



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Luís Felipe Rodrigues dos Santos Carvalho Romano

ANÁLISE DAS SUBCAMADAS DA PAREDE CAROTÍDEA, PARÂMETROS
ECOCARDIOGRÁFICOS E RISCO CARDIOVASCULAR EM PACIENTES
HIPERTENSOS

CAMPINAS
2021

Luís Felipe Rodrigues dos Santos Carvalho Romano

*ANÁLISE DAS SUBCAMADAS DA PAREDE CAROTÍDEA, PARÂMETROS
ECOCARDIOGRÁFICOS E RISCO CARDIOVASCULAR EM PACIENTES
HIPERTENSOS*

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor
em Ciências na área de Clínica Médica

ORIENTADOR: Prof. Dr. Wilson Nadruz Junior

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO
ALUNO LUÍS FELIPE RODRIGUES DOS SANTOS CARVALHO ROMANO, E
ORIENTADA PELO PROF. DR. WILSON NADRUZ JUNIOR

CAMPINAS
2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

C253a Carvalho-Romano, Luis Felipe Rodrigues dos Santos, 1985-
Análise das subcamadas da parede carotídea, parâmetros
ecocardiográficos e risco cardiovascular em pacientes hipertensos / Luis Felipe
Rodrigues dos Santos Carvalho Romano. - Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Wilson Nadruz J unior.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Espessura íntima-média carotídea. 2. Aterosclerose. 3. Hipertensão. 4.
Ultrassom. I. Nadruz J unior, Wilson, 1973-. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Analysis of carotid wall sublayers, echocardiographic parameters
and cardiovascular risk in hypertensive patients

Palavras-chave em inglês:

Carotid intima-media thickness

Atherosclerosis

Hypertension

Ultrasonics

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Wilson Nadruz J unior [Orientador]

Otávio Rizzi Coelho

Celso Dario Ramos

Leonardo Antonio Mamede Zornoff

Thiago de Souza Veiga Jardim

Data de defesa: 02-07-2021

Programa de Pós-Graduação: Clínica Médica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-0760-5438>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/6867640975067012>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

**NOME DO ALUNO - LUÍS FELIPE RODRIGUES DOS SANTOS
CARVALHO ROMANO**

ORIENTADOR: PROF. DR. WILSON NADRUZ JUNIOR

MEMBROS TITULARES:

1. PROF. DR. WILSON NADRUZ JUNIOR

2. PROF. DR. OTÁVIO RIZZI COELHO

3. PROF. DR. CELSO DARIO RAMOS

4. PROF. DR. LEONARDO ANTONIO MAMEDE ZORNOFF

5. PROF. DR. THIAGO DE SOUZA VEIGA JARDIM

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

**Data de Defesa:
02/07/2021**

DEDICATÓRIA

Inicialmente, dedico esta tese a Deus, por me permitir existir e desfrutar de toda a saúde e amor divinos.

Dedico à minha esposa e minha filha Júlia (que está contando os dias para nascer), por todo o amor e carinho, companheirismo e paciência, sem os quais não seria possível trilhar esse caminho e atingir o tão esperado objetivo!

Aos meus pais e minha irmã, por todo o suporte, amor e dedicação à nossa família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os amigos do Ambulatório de Hipertensão Arterial do Hospital das Clínicas da Unicamp por toda a ajuda e parceria.

Um agradecimento especial ao Professor Wilson Nadruz Junior, um exemplo de médico e pessoa nesta jornada tão especial.

RESUMO

A medida da espessura do complexo íntima-média da parede carotídea (EIM) através da ultrassonografia é uma das maneiras de estratificação do risco cardiovascular da população em geral, e tem sido considerada uma medida de aterosclerose subclínica. Entretanto, a medida isolada da EIM não consegue discriminar se um possível aumento do seu valor se deva ao aumento da espessura da camada média (que pode ser atribuída à proliferação de células musculares lisas e não à aterosclerose *per se*) e/ou ao aumento da espessura da camada íntima (que geralmente é secundária ao processo aterosclerótico). Neste trabalho, mensuramos individualmente a espessura das subcamadas da parede carotídea por meio de ultrassonografia de alta resolução e correlacionamos estas medidas com a presença de placas de ateroma carotídeo e com parâmetros ecocardiográficos estruturais e funcionais em 186 pacientes hipertensos acompanhados no ambulatório de hipertensão arterial do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Verificamos que espessura da subcamada íntima é um forte marcador com relevante poder discriminatório para a presença de placas de ateroma. O aumento da espessura da íntima esteve correlacionada ainda com pior função sistólica do ventrículo esquerdo (piores valores de Strain Longitudinal Global). Por sua vez, o aumento da espessura da subcamada média esteve relacionada com maiores valores de relação E/e' , denotando pior função diastólica do ventrículo esquerdo. As subcamadas íntima e média e a EIM apresentaram relação similar e apenas modesta com a presença de hipertrofia ventricular esquerda (HVE).

Palavras-chave: Espessura íntima-média carotídea; aterosclerose; hipertensão; ultrassom; ecocardiografia; disfunção ventricular esquerda

ABSTRACT

Measuring the thickness of the intima-media complex of the carotid wall (IMT) using ultrasound is one of the ways of stratifying the cardiovascular risk of the general population, and it's considered a marker of subclinical atherosclerosis. However, the isolated measure of IMT cannot discriminate if a possible increase in its value is due to the increase in the thickness of the middle layer (which can be attributed to the proliferation of the smooth muscle cells and not to atherosclerosis per se) and / or the increase in the thickness of the intima layer (which is usually secondary to the atherosclerotic process). In this work, we individually measured the thickness of the carotid wall sublayers using high-resolution ultrasound and correlated these measurements with the presence of carotid atherosclerotic plaques and with structural and functional echocardiographic parameters in 186 hypertensive patients followed at Hypertension Section of UNICAMP Clinical Hospital. We verified that the thickness of the intima sublayer is a strong marker with relevant discriminatory power for the presence of atheroma plaques. The increase in the thickness of the intima was correlated with even worse left ventricular systolic function (worse values of Global Longitudinal Strain). In turn, the increase in the thickness of the middle sublayer was related to higher values of E/e 'ratio, denoting a worse diastolic function of the left ventricle. The intima and media sublayers and the IMT showed a similar and only modest relationship with the presence of left ventricular hypertrophy (LVH).

Keywords: Carotid intima-media thickness; atherosclerosis; hypertension; ultrasound; echocardiography; left ventricular dysfunction

LISTA DE ABREVIATURAS

Elc - Espessura da camada íntima carotídea

EIMc - Espessura íntima-média carotídea

EMc - Espessura da camada média carotídea

SUMÁRIO

Introdução.....11

Objetivos.....22

Métodos.....23

Resultados.....28

Discussão.....33

Conclusões.....38

Referências bibliográficas.....39

Anexos.....50

INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular aterosclerótica constitui a principal causa de morte no Brasil e no mundo (1, 2). Dados obtidos pela Organização Mundial de Saúde em 2015 indicavam que pelo menos 15 milhões de pessoas morrem anualmente em decorrência de doenças cardiovasculares (2). Portanto, a identificação de marcadores de risco e potenciais alvos terapêuticos para prevenção da doença cardiovascular representa uma prioridade em escala mundial e, em particular, no nosso país, onde mais de 30% de todas as mortes se devem a doenças cardiovasculares (1).

A aterosclerose é uma doença inflamatória caracterizada pelo acúmulo de lipídeos e células inflamatórias dentro das paredes de artérias de médio e grande calibre (3, 4). Diversos fatores de risco adquiridos podem levar ao desenvolvimento da doença cardiovascular aterosclerótica, dentre os quais destacam-se: a hipertensão arterial, o diabetes mellitus, a obesidade, a hipercolesterolemia e o tabagismo (5, 6, 7). Nas últimas décadas, tem-se observado um aumento expressivo da prevalência dos fatores de risco cardiovascular no Brasil e no mundo, o que tem sido apontado como o grande responsável pelo aumento concomitante de eventos cardiovasculares (1, 2, 6). Porém, nem todos os indivíduos portadores de fatores de risco cardiovascular desenvolvem carga aterosclerótica significativa ou eventos cardiovasculares. Tais fatos levam à necessidade de entendimento dos mecanismos envolvidos na aterogênese, assim como de desenvolvimento de métodos complementares que permitam estratificar o risco cardiovascular de maneira mais acurada.

Espessura íntima-média carotídea

Indivíduos com aterosclerose subclínica devem ser preferencialmente identificados em um estágio inicial, de modo que medidas preventivas possam ser iniciadas (8). O desenvolvimento de

aterosclerose ocorre durante décadas, e tem-se considerado que um dos primeiros estágios detectáveis de aterosclerose é o espessamento da parede arterial (9). Em 1986, Pignoli e colaboradores descreveram os primeiros resultados de um estudo que investigou a espessura da parede arterial utilizando ultrassonografia bidimensional (modo-B) em tempo real (10). Naquele estudo, a distância entre 2 linhas ecogênicas paralelas mostrou boa correlação com a espessura íntima-média aferida ao exame patológico. Subsequentemente, diversos laboratórios validaram o uso do ultrassom para avaliar a espessura íntima-média e demonstraram que esta medida ultrassonográfica é altamente reprodutível (11).

Vários estudos transversais demonstraram associações entre a espessura íntima-média da artéria carótida comum (EIMc) e fatores de risco cardiovascular, como hipertensão arterial, tabagismo, hipercolesterolemia, diabetes e obesidade (12, 13, 14). De maneira similar, aumentos na EIMc se associam com a presença de doença cardiovascular aterosclerótica e com alterações na estrutura e função cardíacas (11, 15). Além disto, a EIMc é um preditor de doença aterosclerótica coronária e de eventos coronários e cerebrovasculares (9, 11). Estima-se que cada aumento de 0,1mm na EIMc se associa com aumentos de 15% e 17% no risco de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, respectivamente (9). Com base nestes dados e por causa do fácil acesso anatômico, relativo baixo-custo, reprodutibilidade e rapidez do exame, a EIMc avaliada por ultrassonografia bidimensional é o exame não invasivo mais utilizado como medida de aterosclerose subclínica em estudos científicos e na prática clínica, servindo inclusive como desfecho em ensaios clínicos (9, 16, 17, 18, 19).

Apesar das evidências apontadas acima, é possível que a EIMc não seja de fato uma medida direta de aterosclerose subclínica. A aterosclerose é uma doença inflamatória que se desenvolve particularmente na camada íntima arterial (3, 4). Em concordância com esta ideia, estudos de anatomia patológica realizados na última década demonstraram que o espessamento da camada íntima arterial

é a primeira manifestação de aterosclerose a ser detectada macroscopicamente (20, 21). Entretanto, a análise da EIMc compreende não apenas a espessura da camada íntima (Elc), como também a espessura da camada média (EMc). Consequentemente, a EIMc não é capaz de discriminar entre um aumento da espessura da parede arterial causada por uma hipertrofia da camada média ou por doença aterosclerótica *per se*. Esta limitação parece ser especialmente relevante em situações onde se espera um aumento mais proeminente da camada média, resultante da hipertrofia/hiperplasia de células musculares lisas, como por exemplo na hipertensão arterial (22). Outras evidências indiretas também parecem dar suporte à ideia que a EIMc não seja um marcador específico de aterosclerose. Resultados de meta-análises indicam que a EIMc não acrescenta valor preditivo significativo para a incidência de eventos cardiovasculares quando adicionada a escores de risco cardiovascular (9, 23). Além disto, menos de 40% da variabilidade da EIMc é explicada por fatores de risco tradicionais, sugerindo que fatores alternativos devem exercer um papel relevante no desenvolvimento deste fenótipo vascular (24, 25, 26).

O fato de que a EIMc talvez não seja a medida mais acurada de carga aterosclerótica tem levado à busca de marcadores ultrassonográficos alternativos de aterosclerose. Dentre estes marcadores, destacam-se as placas ateroscleróticas, as quais são definidas como uma EIMc de 1,5mm ou a presença de uma estrutura focal com 0,5mm ou 50% maior espessura em relação à EIMc adjacente (21). A presença de placas carotídeas mostra melhor associação com fatores de risco cardiovascular e parece ter melhor valor preditivo para o desenvolvimento de eventos cardiovasculares quando comparados com a EIMc (22, 26). Entretanto, não é infrequente observar a ausência de placas carotídeas em indivíduos portadores de doença arterial coronária (27), sugerindo que a avaliação exclusiva de placas pode não ter boa sensibilidade para detectar indivíduos sob maior risco cardiovascular. Além disto, por ser um fenótipo que se revela por meio de aumentos mais expressivos da

EIMc, as placas carotídeas tendem a ser uma manifestação mais tardia de aterosclerose, o que pode limitar seu papel na detecção precoce da doença aterosclerótica. Com base nas limitações da EIMc e placas carotídeas em avaliar a carga aterosclerótica, e no fato de que o espessamento da camada íntima arterial seja considerado a primeira manifestação de aterosclerose a ser detectada macroscopicamente (20, 21), pode-se especular que a mensuração da EIMc seja uma medida específica e mais precoce para se estimar a carga aterosclerótica. Contudo, é possível identificar e quantificar a espessura da camada íntima arterial carotídea de maneira rápida, reprodutível, não-invasiva e de relativo baixo-custo?

Separação e quantificação das subcamadas carotídeas

A incapacidade de os exames ultrassonográficos convencionais discriminarem as camadas íntima e média se deve principalmente às características do transdutor vascular utilizado para medir a artéria carótida. A avaliação carotídea bidimensional convencional utiliza transdutores vasculares com frequências em torno de 8 MHz, que permitem identificar as 2 interfaces arteriais (lúmen-íntima e média-adventícia), mas não são capazes de identificar adequadamente a interface entre as camadas íntima e média (Figura 1A). Para superar esta limitação, nosso grupo de pesquisa, o qual tem grande experiência em estudos analisando a EIMc por ultrassonografia convencional em diversas situações clínicas (28, 29, 30, 31), dedicou-se a desenvolver metodologias voltadas para a obtenção de imagens ultrassonográficas carotídeas bidimensionais de alta resolução que permitam a identificação mais precisa da interface entre as camadas íntima e média na prática clínica. Neste contexto, observamos que a análise da parede carotídea utilizando transdutores vasculares de maior frequência (10-14 MHz), que são frequentemente disponíveis na prática clínica, permite a obtenção de imagens acuradas da

estrutura arterial e identificação com boa precisão dos limites das camadas íntima e média (Figura 1B).

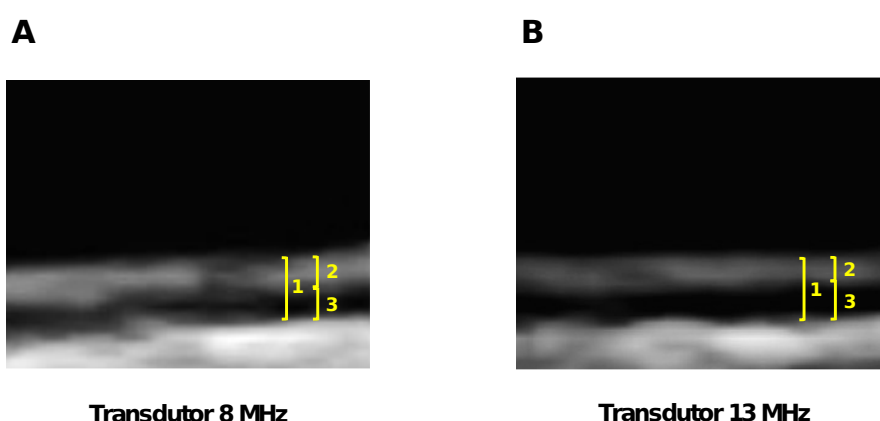


Figura 1. Imagens da Espessura íntima-média [1], Íntima [2] e Média [3] de artéria carótida obtidas por meio de ultrassonografia bidimensional em um paciente masculino de 43 anos, portador de hipercolesterolemia, utilizando transdutor a 8 MHz (A) e a 13 MHz (B). Nota-se uma maior capacidade de se discriminar os limites das camadas Íntima e Média e, particularmente, a interface Íntima-Média com o transdutor com maior frequência.

Utilizando transdutor vascular de maior frequência (10-14 MHz), publicamos previamente um estudo piloto que identificou e mensurou a Elc e a espessura da camada média da artéria carótida comum (EMc) de 41 indivíduos aparentemente saudáveis (27 mulheres e 14 homens), não obesos, com idade média de 63 anos (32). Nesta amostra, evidenciamos que a EIMc é um fenótipo determinado principalmente pela EMc, e não pela Elc, a qual seria toericamente uma medida mais específica de aterosclerose (Figura 2). Não menos importante, observamos que as medidas das camadas foram bastante reprodutíveis. Além disto, a EIMc e a EMc se correlacionaram com a circunferência abdominal, enquanto a Elc se correlacionou com

os níveis séricos de proteína C-Reativa. Como a aterosclerose é uma doença inflamatória (3, 4), estes últimos achados dão suporte adicional à ideia de que o espessamento da camada íntima seja uma medida mais apropriada da carga aterosclerótica. Por outro lado, as associações da EIMc e da Elc com medidas de adiposidade abdominal reforçam a ideia de que a EIMc é uma medida de fenótipo vascular adverso, o que pode contribuir para explicar sua maior associação com eventos cardiovasculares reportadas em estudos epidemiológicos (9).

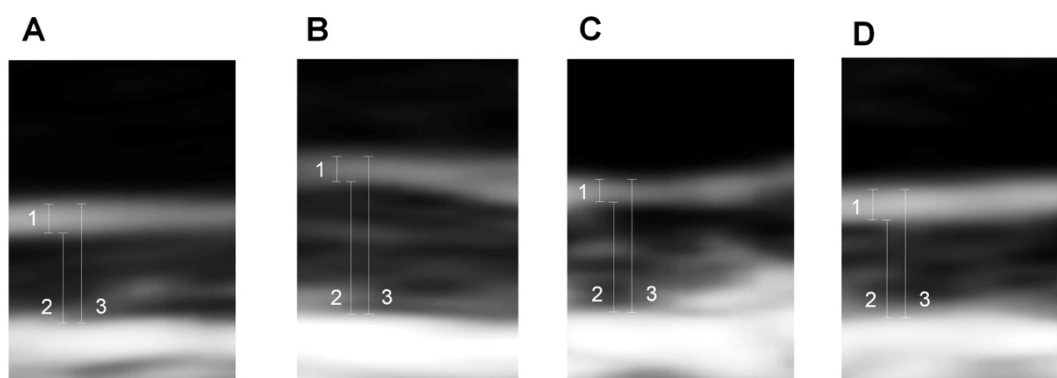


Figura 2. Imagens ilustrativas das camadas íntima [1], média [2] e íntima-média [3] de artéria carótida de 4 indivíduos diferentes. Figura retirada de Sardeli et al, 2017 (32).

Diversas evidências adicionais publicadas por outros grupos de pesquisa também indicam que a medida da Elc seja uma medida mais acurada para avaliação do risco cardiovascular e de aterosclerose do que a EIMc e a Elc. Por exemplo, estudos prévios utilizando transdutores vasculares de altíssima frequência (22-25 MHz), os quais não são habitualmente utilizados na prática clínica, mostraram que a Elc apresenta maior associação com a presença de fatores de risco cardiovascular, doença arterial coronária e história prévia de acidente vascular encefálico (33, 34) do que a EIMc e a

EMc. Contudo, ainda não se sabe se a Elc se relaciona mais fortemente com medidas alternativas de aterosclerose (por exemplo: placas ateroscleróticas) do que a EIMc e a EMc, e se esta associação persiste mesmo após ajuste por fatores de risco cardiovasculares relevantes.

Hipertensão arterial e risco cardiovascular

A hipertensão arterial é uma doença multifatorial que se caracteriza por elevações sustentadas da pressão arterial (35). A elevação sustentada da pressão arterial é um dos principais determinantes de aterosclerose, mas pode levar também a remodelamento não-aterosclerótico das artérias, assim como promover alterações funcionais e/ou funcionais diretas em diversos órgãos-alvo, como o coração, rins, encéfalo e retina (35). De maneira geral, há um aumento linear, contínuo e independente da mortalidade por doença cardiovascular com níveis de pressão arterial acima de 115/75 mmHg (36). Em pacientes portadores de hipertensão, observa-se um aumento de 2 a 3 vezes na prevalência de doença vascular aterosclerótica e de eventos cardiovasculares prévios (35).

Estima-se que um terço da população adulta brasileira seja portadora de hipertensão (37). Por outro lado, a taxa de controle da hipertensão no Brasil é muito baixa e estimativas recentes indicam que menos de 15% dos indivíduos hipertensos atendidos na atenção primária em nosso país encontram-se com os níveis pressóricos controlados (38). Devido a sua alta prevalência, baixa taxa de controle e elevado risco cardiovascular, a hipertensão tem sido reportada como o principal fator de risco populacional para desenvolvimento de doenças cardiovasculares (5, 39).

O aumento do estresse mecânico imposto à parede arterial tem disso apontado como um dos principais mecanismos pelos quais a hipertensão arterial pode estimular a aterosclerose (40, 41). A elevação do estresse hemodinâmico se associa com disfunção endotelial e aumento da permeabilidade de lipoproteínas ao espaço sub-intimal das artérias, culminando com a aterogênese (40, 41).

Contudo, é importante lembrar que a sobrecarga pressórica pode levar não apenas ao desenvolvimento de aterosclerose, como também ao remodelamento não aterosclerótico das paredes arteriais. Em particular, o aumento da tensão circunferencial imposto pela hipertensão é considerado um estímulo potente à hipertrofia da camada média das artérias, que é tipicamente composta por células musculares lisas (41). Este fato é muito importante na prática clínica, pois sabe-se que a hipertensão é um reconhecido fator de risco para o aumento da EIMc (42). Embora evidências prévias indiquem que a EIMc seja principalmente derivada da EMc em hipertensos (33), ainda não está estabelecido qual camada da parede arterial carotídea é o principal determinante de aumento da EIMc em hipertensos. Além disto, não se sabe qual subcamada da parede carotídea apresenta melhor associação com a presença de placas ateroscleróticas, que são consideradas medidas mais específicas da carga aterosclerótica, em indivíduos hipertensos.

A hipertensão frequentemente se acompanha de alterações na estrutura e função do ventrículo esquerdo, as quais refletem fenômenos como a hipertrofia dos miócitos cardíacos e fibrose intersticial (43). A elevação sustentada da pressão arterial leva a um aumento da tensão parietal no ventrículo esquerdo, o que pode provocar uma resposta compensatória caracterizada por aumento da massa ventricular, que é definida como hipertrofia ventricular esquerda (43). Embora seja considerada compensatória à sobrecarga pressórica, a hipertrofia ventricular esquerda constitui um fator de risco para maior morbi-mortalidade cardiovascular, predispondo ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca, arritmias e fenômenos isquêmicos cardíacos mais extensos (43, 44). De maneira geral, estima-se que o risco médio de morbidade cardiovascular é cerca de 2,3 vezes maior em portadores de hipertrofia ventricular esquerda (45). Por outro lado, é interessante observar que os aumentos da massa ventricular esquerda e da EMc relacionados à hipertensão têm como possível mecanismo comum o aumento da tensão parietal imposta pela sobrecarga pressórica. Assim é plausível hipotetizar que

pode haver uma relação entre a massa ventricular esquerda e Elc nos indivíduos hipertensos. Contudo, esta hipótese ainda não foi testada até o momento.

A hipertensão também pode levar a alterações funcionais cardíacas, que envolvem reduções tanto da função sistólica quanto da função diastólica do ventrículo esquerdo (35). A função sistólica é geralmente avaliada na prática clínica por meio da fração de ejeção do ventrículo esquerdo estimada por ecocardiografia. Contudo, esta medida não costuma detectar alterações sistólicas mais sutis ou subclínicas. Neste contexto, a avaliação do *strain* longitudinal do ventrículo esquerdo por ecocardiografia tem emergido como uma medida mais sensível da função sistólica cardíaca do que a fração de ejeção e parece adicionar valor prognóstico (46, 47).

O *strain* miocárdico se refere à mudança de comprimento de um segmento do miocárdio em relação ao seu comprimento original. A avaliação do *strain* miocárdico pela técnica de *speckle tracking* permite um estudo da deformação miocárdica independente do ângulo, utilizando algoritmos automáticos para analisar variações temporais na movimentação de marcadores acústicos (*speckles*) nos planos longitudinal, circunferencial e radial. O endocardio é a principal camada que contribui para o *strain* longitudinal (47). Vários trabalhos envolvendo a avaliação do *strain* miocárdico pela técnica de *speckle tracking* demonstraram que muitos pacientes em diversas situações clínicas apresentavam disfunção sistólica longitudinal do ventrículo esquerdo apesar de uma fração de ejeção preservada (48). Indivíduos hipertensos apresentam valores menores de *strain* longitudinal do ventrículo esquerdo quando comparados a normotensos (49), mesmo quando ambos os grupos apresentam fração de ejeção preservada (48). Na Figura 3, ilustramos uma representação do *strain* longitudinal do ventrículo esquerdo de um paciente hipertenso, com hipertrofia ventricular esquerda de grau leve e disfunção sistólica subclínica do ventrículo esquerdo diagnosticada apenas com a avaliação do *strain* longitudinal do ventrículo esquerdo (com fração de ejeção preservada).

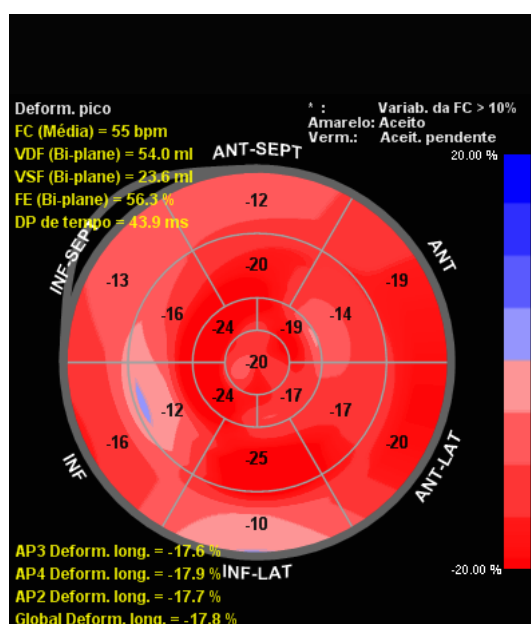


Figura 3. Representação do *strain* longitudinal do ventrículo esquerdo em uma paciente hipertensa, com fração de ejeção normal e disfunção sistólica subclínica do ventrículo esquerdo (*Strain* Longitudinal Global do ventrículo esquerdo de -17,8%) diagnosticada apenas pela avaliação do *strain*.

Além de avaliar a função sistólica, a ecocardiografia também permite a avaliação da função diastólica, especialmente por meio do uso do Doppler tecidual (50). Neste contexto, a medida da razão E/e' tem sido muito utilizada na prática clínica como uma medida de função diastólica, sendo que valores elevados da razão E/e' têm se mostrado como um preditor independente de eventos cardiovasculares adversos em pacientes hipertensos (50).

Estudos prévios mostraram que valores aumentados de EIMc se associam com pior função sistólica cardíaca, avaliada por *strain* longitudinal, e pior função diastólica, avaliada pela razão E/e' (51). Contudo, os mecanismos que medeiam estas associações ainda não estão estabelecidos. Em particular, não se sabe quais as camadas da parede carotídea que se associam com pior função ventricular esquerda. A obtenção destas informações pode ser útil para ampliar o entendimento das interações entre as lesões vasculares e cardíacas em hipertensos.

HIPÓTESES

- A EMc é o principal determinante da EIMc em indivíduos hipertensos
- A Elc se associa mais fortemente com a presença de placas ateroscleróticas carotídeas do que a EMc e a EIMc em indivíduos hipertensos
- A EMc se associa mais fortemente com a presença de hipertrofia ventricular esquerda do que a Elc em indivíduos hipertensos
- As subcamadas carotídeas apresentam associações distintas com medidas de função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo em indivíduos hipertensos.

OBJETIVOS

- 1) Correlacionar a Elc, a EMc e a EIMc com a presença de placas ateroscleróticas carotídeas e hipertrofia ventricular esquerda em pacientes hipertensos.
- 2) Correlacionar a Elc, a EMc e a EIMc com medidas de função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo em pacientes hipertensos.

MÉTODOS

Seleção da amostra

Foram selecionados 186 pacientes hipertensos consecutivamente atendidos no Ambulatório de Hipertensão Arterial do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas. Foram excluídos indivíduos com: 1) idade menor que 18 anos; 2) demência avançada ou com qualquer condição psiquiátrica ou mental que limitasse a coleta de informações; 3) cardiomiopatia hipertrófica; e 4) valvopatia moderada ou grave. Todos os participantes foram avaliados clínica e laboratorialmente e foram submetidos à avaliação carotídea por meio de ultrassonografia e à avaliação cardíaca por meio de ecocardiografia. As avaliações clínicas, carotídeas e ecocardiográficas foram feitas nesta sequência, em um único dia. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP, sob o número C.A.A.E. 56841616.5.0000.5404. Todos os participantes incluídos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido da pesquisa.

Análise clínica e laboratorial

A pressão arterial foi aferida no braço imediatamente antes da avaliação carotídea, com o paciente em posição supina, utilizando um aparelho oscilométrico HEM-7113 device (Omron Corp., Kyoto, Japão), com manguito apropriado, de acordo com a circunferência do braço. Duas medidas de pressão arterial foram feitas e seu valor médio foi considerado nas análises. Contudo, caso as duas medidas diferissem em mais de 5 mmHg, uma medida adicional era feita e a média das 3 medidas foi considerada nas análises. Foram feitas medidas de peso e altura e o índice de massa corpórea foi calculado como peso dividido por altura elevada ao quadrado (kg/m^2). Amostras de sangue foram obtidas em jejum e dosagens plasmáticas de glicose, creatinina, triglicérides, colesterol-LDL, colesterol-HDL e hemoglobina glicada foram feitas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de

Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, utilizando as técnicas padronizadas pelo serviço.

A hipertensão arterial foi definida como pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg aferida previamente na posição supina em 2 ou mais ocasiões ou caso o paciente estivesse em uso de medicação anti-hipertensiva. Diabetes mellitus foi definida como glicose em jejum ≥ 126 mg/dL ou hemoglobina glicada ≥ 6.5 g/dL ou caso o paciente estivesse em uso de medicação anti-diabética. Hipercolesterolemia foi definida como colesterol-LDL > 130 mg/dL ou uso de medicações redutoras dos níveis de colesterol. A presença de doença arterial coronária foi definida quando houvesse isquemia cardíaca evidenciada por exames complementares (cintilografia miocárdica, ecocardiograma de estresse ou teste ergométrico) ou documentação prévia de síndrome coronariana aguda, infarto do miocárdio e intervenções coronárias. Informações quanto a tabagismo, história prévia de acidente vascular encefálico e medicações em uso foram também coletadas.

Ultrassom carotídeo

O estudo ultrassonográfico das artérias carotídeas foi realizado com o aparelho *Vivid Q* da *General Electrics* (Milwaukee, Wisconsin, EUA) utilizando transdutor linear (12L-RS; 6-13MHz) com frequência a 10MHz, conforme previamente descrito (32), após avaliação clínica dos pacientes. Imagens de alta resolução das artérias carótidas comuns esquerda e direita a 2 cm do bulbo carotídeo foram obtidas de cada participante pelo Dr. Luís Carvalho-Romano, o qual não sabia as características clínicas dos indivíduos estudados. As imagens foram obtidas de acordo com as recomendações atuais da Sociedade Europeia de Cardiologia (52), usando o “preset” padrão do software do aparelho ultrassonográfico. Os parâmetros de ganho das imagens foram otimizados com o objetivo de permitir uma distinção nítida entre as subcamadas da parede carotídea. Para cada imagem carotídea, foram feitas 5 medidas manuais da Elc, EMc e EIMc na

parede arterial oposta à sonda (*far wall*) em áreas livres de placas, utilizando o software ImageJ (NIH, Maryland, EUA). A média de 10 medidas (5 da carótida esquerda e 5 da carótida direita) foi utilizada para calcular a espessura das camadas estudadas para cada participante (52). As placas carotídeas foram definidas como EIMc $\geq$ 1,5 mm ou espessamento focal da parede invadindo o lúmen arterial por pelo menos 0,5 mm ou 50%. No que concerne a Elc, EMc e EIMc, a variabilidade intra-observador foi de 2,4%, 1,9% e 1,2%, respectivamente, enquanto a variabilidade inter-observador foi de 2,7%, 4,8% e 3,5%, considerando-se a análise de 20 imagens de 10 participantes. Os diâmetros internos da carótida comum foram mensurados em áreas livres de placas e a tensão circunferencial sistólica foi calculada de acordo com a Lei de Laplace: pressão arterial sistólica * diâmetro sistólico interno / 2 (53, 54). A complacência arterial carotídea foi calculada como: $[(\text{diâmetro sistólico interno} - \text{diâmetro diastólico interno}) / \text{diâmetro diastólico interno}] / (\text{pressão arterial sistólica} - \text{pressão arterial diastólica}) * 1000$, enquanto o índice de rigidez foi calculado como: $[\ln(\text{pressão arterial sistólica} / \text{pressão arterial diastólica})] / [(\text{diâmetro sistólico interno} - \text{diâmetro diastólico interno}) / \text{diâmetro diastólico interno}]$ (53).

Ecocardiografia

O exame ecocardiográfico foi realizado com o aparelho *Vivid Q* da *General Electrics* (Milwaukee, Wisconsin, EUA) utilizando transdutor setorial (3S-RS; 1,5-4,0 MHz) conforme previamente descrito (55, 56), imediatamente após realização dos exames carotídeos. Inicialmente os pacientes foram submetidos a um exame ecocardiográfico bidimensional convencional e através da imagem paraesternal longitudinal, foram obtidas as medidas do septo interventricular, da parede posterior do ventrículo esquerdo e os diâmetros diastólico final e sistólico final do ventrículo esquerdo. Nas imagens apicais, foram obtidas as medidas do volume diastólico final e sistólico final do ventrículo esquerdo, cálculo da fração de ejeção do ventrículo esquerdo pelo método de Simpson, fluxos mitral e aórtico,

doppler tecidual dos anéis lateral e septal da valva mitral, bem como doppler tecidual do anel lateral da valva tricúspide. Na sequência, foram obtidos vídeos de 3 ciclos cardíacos consecutivos nas janelas apical 4 câmaras, apical 2 câmaras e apical 3 câmaras para análise do *strain* longitudinal do ventrículo esquerdo pela técnica do *speckle tracking*. O desenho das bordas endocárdicas foi realizado de maneira automática, com pequenos ajustes pelo examinador quando se mostrar necessário. A massa ventricular esquerda indexada foi calculada como a massa ventricular esquerda dividida pela superfície corpórea e a hipertrofia ventricular esquerda foi definida como massa ventricular esquerda indexada $> 95 \text{ g/m}^2$ e $> 115 \text{ g/m}^2$ em mulheres e homens, respectivamente (57). A espessura relativa do ventrículo esquerdo foi calculada como: $2 * \text{parede posterior} / \text{diâmetro diastólico final}$. As variabilidades intra-observador e inter-observador para a massa ventricular esquerda foram de 3,1% e 4,7%, respectivamente, considerando-se a análise de imagens de 20 participantes.

Análise estatística

As variáveis contínuas com distribuição normal e não-normal foram apresentadas como média $\pm$ desvio padrão e mediana [percentil 25, percentil 75]. Em um conjunto de análises, a amostra foi dividida de acordo com a presença de hipertrofia ventricular esquerda ou de placas carotídeas, e as diferenças entre os grupos foram avaliadas por meio de teste-t de Student não pareado para variáveis contínuas com distribuição normal, teste de Mann-Whitney para variáveis sem distribuição normal e teste de qui-quadrado para variáveis categóricas. Correlações univariadas foram realizadas usando o método de Pearson para variáveis com distribuição normal ou método de Spearman quando variáveis com distribuição não-normal foram incluídas. Análises de regressão linear e logística avaliaram a relação entre a tensão circunferencial sistólica e espessuras da parede carotídea ajustando por idade, sexo e variáveis clínicas que mostraram correlação significativa com tensão

circunferencial sistólica. Modelos de regressão logística multivariada entre espessuras da parede carotídea e placas carotídeas ou hipertrofia ventricular esquerda foram construídos ajustando por idade, sexo e variáveis clínicas que foram estatisticamente diferentes entre os grupos estudados e foram adicionalmente avaliados por critério de informação de Akaike e teste de *log-likelihood*. As áreas sob a curva ROC (*receiver operating characteristic*) para Elc, EMc e EIMc identificando a presença de placas carotídeas ou hipertrofia ventricular esquerda foram calculadas. A partir das curvas ROC, os pontos de corte de Elc, EMc e EIMc com maior sensibilidade e especificidade para identificar a presença de placas carotídeas foram identificados. Além disto, análises de regressão linear univariadas e multivariadas ajustada por sexo, idade, pressão arterial sistólica, índice de massa corpórea, diabetes mellitus, tabagismo, hipercolesterolemia, presença de doença arterial coronária, massa ventricular esquerda indexada, espessura relativa do ventrículo esquerdo e complacência arterial carotídea (ou índice de rigidez carotídea) avaliaram a relação entre as espessuras da parede carotídea e marcadores ecocardiográficos de função cardíaca. A significância estatística foi considerada quando $p < 0,05$. As análises foram feitas por meio do pacote estatístico STATA 14.1 (StataCorp, Texas, EUA).

RESULTADOS

Os resultados da presente tese estão divididos em 2 artigos, mostrados a seguir:

Artigo 1: *"Association of carotid wall layers with atherosclerotic plaques and cardiac hypertrophy in hypertensive subjects"*, publicado no Journal of Human Hypertension.

J Hum Hypertens. 2021 Jun 15. doi: 10.1038/s41371-021-00565-w. Epub ahead of print. PMID: 34131263.

Artigo 2: *"Association of left ventricular strain and E/e' ratio with carotid wall layers"*, publicado no periódico Atherosclerosis. 2020 Oct;310:109-110. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.08.008.

ARTIGO 1

ARTICLE



Association of carotid wall layers with atherosclerotic plaques and cardiac hypertrophy in hypertensive subjects

Luís F.R.S. Carvalho-Romano¹, Rafael P. Bonafé¹, Layde R. Paim¹, Edmilson R. Marques¹, Camila F. L. Vegian¹, José A. Pio-Magalhães¹, Daniel S. S. Mello¹, Guilherme de Rossi¹, Otavio R. Coelho-Filho¹, Roberto Schreiber¹, Andrei C. Sposito¹, José R. Matos-Souza¹ and Wilson Nadruz Jr¹ 

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2021

O texto completo do Artigo 1 encontra-se no anexo 1.

ARTIGO 2

Atherosclerosis 310 (2020) 109–110



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Atherosclerosis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/atherosclerosis



Correspondence

Association of left ventricular strain and E/e' ratio with carotid wall layers



ARTICLE INFO

Keywords

Intima-media thickness
Intima layer
Media layer
Strain
Tissue Doppler
Echocardiography
Ultrasound

O texto completo do Artigo 2 encontra-se no anexo 2.

DISCUSSÃO

Nosso trabalho teve como primeiro objetivo a avaliação da relação entre a espessura das subcamadas da parede arterial carotídea e a presença de placas de ateroma e hipertrofia ventricular esquerda. Verificamos que a Elc teve uma associação mais forte e um maior poder discriminatório para identificar placas de ateroma do que a EMc ou EIMc, independente de fatores confundidores. Além disto, observamos que as espessuras das subcamadas carotídeas apresentaram uma correlação apenas modesta com a presença de hipertrofia ventricular esquerda e um baixo poder discriminatório para identificá-la. Em geral, estes dados sugerem que a Elc é um marcador mais acurado de aterosclerose do que EMc e EIMc, e também indicam que a avaliação de Elc e EMc não acrescenta valor adicional para a identificação de hipertrofia ventricular esquerda quando comparado à EIMc.

A medida da EIMc é considerada uma ferramenta simples e útil na detecção de aterosclerose subclínica e tem sido amplamente utilizada na avaliação do risco cardiovascular (9). Entretanto, vários estudos sugerem que essa medida não é um marcador específico de aterosclerose (9, 58), resultando em uma limitação da recomendação de seu uso rotineiro na estratificação do risco cardiovascular pelas diretrizes atuais (59). Em nosso estudo, encontramos que, em comparação com a EIMc, a Elc teve uma associação mais robusta e uma maior habilidade de identificar a presença de placas carotídeas, que é considerada um fenótipo específico de aterosclerose (60, 61). Além disso, verificamos que a EMc foi o principal componente da EIMc, mas não apresentou associação independente com a presença de placas. Estes achados podem ter implicações clínicas. Inicialmente, eles indicam que a Elc é um marcador de risco mais acurado que a EIMc. Como nossa análise foi ajustada por potenciais fatores confundidores, a forte associação entre a Elc e a presença de placas não parece ser explicada por variáveis cardiovasculares

alternativas. Além disso, nossos dados fornecem uma explicação para a baixa habilidade da EIM em prever desfechos cardiovasculares quando ajustado para os escores de risco clínicos (9, 58, 61), já que a EIMc não esteve associada de maneira independente com a presença de placas. Levando em consideração que o espessamento da camada íntima geralmente precede o desenvolvimento de placas (61, 62), podemos então levantar a hipótese de que aumento da EIMc teria o potencial de representar um marcador precoce de aterosclerose. Entretanto, estudos futuros são necessários para avaliar essa hipótese, assim como comparar a acurácia da EIMc, EIMc e a presença de placas em prever eventos cardiovasculares.

A metodologia da realização e mensuração das subcamadas carotídeas pelo ultrassom utilizada neste estudo apresenta algumas diferenças em comparação a métodos alternativos de ultrassom para discriminar as subcamadas carotídeas reportados em outros estudos em humanos (33, 34). Nosso protocolo avaliou a parede posterior da carótida comum, a qual é menos susceptível a erros de medida pelo ultrassom do que a parede anterior da carótida, e utilizou um transdutor linear configurado em uma frequência facilmente disponível e já utilizada atualmente no contexto clínico (10MHz). Por outro lado, estudos anteriores avaliaram as subcamadas da parede carotídea através da imagem de sua parede anterior (33, 34), e todos eles utilizaram transdutores específicos ajustados em uma frequência mais alta (22MHz-25MHz) (33, 34) que são menos disponíveis na prática clínica. É importante salientar também que os valores de espessura da EIMc encontrados em toda nossa amostra e no grupo de pacientes com placas de ateroma tenderam a ser similares àqueles obtidos em pacientes hipertensos ou em indivíduos com acidente vascular encefálico prévio, nos quais a espessura das subcamadas carotídeas foi avaliada com transdutores com frequência entre 22MHz-25MHz (33, 34). Estes dados destacam a aplicabilidade potencial do nosso protocolo de ultrassom de carótidas em mensurar as subcamadas da parede carotídea na prática clínica.

Um mecanismo hemodinâmico relevante pelo qual se supõe que a hipertensão induza o remodelamento vascular e aterosclerose é o aumento da tensão parietal local (54, 63). De acordo com esta hipótese, confirmamos que aumentos da tensão parietal carotídea esteve correlacionada com placas e EIMc. A sobrecarga hemodinâmica induzida pela hipertensão também pode estar envolvida no estímulo da hipertrofia preferencialmente da subcamada média carotídea (64), o que poderia eventualmente justificar a maior EMc em comparação à Elc nos pacientes hipertensos. Em nossa análise, a tensão parietal carotídea esteve diretamente relacionada tanto à Elc quanto à EMc na mesma magnitude, o que corrobora os dados obtidos em modelos experimentais (65), e sugere que a sobrecarga hemodinâmica induzida pela hipertensão pode ser igualmente importante tanto para o remodelamento da subcamada média arterial como para a aterogênese. Por outro lado, os resultados apresentados no nosso estudo e em estudos anteriores demonstrando que a subcamada média é o principal componente da EIMc tanto em indivíduos hipertensos como normotensos (32, 33), reforçam a noção de que a subcamada média é constitutivamente maior que a subcamada íntima independente de variações nas forças hemodinâmicas locais.

A nossa análise confirmou que a EIM esteve mais relacionada à hipertrofia ventricular esquerda em pacientes hipertensos (66) e na sequência demonstrou que as subcamadas da parede carotídea estiveram individualmente associadas com hipertrofia ventricular esquerda, mesmo que a magnitude da associação da hipertrofia ventricular esquerda com EIMc, Elc e EMc tendeu a ser similar e apenas modesta. A relação direta entre a EMc e massa ventricular esquerda parece corroborar a noção que esses tecidos, que são compostos principalmente por células musculares lisas, podem sofrer remodelamento paralelo em resposta à sobrecarga hemodinâmica induzida por hipertensão (67). Por outro lado, não se pode descartar que mecanismos mútuos, incluindo estresse oxidativo e a ação de peptídeos vasoativos e mediadores inflamatórios, possam ter

contribuído tanto para o remodelamento vascular como para o remodelamento miocárdico (41, 43, 68, 69).

Embora tenhamos verificado que tanto a Elc como a EMc estiveram relacionadas à hipertrofia ventricular esquerda, nós também observamos que maiores espessuras da camada íntima estiveram relacionadas com pior função sistólica do ventrículo esquerdo (valores inferiores de *strain* longitudinal global, marcador da função sistólica longitudinal do ventrículo esquerdo), enquanto maiores espessuras da subcamada média estiveram associadas com pior função diastólica em pacientes hipertensos (maiores valores da relação E/e' , importante marcador das pressões de enchimento e da função diastólica do ventrículo esquerdo).

A associação entre o *strain* longitudinal global do ventrículo esquerdo e a Elc levanta a hipótese de que a disfunção sistólica do ventrículo esquerdo está relacionada com maior carga aterosclerótica, o que poderia contribuir para explicar o maior risco de eventos ateroscleróticos encontrado em pessoas com SLG anormais (70). Por outro lado, a associação da relação E/e' com a EMc, e não com a Elc, sugere que mecanismos não relacionados à aterosclerose podem estar envolvidos na relação entre EIMc e disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, e que o remodelamento da subcamada média e a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo compartilham mecanismos subjacentes similares. É importante destacar que as espessuras das subcamadas carotídeas continuaram relacionadas com os parâmetros cardíacos estruturais após ajuste por complacência arterial carotídea e índice de rigidez arterial, o que indica que a diminuição da distensibilidade arterial pelo aumento da espessura parietal pode não ter exercido um papel relevante neste caso.

Este conjunto de evidências indica que a avaliação individual das subcamadas da parede arterial carotídea pode ter um importante potencial de identificar aspectos distintos da disfunção do ventrículo esquerdo induzida pela hipertensão ao invés do dano estrutural

(aumento da massa) do ventrículo esquerdo induzida pela hipertensão.

Este trabalho apresenta algumas limitações. Primeiro, por ser um estudo transversal, fatores de confusão residuais não podem ser excluídos e as associações relatadas podem não ser consideradas casuais. Segundo, nós avaliamos uma amostra de pacientes hipertensos seguidos em um hospital terciário com alto índice de lesão de órgão-alvo, o que poderia limitar o poder de generalização dos nossos resultados em outras populações. Terceiro, o uso de medicações anti-hipertensivas e estatinas poderia ter influenciado as associações das subcamadas carotídeas com a presença de placas e hipertrofia ventricular esquerda. Entretanto, nós tentamos superar essa limitação potencial ao ajustar as análises por medicações que mostraram diferenças significativas na prevalência de uso entre os grupos estudados.

CONCLUSÕES

Nosso estudo demonstrou que a Elc íntima é um marcador mais acurado de aterosclerose que a EMc ou a EIMc em hipertensos, embora a EMc seja o principal determinante da EIMc nesta população. Verificamos ainda que aumentos da Elc se relacionaram com pior função sistólica do ventrículo esquerdo avaliada pelo *strain* global longitudinal, enquanto aumentos da EMc se associaram com maior relação E/e', denotando pior função diastólica do ventrículo esquerdo. Por outro lado, nossos dados indicaram também que ambas Elc e EMc não forneceram valor incremental em identificar pacientes com hipertrofia ventricular esquerda quando comparadas com a EIMc. Estudos futuros são necessários para comparar o valor prognóstico da EIC, EMc e EIMc em predizer eventos cardiovasculares futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Ribeiro AL, Duncan BB, Brant LC, Lotufo PA, Mill JG, Barreto SM. Cardiovascular Health in Brazil: Trends and Perspectives. *Circulation*. 2016;133:422-33.
- 2) World Health Organization. The top 10 causes of death. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
- 3) Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
- 4) Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005;352:1685-95.
- 5) Cheng S, Claggett B, Correia AW, Shah AM, Gupta DK, Skali H, Ni H, Rosamond WD, Heiss G, Folsom AR, Coresh J, Solomon SD. Temporal trends in the population attributable risk for cardiovascular disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. 2014;130:820-8.
- 6) Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart disease and stroke statistics — 2017 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2017;135:e146-e603.
- 7) Nadruz W Jr, Claggett B, Henglin M, Shah AM, Skali H, Rosamond WD, Folsom AR, Solomon SD, Cheng S. Racial Disparities in Risks of Stroke. *N Engl J Med*. 2017;376:2089-2090.
- 8) Alsheikh-Ali AA, Kitsios GD, Balk EM, Lau J, Ip S. The vulnerable atherosclerotic plaque: scope of the literature. *Ann Intern Med* 2010;153:387-95.

- 9) van den Oord SC, Sijbrands EJ, ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van der Steen AF, Schinkel AF. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2013;228:1-11.

- 10) 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;74:1399-406.

- 11) Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, Crouse JR 3rd, Friedman L, Fuster V, Herrington DM, Kuller LH, Ridker PM, Roberts WC, Stanford W, Stone N, Swan HJ, Taubert KA, Wexler L. 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.

- 12) Raal F, Panz V, Immelman A, Pilcher G. Elevated PCSK9 levels in untreated patients with heterozygous or homozygous familial hypercholesterolemia and the response to high-dose statin therapy. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000028.

- 13) Qu B, Qu T. Causes of changes in carotid intima-media thickness: a literature review. *Cardiovasc Ultrasound*. 2015;13:46.

- 14) Kianoush S, Yakoob MY, Al-Rifai M, DeFilippis AP, Bittencourt MS, Duncan BB, Bensenor IM, Bhatnagar A, Lotufo PA, Blaha MJ. Associations of Cigarette Smoking With Subclinical Inflammation and Atherosclerosis: ELSA-Brasil (The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health). *J Am Heart Assoc*. 2017;6(6).

- 15) Cuspidi C, Mancia G, Ambrosioni E, Pessina A, Trimarco B, Zanchetti A; APROS Investigators. Left ventricular and carotid

structure in untreated, uncomplicated essential hypertension: results from the Assessment Prognostic Risk Observational Survey (APROS). *J Hum Hypertens*. 2004 Dec;18:891-6.

16) De Groot E, Jukema JW, Montauban van Swijndregt AD, et al. B-mode ultrasound assessment of pravastatin treatment effect on carotid and femoral artery walls and its correlations with coronary arteriographic findings: a report of the Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1561e7.

17) Kastelein JJP, Akdim F, Stroes ESG, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2008;358:1431e43.

18) O'Leary DH, Bots ML. Imaging of atherosclerosis: carotid intima-media thickness. *Eur Heart J* 2010;31:1682e9.

19) Zhang Y, Guallar E, Qiao Y, Wasserman BA. Is carotid intima-media thickness as predictive as other noninvasive techniques for the detection of coronary artery disease? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:1341-5

20) Kolodgie FD, Burke AP, Nakazawa G, Virmani R. Is pathologic intimal thickening the key to understanding early plaque progression in human atherosclerotic disease? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:986-989.

21) Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R. Correlation between carotid intimal/medial thickness and atherosclerosis: a point of view from pathology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:177-81.

22) Spence JD. Carotid Ultrasound Phenotypes Are Biologically Distinct. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35:1910-3.

23) Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, Engström G, Evans GW, de Graaf J, Grobbee DE, Hedblad B, Hofman A, Holewijn S, Ikeda A, Kavousi M, Kitagawa K, Kitamura A, Koffijberg H, Lonn EM, Lorenz MW, Mathiesen EB, Nijpels G, Okazaki S, O'Leary DH, Polak JF, Price JF, Robertson C, Rembold CM, Rosvall M, Rundek T, Salonen JT, Sitzler M, Stehouwer CD, Witteman JC, Moons KG, Bots ML. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. *JAMA*. 2012;308:796-803.

24) O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Savage PJ, Borhani NO, Kittner SJ, Tracy R, Gardin JM, Price TR, Furberg CD. Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *Stroke*. 1996;27:224-231.

25) Santos IS, Alencar AP, Rundek T, Goulart AC, Barreto SM, Pereira AC, Benseñor IM, Lotufo PA. Low Impact of Traditional Risk Factors on Carotid Intima-Media Thickness: The ELSA-Brasil Cohort. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35:2054-9.

26) Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2012;220:128-33.

27) Yerly P, Marquès-Vidal P, Owlya R, Eeckhout E, Kappenberger L, Darioli R, Depairon M. The atherosclerosis burden score (ABS): a convenient ultrasound-based score of peripheral atherosclerosis for coronary artery disease prediction. *J Cardiovasc Transl Res*. 2015;8:138-47.

28) Matos-Souza JR, Pithon KR, Ozahata TM, Gemignani T, Cliquet A Jr, Nadruz W Jr. Carotid intima-media thickness is increased in patients

with spinal cord injury independent of traditional cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*. 2009;202:29-31.

29) Ferreira-Sae MC, Cipolli JA, Cornélio ME, Matos-Souza JR, Fernandes MN, Schreiber R, Costa FO, Franchini KG, Rodrigues RC, Gallani MC, Nadruz W Jr. Sodium intake is associated with carotid artery structure alterations and plasma matrix metalloproteinase-9 upregulation in hypertensive adults. *J Nutr*. 2011;141:877-82.

30) Gemignani T, Azevedo RC, Higa CM, Coelho OR, Matos-Souza JR, Nadruz W Jr. Increased popliteal circumferential wall tension induced by orthostatic body posture is associated with local atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*. 2012;224:118-22.

31) Kiyota TA, Mendes PR, Cipolli JA, Schreiber R, Paim LR, Bellinazzi VR, Matos-Souza JR, Sposito AC, Nadruz W Jr. Lung age is related to carotid structural alterations in hypertensive subjects. *J Am Soc Hypertens*. 2014;8:381-7.

32) Carotid intima-media thickness is associated with media rather than intima thickness. Sardeli AV, Gáspari AF, de Rossi G, de Souza GV, de Souza TMF, Cavaglieri CR, Matos-Souza JR, Nadruz W Jr, Chacon-Mikahil MPT. *Atherosclerosis*. 2017;261:169-171.

33) Rodriguez-Macias KA, Lind L, Naessen T. Thicker carotid intima layer and thinner media layer in subjects with cardiovascular diseases. An investigation using noninvasive high-frequency ultrasound. *Atherosclerosis*. 2006;189:393-400.

34) Xu M, Jin S, Li F, Jia G, Zhang C, Zhang M, et al. The Diagnostic Value of Radial and Carotid Intima Thickness Measured by High-Resolution Ultrasound for Ischemic Stroke. *J Am Soc Echocardiogr*. 2021;34:72-82.

35) Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa ADM, Machado CA, Poli-de-Figueiredo CE, Amodeo C, Mion Júnior D, Barbosa ECD, Nobre F, Guimarães ICB, Vilela-Martin JF, Yugar-Toledo JC, Magalhães MEC, Neves MFT, Jardim PCBV, Miranda RD, Póvoa RMDS, Fuchs SC, Alessi A, Lucena AJG, Avezum A, Sousa ALL, Pio-Abreu A, Sposito AC, Pierin AMG, Paiva AMG, Spinelli ACS, Nogueira ADR, Dinamarco N, Eibel B, Forjaz CLM, Zanini CRO, Souza CB, Souza DDSM, Nilson EAF, Costa EFA, Freitas EV, Duarte EDR, Muxfeldt ES, Lima Júnior E, Campana EMG, Cesarino EJ, Marques F, Argenta F, Consolim-Colombo FM, Baptista FS, Almeida FA, Borelli FAO, Fuchs FD, Plavnik FL, Salles GF, Feitosa GS, Silva GVD, Guerra GM, Moreno Júnior H, Finimundi HC, Back IC, Oliveira Filho JB, Gemelli JR, Mill JG, Ribeiro JM, Lotaif LAD, Costa LSD, Magalhães LBNC, Drager LF, Martin LC, Scala LCN, Almeida MQ, Gowdak MMG, Klein MRST, Malachias MVB, Kuschner MCC, Pinheiro ME, Borba MHE, Moreira Filho O, Passarelli Júnior O, Coelho OR, Vitorino PVO, Ribeiro Junior RM, Esporcatte R, Franco R, Pedrosa R, Mulinari RA, Paula RB, Okawa RTP, Rosa RF, Amaral SLD, Ferreira-Filho SR, Kaiser SE, Jardim TSV, Guimarães V, Koch VH, Oigman W, Nadruz W. Brazilian Guidelines of Hypertension - 2020. *Arq Bras Cardiol.* 2021 Mar;116(3):516-658.

36) Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet.* 2002 Dec 14;360(9349):1903-13.

37) Malta DC, Gonçalves RPF, Machado ÍE, Freitas MIF, Azeredo C, Szwarcwald CL. Prevalence of arterial hypertension according to different diagnostic criteria, National Health Survey. *Rev Bras Epidemiol.* 2018 Nov 29;21(suppl 1):e180021.

38) Macinko J, Leventhal DGP, Lima-Costa MF. Primary Care and the Hypertension Care Continuum in Brazil. *J Ambul Care Manage*. 2018 Jan/Mar;41(1):34-46.

39) Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, Barengo NC, Beaton AZ, Benjamin EJ, Benziger CP, Bonny A, Brauer M, Brodmann M, Cahill TJ, Carapetis J, Catapano AL, Chugh SS, Cooper LT, Coresh J, Criqui M, DeCleene N, Eagle KA, Emmons-Bell S, Feigin VL, Fernández-Solà J, Fowkes G, Gakidou E, Grundy SM, He FJ, Howard G, Hu F, Inker L, Karthikeyan G, Kassebaum N, Koroshetz W, Lavie C, Lloyd-Jones D, Lu HS, Mirijello A, Temesgen AM, Mokdad A, Moran AE, Muntner P, Narula J, Neal B, Ntsekhe M, Moraes de Oliveira G, Otto C, Owolabi M, Pratt M, Rajagopalan S, Reitsma M, Ribeiro ALP, Rigotti N, Rodgers A, Sable C, Shakil S, Sliwa-Hahnle K, Stark B, Sundström J, Timpel P, Tleyjeh IM, Valgimigli M, Vos T, Whelton PK, Yacoub M, Zuhlke L, Murray C, Fuster V; GBD-NHLBI-JACC Global Burden of Cardiovascular Diseases Writing Group. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020 Dec 22;76(25):2982-3021.

40) Taylor WR. Hypertensive vascular disease and inflammation: mechanical and humoral mechanisms. *Curr Hypertens Rep*. 1999; 1:96-101.

41) Martinez-Quinones P, McCarthy CG, Watts SW, Klee NS, Komic A, Calmasini FB, et al. Hypertension Induced Morphological and Physiological Changes in Cells of the Arterial Wall. *Am J Hypertens*. 2018;31:1067-1078.

42) Zanchetti A, Hennig M, Hollweck R, Bond G, Tang R, Cuspidi C, et al. Baseline values but not treatment-induced changes in carotid intima-media thickness predict incident cardiovascular events in

treated hypertensive patients: findings in the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA). *Circulation*. 2009;120:1084-1090.

43) Nadruz W. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens*. 2015 Jan;29(1):1-6.

44) Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation*. 2000; 102: 470-479.

45) Vakili BA, Okin PM, Devereux RB. Prognostic implications of left ventricular hypertrophy. *Am Heart J*. 2001: 141:334-341.

46) D'Andrea A, Radmilovic J, Ballo P, Mele D, Agricola E, Cameli M, Rossi A, Esposito R, Novo G, Mondillo S, Montisci R, Gallina S, Bossone E, Galderisi M; Working Group on Echocardiography of the Italian Society of Cardiology. Left ventricular hypertrophy or storage disease? the incremental value of speckle tracking strain bull's-eye. *Echocardiography*. 2017 May;34(5):746-759.

47) Gunasekaran P, Panaich S, Briasoulis A, Cardozo S, Afonso L. Incremental Value of Two Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in the Functional Assessment and Characterization of Subclinical Left Ventricular Dysfunction. *Curr Cardiol Rev*. 2017;13(1):32-40.

48) Morris DA, Otani K, Bekfani T e colaboradores. Multidirectional Global Left Ventricular Systolic Function in Normal Subjects and Patients with Hypertension: Multicenter Evaluation. *J Am Soc Echocardiogr* 2014;27:493-500.

49) Collier P, Phelan D, Klein A. A Test in Context: Myocardial Strain Measured by Speckle-Tracking Echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:1043-56.

- 50) Nadruz W, Shah AM, Solomon SD. Diastolic Dysfunction and Hypertension. *Med Clin North Am.* 2017 Jan;101(1):7-17
- 51) Nakanishi K, Daimon M, Yoshida Y, Ishiwata J, Sawada N, Hirokawa M, Kaneko H, Nakao T, Mizuno Y, Morita H, Di Tullio MR, Homma S, Komuro I. Carotid intima-media thickness and subclinical left heart dysfunction in the general population. *Atherosclerosis.* 2020 Jul;305:42-49.
- 52) Simova I. Intima-media thickness: Appropriate evaluation and proper measurement. *E-Journal of Cardiology Practice* 2015;13:1.
- 53) Ferreira-Sae MC, Cipolli JA, Cornélio ME, Matos-Souza JR, Fernandes MN, Schreiber R, et al. Sodium intake is associated with carotid artery structure alterations and plasma matrix metalloproteinase-9 upregulation in hypertensive adults. *J Nutr.* 2011;141:877-882.
- 54) Marques ER, Gemignani T, Azevedo RC, Higa CM, Coelho-Filho OR, Matos-Souza JR, et al. Distinct factors are related to lower limb atherosclerosis in smokers and nonsmokers. *J Hypertens.* 2018;36:2390-2397.
- 55) Lacchini R, Jacob-Ferreira AL, Luizon MR, Coeli FB, Izidoro-Toledo TC, Gasparini S, et al. Matrix metalloproteinase 9 gene haplotypes affect left ventricular hypertrophy in hypertensive patients. *Clin Chim Acta.* 2010;411:1940-1944.
- 56) DE Rossi G, Matos-Souza JR, Costa E Silva AD, Campos LF, Santos LG, Azevedo ER, et al. Physical activity and improved diastolic function in spinal cord-injured subjects. *Med Sci Sports Exerc.* 2014;46:887-892.

57) Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al; American Society of Echocardiography's Nomenclature and Standards Committee; Task Force on Chamber Quantification; American College of Cardiology Echocardiography Committee; American Heart Association; European Association of Echocardiography, European Society of Cardiology. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006;7:79–108.

58) Naqvi TZ, MD, Lee MS. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Cardiovascular Risk Assessment. *J Am Coll Cardiol Img* 2014;7:1025–38.

59) Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020 Jan 1;41(1):111-188.

60) Insull W Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med*. 2009;122:S3-S14.

61) Polak JF, Szklo M, Kronmal RA, Burke GL, Shea S, Zavodni AE, et al. The value of carotid artery plaque and intima-media thickness for incident cardiovascular disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000087.

62) Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, Wight TN, Sueishi K. Early human atherosclerosis: accumulation of lipid and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:1159-65.

63) Lee MY, Wu CM, Yu KH, Chu CS, Lee KT, Sheu SH, et al. Association between hemodynamics in the common carotid artery

and severity of carotid atherosclerosis in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2008;21:765-70

64) Magnussen CG. Carotid artery intima-media thickness and hypertensive heart disease: a short review. *Clin Hypertens*. 2017;23:7.

65) Prado CM, Rossi MA. Circumferential wall tension due to hypertension plays a pivotal role in aorta remodelling. *Int J Exp Pathol*. 2006;87:425-36.

66) Kawai T, Ohishi M, Takeya Y, Onishi M, Ito N, Oguro R, et al. Carotid plaque score and intima media thickness as predictors of stroke and mortality in hypertensive patients. *Hypertens Res*. 2013;36:902-9.

67) Roman MJ, Saba PS, Pini R, Spitzer M, Pickering TG, Rosen S, et al. Parallel cardiac and vascular adaptation in hypertension. *Circulation*. 1992;86:1909-18.

68) Nadruz W Jr, Lagosta VJ, Moreno H Jr, Coelho OR, Franchini KG. Simvastatin prevents load-induced protein tyrosine nitration in overloaded hearts. *Hypertension*. 2004;43:1060-6.

69) Zmysłowski A, Szterk A. Current knowledge on the mechanism of atherosclerosis and pro-atherosclerotic properties of oxysterols. *Lipids Health Dis*. 2017;16:188.

70) L. Al Saikhan, C. Park, R. Hardy, A. Hughes, Prognostic implications of left ventricular strain by speckle-tracking echocardiography in the general population: a meta-analysis, *Vasc. Health Risk Manag*. 15 (2019) 229–251.

ANEXOS

ANEXO 1

Artigo 1: "Association of carotid wall layers with atherosclerotic plaques and cardiac hypertrophy in hypertensive subjects", publicado no periódico Journal of Human Hypertension.

J Hum Hypertens. 2021 Jun 15. doi: 10.1038/s41371-021-00565-w. Epub ahead of print. PMID: 34131263.

ARTICLE



Association of carotid wall layers with atherosclerotic plaques and cardiac hypertrophy in hypertensive subjects

Luis F.R.S. Carvalho-Romano¹, Rafael P. Bonafé¹, Layde R. Paim¹, Edmilson R. Marques¹, Camila F. L. Vegian¹, José A. Pio-Magalhães¹, Daniel S. S. Mello¹, Guilherme de Rossi¹, Otavio R. Coelho-Filho¹, Roberto Schreiber¹, Andrei C. Sposito¹, José R. Matos-Souza¹ and Wilson Nadruz Jr¹ [✉]

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2021

Carotid intima-media thickness (cMT) is considered a marker of subclinical atherosclerosis and is related to target-organ damage in hypertensive patients. However, increased cMT may be due to increases in the thickness of intima (cIT) and media (cMT) layers. This study evaluated whether cMT layers (cIT and cMT) had a greater association with carotid atherosclerotic plaques and left ventricular hypertrophy (LVH) than cMT in hypertensive subjects. We cross-sectionally evaluated clinical, carotid, and echocardiography characteristics of 186 hypertensive patients followed at an outpatient clinic. High-resolution images of common carotid arteries were obtained by ultrasonography equipped with 10-MHz transducers, and cIT, cMT, and cMT were manually measured using an image-processing software. Among all participants ($n = 186$; age = 60.8 ± 10.9 years, 43% males), there were 58% with carotid plaques and 58% with LVH. Mean cIT, cMT, and cMT values were 0.267 ± 0.060 , 0.475 ± 0.107 , and 0.742 ± 0.142 mm, respectively. In logistic regression analysis adjusted for relevant covariates, carotid plaques showed stronger association with cIT than with cMT and cMT. Furthermore, cIT showed greater area under the ROC curve (0.92; 95% CI 0.87–0.96) than cMT (0.79; 95% CI 0.72–0.85) and cMT (0.64; 95% CI 0.56–0.72) to identify plaques. Conversely, cIT, cMT, and cMT had modest association and accuracy to identify LVH (area under the ROC curve = 0.61, 0.57, and 0.60, respectively). In conclusion, cIT is a more accurate marker of atherosclerosis than cMT or cMT, while cIT and cMT provide no incremental value in identifying LVH when compared with cMT among hypertensive subjects.

Journal of Human Hypertension _#####_; <https://doi.org/10.1038/s41371-021-00565-w>

INTRODUCTION

Carotid intima-media thickness (cMT) has been usually considered a measure of subclinical atherosclerosis and is widely used to assess cardiovascular risk in clinical practice [1, 2]. However, increases in cMT result not only from intimal thickening, a surrogate marker of early atherosclerosis [3], but also from hypertrophy of the media layer, which is mostly comprised of vascular smooth muscle cells and elastic tissue [4, 5]. Therefore, elevated cMT may not necessarily reflect high atherosclerotic burden, which could explain the low ability of cMT to predict cardiovascular outcomes beyond traditional risk factors [1].

Hypertension is associated with greater cMT values, and increased cMT has been associated with greater prevalence of target-organ damage, such as atherosclerotic plaques and left ventricular (LV) hypertrophy (LVH), and higher risk of future cardiovascular events in hypertensive patients [6–8]. Interestingly, former cross-sectional studies showed that the thickness of carotid intima, a sublayer of the cMT complex, had greater association with inflammatory markers [9] and cardiovascular risk factors and cardiovascular diseases [10, 11] than cMT, raising the assumption that carotid intima thickness (cIT) could be a potentially more accurate measure of atherosclerotic burden than cMT. Our group previously demonstrated that high-resolution ultrasound carotid images obtained with

10–14 MHz transducers can be used to separately measure cIT and carotid media thickness (cMT) with reliable reproducibility [9, 12]. Notably, we and other authors showed that higher cMT values are mostly driven by cMT rather than cIT in hypertensive patients [10, 12]. However, it remains unknown whether cIT, cMT, and cMT have distinct association with atherosclerotic plaques in this population. Conversely, it is unclear whether increases in cMT could explain the relationship between cMT and LVH since artery media-layer thickness and LV mass are assumed to increase in response to higher vascular and myocardial wall tension induced by hypertension [4, 13, 14].

This study aimed at measuring cIT, cMT, and cMT, and evaluating the association of these measures with carotid atherosclerotic plaques, a more specific marker of atherosclerosis [15, 16], and LVH in hypertensive subjects.

METHODS

Study population

We evaluated clinical, carotid, and echocardiography characteristics of 186 consecutive hypertensive individuals followed at a university outpatient clinic. Exclusion criteria included age <18 years, hypertrophic cardiomyopathy, and moderate/severe valvopathy. The study conforms to the guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the State University of Campinas. Written consent was obtained from all participants.

¹Department of Internal Medicine, School of Medical Sciences, State University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil. [✉]email: wlnj@fcm.unicamp.br

Received: 16 March 2021 Accepted: 8 June 2021

Published online: 15 June 2021

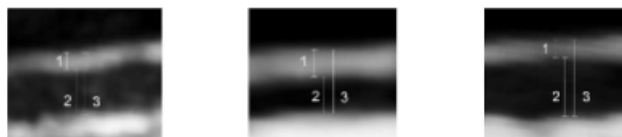


Fig. 1 Carotid wall layers. Illustrative images of carotid intima (1), media (2), and intima-media (3) thickness from three different participants. The images were zoomed in to provide a more illustrative view of carotid wall layers.

Table 1. Characteristics of the participants according to the presence of carotid plaques.

Variables	Plaques—no n = 78 (42%)	Plaques—yes n = 108 (58%)	p-value
<i>Clinical</i>			
Age, years	55.2 ± 11.5	64.9 ± 8.4	<0.001
Male sex, %	42	44	0.87
Systolic blood pressure, mmHg	149.9 ± 20.8	155.7 ± 20.7	0.15
Diastolic blood pressure, mmHg	87.5 ± 10.4	83.8 ± 15.7	0.12
Body mass index, kg/m ²	30.7 ± 6.8	30.3 ± 5.7	0.70
Diabetes mellitus, %	42	57	0.042
Hypercholesterolemia, %	71	80	0.15
Current smoking, %	8	6	0.75
Former smoking, %	33	36	0.70
Coronary artery disease, %	23	28	0.47
Previous stroke, %	14	20	0.27
Diuretics, %	72	69	0.63
ACEI or ARB, %	90	84	0.28
Beta-blocker, %	65	71	0.39
Calcium-channel blocker, %	65	59	0.40
Spirolactone, %	29	27	0.69
Central alpha2-agonist, %	12	16	0.41
Direct vasodilator, %	21	21	0.90
Statins, %	68	76	0.23
Glucose, mg/dL	97 [87, 111]	103 [92, 127]	0.13
Glycated hemoglobin, g/dL	6.0 [5.6, 6.4]	6.2 [5.7, 7.1]	0.036
Triglycerides, mg/dL	122 [86, 177]	142 [100, 194]	0.034
HDL-cholesterol, mg/dL	46.0 ± 12.6	43.7 ± 13.3	0.25
LDL-cholesterol, mg/dL	91.8 ± 25.2	91.9 ± 34.1	0.98
Creatinine, mg/dL	0.9 [0.7, 1.1]	1.1 [0.8, 1.3]	0.005
<i>Carotid</i>			
cIT, mm	0.220 ± 0.032	0.300 ± 0.053	<0.001
cMT, mm	0.445 ± 0.093	0.496 ± 0.112	0.001
cIMT, mm	0.605 ± 0.107	0.797 ± 0.139	<0.001
Systolic diameter, mm	6.5 ± 1.1	6.8 ± 1.1	0.049
Diastolic diameter, mm	5.8 ± 1.0	6.2 ± 1.0	0.024
Peak CWT, 10 ⁴ dynes/cm	6.45 ± 1.71	7.08 ± 1.66	0.016
<i>Echocardiography</i>			
LV mass index, g/m ²	106.1 ± 31.5	115.8 ± 30.0	0.034
LV hypertrophy, %	45	66	0.005

Continuous data with normal and non-normal distribution are presented as mean ± standard deviation and median [25th, 75th percentiles].

ACEI or ARB angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, cIT carotid intima thickness, cMT carotid media thickness, cIMT carotid intima-media thickness, CWT circumferential wall tension, LV left ventricular.

Clinical characteristics

Blood pressure (BP) was measured immediately before carotid analysis in the supine position using a HEM-7113 device (Omron Corp., Kyoto, Japan) with appropriate cuff sizes. Two BP readings were averaged and if they differed by more than 5 mmHg, an additional reading was performed and then averaged. Body mass index was calculated as weight divided by

height squared (kg/m²). Fasting blood glucose, creatinine, triglycerides, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and glycated hemoglobin were measured using standard laboratory techniques. Hypertension was defined as office BP ≥140/90 mmHg measured in the sitting position in two or more previous occasions or use of antihypertensive medications. Diabetes mellitus was defined as fasting glucose ≥126 mg/dL or glycated hemoglobin ≥6.5 g/dL or the use of antidiabetic medications. Hypercholesterolemia was defined as LDL cholesterol >130 mg/dL or the use of cholesterol-lowering medications. Coronary artery disease was considered as cardiac ischemia evidenced by complementary methods (stress myocardial scintigraphy, stress echocardiography, or exercise stress test) or previously documented acute coronary syndrome or myocardial infarction or coronary interventions.

Carotid ultrasound

High-resolution images of left and right common carotid arteries (CCA) 2 cm proximal to the carotid bifurcation of each participant were obtained by a skilled physician (L.F.R.S.C-R), blind to the characteristics of the studied individuals, using a Vivid q device (General Electric, Milwaukee, Wisconsin, USA) equipped with a linear transducer (12L-RS; 6–13 MHz) set at 10 MHz, as previously reported [9, 12]. Image acquisition was performed avoiding image zooming, using the standard preset of carotid ultrasound software, with proper adjustments in image depth to obtain the best definition of carotid sublayers [17]. All wall thickness measurements were performed in the frame with a better image to discriminate each carotid sublayer, usually at systole, thus differing from current guideline recommendations [17], which suggest cIMT evaluation at end diastole. Gain settings were optimized aiming at producing a sharp distinction between the intima and media layers. For each image, five measurements of far-wall cIMT, cMT, and cIT were manually performed in plaque-free areas using the ImageJ software (NIH, Maryland, USA) and the average of left and right CCA measurements was used to calculate each participant layer thickness [9, 12]. Carotid plaques were defined as CCA cIMT ≥1.5 mm or focal wall thickening encroaching into the lumen by 50% or 0.5 mm. For cIT, cMT, and cIMT, average intraobserver variabilities were 2.4%, 1.9%, and 1.2%, while average interobserver variabilities were 2.7%, 4.8%, and 3.5% when considering the analysis of 20 images from ten patients. CCA internal diameters were also measured in plaque-free areas and carotid peak circumferential wall tension (CWT) was calculated according to Laplace's law: systolic BP × systolic internal diameter/2 [18, 19].

Echocardiography

LV dimensions were measured by echocardiography after carotid analysis by a skilled physician (L.F.R.S.C-R) using the Vivid q device equipped with a sectorial transducer (35-RS; 1.5–4 MHz) as previously reported [20–22]. LV mass index was calculated as LV mass/body surface area and LVH was defined as LV mass index >95 and 115 g/m² in women and men, respectively [23]. For LV mass, average intraobserver and interobserver variabilities were 3.1% and 4.7%, respectively, when considering the analysis of images from 20 patients.

Statistical analysis

Variables with normal and non-normal distribution are presented as mean ± standard deviation and median [25th, 75th percentiles]. The sample was then divided according to the presence or not of carotid plaques or LVH, and differences between studied groups were evaluated by unpaired t-test for normally distributed variables, Mann–Whitney for non-normally distributed variables, and χ^2 test for categorical variables. Univariate correlation analysis was performed using the Pearson's method for variables with normal distribution or the Spearman's method when including variables with non-normal distribution. Multivariable linear and

logistic regression analysis evaluated the relationship between peak CWT and carotid wall variables adjusting for age, sex, and clinical variables that showed significant correlation with peak CWT. Multivariable logistic regression models between carotid wall layers and carotid plaques or LVH were built adjusting for age, sex, and clinical variables that were statistically different between the studied groups and were further evaluated by Akaike information criterion and log-likelihood test. The area under the receiver-operating characteristic curve for cIT, cMT, and cIMT to predict the presence of carotid plaques or LVH was calculated. From the receiver-operating characteristic curves, the optimal cutoff values for cIT, cMT, and cIMT with the highest sensitivity and specificity in predicting carotid plaques were identified. *P*-values < 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using Stata 14.1 (StataCorp, Texas, USA).

RESULTS

Characteristics of the whole sample

Considering the total sample ($n = 186$; age = 60.8 ± 10.9 years, 43% males), there were 108 (58%) participants with carotid plaques and 108 (58%) participants with LVH (Supplemental Table 1). Average cIMT values were 0.742 ± 0.142 mm, and average cMT values were greater than cIT values (cMT = 0.475 ± 0.107 and cIT = 0.267 ± 0.060 mm; $p < 0.001$) (see examples of carotid wall layers images in Fig. 1). The results of univariate correlation analysis showed that cIMT had a stronger correlation with cMT ($r = 0.92$; $p < 0.001$) than with cIT ($r = 0.72$; $p < 0.001$), while cMT had a moderate correlation with cIT ($r = 0.40$; $p < 0.001$). When evaluating the relationship of cIT and cMT with studied clinical and laboratory variables, cIT solely correlated with age ($r = 0.31$; $p < 0.001$), systolic BP ($r = 0.17$; $p = 0.021$), and glycated hemoglobin ($r = 0.18$; $p = 0.016$), while cMT only correlated with age ($r = 0.38$; $p < 0.001$) and systolic BP ($r = 0.17$; $p = 0.023$).

Carotid peak CWT showed significant correlation with cIT ($r = 0.27$; $p < 0.001$), cMT ($r = 0.24$; $p = 0.001$), cIMT ($r = 0.30$; $p < 0.001$), carotid plaques ($r = 0.21$; $p = 0.004$), and calcium-channel blocker use ($r = 0.21$; $p = 0.041$). In analysis adjusted for age, sex, and use of calcium-channel blockers, carotid peak CWT remained associated with cIT ($p < 0.001$), cMT ($p = 0.002$), and cIMT ($p < 0.001$) but not with plaques ($p = 0.058$).

Characteristics of the sample according to the presence of carotid plaques

Participants with plaques were older, had higher prevalence of diabetes mellitus, levels of triglycerides, creatinine, and glycated hemoglobin, and had greater cIMT, cIT, and cMT than those without plaques (Table 1). In logistic regression analysis adjusted for age, sex, triglycerides, creatinine, and glycated hemoglobin, plaques showed a stronger association with cIT than with cMT and cIMT, as assessed by Akaike information criterion and log-likelihood test (Fig. 2A). Notably, the probability that the cIMT model performed better than the cIT model in detecting patients with atherosclerotic plaques was 2.83^{-13} , based on the Akaike information criterion. Furthermore, cIT showed greater area under the receiver-operating characteristic curve (0.92; 95% CI 0.87–0.96) than cMT (0.79; 95% CI 0.72–0.85) and cIMT (0.64; 95% CI 0.56–0.72) to identify plaques (Fig. 2B). Further results of receiver-operating characteristic curve analysis aiming at identifying plaques showed that the optimal cutoff values for cIT, cMT, and cIMT were 0.253 (sensitivity = 0.84, specificity = 0.87, and accuracy = 0.86), 0.452 (sensitivity = 0.63, specificity = 0.63, and accuracy = 0.63) and 0.70 mm (sensitivity = 0.74, specificity = 0.72, and accuracy = 0.73), respectively.

Characteristics of the sample according to the presence of LVH

Participants with LVH had higher systolic BP and were more likely to use spironolactone and central alpha2 agonists, and had greater cIMT, cIT, and cMT than those without LVH (Table 2). In adjusted logistic regression analysis adjusted for age, sex, systolic BP, and use of spironolactone and central alpha2 agonists, cIMT and carotid layers tended to show similar albeit modest association with LVH (Fig. 3A). In addition, cIT, cMT, and cIMT showed only limited accuracy to identify LVH based on the area under the ROC curve (0.61, 0.57, and 0.60, respectively) (Fig. 3B).

DISCUSSION

The present report evaluated the relationship between carotid wall layers and atherosclerotic plaques and LVH in hypertensive

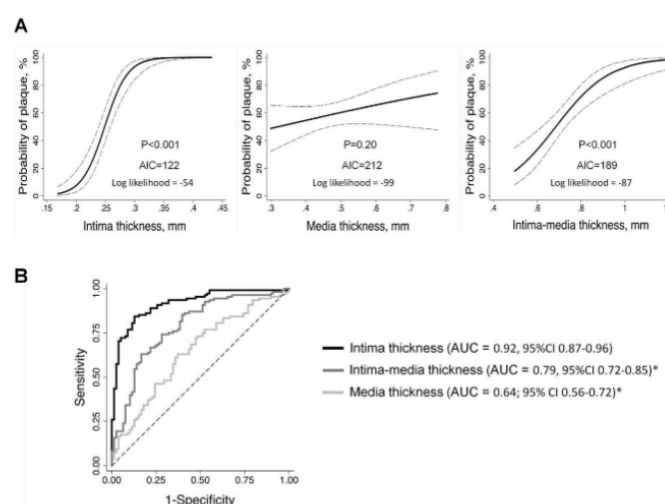


Fig. 2 Relationship between carotid plaques and wall layers. **A** Logistic regression analysis between carotid plaques and wall layers adjusted for age, sex, creatinine, glycated hemoglobin, and triglycerides. AIC Akaike information criterion. **B** Receiver-operating characteristic (ROC) curves for the prediction of carotid plaques. AUC area under curve. * $p < 0.05$ compared with intima thickness.

Table 2. Characteristics of the participants according to the presence of LVH.

Variables	LVH—no n = 78 (42%)	LVH—yes n = 108 (58%)	p-value
<i>Clinical</i>			
Age, years	59.6 ± 10.4	61.5 ± 11.3	0.25
Male sex, %	45	42	0.74
Systolic blood pressure, mmHg	147.0 ± 24.0	157.7 ± 28.2	0.008
Diastolic blood pressure, mmHg	84.4 ± 14.8	86.1 ± 17.0	0.47
Body mass index, kg/m ²	29.9 ± 6.2	31.0 ± 6.1	0.26
Diabetes mellitus, %	50	51	0.90
Hypercholesterolemia, %	73	77	0.50
Current smoking, %	8	7	0.78
Former smoking, %	31	39	0.27
Coronary artery disease, %	19	31	0.07
Previous stroke, %	15	20	0.44
Diuretics, %	65	73	0.29
ACEi or ARB, %	86	87	0.86
Beta-blocker, %	71	68	0.71
Calcium-channel blocker, %	63	61	0.84
Spirolactone, %	19	35	0.020
Central alpha2-agonist, %	6	19	0.015
Direct vasodilator, %	15	25	0.10
Statins, %	67	76	0.14
Glucose, mg/dL	98 [88, 123]	102 [88, 117]	0.91
Glycated hemoglobin, g/dL	6.0 [5.7, 7.2]	6.1 [5.7, 6.7]	0.94
Triglycerides, mg/dL	132 [99, 188]	134 [91, 184]	0.65
HDL-cholesterol, mg/dL	44.1 ± 12.3	45.3 ± 13.5	0.54
LDL-cholesterol, mg/dL	90.8 ± 28.4	92.2 ± 31.8	0.77
Creatinine, mg/dL	0.9 [0.8, 1.1]	1.0 [0.8, 1.2]	0.14
<i>Carotid</i>			
dT, mm	0.252 ± 0.052	0.277 ± 0.064	0.006
cMT, mm	0.456 ± 0.089	0.489 ± 0.118	0.037
cIMT, mm	0.708 ± 0.112	0.766 ± 0.157	0.006
Systolic diameter, mm	6.3 ± 0.9	6.9 ± 1.2	<0.001
Diastolic diameter, mm	5.7 ± 0.8	6.3 ± 1.1	<0.001
Peak CWT, 10 ⁴ dynes/cm	6.19 ± 1.39	7.28 ± 1.78	<0.001
Plaques, %	46	67	0.005
<i>Echocardiography</i>			
LV mass index, g/m ²	85.4 ± 13.5	131.1 ± 25.3	<0.001

Continuous data with normal and non-normal distribution are presented as mean ± standard deviation and median [25th, 75th percentiles]. ACEi or ARB angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker, HDL high density lipoprotein, LDL low density lipoprotein, cIT carotid intima thickness, cMT carotid media thickness, cIMT carotid intima-media thickness, CWT circumferential wall tension, LV left ventricular.

patients and provided two major novel results. First, dT had stronger association and greater discriminatory value to identify atherosclerotic plaques than cMT and cIMT independent of confounding factors. Second, cIMT, cMT, and cIT tended to show similar albeit modest association with LVH and had low discriminatory value to identify LVH. In general, these findings suggest that dT is a more accurate marker of atherosclerosis than cIMT or cMT, and further indicate that cIT and cMT provide no incremental value in identifying LVH when compared with cIMT.

Ultrasound evaluation of dMT has been considered a simple and feasible measure of subclinical atherosclerosis and has been widely used to assess cardiovascular risk [1]. However, several studies suggested that this measure may not be a specific marker of atherosclerosis [1, 2]. Therefore, current guidelines have narrowed the recommendations of cIMT as a tool to stratify cardiovascular risk [24]. In the present report, we found that, in

comparison with cIMT, cIT had stronger association and greater ability to identify carotid plaques, which is considered a specific phenotype of atherosclerosis [15, 16]. In addition, we observed that cMT was the major component of cIMT, but had no independent association with plaques. These findings might have clinical implications. First, they indicate that cIT is a more accurate marker of atherosclerosis than cIMT. Notably, our analysis was adjusted for potential confounding factors, indicating that the strong association between cIT and plaques was not explained by the influence of alternative cardiovascular covariates. Second, they provide an explanation for the low ability of cIMT to predict cardiovascular outcomes beyond clinical scores [1, 2, 16], since cMT was not independently associated with carotid plaques. Given that intimal thickening usually precedes the development of atherosclerotic plaques [3, 15], it can be further hypothesized that increases in cIT could potentially emerge as an earlier marker of atherosclerosis than carotid plaques. However, further studies are necessary to evaluate this latter assumption as well as to compare the accuracy of cIT with cIMT and carotid plaques in predicting cardiovascular outcomes.

The ultrasound method used to evaluate carotid wall layers reported herein had some differences in comparison with alternative ultrasound methods aimed at discriminating cIMT layers reported in human studies [10, 11, 25]. Notably, our protocol used a linear transducer set at a frequency (10 MHz) that is easily available in routine clinical settings. In contrast, former ultrasound methods used specific transducers set at very high frequency (22–25 MHz) [10, 11, 25], that are less available in clinical practice. It was also noteworthy that cIT values reported in our whole sample and in our studied individuals with carotid plaques tended to be similar to those obtained in alternative hypertensive individuals and in individuals with previous stroke, respectively, among whom carotid wall layers were assessed using transducers set at 24–25 MHz [10, 11]. These data highlight the potential applicability of our carotid ultrasound protocol in estimating carotid wall layers in clinical practice.

A major hemodynamic mechanism by which hypertension is supposed to induce vascular remodeling and atherosclerosis is by increasing local wall tension [19, 26]. Consistent with this idea, we found that increases in carotid CWT correlated with carotid plaques and cIMT. Hypertension-induced hemodynamic overload has been assumed to preferentially stimulate arterial media-layer hypertrophy [14], which could eventually justify the greater thickness of cMT in comparison with cIT among hypertensive patients. In our analysis, CWT was directly related to both cIT and cMT with similar magnitude, which corroborates with data obtained in experimental models [27], and suggests that hypertension-induced hemodynamic overload may be equally important for both arterial media-layer remodeling and atherogenesis. Conversely, the results shown herein and in previous reports demonstrating that cMT is the major component of cIMT in both hypertensive and normotensive individuals [9, 10] support the notion that cMT is constitutively greater than cIT, regardless of variation in local hemodynamic forces.

Our analysis confirmed that cIMT was related to LVH in hypertensive patients [7] and further demonstrated that carotid wall layers were individually associated with LVH, even though the magnitude of the association of LVH with cIMT, dT, and cMT tended to be similar and only modest. The direct relationship between cMT and LV mass seems to support the notion that these tissues, which are mainly comprised by muscle cells, might undergo parallel remodeling in response to hemodynamic overload induced by hypertension [4]. Conversely, it cannot be discarded that alternative mutual mechanisms, including oxidative stress, activation of similar intracellular hypertrophic pathways, and the action of vasoactive peptides and inflammatory mediators, might have contributed to both vascular and myocardial remodeling [5, 13, 28–31]. Although we found that

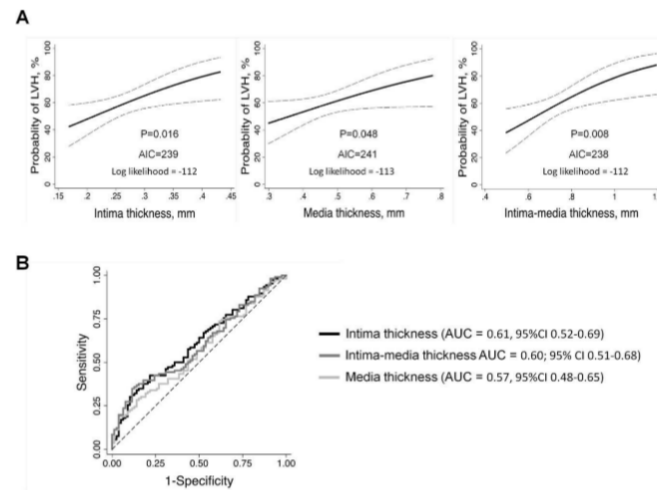


Fig. 3 Relationship between left ventricular hypertrophy (LVH) and carotid wall layers. A Logistic regression analysis between left ventricular hypertrophy (LVH) and carotid wall layers adjusted for age, sex, systolic blood pressure, spironolactone use, and central alpha2 agonist use. AIC Akaike information criterion. **B** Receiver-operating characteristic (ROC) curves for the prediction of LVH. AUC area under curve.

both cIT and cMT were related to LVH, a previous report demonstrated that higher cIT was related to worse LV systolic function, while higher cMT was associated with worse diastolic function in hypertensive patients [12]. This body of evidence indicates that evaluation of individual carotid wall layers might have greater potential to identify distinct aspects of hypertension-induced LV dysfunction rather than hypertensive LV structural damage.

This report has some limitations. First, due to the cross-sectional nature of the protocol, residual confounding cannot be excluded and the reported associations cannot be considered to be causal. Second, we evaluated a sample of hypertensive patients followed at a tertiary hospital with a high rate of end-organ damage, which could limit the generalizability of our results to other populations. Third, the use of antihypertensive medications and statins might have influenced the associations of carotid layers with plaques and LVH. However, we attempted to overcome this potential limitation by adjusting the analyses by medications that were statistically different between the studied groups. Fourth, although we found a marked association between cIT and carotid plaques, it is important to acknowledge that it is still unclear whether cIT precedes the development of local atherosclerotic plaques and predicts adverse cardiovascular outcomes. Fifth, even though carotid wall measurements were usually performed at systole, the acquisition of carotid wall thicknesses was not standardized across the cardiac cycle. This may be a potential limitation since carotid wall thickness has been reported to vary throughout the cardiac cycle, with slightly lower cMT values at peak systole (on average by 5.9%) in comparison with end diastole [32].

CONCLUSION

We found that cIT is a more accurate marker of atherosclerosis than cMT or cIMT in hypertensive subjects, even though cMT is the main determinant of carotid cIMT in this population. Conversely, our data further indicate that cIT and cMT provide no incremental value in identifying LVH when compared with cIMT. Further studies are necessary to compare the prognostic value of cIT, cMT, and cIMT in predicting cardiovascular outcomes.

Summary table

What is known about the topic

- Carotid intima-media thickness (cIMT) is considered a marker of subclinical atherosclerosis and is related to target-organ damage in hypertensive patients.
- Increased cIMT may be due to increases in the thickness of intima (cIT) and media (cMT) layers.

What this study adds

- cIT has stronger association and greater discriminatory value to identify carotid plaques than cMT and cIMT in hypertensive individuals.
- cIT and cMT have no incremental value in identifying hypertension-induced left ventricular hypertrophy when compared with cIMT.

REFERENCES

1. van den Oord SC, Sijbrands EJ, ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van der Steen AF, et al. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* 2013;228:1–11.
2. Naqvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014;7:1025–38.
3. Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, Wight TN, Sueishi K. Early human atherosclerosis: accumulation of lipid and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1159–65.
4. Roman MJ, Saba PS, Pini R, Spitzer M, Pickering TG, Rosen S, et al. Parallel cardiac and vascular adaptation in hypertension. *Circulation* 1992;86:1909–18.
5. Martinez-Quinones P, McCarthy CG, Watts SW, Klee NS, Komic A, Calmasini FB, et al. Hypertension induced morphological and physiological changes in cells of the arterial wall. *Am J Hypertens* 2018;31:1067–78.
6. Zanchetti A, Hennig M, Hollweck R, Bond G, Tang R, Cuspidi C, et al. Baseline values but not treatment-induced changes in carotid intima-media thickness predict incident cardiovascular events in treated hypertensive patients: findings in the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA). *Circulation* 2009;120:1084–90.

7. Kawai T, Ohishi M, Takeya Y, Onishi M, Ito N, Oguro R, et al. Carotid plaque score and intima media thickness as predictors of stroke and mortality in hypertensive patients. *Hypertens Res* 2013;36:902–9.
8. Cuspidi C, Sala C, Tadic M, Gherbesi E, Grassi G, Mancia G. Pre-hypertension and subclinical carotid damage: a meta-analysis. *J Hum Hypertens* 2019;33:34–40.
9. Sardeli AV, Gáspari AF, de Rossi G, de Souza GV, de Souza TMF, Cavaglieri CR, et al. Carotid intima-media thickness is associated with media rather than intima thickness. *Atherosclerosis* 2017;261:169–71.
10. Rodriguez-Macias KA, Lind L, Naessen T. Thicker carotid intima layer and thinner media layer in subjects with cardiovascular diseases. An investigation using noninvasive high-frequency ultrasound. *Atherosclerosis* 2006;189:393–400.
11. Xu M, Jin S, Li F, Jia G, Zhang C, Zhang M, et al. The diagnostic value of radial and carotid intima thickness measured by high-resolution ultrasound for ischemic stroke. *J Am Soc Echocardiogr* 2021;34:72–82.
12. Carvalho-Romano LFRS, Bonafé RP, Paim LR, Marques ER, Vegian CFL, Pio-Magalhães JA, et al. Association of left ventricular strain and E/e' ratio with carotid wall layers. *Atherosclerosis*. 2020;310:109–10.
13. Nadruz W. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens* 2015;29:1–6.
14. Magnussen CG. Carotid artery intima-media thickness and hypertensive heart disease: a short review. *Clin Hypertens* 2017;23:7.
15. Insull W Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med* 2009;122:S3–S14.
16. Polak JF, Szklo M, Kronmal RA, Burke GL, Shea S, Zavodni AE, et al. The value of carotid artery plaque and intima-media thickness for incident cardiovascular disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Am Heart Assoc* 2013;2:e000087.
17. Simova I. Intima-media thickness: appropriate evaluation and proper measurement. *E-J Cardiol Pract*. 2015;13:1.
18. Ferreira-Sae MC, Cipolli JA, Cornélio ME, Matos-Souza JR, Fernandes MN, Schreiber R, et al. Sodium intake is associated with carotid artery structure alterations and plasma matrix metalloproteinase-9 upregulation in hypertensive adults. *J Nutr* 2011;141:877–82.
19. Marques ER, Gemignani T, Azevedo RC, Higa CM, Coelho-Filho OR, Matos-Souza JR, et al. Distinct factors are related to lower limb atherosclerosis in smokers and nonsmokers. *J Hypertens* 2018;36:2390–7.
20. Lacchini R, Jacob-Ferreira AL, Luizon MR, Coeli FB, Izidoro-Toledo TC, Gasparini S, et al. Matrix metalloproteinase 9 gene haplotypes affect left ventricular hypertrophy in hypertensive patients. *Clin Chim Acta* 2010;411:1940–4.
21. Lacchini R, Jacob-Ferreira AL, Luizon MR, Gasparini S, Ferreira-Sae MC, Schreiber R, et al. Common matrix metalloproteinase 2 gene haplotypes may modulate left ventricular remodelling in hypertensive patients. *J Hum Hypertens* 2012;26:171–7.
22. DE Rossi G, Matos-Souza JR, Costa E Silva AD, Campos LF, Santos LG, Azevedo ER, et al. Physical activity and improved diastolic function in spinal cord-injured subjects. *Med Sci Sports Exerc* 2014;46:887–92.
23. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr*. 2006;7:79–108.
24. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020;41:111–88. 2019.
25. Akhter T, Wikström AK, Larsson M, Naessen T. Individual common carotid artery wall layer dimensions, but not carotid intima-media thickness, indicate increased cardiovascular risk in women with preeclampsia: an investigation using non-invasive high-frequency ultrasound. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013;6:762–8.
26. Lee MY, Wu CM, Yu KH, Chu CS, Lee KT, Sheu SH, et al. Association between hemodynamics in the common carotid artery and severity of carotid atherosclerosis in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2008;21:765–70.
27. Prado CM, Rossi MA. Circumferential wall tension due to hypertension plays a pivotal role in aorta remodelling. *Int J Exp Pathol* 2006;87:425–36.
28. Nadruz W Jr, Lagosta VJ, Moreno H Jr, Coelho OR, Franchini KG. Simvastatin prevents load-induced protein tyrosine nitration in overloaded hearts. *Hypertension* 2004;43:1060–6.
29. Zmyslowski A, Sztark A. Current knowledge on the mechanism of atherosclerosis and pro-atherosclerotic properties of oxysterols. *Lipids Health Dis* 2017;16:188.
30. Kaunas R, Usami S, Chien S. Regulation of stretch-induced JNK activation by stress fiber orientation. *Cell Signal* 2006;18:1924–31.
31. Nadruz W Jr, Kobarg CB, Kobarg J, Franchini KG. c-Jun is regulated by combination of enhanced expression and phosphorylation in acute-overloaded rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:H760–H767.
32. Polak JF, Johnson C, Harrington A, Wong Q, O'Leary DH, Burke G, et al. Changes in carotid intima-media thickness during the cardiac cycle: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Am Heart Assoc* 2012;1:e001420.

FUNDING

The study was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq; grant 306154/2017-0) and São Paulo Research Foundation (FAPESP 2013/07607-8) for Dr. Nadruz.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interests.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41371-021-00565-w>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to W.N.Jr.

Reprints and permission information is available at <http://www.nature.com/reprints>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ANEXO 2

Artigo 2: "*Association of left ventricular strain and E/e' ratio with carotid wall layers*", publicado no periódico Atherosclerosis. 2020 Oct;310:109-110. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.08.008.



Contents lists available at ScienceDirect

Atherosclerosis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/atherosclerosis

Correspondence

Association of left ventricular strain and E/e' ratio with carotid wall layers

ARTICLE INFO

Keywords

Intima-media thickness
Intima layer
Media layer
Strain
Tissue Doppler
Echocardiography
Ultrasound

To the Editor,

In an interesting report published in July 2020, Nakanishi et al. showed that greater carotid intima-media thickness (cIMT) was associated with abnormal left ventricular (LV) global longitudinal strain (GLS) and E/e' ratio values in a community-based population [1]. As stated by the authors, the mechanisms underlying these associations are still uncertain. It is noteworthy that cIMT does not discriminate wall thickening due to increases in intima thickness (cIT), a more proper marker of atherosclerosis, or media thickness (cMT), a layer mostly composed of vascular smooth muscle cells [2,3]. Therefore, evaluation of carotid wall layers might provide additional insights regarding the relationship between cIMT and markers of cardiac function.

To address this issue, we evaluated 184 consecutive outpatient hypertensive patients followed at a university hospital by clinical, carotid ultrasound and echocardiography analysis. Blood pressure (BP) was measured in the supine position using a HEM-7113 device (Omron Corp., Kyoto, Japan), immediately before carotid analysis. High-resolution images of the left and right common carotid artery (CCA) 2 cm proximal to the carotid bifurcation were obtained from each participant by a skilled physician using a Vivid q device (General Electric, Milwaukee, USA) equipped with a 12L-RS transducer set at 10MHz [3]. Using the ImageJ software (NIH, Bethesda, USA), five measurements of cIT, cMT and cIMT of each CCA (left and right) were manually performed and the average of the 10 measurements was used to calculate CCA layers' thickness of each subject [3]. Intraobserver variabilities for cIT, cMT and cIMT were <2.4%, while interobserver variabilities were <4.8%. CCA artery compliance was calculated as [(systolic CCA diameter-diastolic CCA diameter)/diastolic CCA diameter]/[(systolic BP-diastolic BP)*1000], while stiffness index was calculated as [ln(systolic BP/diastolic BP)]/[(systolic CCA diameter-diastolic CCA diameter)/diastolic CCA diameter] [4]. LV structure and function were assessed with a Vivid q device equipped with a 3S-RS transducer and measurements of LV mass, relative wall thickness (2*posterior wall

thickness/end-diastolic LV diameter), LV ejection fraction (determined by Simpson's method), GLS and tissue-Doppler derived E/e' ratio were performed [5,6]. GLS data were available in 136 (74%) individuals. The protocol conforms to the Declaration of Helsinki and was approved by the University of Campinas Ethics Committee. All participants gave written consent. Unadjusted and multivariable linear regression analysis adjusted for age, sex, systolic BP, body mass index, diabetes mellitus, smoking, hypercholesterolemia, coronary artery disease, LV mass index, relative wall thickness and CCA artery compliance (or CCA stiffness index) evaluated the association of carotid layers with cardiac function parameters. *p*-values <0.05 were considered statistically significant.

The characteristics of the sample and results of linear regression analysis are shown in Tables 1 and 2, respectively. Worse GLS values were associated with greater cIT in unadjusted and adjusted models, and tended to show an association with greater cIMT solely in unadjusted analysis. LV ejection fraction showed no association with carotid layers, while E/e' ratio directly associated with cMT and cIMT, but not with cIT, in unadjusted and adjusted models (Table 2).

The current analysis provides novel evidence that higher cIT is related to worse GLS, while higher cMT is associated with increased E/e' ratio in hypertensive patients. These findings indicate that increases in cIT and cMT are related to LV systolic and diastolic dysfunction, respectively, and suggest that distinct components of carotid wall may be driving the reported association between cIMT and cardiac function alterations [1].

The association between GLS and cIT raises the hypothesis that LV systolic dysfunction is coupled with greater atherosclerotic burden, which might contribute to explain the greater risk of atherosclerotic events reported for individuals with abnormal GLS [7]. Conversely, the association of E/e' with cMT, but not cIT, suggests that mechanisms unrelated to atherosclerosis may be involved in the relationship between cIMT and LV diastolic dysfunction, and that carotid media layer remodeling and LV diastolic dysfunction share similar underlying mechanisms. Importantly, carotid wall layers remained related to

DOI of original article: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.05.019>.

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.08.008>

Received 29 July 2020; Accepted 21 August 2020

Available online 25 August 2020

0021-9150/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Table 1
Characteristics of the participants.

Variables	n = 184
Clinical	
Age, years	61.0 ± 10.8
Male sex, %	42
Systolic blood pressure, mmHg	153.4 ± 26.9
Diastolic blood pressure, mmHg	85.4 ± 16.2
Body mass index, kg/m ²	30.5 ± 6.2
Diabetes mellitus ^a , %	52
Hypercholesterolemia ^b , %	76
Smoking, %	7
Coronary artery disease ^c , %	26
Diuretic, %	70
Angiotensin-converting enzyme or angiotensin receptor blocker, %	86
Beta-blocker, %	68
Calcium-channel blocker, %	62
Statin, %	73
Glycated hemoglobin, g/dL	6.1 [5.7, 6.8]
Triglycerides, mg/dL	134 [95, 185]
HDL-cholesterol, mg/dL	44.7 ± 13.0
LDL-cholesterol, mg/dL	91.9 ± 30.5
Creatinine, mg/dL	0.95 [0.76, 1.18]
Common carotid artery	
Intima thickness, mm	0.267 ± 0.060
Media thickness, mm	0.476 ± 0.107
Intima-media thickness, mm	0.743 ± 0.142
Artery compliance, %/10 mm Hg	1.36 [0.92, 2.24]
Stiffness index	6.4 [3.9, 8.9]
Echocardiography	
Left ventricular mass index, g/m ²	111.8 ± 31.0
Relative wall thickness	0.45 ± 0.07
Left ventricular ejection fraction, %	62.8 ± 10.7
Global longitudinal strain, % (n = 136)	−16.4 ± 4.4
E/e' ratio	9.2 [7.3, 11.6]

Variables with normal and non-normal distribution are presented as mean ± standard deviation and median [25th, 75th percentiles].

^a Diabetes was defined as use of anti-diabetic medications or fasting glucose ≥ 126 mg/dL or glycated hemoglobin ≥ 6.5 g/dL.

^b Hypercholesterolemia was defined as use of cholesterol-lowering medications or LDL-cholesterol > 130 mg/dL.

^c Coronary artery disease was considered as previously documented acute coronary syndrome or myocardial infarction or cardiac ischemia evidenced by complementary methods.

cardiac function parameters after adjusting for carotid artery compliance or stiffness index, which indicates that decreases in arterial distensibility due to increases in wall thickness might have not played a major role in this regard [8].

The present analysis has some limitations. The lower sample size of participants with GLS exams probably limited our ability to detect a significant association between GLS and cIMT. Furthermore, we evaluated hypertensive individuals, which usually have greater vascular and cardiac damage than community-based populations.

Taken together, our findings strengthen the conclusions by Nakanishi et al. [1] that increased carotid wall thickness is related to cardiac dysfunction, and provide novel evidence that carotid wall layers are associated with distinct aspects of cardiac function.

Financial support

The study was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 306154/2017–0) and São Paulo Research Foundation (FAPESP 2013/07607–8).

Declaration of competing interest

The authors declared they do not have anything to disclose regarding

Table 2
Association of carotid wall layers and echocardiography markers of cardiac function.

Dependent variables	Intima thickness		Media thickness		Intima-media thickness	
	Beta ±SE	p-value	Beta ±SE	p-value	Beta ±SE	p-value
Global longitudinal strain						
Unadjusted	21.1 ± 6.5	0.002	2.4 ± 3.7	0.52	5.3 ± 2.9	0.07
Adjusted model ^a	16.4 ± 7.1	0.023 ^b	1.6 ± 4.1	0.69	4.2 ± 3.2	0.19
Left ventricular ejection fraction						
Unadjusted	−9.9 ± 13.3	0.46	−1.2 ± 7.4	0.88	−2.4 ± 5.6	0.67
Adjusted model ^b	−15.1 ± 13.5	0.27	−2.1 ± 7.8	0.79	−4.2 ± 6.0	0.48
E/e' ratio^b						
Unadjusted	0.71 ± 0.48	0.13	0.84 ± 0.27	0.002	0.61 ± 0.20	0.003
Adjusted model ^b	0.42 ± 0.46	0.36	0.73 ± 0.26	0.005 ^d	0.52 ± 0.20	0.010 ^e

Beta ± SE – Beta coefficient ± standard error.

^a Adjusted for age, sex, systolic blood pressure, body mass index, diabetes mellitus, smoking, hypercholesterolemia, coronary artery disease, left ventricular mass index, relative wall thickness and carotid artery compliance.

^b E/e' ratio was log transformed to enter the linear regression model.

^c $p = 0.029$ in a model that included carotid stiffness index instead of carotid artery compliance.

^d $p = 0.007$ in a model that included carotid stiffness index instead of carotid artery compliance.

^e $p = 0.012$ in a model that included carotid stiffness index instead of carotid artery compliance.

conflict of interest with respect to this manuscript.

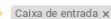
References

- [1] K. Nakanishi, M. Daimon, Y. Yoshida, et al., Carotid intima-media thickness and subclinical left heart dysfunction in the general population, *Atherosclerosis* 305 (2020) 42–49.
- [2] K.A. Rodriguez-Macias, L. Lind, T. Naessen, Thicker carotid intima layer and thinner media layer in subjects with cardiovascular diseases. An investigation using noninvasive high-frequency ultrasound, *Atherosclerosis* 189 (2006) 393–400.
- [3] A.V. Sardeli, A.F. Gaspari, G. de Rossi, et al., Carotid intima-media thickness is associated with media rather than intima thickness, *Atherosclerosis* 261 (2017) 169–171.
- [4] M.C. Ferreira-Sae, J.A. Cipolli, M.E. Cordeiro, et al., Sodium intake is associated with carotid artery structure alterations and plasma matrix metalloproteinase-9 upregulation in hypertensive adults, *J. Nutr.* 141 (2011) 877–882.
- [5] W. Nadruz Jr., B. Claggett, A. Gonçalves, et al., Smoking and cardiac structure and function in the elderly: the ARIC study (atherosclerosis risk in communities), *Circ Cardiovasc Imaging* 9 (2016), e004950.
- [6] R. Lacchini, A.L. Jacob-Ferreira, M.R. Luiz, et al., Common matrix metalloproteinase 2 gene haplotypes may modulate left ventricular remodeling in hypertensive patients, *J. Hum. Hypertens.* 26 (2012) 171–177.
- [7] L. Al Saikhan, C. Park, R. Hardy, A. Hughes, Prognostic implications of left ventricular strain by speckle-tracking echocardiography in the general population: a meta-analysis, *Vasc. Health Risk Manag.* 15 (2019) 229–251.
- [8] S.G. Lage, L. Kopel, M.C. Monachini, et al., Carotid arterial compliance in patients with congestive heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy, *Am. J. Cardiol* 74 (1994) 691–695.

Luís F.R.S. Carvalho-Romano, Rafael P. Bonafé, Layde R. Paim, Edmilson R. Marques, Camila F.L. Vegian, José A. Pio-Magalhães, Daniel S.S. Mello, Roberto Schreiber, Andrei C. Sposito, José R. Matos-Souza, Wilson Nadruz Jr.*

Department of Internal Medicine, School of Medical Sciences, State University of Campinas, São Paulo, Brazil

* Corresponding author. Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, 13081-970, Campinas, SP, Brazil.
E-mail address: wilnj@fcm.unicamp.br (W. Nadruz).

Permission to reproduce an article (doi: 10.1038/s41371-021-00565-w) in my Ph.D. thesis. 



Luis Felipe Carvalho <luisfelpersc@gmail.com>
para journalpermissions, Wilson ▾

ter., 6 de jul. 09:17 ☆ ↶ ⋮

Campinas, 06/jul/2021

To: Nature Publishing Group Journal Permission Department

We are writing to you in order to obtain a permission to reproduce the following article published in the *Journal of Human Hypertension* in my Ph.D. thesis:

Carvalho-Romano LFRS, Bonafé RP, Paim LR, Marques ER, Vecian CFL, Pio-Magalhães JA, Mello DSS, de Rossi G, Coelho-Filho OR, Schreiber R, Sposito AC, Matos-Souza IR, Nadruz W Jr. Association of carotid wall layers with atherosclerotic plaques and cardiac hypertrophy in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens*. 2021 Jun 15. doi: 10.1038/s41371-021-00565-w. Epub ahead of print. PMID: 34131263.

This thesis/dissertation is for academic use only and it is not going to be used for commercial, advertising or promotion purposes. I am planning to make 2 printed copy of my thesis/dissertation. One of these copies will be displayed at The State University of Campinas (Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, Brazil) library. In addition, an electronic version of the thesis will be made available at the University Thesis Database. I thank you very much in advance.

Best regards

[Luis F. R. S. Carvalho-Romano](#), MD

Internal Medicine Ph.D. Student

School of Medical Sciences

State University of Campinas

Brazil

[Wilson Nadruz Junior](#), MD, PhD

Supervisor of [Luis F. R. S. Carvalho-Romano](#)

Associate Professor of Cardiology

School of Medical Sciences

State University of Campinas



Journalpermissions

para Wilson, mim ▾

20 de jul. de 2021 11:49 (há 1 dia) ☆ ↶ ⋮

 inglês ▾ > português ▾ Traduzir mensagem

Desativar para: inglês ×

Dear Dr. Carvalho

Thank you for your recent Springer Nature permissions request.

Please find the most relevant parts of our author reuse policy below:

As an author, you retain certain non-exclusive rights over the 'Published Version' for which no permissions are necessary as long as you acknowledge and reference the first publication. These include:

To reproduce, or allow a third party to reproduce the Article in whole or in part in any printed volume (book or thesis) authored by you.

Feel free to go ahead and reuse your previous work.

You may also wish to refer to our 'Reprints and Permissions' FAQs on Springer.com: <https://www.springernature.com/gp/partners/rights-permissions-third-party-distribution>

Best wishes,

Bod

Bod Adegboyega

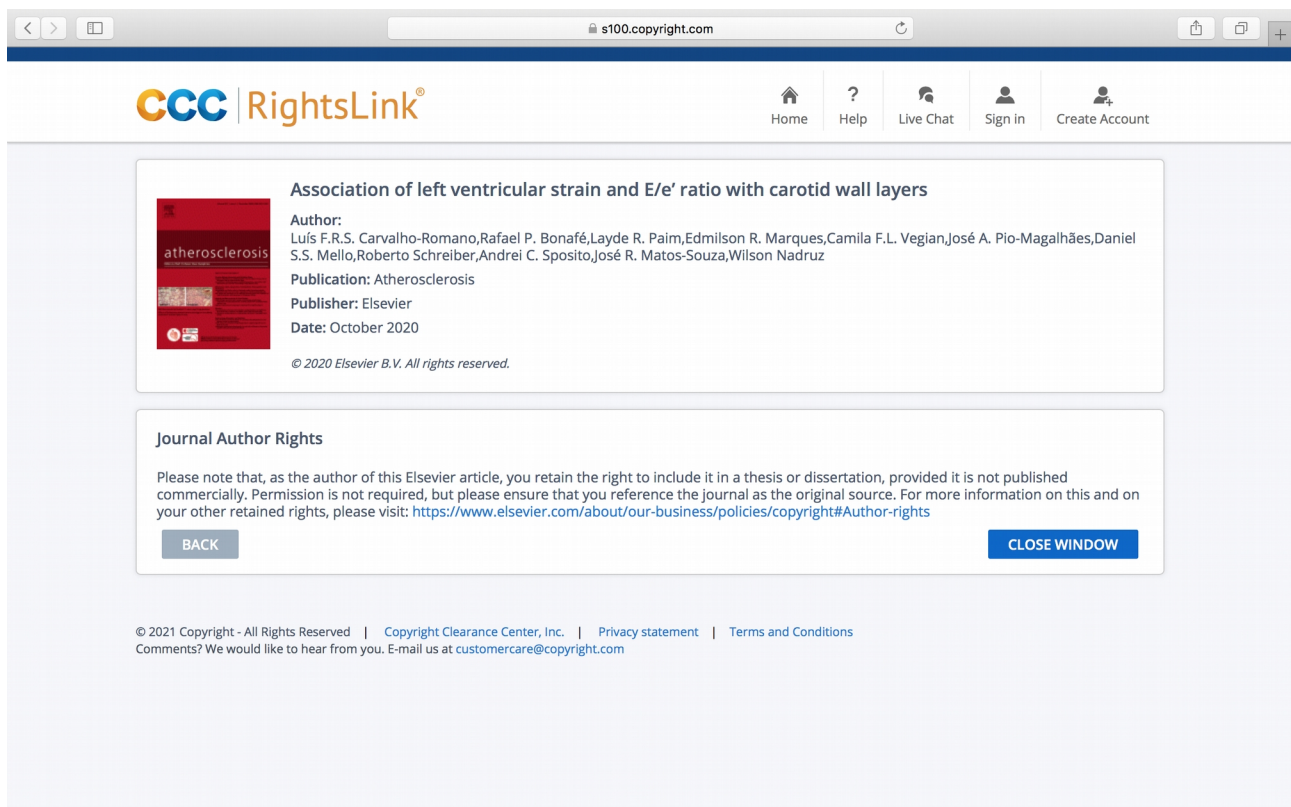
Permissions Assistant

Springer Nature

4 Crinan Street, London N1 9XW, UK

T +44 (0) 442034263235

Bod.adegboyega.1@springernature.com



CCC RightsLink®

HomeHelpLive ChatSign inCreate Account



Association of left ventricular strain and E/e' ratio with carotid wall layers

Author: Luís F.R.S. Carvalho-Romano, Rafael P. Bonafé, Layde R. Paim, Edmilson R. Marques, Camila F.L. Vegian, José A. Pio-Magalhães, Daniel S.S. Mello, Roberto Schreiber, Andrei C. Sposito, José R. Matos-Souza, Wilson Nadruz

Publication: Atherosclerosis

Publisher: Elsevier

Date: October 2020

© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Journal Author Rights

Please note that, as the author of this Elsevier article, you retain the right to include it in a thesis or dissertation, provided it is not published commercially. Permission is not required, but please ensure that you reference the journal as the original source. For more information on this and on your other retained rights, please visit: <https://www.elsevier.com/about/our-business/policies/copyright#Author-rights>

BACKCLOSE WINDOW

© 2021 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Terms and Conditions
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customer@copyright.com