

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina

**AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA E
FATORES DE RISCO METABÓLICOS EM
MULHERES JOVENS COM RISCO DE
DOENÇA CARDIOVASCULAR**

CLÁUDIA MARIA VILAS FREIRE

Belo Horizonte

2010

CLÁUDIA MARIA VILAS FREIRE



UFMG

FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena, 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30130-100
Fone: (031) 3409 9641 FAX: (31) 3409 9640



ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO de **CLÁUDIA MARIA VILAS FREIRE**, nº de registro 2007652697. Às dez horas do dia **trinta de junho de 2010**, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de tese aprovada pelo Colegiado do Programa em reunião para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA E FATORES DE RISCO METABÓLICOS EM MULHERES JOVENS COM RISCO DE DOENÇA CARDIOVASCULAR”**, requisito final para a obtenção do Grau de Doutora em Saúde do Adulto, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, área de concentração em Ciências Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho final passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado definitivo. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior/ Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Profa. Maria do Carmo Pereira Nunes	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Prof. Bruno Caramelli	Instituição: USP	Indicação: <u>Aprovada</u>
Profª. Márcia Melo Barbosa	Instituição: SOCOR	Indicação: <u>Aprovada</u>

Pelas indicações, a candidata foi considerada APROVADA.
O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo presidente da comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA que será assinada por todos os membros participantes da comissão examinadora. Belo Horizonte, 30 de junho de 2010.

Prof. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior/ Orientador [Assinatura]

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro [Assinatura]

Profa. Maria do Carmo Pereira Nunes [Assinatura]

Prof. Bruno Caramelli [Assinatura]

Profª. Márcia Melo Barbosa [Assinatura]

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari /Coordenadora [Assinatura]

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador

Profª Teresa Cristina de Abreu Ferrari
Coord. PG. em Ciências Aplicadas
à Saúde do Adulto
Faculdade de Medicina / UFMG

Reitor: Prof. Clélio Campolina Diniz

Pró-reitor de Pós-graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Francisco José Penna

Coordenador do Centro de Pós-graduação: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA

Coordenador: Prof^a. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Subcoordenadora: Prof^a. Valéria Maria de Azeredo Passos

Representante discente: Elizabete Rosária de Miranda

Representantes docentes:

Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Prof. Nilton Alves de Rezende

Prof^a. Suely Meireles Rezende

**AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA E
FATORES DE RISCO METABÓLICOS EM
MULHERES JOVENS COM RISCO DE
DOENÇA CARDIOVASCULAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para a obtenção do grau de Doutor.

Área de concentração: Ciências Clínicas.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior.

Belo Horizonte

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Aos meus filhos, Luisa e Filipe,
com amor incondicional que sinto por eles.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior, pelo brilhantismo da orientação, dedicação à pesquisa científica e apoio constante.

À Dr^a. Márcia de Melo Barbosa, pelo grande exemplo e estímulo pessoal e profissional.

A Maria Cristina Costa de Almeida, Felipe Batista Lima Barbosa e ao Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro, pela importante ajuda na realização das análises metodológicas e estatísticas, com emprego de um bom número de horas para realização dessas atividades.

Aos colegas e professores da pós-graduação, pela ajuda mútua e aprendizado proporcionado pela convivência.

À equipe do laboratório de endocrinologia, especialmente Mariana Bizzi, do laboratório de análises clínicas Analys e do Ecocenter, especialmente Juliane Garcia, pela grande ajuda na realização deste projeto.

Às pacientes dos ambulatórios de gestação de alto risco da Maternidade Odete Valadares e do Hospital das Clínicas da UFMG, pois sem elas este estudo não teria sido possível.

RESUMO

O diabetes gestacional é a intolerância ao carboidrato, que começa ou é primeiramente diagnosticada na gravidez cuja prevalência varia entre 2 e 7%. É a oportunidade de avaliar seu estágio inicial, pois essas pacientes enfrentam risco 7,5 vezes mais alto de evoluir para diabetes tipo 2 e consequente elevação do risco cardiovascular. **Objetivo:** determinar se mulheres com passado de diabetes gestacional (DMG) apresentam sinais de aterosclerose subclínica e se isso seria fator de risco independente para o seu aparecimento. **Métodos:** avaliaram-se 175 mulheres entre 18 e 47 anos, não-tabagistas: 79 com passado de DMG (pDMG), 30 com dois ou mais fatores de risco cardiovascular (gFR) e 66 saudáveis como grupo-controle (GC). Elas foram submetidas a exame físico, medida automática da espessura médio-intimal (EMI) em segmentos da carótida comum, interna e bifurcação bilateralmente e avaliação laboratorial. Primeiro, realizou-se revisão da literatura sobre avaliação da aterosclerose subclínica por EMI, incluindo técnica, indicações e interpretação do exame à luz dos conhecimentos atuais. Após, estudou-se a validação do *software* de medida automática da EMI utilizado nesta pesquisa, com comparações entre as medidas manuais e automáticas e concordância interobservadores pelo método de Bland-Altman. Posteriormente, compararam-se características clínicas e prevalências de diabetes, hipertensão arterial (HA), síndrome metabólica (SM), risco cardiovascular global e medidas da EMI dos grupos. Em seguida, regressão linear uni e multivariada foi realizada, definindo-se a EMI composta como variável dependente; as covariáveis foram: idade, grupos de estudo (pDMG e gFR), glicemia, cintura, cHDL, colesterol total, triglicérides, SM e HA. **Resultados:** na validação do *software* desta pesquisa, demonstrou-se que a medida automática reduz o tempo de exame, é reprodutível e não apresenta erros sistemáticos em relação à manual. Além disso, esses erros não alcançaram os limites clínicos estabelecidos na maioria das medidas. O risco cardiovascular global era baixo em 94% dessas mulheres. Os grupos FR e pDMG mostraram, como esperado, níveis mais elevados de pressão arterial, glicemia, colesterol total, cLDL, triglicérides e níveis mais baixos de cHDL do que o GC. Obesidade e cintura aumentada foram mais frequentes nos grupos pDMG e gFR, mas significativamente mais elevados no gFR em relação ao pDMG. A EMI média de quase todos os segmentos avaliados foi maior no grupo pDMG quando comparado com o GC, exceto na bifurcação carotídea e carótida comum direitas. O gFR só mostrou maior EMI do que o controle na medida composta; e menor do que o grupo pDMG na bifurcação carotídea esquerda. Após regressão linear univariada foi desenvolvido modelo de regressão múltipla tomando-se a EMI composta como a variável dependente e os grupos de estudo glicemia, colesterol total, cHDL, triglicérides, idade, cintura, SM e hipertensão como covariáveis. No modelo final, a idade, o colesterol e pertencer ao grupo pDMG foram independentemente associados à EMI composta. Esse modelo final explica 36,6% da variabilidade de EMI pelas variáveis incluídas. **Conclusão:** o passado de DMG está associado a aumento da EMI carotídea como fator de risco independente, juntamente com colesterol total e idade. O aumento da EMI nessas mulheres com passado de diabetes gestacional, semelhante àquelas sabidamente com dois ou mais fatores de risco cardiovascular, deve estimular cuidados de prevenção primária precoce.

Palavras-chave: Aterosclerose subclínica. Doença cardiovascular. Diabetes gestacional. Espessura médio-intimal carotídea.

ABSTRACT

Gestational diabetes is carbohydrate intolerance that begins or is first diagnosed in pregnancy and its prevalence rate varies between 2 and 7%. It is an opportunity to evaluate early stage of diabetes because these patients face 7.5 times higher risk of developing type 2 diabetes and the consequent increase in cardiovascular risk. Objective: To determine whether women with previous gestational diabetes (GDM) have signs of subclinical atherosclerosis and whether this would be an independent risk factor for this outcome. Methods: We evaluated 175 women between 18 and 47 years, non-smokers: 79 with previous GDM (pGDM), 30 with two or more cardiovascular risk factors (RFg) and 66 in the control group (CG). They underwent physical examination, automatic measurement of intima-media thickness (IMT) in segments of common carotid, internal and bifurcation bilaterally and laboratory evaluation. To validate the chosen method for assessment of subclinical atherosclerosis, the measurement of carotid IMT, a literature review of the technique, indications and interpretation of the examination was performed. The software used in this research for automated measuring the IMT was subsequently validated, with comparisons between automated and manual measurements and interobserver agreement by Bland-Altman. Clinical characteristics, prevalence of diabetes, hypertension (HT) and metabolic syndrome (MS), and the measures of the IMT of the groups were compared. It was rated the overall cardiovascular risk of the groups. Then, a univariate and multivariate linear regression with composed IMT as the dependent variable and age, study groups, blood glucose, waist, HDLc, total cholesterol, triglycerides, MS and HT as covariates. Results: This study demonstrated that automated measurement is faster, reproducible and had no systematic errors compared to manual measurement. The differences between measurements were not clinically important in most part of the time. Global cardiovascular risk of 94% of the patients was in the range of low risk. Previous GDM and RF groups showed, as expected, higher levels of blood pressure, blood glucose, total cholesterol, cLDL, triglycerides and lower levels of HDLc than the CG. Obesity and waist were more frequently observed in groups pGDM and RFg, and significantly higher in the RFg compared to pGDM. Mean IMT of almost all segments analyzed was higher in group pGDM compared with CG, except in the carotid bifurcation and right common carotid. The RFg only showed greater IMT than control in the composite measure, and less than the group pGDM the left carotid bifurcation. After univariate linear regression analyses, a multiple regression model was developed using composite IMT as the dependent variable and study groups, blood glucose, total cholesterol, cHDL, triglycerides, age, waist circumference and hypertension as covariates. In the final model, age, cholesterol and belonging to pGDM group were independently associated with IMT composite. This final model explains 36.6% of IMT variability by the variables included. Conclusion: previous GDM is associated with increased carotid IMT as an independent risk factor, along with total cholesterol and age. The increased IMT in this population of women, similar to those with two or more known cardiovascular risk factors, should encourage early primary care prevention in patients with pregnancy complicated by GDM.

Keys words: Subclinical atherosclerosis. Cardiovascular disease. Gestational diabetes. Carotid intima media thickness.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	Artéria carótida comum
ACE	Artéria carótida externa
ACI	Artéria carótida interna
AHA	<i>American Heart Association</i>
ARIC	<i>Atherosclerosis risk in communities</i>
AVC	Acidente vascular cerebral
BIF	Bifurcação carotídea
CAPS	<i>Carotid atherosclerosis progression study</i>
CC	Carótida comum
cHDL	<i>High density lipoprotein cholesterol</i>
CHS	<i>Cardiovascular health study</i>
CI	Carótida interna
CIMT	<i>Carotid intima media thickness</i>
cLDL	<i>Low density lipoprotein cholesterol</i>
CV	Cardiovascular
DAC	Doença arterial coronariana
DCeV	Doença cérebro-vascular
DCV	Doença cardiovascular
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
DMG	Diabetes <i>mellitus</i> gestacional
ECG	Eletrocardiograma
ELSA	Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
EMI	Espessura médio-intimal
ERF	Escore de risco de Framingham
EUA	Estados Unidos da América
F	Feminino
GC	Grupo-controle
gFR	Grupo fator de risco
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IMC	Índice de massa corpórea

M	Masculino
MDCS	<i>Malmö diet and cancer study</i>
NHLBI	<i>National Heart Lung and Blood Institute</i>
RCG	Risco cardiovascular global
SM	Síndrome metabólica
US	Ultrassom

SUMÁRIO^a

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	11
Referências.....	15
1 CARÓTIDAS: AVALIAÇÃO DA ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL (PRIMEIRA PUBLICAÇÃO).....	16
Referências.....	31
2 COMPARAÇÃO ENTRE MEDIDAS AUTOMÁTICAS E MANUAIS DA ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL NA PRÁTICA CLÍNICA (SEGUNDA PUBLICAÇÃO).....	35
Referências.....	47
3 O PASSADO DE DIABETES GESTACIONAL ELEVA O RISCO CARDIOVASCULAR EM MULHERES JOVENS, INDEPENDENTEMENTE DO PERFIL CARDIOMETABÓLICO (TERCEIRA PUBLICAÇÃO) – Em fase de elaboração.....	50
Referências.....	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
ANEXOS E APÊNDICES.....	69

^a Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O diabetes gestacional é considerado um estado pré-diabético que atinge aproximadamente 7% das gestações no Brasil. Significativo percentual dessas pacientes evolui com diabetes tipo 2 nos primeiros anos de pós-parto e por isso essas pacientes se tornam um bom modelo de estudo de estágios precoces de diabetes do tipo 2 (KITZMILLER; DANG-KILDUFF; TASLIMI, 2007).

Em 2005, formamos um grupo de estudo multidisciplinar estimulado pelo professor Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior, com participação de endocrinologistas, obstetras e cardiologistas, cujo objetivo era a avaliação de efeitos cardiovasculares em mulheres com diabetes gestacional. Esse modelo de estado pré-diabético pareceu muito interessante, visto que acomete pacientes jovens e com prognóstico metabólico e, conseqüentemente, cardiovascular, que merece atenção. Se se levar em consideração que no momento do diagnóstico do diabetes tipo 2, 30 a 50% dos pacientes já apresentam alguma evidência de doença vascular, pode-se concluir que esse acometimento ocorre muito precocemente (CHEUNG; BYTH, 2003; DAVIS *et al.*, 1999; GREER; SATTAR, 2002).

Na ocasião, minha participação na atenção às gestantes cardiopatas na Maternidade Odete Valadares, a maior do estado, completava quase 13 anos. A necessidade de exames cardiológicos complementares não-invasivos para essas pacientes estimulou-me a fazer outra especialização, além da cardiologia e clínica médica. A escolhida foi ecocardiografia e ecografia vascular, em 1995.

O trabalho em conjunto com profissionais em ambulatórios especializados em gestação de alto risco facilitou o envolvimento com pacientes com diabetes gestacional. Assim, a dissertação de mestrado versou sobre a função do ventrículo esquerdo em gestantes com diabetes gestacional e com reavaliação dessas mulheres no pós-parto precoce. Nesse estudo demonstrou-se que essas pacientes apresentavam leve alteração na função diastólica do ventrículo esquerdo, quando comparado às gestantes sem a doença. Como se trata de mulheres jovens nas quais as alterações encontradas eram decorrentes de distúrbio relativamente “agudo”, a alteração no relaxamento cardíaco era

demonstrada apenas quando em comparação com outra população do sexo feminino, da mesma faixa etária.

Surpreendentemente, algumas dessas alterações persistiam até o terceiro mês de pós-parto e esses resultados foram publicados em revista especializada em ecocardiografia no ano seguinte (FREIRE *et al.*, 2006). Logo após a titulação de mestre, tive a honra de ser convidada para assumir o lugar do Professor Mário Lopez, eminente professor de cardiologia da nossa Universidade, no atendimento às gestantes cardiopatas do Hospital das Clínicas da UFMG. Mais um estímulo, além dos nossos próprios resultados, para continuar a pesquisa.

Em 2007, a proposta foi estudar outros sinais precoces de envolvimento cardiovascular nesse grupo de pacientes de elevado risco cardiometabólico. A prevalência de doença cardiovascular em mulheres antes da menopausa é baixa. Quando se utiliza o escore de risco cardiovascular de Framingham, que é amplamente empregado na prática clínica, a pontuação alcançada por uma mulher entre 25 e 45 anos habitualmente é classificada como baixo risco (abaixo de 6,0%) (D'AGOSTINO *et al.*, 2008). Como o grupo de estudo em foco foi constituído de mulheres ainda jovens para esse tipo de avaliação, definiu-se um teste capaz de mostrar alterações precoces, subclínicas.

A demonstração do comprometimento precoce da parede arterial pode ser realizada por meio de testes bioquímicos e anatomofuncionais. O ultrassom avalia as alterações estruturais da parede do vaso, isto é, pesquisa a existência de placas ateroscleróticas e/ou realiza a medida da espessura médio-intimal da parede arterial, além de investigar o comportamento funcional do endotélio arterial com base na resposta vasodilatadora a estímulos físicos ou químicos.

Também úteis e validadas são as dosagens de biomarcadores ligados a processos inflamatórios da parede arterial como, por exemplo, da proteína C reativa ou do colesterol oxidado (O'MALLEY, 2006; REDBERG *et al.*, 2003; RIDKER *et al.*, 2004).

Assim, criou-se a hipótese deste estudo, desenvolvido ao longo dos últimos três anos. Estudou-se uma população de mulheres jovens, após gestação complicada por diabetes gestacional, em relação ao desenvolvimento de sinais precoces de aterosclerose. Como cardiologista e ecocardiografista, optou-se por avaliar o acometimento aterosclerótico subclínico pela medida da espessura médio-intimal (EMI) das carótidas, método já estabelecido na literatura para esse

tipo de avaliação (LORENZ *et al.*, 2007).

A avaliação constou da medida ao ultrassom da espessura da camada médio-intimal das artérias carótidas, exame físico e realização de exames complementares clássicos para avaliação de risco cardiovascular nessas pacientes. Esta pesquisa gerou três produções científicas. A primeira foi um capítulo de livro, que apresentou os fundamentos do exame como marcador substituto de aterosclerose, justificando por que solicitar o exame da medida de EMI. Foram abordadas: as técnicas empregadas para sua realização, armadilhas de imagem que podem prejudicar essa medida, qual população se beneficiaria com o resultado do exame e como se faz, na atualidade, a interpretação de seus resultados.

A segunda produção científica referenciou a metodologia usada para a medida da espessura da parede das carótidas. Na maioria dos estudos epidemiológicos que validaram a medida da espessura médio-intimal como marcador substituto de risco cardiovascular, esta se faz manualmente a partir de marcadores eletrônicos. Atualmente, elas podem ser obtidas automaticamente por *softwares* disponíveis em equipamentos de ultrassom. Ao iniciar esse tipo de mensuração, notou-se diferença entre as medidas manuais e as geradas automaticamente pelo *software*. Observou-se a escassez de estudos comparando as medidas da EMI feitas por *software* de medidas automáticas obtidas manualmente, especialmente pesquisas em tempo real, isto é, sem que as imagens necessitassem ser transportadas do equipamento de ultrassom para um computador no qual um *software* especializado analisaria posteriormente essas imagens.

Além disso, não foram encontradas também publicações sobre o *software* específico para ser empregado neste trabalho, nem avaliações de concordância nos vários segmentos das carótidas utilizados para pesquisa clínica. Por isso, decidiu-se realizar um estudo com o objetivo de comparar as medidas realizadas em tempo real - manual e automaticamente - em segmentos das carótidas comum, bifurcação carotídea e carótida interna.

A terceira produção científica foi o motivo principal da pesquisa. Realizou-se estudo transversal cujo objetivo principal foi comparar a medida da EMI de mulheres jovens com passado de diabetes *mellitus* gestacional (DMG) com um grupo-controle e com um grupo de mulheres com dois ou mais fatores de risco

clássicos para doença cardiovascular na mesma faixa etária. Como objetivo secundário, avaliou-se a prevalência de fatores de risco cardiovascular, bem como o escore de risco de Framingham nesses grupos de pacientes e se o passado de diabetes gestacional era fator de risco independente de aumento da espessura médio-intimal carotídea.

REFERÊNCIAS

CHEUNG, N.W.; BYTH, K. Population health significance of gestational diabetes. **Diabetes Care**, v. 26, p. 2005-9, 2003.

D'AGOSTINO, R.B. *et al.* General cardiovascular risk profile for use in primary care: The Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 117, p. 743-753, 2008.

DAVIS, C.L. *et al.* History of gestational diabetes, insulin resistance and coronary risk. **J Diabetes Comp**, v. 13, p. 216-23, 1999.

FREIRE, C.M. *et al.* Gestational diabetes: a condition of early diastolic abnormalities in young women. **J Am Soc Echocardiogr**, v. 19, n. 10, p. 1251-6, Oct. 2006.

GREER, I.A.; SATTAR, N. Pregnancy complications and maternal cardiovascular risk: opportunities for intervention and screening? **BMJ**, v. 2, n. 325, p. 157-60, 2002.

KITZMILLER, J.L.; DANG-KILDUFF, L.; TASLIMI, M.M. Gestational diabetes after delivery. **Diabetes Care**, v, 30, Supl12, p. S225-S235, 2007.

LORENZ, M.W. *et al.* Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis. **Circulation**, v. 115, p. 459-467, 2007.

O'MALLEY, P. Atherosclerosis imaging of asymptomatic individuals. Is the sales cart before the evidence horse? **Arch Intern Med**, v. 166, May 2006.

REDBERG, P.M. *et al.* Task Force 3: noninvasive atherosclerosis measurement. **JACC**, v. 41, n. 11, p. 1855-917, Jun 2003.

RIDKER, N. *et al.* Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. **Circulation**, v. 109, p. 6-19, 2004.

1 CARÓTIDAS: AVALIAÇÃO DA ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL (PRIMEIRA PUBLICAÇÃO)

Freire CMV. Espessura médio-intimal carotídea. *In*: Engelhorn CA, Moraes Filho D, Barros FS, Coelho N. Guia prático de ultrassonografia vascular. 2. ed., Rio de Janeiro: Di Livros. ISBN: 8586703370 / ISBN13: 9788586703379 (no prelo).

Introdução

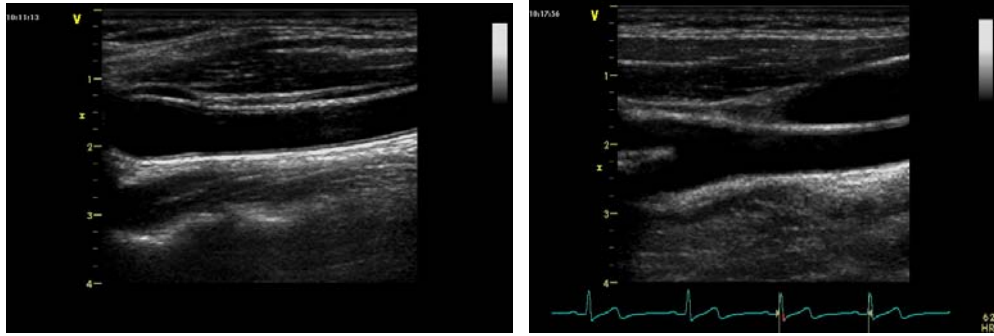
No Brasil, as doenças circulatórias são as principais causas de morte, após as causas externas. Além das doenças cardiovasculares (DCV) serem a maior causa de mortalidade e morbidade, são responsáveis também por elevado custo. Surpreendentemente, apesar dos dados, a prevenção de doenças crônicas, como as cardiovasculares, ainda está aquém do impacto socioeconômico que elas provocam¹. A queda importante observada na mortalidade por DCV em países economicamente desenvolvidos reflete o impacto de poucas ações sobre fatores de risco modificáveis como dieta, atividade física e tabagismo².

Em contraste com a facilidade de reconhecimento, tratamento e prevenção de pacientes com doença arterial coronariana (DAC) ou cérebro-vascular (DCeV) manifesta, existe acentuada dificuldade de reconhecimento de um grande grupo de indivíduos que não têm sintomas de doença aterosclerótica, mas que estão em risco de desenvolvê-la. Essa prevenção em indivíduos assintomáticos é tradicionalmente chamada de prevenção primária. Perder a oportunidade de intervenção nessa fase significa perder a chance de evitar expressivo número de primeiros eventos.

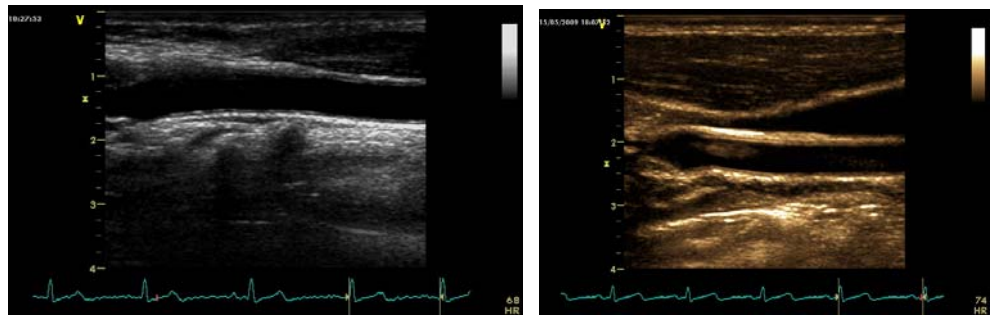
A busca por métodos para identificar indivíduos ou grupos que podem ser assintomáticos, mas carregam aumento do risco cardiovascular, é válida, principalmente quando esse grupo de risco é constituído de pessoas jovens³.

O estudo clássico de Pignoli foi o primeiro a descrever o padrão característico ao ultrassom (US) da parede arterial normal e a interpretação anatômica das interfaces ultrassonográficas. A parede arterial mostra linhas ecogênicas paralelas separadas por um espaço relativamente hipocogênico

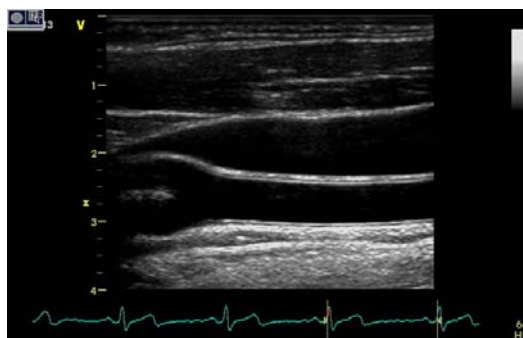
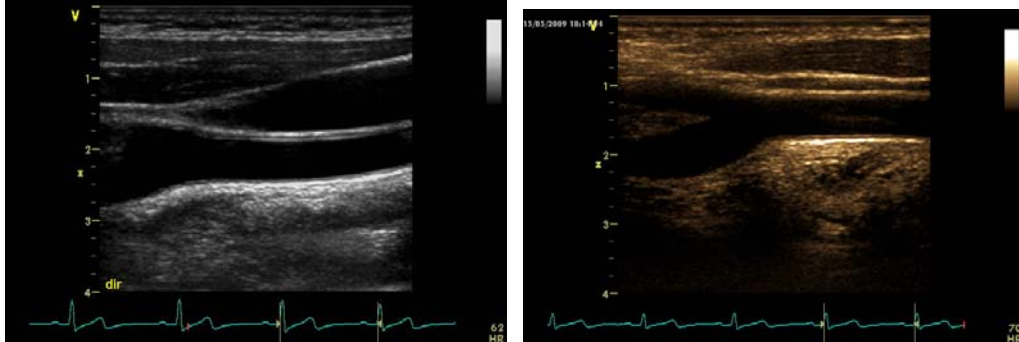
(padrão de linha dupla)⁴. A espessura das paredes normalmente compreende uma única camada de endotélio sobre uma fina camada de tecido conectivo subendotelial. Essas camadas combinadas medem aproximadamente 0,02 mm, assim, a medida de espessura médio-intimal (EMI) pelo ultrassom é composta, na maior parte, pela túnica média. Na ausência de placa aterosclerótica, o ultrassom modo B mostra as paredes das artérias com padrão regular, de dupla linha, que se correlaciona com as camadas anatômicas. A porção médio-intimal desse padrão é representada pela área do tecido, iniciando na borda do lúmen da artéria e terminando no limite entre a média e a adventícia. Essas interfaces são bem definidas graças às diferenças de impedância acústica entre os tecidos separados pela interface. Isto é, a imagem é formada quando o feixe do ultrassom vem de um tecido menos denso – sangue – para um tecido mais denso – camada íntima, como acontece na insonação da *parede posterior* da carótida. Quando se trata da imagem da *parede anterior* da carótida, o feixe de ultrassom passa através de uma camada mais densa – adventícia – para uma menos densa – média e íntima – e finalmente para um tecido menos denso ainda – sangue. Por isto, a medida da EMI na parede anterior é mais dependente dos ajustes de ganho do aparelho de ultrassom, podendo não refletir a verdadeira EMI (Figura 1)⁵.



a) Imagem não alinhada levemente, sem ECG e com má-definição da parede anterior. b) Imagem bem alinhada, porém, com linhas mal-definidas.

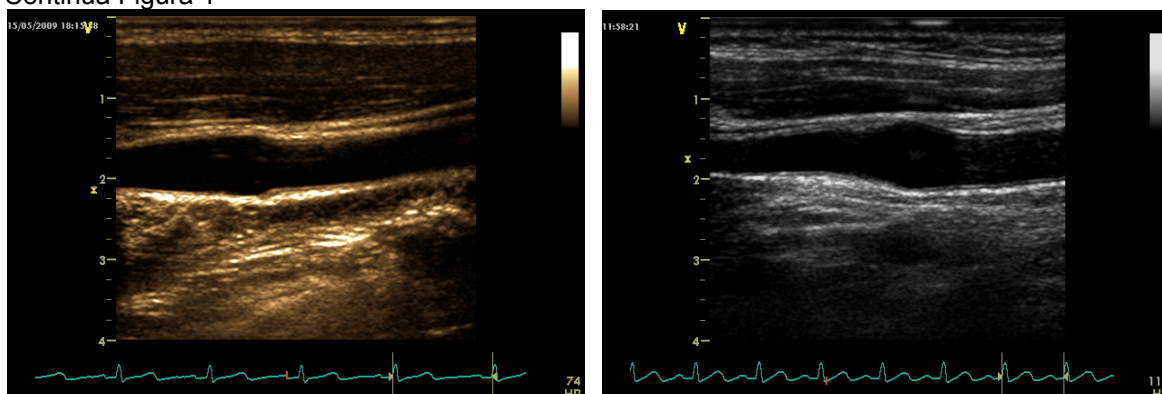


c) Reverberação da parede anterior, má-definição e mau alinhamento da carótida comum.

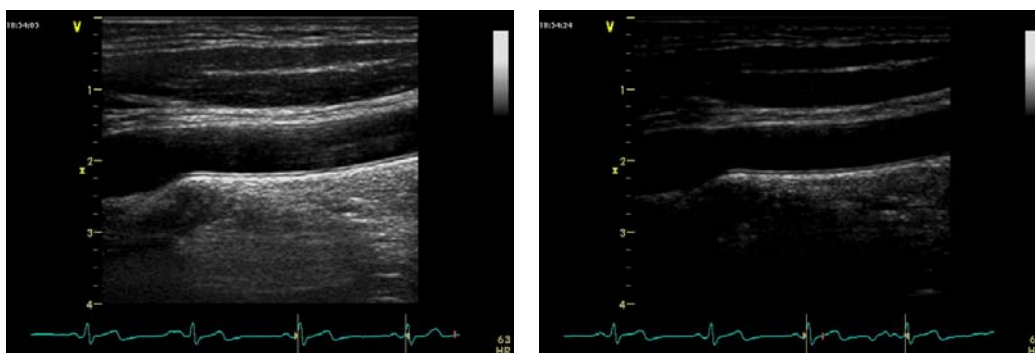


d) Imagens adequadas da carótida comum: retilínea, boa definição de linhas da parede anterior e posterior, acoplamento de ECG, ganhos ajustados.

Continua Figura 1



e) Imagem adequada da carótida interna e bifurcação: retilínea, boa definição de linhas da parede anterior e posterior, acoplamento de ECG, ganhos ajustados.



f) Imagem com muito ganho (1) e pouco ganho (2).

Figura 1 - Imagem da dupla linha ideal e alguns artefatos de ganho ou mal-alinhamento.

O US é uma importante ferramenta para detecção e monitoramento das mudanças da parede arterial desprovidas de placas. Sugere-se que modificações precoces na EMI da parede vascular podem, posteriormente, resultar em placa de ateroma. Entretanto, a EMI reflete não apenas aterosclerose precoce, mas também reações intimais não-ateroscleróticas, tais como hiperplasia intimal, hipertrofia fibrocelular e pode ser uma resposta adaptativa a modificações do fluxo, tensão da parede ou diâmetro do lúmen^{6,7}.

Vários fatores promoveram o uso do ultrassom modo B em estudos clínicos, explorando a associação de fatores de risco com a espessura da camada médio-intimal e a formação da placa ateromatosa. O mais importante deles é a capacidade de mostrar a parede da artéria em vez do lúmen, pois a aterosclerose afeta primariamente a parede do vaso e não necessariamente a redução do seu lúmen. Esse processo dinâmico é caracterizado por remodelamento da parede

arterial, que pode não ser reconhecido por muitos anos, mas pode subitamente se manifestar como um evento vascular agudo⁸.

Estudos populacionais referiram, há mais de duas décadas, a associação da medida da EMI ao ultrassom com fatores de risco clássicos para DAC e DCeV tais como idade, sexo, diabetes *mellitus*, hipercolesterolemia, hipertensão e tabagismo. Ao mesmo tempo, também foram apreciadas as associações do aumento da EMI com os principais desfechos cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio (IAM) e o acidente vascular cerebral (AVC)⁹⁻¹⁷ (Quadro 1).

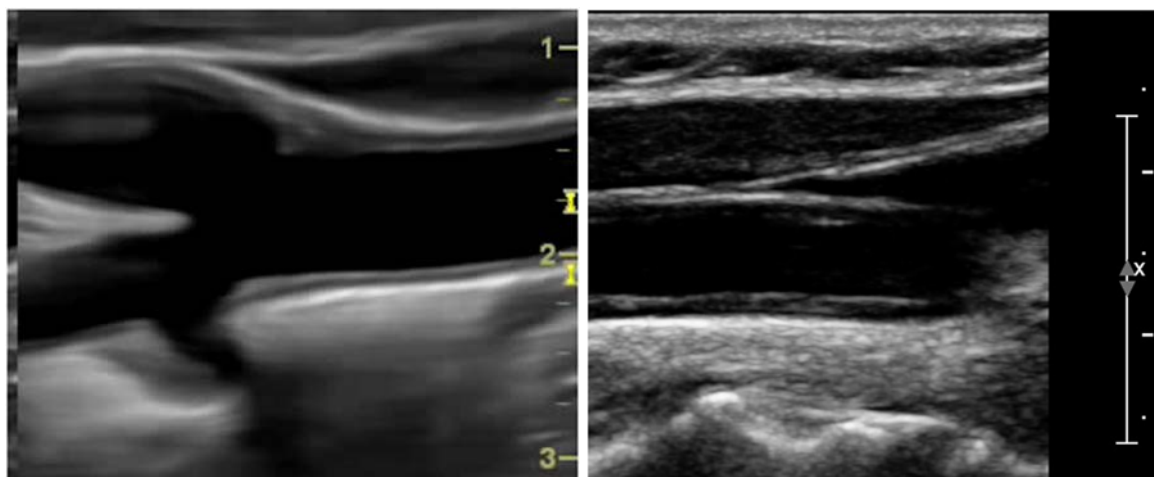
Quadro 1 – Alguns estudos populacionais que avaliaram a associação da EMI e risco cardiovascular em indivíduos sem doença estabelecida e pontos de corte adotados

Estudo	N	Seguimento (anos)	Desfecho Avaliado	Ponto de corte /RR Ajustado*
ARIC	12.841	5,2	DAC, morte	Maior tercil / M- 2,02
				F- 2,53
ARIC	14.214	7,2	AVC	Maior tercil / M- 2,24
				F – 2,32
CHS	4.476	6,2	IM, AVC	Maior quintil / 3,61
Rotterdam	6.389	7 - 10	IM	Maior quartil / 1,95
MDCS	5.163	7	IM	Maior tercil / 1,50
CAPS	5.056	4,2	DAC, morte	Maior quartil / 1,83

ARIC-*Atherosclerosis risk in communities*; CHS- *Cardiovascular health study*; MDCS- *Malmö diet and cancer study*; CAPS-*Carotid atherosclerosis progression study*; IM- infarto do miocárdio; AVC- acidente vascular cerebral; DAC- doença arterial coronariana; M- masculino; F- feminino.

* ajustado para idade, sexo e fatores de risco tradicionais.

A EMI aumenta e a camada médio-intimal se torna mais irregular e brilhante com o aumento da idade e diante de fatores de risco para aterosclerose. Muitas vezes, pacientes com muitos fatores de risco têm artérias “mais velhas” do que as esperadas para sua idade cronológica¹⁸. Os valores mais altos de EMI estão na origem do bulbo e as calcificações são encontradas em pacientes mais velhos e com fatores de risco (Figura 2).



a) EMI é maior na bifurcação carotídea.

b) EMI aumentada da parede posterior da carótida comum esquerda (1,2 mm) em paciente com 58 anos de idade com múltiplos fatores de risco. A superfície é irregular e a textura da parede é heterogênea.

Figura 2 - Modificações da EMI de acordo com o local medido e com a presença de fatores de risco.

A natureza não-invasiva do ultrassom estimulou acompanhamentos populacionais longitudinais, a custo relativamente baixo. Além disso, impôs novos questionamentos relacionados à definição de aterosclerose, a diferenças potenciais em amostras clínicas, à relação precisa entre espessura da parede e o diâmetro do lúmen e ao uso da parede da artéria carótida como marcador substituto de DAC. O espessamento da parede da carótida não é sinônimo de aterosclerose, especialmente na ausência de placa. Ele representa uma doença vascular subclínica, sendo considerado fator independente e marcador de risco de DCV^{19,20}.

Assim, o espessamento médio-intimal é considerado um marcador substituto de aterosclerose; sua força é realçada pelo fato de que ele oferece informações fisiopatológicas num estágio precoce do processo da doença. Além disso, segmentos de parede da carótida com pequeno aumento da EMI têm pouca correlação com a rigidez da carótida. A rigidez desse vaso aumenta em segmentos onde há placas já formadas ou com marcante aumento da EMI. O estudo simultâneo do comportamento elástico da parede arterial com a medida da EMI e existência de placa pode aumentar a compreensão da progressão da aterosclerose e do remodelamento da parede arterial²¹.

Indicações

A imagem da parede arterial ao ultrassom evoluiu de tal maneira, que é possível medir a EMI como uma variável contínua da infância até a idade adulta. É recomendada em estudos epidemiológicos de acompanhamento populacional e na avaliação de intervenções em doenças cardiovasculares, como uso de medicações²². Entretanto, a medida da EMI ainda não deve ser realizada com o objetivo de ser “tratada”, pois seu valor como preditor de risco isoladamente ainda não é validado para avaliação de risco individual.

A maioria das sociedades de cardiologia faz a estratificação do risco cardiovascular do indivíduo a partir de modelos de predição como o escore de risco de Framingham (ERF). O ERF utiliza dados de avaliação clínica como pressão arterial, idade, sexo e tabagismo associados à dosagem de glicemia e ao colesterol total e fracionado. O objetivo do uso de exames de imagem não-invasivos em aterosclerose é melhorar a identificação de indivíduos de baixo e alto risco de DCV e reduzir as classificações de risco intermediário, que chegam a 40% das estratificações de risco nos Estados Unidos da América (EUA)²³. Essa medida só está indicada quando ajudar o médico-assistente a definir estratégias de prevenção mais agressivas. Sabe-se que a cada ano ocorre aumento de 0,02 a 0,03 mm na espessura da parede da carótida e o aumento de 0,1 mm na EMI eleva em 11% o risco de IAM. Pacientes com os seguintes quadros clínicos podem ser considerados para medida da EMI e detecção de placas ateroscleróticas: a) história familiar de primeiro grau de DCV prematura (homens < 55 anos e mulheres < 65 anos); b) indivíduos com menos de 60 anos de idade, com alteração importante de um fator de risco; c) mulheres abaixo de 60 anos com pelo menos dois fatores de risco²⁴.

Não se indica a medida da EMI quando o paciente já tem doença aterosclerótica vascular definida, pois não alteraria o manejo clínico; nem para seguimento de progressão ou regressão da espessura da parede de maneira individual⁵.

Visto isso, é de fundamental importância a metodologia na avaliação da EMI, isto é, pequenas diferenças de protocolo podem elevar ou reduzir a faixa de risco do paciente. Por isso, essa medida deve ser realizada apenas em laboratórios de pesquisa altamente qualificados^{25,26}.

Técnica para medida da EMI

Atualmente, protocolos e padronizações diversos são usados por laboratórios de ecografia vascular, ficando difícil estabelecer valores de normalidade ajustados para idade e sexo. Antes da adoção de qualquer técnica de aquisição de imagens, é essencial que ela seja comprovadamente útil, reproduzível e tenha pequena variabilidade biológica. Assim, opta-se por utilizar apenas as técnicas sabidamente validadas por importantes estudos populacionais e adotadas pelos principais consensos sobre esse tema. No Quadro 2 estão as metodologias empregadas em quatro estudos populacionais e na Figura 3 os locais onde foram medidas a EMI nesses estudos^{26,27}.

Quadro 2 - Metodologias para medida da EMI utilizadas em cinco estudos populacionais

Estudo / Ano	Local	Método
ARIC 1997, 2000	CC, Bif, CI, combinados	EMI média da parede posterior
CHS 1999, 2004	CC, CI, combinados	EMI máxima da parede posterior + parede anterior
Rotterdam 1997	CC	EMI média da parede posterior + parede anterior
2002	CC, CI, combinados	EMI máxima parede posterior + parede anterior/posterior
2003	CC	EMI média da parede posterior + parede anterior
MDCS 2005	CC direita	EMI média da parede posterior
CAPS 2006	CC, Bif, CI	EMI média da parede posterior

ARIC-*Atherosclerosis risk in communities*; CHS- *Cardiovascular health study*, MDCS- *Malmo diet and cancer study*, CAPS-*Carotid atherosclerosis progression study*; CC- carótida comum; Bif- bifurcação carotídea; CI- carótida interna.

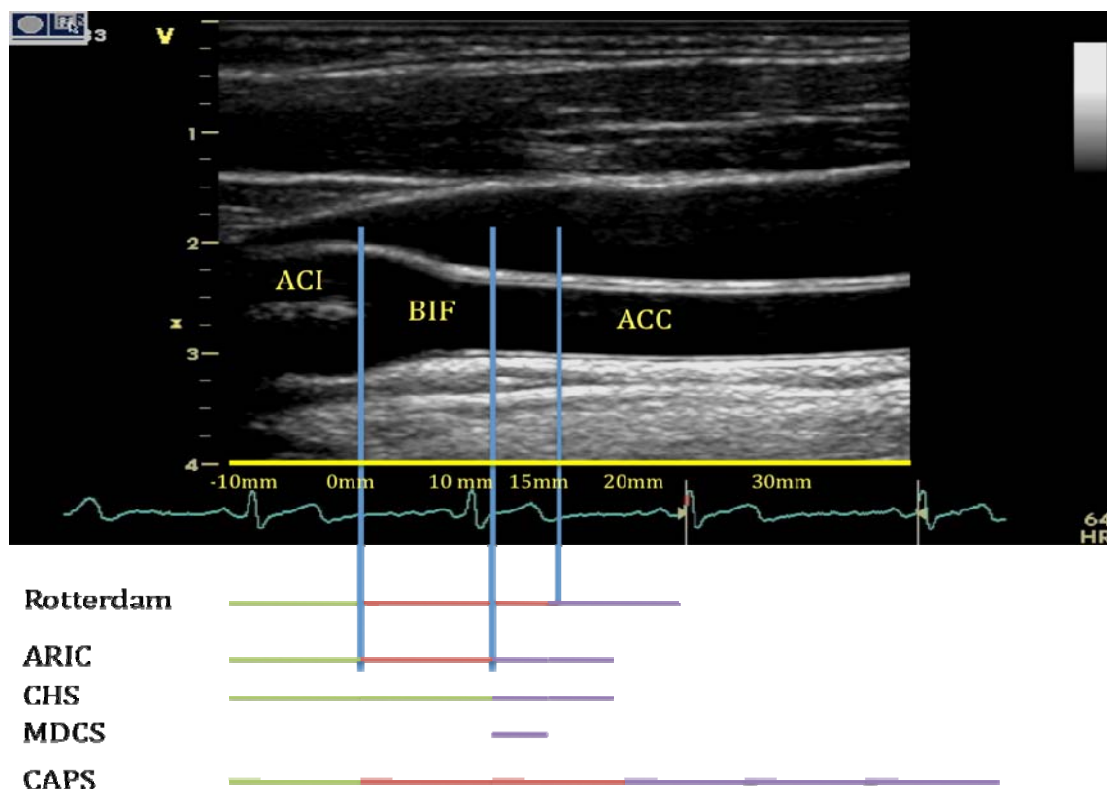


Figura 3 - Esquema de medidas da EMI nos diferentes estudos.

Fonte: Adaptado de Lorenz *et al.* (2007)²⁸.

Aquisição da imagem

Quadro 3 - Protocolo sugerido para medida da espessura médio-intimal

- ◆ Transdutor linear de alta definição de 7-12 MHz.
- ◆ Imagem fundamental sem *zoom* e zona focal única.
- ◆ Profundidade do campo de 3-4,0 cm.
- ◆ Localizar a bifurcação carotídea e colocar a imagem o mais retilínea possível, marcando onde será realizada a medida.
- ◆ Fazer imagens em todos os acessos - anterior, posterior ou no esternocleidomastoideo - adquirir 3 a 5 *loops* com ECG acoplado e selecionar a imagem na qual o padrão de dupla linha for mais bem delimitado.
- ◆ Fazer as medidas ou semiautomaticamente ou automaticamente num segmento de cerca de 1,0 cm.
- ◆ Incluir placas nas medidas, se presentes.
- ◆ Armazenar as imagens digitalizadas em DICOM.
- ◆ Escolher protocolo de medidas validado por estudos populacionais.

ECG = ecocardiograma.

- a) Transdutor linear com frequência acima de 7,0 MHz e alta resolução de modo-B.
- b) A profundidade do campo deve ser entre 30 e 40 mm, *frame rate* ideal de 25 Hz (>15 Hz) e ajuste de ganho em que ocorra pouco artefato intraluminal.
- c) Usar imagem fundamental do modo B, pois a harmônica pode aumentar falsamente a EMI. O *zoom* não deve ser usado, pois, além de favorecer a perda de marcadores anatômicos importantes para a medida, ele não foi utilizado nos estudos de validação e em muitos aparelhos comerciais ele não aumenta a resolução da imagem. Além disso, deve-se usar uma zona de foco única.
- d) A imagem da carótida deve ser analisada no eixo longitudinal, onde o segmento é mais perpendicular ao feixe de ultrassom e tentando-se a visibilização definida do padrão de dupla linha ultrassonográfica, característica das paredes arteriais. A parede mais próxima da pele é chamada de parede anterior (*near wall*) e a mais afastada recebe o nome de parede posterior (*far wall*). Das imagens carotídeas obtidas nos acessos anterior, posterior ou no esternoclidomastoideo, a imagem mais horizontal - retilínea - e com o padrão de dupla linha melhor definido deve ser a selecionada para realizar a medida.
- e) Acoplar ECG na imagem, pois as medidas, aquisição e armazenamento deverão ser realizados em três a cinco ciclos R-R (*cine-loops*).
- f) Aquisição e armazenamento da imagem em *Digital Imaging and Communications in Medicine* (DICOM) para análises futuras ou por outros observadores.
- g) Cada laboratório vascular deve fazer um controle de qualidade periódico dos equipamentos e confiabilidade dos seus estudos. Além disso, deve-se avaliar os coeficientes de variação e repetibilidade inter e intraobservadores.

Onde e como medir a EMI

A EMI é medida no segmento distal da carótida comum devido ao seu trajeto retilíneo e por poder ser acessada na maioria dos pacientes. Entretanto, o segmento proximal da carótida interna (1 cm distal da zona de divisão do fluxo da

carótida comum) e o distal da bifurcação carotídea (1 cm proximal da divisão do fluxo da carótida comum) também são estudados. A carótida interna e a bifurcação carotídea são menos retilíneas, o que torna a medida mais trabalhosa e sujeita a significativas variações. São poucas as publicações sobre a variação da EMI em relação aos lados direito e esquerdo, mas parece que as medidas do lado esquerdo são maiores²⁹.

Todas as medidas devem ser realizadas, se possível, num segmento de 1 cm, livre de placas ateroscleróticas. Entretanto, se houver placa aterosclerótica no local onde será realizada a medida, ela deve ser incluída. Devido à tortuosidade de alguns segmentos, especialmente da carótida interna e da bifurcação carotídea, pode não ser possível a medição de 1,0 cm de extensão (Figura 4).

A medida deve ser realizada na parede posterior, pois é menos sujeita a modificações com ajustes de ganho e, portanto, é mais reprodutível. Se a imagem for adequada, pode-se medir também a espessura médio-intimal da parede anterior.

As medidas do lado realizado e das paredes analisadas devem ser anotadas em separado. Não há consenso em relação à utilização de uma média dos valores obtidos entre o lado direito ou esquerdo, contudo, os valores combinados podem ser aceitos.

Utilizar protocolo de medidas de um dos estudos populacionais citados, em que há tabelas de medidas de EMI de acordo com faixa etária, sexo e raça.

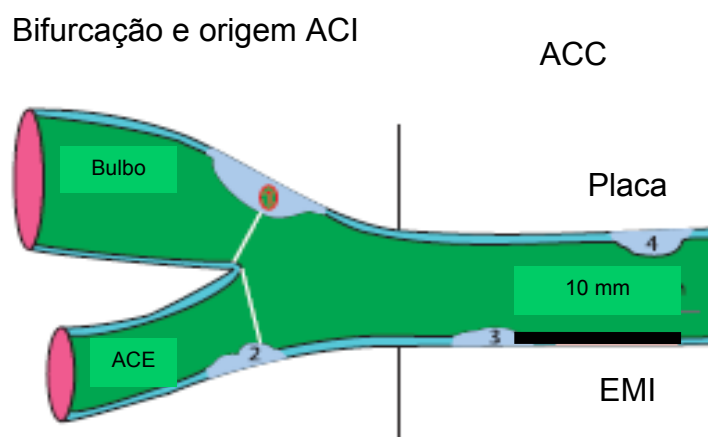


Figura 4 - Representação esquemática das carótidas com placas e medida da EMI de acordo com o Consenso de Mannheim.

ACC- artéria carótida comum; ACE- artéria carótida externa; ACI- artéria carótida interna; EMI- espessura médio-intimal.

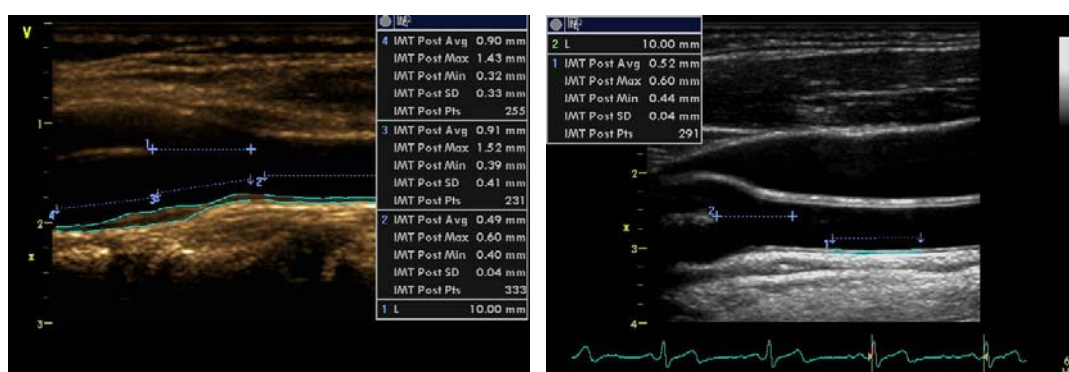
1. Espessura $>1,5$ mm; 2. Invasão do lúmen $>0,5$ mm; 3,4. $> 50\%$ da EMI adjacente.

Medida manual e automática

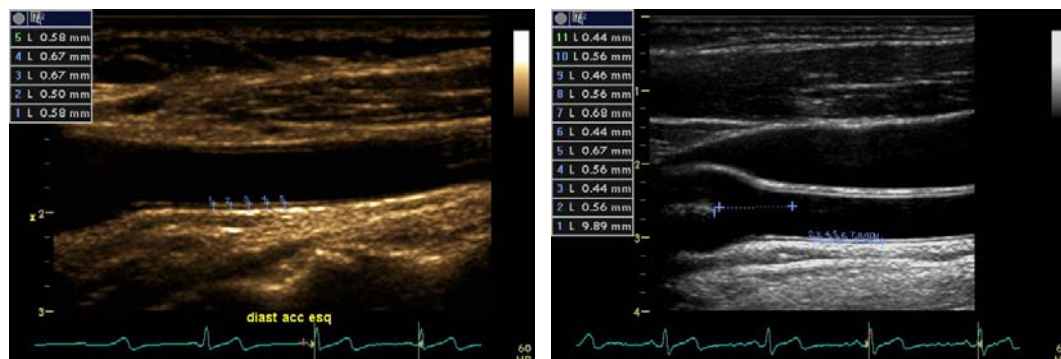
A medida manual é a técnica mais utilizada na prática clínica. Ela é realizada a partir da marcação ponto a ponto com calípers eletrônicos, limitados a múltiplos de pixels, num segmento de cerca de 1,0 cm do vaso. Anotam-se a medida máxima do segmento e a média de todas as medidas obtidas. Esse tipo de medição foi a adotada pela maior parte dos estudos populacionais, exceto de Rotterdam, que utilizou ambos os métodos. Habitualmente, a medida manual apresenta mais variabilidade intra e interobservador, necessitando de minucioso treinamento e demandando tempo muito mais longo para ser realizada do que a automática.

Medidas automáticas e semiautomáticas, por meio de *softwares* específicos, têm a importante vantagem de serem muito rápidas e apresentarem mais acurácia. A medida automática foi testada por diferentes fabricantes, a maioria em programas desenvolvidos com tracejo das superfícies de forma *off-line* em segmento da carótida comum. Hoje, de maneira *on-line* (em tempo real), pode-se realizar a medida automatizada das EMIs de vários segmentos das carótidas em poucos segundos. A maior vantagem da medida automática é a

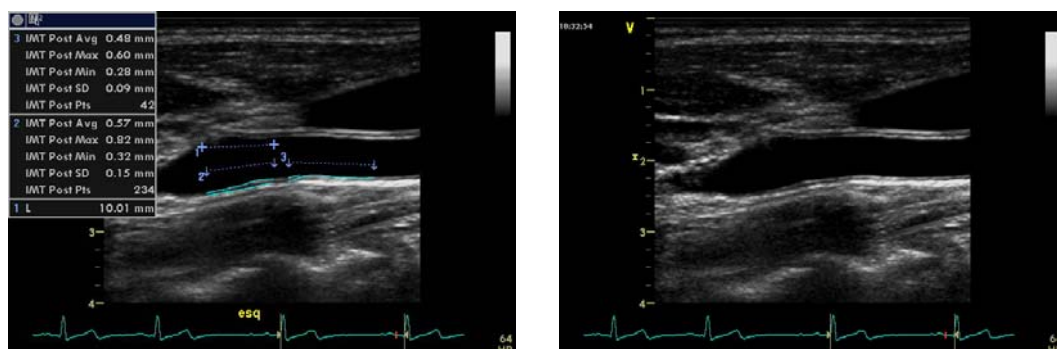
redução do tempo de medição associada a mais reprodutibilidade em todos os segmentos usados para pesquisa em aterosclerose. Os dados de EMI máxima, média, desvio-padrão e número de pontos subpixelares (de mais precisão) medidos num determinado segmento são derivados automaticamente após seleção da área a ser medida. Geralmente, mede-se num segmento de 1,0 cm mais de uma centena de pontos subpixelares. A medida *on-line* permite a aquisição de quantas imagens forem necessárias para a melhor obtenção da medida³⁰.



a) Medida automática.



b) Medida manual.



c) Imagem visualmente adequada, mas sem definição para medida automática.

Figura 5 - Fotos de medidas manuais e automáticas da espessura médio-intimal.

Os consensos recomendam programas de detecção de bordas semiautomáticos ou automáticos validados e não sugerem a medida manual ponto a ponto.

Interpretação da medida da EMI para acessar risco cardiovascular

Algumas definições se fazem necessárias para classificar as lesões da parede arterial. De acordo com o consenso de Mannheim, a placa aterosclerótica é uma estrutura focal que protuberava para dentro da luz do vaso em pelo menos 0,5 mm ou mais de 50% da medida da EMI da parede adjacente ou uma medida da interface média-adventícia até a interface lúmen-íntima maior ou igual a 1,5 mm. A Sociedade Americana de Ecocardiografia define placa como espessamento focal da parede pelo menos 50% acima da medida da EMI da parede adjacente ou uma lesão focal cuja EMI é maior ou igual a 1,5 mm protuso para dentro da luz do vaso^{29,31-33} (Figura 5).

Na presença de placa aterosclerótica formada, a análise da EMI traz pouca informação adicional, pois a doença está estabelecida. A EMI como marcador de doença subclínica deve ser analisada em imagens bem selecionadas, por laboratórios habituados a protocolos de pesquisa.

Os estudos populacionais já demonstraram anteriormente que a EMI varia com a faixa etária, com o sexo e a raça^{5,33-37}. As medidas encontradas deverão ser comparadas com tabelas populacionais e classificadas dentro de um percentil para as faixas etárias, sexo e raça. Geralmente utilizam-se as tabelas de estudos americanos e europeus. Assim, não há um valor de normalidade único que faça um ponto de corte entre o normal e o anormal e os resultados encontrados são classificados em percentis. Deve-se escolher a tabela populacional mais adequada para o paciente, visto que não há tabelas de normalidade para a população brasileira, entretanto, isto pode trazer dificuldade de interpretação em alguns pacientes. Por exemplo, um homem branco de 35 anos com EMI média da parede posterior da carótida comum esquerda de 0,54 mm encontra-se abaixo do percentil 25%, segundo a tabela gerada pelo estudo americano CAPS. Entretanto, esse mesmo indivíduo estaria entre o percentil 50 e 75% se classificado de acordo com a tabela do estudo europeu AXA³⁸. Daí a necessidade de uma tabela para a nossa população, que é miscigenada.

Ampla pesquisa populacional brasileira está em andamento (Projeto Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto - ELSA)³⁹ e irá descrever a EMI de uma grande amostra da população brasileira e, conseqüentemente, no futuro próximo estarão disponibilizadas tabelas apropriadas para avaliação de nossa população (ANEXO A).

O que reportar no laudo ecográfico

A medida da EMI faz parte do exame carotídeo para avaliação de risco cardiovascular e deve ser colocada na descrição do tipo do estudo. A medida deve ser descrita em percentis, para evitar que forneça uma precisão que não tem individualmente.

Deve-se descrever a referência populacional que usou para classificar em percentil e se usou a média ou a máxima das medidas. Um valor de EMI igual ou superior ao percentil 75 deve ser considerado elevado e indicativo de aumento do risco cardiovascular. Valores entre os percentis 25 e 75 são considerados médios e não elevam o risco cardiovascular previamente avaliado.

Quadro 4 - O que reportar no laudo

- ◆ Identificação completa do paciente:
 - Nome
 - Idade
 - Sexo
- ◆ Colocar o tipo de indicação do exame: para avaliação de risco cardiovascular
- ◆ Descrever separadamente para cada lado e cada segmento de carótida, avaliado o valor médio e máximo de medidas semi ou automáticas
- ◆ Classificar em percentil e descrever a tabela populacional utilizada para a classificação (ARIC, AXA, etc.) (ANEXO A)
- ◆ Descrever presença de placas ateroscleróticas associadas e classificá-las em relação ao grau de estenose e a parede acometida
- ◆ Interpretação dos dados em relação ao risco cardiovascular (se pela análise o risco foi aumentado ou não modificado após a análise da EMI)

Referências

1. Datasus. Disponível em: www.datasus.gov.br. Acesso em fevereiro de 2010.
2. World Health Organization. Disponível em: www.who.gov. Acesso em fevereiro de 2010.
3. Gonzalez MA. & Selwyn AP. Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. *Am J Méd Dec* 2003; 115(8),Suppl 115: 8A:99S-106S.
4. Pignoli P, Tremoli E, Poli A. *et al.* Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74:1399-1406.
5. Salonen JK. & Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87(3suppl): II56-II65.
6. Crouse III JR. B-mode ultrasound in clinical trials: Answers and questions. *Circulation* 1993; 88:319-321.
7. Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Increased common carotid intima-media thickness: adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam study. *Stroke* 1997; 28:2442-7.
8. Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH. *et al.* Quantitative imaging, risk factors, prevalence, and change: introduction and background. Coronary atherosclerosis: A multifactorial disease. *Circulation* March 1993; 87(3S) Supplement:II3-II16.
9. Salonen R. & Salonen JT. Determinants of carotid intima-media thickness: a population-based ultrasonography study in eastern Finnish men. *J Intern Med* 1991; 229:225-231.
10. Giral P, Filitti V, Levenson J. *et al.* Relation of risk factors for cardiovascular disease to early atherosclerosis detected by ultrasonography in middle-aged normotensive hypercholesterolemic men. *Atherosclerosis* 1990; 85:151- 159.
11. Howard G, Burke G, Szklo M. *et al.* Active and passive smoking are associated with increased carotid wall thickness: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arch Intern Med* 1994; 154: 1277-1282.
12. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol* 1991; 134:250-256.
13. Salonen J, Seppanen K, Rauramaa R. *et al.* Risk factor for carotid atherosclerosis in the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Ann Med* 1989; 21:22-229.

14. Kuller L, Borhani N, Furberg C. *et al.* Prevalence of subclinical atherosclerosis and cardiovascular disease and association with risk factors in the Cardiovascular Health Study. *Am J Epidemiol* 1994; 139:1164-1179.
15. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the cardiovascular health study. The CHS Collaborative Research Group. *Stroke* Dec 1992; 23(12):1752-60.
16. O'Leary DH, Anderson KM, Wolf PA. *et al.* Cholesterol and carotid atherosclerosis in older persons: the Framingham Study. *Ann Epidemiol* 1992; 2:147-153.
17. Salonen JT. & Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Sep-Oct 1991; 11(5):1245-9.*
18. Labropoulos N, Leon LR Jr, Brewster LP. *et al.* Are your arteries older than your age? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30:588-96.
19. Boissel J-P, Collet J-P, Moleur P. *et al.* Surrogate endpoints: a basis for a rational approach. *Eur J Clin Pharmacol* 1992; 43:235-244.
20. Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension* 2005; 46:454-62.
21. Labropoulos N, Mansour AM, Kang SS. *et al.* Viscoelastic properties of normal and atherosclerotic carotid arteries. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 19:221-225).
22. de Groot E, Hovingh G K, Wiegman A. *et al.* Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 109(23) (Suppl): III-33-III-38, June 15, 2004.
23. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P. *et al.* AHA/ACC scientific statement: assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk- factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:1348-1359.
24. Greenland P, Smith Jr. JS, Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people: role of traditional risk factors and noninvasive cardiovascular tests. *Circulation* 2001; 104:1863-7.
25. Salonen RS. & Salonen J. Progression of carotid atherosclerosis and its determinants: a population based ultrasonographic study. *Atherosclerosis* 1990; 81:33-40.

26. Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP. *et al.* Prevention conference V: beyond secondary prevention, identifying the high-risk patient for primary prevention, noninvasive tests of atherosclerotic burden, writing group III. *Circulation* 2000; 101:E16-22.
27. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S. *et al.* Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23(1):75-80.
28. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML. *et al.* Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007; 115:459-467.
29. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT. *et al.* Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. *J Am Soc Echocardiogr* Feb 2008; 21(2):93-111.
30. Freire CMV, Ribeiro ALP, Barbosa FBL. *et al.* A comparison of automated and manual measurements of intima-media thickness in clinical practice. *Vascular Health and Risk Management* 2009; 5:811-817.
31. Foerch C, Buehler A, von Kegler S. *et al.* Intima-media thickness side differences are limited to the common carotid artery. *Hypertension* 2003; 42:e17, author reply e18.
32. Roman MJ, Naqvi TZ, Gardin JM. *et al.* Clinical application of noninvasive vascular ultrasound in cardiovascular risk stratification: a report from the American Society of Echocardiography and the Society of Vascular Medicine and Biology. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19:943-54.
33. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR. *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* Sep 15 1997; 146(6):483-494.
34. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ. *et al.* Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* Sep 2 1997; 96(5):1432-1437.
35. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* Jan 7 1999; 340(1):14-22.

36. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. Mar 1993;87(3 Suppl):II56-65
37. Rosvall M, Janzon L, Berglund G. *et al.* Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med* 2005; 257:430-7.
38. Denarie N, Gariépy J, Chironi G. *et al.* Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000; 148: 297-302.
39. Projeto Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto. Disponível em: www.elsa.org.br. Acesso em março de 2010.

2 COMPARAÇÃO ENTRE MEDIDAS AUTOMÁTICAS E MANUAIS DA ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL NA PRÁTICA CLÍNICA (SEGUNDA PUBLICAÇÃO)

Freire CM, Ribeiro AL, Barbosa FB, Nogueira AI, de Almeida MC, Barbosa MM, Lana AM, e Silva AC, Ribeiro-Oliveira A. Comparison between automated and manual measurements of carotid intima-media thickness in clinical practice. *Vasc Health Risk Manag.* 2009; 5:811-7. Epub 2009 Sep 24. PMID: 19812693 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Resumo^b

Introdução e objetivo: a medida da espessura médio-intimal (EMI) carotídea tem sido utilizada como um marcador de doença da parede arterial. Na maioria dos estudos epidemiológicos a EMI foi medida manualmente. Porém, com a introdução de novas tecnologias, as medidas realizadas por *softwares* automáticos têm sido cada vez mais utilizadas. Este estudo objetiva comparar medidas da EMI manuais com as realizadas automaticamente, em segmentos das carótidas comum (CC), bifurcação carotídea (BIF) e artéria carótida interna (ACI). **Métodos:** medidas automáticas e manuais da EMI foram realizadas em tempo real (*on-line*) em 43 mulheres adultas. As medidas das EMIs nos segmentos carotídeos foram comparadas pelo método de Bland-Altman e as medidas dos coeficientes de variação e repetibilidade entre observadores também foi determinada. **Resultados:** a média de tempo despendida para realizar as medidas manuais (57,3s) foi significativamente mais alta que a despendida para as medidas automáticas (2,52s). Em nenhum dos segmentos carotídeos avaliados houve erros sistemáticos entre os métodos. O coeficiente de variação variou de 5,54 a 6,34% para CC e BIF, 9,76% para ACI, sendo as diferenças absolutas abaixo de 0,1 mm em 85% das medidas e abaixo de 0,05 mm em 70% das medidas. A concordância interobservadores não mostrou erros sistemáticos. Os coeficientes de variação e repetibilidade foram melhores para as medidas automáticas do que para as manuais. **Conclusão:** apesar de ambos os métodos serem confiáveis para medir-se a EMI, a medida automática permite avaliação mais rápida e com menos variabilidade para todos os segmentos carotídeos atualmente utilizados para pesquisa em aterosclerose.

Palavras-chave: Espessura médio-intimal. Aterosclerose. Medida automática. Medida manual. Método de Bland-Altman.

^b A versão em inglês deste artigo encontra-se no APÊNDICE C.

Introdução

Aterosclerose e doenças aterotrombóticas representam a maior causa de morbidade e mortalidade no mundo, reduzindo a expectativa de vida devido a infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico^{1,2}. Novas tecnologias permitem identificar a progressão da doença da parede arterial e acessar respostas terapêuticas e o risco propriamente dito da doença. A medida da espessura médio-intimal carotídea (EMI) tem sido usada em estudos epidemiológicos e de estratificação de risco como um marcador subclínico de aterosclerose, substituto confiável para um evento mórbido³. Sabendo que os estudos de prevenção de doença arterial coronariana (DAC) usualmente requerem milhares de pacientes e cinco a 10 anos de seguimento, as medidas da EMI permitem estudos menores e com custo baixo⁴. Dos vários métodos de imagem não-invasivos disponíveis, a medida da EMI é atualmente recomendada pela *American Heart Association* (AHA) para inclusão na avaliação de risco de desenvolvimento de doença cardiovascular, em pacientes de risco intermediário pelo escore de risco de Framingham⁵⁻⁷.

Em 1986, Pignoli *et al.*⁸ identificaram a EMI usando o ultrassom e concluíram, naquela ocasião, que a imagem bidimensional era importante ferramenta para detecção e monitorização das modificações na parede arterial. Desde então, a ultrassonografia bidimensional tem sido utilizada para medir a EMI como indicador primário de doença aterosclerótica. Dada à forte correlação entre aterosclerose em vários leitos vasculares, a medida da EMI está se tornando crescentemente aceita como um marcador substituto de doença arterial generalizada^{9,10}.

Há cerca de 10 anos, o estudo *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC), com 15.800 indivíduos, demonstrou, após ajustes para covariáveis tais como idade, índice de massa corpórea (IMC), tabagismo, sexo, raça e pressão arterial, que a EMI era bem correlacionada com o colesterol total, *low density lipoprotein cholesterol* (cLDL) e triglicérides¹¹. Assim em 2000, a *AHA Prevention Conference V* preconizou que a medida da EMI acrescentava informação aos fatores de risco tradicionais na avaliação de risco em pacientes assintomáticos, especialmente naqueles acima de 45 anos¹².

A medida manual da EMI (medida ponto a ponto na imagem bidimensional)

é a técnica mais utilizada na prática clínica, apesar de tomar tempo e dos resultados estarem sujeitos a erros por falta de experiência ou por julgamentos subjetivos do observador. Mesmo quando as mesmas imagens são medidas duas vezes com intervalo de 12 meses, um terço de variabilidade nas medidas pode ser esperado quando se utilizam as medidas manuais da EMI. Assim, o desenvolvimento das medidas automatizadas são bastante atrativas^{13,14}. Alguns estudos utilizaram medidas semiautomáticas e automáticas da EMI da carótida comum, mas nenhum deles avaliou essas medidas com um *software on-line* (em tempo real)^{15,16}.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi comparar um sistema de medida automática da EMI com as medidas manuais em segmentos predefinidos da carótida comum (CC), bifurcação carotídea (BIF) e carótida interna (CI), usando *software* padrão de um equipamento convencional de ultrassom durante a rotina de exames de um laboratório de ecocardiografia.

Material e métodos

População de estudo

A população estudada consistiu de 43 mulheres com idade média de 38,9 ± 5,6 anos, encaminhadas para o ambulatório de saúde da mulher. Todas as pacientes incluídas neste estudo eram participantes de um estudo clínico sobre o efeito do passado de diabetes gestacional no desenvolvimento de aterosclerose subclínica (pacientes e controles). Além disso, esse grupo de mulheres era homogêneo e livre de placas ateroscleróticas e qualquer outra comorbidade.

Portanto, a medição da EMI poderia ser útil para detectar alterações ateroscleróticas precoces nesse grupo. O termo de consentimento informado foi obtido de cada participante antes do envolvimento no estudo. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (ANEXO B).

Um ultrassom *scanner* de alta resolução com um transdutor linear de alta frequência (7; 10 ou 12 MHz), GE *Health Care Vivid 7 Dimension* (Wauwatosa, WI, EUA), foi utilizado para esta avaliação.

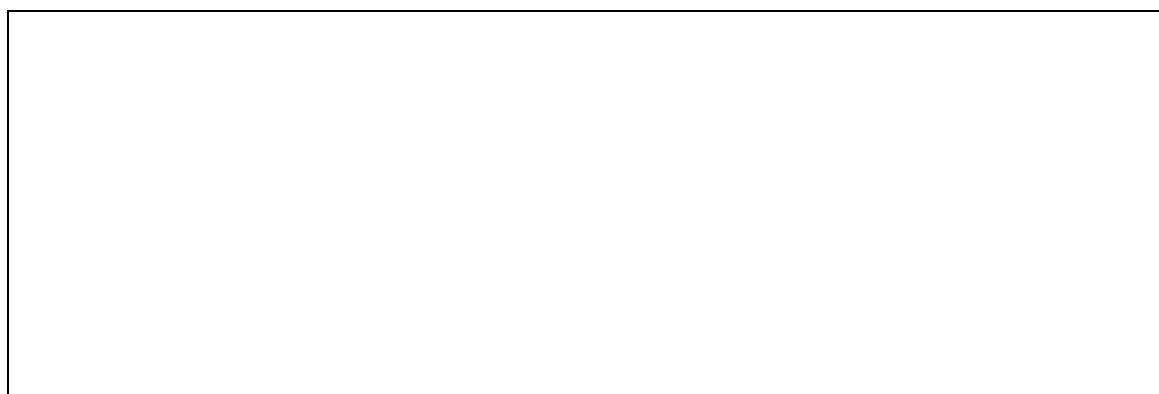
Para o exame das artérias carótidas, o pescoço dos indivíduos foi

ligeiramente virado para o lado direito ou esquerdo. A imagem selecionada foi maximizada e as configurações de ganho otimizadas para visualizar a parede mais distante (posterior – *far wall*) das carótidas, a fim de medir o complexo médio-intimal.

Ambas as medidas manuais e automatizadas foram realizadas conforme: 1 cm distal ao divisor de fluxo na carótida interna (CI) proximal, 1 cm proximal ao divisor de fluxo na bifurcação carotídea (BIF) e 2 cm ou mais proximais ao divisor de fluxo na carótida comum (CC)³. Após o congelamento da imagem, 10 medidas foram obtidas manualmente, colocando calípers eletrônicos na borda da parede posterior de cada segmento.

Os dados da EMI foram tomados em tempo real para cada segmento separado e a média de 10 medidas ponto a ponto foi calculada. A medida automatizada foi composta de uma medida em tempo real, em poucos segundos, de múltiplos pontos da EMI, e os resultados apresentados imediatamente, como EMI média, máxima, mínima, desvio-padrão, o número de pontos adquiridos e a distância do segmento avaliado em centímetros.

O algoritmo do *software* comercial baseou-se em uma análise abrangente da estrutura bidimensional do vaso, representada na imagem bidimensional do ultrassom, em vez de uma simples detecção de escalas de cinza. Essa técnica permite a definição exata das interfaces, praticamente sem influências de irregularidades aleatórias da imagem de ultrassom. O operador define o ponto de início e fim da área de medição manualmente e as duas linhas ao longo das bordas da EMI são automaticamente estabelecidas (Figura 1)¹⁷.



a) Medida automática.

b) Medida manual.

Figura 1 - Imagens das medidas da espessura médio-intimal das carótidas pelos métodos automático e manual.

Dois médicos experientes e bem treinados selecionaram aleatória e cegamente 15 pacientes para realizar a medida da reprodutibilidade interobservador das medidas manuais e automáticas.

Análise estatística

O programa MedCalc (Mariakerke, Bélgica) foi utilizado para a análise estatística. Os resultados das EMIs das CC, BIF e CI foram expressos como média \pm desvio-padrão (DP). As medidas manuais e automatizadas foram então comparadas pelo método de Bland-Altman, adequado para estudos de comparação de métodos. Foi obtido o viés estimado, isto é, a média da diferença da EMI média, DP e o intervalo de confiança 95% entre as duas medidas para os três segmentos da carótida (CC, BIF, e CI).

As imagens foram armazenadas em *Digital Imaging Communication in Medicine* (DICOM) e avaliadas *off-line* para a análise interobservador. A concordância entre observadores na avaliação da EMI foi determinada pela relação das médias das diferenças das medidas pareadas, também de acordo com o método de Bland-Altman. O coeficiente de variação foi calculado segundo a fórmula:

$$\frac{(\text{DP da diferença média} / \sqrt{2}) \times 100}{\text{agrupamento dos valores médios}}^{13}.$$

Para o coeficiente de repetibilidade foi empregada a seguinte fórmula:

$$\text{DP das diferenças} \times 2$$

o que mostra a variação esperada no resultado de medidas repetidas. Segundo a definição de coeficiente de repetibilidade dado pelo *British Standards Institute*, a diferença média não deve ser significativamente diferente de zero e 95% das diferenças deverão estar situadas dentro do intervalo de ± 2 DP. O limite de concordância clinicamente aceitável foi definido como menos de 0,10 mm¹⁸.

Para comparar as EMIs médias de cada segmento de carótida e o tempo de duração das medidas manuais e automatizadas, foi usado o teste t de Student não-pareado e adotado $p < 0,05$ como significativo.

Resultados

A extensão medida em cada segmento da carótida foi de 0,63 a 1,30 cm para CC; 0,49 a 1,07 cm para BIF; e 0,42 a 1,33 para a CI, dependendo da qualidade da imagem, realizando-se 10 pontos de medição manual e média de 199 pontos de medições automatizadas em subpixels. Depois da seleção da imagem, o tempo médio para a medida manual foi de $57,30 \pm 5,45$ segundos e para o método automatizado foi de apenas $2,52 \pm 0,38$ segundos ($p < 0,05$).

As médias e DPs das medidas manuais e automáticas da EMI obtidas na CC, BIF e CI encontram-se na Tabela 1. Não foram detectadas diferenças estatísticas nas comparações.

Tabela 1 - Comparação das medidas manuais e automatizadas pelo método de Bland-Altman e a percentagem de diferenças maiores que 0,05 e 0,1 mm em ambas as medições em 43 pacientes

	Carotida Comum média	Carotida Comum máxima	Bifurcação carotídea média	Bifurcação carotídea máxima	Carótida Interna média	Carótida Interna máxima
Medida manual (mm)	0,53 ± 0,07	0,64 ± 0,08	0,58 ± 0,11	0,77 ± 0,16	0,52 ± 0,20	0,69 ± 0,29
Medida automática (mm)	0,53 ± 0,06	0,65 ± 0,08	0,59 ± 0,11	0,78 ± 0,15	0,50 ± 0,17	0,69 ± 0,27
Diferença média das médias (mm)	-0,003	0,01	0,013	0,003	0,01	0,005
95% limites de confiança (mm)	-0,10 a 0,09	-0,10 a 0,12	-0,09 a 0,11	-0,13 a 0,13	-0,15 a 0,12	-0,11 a 0,09
% de diferenças absolutas < 0,1 mm	97,7%	93%	90,7%	88,4%	86%	88,1%
% de diferenças absolutas < 0,05 mm	86,0%	74,4%	74,4%	69,8%	73,8%	79,1%
Coefficiente de variação	6,34 %	6,34%	6,10%	6,01%	9,68%	5,54%

O viés estimado e DP pelo método de Bland-Altman entre os métodos

manuais e automatizados para as medidas médias e máximas da CC foram de $-0,003 \pm 0,050$ mm e $0,010 \pm 0,060$ mm; para BIF foram de $0,013 \pm 0,050$ mm e $0,003 \pm 0,07$ mm; e para CI foram de $0,01 \pm 0,07$ mm e $-0,05 \pm 0,005$ mm, respectivamente. Conforme mostrado na Figura 2, o viés médio das medidas médias e máximas da EMI de todos os segmentos da carótida não apresentou erro sistemático.

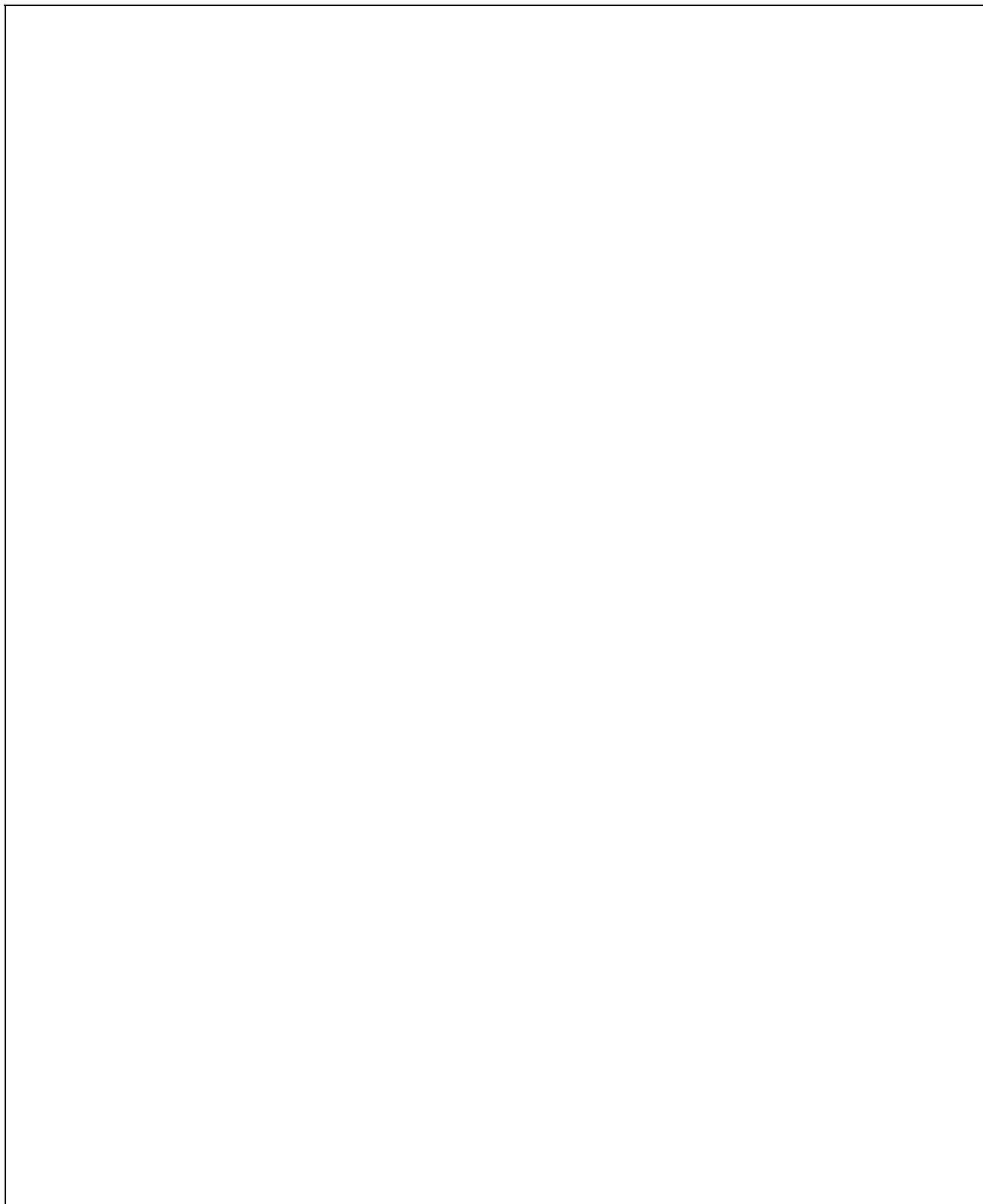


Figura 2 - Bland-Altman para as diferenças entre as espessuras médio-intimal média e máxima da carótida comum (CC), bifurcação carotídea (BIF) e medições carótida interna (CI) obtidas pelo método manual e automatizado.

Os segmentos avaliados nas CC, BIF e CI apresentaram diferenças

absolutas das médias variando de 0,003 a 0,01 mm e limites de confiança de -0,15 a 0,13 mm. Mais de 85% das diferenças absolutas entre as medidas automáticas e as manuais foram inferiores a 0,1 mm e cerca de 70% abaixo de 0,05 mm. O coeficiente de variação oscilou entre 6,01 e 6,34% na CC e BIF e entre 5,54 e 9,68% na CI (Tabela 1).

As Tabelas 2 e 3 mostram as concordâncias interobservador das medidas manuais e automatizadas. Com base na estimativa do viés e DP pelo método de Bland-Altman, não houve erro sistemático entre os dois observadores, tanto nas medidas manuais quanto nas medições automáticas (Tabela 2). Os coeficientes de repetibilidade e de variação foram mais baixos nas medidas automatizadas em todos os segmentos da carótida, exceto na medida média da CI (Tabela 3).

Tabela 2 - Concordância entre os observadores dos segmentos da carótida comparada por Bland-Altman para medições manuais e automatizados em 15 pacientes

	Carótida Comum média	Carótida Comum máxima	Bifurcação carotídea média	Bifurcação carotídea máxima	Carótida interna media	Carótida interna máxima
Observador 1 manual (mm)	0,50 ± 0,06	0,60 ± 0,13	0,57 ± 0,11	0,76 ± 0,18	0,49 ± 0,10	0,68 ± 0,12
Observador 2 manual (mm)	0,50 ± 0,06	0,62 ± 0,10	0,55 ± 0,06	0,72 ± 0,08	0,50 ± 0,13	0,72 ± 0,20
Diferença interobservador manual / 95% limites de confiança (mm)	<0,00001/ - 0,12 a 0,12	- 0,03/ - 0,28 a 0,23	0,02/ - 0,10 a 0,15	0,04/ - 0,22 a 0,30	- 0,007/ - 0,18 a 0,17	- 0,05/ - 0,35 a 0,26
Observador 1 automática (mm)	0,51 ± 0,05	0,63 ± 0,06	0,56 ± 0,09	0,76 ± 0,14	0,47 ± 0,10	0,68 ± 0,13
Observador 2 automática (mm)	0,51 ± 0,05	0,65 ± 0,07	0,56 ± 0,07	0,74 ± 0,09	0,52 ± 0,14	0,75 ± 0,18
Diferença interobservador automática / 95% limites de confiança (mm)	<0,00001/ - 0,03 to 0,03	- 0,02/ - 0,14 to 0,10	0,001/ - 0,07 to 0,07	0,03/ - 0,14 to 0,20	- 0,04/ - 0,22 to 0,14	- 0,07/ - 0,28 to 0,14

Tabela 3 - Comparação interobservador dos coeficientes de repetibilidade e variação entre as medidas manuais e automatizadas

		Coeficientes de repetibilidade (mm)		Coeficiente de variação (%)	
		Medida manual	Medida automática	Medida manual	Medida automática
Carótida comum	Média EMI	0,118	0,033	8,31%	2,28%
	Máxima EMI	0,265	0,125	15,35%	6,93%
Bifurcação carotídea	Média EMI	0,129	0,070	8,10%	4,39%
	Máxima EMI	0,267	0,174	12,84%	8,21%
Carótida interna	Média EMI	0,182	0,184	12,91%	13,11%
	Máxima EMI	0,314	0,214	15,80%	10,58%

EMI= espessura médio-intimal.

Discussão

Os presentes achados mostraram que o desenvolvimento de métodos automatizados para medir a EMI em equipamentos comerciais de ultrassom tem contribuído de maneira importante para melhor reprodutibilidade dos resultados entre diferentes observadores, bem como reduzir consideravelmente o tempo necessário para a avaliação da imagem. De fato, a diferença média entre os métodos de medição da EMI manual e automatizado não foi clinicamente relevante em qualquer dos segmentos avaliados da carótida e não apresentou erros sistemáticos.

Por outro lado, o método automatizado em tempo real também permitiu comparar de forma confiável os dados do paciente com outros (tabelas) já publicados para diferentes populações em percentis, como foi recentemente proposto pela Sociedade Americana de Ecocardiografia¹⁹. Os dados expressos desta forma podem ajudar a esclarecer o significado desses números para os profissionais, além de reduzir erros de medições.

A utilização de medidas automatizadas foi testada por diferentes fabricantes e a maioria deles utilizou programa computadorizado *off-line* para a detecção de bordas em CC. Embora os métodos automatizados tenham se

mostrado adequados para segmentos de CC, faltam publicações sobre a medição automática para bifurcação e CI²⁰⁻²². Nossos resultados com medições automáticas chamam a atenção para esse aspecto, ressaltando boa reprodutibilidade em todos os segmentos das carótidas, sem detectar erros sistemáticos. Além disso, os coeficientes de repetibilidade e de variação também foram superiores para as medições automáticas, exceto para a CI, cujas medições foram piores devido às dificuldades de alinhamento do feixe de ultrassom.

Destaca-se que as medições de outros segmentos da carótida por um método automatizado confiável têm clara vantagem sobre as medições que se concentram exclusivamente na CC. Como a bifurcação e carótida interna são os primeiros locais afetados pela aterosclerose, a demonstração de aumento da EMI nesses locais não permite diferenciação precisa entre aterosclerose e hipertrofia vascular, mas já denota o envolvimento subclínico da parede da carótida. Também, a maior parte dos erros de medida foi abaixo dos limites admitidos para a clínica diária^{20,23-25}. Atualmente, o uso de marcadores substitutos para prever eventos cardiovasculares tornou-se uma realidade e as tecnologias têm de melhorar continuamente para atender às necessidades dos profissionais. Neste sentido, é importante obter medidas da EMI de maneira rápida e comparáveis para minimizarem-se os erros.

O método automático utilizado neste estudo evidenciou medições em tempo real da EMI por um aparelho de ultrassom padrão, sendo a maioria das medidas com menos variabilidade do que as medidas manuais em grande parte dos segmentos da carótida, uma vez que reduz o componente de variabilidade associado tanto à colocação manual do cursor como ao desenho manual da parede do vaso. Os resultados da presente investigação acrescentaram informações sobre reprodutibilidade nas medições da EMI automatizadas em tempo real, em relação ao estudo recentemente publicado por Puchner *et al.*, testando apenas CC¹⁷. Realmente, o delineamento de margens automatizado usando as medidas em subpixel determina limites na borda em melhor resolução do que a resolução do monitor. Contudo, tem-se que admitir que, mesmo nas mãos de médicos experientes neste campo, por vezes, a medição automática pode não ser possível devido à falta de qualidade da imagem²⁶.

A maioria das pesquisas sobre EMI em larga escala empregaram medições

manuais obtidas por imagens de vídeo *off-line*. Somente o estudo de Rotterdam determinou a medida da EMI carotídea por ambos os métodos manuais e semiautomatizados na mesma população^{3,6,7,27}. De acordo com os presentes resultados, o estudo Rotterdam concluiu que as medições manuais são demoradas, com mais variabilidade entre observadores^{16,28,29}. Portanto, a possibilidade de medidas de boa qualidade em tempo real utilizando *software* com boa reprodutibilidade disponível para uso rotineiro certamente ampliará as informações sobre a EMI para a prática clínica.

Contudo, este trabalho apresentou limitações. Apesar da utilização de um grupo homogêneo de pacientes, foram incluídas apenas mulheres e não se pode assumir que os resultados em homens seriam semelhantes, mesmo se sabendo que a EMI é mais fina na mulher. Todas as medidas interobservadores foram derivadas de imagens armazenadas e a reprodutibilidade das medições poderia ser diferente com diferentes ângulos de insonação e profundidade do vaso, especialmente em segmentos onde as imagens não são habitualmente retilíneas, como na CI. Os dois observadores eram médicos especializados em ultrassom vascular e a variabilidade com base em sonógrafos diferentes geralmente é mais alta do que a variabilidade com leitores¹³. Além disso, em tempo real a análise requer mais precisão e habilidade. Foi testado apenas o *software* automatizado da GE Vivid 7 e não se pode afirmar que os achados seriam os mesmos para outros *softwares*.

No entanto, algumas características deste trabalho podem aumentar a força de nossos resultados, tais como a homogeneidade da amostra, a perícia dos ultrassonografistas que estavam cegos para o protocolo de estudo, bem como a utilização de protocolos bem estabelecidos tanto para medições manuais como automatizados.

Em conclusão, a medida EMI automatizada, disponível em equipamentos padrão, reduz o tempo de exame e tem boa reprodutibilidade em diversos segmentos da carótida atualmente utilizados para pesquisa em aterosclerose.

Divulgações

Os autores não relataram conflito de interesse neste trabalho.

Referências

1. Kung HC, Hoyert DL, Xu J. *et al.* Deaths: final data for 2005. *Natl Vital Stat Rep* Apr 24 2008; 56(10):1-120.
2. Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS. Estatísticas Vitais. 2006; Disponível em: www.datasus.gov.br/. Acesso em fevereiro de 2010.
3. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR. *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* Sep 15 1997; 146(6):483-494.
4. Cohn JN. Introduction to surrogate markers. *Circulation* Jun 29 2004; 109(25 Suppl 1):IV20-21.
5. Blankenhorn DH, Selzer RH, Crawford DW. *et al.* Beneficial effects of colestipol-niacin therapy on the common carotid artery. Two- and four-year reduction of intima-media thickness measured by ultrasound. *Circulation* Jul 1993; 88(1):20-28.
6. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ. *et al.* Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* Sep 2 1997; 96(5):1432-1437.
7. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* Jan 7 1999; 340(1):14-22.
8. Pignoli P, Tremoli E, Poli A. *et al.* Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* Dec 1986; 74(6):1399-1406.
9. Geroulakos G, O'Gorman DJ, Kalodiki E. *et al.* The carotid intima-media thickness as a marker of the presence of severe symptomatic coronary artery disease. *Eur Heart J* Jun 1994; 15(6):781-785.
10. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. *Stroke* Dec 1992; 23(12):1752-1760.
11. Dobs AS, Nieto FJ, Szklo M. *et al.* Risk factors for popliteal and carotid wall thicknesses in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* Nov 15 1999; 150(10):1055-1067.

12. Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP. *et al.* Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation* Jan 4 2000; 101(1):E16-22.
13. Nighoghossian N, Derex L, Douek P. The vulnerable carotid artery plaque: current imaging methods and new perspectives. *Stroke*. Dec 2005; 36(12):2764-2772.
14. Salonen JT. & Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. Mar 1993; 87(3 Suppl):II56-65.
15. Solberg LA. & Eggen DA. Localization and sequence of development of atherosclerotic lesions in the carotid and vertebral arteries. *Circulation* May 1971; 43(5):711-724.
16. Kanters SD, Algra A, van Leeuwen MS. *et al.* Reproducibility of in vivo carotid intima-media thickness measurements: a review. *Stroke*. Mar 1997; 28(3):665-671.
17. Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrand J. Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia. Ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. *Arterioscler Thromb* Oct 1993; 13(10):1404-1411.
18. Persson J, Stavenow L, Wikstrand J. *et al.* Noninvasive quantification of atherosclerotic lesions. Reproducibility of ultrasonographic measurement of arterial wall thickness and plaque size. *Arterioscler Thromb*. Feb 1992; 12(2):261-266.
19. Selzer RH, Hodis HN, Kwong-Fu H. *et al.* Evaluation of computerized edge tracking for quantifying intima-media thickness of the common carotid artery from B-mode ultrasound images. *Atherosclerosis* Nov 1994; 111(1):1-11.
20. Bland JM. & Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* Feb 8 1986; 1(8476):307-310.
21. Haluska BA, Fathi R, Jeffriess L. *et al.* Noninvasive tests for arterial structure, function, and compliance: do they identify risk or diagnose disease? *J Am Soc Echocardiogr* Feb 2004; 17(2):195-202; quiz 203-194.
22. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT. *et al.* Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* Feb 2008; 21(2):93-111; quiz 189-190.
23. Asai K, Kudej RK, Shen YT. *et al.* Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* Jun 2000; 20(6):1493-1499.

24. Lakatta EG. & Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* Jan 7 2003; 107(1):139-146.
25. Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension* Sep 2005; 46(3):454-462.
26. Touboul PJ, Vicaud E, Labreuche J, et al. Design, Baseline Characteristics and Carotid Intima-Media Thickness Reproducibility in the PARC Study. *Cerebrovascular Diseases*. 2005;19(1):57-63.
27. Simon A, Gariépy J, Chironi G. *et al.* Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* Feb 2002; 20(2):159-169.
28. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S. *et al.* Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004; 18(4):346-349.
29. Touboul PJ, Prati P, Scarabin PY. *et al.* Use of monitoring software to improve the measurement of carotid wall thickness by B-mode imaging. *J Hypertens Suppl* Jul 1992; 10(5):S37-41.

3 HISTÓRIA DE DIABETES GESTACIONAL ELEVA A ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL CAROTÍDEA EM MULHERES JOVENS INDEPENDENTEMENTE DO PERFIL CARDIOMETABÓLICO

(em fase de elaboração)

Introdução^c

O diabetes gestacional é uma intolerância aos carboidratos, que começa ou é detectada pela primeira vez durante a gravidez e sua taxa de prevalência varia entre 2 e 7% na maioria dos países⁽¹⁻³⁾. É uma forma de hiperglicemia detectada precocemente na vida de mulheres e pode ser uma oportunidade para o estudo da evolução do diabetes. Além do conhecido impacto do diabetes gestacional (DMG) no feto, têm sido reconhecidos os efeitos do DMG sobre a mulher após o término da gravidez. Em metanálise recente, os autores registraram aumento de 7,5 no risco de diabetes tipo 2 em mulheres com antecedente de DMG cujo risco mostrou-se mais alto quando elas eram examinadas mais de cinco anos após o parto⁽⁴⁾.

Além do aumento do risco de distúrbios no metabolismo de carboidratos nessa população, há elevação do risco cardiovascular (CV) devido à agregação de outros fatores de risco, como, por exemplo, o aumento da prevalência de síndrome metabólica⁽⁵⁾. O aumento do risco CV estende-se, em níveis mais baixos, às mulheres com intolerância à glicose na gestação quando acompanhadas por aproximadamente 12 anos. Entretanto, fatores de risco clássicos para aterosclerose não explicam completamente o aumento do risco CV em algumas populações⁽⁶⁻⁸⁾. Infelizmente, os profissionais de saúde e as mulheres com diabetes gestacional não estão cientes da importância dessa doença como um sinal precoce da susceptibilidade de desenvolvimento de doenças cardiovasculares no futuro⁽⁶⁾.

A identificação de marcadores de aterosclerose subclínica é importante para o reconhecimento precoce e tratamento da doença. A espessura médio-intimal carotídea (EMI), medida por ultrassom, é teste simples, seguro e barato para avaliar indiretamente a aterosclerose⁽⁹⁾. Fatores de risco cardiovascular

^c A versão em inglês deste artigo encontra-se no APÊNDICE D.

tradicionais e não-tradicionais correlacionam-se bem com o aumento da EMI carotídea⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ e, mais importante, a EMI é preditor independente de futuros eventos cardiovasculares (acidente vascular cerebral e doença arterial coronariana). A ultrassonografia modo-B tem sido usada como marcador substituto em muitos ensaios de investigação clínica e epidemiológica^(10,15-21).

Uma faceta interessante da imagem vascular como marcador substituto para a doença cardiovascular é que ela avalia o processo da doença aterosclerótica em si, incluindo o efeito de fatores hereditários e ambientais, conhecidos ou ainda a serem descobertos⁽²²⁾. O objetivo do presente estudo é determinar se mulheres jovens com antecedentes de diabetes *mellitus* gestacional, população de alto risco de diabetes tipo 2 e síndrome metabólica têm sinais de aterosclerose subclínica e se a história de DMG é fator de risco independente para aterosclerose subclínica.

Material e métodos

Este é um estudo transversal no qual foram selecionadas 175 mulheres não-fumantes, com idades entre 18 e 47 anos, distribuídas em três grupos de estudo. O primeiro grupo foi composto de 79 pacientes com história prévia de diabetes gestacional (pDMG) que foram referidas ao Ambulatório de Endocrinologia da Universidade Federal de Minas Gerais e Maternidade Odete Valadares. O diagnóstico de DMG foi feito como recomendado pela *American Diabetes Association*⁽²³⁾. O segundo grupo foi composto de 30 pacientes com dois ou mais fatores de risco cardiovascular ou com diagnóstico de síndrome metabólica (gFR), encaminhadas para atendimento no Ambulatório de Endocrinologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Os fatores de risco foram definidos como orientado pelo *National Health and Nutrition Examination Survey III*⁽²⁴⁾ e para o diagnóstico de SM adotou-se a definição da *American Heart Association* (AHA) e *National Heart Lung and Blood Institute* (NHLBI), que recomendam o *Adult Treatment Panel III* com poucas modificações. A associação de três dos cinco critérios seguintes constitui o diagnóstico de síndrome metabólica em mulheres: circunferência da cintura ≥ 88 cm, triglicérides ≥ 150 mg/dL ou em tratamento medicamentoso para triglicérides elevados, cHDL < 50 mg/dL ou tratamento medicamentoso para elevar cHDL, pressão arterial $\geq 135/85$

mmHg ou em tratamento com medicamentos anti-hipertensivos em paciente com histórico de hipertensão e glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL ou em tratamento medicamentoso para a glicose elevada^(23,25,26). O terceiro grupo incluiu 66 voluntárias sem história de diabetes gestacional ou qualquer fator de risco cardiovascular, como aqui definido, recrutadas entre funcionárias do hospital e suas familiares da mesma faixa etária dos grupos de estudo, grupo-controle (GC).

Foram colhidas informações das histórias familiares relativas à doença coronariana e diabetes *mellitus* e história pessoal de uso corrente de contraceptivo hormonal. Elas foram submetidas a exame físico para medida de peso, altura, circunferência da cintura e aferição da pressão arterial.

Medidas de laboratório

Foram colhidas amostras de sangue após jejum de 10 a 12 horas, para determinação de glicemia, colesterol total, colesterol HDL e triglicérides, utilizando-se técnicas-padrão (BIOCLIN, Quibasa, Belo Horizonte, Brasil). O LDL-colesterol foi calculado pela fórmula de Friedewald, já que os níveis de triglicérides foram abaixo de 400 mg%.

Exame de ultrassom

Realizou-se a medida da espessura médio-intimal carotídea (EMI) num aparelho de ultrassom de alta resolução, GE *Health Care Vivid 7 Dimension* (Wauwatosa, WI, EUA), com transdutor linear de alta frequência (7 a 12 MHz). As medidas da EMI carotídea foram obtidas de maneira automatizada, por *software* incluso dentro do aparelho de ultrassom, em segmentos selecionados da parede arterial: 1 cm distal ao divisor de fluxo na carótida interna proximal (CI), 1 cm proximal ao divisor de fluxo definido como bifurcação carotídea (BIF) e 2 cm ou mais proximais ao divisor de fluxo na carótida comum (CC) bilateralmente. As medidas de cada segmento foram descritas como EMI média e máxima, individualizando-se os lados. A média da EMI carotídea média dos três segmentos à direita e dos três segmentos à esquerda foi usada para determinar a EMI *composta* utilizada na análise multivariada.

Os pacientes foram submetidos a apenas um exame ultrassonográfico

durante o estudo, por um médico experiente e cego ao estado clínico-metabólico dos participantes. A validação da medição automatizada foi publicada anteriormente pelos autores⁽²⁷⁾.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada no programa Stata 11 (StataCorp, *College Station, TX*). Os dados contínuos são apresentados como média \pm desvio-padrão/mediana [P25 – P75] e os categóricos como percentuais. Como nem todas as mulheres tinham todas as medidas do exame físico ou dados de exames de laboratório realizados, os tamanhos de amostra para as variáveis com dados perdidos foram indicados nos resultados.

Para a comparação das covariáveis definidas (idade, níveis de glicemia, cintura, cHDL, colesterol total, triglicérides, paridade, pressão arterial e índice de massa corpórea) entre os grupos de estudo, foi utilizado o método de Kruskal-Wallis, devido à acentuada diferença na variância entre os grupos, com correção de Bonferroni.

Os histogramas das EMIs carotídeas exibiram distribuição assimétrica, como esperado⁽²⁷⁻²⁹⁾, portanto, foi utilizada a transformação logarítmica das medições para análise. Para a comparação das EMIs carotídeas entre os grupos, foi realizado *one-way* ANOVA e, para comparação múltipla, a correção de Bonferroni quando encontrada diferença global significativa. Os resíduos foram testados e a distribuição foi normal.

Por meio de regressão linear univariada foi desenvolvido um modelo de regressão múltipla empregando a medida da EMI composta como variável dependente e parâmetros clinicamente relevantes como covariáveis (grupos de estudo, glicemia, colesterol total, HDLc, idade, cintura, hipertensão arterial síndrome metabólica e triglicérides). A hipertensão arterial e síndrome metabólica foram categorizadas no modelo. As variáveis candidatas ao modelo de regressão múltipla foram selecionadas tendo como critério de inclusão as com $p < 0,10$. Foi considerado significativo o $p < 0,05$.

Ética

As comissões de ética das instituições envolvidas aprovaram o protocolo de investigação e todos os participantes deram o seu consentimento informado antes que qualquer procedimento relacionado ao estudo fosse realizado.

Resultados

Dados clínicos

As características clínicas das 175 mulheres incluídas no estudo estão apresentadas na Tabela 1. As pacientes do grupo pDMG foram examinadas, em média, $32,51 \pm 22,28$ meses após a gestação complicada pelo DMG. As mulheres no gFR eram significativamente mais velhas do que as controles, com idade mediana de 39,00 [34 - 43] anos. As integrantes do grupo pDMG tiveram maior número de gestações do que as dos outros grupos. Pacientes do gFR e pDMG tinham a medida da pressão arterial, os níveis sanguíneos de glicose, colesterol total, cLDL e triglicérides significativamente mais elevados e os níveis de cHDL mais baixos do que as do GC.

Obesidade, obesidade central e sobrepeso foram observados mais frequentemente nos grupos pDMG e gFR em relação ao GC, mas a medida da cintura e o IMC foram significativamente mais altos no gFR.

Tabela 1 – Comparação das características clínicas dos grupos de estudo

Característica	Grupo- Controle	Grupo pós- DMG	Grupo com 2 ou mais fatores de risco	N	P#
Idade (anos)	34,50 [30 – 40]	37,00 [33 – 41]	39,00 [34 – 43]	175	0,03*
Paridade	1,00 [0 - 2]	2,00 [2 – 3]	1,50 [1 – 3]	174	0,0001*&§
IMC (kg/m ²)	22,2 [20,35 - 23,65]	28,3 [24,80 – 33,60]	32,3 [28,20 – 37,50]	170	0,0001**&§
Pressão arterial sistólica(mmHg)	110,00 [110,00-120,00]	120,00 [110,00-130,00]	125,00 [120,00-130,00]	174	0,0001**&
Pressão arterial diastólica(mmHg)	70,00 [70,00-80,00]	80,00 [70,00-90,00]	80,00 [70,00-80,00]	172	0,0003**&
Glicemia (mg/dL)	84,00 [79,00 - 90,00]	99,00 [85,00 -120,50]	102,50 [93,50 - 110,00]	149	0,0001**&
Colesterol total (mg/dL)	175,00 [150,00 - 194,00]	188,00 [168,00 - 213,00]	200,00 [168,00-233,00]	141	0,001**&
cHDL (mg/dL)	58,00 [52,00 – 66,00]	48,10 [41,00 – 58,00]	42,80 [38,00 – 49,00]	140	0,0001**&
cLDL (mg/dL)	95,00 [79,00 –111,00]	112,00 [96,00 –140,00]	122,00 [99,00 -157,00]	139	0,0005**&
Triglicéride (mg/dL)	74,00 [52,00 – 94,00]	122 [71,00 – 166,00]	166,00 [121,00-211,00]	142	0,0001**&
Cintura (cm)	72,50 [69,00 - 79,00]	92,50 [82,00 –103,00]	102,50 [93,00 –112,50]	167	0,0001**&§

DMG diabetes gestacional; Mediana [P25-P75].

*Grupo Controle em relação ao grupo Fator de Risco; &Grupo Controle em comparação à grupo pós DMG; § grupo pós DMG comparado com grupo Fator de Risco.

Teste de Kruskal-Wallis

As prevalências de hipertensão arterial e síndrome metabólica foram significativamente mais altas no gFR. Não foi verificada diferença significativa na frequência de diabetes entre o grupos pDMG e gFR. A história familiar de diabetes e doença arterial coronariana foram mais prevalentes nos grupos pDMG e gFR do que nos controles. No GC encontrou-se alta frequência de mulheres em uso de contracepção hormonal. Tabela 2. No grupo pDMG 10 pacientes usavam hipoglicemiantes e nenhuma usava estatina. No grupo FR quatro mulheres usavam hipoglicemiantes e três usavam estatinas.

Tabela 2 – Análise comparativa da prevalência de hipertensão arterial, diabetes, síndrome metabólica, história familiar de diabetes e doença arterial coronariana entre os grupos de estudo

Característica	Grupo-Controle	Grupo pós-DMG	Grupo de 2 ou mais fatores de risco	P#
Hipertensão (%)	NA	30,77% (24 de 78)	63,33% (19 de 30)	0,002
Diabetes (%)	NA	27,87% (17 de 61)	21,43% (6 de 28)	0,519
Síndrome metabólica	NA	44,90% (22 de 49)	76,92% (20 de 26)	0,008
História familiar da DAC (%)	33,33% (22 de 66)	62,82% (49 de 78)	66,67% (20 de 30)	<0,001* ^{&}
História familiar de diabetes (%)	36,36% (24 de 66)	71,79% (56 de 78)	51,72% (15 de 29)	<0,001 ^{&}
Contraceptivo hormonal	30,30% (20 de 66)	12,66% (10 de 79)	23,33% (7 de 30)	0,03 ^{&}

DMG diabetes gestacional; NA- não aplicável; DAC: doença arterial coronariana.

*Grupo Controle comparado ao grupo Fator de Risco; &Grupo Controle comparado com grupo pós DMG; § grupo pós DMG comparado com grupo Fator de Risco.

Teste do Qui-quadrado

Foi calculado o risco cardiovascular global (RCG) de 133 pacientes que tinham os exames complementares necessários para esse cálculo. Nesse escore

avalia-se não só o risco de doença coronariana, como o de outras enfermidades ateroscleróticas, tais como doenças cérebro-vascular e arterial periférica obstrutiva e insuficiência cardíaca⁽³⁰⁾. Todas as pacientes do GC e 89,2% das dos grupos de estudo encontravam-se no RCG abaixo de 6,3%, isto é, na faixa de baixo risco. Apenas cinco do grupo pDMG e três do gFR estavam na faixa de risco intermediário (6 a 20%), isto é, 10,8% da população não-controle (Tabela 3).

As pacientes excluídas do cálculo do RCG eram semelhantes às incluídas, exceto por uma pequena diferença na pressão arterial diastólica (PAd) pelo teste de Wilcoxon: mediana da PAd das pacientes incluídas foi de 76,00 mmHg [70,00 – 80,00] e das excluídas de 80,00mmHg [76,00 – 90,00], $p=0,004$.

Tabela 3 - Avaliação do risco cardiovascular global nos grupos controle, pós-DMG e dois ou mais fatores de risco cardiovascular

Risco Cardiovascular Global	Grupo-Controle (n=59)	Grupo Pós-DMG (n=49)	Grupo de dois ou mais fatores de risco (n=25)
≤2 %	53 (89,8%)	23 (46,9%)	8 (32,0%)
2,1 – 5,3 %	6 (10,2%)	21 (42,8%)	14 (56,0%)
6,3 – 10%	0	5 (10,2%)	3 (12,0%)
> 10%	0	0	0

A EMI carotídea média foi significativamente maior no grupo pDMG em relação ao GC em todos os locais de medições, exceto na carótida comum direita e na bifurcação direita. O gFR só mostrou EMI maior do que os controles na medida composta e significativamente menor na bifurcação carotídea esquerda do que a do grupo pDMG (Tabela 4).

Tabela 4 – Comparação das medidas das EMI média e composta das carótidas comum, interna e bifurcação carotídea entre os grupos de estudo

	Grupo- Controle (GC)	Grupo pós-DMG (pDMG)	Grupo de dois ou mais fatores de risco (gFR)	N	P#
CC esquerda média	0,50 [0,45-0,55]	0,53 [0,49-0,58]	0,55 [0,46-0,58]	174	0,03 ^{&}
BIF esquerda média	0,57 [0,50-0,61]	0,61 [0,54-0,69]	0,58 [0,50-0,64]	174	0,0002 ^{&§}
CI esquerda média	0,40 [0,33-0,46]	0,45 [0,38-0,52]	0,43 [0,36-0,50]	174	0,007 ^{&}
CC direita média	0,50 [0,45-0,54]	0,51 [0,46-0,56]	0,52 [0,48-0,62]	175	0,07
BIF direita média	0,55 [0,48-0,60]	0,59 [0,51-0,63]	0,59 [0,52-0,66]	175	0,06
CI Direita média	0,40 [0,34-0,50]	0,45 [0,39-0,56]	0,42 [0,34-0,52]	174	0,04 ^{&}
EMI <i>composta</i>	0,48 [0,44-0,52]	0,53 [0,48-0,57]	0,51 [0,48-0,55]	173	0,0002 ^{*&}

CC- carótida comum; BIF- bifurcação carotídea; CI- carótida interna; EMI – espessura médio-intimal; DMG- diabetes gestacional; Mediana (intervalo interquartil);

*Grupo Controle comparado ao grupo Fator de Risco; &Grupo Controle comparado com grupo pós DMG; § grupo pós DMG comparado com grupo Fator de Risco.

ANOVA

Regressão linear

O modelo final mostrou que a idade, o colesterol total e o passado de DMG foram independentemente associados à EMI *composta*. Esse modelo explicou 36,6% da variabilidade da EMI pelas variáveis incluídas (Tabela 5). As demais covariáveis não se mostraram significantes nesse modelo e não houve colinearidade entre as variáveis.

Tabela 5 - Coeficientes e valores associados de P da regressão linear múltipla para EMI composta em escala logarítmica

Variável	Coeficiente Beta	IC de 95%	P
Grupo do estudo			
Pós DMG	0,0587	0,0010 – 0,1164	0,046
Fator de Risco	0,0237	-0,0538 - 0,1013	0,545
Idade	0,0097	0,0062 – 0,0132	0,000
Cintura	0,0013	-0,0008 – 0,0034	0,231
Colesterol	0,0006	0,0000 – 0,0012	0,046
Glicemia	0,0004	-0,0003 – 0,0010	0,294
Hipertensão	0,0206	-0,0420 – 0,0832	0,516
Síndrome Metabólica	-0,0399	-0,1114 – 0,0316	0,271
Constante	-1,3098	-1,5140 - -1,1056	0,000

R2 Ajustado = 0,366 (p <0,001) DMG – diabetes gestacional.

Na nossa população comparou-se a EMI de 52 controles com um subgrupo de 27 pacientes pDMG que não apresentavam qualquer anormalidade cardiometabólica. Novamente, a EMI carotídea foi significativamente maior no grupo pDMG (Tabela 6).

Discussão

No presente estudo, realizado em mulheres jovens com baixo risco global para doença cardiovascular, fomos capazes de demonstrar que a história pregressa de diabetes gestacional está independentemente associada a marcadores de aterosclerose subclínica, mesmo após o controle para fatores de risco cardiovascular estabelecidos, como hipertensão, síndrome metabólica, glicemia, circunferência abdominal e níveis de triglicérides. A idade, um forte determinante da EMI^(31,32), e o níveis de colesterol total foram também selecionados no modelo final.

Era esperado que as mulheres pDMG tivessem a EMI aumentada quando comparadas aos controles e similar à EMI de mulheres com dois ou mais fatores de risco. Realmente, as pacientes do grupo pDMG mostraram EMI superior às do GC, na maioria dos segmentos das carótidas, e medidas similares às do gFR. No entanto, elas apresentaram EMI maior na bifurcação carotídea esquerda do que o gFR, área de predileção para a formação de placa aterosclerótica, apesar do grupo pDMG ter menor prevalência de hipertensão, obesidade e síndrome metabólica⁽²⁸⁾. Se forem comparados os valores absolutos da EMI encontrados nos nossos grupos de estudo com as tabelas de um estudo europeu de fenótipo muito diferente da população brasileira³³, verifica-se que as EMIs dos grupos pDMG e gFR estão acima do percentil 75, o que chamaria a atenção para este subgrupo de pacientes. Entretanto, se aplicarem-se as tabelas do MESA³⁴ e do estudo CAPS³⁵, nossas pacientes ficariam classificadas abaixo do percentil 50, novamente subestimando o risco delas.

Este é o primeiro estudo que demonstra marcas de aterosclerose subclínica em pacientes com passado de DMG em comparação com pacientes com dois ou mais fatores de risco cardiovascular ou aglomeração de fatores de risco, como na síndrome metabólica de nossa população. Apesar do *status* cardiometabólico dessas pacientes, a diferença da EMI se mantém significativa^(36, 37).

Algumas publicações demonstraram risco aumentado de alterações cardiometabólicas na sequência de gravidez complicada por diabetes gestacional. A principal alteração ocorre no metabolismo da glicose, incluindo os diabetes dos tipos 1 e 2 e categorias intermediárias de distúrbios da glicose, como a

hiperglicemia de jejum e a intolerância à glicose^(4,5, 38-41). Associado aos distúrbios do metabolismo da glicose, verifica-se aumento da prevalência de outros fatores de risco cardiovascular nessas mulheres, tais como hipertensão, obesidade, dislipidemia e síndrome metabólica^(37,42-45). Além dessas alterações metabólicas, em publicação anterior os autores demonstraram que gestantes com DMG têm alteração do relaxamento diastólico do ventrículo esquerdo, que não se normaliza após o parto⁽⁴⁶⁾. Sob este aspecto, o DMG é uma oportunidade para a identificação de mulheres com alto risco cardiometabólico.

Outros pesquisadores referiram resultados similares aos nossos durante a gravidez. Reportou-se aumento na EMI da carótida comum esquerda em gestantes com DMG, independentemente dos níveis de glicose, colesterol total e HDLc⁽⁴⁷⁾. Também se compararam marcadores metabólicos e inflamatórios de aterosclerose em mulheres dois anos após gravidez complicada por DMG. Esses autores também enfatizaram que mulheres com passado de DMG tiveram maior EMI na carótida comum. Na análise multivariada dessa publicação, os níveis de LDL oxidado foram independentemente associados à EMI carotídea, sugerindo haver um componente inflamatório associado ao *status* metabólico alterado⁽⁴⁸⁾. A associação da medida da EMI com dislipidemia aterogênica, obesidade, hipertensão, diabetes e síndrome metabólica tem sido bem demonstrada^(10,48-51). Apesar das possíveis implicações de alguns fenótipos de risco de doença aterosclerótica, como a síndrome metabólica e a obesidade, indivíduos portadores de síndrome metabólica podem apresentar sinais de inflamação subclínica, independentemente da presença de obesidade^(52,53). Os resultados desse estudo não destacaram associação significativa de um conhecido estimulante de inflamação subclínica, que é o acúmulo da cintura abdominal. Entretanto, a associação significativa entre os níveis de colesterol com a EMI pode estar relacionada ao processo inflamatório induzido por subclasses de colesterol, como já demonstrado por outros autores⁴¹, visto que nessas pacientes os níveis de colesterol não estão substancialmente elevados^(54,55).

O processo silencioso da formação da placa aterosclerótica tem sido acompanhado pelo ultrassom modo B, desde 1986⁽⁵⁶⁾. A partir de então, várias pesquisas enfatizaram sinais de alterações precoces na parede da artéria carótida em populações com fatores de risco clássicos, mas também em indivíduos livres ou bem controlados desses fatores^(8,53,57-60). O papel da inflamação tem sido bem

estabelecido nos últimos 10 anos e todas as fases da formação da placa aterosclerótica podem ser consideradas uma resposta inflamatória à lesão⁽⁶¹⁾. Esse novo conceito que atribui parte do processo do desenvolvimento da aterosclerose à inflamação subclínica poderia explicar um dos mecanismos das diferenças encontradas entre as pacientes do grupo pDMG e as mulheres dos demais grupos, mesmo quando elas estão livres de distúrbios metabólicos. Além disso, possível contribuição genética pode também ser responsável por esses resultados^(7,52,61).

O aumento nos fatores de risco cardiometabólico nesse grupo de pacientes jovens, na maioria das vezes, não resulta em aumento no RCG, minimizando possíveis ações na prevenção primária nessas mulheres. Mesmo ressaltando que a EMI carotídea dessa população jovem estudada está aumentada, apenas duas pacientes do grupo pDMG e nenhuma do gRF se encontravam no grupo de risco intermediário. Esses resultados chamam a atenção para a subestimação de risco cardiovascular pelos escores de risco habituais quando aplicados a populações especiais^(57,62,63).

Algumas limitações desta investigação devem ser abordadas. As mulheres pós-DMG foram avaliadas, em média, três anos após a gestação complicada por DMG, com significativa variação de tempo. Isto impede qualquer análise em relação ao tempo de ocorrência da doença e o início do aumento da EMI. Além disso, não foram avaliados outros marcadores de doença subclínica, como os inflamatórios ou categorias intermediárias de alterações de metabolismo da glicose, especialmente no subgrupo pDMG, que não apresentou alterações cardiometabólicas.

Como conclusão, em nosso modelo final o passado de DMG está associado a aumento da EMI carotídea como um fator de risco adicional independente, juntamente com a idade e os níveis de colesterol. A demonstração do aumento da EMI nessa população, semelhante ao verificado em mulheres com conhecido perfil de risco cardiovascular, pode estimular a prevenção primária em idades mais jovens, destacando-se a importância do passado de diabetes gestacional.

Referências

1. Schmidt MI, Duncan BB, Reichelt AJ. *et al.* Gestational diabetes *mellitus* diagnosed with a 2-h 75-g oral glucose tolerance test and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2001 Jul; 24(7):1151-5.
2. Brody SC, Harris R, Lohr K. Screening for gestational diabetes: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Obstet Gynecol* 2003 Feb;101(2):380-92.
3. Diagnosis and classification of diabetes *mellitus*. *Diabetes Care* 2006 Jan; 29 Suppl 1:S43-8.
4. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD. *et al.* Type 2 diabetes *mellitus* after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2009 May; 373(9677):1773-9.
5. Madarasz E, Tamas G, Tabak AG. *et al.* Carbohydrate metabolism and cardiovascular risk factors 4 years after a pregnancy complicated by gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2009 Aug; 85(2):197-202.
6. Retnakaran R. & Shah BR. Mild glucose intolerance in pregnancy and risk of cardiovascular disease: a population-based cohort study. *CMAJ*. 2009 Sep 15;181(6-7):371-6.
7. Gibbons GH, Liew CC, Goodarzi MO. *et al.* Genetic markers: progress and potential for cardiovascular disease. *Circulation* 2004 Jun; 109(25 Suppl 1):IV47-58.
8. Maple-Brown L, Hodge A, Cunningham J. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease do not fully explain differences in carotid intima-media thickness between Indigenous and European Australians without diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009 Aug; 71(2):189-94.
9. Mark DB, Shaw LJ, Lauer MS. *et al.* 34th Bethesda Conference: Task force #5--Is atherosclerosis imaging cost effective? *J Am Coll Cardiol* 2003 Jun; 41(11):1906-17.
10. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R. *et al.* Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol* 1991 Aug; 134(3):250-6.
11. Crouse JR, 3rd, Tang R, Espeland MA. *et al.* Associations of extracranial carotid atherosclerosis progression with coronary status and risk factors in patients with and without coronary artery disease. *Circulation* 2002 Oct; 106(16):2061-6.

12. Liao YC, Lin HF, Rundek T. *et al.* Segment-specific genetic effects on carotid intima-media thickness: the Northern Manhattan study. *Stroke* 2008 Dec; 39(12):3159-65.
13. D'Agostino RB, Jr., Burke G, O'Leary D. *et al.* Ethnic differences in carotid wall thickness. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Stroke* 1996 Oct; 27(10):1744-9.
14. Everson SA, Kaplan GA, Goldberg DE. *et al.* Hopelessness and 4-year progression of carotid atherosclerosis. The Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997 Aug; 17(8):1490-5.
15. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR. *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997 Sep; 146(6):483-94.
16. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ. *et al.* Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997 Sep; 96(5):1432-7.
17. Salonen JT. & Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993 Mar; 87(3 Suppl):II56-65.
18. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999 Jan; 340(1):14-22.
19. Prati P, Tosetto A, Vanuzzo D. *et al.* Carotid intima media thickness and plaques can predict the occurrence of ischemic cerebrovascular events. *Stroke* 2008 Sep; 39(9):2470-6.
20. Rosvall M, Janzon L, Berglund G. *et al.* Incidence of stroke is related to carotid IMT even in the absence of plaque. *Atherosclerosis* 2005 Apr; 179(2):325-31.
21. Giuliano Ide C, de Freitas SF, de Souza M, Caramelli B. Subclinic atherosclerosis and cardiovascular risk factors in HIV-infected children: PERI study. *Coron Artery Dis.* 2008 May;19(3):167-72.
22. Naghavi M, Falk E, Hecht HS. *et al.* From vulnerable plaque to vulnerable patient--Part III: Executive summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force report. *Am J Cardiol* 2006 Jul; 98(2A):2H-15H.
23. American Diabetes Association: clinical practice recommendations 2002. *Diabetes Care* 2002 Jan; 25 Suppl 1:S1-147.

24. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. The distribution of 10-Year risk for coronary heart disease among US adults: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Am Coll Cardiol* 2004 May; 43(10):1791-6.
25. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S. *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004 Sep; 364(9438):937-52.
26. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR. *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005 Oct; 112(17):2735-52.
27. Freire CM, Ribeiro AL, Barbosa FB. *et al.* Comparison between automated and manual measurements of carotid intima-media thickness in clinical practice. *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5:811-7.
28. Howard G, Sharrett AR, Heiss G. *et al.* Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke* 1993 Sep; 24(9):1297-304.
29. Denarie N, Gariepy J, Chironi G. *et al.* Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000 Feb; 148(2):297-302.
30. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ. *et al.* General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008 Feb; 117(6):743-53.
31. Prati P, Vanuzzo D, Casaroli M. *et al.* Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke* 1992 Dec; 23(12):1705-11.
32. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *Stroke* 1996 Feb; 27(2):224-31.
33. Denarie N, Gariepy J, Chironi G, Massonneau M, Laskri F, Salomon J, *et al.* Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000; 148: 297-302.
34. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT. *et al.* Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21(2):93–111; quiz 189–190.
35. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke* 2006; 37:87-92.

36. Schneider JG, Tompkins C, Blumenthal RS. *et al.* The metabolic syndrome in women. *Cardiol Rev* 2006 Nov-Dec; 14(6):286-91.
37. Tzou WS, Douglas PS, Srinivasan SR. *et al.* Increased subclinical atherosclerosis in young adults with metabolic syndrome: the Bogalusa Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2005 Aug 2; 46(3):457-63.
38. Pallardo LF, Herranz L, Martin-Vaquero P. *et al.* Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in women with prior gestational diabetes are associated with a different cardiovascular profile. *Diabetes Care* 2003 Aug; 26(8):2318-22.
39. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care* 2002 Oct; 25(10):1862-8.
40. Jarvela IY, Juutinen J, Koskela P. *et al.* Gestational diabetes identifies women at risk for permanent type 1 and type 2 diabetes in fertile age: predictive role of autoantibodies. *Diabetes Care* 2006 Mar; 29(3):607-12.
41. Meyers-Seifer CH. & Vohr BR. Lipid levels in former gestational diabetic mothers. *Diabetes Care* 1996 Dec; 19(12):1351-6.
42. Verma A, Boney CM, Tucker R. *et al.* Insulin resistance syndrome in women with prior history of gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 Jul; 87(7):3227-35.
43. Lauenborg J, Mathiesen E, Hansen T. *et al.* The prevalence of the metabolic syndrome in a danish population of women with previous gestational diabetes mellitus is three-fold higher than in the general population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Jul; 90(7):4004-10.
44. Sriharan M, Reichelt AJ, Opperman ML. *et al.* Total sialic acid and associated elements of the metabolic syndrome in women with and without previous gestational diabetes. *Diabetes Care* 2002 Aug; 25(8):1331-5.
45. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL. *et al.* Gestational diabetes mellitus increases the risk of cardiovascular disease in women with a family history of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006 Sep; 29(9):2078-83.
46. Freire CM, Nunes Mdo C, Barbosa MM. *et al.* Gestational diabetes: a condition of early diastolic abnormalities in young women. *J Am Soc Echocardiogr* 2006 Oct; 19(10):1251-6.
47. Tarim E, Yigit F, Kilicdag E. *et al.* Early onset of subclinical atherosclerosis in women with gestational diabetes *mellitus*. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006 Feb; 27(2):177-82.
48. Volpe L, Cuccuru I, Lencioni C. *et al.* Early subclinical atherosclerosis in women with previous gestational diabetes *mellitus*. *Diabetes Care* 2008 May; 31(5):e32.

49. Crouse JR, Toole JF, McKinney WM. *et al.* Risk factors for extracranial carotid artery atherosclerosis. *Stroke* 1987 Nov-Dec; 18(6):990-6.
50. Irace C, Cortese C, Fiaschi E. *et al.* Components of the metabolic syndrome and carotid atherosclerosis: role of elevated blood pressure. *Hypertension* 2005 Apr; 45(4):597-601.
51. Davis PH, Dawson JD, Riley WA. *et al.* Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. *Circulation* 2001 Dec 4; 104(23):2815-9.
52. Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G. *et al.* Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000 Jul 4; 102(1):42-7.
53. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K. *et al.* The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Arch Intern Med* 2008 Aug; 168(15):1617-24.
54. Thomas MK, Narang D, Lakshmy R. *et al.* Correlation between inflammation and oxidative stress in normocholesterolemic coronary artery disease patients 'on' and 'off' atorvastatin for short time intervals. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006 Feb; 20(1):37-44.
55. Sugiyama M, Ohashi M, Takase H. *et al.* Effects of atorvastatin on inflammation and oxidative stress. *Heart Vessels*. 2005 Jul; 20(4):133-6.
56. Pignoli P, Tremoli E, Poli A. *et al.* Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986 Dec; 74(6):1399-406.
57. Junyent M, Zambon D, Gilabert R. *et al.* Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham Risk Score. *Atherosclerosis* 2008 Feb; 196(2):803-9.
58. Labropoulos N, Leon LR, Jr., Brewster LP. *et al.* Are your arteries older than your age? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005 Dec; 30(6):588-96.
59. Jones DW, Chambless LE, Folsom AR. *et al.* Risk factors for coronary heart disease in African Americans: the atherosclerosis risk in communities study, 1987-1997. *Arch Intern Med* 2002 Dec; 162(22):2565-71.
60. Juonala M, Viikari JS, Ronnema T. *et al.* Childhood C-reactive protein in predicting CRP and carotid intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 Aug; 26(8):1883-8.
61. Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation* 2006 May 16; 113(19):2335-62.

62. Berger JS, Jordan CO, Lloyd-Jones D. *et al.* Screening for cardiovascular risk in asymptomatic patients. *J Am Coll Cardiol* 2010 Mar; 55(12):1169-77.
63. Touboul PJ, Vicaut E, Labreuche J. *et al.* Correlation between the Framingham risk score and intima media thickness: the Paroi Arterielle et Risque Cardiovasculaire (PARC) study. *Atherosclerosis* 2007 Jun; 192(2):363-9.

CONCLUSÕES

1. A avaliação da espessura médio-intimal de maneira automatizada, disponível em equipamentos de ecocardiografia padrão, reduz o tempo de avaliação e tem boa reprodutibilidade em diversos segmentos da carótida.
2. A espessura médio-intimal da carótida é maior em mulheres com história pregressa de diabetes gestacional do que em mulheres da mesma faixa etária sem alterações cardiometabólicas (grupo-controle).
3. Mulheres com história pregressa de diabetes gestacional têm espessura médio-intimal carotídea semelhante à de mulheres com dois ou mais fatores de risco cardiovascular clássicos, sendo que na bifurcação carotídea esquerda é significativamente maior do que nesse grupo de risco, podendo refletir a grande diversidade de alterações cardiometabólicas que estão agrupadas neste grupo.
4. A história pregressa de diabetes gestacional é fator de risco independente, juntamente com a idade e o colesterol total, para o aumento da espessura médio-intimal carotídea.

ANEXOS E APÊNDICES

APÊNDICE A - Cálculo de amostra

Para o cálculo da amostra utilizou-se o programa G Power 3.1.0.

Preditores: síndrome metabólica; glicemia; colesterol total, HDLc; grupos de estudo (pós DMG e grupo de 2 ou mais fatores de risco), idade; cintura, triglicérides, hipertensão.

1. Coeficiente de determinação - R^2 - 15%.
2. N= 131 participantes
3. Erro alfa de 0,05; erro beta 10%; poder 90%; tamanho do efeito 0,17

F tests - Linear multiple regression: Fixed model, R^2 deviation from zero
--

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input: Effect size f^2 = 0.17

α err prob = 0.05

Power (1- β err prob) = 0.9

Number of predictors = 10

Output: Noncentrality parameter λ = 22.2700000

Critical F = 1.9104611

Numerator df = 10

Denominator df = 120

Total sample size = 131

Actual power = 0.9022593

APÊNDICE B - Definições adotadas

1. A faixa etária adotada como definição de mulheres jovens foi baseada na utilizada pela OMS para classificação de grupos em faixas etárias (Department of International Economic and Social Affairs Statistical Office Statistical Papers série M nº.74 Provisional Guidelines on Standard International age Classifications. United Nations New York, 1982).
2. Como definição de diabetes gestacional, o serviço de endocrinologia da Faculdade de Medicina da UFMG e da Maternidade Odete Valadares utiliza a adotada pela *American Diabetes Association* (American Diabetes Association. *Gestational Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care* 2002; 25(Suppl 1):S94-S96.
3. Medida da cintura abdominal foi a adotada pelos pesquisadores do Interheart: “a medida da cintura foi obtida em um abdome despido, no ponto mais estreito entre a margem costal e a crista ilíaca...” (Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S. *et al*. Interheart study investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the Interheart Study): case-control study. *Lancet* Sep 11-17 2004; 364(9438): 937-52.
4. Definimos o grupo de estudo fatores de risco (gFR) como a necessidade de dois ou mais fatores de risco cardiovascular estabelecidos, incluindo, desta maneira, a síndrome metabólica, em acordo com as orientações do *National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults* (NCEP/ ATPIII). Para pacientes entre 20 e 74 anos com dois ou mais fatores de risco a NCEP/ ATP III recomenda calcular o risco de DAC em 10 anos (Earl S, Ford MD, Wayne H. *et al*. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43:1791-6.

APÊNDICE C – Vascular Health and Risk Management - Original research**Comparison between automated and manual measurements of carotid intima-media thickness in clinical practice**Cláudia Maria Vilas Freire^{1,2}Antonio Luiz Pinho Ribeiro¹Felipe Batista Lima Barbosa¹Anelise Impelisiere Nogueira¹Maria Cristina Costa de Almeida^{1,2}Márcia Melo Barbosa²Ângela Maria Quintão Lana³Ana Cristina Simões e Silva⁴Antônio Ribeiro-Oliveira Jr¹¹Department of Internal Medicine, School of Medicine,²Ecocenter, Hospital Socor, Belo Horizonte, MG, Brazil³Statistics Laboratory, Veterinary Department,⁴Department of Pediatrics, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil;

Correspondence: Ana Cristina Simões e Silva

Avenida Bernardo Monteiro, 1.300, apto 1.104, Funcionários, Belo Horizonte-MG

Brazil 30150-281 - Tel 55 31 3024 8687 - Fax 55 31 3248 9770

Email acssilva@hotmail.com

**DEIXAR ESTA PÁGINA EM BRANCO PARA IMPRIMIR A PRIMEIRA PÁGINA
DA REVISTA ONDE FOI PUBLICADA**

Background and aim: The measurement of carotid intima-media thickness (cIMT) has been used as a marker of arterial wall disease. Manual measurements have been performed in most epidemiological studies, but, due to the introduction of new technologies, automated software has been increasingly used. This study aimed to compare manual versus automated cIMT measurements in common carotid (CC), bifurcation (BIF), and internal carotid (IC). **Methods:** Automated and manual cIMT measurements were performed online in 43 middle-aged females. Carotid segment measurements were compared by Bland–Altman plot and the variation and repeatability coefficients between observers were also determined for comparison. **Results:** The average timespan for manual measurements (57.30 s) were significantly higher than for automated measurements (2.52 s). There were no systematic errors between methods in any carotid segments. The variation coefficient was 5.54% to 6.34% for CC and BIF, 9.76% for IC, and absolute differences were 85% below 0.1 mm and 70% below 0.05 mm. Interobserver agreement showed no systematic error. The variation and the repeatability coefficients were better for the automated than manual measures. **Conclusion:** Although both methods are reliable for cIMT measurements, the automated technique allows faster evaluation with lesser variability for all carotid segments currently used in atherosclerosis research.

Keywords: intima-media thickness, atherosclerosis, carotid segments, automated method, manual measurement, bland–altman plot.

Introduction

Atherosclerosis and atherothrombotic disease represent the major causes of morbidity and mortality worldwide and they shorten life expectancy due to heart attack and stroke^{1,2}. New technologies have emerged that allow identification of arterial wall disease progression, assessment of response to therapy and of the risk of the disease itself. The measurement of carotid intima-media thickness (cIMT) has been used in epidemiological and in risk stratification studies as a marker of subclinical atherosclerosis, a reliable substitute for a morbid event³. Given that trials in prevention of coronary artery disease (CAD) events require thousands of subjects and five to ten years of follow-up, cIMT measurements permit smaller, lower-cost studies⁴. Of the various noninvasive imaging methods available, cIMT measurement is currently recommended by the American Heart Association for inclusion in the evaluation of risk for development of cardiovascular disease in intermediate-risk patients classified by the Framingham risk score⁵⁻⁷.

In 1986, Pignoli and colleagues⁸ identified the cIMT noninvasively using ultrasound and they concluded, at that time, that B-mode imaging was a useful tool for the detection and monitoring arterial wall changes. Since then, B-mode

ultrasonography has been used to measure cIMT as a primary indicator of atherosclerotic disease, allowing better understanding of the development and progression of atherosclerosis. Given the strong correlations between atherosclerosis in various vascular beds, the measurement of cIMT is becoming increasingly accepted as a surrogate marker of generalized arterial disease^{9,10}.

About ten years ago, the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study enrolled 15,800 individuals and showed, after adjustments for covariates such as age, body mass index (BMI), smoking status, sex, race and blood pressure, that cIMT was still well correlated to total cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, and triglycerides¹¹. Then, in the year 2000, the American Heart Association Prevention Conference V stated that the measurement of cIMT add incremental information to traditional risk factor assessment in asymptomatic people, especially for those aged more than 45 years¹².

The manual measurement (point-to-point measurement of B-mode images) of cIMT is the most common technique used in clinical practice, even though it is time-consuming and the results from these readings may be biased by the lack of expertise or by some subjective judgment of the observer. Even when the same images are measured twice but 12 months apart, one third variability in the measurements may be expected by manual measurement of cIMT. Thus, the development of automated measurement procedures carries an obvious appeal^{13,14}. Previous studies have used the semiautomated and automated measurements of cIMT in common carotid, but none of them included online automated measurement software for cIMT^{15,16}.

In this context, the aim of this study was to compare the automated analyzing system for measurement of cIMT to manual measurements in predefined sections of the common carotid (CC), carotid bifurcation (BIF), and internal carotid (IC) using regular ultrasound equipment with standard software in a routine basis.

Subjects and methods

The study population consisted of 43 female patients, aging 38.90 \pm 5.60 years, referred from a women's health outpatient ward. All patients included in this study are participants of a clinical study concerning the effect of past gestational diabetes in subclinical atherosclerosis (patients and controls).

In addition, this female group was homogeneous and free from atherosclerotic plaques and any other co-morbidity. Therefore, the measurement of cIMT could be useful to detect early atherosclerotic changes in this group. Informed consent was obtained from each participant before the enrollment procedure. The study protocol was approved by the Ethical Committee of the Federal University of Minas Gerais.

Study protocol

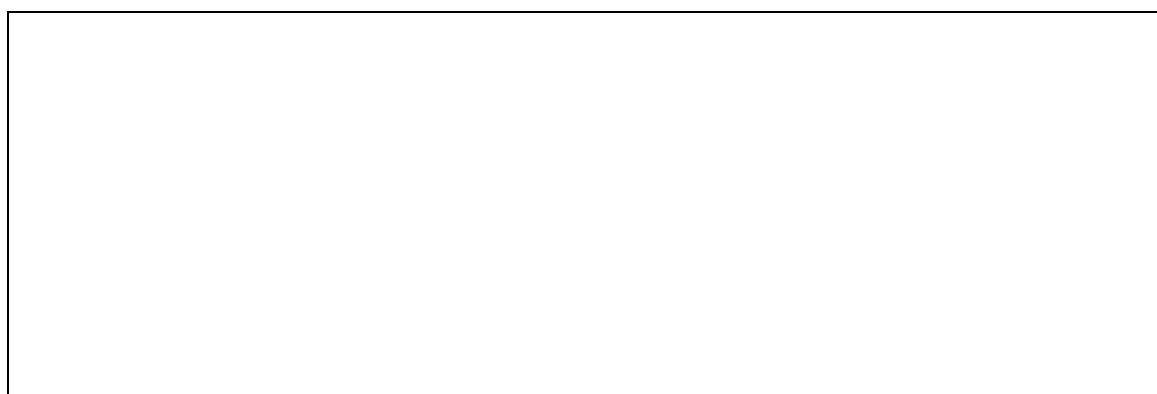
A GE Health Care Vivid 7 Dimension (Wauwatosa, WI, USA), high resolution ultrasound scanner was used with a high frequency (7, 10, or 12 MHz) linear array transducer. For the examination of the carotid arteries, the necks of the subjects were turned slightly to the left or right side. The selected image was maximized and the gain settings optimized to visualize the far wall of the carotids in order to measure intima-media complex.

Both automated and manual measurements were performed as described: 1 cm distal of the flow divider in proximal IC, 1 cm proximal to the flow divider as BIF, and 2 cm or more proximal to the flow divider in CC³. After freezing the image, 10 measurements were manually obtained by placing electronic calipers at the edge of the far wall of each segment. The cIMT data were taken online for every segment apart and the average of ten data point acquisitions was then calculated. The automated measure comprised an online measurement of multiple cIMT data points in seconds, and immediate results were provided as average, maximum, minimum, standard deviation, number of acquired data points, and distance. The commercial software algorithm is based on a comprehensive analysis of the two-dimensional vessel structure represented on an ultrasound image, rather than on a simple detection of grayscale gradients.

This technique allows accurate detection of the interfaces without almost any influences by random irregularities of the ultrasound image. The operator sets the starting and ending point of the measurement area manually. The two lines along the boundaries of the IMT are automatically drawn (Figure 1)¹⁷. Two experienced and well trained physicians randomly and blindly selected fifteen patients to perform the interobserver reproducibility of the manual and automated measurements.

Statistical analyses

The MedCalc package (Mariakerke, Belgium) was used for statistical analysis. Results were expressed as means standard deviation (SD) for CC, BIF, and IC cIMT measures. Manual and automated measurements were then compared by Bland–Altman plot for interpretation of method-comparison studies. The estimated bias (mean difference from average), SD, and the 95% confidence interval between the two measurements for the three carotid segments (CC, BIF, and IC) were obtained.



A) Automated measurements

B) Manual measurements

Figure 1 Representative images of automated and manual intima media thickness measurements.

The images were stored in the Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) and analyzed offline for interobserver evaluation. The agreement between observers for assessment of cIMT was determined as a relationship of the differences of the mean of the paired measurements, according to the Bland–Altman method. The variation coefficient was calculated according to the formula: $(\text{SD of the mean difference}/\sqrt{2})$ multiplied by 100 divided by the pooled mean values¹³. For the repeatability coefficient we used the following formula: SD of the differences multiplied by two, which shows the expected variation in results for repeated measurements. According to the definition of repeatability coefficient given by the British Standards Institute, the mean difference must not be significantly different from zero, and the 95% of the differences are expected to lie within the range of 2 SD^{18} . The clinically accepted limits of agreement were defined as less than 0.10 mm^{18} .

To compare the means of each carotid segment measurements and time duration for automated and manual measurements, unpaired Student's *t*-test was used, and $P < 0.05$ was set as significant.

Results

The length measured in each carotid segment was 0.63 to 1.30 cm for CC, 0.49 to 1.07 cm for BIF, and 0.42 to 1.33 for IC, depending on the quality of the image, in which 10 points of manual measurements and an average of 199 automated measurements in subpixels were performed. After selection of the image, the average time for manual measurement was 57.30 ± 5.45 seconds, whereas automated method spent only 2.52 ± 0.38 seconds ($p < 0.05$).

The means and SD of manual and automated cIMT measurements obtained for CC, BIF, and IC were displayed in Table 1. No statistical differences were detected in any comparison (Table 1).

The estimated bias and SD by Bland–Altman method between the automated and manual methods for average and maximum measurements of CC was 0.003 ± 0.050 mm and 0.010 ± 0.060 mm, for BIF was 0.013 ± 0.050 mm, and 0.003 ± 0.07 mm, and for IC was 0.01 ± 0.07 mm and 0.005 ± 0.05 mm, respectively. As shown in Figure 2, the mean bias in the average and maximum measurement of all carotid segments showed no systematic error.

The evaluated segments in CC, BIF, and IC showed absolute mean differences varying from 0.003 to 0.01 mm with limits of agreement of ± 0.15 to ± 0.13 mm. More than 85% of the absolute differences between the automated and manual measurements were below 0.1 mm and around 70% below 0.05 mm. The variation coefficient ranged between 6.01 to 6.34% in CC and BIF and 5.54 and 9.68% in IC (Table 1).

Tables 2 and 3 showed the interobserver agreements of the manual and automated measurements. Based on the estimated bias and SD by Bland–Altman method, no systematic error was detected between two observers in both manual and automated measurements (Table 2). The repeatability and variation coefficients were lower in automated measures for all carotid segments, except for the average measurement of IC (Table 3).

Table 2. Interobserver agreement for manual and automated measurements of the carotid segments in 15 patients compared by Bland Altman plot

	Common Carotid average	Common Carotid maximal	Carotid Bifurcation average	Carotid Bifurcation maximal	Internal Carotid average	Internal Carotid maximal
Observer 1 Manual (mm)	0.50 ± 0.06	0.60 ± 0.13	0.57 ± 0.11	0.76 ± 0.18	0.49 ± 0.10	0.68 ± 0.12
Observer 2 Manual (mm)	0.50 ± 0.06	0.62 ± 0.10	0.55 ± 0.06	0.72 ± 0.08	0.50 ± 0.13	0.72 ± 0.20
Manual Interobserver difference / 95% limits of agreement (mm)	<0.00001 / -0.12 to 0.12	-0.03 / -0.28 to 0.23	0.02 / -0.10 to 0.15	0.04 / 0.22 to 0.30	-0.007 / -0.18 to 0.17	-0.05 / -0.35 to 0.26
Observer 1 Automated(mm)	0.51 ± 0.05	0.63 ± 0.06	0.56 ± 0.09	0.76 ± 0.14	0.47 ± 0.10	0.68 ± 0.13
Observer 2 Automated (mm)	0.51 ± 0.05	0.65 ± 0.07	0.56 ± 0.07	0.74 ± 0.09	0.52 ± 0.14	0.75 ± 0.18
Automated Interobserver difference / 95% limits of agreement (mm)	<0.00001 / -0.03 to 0.03	-0.02 / -0.14 to 0.10	0.001 / -0.07 to 0.07	0.03 / -0.14 to 0.20	-0.04 / -0.22 to 0.14	-0.07 / -0.28 to 0.14

Table 3. Interobserver comparison of the repeatability and variation coefficients between manual and automated measurements

		Repeatability coefficients (in mm)		Variation coefficients	
		Manual measurement	Automated measurement	Manual measurement	Automated measurement
Common carotid	Mean IMT	0.118	0.033	8.31%	2.28%
	Maximal IMT	0.265	0.125	15.35%	6.93%
Carotid bifurcation	Mean IMT	0.129	0.070	8.10%	4.39%
	Maximal IMT	0.267	0.174	12.84%	8.21%
Internal carotid	Mean IMT	0.182	0.184	12.91%	13.11%
	Maximal IMT	0.314	0.214	15.80%	10.58%

IMT – intima media thickness.

Discussion

Our results showed that the development of automated methods for measuring cIMT in standard ultrasound equipment has importantly contributed to better reproducibility of results between different observers as well as reducing considerably the necessary time for image evaluation. As a matter of fact, the mean difference between the automated and manual methods for cIMT measurements was not clinically relevant in any of the carotid segments evaluated in the majority of cases, and carries no systematic errors. On the other hand, the automated method also enables us to reliably compare online data with other already published reports for different populations in percentiles, as has been recently proposed by the American Society of Echocardiography¹⁹. The data expressed this way may help clarify the meaning of these numbers for practitioners, besides reducing misinterpretation of measurements.

The use of automated measures has been tested by different manufactures and most of them used a computerized offline program for tracing the edges in CC. Although the automated methods have been shown to be appropriate for the CC segment, automated measurements published for bifurcation and IC segments are still lacking²⁰⁻²². Our findings with automated measurements clearly shed light on this field, pointing out to good reproducibility in all carotid segments without detectable systematic errors. Moreover, the repeatability and variation coefficient were also better for automated measurements, except for IC where measurements are expected to be worse due to difficulties concerning alignment of the ultrasound beam. We highlight that measurements of other segments by a reliable automated method is in clear advantage over measurements concentrating solely on CC. As bifurcation and internal segments are the first affected sites by atherosclerosis, a demonstration of an increased IMT measurement in these sites does not allow a precise differentiation between atherosclerosis and vascular hypertrophy but denotes a subclinical involvement of the carotid wall. Furthermore, most of the measurement bias was below the accepted clinical limits for daily practice^{20,23-25}.

Nowadays, the use of surrogate markers to predict cardiovascular events has become a reality, and technologies have to improve continuously to attend the needs of practitioners. In this regard, it is important to obtain fast and comparable IMT measurements to minimize errors. The automated measurement utilized in this study has shown live cIMT measurements by a standard ultrasound machine

with less variability than manual measurements in most carotid segments, as it reduces the component of variability associated with both manual cursor placement and manual drawing of the wall. Our results added information about reproducibility in online automated IMT measurements, as the recent published study by Puchner and colleagues tested only the CC¹⁷. Indeed, the automated edge tracking using subpixel interpolation determines edge boundaries at a resolution greater than monitor line resolution. However, we have to admit that, even in the hands of expert physicians on this field, automated measurements may sometimes not be available due to lack of image quality obtained²⁶.

Most of the large scale studies in cIMT have utilized manual measurements obtained by off-line video images. Only the Rotterdam study has determined the cIMT by both semiautomated and manual methods in the same population^{3,6,7,27}. According to our results, the Rotterdam study concluded that manual measurements are time-consuming with larger variability between readers^{16,28,29}. Therefore, the possibility of good quality online measurements with available software of good reproducibility in daily live exams would certainly expand information on cIMT on a regular basis for clinical practice.

We are aware of the limitations of our study. Despite the use of a homogeneous group of patients, this study included only women and we cannot assume that in men the results would be the same, even knowing that cIMT is thinner in female. All the interobserver measurements were derived from stored images and the reproducibility of the measurements could be different with different angles of insonation and depth of the vessel studied, especially in segments where the images are not supposed to be straight as in IC. The two observers were physicians trained in vascular ultrasound, and the variability based on different sonographers was generally larger than the variability based on readers in studies¹³. In addition, online analysis requires utmost precision and skill. We tested only the automated software of GE Vivid 7, and could not assume that the agreements would be the same for other software. Nevertheless, some features of this study may increase the strength of our findings such as the homogeneity of our sample, the expertise of the sonographers who were blinded to study protocol, and the utilization of well-established protocols for both manual and automated cIMT measurements.

In conclusion, automated cIMT measurement available in standard equipments saves time and has a good reproducibility in many carotid segments currently used for research in atherosclerosis.

Disclosures

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

1. Kung HC, Hoyert DL, Xu J. *et al.* Deaths: final data for 2005. *Natl Vital Stat Rep* 2008; 56(10):1–120.
2. Saúde. BMD. DATASUS. Estatísticas Vitais. 2006; www.datasus.gov.br/. Accessed May 02, 2009.
3. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR. *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol* 1997; 146(6):483–494.
4. Cohn JN. Introduction to surrogate markers. *Circulation* 2004; 109(25 Suppl 1):IV20–IV21.
5. Blankenhorn DH, Selzer RH, Crawford DW. *et al.* Beneficial effects of colestipol-niacin therapy on the common carotid artery. Two- and four-year reduction of intima-media thickness measured by ultrasound. *Circulation* 1993; 88(1):20–28.
6. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ. *et al.* Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997; 96(5):1432–1437.
7. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340(1):14–22.
8. Pignoli P, Tremoli E, Poli A. *et al.* Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74(6):1399–1406.
9. Geroulakos G, O’Gorman DJ, Kalodiki E. *et al.* The carotid intima-media thickness as a marker of the presence of severe symptomatic coronary artery disease. *Eur Heart J* 1994; 15(6): 781–785.

10. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA. *et al.* Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. *Stroke* 1992; 23(12):1752–1760.
11. Dobs AS, Nieto FJ, Szklo M. *et al.* Risk factors for popliteal and carotid wall thicknesses in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* 1999; 150(10): 1055–1067.
12. Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP. *et al.* Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation* 2000; 101(1):E16–E22.
13. Kanters SD, Algra A, van Leeuwen MS. *et al.* Reproducibility of in vivo carotid intima-media thickness measurements: a review. *Stroke* 1997; 28(3):665–671.
14. Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrand J. Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia. Ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. *Arterioscler Thromb* 1993; 13(10):1404–1411.
15. Persson J, Stavenow L, Wikstrand J. *et al.* Noninvasive quantification of atherosclerotic lesions. Reproducibility of ultrasonographic measurement of arterial wall thickness and plaque size. *Arterioscler Thromb* 1992; 12(2):261–266.
16. Selzer RH, Hodis HN, Kwong-Fu H. *et al.* Evaluation of computerized edge tracking for quantifying intima-media thickness of the common carotid artery from B-mode ultrasound images. *Atherosclerosis* 1994; 111(1):1–11.
17. Puchner S, Reiter M, Baros C. *et al.* Assessment of intima-media thickness of carotid arteries: evaluation of an automated computer software. *Neuroradiology* 2008; 50(10): 849–853.
18. Bland JM. & Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1(8476): 307–310.
19. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT. *et al.* Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21(2):93–111; quiz 189–190.
20. Touboul PJ, Vicaut E, Labreuche J. *et al.* Design, baseline characteristics and carotid intima-media thickness reproducibility in the PARC study. *Cerebrovasc Dis.* 2005; 19(1):57–63.

21. Denarie N, Gariepy J, Chironi G. *et al.* Distribution of ultrasonographically assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis* 2000; 148(2):297–302.
22. Bild DE, Bluemke DA, Burke GL. *et al.* Multi-ethnic study of atherosclerosis: objectives and design. *Am J Epidemiol* 2002; 156(9): 871–881.
23. Asai K, Kudej RK, Shen YT. *et al.* Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(6):1493–1499.
24. Lakatta EG. & Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease. *Circulation* 2003; 107(1):139–146.
25. Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension* 2005; 46(3):454–462.
26. Simon A, Gariepy J, Chironi G. *et al.* Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002; 20(2):159–169.
27. Salonen JT. & Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87(3 Suppl): II56–II65.
28. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, *et al.* Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004; 18(4):346–349.
29. Touboul PJ, Prati P, Scarabin PY. *et al.* Use of monitoring software to improve the measurement of carotid wall thickness by B-mode imaging. *J Hypertens Suppl* 1992; 10(5): S37–S41.

APÊNDICE D - Previous Gestational Diabetes Increases Carotid Intima Media Thickness in Young women Independently of the Cardiometabolic Profile (TERCEIRA PUBLICAÇÃO) - EM FASE DE ELABORAÇÃO

Introduction

Gestational diabetes is a carbohydrate intolerance that begins or is first detected during pregnancy and its prevalence rate vary between 2-7% in most of the countries⁽¹⁻³⁾. It is a form of hyperglycemia that is detected at an early time point in a women's life and could be an opportunity for the study of evolving diabetes. Besides the well known impact of gestational diabetes for the fetus, effects of GDM after pregnancy have been acknowledged. In a recent meta-analysis the authors recorded a 7.5 times increase in risk of type 2 diabetes in women with previous GDM and showed that this risk increases further when examined more than 5 years postpartum⁽⁴⁾.

Besides an increased risk of carbohydrate metabolism disturbances in this population there is an increased cardiovascular risk due to clustering of other cardiovascular (CV) risk factors such as increased prevalence of metabolic syndrome⁽⁵⁾. The increase in cardiovascular risk extends to lesser degrees to women with mild glucose intolerance in pregnancy in a follow up over 12.3 years. However the presence of known (classic) atherosclerotic risk factors may not completely explain the CV burden in some populations⁽⁶⁻⁸⁾. Health-care professionals and women with gestational diabetes are not aware of the importance of this disorder as an early sign of the susceptibility to develop cardiovascular disease in the future⁽⁶⁾.

Identification of markers of subclinical atherosclerosis has been regarded as important for the early recognition and treatment of cardiovascular disease. Carotid intima-media thickness (cIMT) measured by ultrasound is a simple, safe, and inexpensive test to assess indirectly for the presence of atherosclerosis⁽⁹⁾. Traditional and non traditional cardiovascular risk factors correlate well with increased cIMT⁽¹⁰⁻¹⁴⁾. Moreover, cIMT has been considered an independent predictor of future cardiovascular events (stroke and coronary artery disease), and it has been used as a surrogate end point in many clinical and epidemiological research trials^(10,15-21).

An appealing facet of vascular imaging as a surrogate endpoint for cardiovascular disease is that it assesses the atherosclerotic disease process itself, which includes the net effect of hereditary and environmental factors, either known or yet to be discovered⁽²²⁾. The objective of the present study is to determine whether young women with previous gestational diabetes mellitus, a population at high risk for type 2 diabetes and metabolic syndrome, shows signs of subclinical atherosclerosis through IMTc evaluation. Furthermore, this study also aims to evaluate if just a past history of GDM may be regarded as an independent risk factor for subclinical atherosclerosis.

Subjects and methods

This is a cross-sectional study in which 175 non-smoking women aged between 18 and 47 years were selected and divided into three study groups. The first group consisted of 79 patients with previous history of gestational diabetes (pDMG) who were referred to the Endocrinology Outpatient Clinics of, Federal University of Minas Gerais and Maternity Odete Valadares (state maternity). The diagnosis of GDM was performed as recommended by the American Diabetes Association⁽²³⁾. The second group consisted of 30 patients with two or more cardiovascular risk factors or diagnosed metabolic syndrome (RFg), referred for treatment at the Endocrinology Outpatient Clinics of Federal University of Minas Gerais. Risk factors were defined as recommended by National Health and Nutrition Examination Survey III⁽²⁴⁾ and for the diagnosis of MS adopted the definition of the American Heart Association (AHA) and National Heart Lung and Blood Institute (NHLBI), in which they recommend the Adult Treatment Panel III with minor modifications. The combination of three of the following five are taken for the diagnosis of metabolic syndrome in women: waist circumference ≥ 88 cm, triglycerides ≥ 150 mg/dL or on medication for high triglycerides, cHDL <50 mg/dL or drug treatment to raise cHDL, blood pressure $\geq 135 / 85$ mmHg or treatment with antihypertensive medications in a patient with a history of hypertension and fasting glucose ≥ 100 mg/dL or drug treatment for elevated glucose^(25,26). The third group included 66 volunteers with no history of gestational diabetes or any cardiovascular risk factor as defined above, recruited among hospital employees and their relatives in the same age range of study groups, control group (CG). Information was collected on the family histories of coronary disease and diabetes

and personal history of current use of hormonal contraceptives and they underwent a physical examination to measure weight, height, waist circumference, and blood pressure.

Laboratory measurements

After a 10 to 12h fasting blood samples were withdrawn for plasma determination of glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, and triglyceride. Samples were measured in duplicate using standard techniques (BIOCLIN, Quibasa, Belo Horizonte, Brazil), and LDL cholesterol was calculated by Friedewald formula as triglyceride was lower than 400 mg% in all sample.

Ultrasound study

A GE Health Care Vivid 7 Dimension (Wauwatosa, WI, USA) high resolution ultrasound scanner with a high frequency (7, 1, or 12 MHz) linear array transducer was used for carotid IMT measurement. The examination of the carotid arteries comprised automated measurements of cIMT in selected segments of the far wall: 1cm distal to the flow divider in proximal internal carotid (IC), 1cm proximal to the flow divider as bifurcation (BIF), and 2 cm or more proximal to the flow divider in common carotid (CC) on the right and left side. Patients underwent one ultrasonographic examination during the study performed by one experienced physician blind to the clinical and metabolic status of the participants and the validation of the automated measurement was previously published by the authors⁽²⁷⁾. The average of the mean cIMT of three right and three left far walls segments was used to determine composite cIMT values for analysis.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Stata 11 (StataCorp, College Station, TX). Continuous data is presented as means \pm standard deviation / median (interquartile range), and the categorical data as percentage. As not all the women had all of the physical examination or laboratory assessments performed, the sample sizes for those variables with missing data are indicated in the results.

cIMTs histograms showed skewed distribution, as expected^(28,29). Therefore, we used the logarithmic transformation of measurements for analysis. For the comparison of carotid IMT between groups was performed one-way ANOVA and

multiple comparisons used the Bonferroni correction when we find a significant overall difference. The residuals were tested and the distribution was normal.

By univariate linear regression was developed a multiple regression model using the composite measure of IMT as dependent variable and clinically relevant parameters as covariates (study groups, blood glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, age, waist circumference, hypertension, metabolic syndrome and triglycerides). Arterial hypertension (AH) and metabolic syndrome were categorized in the model. The candidate variables for multiple regression model were selected if $P < 0.10$. and was considered significant if $P < 0.05$.

Ethics

All participants gave their informed consent before any study related procedure was performed and the institutional Ethical Committees approved the investigational protocol.

Results

Clinical Data

The baseline clinical characteristics of the women included in the study are shown in table 1. Patients in the pDMG were 32.51 ± 22.28 months after the index pregnancy. The women in RFg were, on average, older than controls with mean age of 37.97 ± 6.24 years. Women in pGDM had the highest number of pregnancies.

Patients in RFg and pGDM showed significantly higher blood pressures, blood glucose levels, total cholesterol, cLDL, triglyceride and lower cHDL than the CG. Obesity, central obesity and overweight were observed more frequently in pGDM and RFg when compared to CG, while waist and BMI were significantly higher in the RFg than in pGDM.

Table 1 - Clinical characteristic of the patients

Characteristic	Control Group	Post GDM group	2 or more	N	P
			Risk Factors Group		
Age (years)	34,50 [30 – 40]	37,00 [33 – 41]	39,00 [34 – 43]	175	0,03*
Parity	1,00 [0 - 2]	2,00 [2 – 3]	1,50 [1 – 3]	174	0,0001*&§
BMI (kg/m ²)	22,2 [20,35 - 23,65]	28,3 [24,80 - 33,60]	32,3 [28,20 – 37,50]	170	0,0001**&§
Systolic arterial pressure(mmHg)	110,00 [110,00-120,00]	120,00 [110,00-130,00]	125,00 [120,00-130,00]	174	0,0001**&
Diastolic arterial pressure (mmHg)	70,00 [70,00-80,00]	80,00 [70,00-90,00]	80,00 [70,00-80,00]	172	0,0003**&
Glicemia (mg/dL)	84,00 [79,00 - 90,00]	99,00 [85,00 - 120,50]	102,50 [93,50 - 110,00]	149	0,0001**&
Total Cholesterol (mg/dL)	175,00 [150,00 - 194,00]	188,00 [168,00 - 213,00]	200,00 [168,00-233,00]	141	0,001**&
HDLc (mg/dL)	58,00 [52,00 – 66,00]	48,10 [41,00 – 58,00]	42,80 [38,00 – 49,00]	140	0,0001**&
LDLc(mg/dL)	95,00 [79,00 -111,00]	112,00 [96,00 -140,00]	122,00 [99,00 -157,00]	139	0,0005**&
Trygliceride (mg/dL)	74,00 [52,00 – 94,00]	122 [71,00 -166,00]	166,00 [121,00-211,00]	142	0,0001**&
Waist (cm)	72,50 [69,00 - 79,00]	92,50 [82,00 -103,00]	102,50 [93,00 –112,50]	167	0,0001**&§

GDM gestacional diabetes; Median [P25-P75].

* Control Group compared to Risk Factor group; & Control Group compared to previous GDM; § previous GDM group compared to Risk Factor group.

Kruskal-Wallis

The prevalence of hypertension and metabolic syndrome were significantly higher in RFG but the presence of diabetes did not reach statistical difference

between pGDM and RFg. Family history of diabetes and coronary artery disease were more prevalent in pGDM and RF groups than in controls. There were more women in CG that were using of hormonal contraception.

Table 2 - Prevalence of hypertension, diabetes, metabolic syndrome, family history of diabetes and coronary artery disease in control group, post GDM group and 2 or more cardiovascular risk factors group compared by chi square

Characteristic	Control group	Post GDM GROUP	2 or more risk factors group	P
Hypertension (%)	NA	30,77% (24 of 78)	63,33% (19 of 30)	0,002
Diabetes (%)	NA	27,87% (17 of 61)	21,43% (6 of 28)	0,519
Metabolic syndrome	NA	44,90% (22 of 49)	76,92% (20 of 26)	0,008
Family History of CHD(%)	33,33% (22 of 66)	62,82% (49 of 78)	66,67% (20 of 30)	<0,001* ^{&}
Family History of Diabetes (%)	36,36% (24 of 66)	71,79% (56 of 78)	51,72% (15 of 29)	<0,001 ^{&}
Hormone contraception	30,30% (20 of 66)	12,66% (10 of 79)	23,33% (7 of 30)	0,03 ^{&}

GDM- gestational diabetes; NA- non applicable; CHD: coronary heart disease

[&] CG compared to pGDM; * CG compared to RFg.

We calculated the global cardiovascular risk (RCG) of 133 patients who had the exams required for this score. That score evaluates not only the risk of coronary disease, as other atherosclerotic diseases such as cerebrovascular disease, peripheral arterial obstructive disease and heart failure⁽³⁰⁾. All patients in CG and 89.2% of patients in the study groups were in GCR below 6.3%, ie in the range of low risk. Only five patients in group pGDM and three patients in RF group were in the range of intermediate risk (60-20%), ie 10.8% of non controls (Table 3).

Patients excluded from the calculation of GCR were similar to those included, except for a small difference in diastolic blood pressure (DBP) by the Wilcoxon test: median DBP of patients included was 76.00 mmHg [70.00 to 80.00] and 80.00 mmHg [76.00 to 90.00] of the excluded patients, $P = 0.004$.

Table 3 - Framingham risk score for general cardiovascular diseases in control group, post GDM group and 2 or more cardiovascular risk factors group

Framingham Risk Score	Control Group (n=59)	Post GDM group (n=52)	2 or more Risk Factors Group (n=24)
≤2 %	53 (89,8%)	23 (46,9%)	8 (32,0%)
2,1 – 5,3 %	6 (10,2%)	21 (42,8%)	14 (56,0%)
6,3 – 10%	0	5 (10,2%)	3 (12,0%)
> 10%	0	0	0

GDM – Gestational Diabetes *Mellitus*.

Mean cIMT was significantly higher in pGDM compared to CG in all sites of measurements but right common carotid and right carotid bifurcation. RFg showed thicker cIMT than controls in the composite measure and significantly thinner cIMT than pGDM group in left carotid bifurcation (Table 4).

Table 4 - Measurements of the common carotid, internal carotid and bifurcation cIMTs in control group, post GDM group and 2 or more cardiovascular risk factors group compared by ANOVA

IMT	Control group	Post GDM group	2 or more Risk Factors Group	N	P
LCC mean	0,50 [0,45-0,55]	0,53 [0,49-0,58]	0,55 [0,46-0,58]	174	0,03 ^{&}
LBIF mean	0,57 [0,50-0,61]	0,61 [0,54-0,69]	0,58 [0,50-0,64]	174	0,0002 ^{&§}
LIC mean	0,40 [0,33-0,46]	0,45 [0,38-0,52]	0,43 [0,36-0,50]	174	0,007 ^{&}
RCC mean	0,50 [0,45-0,54]	0,51 [0,46-0,56]	0,52 [0,48-0,62]	175	0,07
RBIF mean	0,55 [0,48-0,60]	0,59 [0,51-0,63]	0,59 [0,52-0,66]	175	0,06
RIC mean	0,40 [0,34-0,50]	0,45 [0,39-0,56]	0,42 [0,34-0,52]	174	0,04 ^{&}
Composite IMT	0,48 [0,44-0,52]	0,53 [0,48-0,57]	0,51 [0,48-0,55]	173	0,0002 ^{*&}

CC- common carotid; BIF- bifurcation; IC- internal carotid; IMT – intimal-media thickness; GDM- gestational diabetes; Median [p25-p75] ; *Control Group compared to Risk Factor group; [&] Control Group compared to previous GDM; [§] previous GDM compared to Risk Factor group.

Linear regression

The final model showed that age, total cholesterol and a history of GDM were independently associated with IMT composite. This model explained 32.5% of the cIMT variability with the variables included (Table 5). Other covariates were excluded from the model.

Table 5 - Multiple linear regression coefficients and associated P values for composite mean cIMTs (logarithmic scale)

Variable	Beta Coefficient	95% CI	P
Study Group			
Previous GDM	0,0587	0,0010 – 0,1164	0,046
Risk factor group	0,0237	-0,0538 - 0,1013	0,545
Age	0,0097	0,0062 – 0,0132	0,000
Waist	0,0013	-0,0008 – 0,0034	0,231
Cholesterol	0,0006	0,0000 – 0,0012	0,046
Glicemia	0,0004	-0,0003 – 0,0010	0,294
Hypertension	0,0206	-0,0420 – 0,0832	0,516
Metabolic Syndrome	-0,0399	-0,1114 – 0,0316	0,271
Constant	-1,3098	-1,5140 - -1,1056	0,000

Adjusted R²=0,366 (p<0,001).

Within our sample we further compared the cIMT of 52 controls with a subgroup of 27 patients pDMG who showed no cardiometabolic abnormality. Again, carotid IMT was significantly higher in group pDMG (Table 6).

Table 6 - Comparison of metabolic normal patients between controls and previous GDM group using student T test

Variable	Control group	N	Previous GDM group	N	P
Age (years)	34,5±6,8	52	36,5±5,4	27	0,19
Composite IMT	0,48±0,06	52	0,54±0,08	27	0,0002

GDM: gestacional diabetes

Discussion

In the present study, conducted in young women with low overall risk for cardiovascular disease, we were able to demonstrate that the previous history of gestational diabetes is independently associated with markers of subclinical atherosclerosis, even after controlling for established cardiovascular risk factors

such as the presence of hypertension, metabolic syndrome, blood glucose, waist circumference and triglyceride levels.

Age, a strong determinant of cIMT^(31,32), and total cholesterol were included in the final model and it is likely that collinearity among the other variables lead them to be excluded from the model. In our study we expected that women pGDM would have increased cIMT compared to controls and similar cIMT comparing to RFg. Actually, the patients in pGDM group showed higher cIMT in most carotid segments than CG and similar to the RFg. However, they showed a higher cIMT in the left carotid bifurcation than the RFg, an area of predilection for atherosclerotic plaque formation, although the group pDMG have lower prevalence of hypertension, obesity and metabolic syndrome⁽²⁸⁾. If we compare the absolute values of IMT found in our study groups with the tables of a European study⁽³³⁾, a very different population from our population, the IMT of pGDM and RFg are above the 75th percentile, which would call attention for this subgroup of patients. However, if we apply the tables of the Multiethnic Study of Atherosclerosis⁽³⁴⁾ and the CAPS study⁽³⁵⁾ our patients would be classified below the 50th percentile, again underestimating their risk.

This is the first study to show marks of subclinical atherosclerosis in patients with previous GDM compared to patients with 2 or more cardiovascular risk factors or clustering of risk factors, such as metabolic syndrome. Despite the cardiometabolic status of these patients the difference in cIMT remained significant^(36,36).

Some publications have shown an increased risk of cardiometabolic changes after a pregnancy complicated by gestational diabetes. The main change occurs in glucose metabolism, including diabetes type 1 and 2 DM, and intermediate categories between normal glucose homeostasis, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance^(4,5,38-41). Associated with disorders of glucose metabolism is an increased prevalence of other cardiovascular risk factors in these women, such as hypertension, obesity, dyslipidemia and metabolic syndrome⁽⁴²⁻⁴⁵⁾. In addition to these metabolic abnormalities, in a previous publication the authors demonstrated that women with GDM have a change of left ventricular diastolic relaxation that do not normalize after delivery⁽⁴⁶⁾. In this regard, the DMG is an opportunity to identify women with increased cardiometabolic risk.

Other researchers have shown results similar to ours during pregnancy. Tarim et al. found an increase in left common carotid IMT in women with GDM, independent of blood glucose, total cholesterol and HDLc⁴⁶. Later Volpe et al. compared metabolic and inflammatory markers of atherosclerosis in women 2 years after a pregnancy complicated by GDM. These authors also demonstrated that women with previous GDM had a higher mean common carotid cIMT. In multivariate analysis of this publication, the levels of oxidized LDL were independently associated with carotid cIMT, suggesting that there was an inflammatory component associated with the altered metabolic status⁽⁴⁷⁾. The association of cIMT with atherogenic dyslipidemia, obesity, hypertension, diabetes and metabolic syndrome has been well demonstrated^(10,47-50). Despite the possible implications of some phenotypes risk of atherosclerotic disease, such as metabolic syndrome and obesity, individuals with metabolic syndrome may have signs of subclinical inflammation independently of obesity⁽⁵¹⁾. The results of this study showed no significant association of a known stimulant of subclinical inflammation that is the accumulation of waist circumference. However, the significant association between cholesterol levels with cIMT may be related to the inflammatory process induced by cholesterol subclasses as demonstrated by Volpe and colleagues⁽⁵²⁾, since these patients cholesterol levels are not substantially elevated^(51,53).

The silent process of atherosclerotic alterations have been imaged by B-mode ultrasound since 1986⁽⁵⁴⁾. Since then several studies have shown signs of early changes in the carotid artery wall in populations with classic risk factors, but also in individuals free or well controlled these factors^(7,50,55-58). The role of inflammation has been well established over the past ten years, and all stages of atherosclerotic plaque formation can be considered as an inflammatory response to injury^(6,49,59).

This new concept that assigns part of the process of development of atherosclerosis with the presence of subclinical inflammation could explain one of the mechanisms of the differences found between the patients in group pDMG and women from other groups, even when these women are free from metabolic disorders. Furthermore, a possible genetic contribution may also be responsible for these results^(6,49,59).

The increase in cardiometabolic risk factors in this group of young patients, most often does not result in an increase in the GCR, minimizing possible actions on primary prevention in these women. Even showing that carotid IMT in this young population is increased, only two patients in the group pDMG and no patient in the RFg were at intermediate risk group. These results call attention to the underestimation of cardiovascular risk by traditional risk scores when applied to special populations^(56,60).

Some limitations of this study should be mentioned. GDM women were evaluated after an average of 3 years after pregnancy complicated by GDM, with wide variation of time. This prevents any analysis regarding the time of occurrence and the onset of increased cIMT. Furthermore, we did not evaluate other markers of subclinical disease as inflammatory markers or intermediate categories of changes in glucose metabolism, especially in those in the pDMG group that did not change cardiometabolic.

In conclusion, in our final model, previous GDM is associated with increased carotid IMT as an additional independent risk factor, along with age and cholesterol levels. The demonstration of increased IMT in this population, similar to women with known cardiovascular risk profile, may stimulate primary prevention at younger ages, highlighting the importance of the history of gestational diabetes.

References

1. Schmidt MI, Duncan BB, Reichelt AJ, Branchtein L, Matos MC, Costa e Forti A, et al. Gestational diabetes mellitus diagnosed with a 2-h 75-g oral glucose tolerance test and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care*. 2001 Jul;24(7):1151-5.
2. Brody SC, Harris R, Lohr K. Screening for gestational diabetes: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Obstet Gynecol*. 2003 Feb;101(2):380-92.
3. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2006 Jan;29 Suppl 1:S43-8.
4. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2009 May 23;373(9677):1773-9.
5. Madarasz E, Tamas G, Tabak AG, Kerenyi Z. Carbohydrate metabolism and cardiovascular risk factors 4 years after a pregnancy complicated by gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009 Aug;85(2):197-202.

6. Retnakaran R, Shah BR. Mild glucose intolerance in pregnancy and risk of cardiovascular disease: a population-based cohort study. *CMAJ*. 2009 Sep 15;181(6-7):371-6.
7. Gibbons GH, Liew CC, Goodarzi MO, Rotter JI, Hsueh WA, Siragy HM, et al. Genetic markers: progress and potential for cardiovascular disease. *Circulation*. 2004 Jun 29;109(25 Suppl 1):IV47-58.
8. Maple-Brown L, Hodge A, Cunningham J, Celermajer DS, O'Dea K. Risk factors for cardiovascular disease do not fully explain differences in carotid intima-media thickness between Indigenous and European Australians without diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 Aug;71(2):189-94.
9. Mark DB, Shaw LJ, Lauer MS, O'Malley PG, Heidenreich P. 34th Bethesda Conference: Task force #5--Is atherosclerosis imaging cost effective? *J Am Coll Cardiol*. 2003 Jun 4;41(11):1906-17.
10. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, Chambless LE, Szklo M, Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol*. 1991 Aug 1;134(3):250-6.
11. Crouse JR, 3rd, Tang R, Espeland MA, Terry JG, Morgan T, Mercuri M. Associations of extracranial carotid atherosclerosis progression with coronary status and risk factors in patients with and without coronary artery disease. *Circulation*. 2002 Oct 15;106(16):2061-6.
12. Liao YC, Lin HF, Rundek T, Cheng R, Guo YC, Sacco RL, et al. Segment-specific genetic effects on carotid intima-media thickness: the Northern Manhattan study. *Stroke*. 2008 Dec;39(12):3159-65.
13. D'Agostino RB, Jr., Burke G, O'Leary D, Rewers M, Selby J, Savage PJ, et al. Ethnic differences in carotid wall thickness. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Stroke*. 1996 Oct;27(10):1744-9.
14. Everson SA, Kaplan GA, Goldberg DE, Salonen R, Salonen JT. Hopelessness and 4-year progression of carotid atherosclerosis. The Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Aug;17(8):1490-5.
15. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997 Sep 15;146(6):483-94.
16. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997 Sep 2;96(5):1432-7.

17. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. 1993 Mar;87(3 Suppl):II56-65.
18. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999 Jan 7;340(1):14-22.
19. Prati P, Tositto A, Vanuzzo D, Bader G, Casaroli M, Canciani L, et al. Carotid intima media thickness and plaques can predict the occurrence of ischemic cerebrovascular events. *Stroke*. 2008 Sep;39(9):2470-6.
20. Rosvall M, Janzon L, Berglund G, Engstrom G, Hedblad B. Incidence of stroke is related to carotid IMT even in the absence of plaque. *Atherosclerosis*. 2005 Apr;179(2):325-31.
21. Giuliano Ide C, de Freitas SF, de Souza M, Caramelli B. Subclinic atherosclerosis and cardiovascular risk factors in HIV-infected children: PERI study. *Coron Artery Dis*. 2008 May;19(3):167-72.
22. Naghavi M, Falk E, Hecht HS, Jamieson MJ, Kaul S, Berman D, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient--Part III: Executive summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force report. *Am J Cardiol*. 2006 Jul 17;98(2A):2H-15H.
23. American Diabetes Association: clinical practice recommendations 2002. *Diabetes Care*. 2002 Jan;25 Suppl 1:S1-147.
24. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. The distribution of 10-Year risk for coronary heart disease among US adults: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Am Coll Cardiol*. 2004 May 19;43(10):1791-6.
25. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004 Sep 11-17;364(9438):937-52.
26. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735-52.
27. Freire CM, Ribeiro AL, Barbosa FB, Nogueira AI, de Almeida MC, Barbosa MM, et al. Comparison between automated and manual measurements of carotid intima-media thickness in clinical practice. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5:811-7.
28. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke*. 1993 Sep;24(9):1297-304.

29. Denarie N, Gariepy J, Chironi G, Massonneau M, Laskri F, Salomon J, et al. Distribution of ultrasonographically-assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis*. 2000 Feb;148(2):297-302.
30. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008 Feb 12;117(6):743-53.
31. Prati P, Vanuzzo D, Casaroli M, Di Chiara A, De Biasi F, Feruglio GA, et al. Prevalence and determinants of carotid atherosclerosis in a general population. *Stroke*. 1992 Dec;23(12):1705-11.
32. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Savage PJ, Borhani NO, Kittner SJ, et al. Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *Stroke*. 1996 Feb;27(2):224-31.
33. Denarius N, Gariepy J, Chiron G, Massonneau M, Laskri F, Salomon J, et al. Distribution of ultrasonographically: Assessed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of BOTH sexes. *Atherosclerosis* 2000; 148:297-302.
34. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT. et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and Evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21(2):93-111, quiz 189-190.
35. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening Indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke* 2006, 37:87-92.
36. Schneider JG, Tompkins C, Blumenthal RS, Mora S. The metabolic syndrome in women. *Cardiol Rev*. 2006 Nov-Dec;14(6):286-91.
37. Tzou WS, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Chen W, et al. Increased subclinical atherosclerosis in young adults with metabolic syndrome: the Bogalusa Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Aug 2;46(3):457-63.
38. Pallardo LF, Herranz L, Martin-Vaquero P, Garcia-Ingelmo T, Grande C, Janez M. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in women with prior gestational diabetes are associated with a different cardiovascular profile. *Diabetes Care*. 2003 Aug;26(8):2318-22.
39. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*. 2002 Oct;25(10):1862-8.

40. Jarvela IY, Juutinen J, Koskela P, Hartikainen AL, Kulmala P, Knip M, et al. Gestational diabetes identifies women at risk for permanent type 1 and type 2 diabetes in fertile age: predictive role of autoantibodies. *Diabetes Care*. 2006 Mar;29(3):607-12.
41. Meyers-Seifer CH, Vohr BR. Lipid levels in former gestational diabetic mothers. *Diabetes Care*. 1996 Dec;19(12):1351-6.
42. Verma A, Boney CM, Tucker R, Vohr BR. Insulin resistance syndrome in women with prior history of gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jul;87(7):3227-35.
43. Lauenborg J, Mathiesen E, Hansen T, Glumer C, Jorgensen T, Borch-Johnsen K, et al. The prevalence of the metabolic syndrome in a danish population of women with previous gestational diabetes mellitus is three-fold higher than in the general population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Jul;90(7):4004-10.
44. Sriharan M, Reichelt AJ, Opperman ML, Duncan BB, Mengue SS, Crook MA, et al. Total sialic acid and associated elements of the metabolic syndrome in women with and without previous gestational diabetes. *Diabetes Care*. 2002 Aug;25(8):1331-5.
45. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Tong J, Wallace TM, Kodama K, et al. Gestational diabetes mellitus increases the risk of cardiovascular disease in women with a family history of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Sep;29(9):2078-83.
46. Freire CM, Nunes Mdo C, Barbosa MM, Longo JR, Nogueira AI, Diniz SS, et al. Gestational diabetes: a condition of early diastolic abnormalities in young women. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006 Oct;19(10):1251-6.
44. Tarim E, Yigit F, Kilicdag E, Bagis T, Demircan S, Simsek E, et al. Early onset of subclinical atherosclerosis in women with gestational diabetes mellitus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006 Feb;27(2):177-82.
47. Volpe L, Cuccuru I, Lencioni C, Napoli V, Ghio A, Fotino C, et al. Early subclinical atherosclerosis in women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2008 May;31(5):e32.
46. Crouse JR, Toole JF, McKinney WM, Dignan MB, Howard G, Kahl FR, et al. Risk factors for extracranial carotid artery atherosclerosis. *Stroke*. 1987 Nov-Dec;18(6):990-6.
48. Irace C, Cortese C, Fiaschi E, Carallo C, Sesti G, Farinaro E, et al. Components of the metabolic syndrome and carotid atherosclerosis: role of elevated blood pressure. *Hypertension*. 2005 Apr;45(4):597-601.
49. Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM. Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study. *Circulation*. 2001 Dec 4;104(23):2815-9.

50. Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*. 2000 Jul 4;102(1):42-7.
51. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, McGinn AP, Rajpathak S, Wylie-Rosett J, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Arch Intern Med*. 2008 Aug 11;168(15):1617-24.
52. Haffner SM. Abdominal adiposity and cardiometabolic risk: do we have all the answers? *Am J Med*. 2007 Sep;120(9 Suppl 1):S10-6; discussion S6-7.
53. Thomas MK, Narang D, Lakshmy R, Gupta R, Naik N, Maulik SK. Correlation between inflammation and oxidative stress in normocholesterolemic coronary artery disease patients 'on' and 'off' atorvastatin for short time intervals. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2006 Feb;20(1):37-44.
54. Sugiyama M, Ohashi M, Takase H, Sato K, Ueda R, Dohi Y. Effects of atorvastatin on inflammation and oxidative stress. *Heart Vessels*. 2005 Jul;20(4):133-6.
55. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986 Dec;74(6):1399-406.
56. Junyent M, Zambon D, Gilabert R, Nunez I, Cofan M, Ros E. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham Risk Score. *Atherosclerosis*. 2008 Feb;196(2):803-9.
57. Labropoulos N, Leon LR, Jr., Brewster LP, Pryor L, Tiongson J, Kang SS, et al. Are your arteries older than your age? *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005 Dec;30(6):588-96.
58. Jones DW, Chambless LE, Folsom AR, Heiss G, Hutchinson RG, Sharrett AR, et al. Risk factors for coronary heart disease in African Americans: the atherosclerosis risk in communities study, 1987-1997. *Arch Intern Med*. 2002 Dec 9-23;162(22):2565-71.
59. Juonala M, Viikari JS, Ronnema T, Taittonen L, Marniemi J, Raitakari OT. Childhood C-reactive protein in predicting CRP and carotid intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Aug;26(8):1883-8.
58. Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation*. 2006 May 16;113(19):2335-62.

60. Berger JS, Jordan CO, Lloyd-Jones D, Blumenthal RS. Screening for cardiovascular risk in asymptomatic patients. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Mar 23;55(12):1169-77.
60. Touboul PJ, Vicaut E, Labreuche J, Belliard JP, Cohen S, Kownator S, et al. Correlation between the Framingham risk score and intima media thickness: the Paroi Arterielle et Risque Cardio-vasculaire (PARC) study. *Atherosclerosis.* 2007 Jun;192(2):363-9.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Universidade Federal de Minas Gerais

Título do Estudo: AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA E RISCO CARDIOMETABÓLICO EM MULHERES JOVENS COM RISCO DE DOENÇA CARDIOVASCULAR

Investigadores: Investigador - Dr^a. Cláudia Maria Vilas Freire

Orientador - Dr. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior

Convite à participação: Você está sendo convidada a participar de um estudo clínico, aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas, sobre a avaliação de sinais iniciais de aterosclerose e placas de gordura em alguns grupos de mulheres na mesma faixa de idade. Este estudo está sendo conduzido pela Dr^a. Cláudia Maria Vilas Freire e o Dr. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG.

Por que o estudo está sendo realizado: Nós vamos comparar mulheres com alto risco de desenvolver no futuro diabetes e doenças cardíacas com outras sem esses fatores de risco. Os grupos serão compostos de mulheres e gestantes normais, gestantes com gravidez complicada pelo aparecimento de diabetes, mulheres que tiveram gravidezes complicadas por diabetes no passado e mulheres que apresentam complicações como alterações no açúcar ou gorduras no sangue e/ou elevação da pressão arterial e obesidade abdominal. Nosso trabalho é verificar se existe nas artérias do pescoço e/ou nas artérias coronárias do coração dessas mulheres algum sinal que indique a formação de placas de gordura.

Quais exames serão realizados: Realizaremos exames de ultrassom das carótidas (Duplex Scan) e a avaliação de calcificação nas artérias do coração por meio de tomografia. Além deles, faremos coleta de amostras de sangue para dosar, por exemplo, o colesterol, a glicose, triglicérides e outros.

O ultrassom das carótidas será feito uma só vez nas mulheres não-grávidas e duas vezes nos grupos de gestantes, durante o terceiro trimestre e após o parto.

Esse exame será realizado no Ecocenter, Avenida do Contorno, 10.500, Barro Preto.

Os exames de tomografia coronária, para avaliação de calcificação, serão realizados apenas nas não-grávidas e após o parto nos grupos de gestantes, na Axial Centro de Imagem.

A coleta de sangue será realizada no laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da UFMG para avaliação hormonal e do seu metabolismo.

Quais são os benefícios do estudo: trata-se de um estudo que busca mostrar alterações precoces de deposição de gordura em grupos de mulheres jovens com fatores de risco para doenças do coração e cérebro. Talvez esses exames já mostrem quais dessas pacientes apresentam mais probabilidade de complicar o coração na vida futura, sendo uma oportunidade de tratar e prevenir essas complicações o mais cedo possível.

Quais são os riscos potenciais ou desconfortos do estudo: Sempre há o desconforto de uma coleta de sangue pela picada da agulha, porém todos os cuidados serão tomados para que esse desconforto seja o mínimo possível. O ultrassom de carótidas não apresenta riscos, apenas o reduzido desconforto de ter de ficar com o pescoço um pouco mais alongado. Em relação às pacientes que farão o exame de tomografia, como em um Raio-X elas receberão radiação. A quantidade de radiação que você está recebendo está dentro dos limites do permitido para a realização de exames médicos.

Quais são os benefícios para o paciente: não haverá qualquer benefício secundário para você, a não ser avaliação completa do seu metabolismo e avaliação de placas de gordura em formação por exames especiais. Assim, aumentamos a possibilidade de aconselhamentos específicos para a melhor prevenção de doenças cardiovasculares.

Opções de participação e direito à recusa: a participação em uma pesquisa é voluntária e não haverá qualquer tipo de alteração na relação médico-paciente

caso você se recuse a participar ou, a qualquer momento, deseje se retirar do estudo. Além disso, você tem algumas opções de participar de todo ou somente parte do estudo. Indique sua escolha abaixo:

- a) **Eu desejo participar de todo o estudo** |____|
- b) **Eu desejo participar do estudo, porém não desejo realizar a tomografia**
|____|

Caráter confidencial: Todos os seus registros serão mantidos confidencialmente e conhecidos apenas pelos profissionais envolvidos no estudo. Os dados confidenciais deste estudo também não serão expostos à publicação, que serão utilizados apenas para informação científica.

Se você quiser, você saberá de todos os seus resultados de exames, porém você tem a opção de não querer saber dos resultados dos mesmos. Escolha sua opção:

- c) **Eu desejo ser informado de todos os resultados dos meus exames realizados no estudo** |____|
- d) **Eu não desejo saber os resultados dos meus exames realizados no estudo** |____|
- e) **Eu não desejo saber dos resultados do exame**
_____ |____|

Questões:

Eu, Dr^a. Cláudia Maria Vilas Freire, médica pesquisadora e uma das responsáveis por esta avaliação, explicarei claramente todos os procedimentos e buscarei esclarecer todas as suas dúvidas. Caso apresente qualquer questão a respeito do estudo, você poderá sempre entrar em contato conosco. Seu atendimento será mantido no ambulatório de referência, independentemente da sua inclusão ou não no estudo, com todos os cuidados necessários que dispensamos a todos os nossos pacientes. Pode, ainda, a qualquer momento, desligar-se do estudo sem o prejuízo da sua adequada assistência médica.

Dr^a. Cláudia Maria Vilas Freire, nos telefones 3330.3036 ou 3295.5362, no endereço Rua Timbiras, 3.109, sala 702, Barro Preto.

Dr. Antônio Ribeiro de Oliveira Júnior, nos telefones 3295.5362 ou no endereço Avenida Alfredo Balena, 190, *Campus* da Saúde, Santa Efigênia.

Declaração:

Acredito ter sido suficientemente informada sobre o que li (ou que foi lido para mim).

Eu discuti com a Dr^a. Cláudia Maria Vilas Freire sobre a minha decisão em participar deste estudo. Ficaram claros para mim os propósitos do estudo a que vou ser submetida, a garantia da confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento sem penalidades para o meu tratamento.

Recebi a cópia deste documento.

_____ Data ____/____/____
Assinatura do paciente/representante legal

_____ Data ____/____/____
Assinatura da testemunha

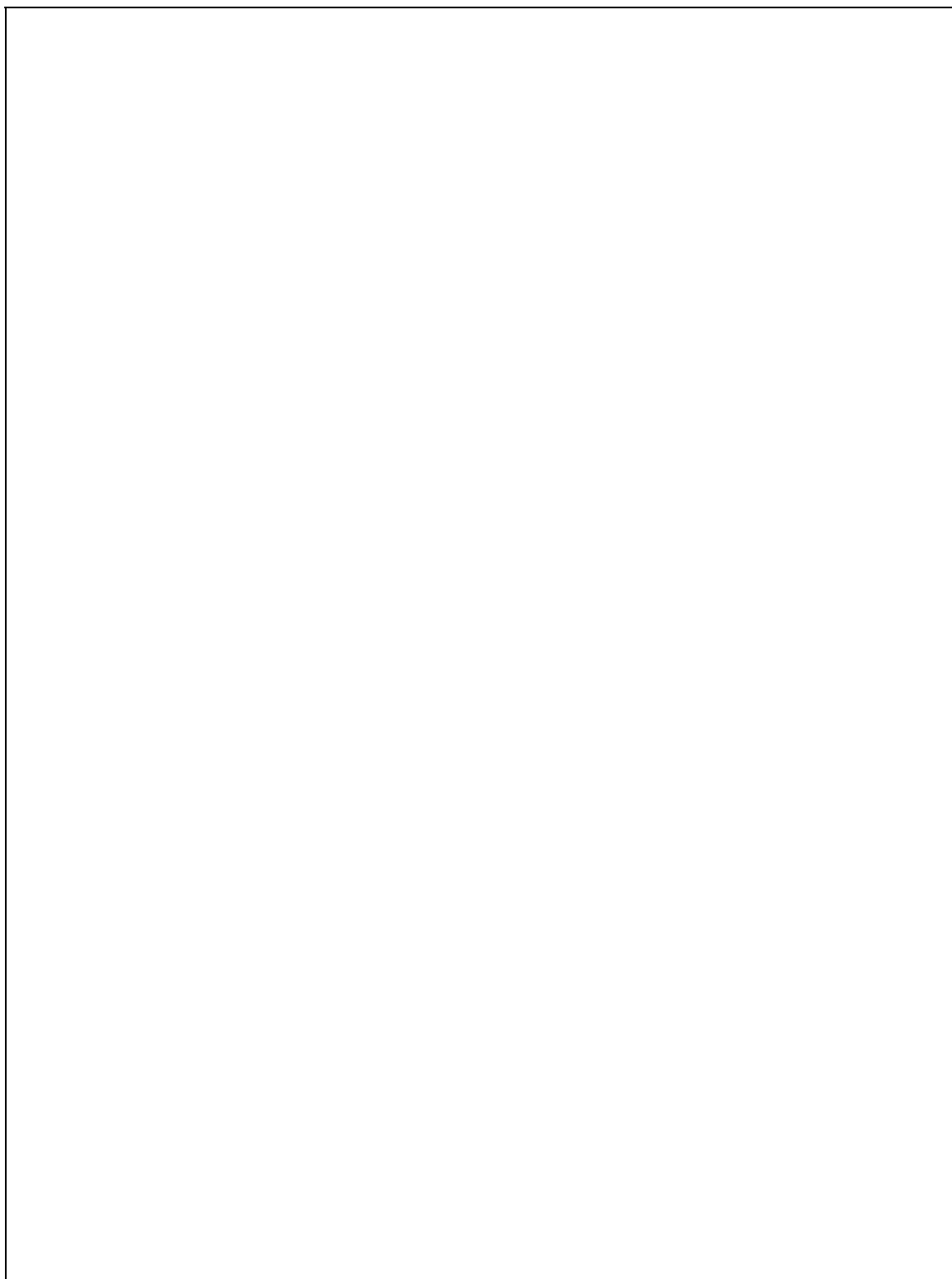
(Somente para o responsável do projeto) Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

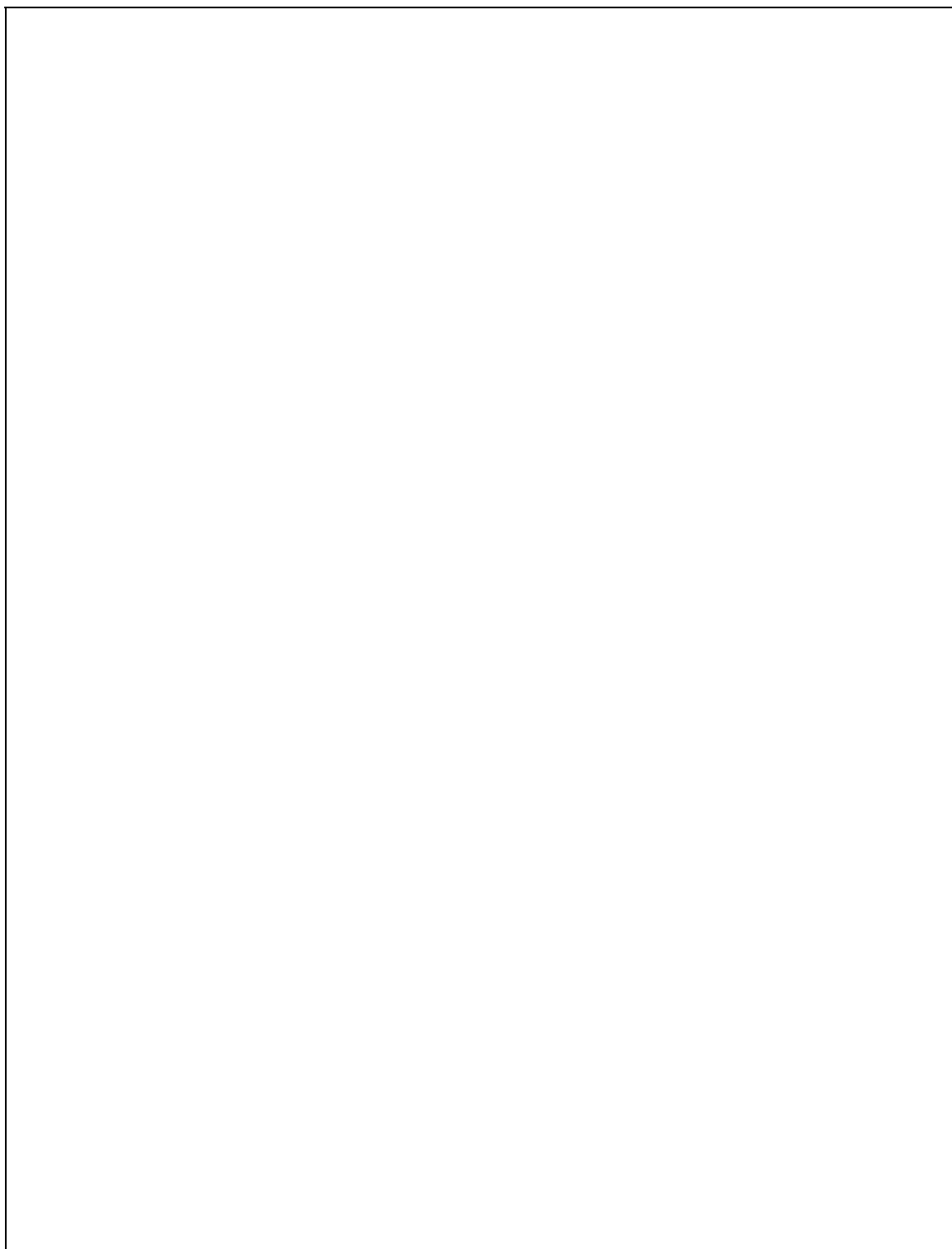
_____ Data ____/____/____
Assinatura do responsável pelo estudo

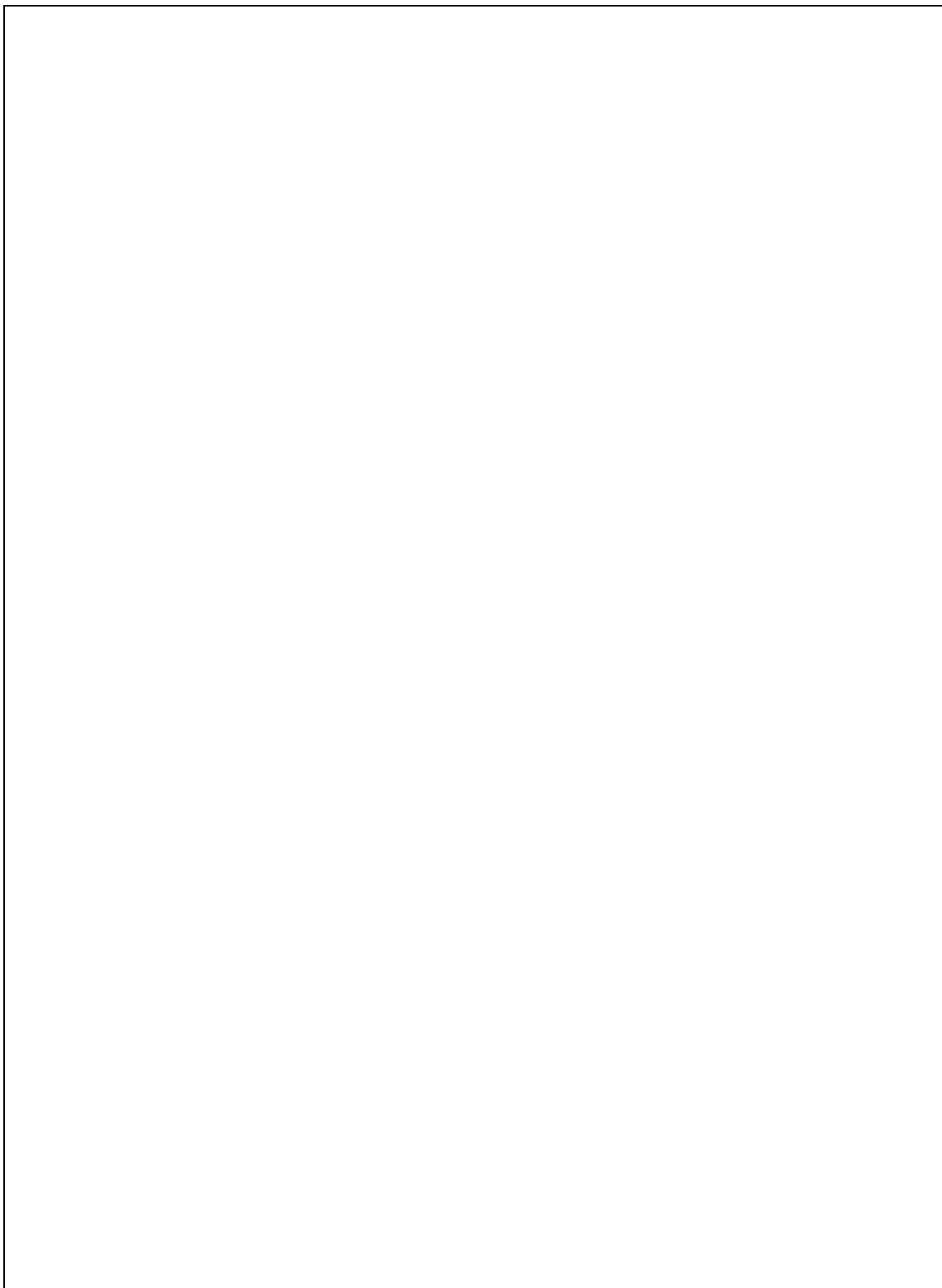
ANEXO A – Tabelas de Referências de Valores da EMI

Vou tentar imprimir em maior tamanho do artigo original, assim seria melhor

deixar 3 páginas em branco







ANEXO B – Parecer ético