miócitos. Como a entrada de fluxo de  $\text{Ca}^{2+}$  é dependente da despolarização, a tensão desenvolvida é função da despolarização, assim uma maior despolarização produz uma maior tensão. Quando a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular está reduzida, entra menos  $\text{Ca}^{2+}$  nas células originando contracções mais fracas (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007; Tranquilli *et al.*, 2007).

#### 1.1.4 Sistema de Condução eléctrico

O coração possui um sistema de condução especializado responsável pela condução do impulso eléctrico de forma coordenada. É composto pelo nódulo sinoatrial (SA), tractos internodais anterior, médio e posterior, nódulo atrioventricular (AV), feixe de His, ramo esquerda e direita do feixe de His (que depois se divide em anterior e posterior) e pela rede de Purkinje. O nódulo SA é formado por células especializadas responsáveis por iniciar os impulsos cardíacos. Assim como o nódulo AV, o nódulo SA contém abundantes fibras nervosas adrenérgicas e colinérgicas. O sistema nervoso autónomo é responsável pela regulação da frequência cardíaca mesmo sendo o batimento cardíaco assegurado pelas células marca-passo (Fox *et al.*, 1999; Cunningham, 2004; Santilli & Perego, 2009).

A actividade eléctrica inicia-se na região do marca-passo e é conduzida a todo o coração, pois a despolarização de uma célula origina a despolarização das células vizinhas, devido ao fluxo da corrente através das “*gap junctions*” (junções comunicantes); estas junções entre as células estão localizadas em regiões de grande proximidade entre as células do miocárdio, designadas por discos intercalares. As junções comunicantes são zonas de baixa resistência entre as células e permitem o fluxo da corrente de uma célula para a outra através dos discos intercalares. O PA iniciado na região do marca-passo propaga-se a todas as células do miocárdio, e para a formação da onda de excitação seguinte é necessário um novo PA formado a partir da região do marca-passo (Kittleson & Kienle, 1998; Randall *et al.*, 2001).

No tecido cardíaco a onda de despolarização propaga-se do nódulo sinoatrial para ambos os átrios à velocidade de cerca de  $0.8 \text{ m s}^{-1}$ . Os átrios estão ligados electricamente aos

ventrículos através do nódulo atrioventricular (AV). A excitação propaga-se para os ventrículos através de pequenas fibras juncionais, nas quais a velocidade da onda de excitação diminui para cerca de  $0.05 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . As fibras juncionais estão unidas a fibras nodais, as quais estão ligadas através de fibras transicionais ao feixe de His. Esta estrutura tem dois ramos, o ramo direito e o ramo esquerda, que se subdividem em fibras de Purkinje, que se estendem a todo o miocárdio dos dois ventrículos. A condução é lenta nas fibras nodais (cerca de  $0.1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) mas é rápida através do feixe de His ( $4 - 5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ ). O feixe de His e as fibras de Purkinje enviam muito rapidamente a onda de excitação a todas as regiões do miocárdio ventricular, originando a contracção simultânea das fibras musculares dos ventrículos. As células do miocárdio ventricular contraem quase imediatamente com a chegada de cada onda de excitação, que passa do endocárdio para o epicárdio a uma velocidade de  $0.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . A organização eléctrica do miocárdio permite contracções separadas e sincrónicas dos átrios e dos ventrículos (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

### 1.1.5 Ciclo Cardíaco

Durante a contracção do coração ocorrem diversos eventos que dão origem a flutuações da pressão e do volume cardíaco. A abertura e encerramento das válvulas dependem da variação de pressão. Durante a diástole o encerramento da válvula aórtica mantém a diferença de pressão entre os ventrículos e os vasos sistémicos e pulmonares. Quando a válvula atrioventricular abre, o sangue flui do sistema venoso para o interior dos ventrículos. A despolarização eléctrica dos átrios é traduzida pela onda P no traçado electrocardiográfico e pela sua contracção do ponto de vista mecânico; esta contracção aumenta a pressão no seu interior e condiciona a ejeção do sangue para os ventrículos. No início da contracção ventricular, a pressão aumenta no seu interior e torna-se superior à pressão nos átrios. Encerram-se as válvulas atrioventriculares, prevenindo o refluxo de sangue para os átrios e continua a contracção ventricular. Durante esta fase, as válvulas atrioventriculares e a válvula aórtica estão encerradas, pelo que os ventrículos formam câmaras fechadas e não há variação de volume. Esta fase corresponde à contracção ventricular isovolumétrica (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

A pressão dentro dos ventrículos aumenta rapidamente e excede a pressão da aorta e artéria pulmonar. A válvula aórtica abre e o sangue é ejectado para a aorta, originando uma diminuição do volume ventricular. Durante a diástole, quando é iniciado o relaxamento

ventricular, a pressão intraventricular desce para valores inferiores ao da pressão na aorta, a válvula aórtica encerra e há um relaxamento isovolumétrico do ventrículo. No momento em que a pressão ventricular se torna inferior à pressão atrial, as válvulas atrioventriculares abrem e é iniciado novamente o enchimento ventricular, dando origem a outro ciclo cardíaco. Da totalidade de sangue que passa do átrio para o ventrículo esquerdo durante a diástole, cerca de 70% deve-se à fase inicial de enchimento rápido, por um processo dependente fundamentalmente da sucção provocada pelo relaxamento e distensibilidade do ventrículo esquerdo, e cerca de 30% da responsabilidade da contracção dos átrios. Assim, o enchimento ventricular é determinado não só pela distensibilidade das paredes do ventrículo esquerdo como pela pressão de enchimento venoso, que empurra o sangue directamente das veias através dos átrios para os ventrículos (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

A contracção do músculo cardíaco pode ser dividida em duas fases. A primeira é uma contracção isovolumétrica durante a qual a tensão no músculo e a pressão no ventrículo aumenta rapidamente. A segunda fase é essencialmente isotónica; não há grande variação de tensão, a válvula aórtica abre e o sangue é rapidamente ejectado dos ventrículos para o sistema arterial, com um pequeno aumento da pressão ventricular. Assim, durante cada contracção o tecido muscular muda de uma contracção isométrica para uma contracção isotónica. O relaxamento do músculo cardíaco é um fenómeno activo, com gasto de energia e, sabe-se que tem uma grande importância na determinação da função do ventrículo esquerdo (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

### **1.1.6 Hemodinâmica**

Por definição, a circulação central é composta pelo lado direito do coração, circulação pulmonar, e pelo lado esquerdo do coração, circulação sistémica. O sangue entra na circulação central pela veia cava e deixa o mesmo pela artéria aorta. O coração possui dois mecanismos funcionais essenciais para regular o sistema circulatório. O primeiro consiste em ejectar sangue suficiente através da artéria pulmonar e aorta de forma a fornecer perfusão necessária para o metabolismo tecidual e o segundo em receber o sangue das veias cavas e pulmonares de maneira a garantir uma adequada drenagem do sistema pulmonar e sistémico. Num mamífero em situação normal e em repouso, a circulação central tem aproximadamente 25% do sangue e a circulação sistémica 75%. A maioria do sangue dos vasos sistémicos encontra-se nas veias sistémicas (Randall *et al.*, 2001; Ettinger & Feldman, 2010).

Uma vez que os fluidos não são compressíveis, o sangue ejectado pelo coração origina um fluxo com um volume equivalente em qualquer outra parte da circulação. Isto é, em qualquer momento, o mesmo número de litros por minuto flui através das artérias, dos capilares, e das veias. Uma redução no volume de sangue numa parte da circulação deve conduzir a um aumento de volume noutra parte, a menos que haja uma alteração no volume total de sangue (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

A velocidade de fluxo em qualquer ponto do sistema circulatório, não está relacionado com a proximidade do coração, mas com a área de secção transversal total de uma determinada parte da circulação, isto é, com a soma das secções transversais de todos os capilares ou artérias nesse ponto da circulação. As artérias têm a menor área de secção total, enquanto os capilares têm a maior. Assim, nos mamíferos, as maiores velocidades do fluxo sanguíneo ocorrem na aorta e na artéria pulmonar; a velocidade cai acentuadamente, quando o sangue flui através dos capilares, mas aumenta novamente quando o sangue flui através das veias (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

No sistema circulatório, em muitos vasos sanguíneos de menores calibres, o fluxo sanguíneo é contínuo. Este fluxo laminar contínuo é caracterizado por um perfil parabólico de velocidade, através do vaso. O fluxo é zero junto das paredes dos vasos, e tem uma velocidade máxima ao longo do eixo central do vaso. Uma diferença de pressão fornece a força requerida para fazer deslizar umas sobre as outras, as diferentes camadas adjacentes do fluxo sanguíneo no interior dos vasos e a viscosidade do sangue constitui uma medida de resistência ao deslizamento entre as camadas adjacentes de fluido. Um aumento da viscosidade irá necessitar de uma maior diferença de pressão para manter a mesma velocidade do fluxo (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

O fluxo turbulento caracteriza-se por ser um fluxo em que o fluido se move em direcções não alinhadas com o eixo do fluxo, aumentando assim a energia necessária para mover o fluido através de um vaso. O fluxo laminar é silencioso; o fluxo turbulento é ruidoso. Na circulação sanguínea, a turbulência origina vibrações que produzem os sons na circulação (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

Nas grandes artérias o fluxo laminar é pulsátil e tem um perfil de velocidade mais complexo. O sangue, em cada batimento cardíaco, sofre primeiro uma aceleração e depois torna-se mais lento. Como as paredes das grandes artérias são elásticas, há em cada batimento cardíaco, uma oscilação de pressão devido à sua expansão e relaxamento. Perto do coração, a direcção do fluxo inverte-se, cada vez que a válvula aórtica fecha. A velocidade

através das grandes artérias tem um perfil muito mais plano do que a velocidade nos vasos sanguíneos mais periféricos (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

O sistema arterial actua como reservatório de pressão transportando o sangue entre o coração e os capilares. As artérias elásticas amortecem as oscilações de pressão e de fluxo originadas pelas contracções do coração, e as arteríolas musculares controlam a distribuição do sangue para os capilares. O sistema venoso actua como um reservatório de volume de sangue e transporta o sangue dos capilares para o coração. A pressão sanguínea é mais alta na aorta e mais baixa na veia cava. Esta diferença de pressão força o sangue a mover-se pelos vasos sistémicos. Nos mamíferos 50% do volume total de sangue está contido nas veias. Apenas 30 a 50% dos capilares estão sempre abertos ao fluxo sanguíneo, mas nenhum capilar está fechado durante um tempo prolongado, uma vez que abrem e fecham continuamente. O fluxo sanguíneo capilar é controlado pelos nervos que enervam o músculo liso que circunda as arteríolas (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007; Ettinger & Feldman, 2010).

A pressão arterial é regulada por mecanismos centrais de controlo para manter o fluxo sanguíneo capilar, o qual pode ser controlado localmente para fazer face aos requisitos particulares dos tecidos. Os baroreceptores arteriais monitorizam a pressão sanguínea e reflexamente controlam o débito cardíaco e a resistência periférica para manter a pressão arterial. Os mecanoreceptores atriais e ventriculares monitorizam a pressão venosa e a contracção do coração, para que a actividade do coração assegure a entrada de sangue a partir do sistema venoso e a saída de sangue para o sistema arterial. Os quimiorreceptores respondem a modificações do pH e dos níveis de gases do sangue. Todos estes receptores sensoriais fornecem informação ao centro cardiovascular da medula, onde os sinais são integrados para assegurar uma resposta apropriada do sistema circulatório às necessidades metabólicas dos animais. Para manter o volume sanguíneo, face a diferentes requisitos metabólicos, as vias neuronais reflexas actuaem em conjunto com os péptidos natriuréticos, a vasopressina e o sistema renina-angiotensina-aldosterona (Randall *et al.*, 2001; Cunningham, 2004; Ettinger & Feldman, 2010).

A estimulação da enervação simpática do músculo liso vascular causa vasoconstrição periférica e um aumento da pressão arterial, enquanto um aumento das catecolaminas circulantes, especialmente da adrenalina, causa uma diminuição da resistência periférica acompanhada por um aumento da pressão arterial devido a um aumento simultâneo do débito cardíaco. O endotélio vascular segrega vários compostos, como por exemplo, óxido nítrico,

endotelina, e prostaciclina, que originam vasoconstrição ou vasodilatação local, ajustando o fluxo sanguíneo às necessidades dos tecidos (Randall *et al.*, 2001).

### 1.1.7 Função Cardíaca

A função cardíaca é uma complexa interacção da relação e sinergia de fenómenos eléctricos e mecânicos, condicionando alterações da pressão e do volume cardíaco, que levam à ejeção do sangue durante cada batimento cardíaco.

#### Débito Cardíaco, Volume Sistólico, Frequência Cardíaca

O débito cardíaco é definido como o volume de sangue ejetado pelo ventrículo direito ou esquerdo (volume de ejeção) por unidade de tempo.

A frequência cardíaca é o número de batimentos cardíacos por unidade de tempo e é expressa em batimentos por minuto (bpm).

O volume de sangue ejetado por um ventrículo a cada batimento cardíaco é designado de volume ejeção:

$$\text{volume de ejeção} = \text{volume tele-diafólico (VTD)} - \text{volume tele-sistólico (VTS)}$$

Ou seja, é a diferença entre o volume do ventrículo antes da contracção (VTD) e o volume do ventrículo no fim da contracção (VTS).

A fracção de ejeção (FEj) é calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{FEj} = (\text{VTD} - \text{VTS}) / \text{VTD}$$

O volume sistólico médio pode ser calculado dividindo o débito cardíaco pela frequência cardíaca (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

Os parâmetros que determinam o volume tele-diafólico são: a pressão de enchimento venoso, as pressões geradas durante a contracção atrial, a distensibilidade da parede ventricular, o tempo disponível para o enchimento do ventrículo. O volume tele-sistólico é determinado por dois parâmetros: as pressões geradas durante a sístole ventricular e a pressão na câmara de saída do coração (pressão aórtica ou pressão da artéria pulmonar) (Randall *et al.*, 2001; Cunningham & Klein, 2007).

O aumento da pressão de enchimento venoso causa um aumento do volume tele-diastólico que dá origem a um aumento do volume sistólico, enquanto que o aumento do volume tele-sistólico é muito menor. O aumento da pressão arterial também dá origem a um aumento dos volumes tele-diastólico e tele-sistólico, com pequena alteração no volume sistólico. Assim, o aumento do trabalho mecânico requerido para manter o volume sistólico face a um aumento da pressão arterial é devido ao alongamento do músculo cardíaco durante a diástole (Randall et al., 2001; Cunningham & Klein, 2007).

Os efeitos da actividade da enervação colinérgica (nervo vago) sobre a frequência cardíaca e sobre o débito cardíaco são muito menos marcados do que os efeitos da enervação simpática adrenérgica; estas diferenças são devidas a uma muito mais extensa enervação adrenérgica do que colinérgica dos ventrículos. As catecolaminas produzidas pela estimulação de terminações nervosas simpáticas, ou por aumento do seu nível em circulação, actuam sobre os  $\alpha$  - e  $\beta$  - adrenoreceptores mediando o aumento da força de contracção. Quando a taxa de produção de ATP e a taxa de conversão de energia química em energia mecânica aumenta nas células ventriculares dá origem a um aumento do trabalho ventricular; a taxa de esvaziamento ventricular aumenta durante a sístole, pelo que o mesmo ou um maior volume sistólico se verifica num tempo muito menor. Quando a estimulação nervosa adrenérgica aumenta a frequência cardíaca, o mesmo volume sistólico é ejectado a partir do coração, num tempo mais curto. Assim, embora o tempo disponível para o esvaziamento e para o enchimento do coração seja reduzido quando a frequência cardíaca aumenta, o volume sistólico permanece bastante estável para uma gama larga de alterações da frequência cardíaca (Randall et al., 2001; Cunningham & Klein, 2007).

A enervação simpática não está directamente envolvida no aumento do débito cardíaco, mas sim no aumento da frequência cardíaca e na manutenção do volume sistólico, evitando as grandes oscilações de pressão associadas a grandes volumes sistólicos e mantendo o coração a funcionar a/ou perto de um volume sistólico óptimo para uma contracção eficiente (Randall et al., 2001; Cunningham & Klein, 2007).

Decorrentes da mioarquitectura do coração foram estabelecidos e definidos diversos parâmetros da função cardíaca. Destes parâmetros, como o volume sistólico, o volume tele-diastólico, o volume tele-sistólico, o débito cardíaco e a fracção de ejeccção depende o normal aporte de sangue para a circulação sistémica e circulação pulmonar, permitindo as necessárias trocas de  $O_2$ ,  $CO_2$ , nutrientes e metabolitos, a nível de todos os tecidos, de acordo

com os requisitos metabólicos em cada momento. As alterações destes parâmetros estão associadas a situações fisiopatológicas e patológicas, que podem ser avaliadas por exames ecocardiográficos proporcionando um melhor diagnóstico e uma avaliação mais rigorosa das diferentes patologias cardíacas.

## **1.2 Ecocardiografia**

### **1.2.1 Desenvolvimento da Ecocardiografia**

A ecocardiografia é uma técnica não-invasiva que utiliza ultrasons de elevada frequência para avaliar o estado estrutural, funcional e hemodinâmico do sistema cardiovascular. As grandes vantagens decorrentes do carácter não invasivo desta técnica e os relevantes avanços técnicos realizados fazem com que a ecocardiografia seja largamente utilizada na prática clínica diária em cardiologia. A ecocardiografia adquiriu um papel fundamental no diagnóstico clínico cardiovascular e ainda na investigação das doenças cardiovasculares (Ettinger & Feldman, 2010; Boon, 2011).

A importância da ecocardiografia resulta da capacidade desta técnica em obter informação morfológica e funcional do sistema cardiovascular, coração e grandes vasos; desta forma, conferindo a possibilidade de identificar estruturas, avaliar áreas e volumes, observar movimentos em tempo real das válvulas e das cavidades, permitindo analisar e quantificar a contração e relaxamento, identificar e caracterizar fluxos transvalvulares, determinar as suas velocidades, calcular gradientes de pressão (Nelson & Couto, 2006; Boon, 2011).

A ultrasonografia aplicada ao coração foi utilizada inicialmente por Edler e Hertz em 1954 (Edler & Hertz, 1954), que registaram pela primeira vez movimentos da válvula mitral por ecocardiografia. A primeira análise ultrasonográfica do coração foi posteriormente realizada por Joyner e Reid (Joyner & Reid, 1963). Em 1965, Feigenbaum e os seus colaboradores (H. Feigenbaum *et al.*, 1965) introduziram os ultrasons na prática clínica em cardiologia. A ecocardiografia era, naquela época, utilizada em modo-M (MM), o que permitia apenas visualizar os movimentos do coração numa linha de incidência do feixe de ultrasons, que limitava bastante a análise global da dinâmica cardíaca. O desenvolvimento da ecocardiografia bidimensional (2D), na década de 70 do século XX, tornou possível a

obtenção de imagens 2D de vários planos tomográficos das câmaras cardíacas em tempo real, proporcionando assim o estudo não invasivo da morfologia e da função cardíaca (H Feigenbaum, 1981).

Sendo a ecocardiografia 2D, essencialmente uma técnica de imagem, permitia visualizar as estruturas mas não possibilitava a obtenção de dados hemodinâmicos. O desenvolvimento da ecocardiografia Doppler, também na década de 70, aumentou de forma importante as potencialidades desta técnica, permitindo que pela primeira vez, fosse possível de forma não invasiva, quantificar a velocidade de fluxos sanguíneos e determinar gradientes de pressão através de orifícios valvulares (Holen *et al.*, 1976).

Poucos anos depois, no início da década 80 do século XX, com base no conceito Doppler, foi desenvolvida a técnica de Doppler-cor, permitindo que através de um código de cores associado à velocidade dos fluxos fossem visualizados os fluxos sanguíneos e a sua direcção, em conjunto com as imagens 2D (Omoto *et al.*, 1984).

Com a evolução técnica observada nos últimos quinze anos assistiu-se à construção de equipamentos de ultrasons mais sofisticados, ao desenvolvimento de diferentes formas de imagem como as harmónicas, de sondas de maior frequência, de produtos de contraste de administração endovenosa e ainda ao desenvolvimento de software de aquisição e análise de imagem (Leischik *et al.*, 1997; Lafitte *et al.*, 2000; Thomson *et al.*, 2001).

As técnicas referidas, MM, 2D, Doppler pulsado e Doppler-cor, ecocardiografia de contraste, levaram ao desenvolvimento de várias aplicações que permitem utilizar a ecocardiografia nas mais diversas áreas de diagnóstico e de investigação em cardiologia.

### **1.2.2 Ecocardiografia – os seus princípios**

As técnicas de ecocardiografia baseiam-se nos princípios teóricos da condução de ondas sonoras através de meios de diferentes condutâncias acústicas. Os ecógrafos, como são designados os equipamentos de imagem ecocardiográfica, utilizam para a construção da imagem, a reflexão do som produzido por discontinuidades da condutância acústica dos tecidos biológicos, por exemplo a discontinuidade entre uma parede e uma cavidade ventricular (Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011).

### 1.2.2.1 Propriedades dos Ultrasons

Os ultrasons são ondas mecânicas de frequência superior à dos sons audíveis; propagam-se em linha recta, durante uma curta distância, enquanto não sofrem reflexão, refacção e dispersão, e são parcialmente absorvidos pelos meios que atravessam, originando calor (Saini *et al.*, 1993; Boon, 2011).

A utilização de ultrasons em ecocardiografia baseia-se em duas características – a penetração, ou seja o seu poder de penetrar os tecidos e, a resolução, constituída pela sua capacidade de distinguir dois objectos que estão particularmente muito próximos. Os ultrasons de elevada frequência têm uma melhor resolução e uma penetração mais fraca do que as ondas de baixa frequência. A frequência dos ultrasons utilizados em ecocardiografia varia entre 2 a 15 MHz (Saini *et al.*, 1993; Jae K. Oh *et al.*, 2007).

A penetração dos ultrasons depende da frequência utilizada e das propriedades apresentadas pelo meio atravessado. A penetração é inversamente proporcional à frequência, uma vez que frequências mais elevadas sofrem maior reflexão e absorção; assim como correspondem a menores comprimentos de onda, reflectem-se e refractam-se em estruturas de menores dimensões, fazendo com que a quantidade de energia que continua a propagar-se, em linha recta e na direcção pretendida, se atenua com maior rapidez. A potência instantânea e a frequência utilizadas habitualmente em ecocardiografia originam penetrações na ordem de 4 a 25 cm, o que é adequado ao estudo do coração de diferentes espécies. São utilizadas frequências mais baixas, como 3 MHz para realizar uma avaliação global das estruturas cardíacas, e usam-se frequências mais elevadas, como 15 MHz para o estudo de estruturas e fluxos vasculares (Saini *et al.*, 1993; Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011).

Uma sonda de 5.0 MHz é apropriada para a maioria dos cães, contudo, em cães de raça gigante poderá ser necessário um transdutor de 3,5 MHz e em cães de raça pequena de 7,0 MHz para obter uma boa penetração nos tecidos (Ettinger & Feldman, 2010).

As propriedades acústicas dos meios atravessados pelos ultrasons são um factor de grande importância a ter em consideração na aplicação da ultrasonografia para o estudo dos diversos tecidos. A propagação dos ultrasons é muito difícil em meios gasosos, tornando as observações de órgãos situados atrás de zonas com ar particularmente difíceis (como por exemplo os pulmões). Por outro lado, as estruturas ósseas absorvem fortemente os ultrasons o que impede a sua penetração, assim as regiões localizadas atrás das estruturas ósseas não são visíveis por ultrasonografia. Para melhorar a propagação dos ultrasons até às estruturas a

estudar é utilizado um gel que proporciona um melhor contacto entre o transdutor e a superfície do organismo (Saini *et al.*, 1993; Jae K. Oh *et al.*, 2007)

### **1.2.2.2 Transdutores**

Os ultrasons, em ecocardiografia são gerados e recebidos com a ajuda de transdutores piezoelétricos, quando o ultrassom atinge um objecto ou um meio, com diferentes propriedades acústicas é reflectido para o transdutor (Boon, 2011).

Os elementos piezoelétricos vibram muito rapidamente e quando são activados por um sinal eléctrico emitem ondas sonoras que se propagam, em cada ciclo, a uma distância igual à do comprimento de onda e não envolvem transporte de meio de propagação mas somente de energia. O elemento piezoelétrico do transdutor converte energia eléctrica em impulsos ultra-sonográficos, convertendo também o sinal ultra-sonográfico recebido em energia eléctrica; portanto, quando o ultrassom reflectido atinge o elemento piezoelétrico da sonda, gera-se um sinal eléctrico. É então possível calcular a distância entre o transdutor e o objecto reflectido, considerando o período de tempo que decorre desde que o ultrassom é emitido até que é de novo recebido no transdutor e, considerando ainda a velocidade do som através do meio. Objectos diferentes, localizados a distâncias diferentes à passagem do feixe de ultrasons, reflectem ultrasons que irão atingir o transdutor em intervalos de tempo diferentes (Saini *et al.*, 1993; Jae K. Oh *et al.*, 2007).

### **1.2.3 Ecocardiografia Bidimensional e Modo-M**

Os ecocardiogramas foram todos desenvolvidos a partir do modo A (de Amplitude), onde os ecos são recebidos num osciloscópio e interpretados através de dois eixos que medem a amplitude e a distância ao transdutor. O ecocardiograma em modo-B (de Brightness) foi obtido a partir do modo A, modulando a intensidade dos pontos luminosos que descrevem a imagem do osciloscópio, proporcionalmente às amplitudes dos ecos recebidos. Considerando a deficiente expressão e a dificuldade de interpretação dos ecocardiogramas modo A e modo-B foi necessário procurar uma melhoria de definição dos ecocardiogramas, o que levou ao desenvolvimento do modo-M (de Motion). Assim, a ecocardiografia em modo-M (MM) foi obtida a partir do modo-B associando um eixo de tempo (Saini *et al.*, 1993; Jae K. Oh *et al.*, 2007). A ecocardiografia em MM foi o primeiro

método que permitiu a obtenção de informações morfométricas do coração (H. Feigenbaum *et al.*, 1965). A ecocardiografia em MM foi introduzida na veterinária em 1970.

A grande vantagem da ecocardiografia MM é a forma expressiva com que é possível visualizar a evolução das estruturas ao longo de vários ciclos cardíacos e também a elevada capacidade de obtenção dos registos. A técnica ecocardiográfica MM apresenta, em relação às técnicas 2D uma limitação relativa ao facto, de que para uma dada posição do transdutor, apenas permite visualizar estruturas ao longo de uma linha (Agati *et al.*, 2005).

A ecocardiografia 2D apareceu como resultado de um conjunto de ecos em múltiplos planos de um sector. Esta técnica fornece em tempo real, imagens com elevada definição das câmaras cardíacas e dos seus movimentos, com informação minuciosa da anatomia e fisiologia do coração. A ecocardiografia 2D constitui a base do estudo morfológico e funcional do coração, permitindo a obtenção de dados quantitativos em relação às dimensões lineares, áreas e volumes das câmaras cardíacas. As imagens de ecocardiografia 2D constituem também a base para os registos dos fluxos sanguíneos por Doppler espectral e por Doppler-cor (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

Com o desenvolvimento da ecocardiografia 2D, as imagens MM são obtidas através da selecção de um plano, das imagens 2D, que intersecta as estruturas cardíacas na zona que se quer analisar em pormenor. Assim, a ecocardiografia MM completa a informação fornecida pelas imagens 2D, fazendo o registo dos movimentos detalhados das estruturas cardíacas (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

#### **1.2.4 Ecocardiografia Doppler**

A ecocardiografia Doppler foi desenvolvida para permitir obter directamente a quantificação dos fluxos sanguíneos. Esta técnica baseia-se na aplicação do efeito de Doppler à ecocardiografia 2D, permitindo determinar com elevada resolução temporal, a velocidade absoluta e o perfil da velocidade do fluxo sanguíneo em diferentes pontos do coração e dos vasos (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

O efeito Doppler consiste na variação da frequência que ocorre entre um feixe de ondas ultra-sónicas emitido e recebido, após ser reflectido por uma superfície em movimento (neste caso os eritrócitos). Na prática clínica, um cristal piezoeléctrico emite ultrasons que sofrem uma variação de frequência ao chocarem com os eritrócitos em suspensão no sangue, sendo detectada pelo transdutor; a variação da frequência dos ultrasons fornece informação

sobre a velocidade das células sanguíneas que se deslocam no sangue (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

O efeito de Doppler traduz-se na variação de frequência,  $\Delta F$  que se verifica quando o som que é emitido por uma fonte com frequência  $F_e$  e que é propagado num meio com velocidade  $c$  (aproximadamente 1560 m/s para o sangue), choca com um receptor que se move a uma velocidade  $v$  e cuja direcção de deslocamento faz um ângulo  $\theta$  com a direcção do feixe emitido, sendo retransmitido de volta, a uma frequência diferente,  $F_r$ . O desvio  $\Delta F$  (variação da frequência do som) é calculado pela equação:

$$\Delta F = F_r - F_e = 2 F_e \cdot v \cdot \cos \theta / c$$

A partir da equação indicada é possível determinar a velocidade do fluxo sanguíneo:

$$v = (\Delta F \cdot c) / (2 F_e \cdot \cos \theta)$$

Da equação apresentada acima, concluiu-se que o ângulo de incidência do feixe Doppler na direcção do fluxo deve ser próximo de zero, para que o  $\cos \theta$  seja aproximadamente 1 e não ultrapasse valores entre 15 e 20°, para não ser subestimada a velocidade medida. Se o fluxo for perpendicular ao feixe Doppler não será registado, uma vez que o  $\cos$  de 90° é zero (Masuyama *et al.*, 1986; Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011).

Os modos mais comuns da ecocardiografia Doppler espectral são o Doppler pulsado e o Doppler contínuo. No modo pulsado um único cristal emite e recebe os ultrasons; emite um breve feixe de ultrasons a determinada frequência, a frequência de repetição pulsada. A variação de frequência máxima que pode ser determinada, a frequência Nyquist é metade da frequência emitida (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

Com o Doppler Pulsado é possível identificar as características do fluxo a estudar em determinada localização e num determinado volume, regulando o posicionamento da “amostra de volume” definida por dois traços paralelos em determinado local do eixo do sector de imagem ecocardiográfica (cursor).

No modo Doppler pulsado, quando uma amostra de volume é posicionada numa zona escolhida da imagem 2D permite determinar a velocidade instantânea do fluxo nesse local, bem como visualizar o espectro da velocidade do fluxo ao longo do tempo. Esta técnica permite ainda escolher o local exacto nas estruturas anatómicas onde se pretende estudar a velocidade dos fluxos; no entanto só permite a medição de velocidades baixas (não superiores a 1,5 m/s), o que constitui um factor de limitação desta técnica (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

As velocidades dos fluxos obtidos por Doppler pulsado são representadas no eixo “y” de um espectro, e o tempo é representado no eixo “x”. Qualquer sinal registado acima da linha base do espectro indica que o fluxo se aproxima do transdutor. Qualquer sinal registado abaixo da mesma linha indica que o fluxo se afasta do transdutor. Se a variação de frequência registada for superior à frequência de Nyquist (que representa a variação da frequência máxima que pode ser interpretada com precisão em uma unidade de ultra-som pulsado Doppler), ocorrem ecos fantasma (*aliasing*), que são registados no lado oposto da linha base (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

O modo Doppler contínuo surgiu quando é aumentada a frequência de repetição da emissão pulsada até a emissão ser contínua, em que o transdutor tem dois cristais, um que emite e outro que recebe o sinal ultra-sónico. O Doppler contínuo apresenta uma melhor relação “sinal-ruído” e permite a medição de velocidades elevadas sem ambiguidades (Jae K. Oh *et al.*, 2007). A principal vantagem do Doppler contínuo é a sua capacidade para medir com precisão fluxos sanguíneos de elevada velocidade. Na verdade, o Doppler contínuo pode registar com precisão as velocidades mais elevadas em qualquer doença cardíaca valvular e congénita. Uma vez que nestas situações são frequentemente medidas velocidades superiores a 1.5 m/s, as medições com precisão, de velocidades elevadas têm uma particular importância para permitir o reconhecimento completo do perfil de fluxo anormal; também tem uma importância considerável na avaliação quantitativa dos fluxos anormais (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

Através da ecocardiografia Doppler é possível obter informações fisiológicas directas sobre o carácter laminar ou turbulento e sobre a direcção dos fluxos sanguíneos; esta técnica permite, realizar um estudo hemodinâmico não-invasivo através da medição de gradientes de pressão, de áreas das válvulas e das pressões intracardíacas (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

### **1.2.5 Doppler-cor**

As imagens do Doppler-cor representam a velocidade dos fluxos num código de cores sobre as imagens 2D e baseiam-se nos mesmos princípios do Doppler pulsado. Esta técnica utiliza múltiplos campos de amostragem, em conjunto com múltiplos feixes de ultrasons. A variação de frequência é medida em cada campo de amostragem e é posteriormente convertida em formato digital, automaticamente correlacionada com um código de cores e apresentada sobre a imagem 2D. Os fluxos que se aproximam do transdutor são codificados a

cor vermelha; os fluxos que se afastam do transdutor são codificados a cor azul. A velocidade destes fluxos é simulada por uma escala de intensidade de cor: quanto mais intensa é a cor, mais elevada é a velocidade do fluxo. Os fluxos turbulentos que são caracterizados por movimentos do sangue em múltiplas direcções e com múltiplas velocidades apresentam elevada variância e, em alguns mapas são codificados a verde (Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011).

O fenómeno de *aliasing* que pode ocorrer no Doppler espectral, também se observa no modo Doppler-cor, não sendo neste caso um factor de limitação. Nesta técnica, o *aliasing* dá origem a um efeito gráfico que ajuda na identificação de áreas de velocidade distintas no mapa de cores. Num exame ecocardiográfico o Doppler-cor tem principalmente objectivos qualitativos; no Doppler espectral o exame obtém dados quantitativos (Jae K. Oh *et al.*, 2007).

### **1.2.6 Ecocardiografia de contraste**

O sangue produz sinais de eco que normalmente não são visíveis. As frequências utilizadas em diagnóstico são baixas. Os ultrasons produzidos pelos eritrócitos são 1.000 a 10.000 vezes mais fracos que os produzidos pelos tecidos (Jae K. Oh *et al.*, 2007; Chahal & Senior, 2010).

A ecocardiografia de contraste baseia-se na detecção do sinal acústico emitido por microbolhas presentes no compartimento vascular. As microbolhas quando são atingidas por ultrasons oscilam na ordem de dois milhões de vezes por segundo emitindo ondas de ultrasons (Chahal & Senior, 2010).

É frequente a utilização endovenosa de solução salina agitada como agente de contraste ultra-sonográfico para o diagnóstico de *shunt* inter-atrial. Esta é uma das indicações para a utilização deste agente de contraste, pois o tamanho das microbolhas e a sua estabilidade impedem-nas de passar a rede capilar pulmonar e de permanecerem activas o tempo suficiente para conseguirem opacificar o ventrículo esquerdo (Arndt & Oyama, 2008; Ettinger & Feldman, 2010).

Avanços recentes na tecnologia de desenvolvimento de microbolhas conduziram à obtenção de agentes de contraste com possibilidade de opacificar a cavidade ventricular esquerda e de permitir o estudo da sua função. A associação do contraste à ecocardiografia veio melhorar o grau de definição das imagens. A ecocardiografia de contraste passou a ser

uma nova área que tem vindo a ser implementada de forma progressiva, pois, esta técnica permite melhorar a definição do endocárdio, intensificar o sinal Doppler e observar em tempo real o fluxo de sangue cavitário (Mulvagh *et al.*, 2000; Høglund *et al.*, 2007).

A ecocardiografia com contraste é utilizada de forma a opacificar o VE e desta forma, obter uma melhor definição da interface entre a cavidade e o endocárdio. Esta técnica permite-nos maior rigor nas medições de áreas, volumes e fracção de ejeção e maior sensibilidade no diagnóstico das alterações segmentares da cinética (Thomson *et al.*, 2001; Chahal & Senior, 2010).

Em exames tecnicamente de maior dificuldade por deficiente janela acústica (obesidade, fibrose intercostal e musculatura) e dificuldade de acesso a janelas acústicas é frequente não ser possível obter imagens e espectros Doppler dos fluxos com suficiente qualidade (Chahal & Senior, 2010; Boon, 2011). Contudo nos cães, a anatomia assim como a posição do coração diferem do coração humano uma vez que este último tem um tórax “liso”, enquanto os cães tem um tórax de conformação “profunda”, variando a profundidade entre raças. A obesidade parece ao contrário do Homem, não ser um problema tão comum, não levando por isso à perda de qualidade ecocardiográfica. Estes factores contribuem desta forma para uma elevada qualidade de imagem ecocardiográfica bidimensional na maioria dos cães comparativamente ao homem (Høglund *et al.*, 2007).

O aumento de intensidade do sinal Doppler é outra das aplicações da ecocardiografia de contraste. A ecocardiografia de contraste permite obter melhor definição do envelope espectral, possibilitando medições mais correctas, menor variabilidade inter-observador e reduzir o tempo de execução dos exames (Mulvagh *et al.*, 2000; Høglund *et al.*, 2007).

Além das aplicações referidas, está descrita outra vantagem da ecocardiografia de contraste que consiste na possibilidade de observar o padrão do fluxo de sangue dentro da cavidade do VE. Um fluxo vertical, homogéneo e direccionado para o ápex está relacionado em 91% dos casos com normal função ventricular esquerda e sem alterações da cinética segmentar. Um fluxo mais heterogéneo com fenómeno de “*swirling*” (turbilhão, remoinho) está relacionado em 99% dos casos com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo e com alterações da cinética em um ou dois segmentos (Thanigaraj S *et al.*, 2000).

### 1.2.6.1 Agentes de contraste

A necessidade de obter imagens com melhor definição e de visualizar fluxos de sangue de baixo volume e de baixa velocidade impulsionou a investigação de agentes de contraste ultra-sonográfico (Mulvagh *et al.*, 2000).

A primeira referência à utilização de agente de contraste intravascular data de 1980 em que Gramiak injectou uma solução salina directamente na artéria aorta. Desde os trabalhos de Gramiak há cerca de trinta e cinco anos que se tem assistido a uma importante evolução na obtenção de produtos de contraste para utilização em diagnóstico imagiológico ecocardiográfico (Gramiak & Shah, 1968; Carroll BA *et al.*, 1980).

Os agentes de contraste são formados por milhares de “microbolhas”. O princípio básico da aplicação das microbolhas como agentes de contraste baseia-se na diferença de impedância entre as microbolhas e os tecidos vizinhos. A maior diferença de impedância observa-se com microbolhas de gás. Quando as microbolhas são sujeitas a um campo de ultrasons apresentam oscilações volumétricas, e reflectem sinais acústicos. Mesmo em baixas concentrações as microbolhas são bons reflectores de ultrasons. Os ultrasons reflectidos pelas microbolhas contêm harmónicas. O aumento de sinal acústico provocado pelas microbolhas quando injectadas na circulação permite a identificação do fluxo de sangue em que essas microbolhas estão inseridas (Hoglund *et al.*, 2007).

A composição, diâmetro e estabilidade das microbolhas são propriedades importantes que em última análise definem a qualidade do agente de contraste. Todo o trabalho de investigação para a obtenção da microbolha ideal tem sido baseado no conhecimento das características dos agentes de contraste em particular das suas propriedades físicas e do comportamento das microbolhas perante um feixe de ultrasons num meio biológico (Hoglund *et al.*, 2007).

O agente de contraste ultra-sonográfico ideal terá de satisfazer simultaneamente os seguintes critérios: ser inerte, misturar-se uniformemente com o sangue, permanecer no compartimento intravascular, ser suficientemente estável e apresentar um comportamento idêntico aos glóbulos vermelhos. Para satisfazer estas condições, as microbolhas têm de ter volumes pequenos para passar nos capilares, ser encapsuladas e conterem um determinado gás. Esta cápsula é formada por substâncias que lhes permite ser resistentes mas não serem facilmente destruídas além de lhes permitir ter bastante elasticidade para poderem sofrer

alterações da sua forma através do fenómeno de compressibilidade e expansibilidade, quando sujeitas a um campo acústico (Hoglund *et al.*, 2007).

### **1.2.6.2 Características Físicas das Microbolhas**

#### ***A – Dimensões***

As microbolhas são injectadas na circulação venosa periférica e passam a barreira capilar pulmonar. Para isso ser possível foi preciso desenvolver microbolhas com diâmetros inferiores a 8µm. Os primeiros meios de contraste utilizados foram a dextrose sujeita a intensa sonificação e produtos iodados rádio-opacos utilizados na angiografia. Estes agentes formavam microbolhas de grandes diâmetros que ficavam presas na microcirculação coronária e interferiam com o fluxo coronário (Gillam *et al.*, 1985; Moore *et al.*, 1986).

Este problema técnico foi ultrapassado com formação de microbolhas encapsuladas, de menores diâmetros. É o caso do primeiro agente deste tipo, o Alburnex com diâmetros de 4 µm (Christiansen *et al.*, 1994). Contudo a cápsula da microbolha, constituída por albumina, ao fim de algum tempo permite a difusão dos gases nela contidos, com diminuição do diâmetro da microbolha e perda da capacidade de gerar sinais acústicos suficientemente intensos e durante um período de tempo adequado (de Jong & Hoff, 1993).

#### ***B – Estabilidade***

A relação entre o tamanho da microbolha, a constituição da cápsula e o tipo de gás nela contido é complexa de se definir e dela depende a característica e comportamento do agente de contraste. Os agentes de contraste são substâncias colóides formadas por uma fase contínua representada pelo meio de emulsão e uma fase descontínua formada pelas microbolhas que devem estar homogeneamente dispersas na fase contínua. As microbolhas são compressíveis e quando são sujeitas a campos de ultrasons além de os reflectirem, variam o seu volume, pelas suas características de compressibilidade e expansibilidade, o que gera também a emissão de ultrasons. Esta propriedade é explorada quando se executa ecocardiografia de contraste (Kaul, 1997a, b).

### ***C – Hemorreologia***

As microbolhas são verdadeiros marcadores intravasculares, ao contrário do que acontece com outros produtos de contraste utilizados em técnicas de imagem que se difundem para o espaço extravascular ou são captados pelos miócitos. As microbolhas utilizadas para estudos da microcirculação coronária têm um tamanho e uma reologia semelhante à dos eritrócitos (Jayaweera *et al.*, 1994; Fisher *et al.*, 2002).

A sua distribuição intravascular e a sua velocidade média são idênticas às dos glóbulos vermelhos. A composição da cápsula das microbolhas tem importância na interação com o endotélio e na sua captação pelo sistema retículo endotelial. Microbolhas com lípidos na sua cápsula e cargas electrostáticas negativas na sua superfície podem ficar presas nos capilares, pela relação que promovem com o endotélio (Skyba *et al.*, 1998).

### ***D – Segurança***

Os efeitos biológicos dos ultrasons dividem-se em três áreas: aumento de temperatura dos tecidos por processo de adsorção, alteração da permeabilidade da membrana celular, geração de radicais de oxigénio. Alguns destes aspectos são aproveitados para aplicação dos ultrasons no tratamento de células neoplásicas. No tecido muscular esquelético foram observadas pequenas rupturas de capilares associadas à destruição de microbolhas por ultrasons (Skyba *et al.*, 1998). Este fenómeno não tem repercussão a nível da fibra muscular e estimula a neovascularização (Song *et al.*, 2002).

#### **1.2.6.3 Tipos de Microbolhas**

O primeiro agente de contraste ultra-sonográfico a ser comercializado em Portugal foi o Levovist®. Posteriormente seguiram-se o Optison® e o SonoVue®. Nos EUA estão autorizados outros agentes de contraste conforme a Tabela 1.

Para qualquer dos agentes de contraste indicados a velocidade a que infundem é variável caso a caso, sendo o objectivo principal obter uma concentração óptima de produto de contraste em circulação (Hoglund *et al.*, 2007).

**Tabela 1** – Características dos agentes de contraste mais utilizados.

Nome	Indústria	Cápsula	Gás	Diâmetro
◆Albunex®	Molecular Byosystems	Albumina	Ar	4,3 µm
*Levovist®	Schering	Galactose/ palmitato	Ar	2 – 4 µm
*#Optison®	Malilinkrodt Medical	Albumina	Octafluoropropano	3,9 µm
*#SonoVue®	Bracco Imaging	Fosfolípido	Hexafluoreto de enxofre	2,5 µm
#Definity®	Dupont Pharmaceuticals	Fosfolípido	Octafluoropropano	1- 3 µm
#Imagent®	Schering	Surfactante	Perflexano	6,0 µm

\*Aprovado em Portugal

#Aprovado nos Estados Unidos da América

◆Actualmente não comercializado

### **SonoVue®**

O SonoVue® (Bracco) foi lançado no mercado em Outubro de 2001. É um agente de contraste ultra-sonográfico de segunda geração, com melhoria significativa de comportamento das microbolhas em relação quer à resistência aos ultrasons quer à elasticidade da sua cápsula que a torna mais ecogénica. Estas características permitem-lhe ser utilizado facilmente em tempo real ou de forma destrutiva. Nesta forma é utilizada uma emissão de ultrasons com elevado índice mecânico que destroem as microbolhas dando origem a um aumento súbito e muito acentuado da emissão de ultrasons (de Jong & Hoff, 1993; Schneider, 1999, 2000).

O SonoVue® é apresentado com um conjunto completo de ampola diluente e produto anidro liofilizado. A suspensão do produto faz-se em 5 ml de cloreto de sódio 0,9% e é administrado em bólus ou em infusão, com agitação permanente da seringa para manter as microbolhas em suspensão. Pode ser utilizado por um período até seis horas após a sua reconstituição. Cada mililitro de suspensão tem cerca de 8 µl de microbolhas. Os bólus podem conter entre 0,5 a 1,0 ml e a infusão faz-se à velocidade de 0,5 a 1,5 ml/min (Schneider, 1999, 2000).

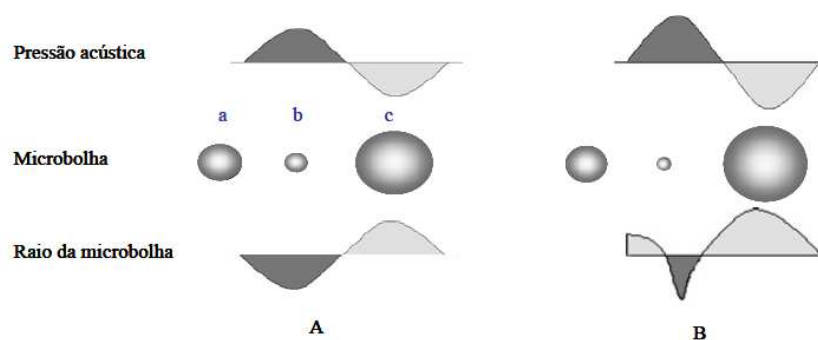
#### 1.2.6.4 Microbolhas e Ultrasons

É fundamental compreender os fenómenos relacionados com a interacção das microbolhas com um feixe de ultrasons. Um campo de ultrasons é formado por um conjunto de ondas concêntricas que se movem (de Jong *et al.*, 2002; Kollmann & Putzer, 2005).

Quando estas ondas viajam através dos tecidos, varia a pressão dos fluidos neles incluídos. As bolhas de gás, que formam os agentes de contraste, são muito elásticas e quando sujeitas a variações de pressão sofrem variações do seu volume, diminuindo com o aumento de pressão e expandindo-se com a sua diminuição. Esta variação de volume designa-se oscilação. Sob uma frequência de 3 MHz uma microbolha oscila cerca de dois milhões de vezes por segundo, transformando-se numa fonte de som que é emitido radialmente. Ao conjunto de sons que chegam ao transdutor e são constituídos pelos ultrasons emitidos pelas microbolhas designa-se “ultrasom reflectido” (Burns, 1997; Chin & Burns, 2000; Burns, 2002; Wilson & Burns, 2006).

A ecocardiografia de contraste baseia-se na possibilidade de identificar os ultrasons reflectidos pelas microbolhas diferenciando-os dos ultrasons emitidos pelos tecidos. É possível obter um aumento significativo do sinal ultra-sonográfico com a injeção E.V. de uma pequena quantidade de microbolhas, porque são cerca de 100 milhões de vezes mais reflectoras que os glóbulos vermelhos. As microbolhas apresentam maior compressibilidade que os tecidos. O comportamento da microbolhas não é igual quando são expostas a diferentes pressões de ultrasons (Wei *et al.*, 1997; Lindner & Wei, 2002).

Para as mesmas pressões de ultrasons os tecidos por sua vez não apresentam o mesmo tipo de comportamento que as microbolhas. A quantidade de energia ultrasónica emitida pelas sondas de ecocardiografia é traduzida pelo índice mecânico que representa a frequência de transmissão e a potência de transmissão. Do equilíbrio entre estes dois parâmetros resulta a maior ou menor destruição da microbolhas quando sujeitas a um campo de ultrasons como representado na figura 1 (Wei *et al.*, 1997; Lindner & Wei, 2002).



**Figura 1** - Relação entre o volume e raio da microbolha e a pressão acústica. Observa-se a variação da resposta oscilatória das microbolhas sujeitas a diferentes grandezas de pressão acústica: Em A para pressões acústicas com amplitudes baixas observa-se a microbolha passar de um volume normal (a) para um volume menor (b) e para um volume maior (c) respectivamente na fase de pressão positiva e negativa. Em B observa-se para pressões acústicas de maior amplitude de oscilação da microbolha (Lindner & Wei, 2002).

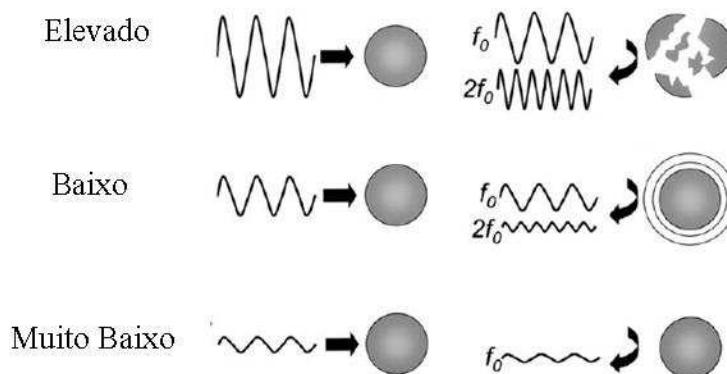
Para pressões baixas, <100 Kpa, que correspondem a índices mecânicos baixos as microbolhas produzem aumento da reflexão dos ultrasons de forma linear traduzido por aumento do sinal ecográfico. A partir de pressões de 100 Kpa as microbolhas passam também a emitir ondas em frequências não lineares, as harmónicas. A partir de 1 Mpa começa a haver destruição das microbolhas com emissão de ondas com grande amplitude (Lindner & Wei, 2002).

### 1.2.6.5 Técnicas de Imagem

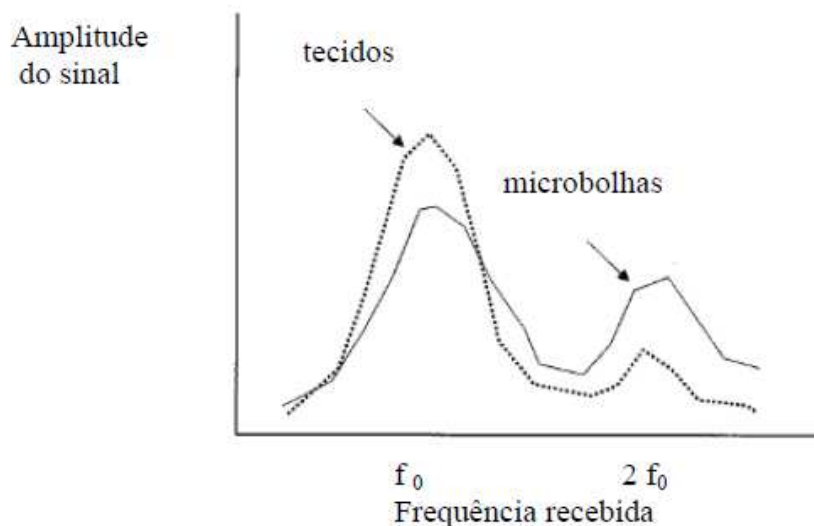
O objectivo da utilização de técnicas de imagem em ecocardiografia de contraste do miocárdio foi de início a detecção de contraste na microcirculação coronária. Quando se executa o ecocardiograma com contraste a imagem obtida é o conjunto de ecos provenientes dos tecidos, de ecos provenientes das microbolhas e do chamado “ruído” de fundo relacionado com características do próprio equipamento (Burns, 1997).

Nos últimos anos a investigação nesta área tem conseguido encontrar soluções mais aperfeiçoadas para separar os ecos provenientes destas três diferentes origens. A sensibilidade destas técnicas traduz-se pela capacidade de separar os ecos provenientes das microbolhas dos ecos provenientes do “ruído” geral. A especificidade representa a capacidade de separar os sinais dos tecidos dos sinais das microbolhas. Verificam-se ainda diferentes padrões de resposta das microbolhas em função da potência acústica (Figura 2 e Figura 3) (Lindner & Wei, 2002).

### Índice Mecânico



**Figura 2** – Diferentes padrões de resposta das microbolhas em função da potência acústica (índice mecânico). Para potências muito baixas a microbolha responde com oscilações lineares que produzem ondas acústicas na frequência fundamental ( $f_0$ ). Para potências baixas a microbolha responde com oscilações não lineares que produzem ondas acústicas em ambas as frequências, fundamental ( $f_0$ ) e harmónica ( $2f_0$ ). Para potências elevadas a microbolha rompe produzindo intensas ondas acústicas na frequência fundamental ( $f_0$ ) e harmónica ( $2f_0$ ). Esquema modificado de Lindner (Lindner & Wei, 2002).



**Figura 3** – Curvas que relacionam a amplitude do sinal recebido com a frequência recebida para os tecidos e para as microbolhas. A maior separação entre o valor das leituras faz-se para frequências recebidas com o dobro do valor da frequência fundamental ( $2f_0$ ). Esquema modificado de Lindner (Lindner & Wei, 2002).

Habitualmente em modo “fundamental” o equipamento transmite ultrasons a uma determinada frequência e recebe um conjunto de ecos lineares e harmónicas, produzidos pelas microbolhas e pelos tecidos (Figura 3)(Lindner & Wei, 2002; Wilson & Burns, 2006; Bevan et al., 2007). A possibilidade do equipamento filtrar os ecos recebidos de modo a receber só os harmónicos com frequência dupla ou tripla da frequência fundamental, permite uma melhor separação da origem dos ecos. Por coincidência os equipamentos emitem numa frequência média de 3 MHz que é a frequência de oscilação das microbolhas dos agentes de contraste .

Um outro aspecto que condiciona o tipo de exame é a forma como é utilizado o índice mecânico. Valores elevados de índice mecânico ( $> 0,2$ ) são destrutivos das microbolhas, geram sinais fortes, mas não permitem a execução do exame em tempo real, ao contrário de valores baixos de índice mecânico que não destroem as microbolhas ( $< 0,2$ ) e permitem a visualização do exame em tempo real. As técnicas que utilizam índice mecânico não destrutivo permitem associar simultaneamente o estudo da perfusão ao estudo da cinética do ventrículo esquerdo (Meza et al., 1996; Firschke et al., 1997; Chin & Burns, 2000; Burns, 2002; Wilson & Burns, 2006; Bevan et al., 2007).

## **Objectivos**

Optou-se por realizar este trabalho em cães para avaliar as potencialidades e vantagens das diferentes técnicas ecocardiográficas escolhidas. O objectivo deste trabalho foi o estudo de índices de função sistólica ventricular esquerda – a fracção de encurtamento, a fracção de ejeção e a velocidade sistólica tecidual – em 25 cães (*Canis lupus familiaris*), através da utilização de diferentes técnicas ecocardiográficas, como o Modo M, ecocardiografia bidimensional (2D), Doppler tecidual e a ecocardiografia de contraste; foi também objectivo deste trabalho melhorar a definição do endocárdio e possibilitar maior rigor no cálculo dos volumes ventriculares e na avaliação da função ventricular sistodiastólica global e regional, através da utilização de contraste ultrasonográfico. Pretendeu-se assim avaliar as potencialidades e as vantagens das técnicas escolhidas na definição das estruturas cardíacas e na optimização do estudo da função ventricular esquerda.

## Capítulo 2

### Material e Métodos

#### 2.1 População

Foram utilizados 25 indivíduos da espécie *Canis lupus familiaris* referenciados tanto para diversos procedimentos nos quais foi necessário realizar uma avaliação pré-anestésica como para avaliação cardíaca. Os animais tinham pesos compreendidos entre 25 e 45Kg. Cada animal funcionou como comparação consigo próprio, ou seja, foi efectuada uma ecocardiografia antes de administração de agente de contraste e após a administração deste. Desta forma, as duas ecocardiografias de cada animal foram analisadas e comparadas à posteriori.

A população do nosso estudo constitui uma amostra casual, ou seja uma amostra do tipo não probabilístico em que os elementos foram escolhidos em razão da sua presença na Referência Veterinária, na SOSVET e no consultório veterinário ZooLagos durante o período de 5 meses de estágio.

Foi feita a anamnese de todos os animais e realizados exames físicos gerais.

#### 2.2 Equipamento

Os exames ecocardiográficos realizados neste estudo foram efectuados com um equipamento de ultra-som, o ecógrafo GE vivid e®, com uma sonda 6s-rs com frequências entre 5 e 7 MHz. O ecógrafo está equipado com os vários modos ecocardiográficos – Modo M, Bidimensional, Doppler espectral, Doppler cor, Doppler tecidual e contraste.

O registo electrocardiográfico foi realizado utilizando os eléctrodos do ecocardiógrafo.

Foi utilizada uma mesa específica que maximiza a exposição da janela acústica e minimiza os artefactos além de proporcionar melhor conforto ao animal.

### **2.3 Preparação do agente de contraste**

O agente de contraste foi preparado antes da sua utilização injectando 5 ml de solução injectável de cloreto de sódio 9 mg/ml (0,9%) no conteúdo do frasco. O frasco foi sujeito a uma agitação vigorosa durante vinte segundos; posteriormente foi aspirado o volume desejado da dispersão pela seringa. Após a sua preparação foi administrado de imediato na veia cefálica.

No caso de não ser utilizado no imediato após a sua preparação, a dispersão das microbolhas deve ser agitada antes da sua aspiração pela seringa.

### **2.4 Exame ecocardiográfico**

Os exames ecocardiográficos foram realizados nos locais acima descritos num ambiente tranquilo e sem ruídos. Os animais examinados não foram sedados, nem foram sujeitos a qualquer período de jejum. Todos os animais estavam familiarizados com observação e exames em clínicas ou consultórios veterinários, bem como com o pessoal dos mesmos, pelo que não apresentavam sinais de stress evidente ou agitação.

A preparação do animal incluiu em primeiro lugar, rapar a área axilar esquerda e direita, uma vez que o pêlo pode causar perda da qualidade de imagem. Em todos os animais foi canulada a veia cefálica através de um cateter adequado a cada animal, ao qual foi acoplada uma torneira de três vias, um sistema de soro, a seringa de vidro do SonoVue® e uma seringa de 20 ml para administração de soro fisiológico.

A monitorização da actividade eléctrica do coração durante a realização de todo exame foi efectuada com a colocação de eléctrodos (pinças) nos dois membros anteriores e no posterior direito.

Os exames foram realizados, com o animal deitado, primeiro em decúbito lateral direito; nesta posição foram obtidas e registadas imagens em plano de curto eixo com MM para calcular posteriormente a fracção de encurtamento. Em seguida, o animal foi colocado em decúbito lateral esquerdo: numa primeira fase foram obtidas e registadas imagens de plano de quatro câmaras para o cálculo da fracção de ejeção do ventrículo esquerdo pelo método de Simpson, para o registo Doppler do fluxo mitral (diástole) e para o registo Doppler tecidual no anel mitral; numa segunda fase, já após efectuar a aquisição de imagens

de quatro câmaras, administrou-se de forma rápida e contínua cerca de 0,5 a 1 ml de contraste e subsequentemente 10 a 15 ml de soro fisiológico, aguardando então a observação da opacificação do ventrículo esquerdo e fazendo o registo dessas imagens, para calcular a fracção de ejeção do mesmo.

Antes da aquisição de imagem para opacificação do ventrículo esquerdo, foi ajustada a configuração do ecocardiógrafo, com o objectivo de otimizar as condições de aquisição de imagem com contraste. Foi reduzido o índice mecânico para eliminar as interferências de harmónicas provenientes dos tecidos, o efeito do movimento dos tecidos, para encurtar o tempo de aquisição de imagens, e aumentar a estabilidade das microbolhas.

## **2.5 Cálculo de Índices de Função Sistólica**

Os parâmetros de avaliação de função cardíaca, neste trabalho, foram obtidos das seguintes formas: a partir de medições lineares de imagens em MM, de dados volumétricos de imagens de ecocardiografia 2D com e sem contraste e pelo método do Doppler tecidual.

### **2.5.1 Cálculo da Fracção de Encurtamento**

A fracção de encurtamento (FEn) do ventrículo esquerdo é calculada a partir de imagens em modo M, resultantes do corte tomográfico em curto eixo ou longo eixo (imediatamente abaixo do plano da válvula mitral). A FEn é igual à razão entre a diferença do diâmetro interno ventricular em tele-diástole (DTD) e em tele-sístole (DTS) e o DTD, expresso em percentagem, e representa o encurtamento vertical do lúmen ventricular (Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011).

$$FEn = \frac{DTD - DTS}{DTD} \times 100$$

### **2.5.2 Cálculo da Fracção de Ejeção**

Em clínica a avaliação da função sistólica do ventrículo esquerdo efectua-se normalmente através da avaliação da Fracção de Ejeção.

Esta avaliação é frequentemente efectuada por duas formas:

a) Qualitativamente pela avaliação feita, por visualização subjectiva da contractilidade cardíaca global, que é dada pela percepção da dinâmica das imagens da sístole e da diástole durante o ciclo cardíaco. Operadores experientes conseguem por visualização subjectiva avaliar correctamente a fracção de ejeção.

b) Quantitativamente por métodos de determinação de volumes em tele-sístole e em tele-diástole e respectivo cálculo da fracção de ejeção.

O resultado da observação por visualização subjectiva de um “vídeo clip” pode parecer ser satisfatório levando o observador a interpretar como boa, a qualidade de visualização dos segmentos do ventrículo esquerdo, quando de facto assim não é. É frequente na avaliação da contractilidade e cálculo por visualização subjectiva da função ventricular esquerda considerar a qualidade das imagens satisfatória. Contudo existem alterações que não são perceptíveis ao olho humano quando as imagens (*frames*) são passadas a determinada velocidade. A capacidade do olho humano em discriminar pequenas alterações da cinética segmentar é melhorada com o treino e educação visual.

### 2.5.2.1 Avaliação Qualitativa

Para cada animal (no total de 21 cães do grupo de 25 cães) foi feita a análise qualitativa da definição visual dos segmentos do ventrículo esquerdo por observação de “vídeo clips” e por observação “imagem a imagem” durante o ciclo cardíaco, sem e com contraste. Foram analisados em plano apical de 4 câmaras os seis segmentos correspondentes ao septo interventricular basal, médio e apical e à parede lateral basal, média e apical (Fig 4).

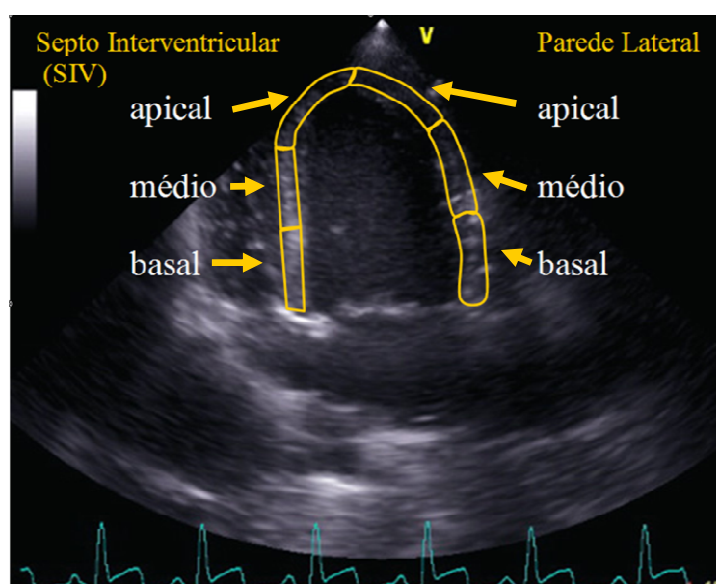


Figura 4 – Imagem do ventrículo esquerdo em plano apical de 4 câmaras com indicação dos diferentes segmentos do SIV e Parede lateral.

Aplicou-se uma escala de classificação em função da qualidade de definição visual dos respectivos segmentos do ventrículo esquerdo: 1 – mau, 2 – deficiente, 3 – suficiente, 4 – bom, 5 – muito bom.

- a) Análise da contractilidade do ventrículo esquerdo por visualização subjectiva e por “vídeo clip”.
- Por cada indivíduo foram analisados 5 “vídeo clips” sem contraste e 5 “vídeo clips” com contraste, cada “vídeo clip” contem cinco ciclos cardíacos consecutivos.
  - Para cada animal foram analisados 10 “vídeo clips”.
  - Foram analisados no total cerca de 210 “vídeo clips”.
- b) Análise visual da cinética segmentar do ventrículo esquerdo por “imagem a imagem”
- A análise dos seis segmentos foi efectuada “imagem a imagem” durante todo o ciclo cardíaco, cerca de 30 imagens por ciclo cardíaco.
  - Esta análise efectuou-se para 3 ciclos cardíacos consecutivos, total de 90 imagens.
  - Para cada animal, analisaram-se 3 ciclos cardíacos sem contraste e com contraste (180 imagens).
  - No total, para os 21 indivíduos, foram analisadas cerca de 3.780 imagens.

### 2.5.2.2 Avaliação Quantitativa

Quantificação de Volumes.

A medida mais usada em 2D para cálculo do volume ventricular é o método de Simpson modificado (método biplano de discos). O princípio subjacente a este método é o cálculo do volume total do ventrículo esquerdo a partir da soma de uma “pilha” de discos elípticos.

A determinação do volume ventricular esquerdo através do método modificado de Simpson consiste na soma dos discos elípticos usando a medida de comprimento do ventrículo esquerdo (L) a partir da vista apical de quatro câmaras e da área do ventrículo esquerdo na base (A[PSA-b]), médio (A[psa-m]) e apical (A[psa-a]) do ventrículo esquerdo na vista do eixo curto paraesternal (PSA):

$$\text{Volume}[V] = [(A[\text{psa} - b] + A[\text{psa} - m] \times L) \div 3] + [(A[\text{psa} - a] \times L) \div 6] + (L(3) \div 18)$$

O volume do ventrículo esquerdo foi medido a partir de um plano de quatro câmaras onde foi efectuado manualmente o contorno dos bordos do endocárdio. Automaticamente o software calcula o volume da câmara ventricular. Em cada animal calculou-se cinco vezes o volume sistólico e diastólico sem e com contraste, fazendo desta forma, vinte cálculos de volume em cada animal o que corresponde a um total de quatrocentos cálculos de volume realizados. Retirou-se o valor maior e menor e obteve-se a média dos restantes três.

#### Fracção de Ejecção

A fracção de ejeção (FEj) define a fracção do volume do ventrículo que é ejectado em cada ciclo cardíaco, expresso em percentagem, considerando o volume máximo na tele-diástole (VTD) e o volume mínimo na tele-sístole (VTS) (Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011):

$$FEj = \frac{VTD - VTS}{VTD} \times 100$$

Este é um dos índices mais utilizados para avaliar a função sistólica e pode ser utilizado independentemente do tamanho do ventrículo (Aurigemma *et al.*, 1995).

### 2.5.3 Cálculo da Velocidade Sistólica Tecidular

O Doppler tecidular é um novo método ecocardiográfico para analisar a função miocárdica global e segmentar. A técnica de Doppler tecidular (TDI) consiste em medir a velocidade do miocárdio durante a sístole e a diástole utilizando ultrasons de baixa frequência e de elevada amplitude (de Jong *et al.*, 2002; Boon, 2011).

As velocidades longitudinais do miocárdio foram obtidas a partir da vista apical de quatro câmaras. O cursor foi colocado na parede do septo interventricular e na parede livre do ventrículo esquerdo na zona do anel mitral registando em vídeo uma sequência de vários ciclos cardíacos para posterior análise.

Na imagem obtida temos a onda S' ou Sa (velocidade sistólica) que reflecte a função sistólica do ventrículo esquerdo. O movimento diastólico do miocárdio é negativo e representado em duas fases: E' ou Ea (enchimento ventricular rápido) que representa o estado de relaxamento miocárdico e A' ou Aa (enchimento ventricular correspondente à contracção

atrial) que tem vindo a ser correlacionada com a função atrial esquerda (Jae K. Oh *et al.*, 2007; Boon, 2011).

## 2.6 Metodologia de Tratamento de Dados e Análise Estatística de Resultados

O tratamento e a análise estatística dos dados recolhidos das imagens ecocardiográficas, seleccionadas a partir das imagens obtidas durante a realização dos exames ecocardiográficos na população em estudo, foram efectuados com recurso ao *software* estatístico “Analyse-it, version 2.20 (Copyright©1997-20011, Analyse-it Software, Ltd)”.

A população total estudada foi de 25 indivíduos; não foram sempre incluídos todos os indivíduos (por razões de definição das imagens) nos grupos para análise. Foram constituídos diferentes grupos para fazer a análise dos parâmetros calculados:

1 – **Fracção de Encurtamento (FEn)** – foram feitos dois grupos, um grupo com medições em MM em plano curto eixo (em 22 indivíduos), e um grupo com medições em MM em plano longo eixo (em 16 indivíduos).

Para cada grupo foi efectuada a análise estatística da distribuição.

Foi aplicado o teste de correlação de Pearson para análise da correlação dos valores da FEn em curto eixo e em longo eixo para o mesmo indivíduo (16 indivíduos).

2 – **Valores de Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado** – foram feitos dois grupos, um grupo com as medições das velocidades sistólicas (S) e diastólicas (E e A) no septo interventricular (siv), e um grupo com as medições das velocidades sistólicas (S) e diastólicas (E e A) na parede lateral (pl) do ventrículo esquerdo (os mesmos 24 indivíduos para cada um dos grupos).

Para cada grupo foi efectuada a análise estatística da distribuição.

Foi aplicado o teste de correlação de Pearson para análise da correlação dos valores da velocidade sistólica no siv e na pl.

3 – **Fracção de Ejecção por ecocardiografia Bidimensional** – foram feitos dois grupos, um grupo sem contraste (FEj sc), e um grupo com contraste (FEj cc), (os mesmos 21 cães para cada um dos grupos).

Para cada grupo foi efectuada a análise estatística da distribuição.

Foi aplicado o teste de correlação de Pearson para análise da correlação dos valores da FEj sc e FEj cc.

Foi efectuado o estudo comparativo de Student (teste T de Student) entre duas populações de FEj sc e FEj cc.

4 – **Relação entre os índices da função sistólica do ventrículo esquerdo** – foram feitos grupos para a relação entre os vários índices:

a) **Fracção de encurtamento vs Doppler tecidual** – foram feitos 3 grupos, um grupo com os valores da FEn em plano curto eixo, um grupo com os valores das velocidades sistólicas por Doppler tecidual no septo interventricular (S siv), e um grupo com os valores das velocidades sistólicas por Doppler tecidual na parede lateral (S pl) do ventrículo esquerdo.

Foi aplicado o teste de correlação de Pearson para análise da correlação entre os valores da FEn e os valores S siv e S pl (para os mesmos 21 cães para cada um dos grupos).

b) **Fracção de Encurtamento vs Fracção de Ejecção** – foram feitos 3 grupos, um grupo com os valores da FEn em plano curto eixo, um grupo com os valores da FEj sem contraste, e um grupo com os valores da FEj com contraste. Foi aplicado o teste de correlação de Pearson para análise da correlação entre os valores da FEn ce e os valores FEj sc e FEj cc (para os mesmos 18 cães para cada um dos grupos).

c) **Fracção de Ejecção vs Doppler tecidual** – foram feitos 4 grupos, um grupo com os valores da FEj sem contraste, um grupo com os valores da FEj com contraste, um grupo com os valores das velocidades sistólicas por Doppler tecidual no septo interventricular (S siv), e um grupo com os valores das velocidades sistólicas por Doppler tecidual na parede lateral (S pl) do ventrículo esquerdo.

Foi aplicado o teste de correlação de Pearson para análise da correlação entre os valores da FEj sc e S siv e S pl, e entre os valores de FEj cc e S siv e S pl (para os mesmos 21 cães para cada um dos grupos).

Os dados obtidos foram organizados da seguinte forma:

1. Os valores de classificação da qualidade das imagens, analisadas em “*video clip*” e “*imagem a imagem*”, foram introduzidos em tabelas como variáveis ordinais.
  - a. foram atribuídos valores numa escala de 1 a 5 em função da qualidade da imagem analisada segundo o seguinte critério:  
1 – não visualizado = mau, 2 – dificilmente visualizado = deficiente, 3 – visualizado = suficiente, 4 – bem visualizado = bom, 5 – muito bem visualizado = muito bom.
  - b. para cada segmento do ventrículo esquerdo analisado foi calculado um “score total” que resultou do somatório dos “scores” individuais.
2. Os valores calculados dos índices de função sistólica foram introduzidos em tabelas como variáveis quantitativas contínuas.
3. Foi efectuada análise estatística descritiva para as variáveis quantitativas, com cálculo do padrão de distribuição média e desvio padrão.
4. A normalidade das distribuições das amostras foi analisada através do teste de Shapiro-Wilk. A homogeneidade das variâncias foi determinada através do teste de Levene.
5. Foi analisada a correlação entre os diferentes índices de função sistólica do ventrículo esquerdo, aplicando o teste de correlação de Pearson, com cálculo do coeficiente de correlação (R) que traduz a direcção e a força de correlação entre duas variáveis
  - valor positivo de R revela que as variáveis se correlacionam positivamente.
  - valor de R mais próximo de 1,0 revela maior força de correlação.
6. Em todos os testes de hipóteses executados consideraram-se níveis de significância ( $\alpha$ ) de 0,05 e 0,01.

## Capítulo 3

### Resultados

#### 3.1 Qualidade das imagens de ecocardiografia 2D

As imagens ecocardiográficas 2D obtidas nos animais estudados foram em geral de boa qualidade, contudo a definição do bordo endocárdico e do contorno externo do ventrículo não foram sempre claramente visualizados.

A análise qualitativa, sem e com contraste, efectuada para cada animal está apresentada nas Tabelas 2,3, e 4:

- a) Análise da cinética segmentar do ventrículo esquerdo por avaliação subjectiva da observação de “vídeo clips”.

Tabela 2 – Classificação da qualidade de definição dos segmentos do ventrículo esquerdo analisados visualmente em “vídeo clip” sem e com contraste. (1 – mau, 2 – deficiente, 3 – suficiente, 4 – bom, 5 – muito bom).

Classificação de qualidade	Sem contraste	Com contraste
	1 a 5	1 a 5
média de qualidade	4,5	5
total de segmentos (6 x 21)	126	126
nº segmentos não visualizados	3	0
média de nº segmentos não visualizados	0,14	0
% de segmentos não visualizados	2,4%	0%

- b) Análise visual da cinética segmentar do ventrículo esquerdo por “imagem a imagem” (Figura 5).

Tabela 3 – Classificação da qualidade de definição dos segmentos do ventrículo esquerdo analisados visualmente “imagem a imagem” sem e com contraste. (1 – mau, 2 – deficiente, 3 – suficiente, 4 – bom, 5 – muito bom).

Classificação de qualidade	Sem contraste	Com contraste
	1 a 5	1 a 5
média de qualidade	3,95	5
total de segmentos (6 x 21)	126	126
nº segmentos não visualizados	17	0
média de nº segmentos não visualizados	0,81	0,0
% de segmentos não visualizados	13,5%	0%

Tabela 4 – Indicação do número de segmentos não visualizados para cada localização e no total, sem e com contraste, na análise efectuada imagem a imagem.

Localização dos segmentos não visualizados	SIV basal	SIV médio	SIV apical	Lateral apical	Lateral médio	Lateral basal	Nº total de segmentos não visualizados
Sem contraste	0	0	1	8	7	1	17
Com contraste	0	0	0	0	0	0	0

Em todos os casos foram visualizados com qualidade todos os segmentos do septo interventricular (SIV) excepto num caso em que não se conseguiu definir durante o ciclo cardíaco, particularmente em tele-sístole e em tele-diástole, o segmento SIV apical.

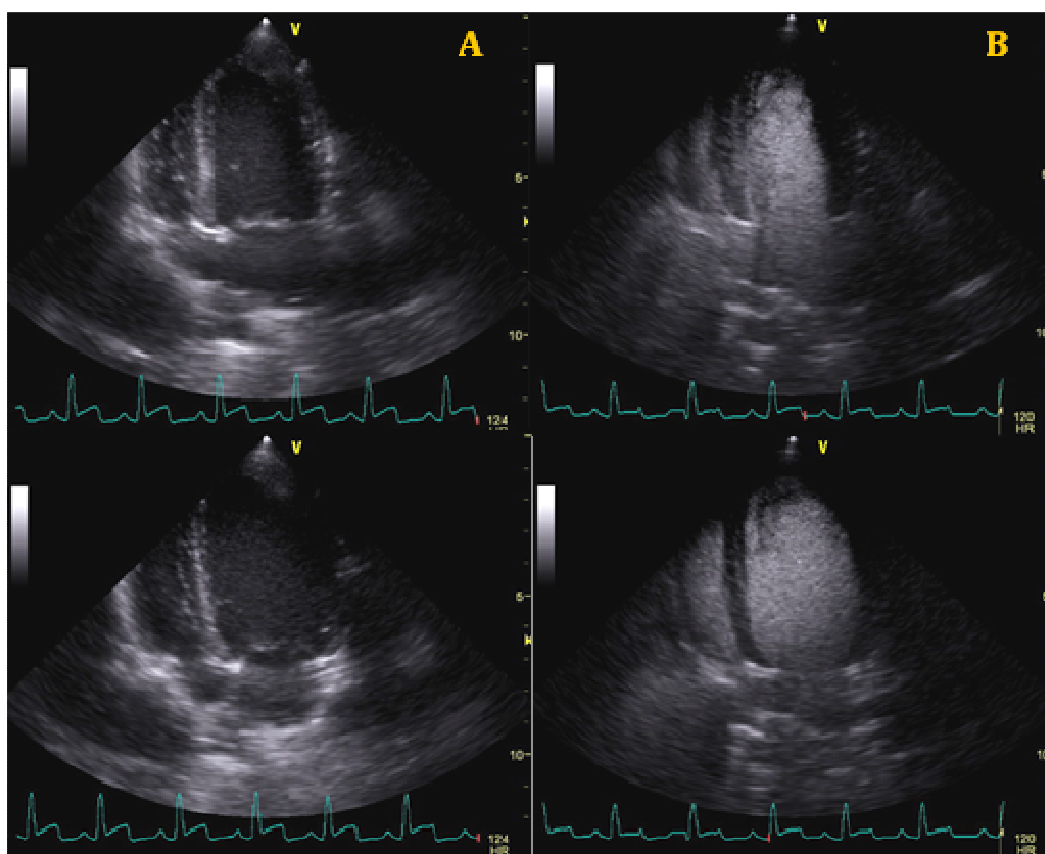


Figura 5 – Imagens do ventrículo esquerdo em plano apical de 4 câmaras em tele-sístole (A e B) e em tele-diástole (C e D), sem contraste (A e C) e com contraste (B e D)

Dos 21 casos:

- Em 10 todos, os segmentos foram correctamente visualizados
- Em 11 não foi possível visualizar correctamente um ou dois segmentos
- Em 6 não se visualizaram dois segmentos
- Em 5 não se visualizou um segmento
- Em 8 não foi possível visualizar correctamente o segmento apical da parede lateral.
- Em 7 não foi possível visualizar correctamente o segmento médio da parede lateral.
- Em 4 não foi possível visualizar correctamente dois segmentos, o médio e o apical da parede lateral.

### 3.2 Resultados dos Cálculos dos Índices de Função Cardíaca

#### 3.2.1 Resultados do cálculo da Fração de Encurtamento por Ecocardiografia Modo M

1 – Segundo a metodologia descrita foram adquiridas imagens em curto eixo e longo eixo do ventrículo esquerdo para cálculo da Fração de Encurtamento (Figura 6).

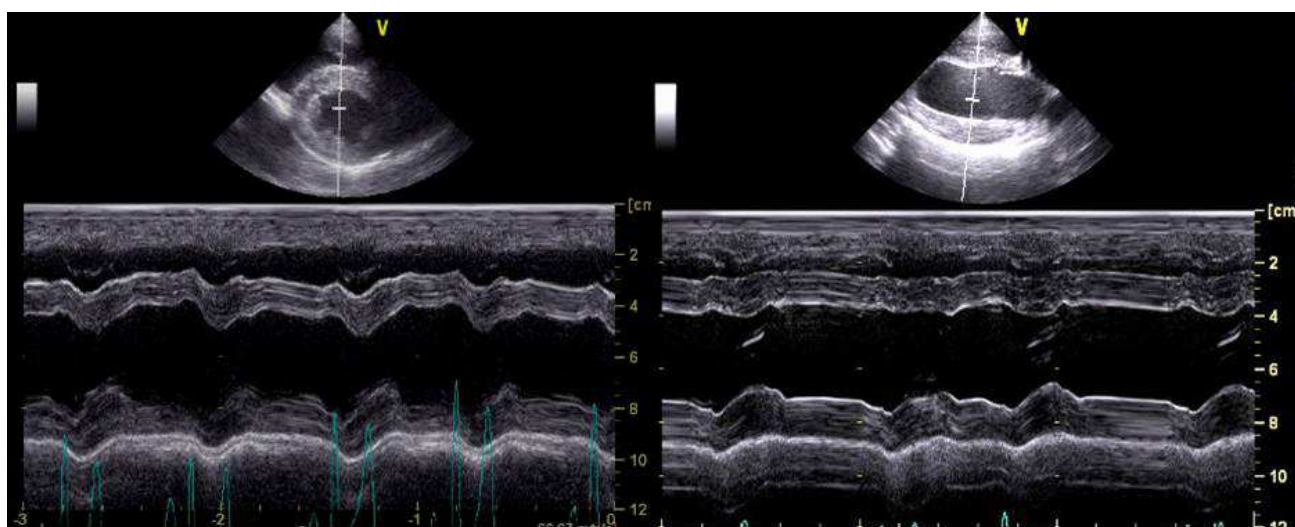


Figura 6 – Imagens de cortes ecotomográficos do ventrículo esquerdo para cálculo da fracção de encurtamento em curto eixo (A) e longo eixo (B). Em cada imagem está representada na parte superior pela imagem bidimensional, com o cursor a indicar o plano tomográfico, representado na parte inferior em modo-M.

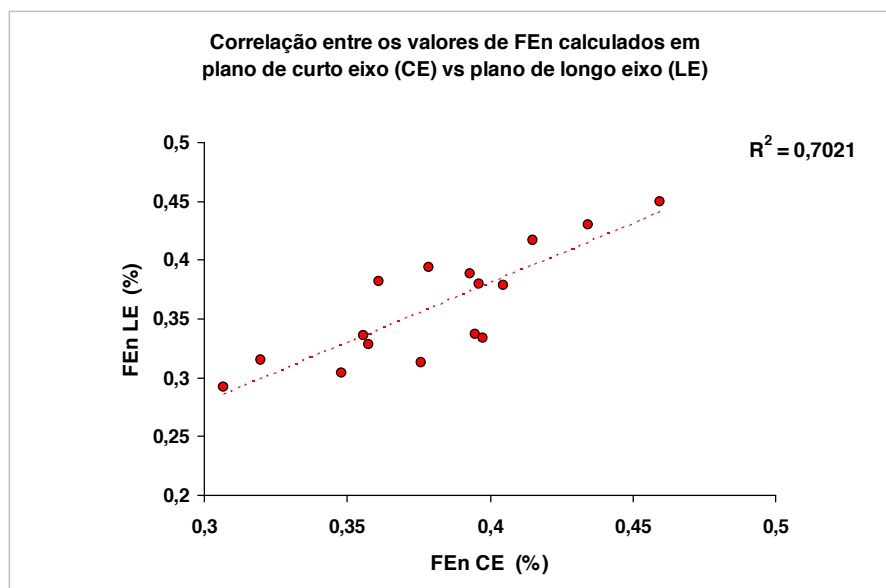
2 - Da análise estatística descritiva da distribuição dos valores da Fração de Encurtamento (FEn) em curto eixo foi obtido um valor médio = 38,2%, e um desvio padrão = 5,05, (Tabela 1A, Anexo A), a partir dos valores das medições lineares do ventrículo esquerdo (em mm) e os valores da fracção de encurtamento (em %) efectuados em 22 cães.

3 – Neste grupo de 16 cães, conforme apresentado na Tabela 5, e para cada cão, foi analisada a relação entre as medições da Fração de Encurtamento (FEn) efectuadas em modo-M curto eixo e em longo eixo. A correlação entre as medições da Fração de Encurtamento efectuadas em modo-M curto eixo e longo eixo, com referência ao valor de  $R^2 = 0,7021$ , está apresentada no Gráfico 1. Foi obtida uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, com um valor de  $p < 0,0001$  (Tabela 1B, Anexo B).

Tabela 5 – Valores lineares da espessura do septo interventricular em diástole (SIV), do diâmetro tele-diastólico (DTD), do diâmetro tele-sistólico (DTS), da espessura da parede livre em diástole (PPVE) efectuados em modo-M em curto eixo (CE) e longo eixo (LE); valores do cálculo da fracção de encurtamento (FEn).

Cão n°	Modo M CE					Modo M LE				
	SIV	DTD	PPVE	DTS	FEn CE	SIV	DTD	PPVE	DTS	FEn LE
	mm	mm	mm	mm	%	mm	mm	mm	mm	%
4	9,94	44,24	8,66	30,10	32,0%	9,0	45,8	6,7	31,4	31,5%
5	8,34	50,97	9,94	30,78	39,6%	9,9	43,9	8,3	27,3	38,0%
7	4,41	43,79	5,00	28,21	35,6%	8,5	37,6	7,4	25,0	33,6%
8	9,40	41,36	9,94	24,20	41,5%	11,1	43,4	9,7	25,3	41,7%
9	6,70	39,43	5,77	25,33	35,8%	9,6	42,0	11,2	28,2	32,8%
10	8,70	47,45	8,30	28,25	40,5%	8,2	43,3	8,3	26,9	37,9%
11	6,73	40,07	6,41	24,04	40,0%	7,1	36,8	7,1	22,8	38,2%
12	8,01	46,48	7,37	28,21	39,3%	7,2	47,6	8,9	29,1	38,9%
16	12,90	56,90	10,30	31,00	45,5%	9,6	48,0	9,6	33,0	31,3%
18	6,47	46,43	6,76	30,27	34,8%	7,4	34,7	6,8	24,2	30,4%
19	12,10	45,30	10,90	31,40	30,7%	9,9	47,5	6,7	33,6	29,1%
21	7,69	38,15	7,05	23,08	39,5%	8,6	34,3	7,1	22,8	33,6%
22	7,93	42,02	8,82	26,74	36,4%	8,52	43,00	9,40	23,70	44,9%
23	9,94	47,45	8,66	29,49	37,9%	7,45	44,57	8,49	27,00	39,4%
24	8,01	39,11	8,66	22,12	43,4%	8,66	36,90	7,69	21,00	43,1%
25	9,62	48,41	9,62	29,17	39,7%	8,34	42,00	9,62	28,00	33,3%

Gráfico 1 – Correlação de Pearson entre as medições da Fração de Encurtamento efectuadas em modo-M curto eixo e longo eixo, com referência ao valor de  $R^2$ .



### 3.2.2 Resultados do cálculo dos Valores de Velocidade Sistólica por Doppler Tecidualar

1 – Apresentam-se imagens adquiridas em plano apical de 4 câmaras do ventrículo esquerdo para cálculo das velocidades sistólicas tecidulares por Doppler Pulsado tecidualar (Figura 7).

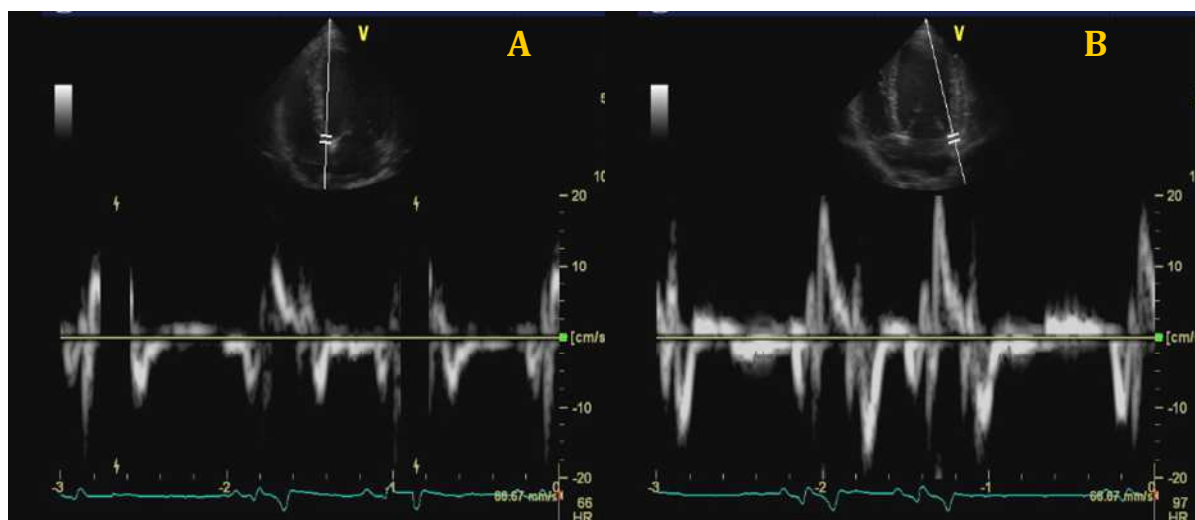


Figura 7 – Imagens em plano apical de 4 câmaras do ventrículo esquerdo com representação da posição da “amostra de volume” do Doppler Pulsado no plano do anel mitral no septo interventricular (A) e na parede lateral (B), com os respectivos registos espectrais (figuras em baixo) da velocidade tecidual em cm/s.

2 - São apresentados na Tabela 6, correspondendo a 24 cães, os valores das medições das velocidades sistólicas (S) e diastólicas (E e A) tecidulares (em m/s), por Doppler pulsado tecidular, em duas regiões da base do ventrículo esquerdo: a região do anel do septo interventricular e a região do anel da parede lateral.

As velocidades sistólicas a nível do septo interventricular (S siv) apresentaram um valor médio de 0,115 m/s, e um desvio padrão de 0,026 m/s (Tabela 2A, Anexo A).

As velocidades sistólicas a nível da parede lateral (S pl) apresentaram um valor médio de 0,177 m/s, e um desvio padrão de 0,033. (Tabela 3A, Anexo A).

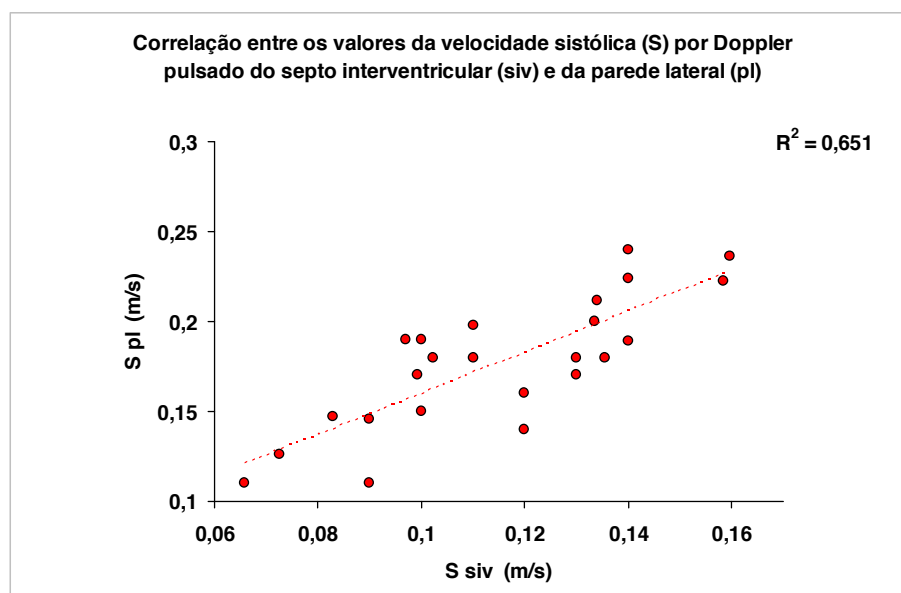
3 - A correlação obtida entre os valores das velocidades sistólicas (S) por Doppler tecidular a nível do septo interventricular basal (siv) e da parede lateral basal (pl), com referência ao valor de  $R^2 = 0,651$ , está apresentada no Gráfico 2.

Foi obtida uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, com um valor de  $p < 0,0003$  (Tabela 2B, Anexo B).

Tabela 6 – Valores das velocidades sistólicas (S) e diastólicas (E e A) tecidulares, analisadas por Doppler Pulsado Tecidular, a nível do anel mitral, em 4 câmaras apical, no septo inter-ventricular (siv) e na parede lateral (pl). O animal nº16 estava em fibrilhação atrial.

Cão nº	TDI SIV			TDI PL		
	S siv m/s	E m/s	A m/s	S pl m/s	E m/s	A m/s
1	0,14	0,10	0,09	0,24	0,20	0,13
2	0,10	0,09	0,07	0,19	0,18	0,08
4	0,09	0,09	0,06	0,11	0,10	0,08
5	0,13	0,10	0,13	0,20	0,18	0,11
6	0,10	0,10	0,08	0,17	0,16	0,10
7	0,10	0,07	0,12	0,18	0,09	0,14
8	0,14	0,08	0,13	0,18	0,09	0,17
9	0,12	0,08	0,14	0,14	0,11	0,09
10	0,14	0,11	0,11	0,22	0,19	0,18
11	0,11	0,00	0,07	0,18	0,17	0,05
12	0,08	0,08	0,11	0,15	0,12	0,16
13	0,07	0,07	0,09	0,11	0,10	0,10
14	0,12	0,13	0,06	0,16	0,19	0,13
15	0,13	0,10	0,06	0,17	0,18	0,08
16 *	0,10	0,13		0,19	0,14	
17	0,16	0,07	0,08	0,18	0,08	0,09
18	0,09	0,10	0,08	0,15	0,20	0,17
19	0,07	0,11	0,08	0,17	0,11	0,12
20	0,14	0,12	0,09	0,19	0,23	0,09
21	0,11	0,10	0,07	0,20	0,12	0,08
22	0,16	0,15	0,16	0,22	0,20	0,13
23	0,13	0,09	0,10	0,18	0,10	0,17
24	0,13	0,14	0,11	0,21	0,10	0,18
25	0,10	0,09	0,08	0,15	0,13	0,10

Gráfico 2 – Correlação de Pearson entre os valores das velocidades sistólicas por Doppler Tecidular a nível do septo interventricular basal e da parede lateral basal, com referência ao valor de R2.



### 3.2.3 Resultado do cálculo da Fracção de Ejeção por Ecocardiografia Bidimensional

1 – Segundo a metodologia descrita foram adquiridas imagens em apical 4 câmaras do ventrículo esquerdo sem e com a utilização de agente de contraste para cálculo da Fracção de Ejeção (Figura 8).

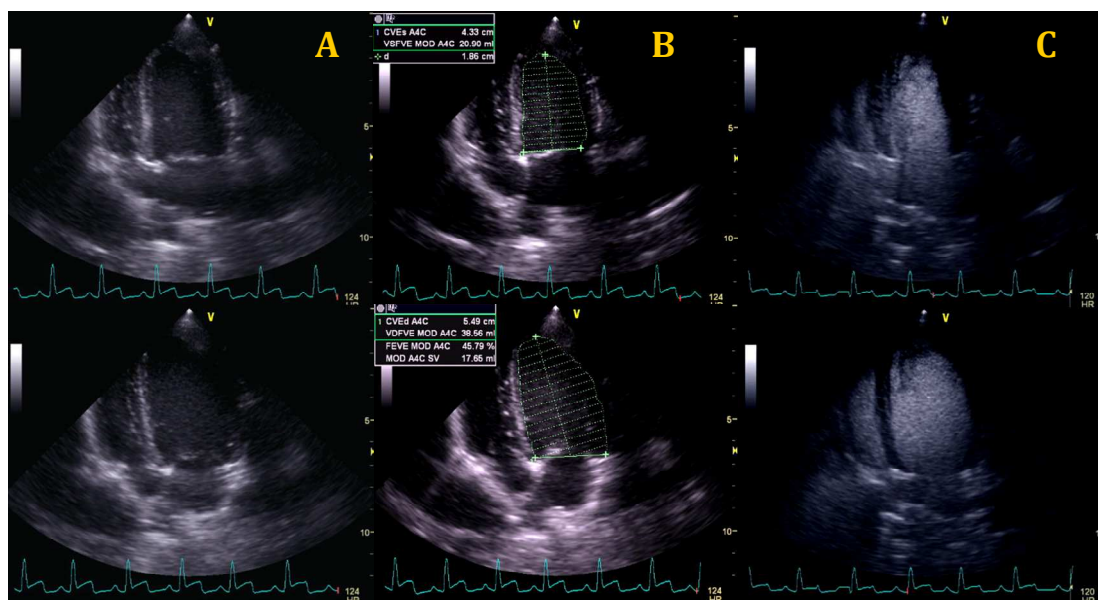


Figura 8 – Imagens do ventrículo esquerdo em apical 4 câmaras com representação do cálculo de volume pelo método de simpson (B). Em cima estão representadas imagens tele-sistólicas e em baixo tele-diastólicas, sem contraste (A, B) e com contraste (C)

2 – Foram obtidos para um grupo de 21 cães, os valores dos cálculos dos volumes tele-sistólicos (VTS) e tele-diastólicos (VTD) (em ml) obtidos a partir de imagens apicais de 4 câmaras do ventrículo esquerdo, sem e com a utilização de agente de contraste ultrasonográfico endovenoso, representados na Tabela 7. Foram obtidos os valores da Fracção de Ejeção (FEj) em % para cada animal, sem contraste (sc) e com contraste (cc), a partir dos VTS e VTD calculados, que se apresentam na Tabela 7.

3 – Foram obtidos para os VTS sc um valor médio de 21,5 ml, e um desvio padrão de 8,76 ml (Tabela 4A, Anexo A). Para os VTD sc obteve-se um valor médio de 51,1 ml, com um desvio padrão de 16,68 ml (Tabela 5A, Anexo A).

Os valores de FEj sc apresentaram um valor médio de 58,0 %, com um desvio padrão de 8,73 (Tabela 8A, Anexo A).

Foram obtidos para o VTS cc um valor médio = 24,17 ml, com um desvio padrão = 15,30 ml (Tabela 6A, Anexo A). Para os VTD cc obteve-se um valor médio = 51,18 ml, com um desvio padrão = 17,76 ml (Tabela 7A, Anexo A).

A FEj cc apresentou um valor médio = 53,3 %, com um desvio padrão = 11,10 (Tabela 9A, Anexo A).

São apresentados os gráficos da análise da relação encontrada entre os volumes tele-sistólicos ( $R^2 = 0,9253$ ) (Gráfico 3) e tele-diastólicos ( $R^2 = 0,7964$ ) (Gráfico 4) calculados em ml, sem e com a utilização de contraste ultra-sonográfico intravascular.

Foi obtida uma correlação positiva entre os VTS sem e com contraste, com um valor de  $p < 0,0001$ . (Tabela 3B, Anexo B). Foi obtida uma correlação positiva entre os VTD sem e com contraste, com um valor de  $p < 0,0001$ . (Tabela 4B, Anexo B).

É apresentada também a correlação entre os valor da Fração de Ejeção com e sem contraste ( $R^2 = 0,6587$ ) (Gráfico 5). Foi obtida uma correlação positiva entre os valores de FEj sem e com contraste, com um valor de  $p < 0,0001$ . (Tabela 5B, Anexo B).

A análise t-test para comparação entre grupos emparelhados revela um valor de  $t$  de 3,33 e de  $p = 0,0034$ , estatisticamente significativo (Tabela 14B, Anexo B).

Tabela 7 – Valores de volumes tele-sistólicos (VTS) e tele-diastólicos (VTD) calculados a partir de imagens ecocardiográficas em Bidimensional, via apical 4 câmaras. Os volumes (VOL) foram calculados sem (sc) e com (cc) a utilização de agente de contraste endovenoso SonoVue. Foi calculada a fração de ejeção (FEj) para cada animal sem e com contraste.

Cão nº	VOL sem contraste			VOL com contraste		
	VTS sc ml	VTD sc ml	FEj sc %	VTS cc ml	VTD cc ml	FEj cc %
1	17,0	48,0	64,6%	14,5	48,6	70,2%
2	25,0	57,3	56,4%	28,0	54,7	48,8%
4	22,6	51,5	56,1%	28,2	46,1	38,8%
6	25,0	64,3	61,1%	26,0	58,0	55,2%
7	15,3	30,9	50,5%	13,0	27,4	52,6%
8	14,8	46,0	67,8%	16,9	45,8	63,1%
10	15,5	47,4	67,3%	17,0	46,5	63,4%
11	21,3	42,4	49,6%	22,7	39,1	41,9%
12	29,0	64,7	55,2%	38,1	66,8	43,0%
13	25,0	45,3	44,9%	28,2	47,8	41,0%
14	13,3	37,3	64,4%	11,0	30,1	63,4%
15	10,4	28,5	63,5%	10,1	27,7	63,7%
16	44,3	83,3	46,8%	49,7	85,0	41,5%
18	17,0	31,8	46,6%	24,0	43,0	44,2%
19	36,8	64,8	43,2%	42,9	64,6	33,6%
20	20,8	64,0	67,5%	24,7	54,8	54,9%
21	14,4	33,8	57,5%	13,3	34,3	61,2%
22	12,2	48,4	74,8%	19,9	68,5	70,9%
23	31,2	76,9	59,5%	33,9	65,9	48,6%
24	12,8	29,0	55,7%	14,8	41,5	64,4%
25	26,9	77,0	65,1%	30,6	68,0	54,9%

Gráfico 3 – Correlação de Pearson entre os valores calculados dos volumes tele-sistólicos sem contraste (VTS sc) e com contraste (VTS cc), com referência ao valor de  $R^2$ .

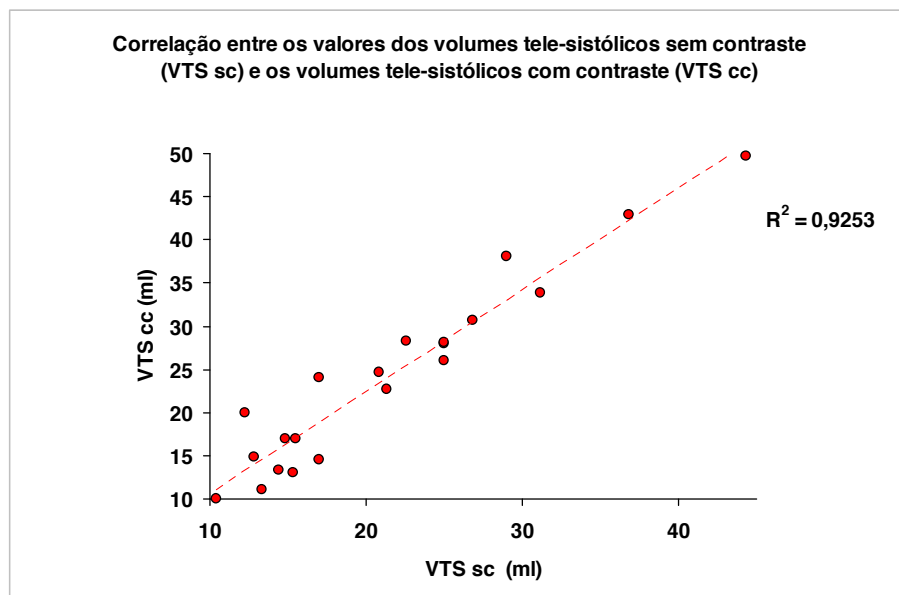


Gráfico 4 – Correlação de Pearson entre os valores calculados dos volumes tele-diastólicos sem contraste (VTD cc) e com contraste (VTD sc), com referência ao valor de  $R^2$ .

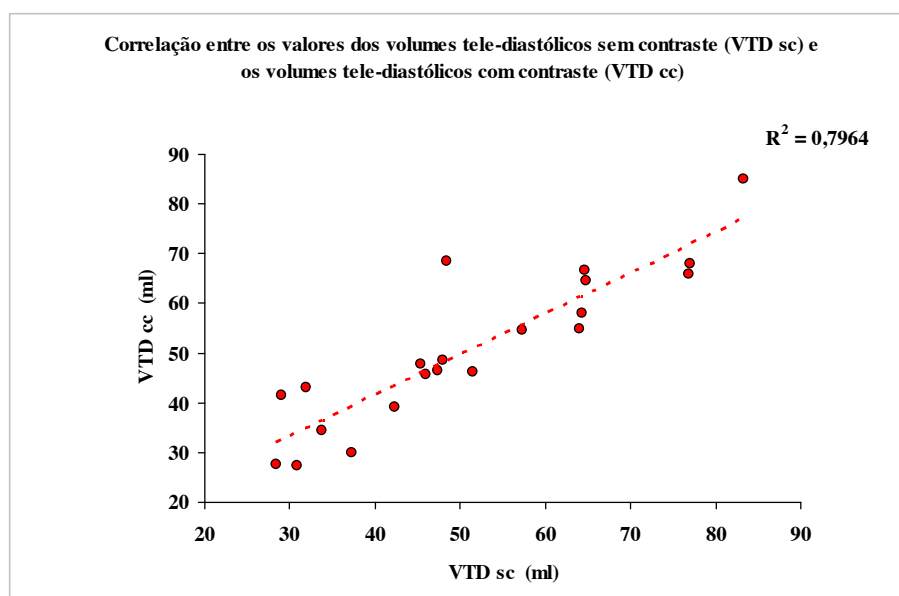
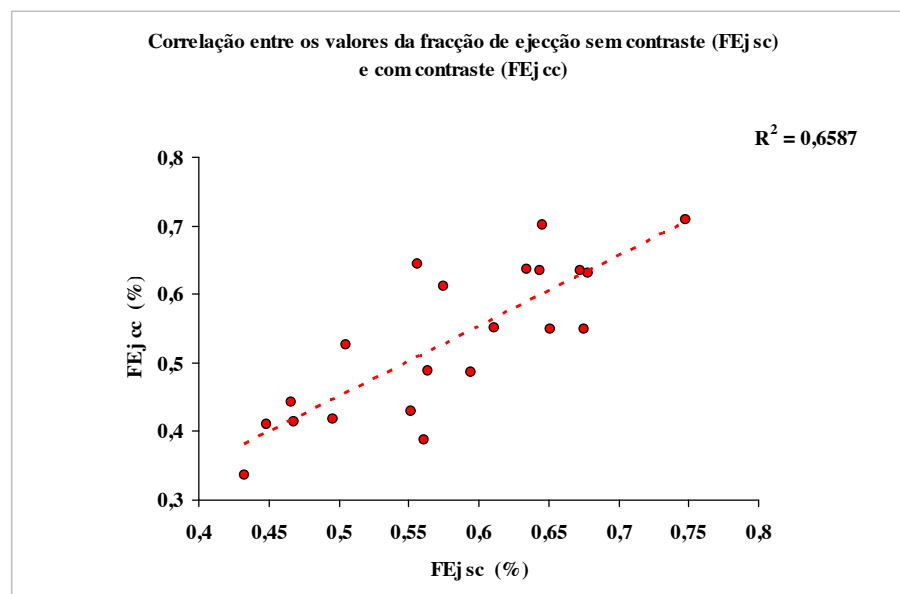


Gráfico 5 – Correlação entre os valores calculados da fracção de ejeção sem a utilização de contraste (FEj sc) e com a utilização de contraste (FEj cc), com referência ao valor de  $R^2$ .



### 3.2.4 Análise da Relação entre Índices de Função Sistólica do Ventrículo Esquerdo

#### 3.2.4.1 Fração de Encurtamento vs Doppler Tecidual

Foram obtidos da análise da relação dos valores da fracção de encurtamento medidas em curto eixo com os valores das velocidades sistólicas por Doppler tecidual a nível do plano basal no septo interventricular (S siv) um valor de  $R^2 = 0,7221$  (Gráfico 6) e parede lateral (S pl) um valor de  $R^2 = 0,4859$  (Gráfico 7).

Foi obtida uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, FEn e S siv, com um valor de  $p < 0,0001$  (Tabela 6B, Anexo B).

Foi obtida uma correlação positiva entre as variáveis analisadas, FEn e S pl, estatisticamente significativa  $p < 0,0004$  (Tabela 7B, Anexo B).

Gráfico 6 – Correlação entre os valores da Fração de Encurtamento efectuada em modo-M curto eixo e os valores da velocidade sistólica por Doppler Tecidualar (em cm/s) a nível do septo interventricular basal, com referência ao valor de  $R^2$ .

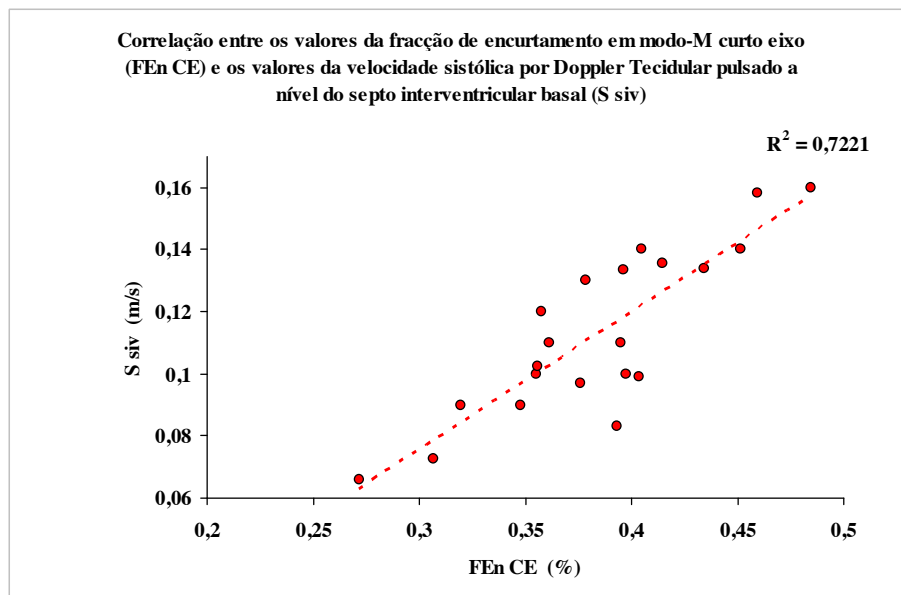
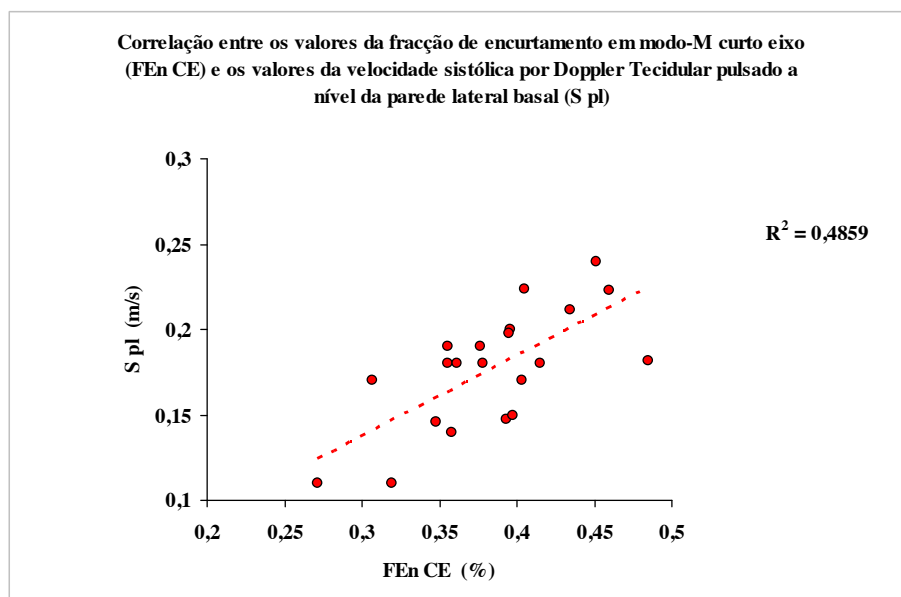


Gráfico 7 – Correlação entre os valores da Fração de Encurtamento efectuada em modo-M curto eixo e os valores da velocidade sistólica por Doppler Tecidualar (em cm/s) a nível da parede lateral basal, com referência ao valor de  $R^2$ .



### 3.2.4.2 Fracção de Encurtamento vs Fracção de Ejeção

São apresentados os gráficos referentes à análise comparativa entre a avaliação da função sistólica através da fracção de encurtamento por ecocardiografia em modo-M e através da fracção de ejeção por ecocardiografia bidimensional.

No gráfico 8 é apresentada a correlação entre a FEn e a FEj sem contraste ( $R^2 = 0,6157$ ); foi observada uma correlação positiva com  $p < 0,0001$  (Tabela 8B, Anexo B).

No gráfico 9 é apresentada a correlação entre a FEn e a FEj com contraste ( $R^2 = 0,7416$ ); foi observada uma correlação positiva com  $p < 0,0001$  (Tabela 9B, Anexo B).

Gráfico 8 – Relação entre os valores da Fracção de Encurtamento (FEn) em curto eixo e os valores da Fracção de Ejeção (Fej) sem contraste (sc)

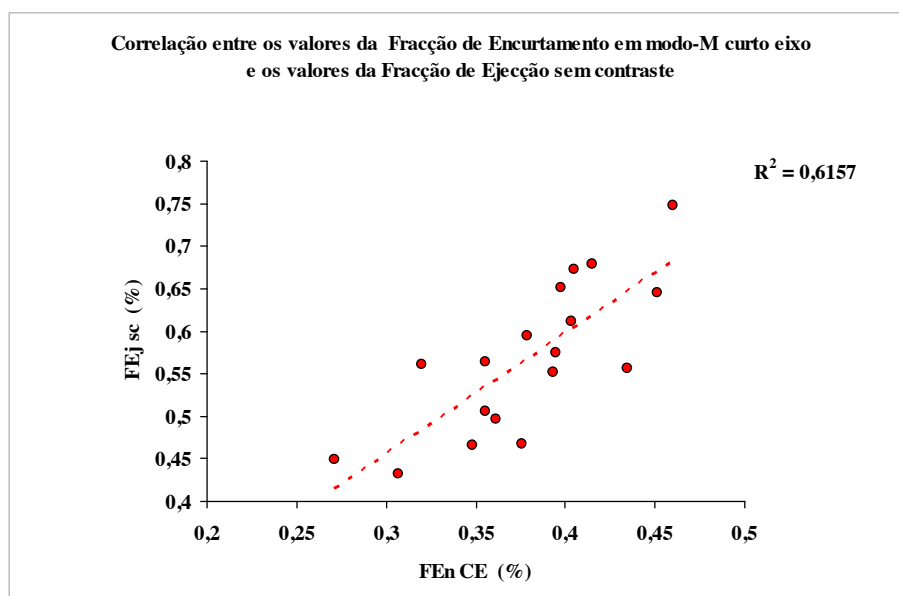
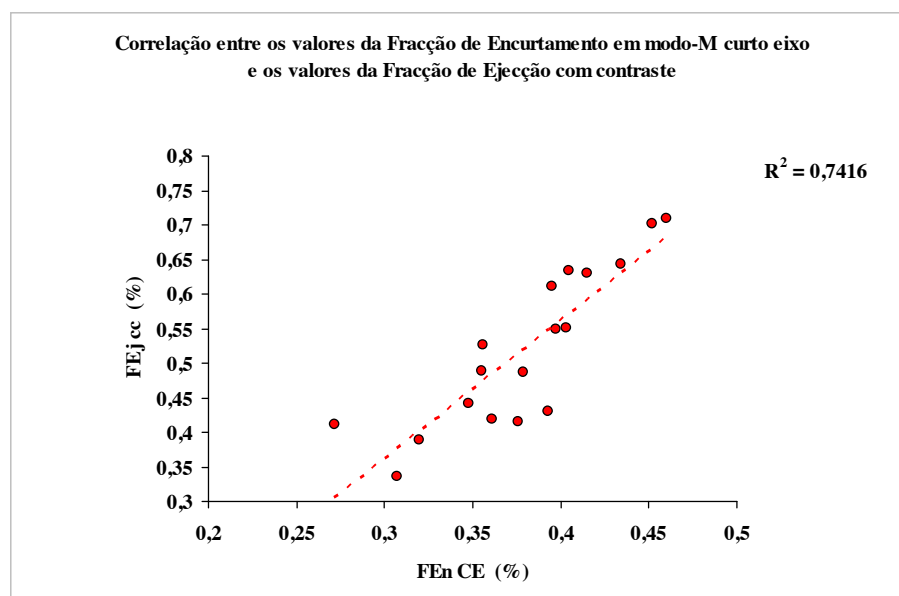


Gráfico 9 – Correlação de Pearson entre os valores da Fracção de Encurtamento (FEn) em curto eixo e os valores da Fracção de Ejeção (Fej) com contraste (cc)



### 3.2.4.3 Fração de Ejeção vs Doppler Tecidual

São apresentados os Gráficos (10,11,12 e 13) da análise estatística da correlação de Pearson entre a Fração de Ejeção calculada sem e com contraste (em %) e os valores da velocidade sistólica tecidual por Doppler Pulsado Tecidual (em m/s).

No gráfico 10 é apresentada a correlação entre os valores de S siv e da FEj sem contraste ( $R^2 = 0,6642$ ); foi observada uma correlação positiva com  $p < 0,0001$  (Tabela 10B, Anexo B).

No gráfico 11 apresentada a correlação entre de S siv e da FEj com contraste ( $R^2 = 0,7018$ ); foi observada uma correlação positiva com  $p < 0,0001$  (Tabela 11B, Anexo B).

No gráfico 12 é apresentada a correlação entre de S pl e da FEj sem contraste ( $R^2 = 0,2055$ ), mas estatisticamente não significativa  $p < 0,0390$  (Tabela 12B, Anexo B).

No gráfico 13 é apresentada a correlação entre a de S pl e da FEj com contraste ( $R^2 = 0,4374$ ), foi observada uma correlação positiva com  $p < 0,0011$  (Tabela 13B, Anexo B).

Gráfico 10 – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível do septo interventricular (S siv) e os valores da Fração de Ejeção (FEj) sem contraste (sc).

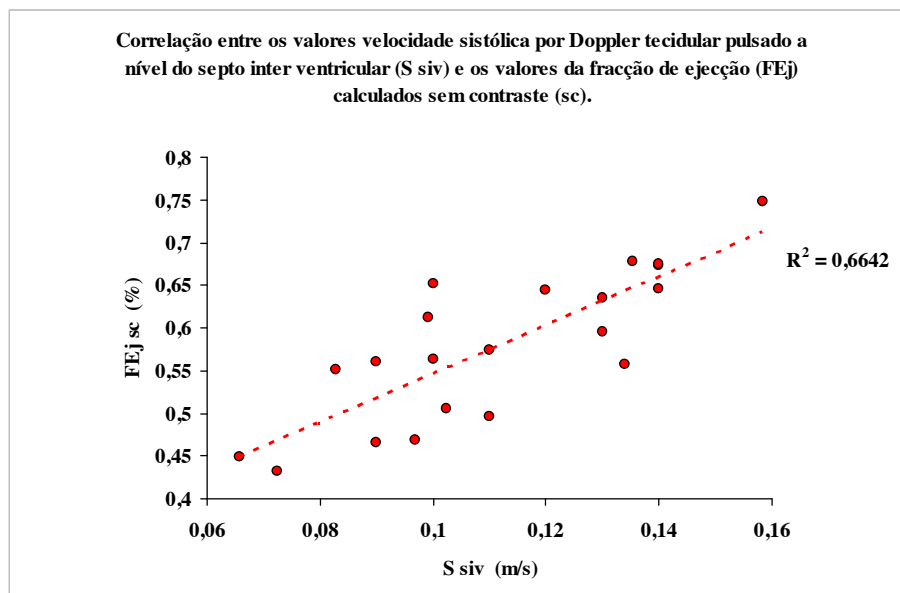


Gráfico 11 – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível do septo interventricular (S siv) e os valores da Fração de Ejeção (FEj) com contraste (cc).

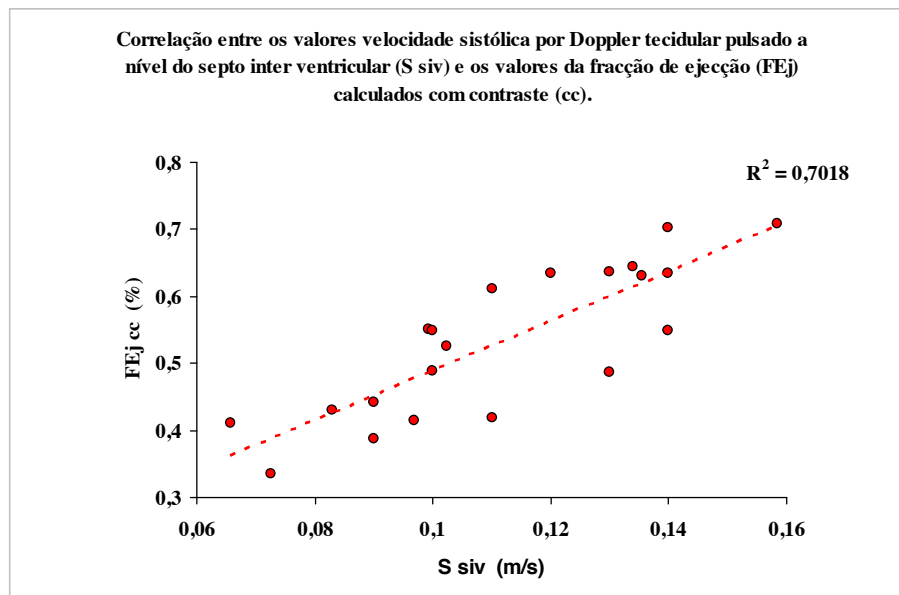


Gráfico 12 – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível da parede lateral (S pl) e os valores da Fração de Ejeção (FEj) sem contraste (sc).

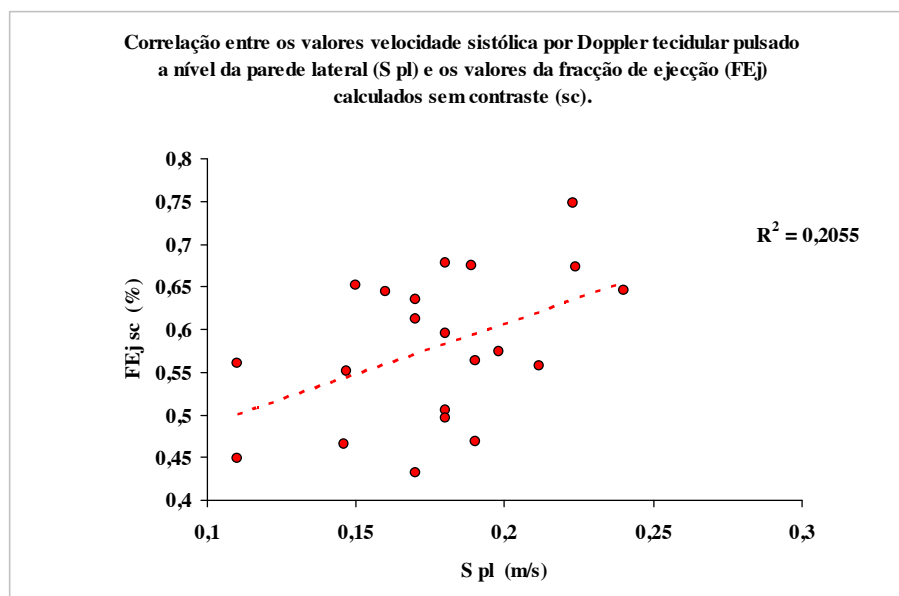
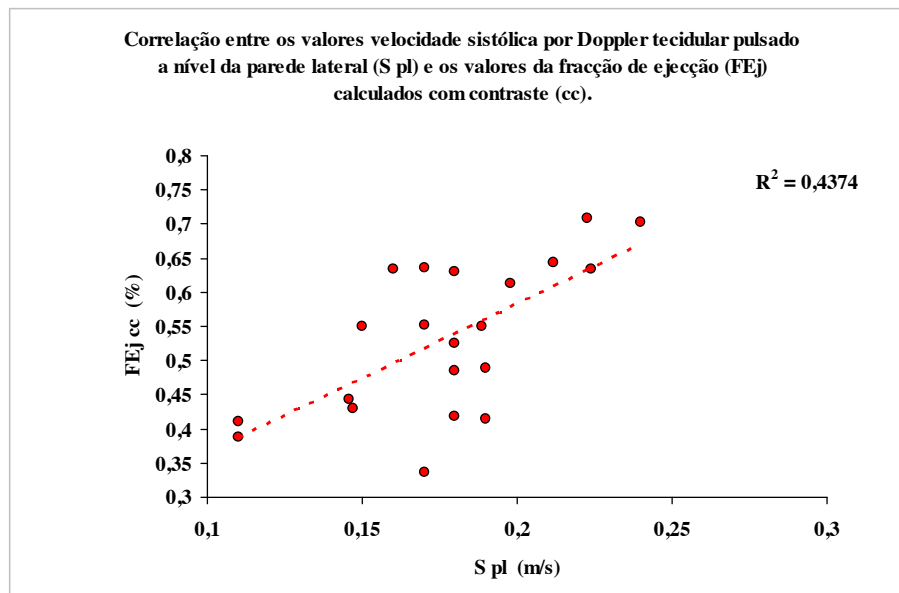


Gráfico 13 – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível da parede lateral (S pl) e os valores da Fração de Ejeção (FEj) com contraste (cc).



## Capítulo 4

### Discussão

Os resultados foram analisados do ponto de vista qualitativo e quantitativo. Face às características particulares de aquisição de imagens ecocardiográficas de qualidade que permitam a obtenção de dados quantitativos, são considerados aqui os diversos aspectos qualitativos e quantitativos obtidos neste trabalho.

A realização dos exames ecocardiográficos e a utilização de um agente de contraste para efectuar os estudos ecocardiográficos com visualização do contraste durante os exames, permitiu que fossem adquiridos importantes conhecimentos, quer em relação à estrutura e função cardíaca, quer relativamente às potencialidades destas técnicas para o diagnóstico de patologias cardíacas. Estes exames, muito dependentes do operador, requerem treino para a sua execução e para a indispensável observação e interpretação de todos os eventos ao longo de cada ciclo cardíaco, bem como, para a aquisição das imagens e dos parâmetros necessários para efectuar os cálculos da fracção de encurtamento, da velocidade sistólica tecidual, de volumes e da fracção de ejeção que são a seguir discutidos.

#### 4.1 - Fracção de Encurtamento

Habitualmente o cálculo da Fracção de Encurtamento é efectuado a partir de imagens em curto eixo. Os resultados obtidos revelam que o cálculo da Fracção de Encurtamento pode também ser efectuado com rigor a partir de imagens do ventrículo esquerdo em longo eixo. A análise da relação dos valores obtidos a partir de imagens em longo eixo *vs* curto eixo revelou uma correlação positiva e estatisticamente significativa. Os valores obtidos para a fracção de encurtamento foram sobreponíveis aos valores referidos na literatura (Boon, 2011).

#### 4.2 - Velocidade Sistólica tecidual por Doppler Pulsado

A técnica Doppler pulsado tecidual é uma técnica relativamente fácil de executar, e muito reprodutível, com uma variação inter-observador relativamente pequena. Das medições efectuadas, das velocidades sistólicas por Doppler pulsado tecidual, no anel mitral a nível do septo interventricular e da parede lateral, conclui-se que os valores obtidos neste trabalho foram também sobreponíveis aos referidos na literatura. Verificou-se existir uma correlação positiva e estatisticamente significativa entre os valores medidos nos dois locais do anel mitral.

### 4.3 - Fracção de Ejecção

O cálculo da Fracção de Ejecção foi efectuado a partir da razão entre volumes, diastólico e sistólico. O cálculo de volumes foi efectuado através do método de Simpson descrito na metodologia. Para aplicar o método de Simpson foi necessário traçar para cada imagem em sístole e em diástole o contorno do endocárdio do ventrículo esquerdo e como foi referido previamente é de fundamental importância existir uma clara definição de todos os segmentos da parede do ventrículo esquerdo.

Este trabalho revelou que, na prática, a execução da delineação do endocárdio pode apresentar dificuldades, se não existir uma razoável definição dos segmentos da parede do ventrículo esquerdo. Os valores de fracção de ejecção obtidos foram sobreponíveis aos referidos na literatura.

### 4.4 - Utilização de Contraste Ultrasonográfico

Uma vez que foi objectivo deste trabalho saber se a utilização de contraste ultrasonográfico poderia trazer uma mais valia, e de que forma o poderia fazer, na avaliação da função ventricular esquerda e de fracção de ejecção, os resultados obtidos podem ser discutidos por dois prismas diferentes, o aspecto qualitativo e o aspecto quantitativo.

Em termos quantitativos, apesar da análise dos resultados obtidos revelarem uma significância estatística entre a FEj calculada sem e com contraste, há que ter em conta que os cálculos obtidos a partir das imagens ecocardiográficas em 2D foram supervisionadas e corrigidos por médicos com maior experiência na técnica ecocardiográfica, reduzindo para o mínimo o erro introduzido por outros menos experientes. Daqui se deduz também que a utilização de contraste ultra-sonográfico para uma melhor definição da interface cavidade / paredes do ventrículo esquerdo permitirá em situações de menor experiência do operador ou de maior dificuldade técnica contribuir para melhorar os resultados finais. Será o caso em que as condições de execução dos exames não estejam optimizadas, como em animais em situações por exemplo de ventilação assistida, intervenção cirúrgica, politraumatizados. Nestas situações a utilização de contraste ultra-sonográfico poderá ser uma mais valia no diagnóstico e decisão clínica.

Do ponto de vista qualitativo, como os resultados revelaram, a adição de agente de contraste ultra-sonográfico ao exame ecocardiográfico 2D permite obter uma perfeita definição de toda a interface cavidade / parede e permite um maior rigor na definição das áreas a partir das quais se calculam os volumes. Esta definição não só é perceptível em imagens em movimento “*video clips*”, como em particular na análise de “*imagem a imagem*”.

Como foi referido no Capítulo 2, é importante sublinhar que a escolha das imagens para as medições a efectuar constituiu um factor determinante neste estudo, pois nem todas as imagens obtidas são apropriadas para efectuar a análise dos parâmetros para avaliar a função cardíaca. Foram considerados os seguintes aspectos principais na escolha das imagens:

1) é essencial a escolha de imagens com boa definição do endocárdio. Uma vez que é a partir de imagens do ventrículo esquerdo em apical 4 câmaras que se analisa a geometria e cinética do ventrículo esquerdo, é necessário que todos os segmentos da parede anterior e septo interventricular assim como os da parede lateral estejam bem definidos. Para que a quantificação a partir dessas imagens seja fiável é essencial uma visualização completa e clara das estruturas. Uma revisão de diversos ciclos cardíacos constitui um factor importante na escolha das imagens com estruturas de melhor definição. É também muito importante a orientação da sonda em relação às estruturas a estudar, pois os planos oblíquos das estruturas levam a medições erróneas (Kornbluth et al., 1998);

2) o outro aspecto essencial a considerar é a escolha do momento exacto do ciclo cardíaco para efectuar as medições. A definição clara da tele-sístole e da tele-diástole é essencial para o cálculo dos parâmetros funcionais. Para seleccionar as imagens para as medições foram usados em conjunto a observação visual do movimento das estruturas, o sinal electrocardiográfico e o registo Doppler do espectro de velocidade. É importante ainda destacar que a tele-sístole e a tele-diástole foram escolhidas tendo em conta o momento do ciclo cardíaco em que as áreas externa e interna do ventrículo são mínimas e máximas respectivamente e não correspondem obrigatoriamente à tele-sístole e à tele-diástole eléctrica (Kornbluth et al., 1998).

A capacidade do olho humano em discriminar pequenas alterações da cinética segmentar é melhorada com o treino e educação. Contudo existem alterações que não são perceptíveis ao olho humano quando as imagens (*frames*) são passadas a determinada velocidade. A ideia global, por vezes, é de existir uma determinada qualidade que quando se efectua a análise de imagem se verifica não existir. Isto acontece na avaliação a “olho nu” da função ventricular esquerda por ecocardiografia (Kornbluth et al., 1998).

O resultado da observação de um “*video clip*” pode ser satisfatória levando o observador a interpretar como sendo boa a qualidade de visualização dos segmentos, quando de facto, assim não é.

Em consequência dos resultados obtidos neste grupo de animais depreende-se que, a partir de imagens 2D, o cálculo da fracção de ejeção do ventrículo esquerdo, fica

comprometida no seu rigor em cerca de 50% dos casos. A planimetria em tele-sístole e em tele-diástole necessita de uma boa definição da interface entre a cavidade ventricular esquerda e o endocárdio.

A adição de agente de contraste ultra-sonográfico ao exame ecocardiográfico 2D permite obter uma perfeita definição de toda a interface cavidade / parede e permite um maior rigor na definição das áreas a partir das quais se calculam os volumes.

#### 4.5 - Relação entre os diferentes Índices de Função Sistólica

Da análise dos resultados obtidos no que respeita à relação entre os diferentes indicadores estudados entre si, foram encontradas as seguintes conclusões:

A relação entre os valores de fracção de encurtamento e os valores da velocidade sistólica do anel mitral por Doppler tecidual revelou existir uma correlação positiva e estatisticamente significativa para os valores medidos no septo interventricular.

À luz dos novos conceitos sobre mecânica cardíaca, a fracção de encurtamento é um parâmetro que revela a contracção circunferencial, mas que é fortemente condicionada pela função longitudinal. A incompressibilidade da massa ventricular durante o período de encurtamento longitudinal condiciona um aumento da espessura circunferencial (Stoylen *et al.*, 2000).

A relação entre os valores de fracção de encurtamento e os valores da fracção de ejeção revelou existir uma correlação positiva e estatisticamente significativa para os valores sem e com contraste.

Quando se analisou a relação entre a fracção de ejeção e as velocidades sistólicas tecidulares verificou-se existir uma correlação positiva e estatisticamente significativa quando os valores de velocidade tecidual eram medidos a nível do septo interventricular.

#### **Para o Futuro**

Devemos ter em conta diversos pontos importantes há cerca destes métodos de avaliação, para uma abordagem diferente em posteriores trabalhos a realizar.

Sabemos que historicamente o cálculo da fracção de encurtamento foi o método inicial para a avaliação da função sistólica do ventrículo esquerdo, e continua a ser um método amplamente aplicado na clínica; posteriormente surgiu o cálculo da função ventricular esquerda através do cálculo da fracção de ejeção.

Assim, enquanto o valor da fracção de encurtamento resulta de uma razão entre medidas lineares, o valor da fracção de ejeção resulta de uma razão entre volumes. O cálculo dos volumes é efectuado através de diferentes fórmulas, sendo a mais utilizada o método de Simpson (Lang *et al.*, 2005). Com este método é necessário traçar manualmente o bordo endocárdico em imagens do ciclo cardíaco em tele-sístole e em tele-diástole. Além de ser um método demorado na sua execução, exige treino e perícia de quem o executa, estando por isso muito dependente do operador. Também a qualidade de imagens não permite a sua aplicação em todos os casos, sendo os segmentos apico-laterais os que mais frequentemente limitam a utilização deste método. Este facto tem limitado a utilização de *softwares* para detecção e delimitação automática do endocárdio na prática clínica.

Com o objectivo de ultrapassar estas limitações, têm sido desenvolvidas novas técnicas.

A técnica Doppler Tecidual que consiste num método quantitativo e mais objectivo de análise da função ventricular esquerda. Mais recentemente surgiram derivados do Doppler Tecidual, o “*Strain*” e “*Strain Rate*” que permitem a análise da deformação do miocárdio.

Ainda mais recentemente o desenvolvimento de uma nova tecnologia, o “*Speckle Tracking*”, permitiu um novo avanço qualitativo. Esta técnica tem a vantagem de ser independente do ângulo e do ruído (Nishikage *et al.*, 2009).

Também alguns estudos demonstraram que a Ecocardiografia 3D em tempo real é mais rigorosa na avaliação de volumes do ventrículo esquerdo e da FEj quando comparada com a FEn por ecocardiografia modo-M ou com a FEj por ecocardiografia 2D (Corsi *et al.*, 2005; Ogawa *et al.*, 2006; Sugeng *et al.*, 2006; Hung *et al.*, 2007). Com esta técnica é possível medir automaticamente a deslocação dos segmentos do ventrículo esquerdo, a velocidade tecidual, *Strain*, *Strain rate* e *rotação* (Leitman *et al.*, 2004; Becker *et al.*, 2006; Takeuchi *et al.*, 2007). A variabilidade interobservador no cálculo dos volumes e FEj é menor com a nova técnica de *Speckle Tracking* em relação a todas as outras anteriormente conhecidas (Jenkins *et al.*, 2004; Sugeng *et al.*, 2006).

Face ao desenvolvimento das técnicas ecocardiográficas para a avaliação da função ventricular esquerda, há um vasto campo para desenvolver trabalho futuro no sentido de se poder melhorar a capacidade de diagnóstico e de seguimento dos doentes.

## Conclusão

Neste trabalho e neste grupo de animais os resultados dos cálculos dos índices de função sistólica do ventrículo esquerdo, fracção de encurtamento, fracção de ejeção, velocidade sistólica do anel mitral por Doppler Tecidual, foram sobreponíveis aos resultados referidos na literatura.

Estes exames requerem treino para a sua execução e para a indispensável observação e interpretação de todos os eventos ao longo de cada ciclo cardíaco, bem como, para a aquisição das imagens e dos parâmetros necessários para efectuar os cálculos dos volumes e dos padrões de fluxos.

Também os resultados obtidos revelaram que a utilização de contraste endovenoso, com o objectivo de obter melhor definição da interface cavidade e endocárdio, se traduziu numa mais valia no que se refere à definição do endocárdio particularmente em relação aos segmentos médio e apical da parede lateral de imagens do ventrículo esquerdo em 4 câmaras, permitindo visualizar, em todos os casos, todos os segmentos do ventrículo esquerdo. A utilização de contraste ultrasono-gráfico revelou-se estatisticamente significativa na avaliação e cálculo da fracção de ejeção.

Os resultados permitiram salientar que em muitos casos a definição do endocárdio do ventrículo esquerdo não tem a definição que se julga quando se observam imagens em “*video clip*”, como quando se observam em “*imagem a imagem*”. Foi ainda possível concluir que o Doppler tecidual revelou ser uma técnica consistente e reprodutível, e fácil de utilizar na avaliação da função sistólica longitudinal do ventrículo esquerdo.

A evolução do conhecimento da fisiopatologia e das metodologias de análise da função ventricular esquerda, com introdução de conceitos como a deformação longitudinal, circunferencial e radial, permitem também explicar a razão pela qual os índices de função sistólica utilizados não avaliam obrigatoriamente os mesmos parâmetros.

Face aos resultados apresentados em diversos trabalhos e às conclusões obtidas neste trabalho, propõe-se efectuar o presente estudo numa população com um número alargado de indivíduos para esclarecer as dúvidas agora levantadas. Por outro lado, também se propõe fazer a avaliação da função sistólica ventricular esquerda, utilizando as técnicas mais recentes desenvolvidas e que têm mostrado bons resultados, como o “*Strain*”, o “*Strain rate*” e “*Speckle Tracking*”.

Este estudo proporcionou nesta fase, uma valiosa aprendizagem da logística e de toda a metodologia para a realização dos exames ecocardiográficos, bem como da aplicação das novas técnicas ecocardiográficas, como o Doppler tecidual e a ecocardiografia de contraste que permitiu o estudo global e regional da morfologia e da função do ventrículo esquerdo.

## Bibliografia

### Bibliografia

- Agati, L., Tonti, G., Galiuto, L., Di Bello, V., Funaro, S., Madonna, M. P., et al. (2005). Quantification methods in contrast echocardiography. *Eur J Echocardiogr*, 6 Suppl 2, S14-20.
- Aggeli, C., Felekos, I., Tsiamis, E., Toutouzas, K., & Stefanadis, C. (2012). Contrast Echocardiography: An Update on Clinical Applications. *Curr Pharm Des*.
- Arndt, J. W., & Oyama, M. A. (2008). Agitated saline contrast echocardiography to diagnose a congenital heart defect in a dog. *J Vet Cardiol*, 10(2), 129-132.
- Aurigemma, G. P., Gaasch, W. H., Villegas, B., & Meyer, T. E. (1995). Noninvasive assessment of left ventricular mass, chamber volume, and contractile function. *Curr Probl Cardiol*, 20(6), 361-440.
- Becker, M., Hoffmann, R., Kuhl, H. P., Grawe, H., Katoh, M., Kramann, R., et al. (2006). Analysis of myocardial deformation based on ultrasonic pixel tracking to determine transmural myocardial infarction. *Eur Heart J*, 27(21), 2560-2566.
- Bevan, P. D., Karshafian, R., Tickner, E. G., & Burns, P. N. (2007). Quantitative measurement of ultrasound disruption of polymer-shelled microbubbles. *Ultrasound Med Biol*, 33(11), 1777-1786.
- Beyar R, & S., S. (1997). Dynamic interaction between myocardial contraction and coronary flow. *Adv Exp Med Biol*, 430, 123-137.
- Boon, J. A. (2011). *Veterinary Echocardiography* (Second ed.). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Burns, P. N. (1997). Overview of echo-enhanced vascular ultrasound imaging for clinical diagnosis in neurosonology. *J Neuroimaging*, 7 Suppl 1, S2-14.
- Burns, P. N. (2002). Instrumentation for contrast echocardiography. *Echocardiography*, 19(3), 241-258.
- Carroll BA, Turner RJ, Tickner EG, Boyle DB, & SW, Y. (1980). Gelatin encapsulated nitrogen microbubbles as ultrasonic contrast agents. *Invest Radiol*, 15, 260-266.
- Chahal, N. S., & Senior, R. (2010). Clinical applications of left ventricular opacification. *JACC Cardiovasc Imaging*, 3(2), 188-196.
- Chin, C. T., & Burns, P. N. (2000). Predicting the acoustic response of a microbubble population for contrast imaging in medical ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 26(8), 1293-1300.
- Christiansen, C., Kryvi, H., Sontum, P. C., & Skotland, T. (1994). Physical and biochemical characterization of Alburnex, a new ultrasound contrast agent consisting of air-filled albumin microspheres suspended in a solution of human albumin. *Biotechnol Appl Biochem*, 19 ( Pt 3), 307-320.
- Corsi, C., Lang, R. M., Veronesi, F., Weinert, L., Caiani, E. G., MacEneaney, P., et al. (2005). Volumetric quantification of global and regional left ventricular function from real-time three-dimensional echocardiographic images. *Circulation*, 112(8), 1161-1170.
- Cunningham, J. G. (2004). *Tratado de Fisiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Cunningham, J. G., & Klein, B. G. (2007). *Textbook of Veterinary Physiology* (Fourth ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- de Jong, N., Bouakaz, A., & Frinking, P. (2002). Basic acoustic properties of microbubbles. *Echocardiography*, 19(3), 229-240.

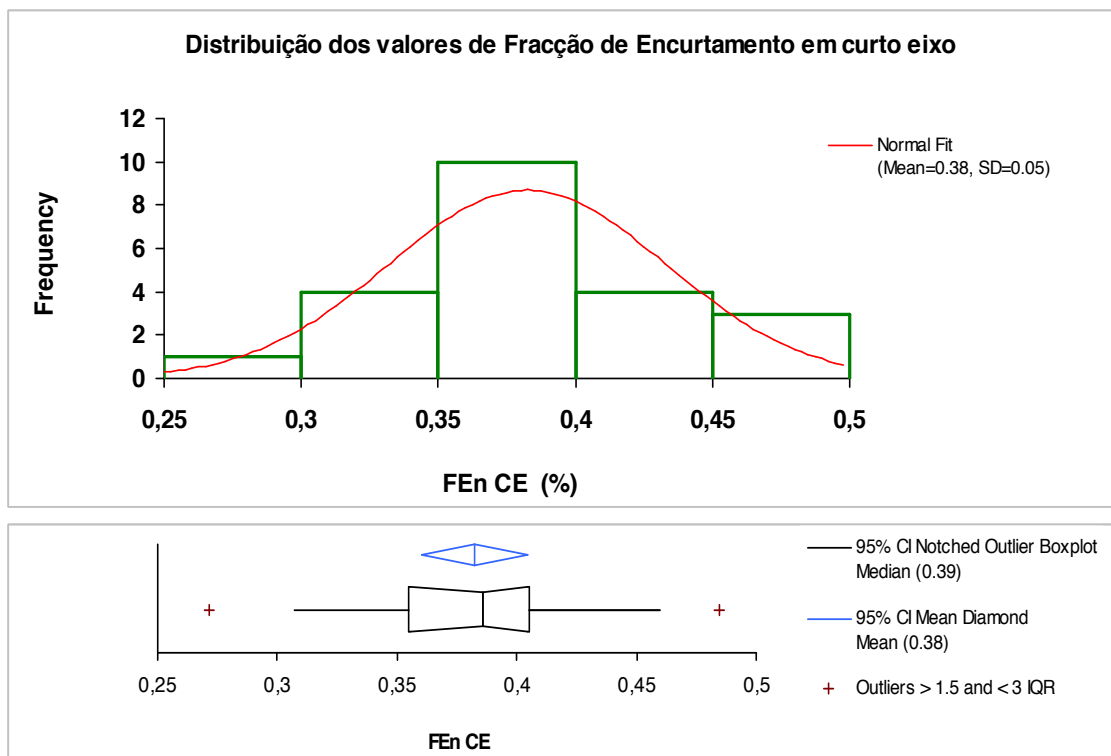
- de Jong, N., & Hoff, L. (1993). Ultrasound scattering properties of Alburnex microspheres. *Ultrasonics*, 31(3), 175-181.
- Edler, I., & Hertz, C. H. (1954). The use of ultrasonic reflectoscope for the continuous recording of the movements of the heart walls. *Kungliga Fysiografiska Salls Kajefs i Lund Foivandlingar. Bd 24 (5): 1-19.*
- Emilsson, K., Brudin, L., & Wandt, B. (2001). The mode of left ventricular pumping: is there an outer contour change in addition to the atrioventricular plane displacement? *Clin Physiol*, 21(4), 437-446.
- Ettinger, S. J., & Feldman, E. C. (2010). *Veterinary Internal Medicine* (Seventh ed. Vol. 1). St. Louis, Missouri: SAUNDERS Elsevier.
- Feigenbaum, H. (1981). *Echocardiography*. Philadelphia, U.S.A.: Lea & Febiger.
- Feigenbaum, H., Waldhausen, J. A., & Hyde, L. P. (1965). Ultrasound Diagnosis of Pericardial Effusion. *JAMA*, 191, 711-714.
- Firschke, C., Lindner, J. R., Goodman, N. C., Skyba, D. M., Wei, K., & Kaul, S. (1997). Myocardial contrast echocardiography in acute myocardial infarction using aortic root injections of microbubbles in conjunction with harmonic imaging: potential application in the cardiac catheterization laboratory. *J Am Coll Cardiol*, 29(1), 207-216.
- Fisher, N. G., Christiansen, J. P., Klibanov, A., Taylor, R. P., Kaul, S., & Lindner, J. R. (2002). Influence of microbubble surface charge on capillary transit and myocardial contrast enhancement. *J Am Coll Cardiol*, 40(4), 811-819.
- Fox, P. R., Sisson, D., & Moise, N. S. (1999). *Textbook of Canine and Feline Cardiology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Gillam, L. D., Kaul, S., Fallon, J. T., Levine, R. A., Hedley-Whyte, E. T., Guerrero, J. L., et al. (1985). Functional and pathologic effects of multiple echocardiographic contrast injections on the myocardium, brain and kidney. *J Am Coll Cardiol*, 6(3), 687-694.
- Gramiak, R., & Shah, P. M. (1968). Echocardiography of the aortic root. *Invest Radiol*, 3(5), 356-366.
- Hoglund, K., Bussadori, C., Domenech, O., Haggstrom, J., Pradelli, D., & Kvarn, C. (2007). Contrast echocardiography in Boxer dogs with and without aortic stenosis. *J Vet Cardiol*, 9(1), 15-24.
- Holen, J., Aaslid, R., Landmark, K., & Simonsen, S. (1976). Determination of pressure gradient in mitral stenosis with a non-invasive ultrasound Doppler technique. *Acta Med Scand*, 199(6), 455-460.
- Hung, J., Lang, R., Flachskampf, F., Sherman, S. K., McCulloch, M. L., Adams, D. B., et al. (2007). 3D echocardiography: a review of the current status and future directions. *J Am Soc Echocardiogr*, 20(3), 213-233.
- Jae K. Oh, James B. Seaward, & Tajik, A. J. (2007). *The Echo Manual* (Third ed.).
- Jayaweera, A. R., Edwards, N., Glasheen, W. P., Villanueva, F. S., Abbott, R. D., & Kaul, S. (1994). In vivo myocardial kinetics of air-filled albumin microbubbles during myocardial contrast echocardiography. Comparison with radiolabeled red blood cells. *Circ Res*, 74(6), 1157-1165.
- Jenkins, C., Bricknell, K., Hanekom, L., & Marwick, T. H. (2004). Reproducibility and accuracy of echocardiographic measurements of left ventricular parameters using real-time three-dimensional echocardiography. *J Am Coll Cardiol*, 44(4), 878-886.
- Joyner, C. R., Jr., & Reid, J. M. (1963). Applications of ultrasound in cardiology and cardiovascular physiology. *Prog Cardiovasc Dis*, 5, 482-497.
- Kaul, S. (1997a). Myocardial contrast echocardiography. *Curr Probl Cardiol*, 22(11), 549-635.

- Kaul, S. (1997b). New developments in ultrasound systems for contrast echocardiography. *Clin Cardiol*, 20(10 Suppl 1), 127-30.
- Kittleson, M. D., & Kienle, R. D. (1998). *Small Animal Cardiovascular Medicine*: Elsevier.
- Kollmann, C., & Putzer, M. (2005). [Ultrasound contrast agents--physical basics]. *Radiologe*, 45(6), 503-512.
- Kornbluth, M., Liang, D. H., Paloma, A., & Schnittger, I. (1998). Native tissue harmonic imaging improves endocardial border definition and visualization of cardiac structures. *J Am Soc Echocardiogr*, 11(7), 693-701.
- Lafitte, S., Dos Santos, P., Kerouani, A., Robhan, T., & Roudaut, R. (2000). Improved reliability for echocardiographic measurement of left ventricular volume using harmonic power imaging mode combined with contrast agent. *Am J Cardiol*, 85(10), 1234-1238.
- Lang, R. M., Bierig, M., Devereux, R. B., Flachskampf, F. A., Foster, E., Pellikka, P. A., et al. (2005). 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*, 18(12), 1440-1463.
- Leischik, R., Kuhlmann, C., Bruch, C., Jeremias, A., Buck, T., & Erbel, R. (1997). Reproducibility of stress echocardiography using intravenous injection of ultrasound contrast agent (BY 963). *Int J Card Imaging*, 13(5), 387-394.
- Leitman, M., Lysyansky, P., Sidenko, S., Shir, V., Peleg, E., Binenbaum, M., et al. (2004). Two-dimensional strain-a novel software for real-time quantitative echocardiographic assessment of myocardial function. *J Am Soc Echocardiogr*, 17(10), 1021-1029.
- Lindner, J. R., & Wei, K. (2002). Contrast echocardiography. *Curr Probl Cardiol*, 27(11), 454-519.
- Masuyama, T., Kodama, K., Kitabatake, A., Nanto, S., Sato, H., Uematsu, M., et al. (1986). Noninvasive evaluation of aortic regurgitation by continuous-wave Doppler echocardiography. *Circulation*, 73(3), 460-466.
- Meza, M. F., Mobarek, S., Sonnemaker, R., Shuler, S., Ramee, S. R., Collins, T. J., et al. (1996). Myocardial contrast echocardiography in human beings: correlation of resting perfusion defects to sestamibi single photon emission computed tomography. *Am Heart J*, 132(3), 528-535.
- Mohrman, D. E., & Heller, L. J. (1991). *Cardiovascular physiology* (Third ed.). New York: McGraw-Hill.
- Moore, C. A., Smucker, M. L., & Kaul, S. (1986). Myocardial contrast echocardiography in humans: I. Safety--a comparison with routine coronary arteriography. *J Am Coll Cardiol*, 8(5), 1066-1072.
- Mulvagh, S. L., DeMaria, A. N., Feinstein, S. B., Burns, P. N., Kaul, S., Miller, J. G., et al. (2000). Contrast echocardiography: current and future applications. *J Am Soc Echocardiogr*, 13(4), 331-342.
- Nelson, R. W., & Couto, C. G. (2006). *Medicina Interna de Pequenos Animais*. São Paulo: Elsevier.
- Nishikage, T., Nakai, H., Mor-Avi, V., Lang, R. M., Salgo, I. S., Settlemier, S. H., et al. (2009). Quantitative assessment of left ventricular volume and ejection fraction using two-dimensional speckle tracking echocardiography. *Eur J Echocardiogr*, 10(1), 82-88.
- Ogawa, K., Hozumi, T., Sugioka, K., Matsumura, Y., Nishiura, M., Kanda, R., et al. (2006). Usefulness of automated quantitation of regional left ventricular wall motion by a

- novel method of two-dimensional echocardiographic tracking. *Am J Cardiol*, 98(11), 1531-1537.
- Omoto, R., Yokote, Y., Takamoto, S., Kyo, S., Ueda, K., Asano, H., et al. (1984). The development of real-time two-dimensional Doppler echocardiography and its clinical significance in acquired valvular diseases. With special reference to the evaluation of valvular regurgitation. *Jpn Heart J*, 25(3), 325-340.
- Randall, D., Burggren, W., & French, K. (2001). *Eckert Animal Physiology* (Fifth ed.). New York: W.H. Freeman and Company.
- Saini, V. D., Nanda, N. C., & Maurik, D. (1993). *Doppler Echocardiography*. Philadelphia: N.C. Nanda, ed.
- Santilli, R. A., & Perego, M. (2009). *Manuale dui elettrocardiografia del cane e del gatto*: Elsevier.
- Schneider, M. (1999). SonoVue, a new ultrasound contrast agent. *Eur Radiol*, 9 Suppl 3, S347-348.
- Schneider, M. (2000). Design of an ultrasound contrast agent for myocardial perfusion. *Echocardiography*, 17(6 Pt 2), S11-16.
- Skyba, D. M., Price, R. J., Linka, A. Z., Skalak, T. C., & Kaul, S. (1998). Direct in vivo visualization of intravascular destruction of microbubbles by ultrasound and its local effects on tissue. *Circulation*, 98(4), 290-293.
- Song, J., Qi, M., Kaul, S., & Price, R. J. (2002). Stimulation of arteriogenesis in skeletal muscle by microbubble destruction with ultrasound. *Circulation*, 106(12), 1550-1555.
- Stoylen, A., Heimdal, A., Bjornstad, K., Wiseth, R., Vik-Mo, H., Torp, H., et al. (2000). Strain rate imaging by ultrasonography in the diagnosis of coronary artery disease. *J Am Soc Echocardiogr*, 13(12), 1053-1064.
- Sugeng, L., Mor-Avi, V., Weinert, L., Niel, J., Ebner, C., Steringer-Mascherbauer, R., et al. (2006). Quantitative assessment of left ventricular size and function: side-by-side comparison of real-time three-dimensional echocardiography and computed tomography with magnetic resonance reference. *Circulation*, 114(7), 654-661.
- Takeuchi, M., Nishikage, T., Nakai, H., Kokumai, M., Otani, S., & Lang, R. M. (2007). The assessment of left ventricular twist in anterior wall myocardial infarction using two-dimensional speckle tracking imaging. *J Am Soc Echocardiogr*, 20(1), 36-44.
- Thanigaraj S, Chugh R, Schechtman KB, Lee LV, Wade RL, & JE, P. (2000). Defining left ventricular segmental and global function by echocardiographic intraventricular contrast flow patterns. *Am J Cardiol*, 85, 65-68.
- Thomson, H. L., Basmadjian, A. J., Rainbird, A. J., Razavi, M., Avierinos, J. F., Pellikka, P. A., et al. (2001). Contrast echocardiography improves the accuracy and reproducibility of left ventricular remodeling measurements: a prospective, randomly assigned, blinded study. *J Am Coll Cardiol*, 38(3), 867-875.
- Tranquilli, W. J., Thurman, J. C., & Grimm, K. A. (2007). *Lumb & Jones' veterinary anesthesia and analgesia* (4th ed ed.): Oxford : Blackwell Publishing.
- Wei, K., Skyba, D. M., Firschke, C., Jayaweera, A. R., Lindner, J. R., & Kaul, S. (1997). Interactions between microbubbles and ultrasound: in vitro and in vivo observations. *J Am Coll Cardiol*, 29(5), 1081-1088.
- Wilson, S. R., & Burns, P. N. (2006). Microbubble contrast for radiological imaging: 2. Applications. *Ultrasound Q*, 22(1), 15-18.

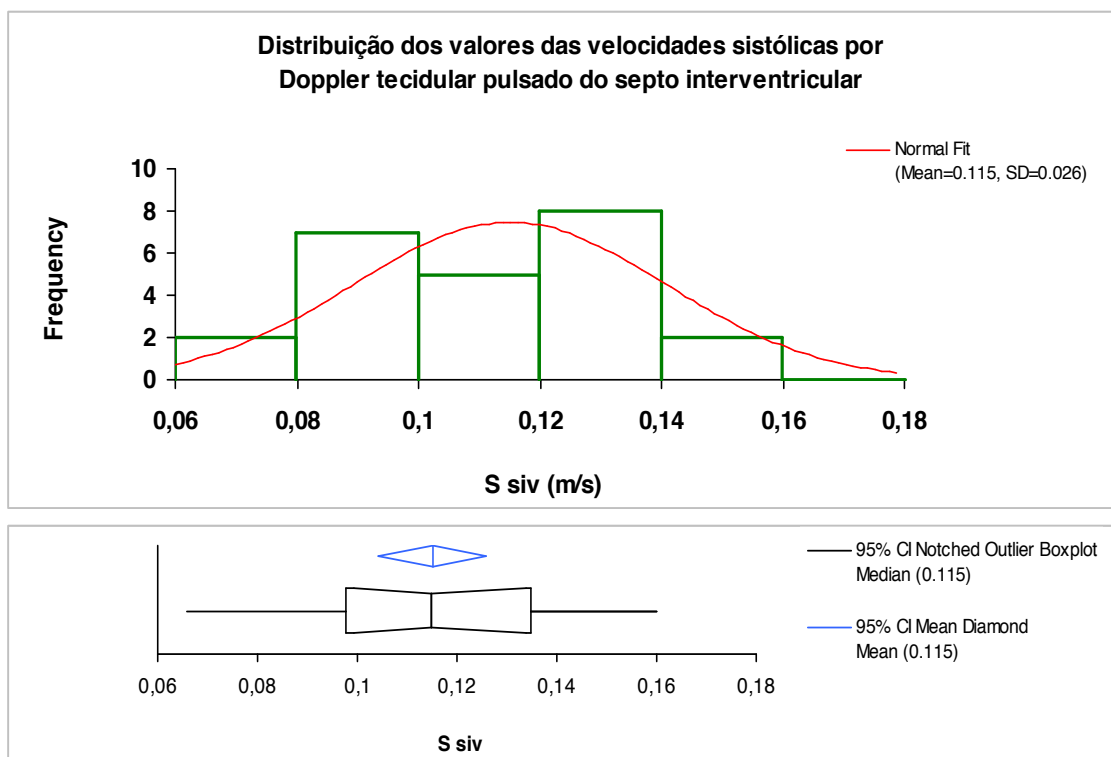
## Anexo A

Tabela 1A - Análise estatística da distribuição dos valores da Fração de Encurtamento.



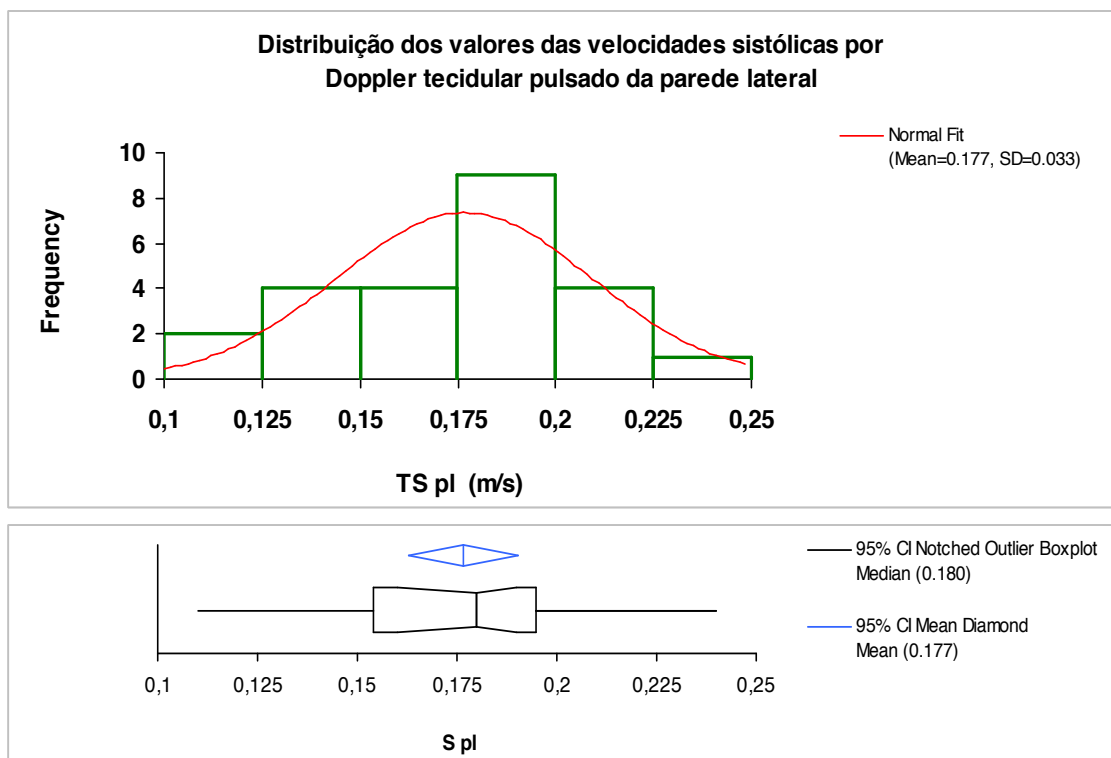
<b>n</b>	<b>22</b> (cases excluded: 1 due to missing values)			
<b>Mean</b>	<b>38,24%</b>	<b>Median</b>	<b>38,58%</b>	
<b>95% CI</b>	<b>36,00%</b> to <b>40,48%</b>	<b>98.3% CI</b>	<b>35,55%</b> to <b>40,46%</b>	
<b>SE</b>	<b>1,077%</b>	<b>Range</b>	<b>21,3%</b>	
<b>Variance</b>	<b>0,26%</b>	<b>IQR</b>	<b>5,07%</b>	
<b>SD</b>	<b>5,05%</b>	<b>Percentile</b>		
<b>95% CI</b>	<b>3,89%</b> to <b>7,22%</b>	<b>0th</b>	<b>27,15%</b>	<b>(minimum)</b>
<b>CV</b>	<b>13,2%</b>	<b>25th</b>	<b>35,48%</b>	<b>(1st quartile)</b>
<b>Skewness</b>	<b>-0,05</b>	<b>50th</b>	<b>38,58%</b>	<b>(median)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>0,23</b>	<b>75th</b>	<b>40,55%</b>	<b>(3rd quartile)</b>
		<b>100th</b>	<b>48,46%</b>	<b>(maximum)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,98</b>			
<b>p</b>	<b>0,970</b>			

Tabela 2A - Análise estatística da distribuição dos valores das Velocidades Sistólicas por Doppler tecidual do septo interventricular basal.



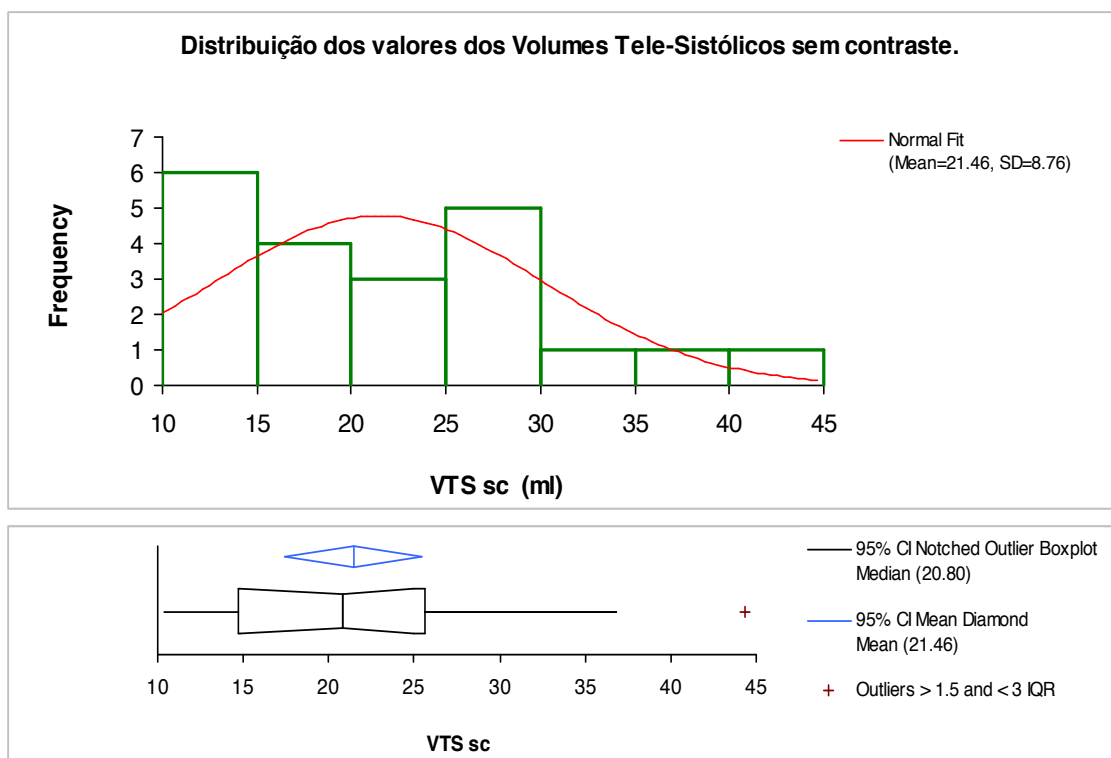
<b>n</b>	<b>24</b> (cases excluded: 1 due to missing values)			
<b>Mean</b>	<b>0,115</b>	<b>Median</b>	<b>0,115</b>	
<b>95% CI</b>	<b>0,104</b> to <b>0,126</b>	<b>97.7% CI</b>	<b>0,099</b> to <b>0,134</b>	
<b>SE</b>	<b>0,0052</b>			
<b>Variance</b>	<b>0,001</b>	<b>Range</b>	<b>0,09</b>	
<b>SD</b>	<b>0,026</b>	<b>IQR</b>	<b>0,037</b>	
<b>95% CI</b>	<b>0,020</b> to <b>0,036</b>	<b>Percentile</b>		
<b>CV</b>	<b>22,3%</b>	<b>0th</b>	<b>0,066</b>	<b>(minimum)</b>
<b>Skewness</b>	<b>-0,09</b>	<b>25th</b>	<b>0,098</b>	<b>(1st quartile)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-0,75</b>	<b>50th</b>	<b>0,115</b>	<b>(median)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,97</b>	<b>75th</b>	<b>0,135</b>	<b>(3rd quartile)</b>
<b>p</b>	<b>0,603</b>	<b>100th</b>	<b>0,160</b>	<b>(maximum)</b>

**Tabela 3A - Análise estatística da distribuição dos valores das Velocidades Sistólicas por Doppler tecidual da parede lateral basal.**



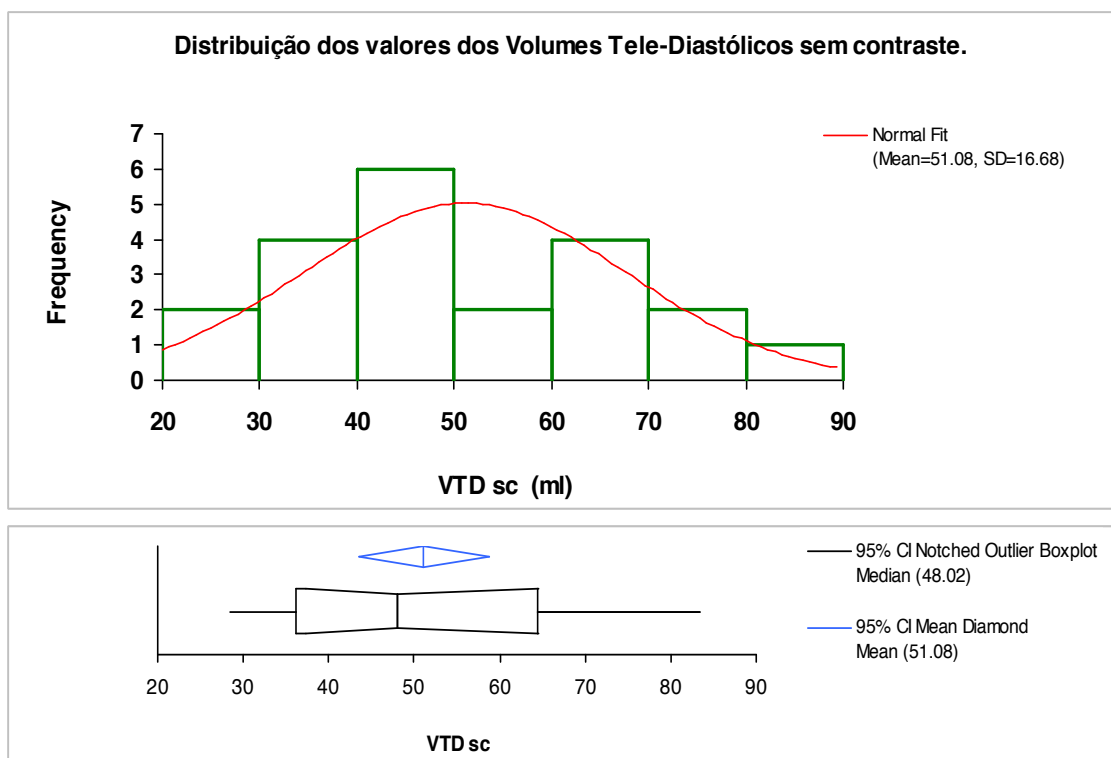
<b>n</b>	<b>24</b> (cases excluded: 1 due to missing values)		
<b>Mean</b>	<b>0,177</b>	<b>Median</b>	<b>0,180</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,163</b> to <b>0,190</b>	<b>97.7% CI</b>	<b>0,160</b> to <b>0,190</b>
<b>SE</b>	<b>0,0066</b>		
		<b>Range</b>	<b>0,13</b>
<b>Variance</b>	<b>0,001</b>	<b>IQR</b>	<b>0,041</b>
<b>SD</b>	<b>0,033</b>		
<b>95% CI</b>	<b>0,025</b> to <b>0,046</b>	<b>Percentile</b>	
		<b>0th</b>	<b>0,110</b> (minimum)
<b>CV</b>	<b>18,4%</b>	<b>25th</b>	<b>0,154</b> (1st quartile)
		<b>50th</b>	<b>0,180</b> (median)
<b>Skewness</b>	<b>-0,26</b>	<b>75th</b>	<b>0,195</b> (3rd quartile)
<b>Kurtosis</b>	<b>0,15</b>	<b>100th</b>	<b>0,240</b> (maximum)
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,97</b>		
<b>p</b>	<b>0,662</b>		

**Tabela 4A - Análise estatística da distribuição dos valores dos Volumes Tele-Sistólicos sem contraste.**



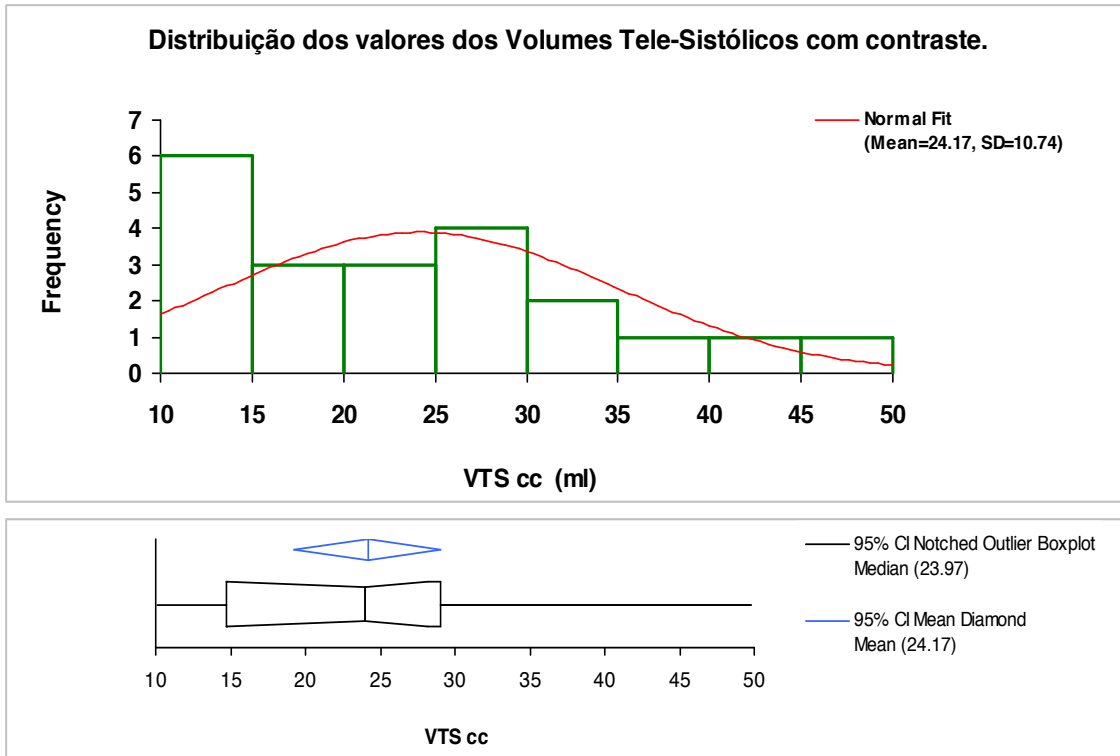
<b>n</b>	<b>21</b>		
<b>Mean</b>	<b>21,46</b>	<b>Median</b>	<b>20,80</b>
<b>95% CI</b>	<b>17,47 to 25,45</b>	<b>97.3% CI</b>	<b>14,80 to 25,00</b>
<b>SE</b>	<b>1,911</b>		
		<b>Range</b>	<b>33,9</b>
<b>Variance</b>	<b>76,72</b>	<b>IQR</b>	<b>10,96</b>
<b>SD</b>	<b>8,76</b>		
<b>95% CI</b>	<b>6,70 to 12,65</b>	<b>Percentile</b>	
		<b>0th</b>	<b>10,40 (minimum)</b>
<b>CV</b>	<b>40,8%</b>	<b>25th</b>	<b>14,66 (1st quartile)</b>
		<b>50th</b>	<b>20,80 (median)</b>
<b>Skewness</b>	<b>1,04</b>	<b>75th</b>	<b>25,62 (3rd quartile)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>0,88</b>	<b>100th</b>	<b>44,33 (maximum)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,91</b>		
<b>p</b>	<b>0,068</b>		

**Tabela 5A - Análise estatística da distribuição dos valores dos Volumes Tele-Diastólicos sem contraste.**



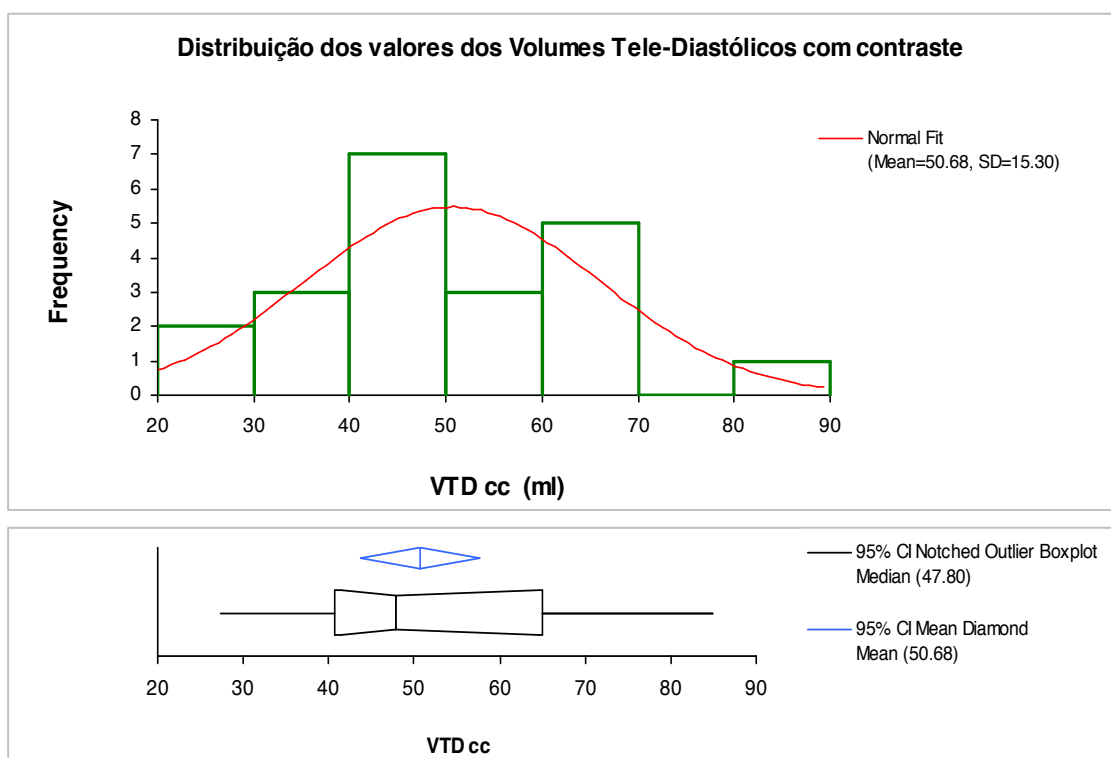
<b>n</b>	<b>21</b>		
<b>Mean</b>	<b>51,08</b>	<b>Median</b>	<b>48,02</b>
<b>95% CI</b>	<b>43,49 to 58,68</b>	<b>97.3% CI</b>	<b>37,34 to 64,34</b>
<b>SE</b>	<b>3,640</b>		
		<b>Range</b>	<b>54,9</b>
<b>Variance</b>	<b>278,20</b>	<b>IQR</b>	<b>28,29</b>
<b>SD</b>	<b>16,68</b>		
<b>95% CI</b>	<b>12,76 to 24,09</b>	<b>Percentile</b>	
		<b>0th</b>	<b>28,46 (minimum)</b>
<b>CV</b>	<b>32,7%</b>	<b>25th</b>	<b>36,17 (1st quartile)</b>
		<b>50th</b>	<b>48,02 (median)</b>
<b>Skewness</b>	<b>0,37</b>	<b>75th</b>	<b>64,46 (3rd quartile)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-0,85</b>	<b>100th</b>	<b>83,33 (maximum)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,94</b>		
<b>p</b>	<b>0,224</b>		

**Tabela 6A - Análise estatística da distribuição dos valores dos Volumes Tele-Sistólicos com contraste.**



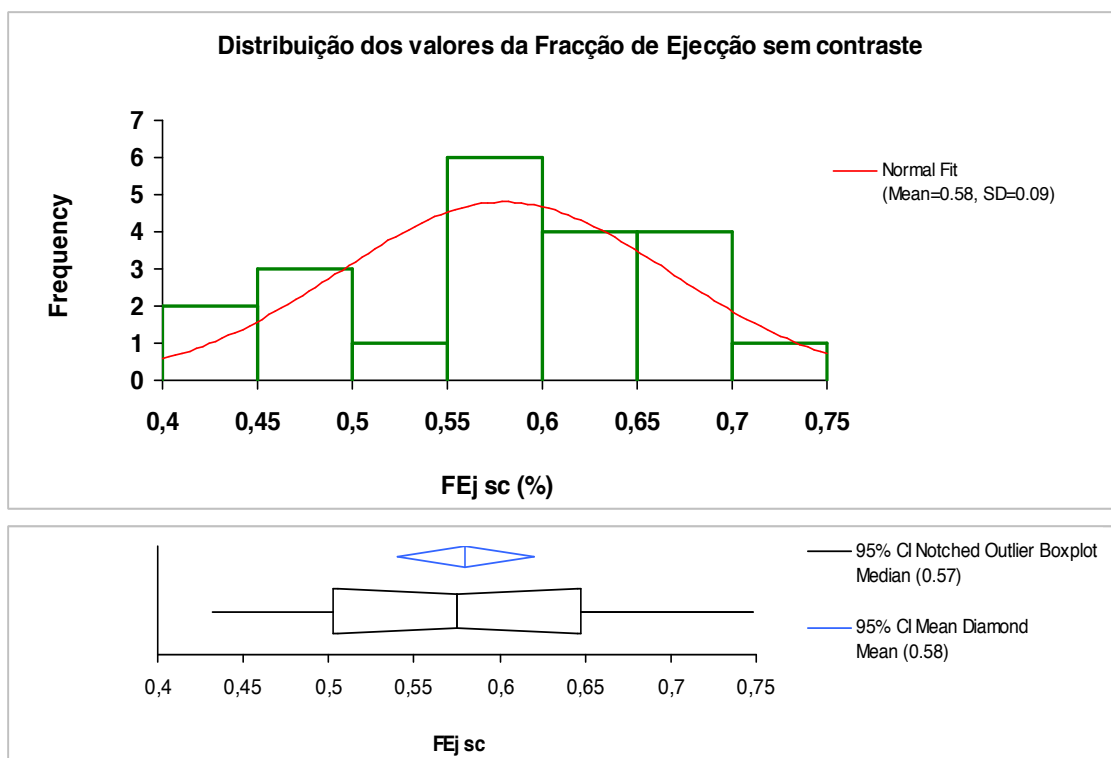
<b>n</b>	<b>21</b>		
<b>Mean</b>	<b>50,68</b>	<b>Median</b>	<b>47,80</b>
<b>95% CI</b>	<b>43,71 to 57,64</b>	<b>97.3% CI</b>	<b>41,52 to 64,60</b>
<b>SE</b>	<b>3,340</b>		
		<b>Range</b>	<b>57,6</b>
<b>Variance</b>	<b>234,22</b>	<b>IQR</b>	<b>24,35</b>
<b>SD</b>	<b>15,30</b>		
<b>95% CI</b>	<b>11,71 to 22,10</b>	<b>Percentile</b>	
		<b>0th</b>	<b>27,40 (minimum)</b>
<b>CV</b>	<b>30,2%</b>	<b>25th</b>	<b>40,70 (1st quartile)</b>
		<b>50th</b>	<b>47,80 (median)</b>
<b>Skewness</b>	<b>0,33</b>	<b>75th</b>	<b>65,05 (3rd quartile)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-0,31</b>	<b>100th</b>	<b>85,00 (maximum)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,96</b>		
<b>p</b>	<b>0,565</b>		

**Tabela 7A - Análise estatística da distribuição dos valores dos Volumes Tele-Diastólicos com contraste.**



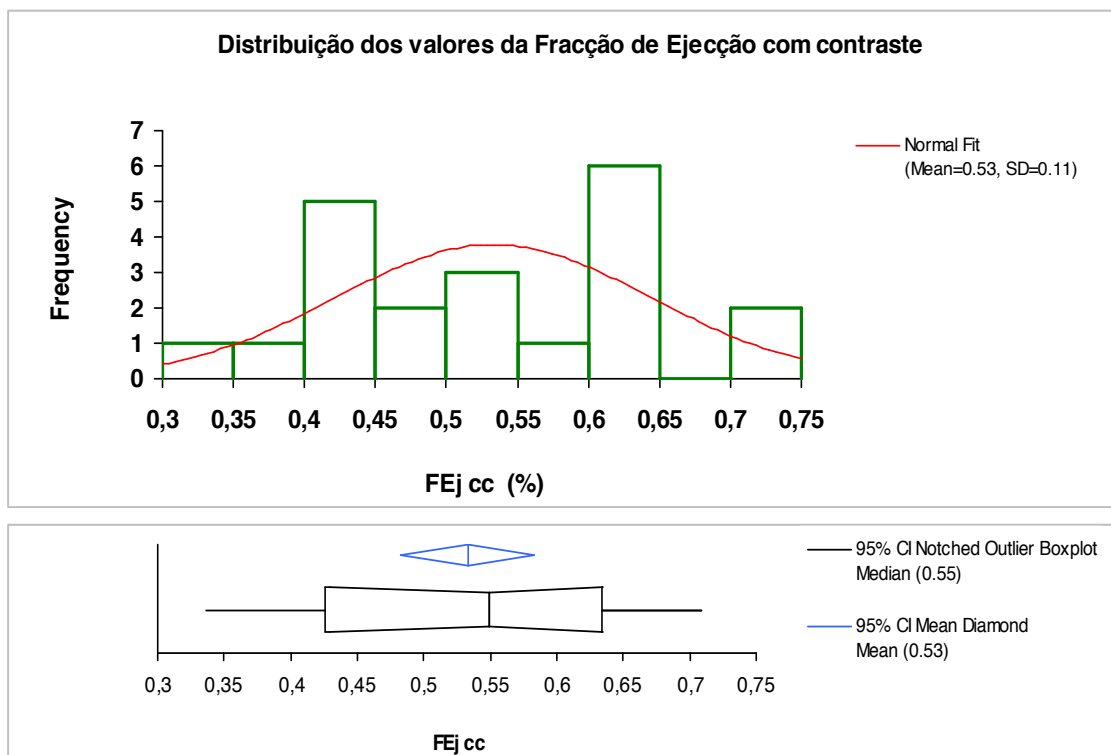
<b>n</b>	22			
<b>Mean</b>	51,177		<b>Median</b>	48,497
<b>95% CI</b>	43,304	to 59,050	<b>98.3% CI</b>	38,000 to 65,945
<b>SE</b>	3,7857			
			<b>Range</b>	65,10
<b>Variance</b>	315,300		<b>IQR</b>	28,322
<b>SD</b>	17,757			
<b>95% CI</b>	13,661	to 25,375	<b>Percentile</b>	
			<b>0th</b>	27,710 (minimum)
<b>CV</b>	34,7%		<b>25th</b>	37,693 (1st quartile)
			<b>50th</b>	48,497 (median)
<b>Skewness</b>	0,73		<b>75th</b>	66,015 (3rd quartile)
<b>Kurtosis</b>	0,10		<b>100th</b>	92,808 (maximum)
<b>Shapiro-Wilk W</b>	0,94			
<b>p</b>	0,218			

**Tabela 8A - Análise estatística da distribuição dos valores da Fracção de Ejecção sem contraste.**



<b>n</b>	<b>21</b>	
<b>Mean</b>	<b>58,00%</b>	<b>Median</b> <b>57,46%</b>
<b>95% CI</b>	<b>54,02% to 61,97%</b>	<b>97.3% CI</b> <b>50,50% to 64,60%</b>
<b>SE</b>	<b>1,905%</b>	
<b>Variance</b>	<b>0,76%</b>	<b>Range</b> <b>31,6%</b>
<b>SD</b>	<b>8,73%</b>	<b>IQR</b> <b>14,56%</b>
<b>95% CI</b>	<b>6,68% to 12,61%</b>	<b>Percentile</b>
<b>CV</b>	<b>15,1%</b>	<b>0th</b> <b>43,21%</b> <b>(minimum)</b>
		<b>25th</b> <b>50,21%</b> <b>(1st quartile)</b>
		<b>50th</b> <b>57,46%</b> <b>(median)</b>
<b>Skewness</b>	<b>-0,08</b>	<b>75th</b> <b>64,77%</b> <b>(3rd quartile)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-0,84</b>	<b>100th</b> <b>74,77%</b> <b>(maximum)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,96</b>	
<b>p</b>	<b>0,581</b>	

**Tabela 9A - Análise estatística da distribuição dos valores da Fracção de Ejecção com contraste.**



<b>n</b>	<b>21</b>			
<b>Mean</b>	<b>53,30%</b>		<b>Median</b>	<b>54,92%</b>
<b>95% CI</b>	<b>48,26%</b>	<b>to 58,34%</b>	<b>97.3% CI</b>	<b>42,96%</b> <b>to 63,41%</b>
<b>SE</b>	<b>2,415%</b>			
			<b>Range</b>	<b>37,3%</b>
<b>Variance</b>	<b>1,22%</b>		<b>IQR</b>	<b>20,82%</b>
<b>SD</b>	<b>11,07%</b>			
<b>95% CI</b>	<b>8,47%</b>	<b>to 15,98%</b>	<b>Percentile</b>	
			<b>0th</b>	<b>33,59%</b> <b>(minimum)</b>
<b>CV</b>	<b>20,8%</b>		<b>25th</b>	<b>42,59%</b> <b>(1st quartile)</b>
			<b>50th</b>	<b>54,92%</b> <b>(median)</b>
<b>Skewness</b>	<b>-0,06</b>		<b>75th</b>	<b>63,42%</b> <b>(3rd quartile)</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-1,21</b>		<b>100th</b>	<b>70,91%</b> <b>(maximum)</b>
<b>Shapiro-Wilk W</b>	<b>0,94</b>			
<b>p</b>	<b>0,262</b>			

## Anexo B

Tabela 1B – Análise estatística - correlação de Pearson entre as medições da Fração de Encurtamento efectuadas em modo M curto eixo e longo eixo.

<b>n</b>	<b>16</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,84</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,59 to 0,94</b>
<b>t statistic</b>	<b>5,74</b>
<b>DF</b>	<b>14</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 2B – Análise estatística - correlação de Pearson entre os valores das velocidades sistólicas por Doppler Tecidual a nível do septo interventricular basal e da parede lateral basal,

<b>n</b>	<b>24</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,68</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,38 to 0,85</b>
<b>t statistic</b>	<b>4,32</b>
<b>DF</b>	<b>22</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>0,0003</b>

Tabela 3B – Análise estatística - correlação de Pearson entre os valores dos volumes tele-sistólicos sem contraste (VTS sc) e com contraste (VTS cc)

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,96</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,91 to 0,98</b>
<b>t statistic</b>	<b>15,34</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 4B - Correlação de Pearson entre os valores calculados dos volumes tele-diaстólicicos sem contraste (VTD cc) e com contraste (VTD sc)

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,89</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,75 to 0,96</b>
<b>t statistic</b>	<b>8,62</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 5B - Correlação entre os valores calculados da fracção de ejeção sem a utilização de contraste (FEj sc) e com a utilização de contraste (FEj cc)

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,81</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,58 to 0,92</b>
<b>t statistic</b>	<b>6,06</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 6B – Correlação de Pearson entre os valores da Fracção de Encurtamento efectuadas em modo M curto eixo e os valores da velocidade sistólica por Doppler Tecidual (em cm/s) a nível do septo interventricular basal.

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,85</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,66 to 0,94</b>
<b>t statistic</b>	<b>7,03</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 7B – Correlação de Pearson entre os valores da Fracção de Encurtamento efectuadas em modo M curto eixo e os valores das velocidades sistólica por Doppler Tecidualar (em cm/s) a nível da parede lateral basal.

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,70</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,38 to 0,87</b>
<b>t statistic</b>	<b>4,24</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>0,0004</b>

Tabela 8B – Correlação de Pearson entre os valores da Fração de Encurtamento (FEn) em curto eixo e os valores da Fração de Ejecção (Fej) sem contraste (sc)

<b>n</b>	<b>18</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,78</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,50 to 0,92</b>
<b>t statistic</b>	<b>5,06</b>
<b>DF</b>	<b>16</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>0,0001</b>

Tabela 9B – Correlação de Pearson entre os valores da Fração de Encurtamento (FEn) em curto eixo e os valores da Fração de Ejecção (Fej) com contraste (cc)

<b>n</b>	<b>18</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,86</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,66 to 0,95</b>
<b>t statistic</b>	<b>6,78</b>
<b>DF</b>	<b>16</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 10B – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível do septo interventricular (S siv) e e os valores da Fração de Ejeção (Fej) sem contraste (sc).

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,82</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,59 to 0,92</b>
<b>t statistic</b>	<b>6,13</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 11B – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível do septo interventricular (S siv) e e os valores da Fração de Ejeção (Fej) com contraste (cc).

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,84</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,64 to 0,93</b>
<b>t statistic</b>	<b>6,69</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>&lt;0.0001</b>

Tabela 12B – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível da parede lateral (S pl) e e os valores da Fracção de Ejeção (Fej) sem contraste (sc).

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,45</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,03 to 0,74</b>
<b>t statistic</b>	<b>2,22</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>0,0390</b>

Tabela 13B – Correlação de Pearson entre os valores Velocidade Sistólica por Doppler tecidual pulsado a nível da parede lateral (S pl) e e os valores da Fracção de Ejeção (Fej) com contraste (cc).

<b>n</b>	<b>21</b>
<b>r statistic</b>	<b>0,66</b>
<b>95% CI</b>	<b>0,32 to 0,85</b>
<b>t statistic</b>	<b>3,84</b>
<b>DF</b>	<b>19</b>
<b>2-tailed p</b>	<b>0,0011</b>

Tabela 14B – Teste de Student – comparação dos dois grupos emparelhados de valores de FEj sem (sc) e com contraste (cc)

	<b>n</b>	<b>Mean</b>	<b>SE</b>	<b>SD</b>
<b>FEj sc</b>	<b>21</b>	<b>58,00%</b>	<b>1,905%</b>	<b>8,73%</b>
<b>FEj cc</b>	<b>21</b>	<b>53,30%</b>	<b>2,415%</b>	<b>11,07%</b>
<b>Difference (FEj sc - FEj cc)</b>	<b>21</b>	<b>4,70%</b>	<b>1,412%</b>	<b>6,47%</b>

<b>Mean difference</b>	<b>4,70%</b>	
<b>95% CI</b>	<b>1,75%</b>	<b>to 7,64%</b>
<b>SE</b>	<b>1,412%</b>	
<b>t statistic</b>	<b>3,33</b>	
<b>DF</b>	<b>20</b>	
<b>2-tailed p</b>	<b>0,0034</b>	