

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

**Evaluarea microvascularizației renale prin
ecografia cu substanță de contrast la
bolnavii cu hipertensiune arterială**

REZUMAT

CONDUCATOR ȘTIINȚIFIC

Prof. Dr. Alexandru Câmpeanu

Membru al Academiei de Științe Medicale din România

DOCTORAND

Dr. Liliana Albușoiu

București

2017

REZUMAT

La nivel mondial, hipertensiunea arterială esențială (HTA) reprezintă o problemă de sănătate publică, fiind principala cauză de morbiditate și mortalitate prin boli cardiovasculare, având o prevalență în creștere, puțin influențată de terapia actuală¹.

Afectarea renală în HTA este frecventă, iar gradul afectării renale este considerat un factor predictiv major pentru viitoarele evenimente cardiovasculare și mortalitate².

Adaptarea microcirculației glomerulare la creșterile cronice ale tensiunii arteriale (TA) sistemice prin creșterea rezistenței arteriolei aferente duce la menținerea valorilor normale ale presiunii intraglomerulare, ale fluxului plasmatic glomerular și a ratei de filtrare glomerulară per nefron ducând la menținerea unei funcții renale normale la pacientul hipertensiv pe o perioadă lungă de timp. Valorile crescute ale TA la nivel renal determină activarea sistemului renină-angiotensină-aldosteron (SRAA) cu implicații patogenice în remodelarea structurală și funcțională tisulară și vasculară, determinând astfel menținerea valorilor crescute ale TA, progresia bolii și afectarea organelor țintă. Persistența îndelungată a valorilor tensionale crescute poate determina apariția nefroangiosclerozei hipertensive, cauză importantă de insuficiență renală (IR).

Modificările structurale și funcționale ale microvascularizației renale reprezintă factorul determinant principal în inițierea și apariția nefrosclerozei și sunt evidențiate în stadiile tardive ale bolii, fiind dificil de diagnosticat prin metodele actuale în stadiile incipiente. Leziunea principală de la nivelul nefronilor din HTA este glomeruloscleroza focală segmentară (GSFS), constând în proliferarea țesutului conjunctiv la nivelul unor nefroni din anumite zone ale rinichilor, fiind constituită din alterarea podocitelor urmată de proliferarea mezangială, endotelială și epitelială, ducând în final la colabarea capilarelor. Mecanismul patogenic este incomplet elucidat, factorii circulatori fiind considerați responsabili pentru apariția GSFS³.

În prezent, diagnosticul modificărilor renale induse de HTA se bazează pe elementele care evidențiază reducerea funcției renale și / sau detecția nivelului excreției urinare de albumină. Studii recente au demonstrat că microalbuminuria, proteinuria și testele care evidențiază reducerea funcției renale nu sunt specifice pentru nefroscleroza hipertensivă^{4,5}. Astfel, diagnosticul nefrosclerozei hipertensive se face doar prin evidențierea modificărilor renale morfologice cum ar fi modificarea grosimii intimei și a lumenului în arterele renale și în arteriolele glomerulare, proliferarea țesutului conjunctiv în anumiți nefroni din diferite

zone are rinichiului și asocierea nefritei interstițiale⁶⁻⁸.

Biopsia renală rămâne metoda de diagnostic considerată „gold standard” în nefroscleroza hipertensivă datorită faptului că rinichiul poate compensa pentru o lungă perioadă de timp schimbările în variația presiunii sanguine din arterele renale și arteriolele glomerulare, boala fiind ocultă pentru mulți ani. Nu există criterii standardizate pentru efectuarea biopsiei renale în nefroscleroza hipertensivă, decizia aparținând medicului curant care trebuie să evalueze cu grijă raportul risc-beneficiu, metoda fiind invazivă prin complicațiile clinice severe pe care le poate declanșa, din acest motiv fiind rareori indicată în practica clinică de rutină⁹.

Metodele imagistice actuale disponibile nu sunt specifice pentru evaluarea modificărilor microvascularizației renale și îndeosebi nu sunt aplicabile pacienților cu afectare renală, fiind costisitoare, unele dintre ele invazive și iradiante, cu risc mare de nefrotoxicitate¹⁰⁻¹⁵.

Afectarea structurală și funcțională a microvascularizației renale în stadiile tardive ale bolii este importantă și poate fi amenințătoare pentru viață. Detectarea precoce a acestor modificări duce la intervenții precoce și modificări în managementul terapeutic al pacientului pentru a salva funcția renală și a preveni progresia lentă a bolilor renale. Adicional, incidența, dezvoltarea și prognosticul multor boli renale sunt strâns legate de modificările perfuziei renale. De aceea, tehnica prin care pot fi identificate precoce modificările microvascularizației renale ar trebui să fie o metoda utilă de diagnostic pentru nefroscleroza hipertensivă și de asemeni pentru evaluarea eficacității terapeutice.

În acest context, ecografia cu substanță de contrast (CEUS) apare ca o perspectivă promițătoare fiind o tehnică imagistică nouă ce vine să completeze tabloul investigațiilor imagistice de ultimă generație, impunându-se prin lipsa de invazivitate, ușurința și flexibilitatea în realizare, durata scurtă a examinării, repetitivitatea înaltă și examinarea în timp real, având o siguranță și o sensibilitate crescută în studiul microvascularizației organelor și leziunilor examinate ecografic¹⁶⁻¹⁹. Cu o înaltă rezoluție spațială și temporală, CEUS îmbunătățește imagistica fluxului sanguin la nivel macro- și microvascular permițând vizualizarea vaselor de sânge aflate sub limita rezoluției Doppler și evidențierea modificărilor precoce de la acest nivel.

Completarea observațiilor obținute în timpul real al examinării CEUS asupra microvascularizației cu analiza cantitativă a curbelor de încărcare TIC (time intensity curve) prin utilizarea ecografiei dinamice cu substanță de contrast (DCE-US), a dus la creșterea acurateții diagnosticului CEUS²⁰.

Caracteristicile fizico-chimice ale substanței de contrast ecografice de generația a doua (SonoVue®) și profilul de siguranță ridicat permit utilizarea acesteia la majoritatea bolnavilor, inclusiv la cei care prezintă afectare renală¹⁶.

Datele din literatura arată importanța CEUS în studiul microvascularizației renale la bolnavii cu diabet, în transplantul renal, la cei supuși intervențiilor chirurgicale cardiace sau la cei internați în secțiile de terapie intensivă cardiovasculară²¹⁻²⁴.

Nu există date în literatura de specialitate privind utilizarea CEUS în studiul microvascularizației renale la bolnavii cu HTA.

Dată fiind importanța problemei, studiul actual și-a propus să stabilească rolul și valoarea CEUS în evaluarea modificărilor microvascularizației renale la bolnavii cu HTA aflați în stadiile precoce și tardive ale bolii.

PARTEA GENERALĂ

HTA, definită prin valori ale tensiunii arteriale sistolice (TAs) ≥ 140 mmHg și/sau ≥ 90 mmHg pentru tensiunea arterială diastolică (TAd), este clasificată conform Ghidului 2013 ESH-ESC în HTA gradul I (TAs = 140-159 mmHg sau TAd = 90-99 mmHg), HTA gradul II (TAs = 160-179 mmHg sau TAd = 100-109 mmHg) și HTA gradul III (TAs ≥ 180 mmHg sau TAd ≥ 110 mmHg), în timp ce valorile TAs = 130-139 mmHg sau TAd = 85-89 mmHg sunt considerate normal înalte².

Patologia cardiovasculară (CV) reprezintă cauza principală de decese din întreaga lume (în Europa 47% din totalul deceselor, iar în România peste 62.5%) dintre care HTA este responsabilă de 13.5% din numărul acestora, fiind considerat cel mai important factor de risc în patologia CV^{1,25}.

În Europa, prevalența HTA este estimată la aproximativ 35-40% din populația generală, existând discrepanțe între țările vestice și cele estice, prevalența fiind mai crescută în țările est-europene^{26,27}.

În România, conform celor mai recente studii epidemiologice efectuate pe eșantioane reprezentative în populația adultă (SEPHAR I cu 2017 subiecți incluși și SEPHAR II cu 1975 subiecți incluși) prevalența decelată a HTA este de 40,1%, respectiv 40.4%^{27,28}.

Cauzele HTA rămân necunoscute în aproximativ 90% din cazurile ce definesc hipertensiunea arterială esențială (HTAE), o afecțiune heterogenă ce rezultă din interacțiunea complexă a factorilor genetici cu mecanisme neuro-hormonale complexe, disfuncția endotelială, inflamația sistemică, stresul oxidativ și factori de risc asociați.

Organele țintă afectate de HTA sunt cordul, sistemul nervos, retina, arterele periferice și rinichiul. Modificarile aterosclerotice determinate de HTA la nivelul acestor organe se produc atât prin efectul mecanic direct al creșterii presiunii la nivelul pereților arteriali cât și prin numeroase alte mecanisme neuromorale și celulare implicate în patogeneza bolii. Studii recente arată creșterea riscului CV proporțional cu numărul organelor afectate²⁹⁻³⁰.

Relația dintre rinichi și HTA este una complexă și biunivocă și a constituit baza cercetărilor științifice de mai bine de un secol. HTA accelerează declinul funcției renale, fapt intuit încă de la definirea conceptului de HTA (de peste 100 de ani), dar demonstrat științific doar în ultimile trei decenii. Totodată, boala cronică de rinichi (BRC) determină creșteri ale TA, HTA fiind prezentă la 80% din pacienții cu BRC³⁰.

Boala cronică renală este clasificată în funcție de estimarea ratei de filtrare glomerulară (eRFG), calculată după o serie de formule care iau în considerare vârsta, sexul, etnia și creatinina serică. Aceste formule permit detectarea modificărilor funcției renale atunci când nivelul creatininei serice este în limite normale³¹.

Coexistența diabetului zaharat (DZ) și a HTA, afecțiuni profund intercorelate, acționează sinergic în producerea leziunilor macro și microvasculare³². În DZ tip 1, HTA sistemică își are debutul în jurul perioadei de microalbuminuriei, determinând accelerarea proteinuriei și scăderea semnificativă a eRFG la bolnavii cu nefropatie diabetică³³.

Detectarea afectării renale în cadrul HTA constituie un factor predictiv independent al evenimentelor CV și al mortalității CV².

Ecografia cu substanța de contrast (CEUS – Contrast Enhanced Ultrasound) este o tehnică imagistică rapidă ce completează diagnosticul clinic și paraclinic al bolnavului prin evaluarea microvascularizației de la nivelul organelor examinate în timp real. Această tehnică permite explorarea vaselor de sânge cu diametru mai mic de 100 μm ceea ce depășește cu mult limita de rezoluție a tehnicii convenționale Doppler (1 mm). Ecografia cu substanță de contrast este folosită în special în diagnosticul diferențial al tumorilor hepatice, dar și a altor formațiuni de la nivelul organelor investigate ultrasonografic. Studiile efectuate până în prezent arată că CEUS, având o înaltă rezoluție spațială și temporală, îmbunătățește imagistica fluxului sangvin și a vascularizației leziunilor în timp real și poate evidenția modificările precoce ale microvascularizației de la nivelul organelor studiate¹⁹.

Ecografia cu substanță de contrast (CEUS – contrast enhanced ultrasound) este o tehnică imagistică relativ recentă ce s-a dezvoltat rapid, odată cu descoperirea microbulelor și a posibilităților de a le detecta separat de țesuturi, prin amplificarea semnalului ecografic dat de microbule, având avantajul vizualizării în timp real a macro și microvascularizației

structurilor tisulare accesibile explorării ultrasonografice și ulterior a cuantificării dinamice a acestuia¹⁹.

CEUS îmbunătățește detecția și caracterizarea leziunilor comparativ cu explorarea convențională în modul B având o utilizare în creștere în practica clinică curentă, atât în diagnosticul imagistic cât și în procedurile pre și post intervenționale¹⁹.

Introducerea cuantificării ecografice dinamice cu substanță de contrast (DCE-US, Dynamic Contrast Enhanced Ultrasound) reprezintă un pas înainte în evaluarea captării substanței de contrast prin analiza curbelor de încărcare în timp (TIC, time intensity curve) aducând informații importante în ceea ce privește diferențierea dintre parenchimul normal și cel patologic și dintre leziunile focale și țesutul din jur, fiind superioară evaluării subiective efectuată în „timp real” ducând la creșterea acurateții diagnosticului CEUS²⁰.

PARTEA SPECIALĂ

Obiectivul principal al acestui studiu a fost de a evalua prin ecografia cu substanță de contrast modificările microvascularizației renale la bolnavii cu HTA aflați în diferite stadii evolutive. Secundar, studiul a urmărit stabilirea valorii ecografiei cu substanță de contrast în evaluarea modificărilor microvascularizației renale la bolnavii cu HTA precum și a tolerabilității și siguranței utilizării CEUS la bolnavii hipertensivi.

Studiul prezent a fost unul prospectiv și observațional și a inclus 108 bolnavi cu hipertensiune arterială esențială (HTA) cu sau fără comorbidități asociate, cu vârsta medie 61.95 ± 10.96 ani, internați în perioada octombrie 2013 – august 2015 în Clinica de Cardiologie și Medicină Internă a Spitalului Clinic „Prof. Dr. Th. Burghel” din București, diagnosticați și tratați conform ghidului Societății Europene de Cardiologie din 2013² (cu TA sistolică mai mare de 140 mmHg și/sau TA diastolică mai mare de 90 mmHg), aflați în diferite stadii de evoluție (gradul 1 = 15 bolnavi, gradul 2 = 35 bolnavi și gradul 3 = 58 bolnavi) și 21 adulți voluntari sănătoși cu vârsta medie 50.86 ± 11.14 ani incluși în grupul de control pentru comparare.

Din cei 108 bolnavi hipertensivi incluși în studiu, 34 de bolnavi (31,48%) au avut diabet zaharat (DZ) și 11 bolnavi (10,18%) au avut boală renală cronică (BRC) ca și comorbidități asociate. Bolnavii cu DZ și BRC au fost incluși apoi separat în două sub-grupuri (HTA cu DZ și HTA cu BRC) pentru a fi comparați cu grupul bolnavilor cu HTA fără comorbidități și cu grupul de control.

Criteriile de includere în studiu au fost: bolnavii cu HTA esențială în diferite stadii de

evoluție diagnosticată conform recomandărilor Ghidului Societății Europene de cardiologie din 2013² și controlați terapeutic (cu valori ale TA sub 140/90 mmHg la două determinări succesive), cu vârsta cuprinsă între 25 și 75 de ani, la ambele sexe, cu sau fără comorbidități asociate (incluzând diabet zaharat și boala renală cronică), tratați sau nu cu medicație antihipertensivă.

Criteriile de excludere din studiu au fost: HTA secundară, HTA cu valori necontrolate terapeutic (peste 140/90 mmHg la două determinări succesive), vârsta mai mică de 25 de ani și mai mare de 75 de ani, bolnavii cu neoplazii, cei cu insuficiență hepatică severă și insuficiență cardiacă cu fracția de ejeție mai mică de 50% precum și contraindicațiile administrării SonoVue[®] (șunturi cardiace dreapta – stânga, hipertensiunea pulmonară severă cu presiunea în artera pulmonară > 90mmHg, hipertensiunea arterială necontrolată, sindromul de detresă respiratorie acută, în asociere cu dobutamină la pacienții a căror condiție clinică sugerează instabilitate cardiovasculară, la care dobutamina este contraindicată, sarcina și alăptarea, hipersensibilitate cunoscută la hexafluorura de sulf sau la oricare dintre excipienții SonoVue[®]).

După diagnosticarea și stadializarea bolii conform ghidului european în vigoare, bolnavii au fost evaluați clinic, biologic și paraclinic în vederea stabilirii diagnosticului și a schemei terapeutice adecvate.

Bolnavilor la care s-a obținut normalizarea valorilor tensionale în urma administrării tratamentului stabilit li s-a propus aderarea la studiu cu explicarea amanunțită a scopului studiului, a desfășurării acestuia și a procedurii diagnostice ce urma să fie efectuată, respectiv ecografia cu substanță de contrast. Nu în ultimul rând au fost informați asupra beneficiilor metodei și a posibilelor reacții adverse ce ar fi putut să apară. Cei care au acceptat au primit consimțământul informat și formularul de accept al administrării substanței de contrast SonoVue[®], fiind rugați să răspundă corect și exact întrebărilor incluse în acest formular. După semnarea celor două formulare (consimțământul informat și formularul de accept al administrării substanței de contrast ecografice) au fost pregătiți pentru efectuarea ecogra fiei cu substanța de contrast (CEUS).

În mod similar, cei 21 de voluntari sănătoși au fost investigați clinic și biologic pentru confirmarea stării lor de sănătate. După semnarea celor două formulare (consimțământul informat și acceptul pentru administrarea SonoVue[®]), voluntarii incluși în grupul control au beneficiat de aceeași pregătire în vederea efectuării CEUS.

Pregătirea pentru efectuarea CEUS a constat în respectarea repaosului în poziție șezândă pentru o perioadă de aproximativ 15 minute, apoi măsurarea valorilor TA și a

pulsului. Dacă valorile TA au fost în limite normale (TA sistolică sub 140 mmHg și TA diastolică sub 90 mmHg), o branulă cu diametru de 20 Gauge (de culoare roz) a fost aplicată la vena de la plica cotului a membrului superior stâng în vederea administrării substanței de contrast.

Toți subiecții incluși în studiu au fost investigați CEUS o singură dată. Datorită fondurilor insuficiente pentru achiziția substanței de contrast ecografice, repetarea metodei la 3, 6 și 9 luni în vederea evaluării eficacității terapeutice asupra microcirculației renale nu a putut fi efectuată.

Evaluarea CEUS a microvascularizației renale s-a realizat în 2 etape: în prima etapă s-a observat dinamica pasajului substanței de contrast la nivelul parenchimului renal, fiind evaluate fazele vasculare renale în timp real, urmată apoi de a doua etapă în care s-a efectuat evaluarea cantitativă (analiza TIC) a curbelor de încărcare de la nivelul parenchimului renal prin ecografia dinamică cu substanță de contrast (DCE-US). Cea de-a doua etapă de evaluare cantitativă s-a făcut după încheierea investigației CEUS, procesând imaginile care au fost înregistrate continuu timp de 3 minute începând din momentul injectării contrastului. După terminarea investigației CEUS toți participanții la studiu au fost monitorizați timp de 30 de minute pentru observarea posibilelor reacții adverse și/sau a modificărilor parametrilor biologici (TA, puls).

Caracteristicile grupului de studiu au evidențiat diferențe semnificative din punct de vedere statistic la anumiți parametri, atât între lotul control și grupul total de hipertensivi cât și între gradele HTA. Au fost evaluate datele demografice (sexul, vârsta, greutatea, înălțimea, IMC), gradul HTA, valorile TA la internare, vechimea bolii, valori sanguine biochimice uzuale, densitate urinară, proteinurie, eRFG.

Distribuția pe sexe în grupul total de studiu a fost relativ omogenă, cu preponderența numerică a sexului feminin în gradul 3 al HTA și în lotul de control (58.3% femei / 41.7% bărbați în grupul HTA și 61.9% femei / 38.1% bărbați în grupul control), tendința observată și în populația generală unde procentul sexului feminin este de 58.2% în urma rezultatelor celor mai recente studii epidemiologice³⁴.

Vârsta medie a bolnavilor din lotul HTA fost de 61.60 ± 10.34 ani (52.27 ± 13.59 ani în HTA gradul 1 și 64.38 ± 8.74 ani în HTA gradul 3), mai crescută comparativ cu vârsta medie a bolnavilor hipertensivi din populația generală care este de 50.58 ± 9.7 ani³⁴. Explicația pentru această diferență rezidă din faptul că au fost incluși în studiu bolnavi internați într-o Clinică de Medicină Internă și Cardiologie și nu din populația generală.

Valoarea medie a TAs la internare în grupul total al HTA a fost de 156.00 ± 24.52

mmHg, iar a TAd de 89.54 ± 12.78 mmHg, mai mari decât cele stabilite de ghidul ESC/ESH al HTA ce recomandă valori ≤ 140 mmHg pentru TAs și ≤ 90 mmHg pentru TAd măsurate în cabinet ca și ținte ale tratamentului antihipertensiv², sugerând lipsa controlului terapeutic optim, acesta fiind și motivul principal al prezentării bolnavilor pentru internare.

Rata de filtrarea glomerulară estimată conform formulei Cockcroft-Gault (eRFG), creatinina și ureea serică s-au corelat cel mai bine cu gradul HTA în grupul de studiu, confirmând afectarea renală din HTA evidențiable în special în stadiile tardive ale bolii, valorile obținute fiind susținute puternic de datele din literatura de specialitate prin dovezi epidemiologice^{35,36}. Există autori însă care susțin că afectarea renală în HTA este secundară unei boli renale preexistente, aceasta fiind agravată de prezența HTA^{37,38}.

În studiul prezent, proteinuria decelată în urina de dimineață nu a înregistrat diferențe semnificative din punct de vedere statistic între grupurile studiate datorită numărului mic de bolnavi la care a fost semnalată, deși numărul bolnavilor la care s-a decelat prezența proteinelor în urină a crescut de la 0 în HTA gradul 1 la 5 în HTA gradul 2 și la 13 în HTA gradul 3.

Valoarea medie a colesterolului total în grupul HTA a fost de 213.33 ± 47.04 mg/dL, depășind valoarea recomandată de Ghidul ESC/ESH 2013 care impune o valoare prag de 190 mg/dL pentru colesterolul total, depășirea acesteia fiind considerată un factor de prognostic negativ în stratificarea riscului CV total².

Valoarea medie a LDL colesterol a fost în grupul HTA de 136.50 ± 47.76 mg/dL mai mare decât valoarea limită admisă în Ghidul ESC/ESH 2013 care impune un prag de 115 mg/dL pentru LDL colesterol, orice depășire a acestei valori fiind considerată un factor de prognostic negativ în stratificarea riscului CV total².

Glicemia a înregistrat valori medii de 105.08 ± 10.06 mg/dL în HTA gradul 1, ajungând la 111.62 ± 26.82 mg/dL în HTA gradul 3, cu o valoare medie în grupul HTA total de 114.75 ± 36.97 mg/dL, ușor crescute față de valorile glicemiei plasmatice impuse de Ghidul 2013 ESC/ESH ($102-125$ mg/dL)².

Valoarea medie a indicelui de masă corporală (IMC) nu a depășit valoarea limită admisă de Ghidul 2013 ESC/ESH (30 kg/m^2) care certifică prezența obezității², ajungând la $28.54 \pm 5.18 \text{ Kg/m}^2$ în grupul HTA total, scăzând de la $28.80 \pm 3.77 \text{ kg/m}^2$ în HTA gradul 1 la $28.62 \pm 5.29 \text{ kg/m}^2$ în HTA gradul 3.

Colesterolul total, LDL colesterol-ul, glicemia, IMC-ul și VSH-ul au evidențiat diferențe semnificative statistic între toate gradele HTA și grupul de control, aceste valori fiind susținute de studii epidemiologice ce evidențiază prezența factorilor de risc tradiționali

la hipertensivi într-un procent crescut: 65% dislipidemie, 45% IMC crescut / obezitate, 16-31.5% diabet zaharat tip II³⁹.

Acidul uric a înregistrat valori medii la limita superioara normală la bolnavii incluși în studiu cu mici variații între gradele de HTA (neseemnificative statistic): 6.14 ± 1.25 mg / dL în HTA grad 1 la 6.17 ± 1.88 mg/dL în HTA gradul 3, cu o valoare medie în HTA total de 6.02 ± 1.66 mg/dL. Studii clinice recente arată valori semnificativ crescute ale uricemiei la bolnavii cu HTA comparativ cu cei fără HTA^{40,41}. Valorile relativ normale ale acidului uric în grupul HTA din prezenta cercetare sunt explicate de efectul medicației antihipertensive asupra acestui parametru biochimic așa cum demonstrează datele din literatură⁴².

Comorbiditățile asociate hipertensiunii arteriale reflectă factorii de risc cardiovascular ce coexistă frecvent cu HTA precum și afectarea organelor țintă determinată de HTA.

Dintre factorii de risc asociați, dislipidemia a avut cea mai mare pondere fiind prezentă la 57,4% din bolnavii cu HTA incluși în studiu, urmată de prezența diabetului zaharat tip II (31,4%) și obezitate (15,7%). Valorile obținute în studiul prezent sunt aproximativ similare cu cele din datele de literatură mai puțin cele legate de obezitate care sunt mult mai mici în cazul studiului de față (15.7% față de 45%)⁴³.

Organul țintă cel mai afectat la bolnavii din studiu s-a dovedit a fi cordul, 38,8% din bolnavi având boala coronariană ischemică, aceasta fiind cea mai frecventă afectare de organ țintă în cadrul HTA. Insuficiența cardiacă cu fracție de ejeecție păstrată a fost prezentă la 36.1% din bolnavii incluși în studiu, HTA fiind una din cauzele frecvente ale insuficienței cardiace, explicând procentul mare al bolnavilor cu insuficiență cardiacă ce au în antecedente HTA (75%)⁴⁴. Prezența valvulopatiilor s-a remarcat printr-un procent crescut în special la bolnavii din gradul 3 al HTA, procentul fiind de 31.4% în grupul total HTA, iar fibrilația atrială a fost prezentă la 25% din bolnavii incluși în studiu.

Afectarea vasculară periferică a fost întâlnită în cadrul studiului într-un procent de 22.2%, 24 de bolnavi având boli vasculare periferice dintre care 16 au fost în gradul 3 de HTA, valorile fiind similare cu cele din literatură, datele din literatură susținând creșterea proporțională cu severitatea HTA a riscului de boală arterială periferică de 1.1-2.2 ori⁴⁵.

Afectarea renală clinică definită prin prezența proteinuriei (>300 mg/24 ore) și / sau a eRFG sub 30 mg/min/ 1.73m^2 fost întâlnită la 15.7% din bolnavii incluși în studiu, asocierea puternică dintre HTA și boala renală fiind susținută de dovezi epidemiologice⁴⁶.

Afectarea cerebrovasculară a fost întâlnită în gradul 3 de HTA, 8.3% din bolnavii incluși în studiu având antecedente de AVC (accident ischemic tranzitor, accident vascular cerebral ischemic, hemoragie cerebrală). Conform datelor din literatură, HTA este cel mai

important factor de risc în dezvoltarea accidentului vascular cerebral și în instalarea declinului cognitiv prin afectarea microvasculară de la nivel cerebral^{47,48}.

Retinopatia hipertensivă a fost prezentă la 4.62% din pacienții incluși în studiu, datele din literatură arătând o prevalență în populația generală a retinopatiei avansate între 3 și 14% la adulți cu vârsta peste 40 de ani⁴⁹. Prezența retinopatiei hipertensive s-a remarcat în special la bolnavii din gradul 3 al HTA.

Ecografia cu substanță de contrast (CEUS) s-a dovedit a fi o metodă imagistică competitivă care permite observarea în timp real a perfuziei vasculare⁵⁰⁻⁶³. Evaluarea microvascularizației renale prin CEUS este larg utilizată în prezent în caracterizarea diferitelor mase renale cum ar fi tumori, formațiuni chistice, infarcte, necroza corticală, leziuni induse de traume, etc⁶⁴⁻⁶⁸. Ghidul pentru aplicații non-hepatice al Federației Europene al Societăților pentru Ultrasonografie în Medicină și Biologie (EFSUMB) publicat în 2012 recomandă potențialele indicații pentru utilizarea CEUS în patologia renală⁶⁹.

Numeroase date din literatură arată evidențe cumulative ale modificărilor hemodinamice renale în bolile renale severe cu leziuni difuze^{70,71}. Evaluarea perfuziei microvascularizației renale prin CEUS a fost inițial documentată de numeroasele studii efectuate pe animale care au aratat că CEUS poate să reflecte cu acuratețe modificările fluxului sanguin renal la nivel microvascular, fără să producă nici o modificare tisulară, metoda fiind non-invazivă^{72,73}. Paternul încărcării cu substanță de contrast al parenchimului renal la examinarea CEUS a fost similar la diferite animale studiate: zona corticală renală a fost cea care a captat inițial contrastul, urmată apoi de zona medulară, medulara renală fiind și prima zonă în care intensitatea contrastului începe să scadă fiind urmată apoi de corticala renală⁷⁴. Un alt studiu efectuat la animale a demonstrat că localizarea și mărimea regiunii de interes utilizată în evaluarea perfuziei microvasculare renale nu a determinat modificări semnificative la nivelul parametrilor cantitativi CEUS ce măsurau perfuzia renală⁷⁵, aceste rezultate susținând posibilitatea efectuării de rutină în practica clinică a evaluării CEUS asupra ROI. CEUS a fost de asemenea utilizată pentru evaluarea perfuziei renale la animale și în condiții patologice. La șobolanii cu diabet, perfuzia renală estimată prin CEUS a fost înalt corelată cu modificările patologice de la nivelul rinichilor⁷⁶. Evaluarea microvascularizației renale prin CEUS s-a realizat cu succes și la animalele care prezentau creșterea iatrogenă a cortizolului seric înregistrându-se valori crescute ale parametrilor PI și AUC versus control, în monitorizarea leziunilor de ischemie / reperfuzie renală, în afectarea ischemică renală cronică și în hipertensiunea intra-abdominală precum și în hipoxia globală⁷⁷⁻⁸⁰. La animalele tratate cu norepinefrină, examinarea CEUS a arătat că parametrii cantitativi măsurați au fost

predictivi pentru fluxul plasmatic renal eficient, sugerând faptul ca CEUS poate evalua perfuzia renală după intervenții farmacologice⁸¹.

Măsurarea fluxului sanguin renal în practica clinică curentă reprezintă o provocare în lumea medicală. Metodele utilizate în prezent folosesc acidul para-aminohipuric (considerată gold standard) sau radioizotopi trasori, având o utilizare limitată în aplicațiile de rutină datorită dificultăților tehnice și a manipulării dificile. CEUS oferă o nouă abordare evaluării fluxului sanguin renal prin ușurința și rapiditatea de realizare, lipsa de invazivitate și siguranța crescută. În studiile efectuate la voluntarii sănătoși CEUS a demonstrat o bună corelație a parametrilor cantitativi cu cei obținuți în urma utilizării acidului para-aminohipuric⁸². CEUS și-a dovedit acuratețea în măsurarea perfuziei microvascularizație renale și după administrarea medicamentelor cu acțiune vasoactivă. Studii recente arată scăderea parametrilor CEUS după administrarea de angiotensină II și creșterea acestora după administrarea captoprilului²⁴. De asemenea, CEUS a evaluat cu acuratețe modificarea perfuziei renale după administrarea noradrenalinei și dopaminei precum și scăderea perfuziei renale după administrarea diclofenac-ului sodic dar nu și după administrarea etodolac-ului⁸³⁻⁸⁵. Toate aceste studii au evidențiat utilitatea CEUS în monitorizarea modificărilor microvascularizației renale induse de diferite substanțe farmacologice, justificând utilizarea metodei în practica clinică curentă pentru studierea impactului pe care noile medicamente îl au asupra perfuziei renale.

Studiile efectuate la oameni care au implicat utilizarea CEUS în diferite boli renale difuze dintre care boala renală cronică (BRC), nefropatia diabetică, afectarea renală acută respectiv transplantul renal, au arătat faptul că CEUS poate să reflecte cu acuratețe modificări ale microcirculației renale în timp real atât în afectarea renală acută cât și în predicția rejectului acut sau a întârzierii în funcționare a grefei renale⁸⁶⁻⁹⁰. În BRC s-a demonstrat ca există o întârziere în încărcarea cu substanță de contrast a parenchimului renal, scăderea intensității maxime a încărcării cu contrast precum și accelerarea scăderii intensității contrastului în parenchimul renal. De asemenea, o scădere marcată a AUC a fost remarcată în stadiile incipente ale BRC (stadiul 1 și stadiul 2) comparativ cu lotul de control, rezultate similare fiind obținute și în nefropatia diabetică⁸⁶⁻⁹⁰.

În studiul prezent, fazele vasculare renale au fost semnificativ modificate la evaluarea CEUS în toate comparațiile dintre grupurile HTA versus control. Faza arterială precoce a înregistrat o întârziere în apariția contrastului, întârziere care s-a menținut și la nivelul fazei corticale tardive iar faza medulară a înregistrat scurtarea accelerată a sfârșitului fazei, toate aceste modificări fiind corelate cu progresia bolii, dovedindu-se mai accentuate la bolnavii

care au avut ca și comorbidități asociate diabetul zaharat de tip II (DZ) și boala renală cronică (BRC).

Aceste rezultate sunt similare cu cele raportate în datele din literatură privind evaluarea CEUS a microvascularizației renale la bolnavii cu DZ și BRC.

Lipsa datelor din literatură privind utilizarea CEUS în evaluarea microvascularizației renale la bolnavii cu HTA a făcut ca rezultatele prezentului studiu să fie comparate cu cele ale studiilor efectuate la bolnavii cu DZ sau BRC. Astfel, studiul publicat de Fang Ma în 2012 privind evaluarea CEUS a perfuziei microvasculare renale în afectarea diabetică renală arată o întârziere a apariției substanței de contrast în cortexul renal precum și scăderea accelerată a intensității contrastului din parenchim în grupurile studiate (DZ cu BRC stadiul I-II și DZ cu BRC stadiul IV-V) versus control²². Un alt studiu privind evaluarea CEUS a perfuziei corticale renale la bolnavii cu BRC stadiul I-II arată că nu există întârziere semnificativă în perfuzia corticală renală la bolnavii cu BRC stadiul I-II față de grupul control, arătând apariția substanței de contrast în cortexul renal la 15-25 secunde după injectare, urmată de încărcarea piramidelor renale și omogenizarea încărcării cu corticala renală în aproximativ 20-30 secunde, apoi la 180 secunde evidențiindu-se fenomenul de scădere a intensității contrastului în parenchimul renal⁹¹.

În studiul actual, faza corticală precoce apare cu o întârziere semnificativă ($p < 0.01$) la bolnavii hipertensivi (19.23 ± 8.81 secunde) față de grupul de control (11.24 ± 1.45 secunde), fiind corelată cu progresia bolii (17.67 ± 3.98 secunde în HTA grad 1 și 20.72 ± 11.18 secunde în HTA grad 3). În consecință, faza corticală tardivă apare cu întârziere în toate gradele HTA, diferența fiind semnificativă ($p < 0.01$) la comparația cu grupul de control: 23.45 ± 9.27 secunde în HTA și 15.48 ± 1.29 secunde la grupul de control. Faza medulară a înregistrat o scădere semnificativă ($p < 0.01$) la grupul bolnavilor hipertensivi prin scurtarea accelerată a acesteia comparativ cu grupul de control, având ca și timp de sfârșit 107.51 ± 19.96 secunde în grupul HTA și 119.05 ± 5.39 secunde în grupul de control. Durata medie a fazei medulare a scăzut de la 24.10 ± 2.39 secunde în grupul de control la 18.47 ± 7.42 secunde în grupul HTA, diferența fiind semnificativă statistic ($p < 0.01$). Aceste rezultate sunt asemănătoare cu cele înregistrate la bolnavii diabetici cu boală renală cronică asociată²².

Observarea în timp real a fazelor vasculare renale la bolnavii care aveau DZ și BRC ca și boli asociate HTA, comparativ cu grupul bolnavilor cu HTA care nu aveau DZ și BRC, a arătat o accentuare a afectării microvascularizației renale în comorbiditățile asociate.

Parametrii de timp ai începutului și sfârșitului de fază vasculară au fost modificați semnificativ ($p < 0.01$), similar cu cei din grupul studiat anterior prin întârzierea apariției fazei

corticale precoce și tardive și prin scurtarea fazei medulare. Timpul cel mai prelungit al începutului fazei corticale precoce l-a înregistrat grupul care avea DZ (22.41 ± 13.92 secunde) urmat de grupul care avea BRC (18.09 ± 3.98 secunde) apoi de grupul cu HTA (17.71 ± 4.51 secunde) comparativ cu grupul de control care a înregistrat 11.24 ± 1.45 secunde. Consecutiv, faza corticală tardivă a înregistrat modificări semnificative ($p < 0.01$) ale timpului de început, fiind progresiv întârziată, corespunzător afectării renale, timpul cel mai prelungit al începutului fazei corticale renale înregistrându-l grupul bolnavilor care aveau DZ (26.62 ± 14.16 secunde) urmat de grupul bolnavilor cu BRC (22.27 ± 4.36 secunde) și apoi de grupul bolnavilor cu HTA (21.95 ± 5.53 secunde), comparativ cu grupul de control care a înregistrat 15.48 ± 1.57 secunde. Faza medulară a fost scurtată semnificativ ($p < 0.01$) la bolnavii cu comorbidități asociate, timpul cel mai scăzut al sfârșitului de fază înregistrându-l bolnavii cu BRC (99.82 ± 18.39 secunde) urmat la egalitate de grupul bolnavilor cu DZ (108.44 ± 24.62 secunde) și cel cu HTA (108.37 ± 17.29 secunde) comparativ cu grupul de control care a înregistrat 119.05 ± 5.39 secunde.

În ceea ce privește durata medie a fazelor vasculare renale, cele mai mici valori au fost înregistrate de grupul bolnavilor cu BRC atât pentru faza corticală tardivă (16.55 ± 4.76 secunde) cât și pentru faza medulară (58.45 ± 16.57 secunde). Bolnavii cu DZ și HTA au înregistrat valori similare. Pentru faza corticală tardivă bolnavii cu DZ au înregistrat 18.71 ± 11.43 secunde și cei cu HTA 18.68 ± 4.60 secunde iar pentru faza medulară bolnavii cu DZ au înregistrat 60.74 ± 20.62 secunde și cei cu HTA 60.74 ± 16.73 secunde. Aceste rezultate demonstrează afectarea suplimentară pe care o aduc comorbiditățile asociate HTA (DZ și BRC) asupra modificărilor microvascularizație renale, rezultatele fiind similare cu cele din literatură așa cum se arată în studiile publicate de Fang Ma în 2012²² și Wang L în 2015⁹² privind evaluarea CEUS a microvascularizație renale la bolnavii diabetici precum și în studiul publicat de Dong Y în 2014 privind evaluarea perfuziei corticale renale la bolnavii aflați în stadiile inițiale ale BRC⁹¹.

Evaluarea microvascularizației renale la bolnavii cu HTA, după ce s-au exclus din grupul de studiu bolnavii care aveau DZ și BRC, a evidențiat modificări semnificative ($p < 0.01$) ale fazelor vasculare renale privind durata medie și timpii de început și sfârșit ai acestora, arătând similitudini cu grupul total al HTA inclus inițial în studiu, confirmând afectarea semnificativă și evidentă a microvascularizației renale din HTA, indiferent de prezența sau absența comorbidităților asociate, prezența acestora ducând doar la accentuarea afectării renale.

Începutul fazei corticale precoce a înregistrat întârzieri semnificative ($p < 0.01$) la noul

grup HTA constituit (17.71 ± 4.51 secunde) versus grupul de control (11.24 ± 1.45 secunde) comparativ cu 19.23 ± 8.81 secunde cât a fost înregistrat în grupul total inițial al HTA care avea asociat DZ și BRC, confirmând faptul că prezența diabetului și / sau a bolii renale cronice agravează o afectare deja existentă și semnificativă la nivel microvascular renal. Întârzierea fazei corticale precoce se observa și în gradele HTA la bolnavii fără comorbidități asociate, în HTA gradul 1 timpul de început al fazei corticale precoce fiind de 16.10 ± 4.87 secunde iar în HTA gradul 3 de 18.81 ± 5.41 secunde. Comparația cu grupul HTA inițial la care acești timpi au înregistrat valori de 17.67 ± 3.98 secunde în HTA gradul 1 și 20.72 ± 11.18 secunde în HTA gradul 3, confirmă existența modificărilor microvascularizație renale la bolnavii cu HTA, independent de prezența sau absența comorbidităților asociate.

Faza corticală tardivă a fost întârziată progresiv în toate gradele HTA la grupul fără comorbidități asociate, similar cu rezultatele obținute la grupul HTA inițial (cu DZ și BRC asociat), confirmând existența afectării renale în HTA independent de comorbiditățile asociate. Astfel, timpul mediu de început al fazei corticale tardive a fost semnificativ crescut ($p < 0.01$) la toate grupurile HTA fără comorbidități versus grupul de control, înregistrând valori de 21.95 ± 5.53 secunde în HTA total, progresiv crescute de la HTA gradul 1 cu 20.33 ± 5.60 secunde la HTA gradul 3 cu 23.30 ± 6.69 secunde. Nu au existat diferențe semnificative statistic față de grupul HTA studiat inițial (cu DZ și BRC asociat) care a înregistrat valori medii ale timpului de început al fazei corticale tardive de 23.45 ± 9.27 secunde în HTA total, progresiv crescute de la HTA gradul 1 cu 22.33 ± 4.59 secunde la HTA gradul 3 cu 24.98 ± 11.50 secunde.

Faza medulară a fost scurtată progresiv în gradele HTA la grupul fără comorbidități prin scăderea accentuată a timpului de sfârșit de fază, similar cu grupul HTA inițial cu comorbidități asociate confirmând și prin acest parametru afectarea renală importantă din HTA, independent de comorbiditățile asociate. Timpul mediu de sfârșit al fazei medulare la grupul HTA fără comorbidități a fost de 108.37 ± 17.29 secunde, scăzând de la 111.04 ± 15.87 secunde în HTA gradul 1 la 109.78 ± 17.73 secunde în HTA gradul 3. La comparația cu grupul de control care a înregistrat valori medii ale timpului de sfârșit de fază medulară de 119.05 ± 5.39 secunde, diferențele au fost semnificative statistic ($p < 0.01$) în toate gradele HTA. Diferențele nesemnificative statistic dintre cele două grupuri HTA studiate (cu și fără comorbidități asociate) au arătat existența progresivă a afectării renale produsă de HTA asupra microvascularizație și accentuarea acesteia în cazul asocierii diabetului zaharat și / sau a bolii renale cronice. Consecutiv modificării timpilor de început și sfârșit de fază, durata medie a fazelor vasculare corticală precoce și medulară la grupul HTA fără comorbidități este

scurtată semnificativ ($p < 0.01$) comparativ cu grupul de control, similar cu grupul HTA care a asociat DZ și BRC, demonstrând existența modificărilor microvascularizație renale în HTA independent de asocierea comorbidităților.

Ținând cont de faptul că nu sunt disponibile date privind evaluarea modificărilor microvascularizației renale prin CEUS la bolnavii cu HTA, la compararea rezultatelor obținute în urma acestui studiu au fost observate similitudini cu cele ale datelor din literatură privind evaluarea modificărilor microvascularizației renale la bolnavii cu afectare renală indusă de condiții patologice diferite^{21-24, 91, 92}.

Cuantificarea ecografică dinamică cu substanță de contrast (DCE-US) a apărut din nevoia de a evalua obiectiv informațiile obținute în urma efectuării CEUS, metoda fiind utilizată din ce în ce mai frecvent în practica medicală curentă, așa cum o demonstrează numeroasele studii clinice publicate în ultimii ani⁹³⁻⁹⁶.

Introducerea DCE-US prin analiza curbelor de încărcare timp-intensitate (TIC) a reprezentat un pas înainte în evaluarea captării substanței de contrast în regiunea studiată, aducând informații importante legate de microvascularizația regiunii de interes, contribuind astfel la diagnosticul diferențial al leziunilor, precum și la decelarea modificărilor microvascularizației parenchimului studiat în diverse afecțiuni²⁰.

În studiul prezent, evaluarea DCE-US a confirmat prin analiza TIC observațiile făcute în timp real asupra modificărilor perfuziei renale la bolnavii cu HTA.

Parametrii TIC evaluați au permis evaluarea cantitativă a modificărilor microvascularizației renale fiind bine corelați cu gradul HTA și comorbiditățile asociate, confirmând progresia bolii. Dintre aceștia, cel mai bine corelați cu gradul HTA și comorbiditățile asociate au fost AT, PI și AUC. Mai puțin corelați cu gradul HTA și comorbiditățile asociate au fost parametrii TP și MTT.

Curbele de încărcare au fost modificate în gradele HTA privind panta ascendentă, vârful maxim și panta descendentă. În HTA gradul 1 panta ascendentă a curbei a avut o durată mai scurtă și a fost mai abruptă în timp ce în HTA gradul 3 aceasta a avut o durată mai lungă și a fost mai plată. Vârful maxim al curbei a înregistrat cea mai mare valoare în HTA gradul 1 și cea mai mică valoare în HTA gradul 3 confirmând scăderea progresivă a intensității contrastului din parenchimul renal în gradele HTA. Panta descendentă a avut o durată mai lungă și a fost mai puțin abruptă în HTA gradul 1 iar în HTA gradul 3 aceasta a avut cea mai scurtă durată, fiind și cea mai abruptă. Modificarea curbelor de încărcare în timp a reflectat scurtarea progresivă a fazelor corticala tardivă și medulară, corespunzător gradului HTA.

Datele obținute în studiul prezent sunt similare cu cele din literatură. În studiul publicat de Ma F. la bolnavii diabetici care aveau ca și patologie asociată boala renală cronică, analiza TIC a evidențiat la toate grupurile studiate o curbă asimetrică cu un singur vârf având ca și componente panta ascendentă mai abruptă, vârful curbei și panta descendentă mai plată. În grupurile cu diabet și boală renală cronică asociată, panta ascendentă a fost mai puțin abruptă și a avut o durată de timp mai lungă comparativ cu grupul de control. Vârful curbei a atins cea mai mare valoare la grupul de control și cea mai mică valoarea la grupul cu diabet și boală renală cronică stadiul IV-V. De asemenea, parametrii TIC care s-au corelat cel mai bine cu gradul afectării renale la bolnavii diabetici cu BRC asociată au fost TTP, PI și AUC²². În studiul publicat de Dong Y. privind evaluarea CEUS a microvascularizației renale la bolnavii cu boală renală cronică în stadiile precoce, nu au existat modificări semnificative în forma curbelor de încărcare TIC comparativ cu grupul de control. În schimb, parametrii cantitativi au înregistrat modificări ale PI și AUC, demonstrând faptul că aceștia pot evalua cu acuratețe modificările precoce ale microvascularizației renale încă din stadiile inițiale ale bolii renale cronice⁹¹. Curbele perfuziei renale (TIC) la subiecții incluși în prezentul studiu sunt în consens și cu rezultatele obținute de Schneider^{23,24}, Cosgrove⁹⁷ și Kay⁹⁸, aceste evidențe demonstrând că CEUS cu SonoVue[®] este o metodă simplă și sigură de a detecta gradul afectării perfuziei microvasculare renale în diferite patologii, având o acuratețe diagnostică înaltă.

În studiul prezent, parametrii cantitativi ai cuantificării ecografice dinamice cu contrast la nivel microvascular renal la toți bolnavii hipertensivi incluși în studiu (cu sau fără comorbidități asociate) care s-au dovedit a fi cel mai bine corelați cu gradul bolii au fost timpul de ajungere al substanței de contrast în parenchimul renal (AT), vârful maxim al intensității contrastului (PI) și aria de sub curbă (AUC). AT a înregistrat diferențe semnificative ($p < 0.01$) între toate grupurile HTA versus control, având o valoare medie de 18.31 ± 8.88 secunde în grupul celor 108 bolnavi hipertensivi cu o creștere progresivă de la 16.47 ± 4.22 secunde în gradul 1 la 19.98 ± 11.26 secunde în gradul 3, față de 9.95 ± 1.56 secunde la grupul de control. Compararea între gradele de hipertensiune la acest parametru a evidențiat o diferență semnificativă statistic ($p < 0.05$) între gradele 2 și 3 ale hipertensiunii dar nu și între gradele 1 și 2, sugerând progresia accelerată a afectării microvascularizației renale în stadiile tardive ale bolii. PI a fost parametrul care s-a corelat cel mai bine cu gradul hipertensiunii arteriale, sugerând faptul că acest parametru ar putea fi considerat un marker fidel al progresiei bolii. În grupul total HTA valoarea medie a PI a fost de $18.81 \pm 6.55\%$, scăzând progresiv de la $23.41 \pm 7.39\%$ în gradul 1, la $20.11 \pm 7.40\%$ în gradul 2 și la

16.84±4.90% în gradul 3 al HTA, comparativ cu 30.18±6.12% înregistrat la grupul de control, diferențele având o înaltă semnificație statistică ($p<0.01$) atât la compararea dintre grupurile HTA și grupul de control cât și la compararea gradelor HTA între ele. AUC s-a remarcat a fi de asemenea un parametru sensibil în evaluarea modificărilor microvascularizației renale la hipertensivi, înregistrând diferențe semnificative statistic ($p<0.01$) la compararea grupurilor HTA cu grupul de control, cu valori medii de 1509.42±792.59%sec în grupul total HTA, scăzând progresiv de la 1660.96±838.17%sec în gradul 1, la 1509.52±872.51%sec în gradul 2 și la 1470.17±738.23%sec în gradul 3, comparativ cu 2423.03±1034.32%sec la grupul de control. Timpul parcurs de substanța de contrast în parenchimul renal până la intensitatea maximă (TP) și timpul mediu de tranzit al contrastului în parenchim (MTT) nu au înregistrat diferențe semnificative statistic la compararea valorilor medii ale acestora în grupurile studiate. Din acest motiv TP și MTT nu pot fi considerați parametri sensibili ai evaluării gradului de afectare microvasculară renală la acești bolnavi. Rezultatele obținute sunt similare cu cele din literatura, PI și AUC fiind parametrii cei mai sensibili ai evaluării ecografice dinamice cu substanță de contrast, demonstrând o acuratețe înaltă în detectarea modificărilor microvascularizație renale și în aprecierea progresiei bolii^{21,91}. Spre deosebire de rezultatele studiului actual în care TP nu s-a dovedit un parametru sensibil al cuantificării modificărilor microvascularizației renale la bolnavii hipertensivi, Ma F arată în studiul publicat în 2012 legat de evaluarea CEUS a microvascularizației renale la diabetici că TTP (similar cu TP din studiul prezent) s-a dovedit a fi un parametru util, având o acuratețe crescută în evaluarea modificărilor microvasculare renale la diabetici²². Aceste diferențe pot fi explicate prin patologia diferită pe care o aveau bolnavii investigați în cele doua studii dar și prin diferența numerică semnificativă între numărul bolnavilor incluși în cele doua studii. Această explicație rezidă din observarea că la analiza TIC a pasajului substanței de contrast în parenchimul renal la bolnavii cu comorbidități din studiul prezent, TP a devenit semnificativ statistic ($p<0.01$) la grupul cu DZ versus BRC și HTA, confirmând alterarea suplimentară pe care o determină prezența diabetului asupra microvasculaturii renale.

Analiza TIC a microvascularizație renale la bolnavii din grupul cu DZ și BRC a evidențiat modificări semnificative ale parametrilor TP și MTT la comparația dintre grupurile DZ și BRC și dintre DZ și HTA, diferențele fiind semnificative din punct de vedere statistic ($p<0.01$). Acest rezultat este similar cu cel obținut de Ma F la bolnavii diabetici²², confirmând afectarea suplimentară determinată de prezența DZ la nivel microvascular renal, precum și acuratețea acestor parametri (TP și MTT) în evaluarea CEUS asupra modificărilor

microvasculare din nefropatia diabetică. AT s-a dovedit a fi un parametru sensibil și în cadrul acestor noi grupuri, înregistrând diferențe semnificative statistic ($p < 0.01$) atât la comparația cu grupul de control cât și la comparația dintre DZ și HTA ($p < 0.05$) având valori medii de 21.44 ± 14.10 secunde în grupul DZ, 17.27 ± 3.27 secunde în grupul BRC și 16.79 ± 4.47 secunde în grupul HTA comparativ cu 9.95 ± 1.56 secunde în grupul de control. Diferența semnificativă a valorilor AT la comparația dintre grupurile DZ și HTA demonstrează afectarea suplimentară pe care DZ o produce la nivel microvascular renal precum și sensibilitatea acestui parametru cantitativ în evidențierea acestor modificări. TP a înregistrat diferențe semnificative ($p < 0.05$) doar la comparația dintre grupul cu DZ versus HTA și versus BRC, demonstrând o acuratețe înaltă în evaluarea afectării microvasculare renale la bolnavii cu diabet, așa cum se arată și în datele din literatură²². În studiul prezent, valoarea medie înregistrată de TP la grupul cu DZ a fost de 50.75 ± 17.93 secunde, la grupul HTA de 42.16 ± 16.16 secunde iar la grupul BRC de 41.86 ± 9.47 secunde. PI rămâne parametrul TIC cel mai sensibil al evaluării modificărilor renale la nivel microvascular având diferențe semnificative statistic ($p < 0.01$) la aproape toate comparațiile grupurilor comorbidităților între ele cât și cu grupul de control, exceptând comparația dintre grupurile DZ și BRC unde valorile medii ale PI au fost aproximativ egale ($16.42 \pm 5.60\%$ la DZ și $16.24 \pm 3.86\%$ la BRC) demonstrând afectarea renală importantă de la nivel microvascular atât în prezența diabetului cât și a bolii renale cronice, acest parametru având cea mai mare acuratețe în evaluarea modificărilor microvasculare și în monitorizarea progresiei bolii, așa cum o demonstrează și datele din literatură^{21-24,91,92}. Valoarea medie a PI în grupul HTA fără comorbidități a fost de $20.55 \pm 6.89\%$ în timp ce la voluntarii sănătoși a fost de $30.18 \pm 6.12\%$. AUC nu poate fi considerat un parametru cu o specificitate înaltă pentru diferențierea dintre comorbiditățile studiate întrucât în studiul prezent nu a demonstrat diferențe semnificative statistic la comparațiile dintre acestea, ci doar la comparațiile cu grupul de control ($p < 0.01$), înregistrând valori de $1446.08 \pm 772.42\%$ sec în grupul HTA, $1663.03 \pm 858.49\%$ sec în grupul DZ și $1397.36 \pm 686.40\%$ sec în grupul BRC, comparativ cu $2423.03 \pm 1034.32\%$ sec în grupul de control. Rezultate asemănătoare legate de acest parametru au fost obținute și de Wang L⁹², Dong Y⁹¹ și Ma F²² la diabetici și în stadiile inițiale ale bolii renale cronice. MTT a înregistrat valori medii de 74.05 ± 23.06 secunde în grupul DZ, 60.22 ± 13.28 secunde în grupul BRC și 60.97 ± 22.56 secunde în grupul HTA, diferențele fiind semnificative ($p < 0.05$) la comparația grupului DZ cu grupul BRC și cu grupul HTA, fiind cel de-al doilea parametru care a devenit sensibil la compararea grupurilor comorbidităților pe langa TP. Rezultate asemănătoare ale datelor din literatura legate de acuratețea parametrului MTT în evaluarea modificărilor

perfuziei renale sunt prezentate de Schneider la bolnavii supuși intervențiilor chirurgicale cardiace²⁴. În urma evaluării dinamice a parametrilor cantitativi rezultați din analiza curbelor de încărcare timp-intensitate la grupurile comorbidităților asociate HTA, TP și MTT s-au dovedit a fi parametrii cu acuratețea cea mai mare în determinarea gradului de afectare microvasculară renală la diabetici, similar cu datele din literatura²².

Evaluarea dinamică cu contrast a microvascularizației renale la bolnavii hipertensivi fără comorbidități asociate (63 de bolnavi hipertensivi dintre care 13 în gradul 1, 23 în gradul 2 și 27 în gradul 3) a arătat rezultatele similare cu cele ale grupului HTA cu comorbidități, confirmând astfel afectarea importantă produsă de HTA asupra microvascularizației renale, independent de comorbiditățile asociate. AT, PI și AUC au demonstrat aceeași sensibilitate în detectarea modificărilor microvasculare renale la ambele grupuri HTA studiate (cu și fără comorbidități) confirmând astfel existența afectării importante asupra microvascularizației renale produsă de HTA fără influența comorbidităților. În plus, față de grupul HTA cu comorbidități, la cel fără comorbidități parametrii TP și MTT au căpătat semnificație statistică la compararea gradului 2 al HTA cu grupul de control, respectiv la compararea întregului grup HTA versus control. AT a înregistrat valori medii de 16.79 ± 4.47 secunde în grupul HTA fără comorbidități cu o creștere progresivă de la 16.54 ± 3.55 secunde în HTA gradul 1, la 18.04 ± 5.38 secunde în HTA gradul 3 diferențele fiind semnificative ($p < 0.01$) la compararea cu grupul de control a tuturor gradelor HTA. PI s-a dovedit și la acest grup ca fiind cel mai sensibil parametru în evaluarea modificărilor de la nivelul microvascularizației renale, arătând o înaltă semnificație statistică ($p < 0.01$) atât la compararea grupurilor HTA între ele cât și la compararea acestora cu grupul de control. Astfel, PI poate fi considerat un parametru sensibil al progresiei bolii având o acuratețe crescută în detecția și monitorizarea afectării renale din HTA. Valorile medii înregistrate de PI în analiza TIC au fost de 20.28 ± 7.93 % în grupul HTA fără comorbidități, scăzând de la 21.75 ± 8.91 % în HTA grad 1 la 17.84 ± 6.35 % în HTA gradul 3. AUC a înregistrat diferențe semnificative ($p < 0.01$) la comparația între gradele HTA versus control precum și între grupul total HTA versus control, înregistrând valori medii de 1423.86 ± 794.16 %sec în grupul HTA cu o scădere de la 1605.18 ± 767.01 %sec în HTA gradul 1 la 1426.02 ± 853.95 %sec în HTA gradul 3.

Astfel, parametrii TIC care s-au dovedit a se corela cel mai bine cu gradul afectării renale la grupul HTA fără comorbidități rămân PI, AT și AUC și secundar, mai puțin corelați cu gradul HTA, parametrii TP și MTT. Aceste rezultate confirmă prezența modificărilor microvascularizație renale induse de HTA, evidențiabile încă din stadiile incipente ale bolii, creșterea severității acestora pe măsura ce boala evoluează și corelarea fidelă a parametrilor

cantitativi CEUS cu progresia bolii, datele fiind similare cu cele din literatură în studiile efectuate pe alte patologii^{22,91,92}.

Profilul de siguranță pentru SonoVue[®] este documentat de numeroase studii clinice în care au fost incluși un număr mare de pacienți^{16-19,99}. Într-un studiu multicentric italian efectuat în perioada 2002-2004 desfășurat în 29 de centre ce a inclus un număr de 23.188 bolnavi supuși investigației CEUS cu SonoVue[®], numărul de reacții adverse înregistrate a fost de 27 dintre care 23 au fost minore, 3 moderate și una severă (criza de astm bronșic), rata globală de reacții adverse raportate fiind de 0.0086%¹⁶.

În studiul prezent, nu a fost înregistrată nici o reacție adversă în timpul și după efectuarea investigației CEUS, substanța fiind bine tolerată de către toți subiecții supuși investigațiilor CEUS, nefiind înregistrată nici o modificare a profilului hemodinamic sau biochimic al bolnavilor. Doza de SonoVue[®] injectată a fost sub cea recomandată pentru explorările abdominale (1,2 ml față de 2,4 ml) datorită performanței crescute a echipamentului ecografic folosit și a vascularizației bogate de la nivelul rinichiului. Eliminarea expiratorie a hexafluorurii de sulf (substanța activă din SonoVue[®]) precum și absența produșilor de natură proteică din componența acestuia, fac ca produsul să fie foarte bine tolerat de către subiecții investigați, permițând administrarea acestuia în stadiile avansate de boală, bolnavilor instabili hemodinamic sau la cei cu afectare renală severă cum ar fi insuficiența renală acută.

În baza acestor evidențe putem concluziona că acest studiu confirmă profilul de siguranță ridicat al produsului SonoVue[®], permițând utilizarea de rutină în practica medicală curentă la marea majoritate a bolnavilor, administrarea putând fi repetată de câte ori este nevoie în timpul aceleasi explorari, neexistând o doză maximă admisă impusă de Agenția Europeană a Medicamentului pentru SonoVue^{®99}.

Există câteva limitări ale studiului actual. În primul rând, nu există un standard internațional pentru evaluarea perfuziei la nivelul microvascularizației renale; sunt necesare studii clinice bine constituite care să stabilească parametrii optimi pentru evaluarea clinică și valorile normale la diferite grupuri de subiecți. Din acest motiv, comparația cu studii similare pentru aceeași patologie nu a putut fi realizată. În al doilea rând, din motive administrative, repetarea investigației la 3, 6 și 9 luni în vederea monitorizării efectului terapiei antihipertensive asupra microvascularizației renale precum și date privind variabilitatea intra și interobservațională, reproductibilitatea și stabilitatea împotriva factorilor externi, nu au putut fi realizate. De asemenea, pentru stabilirea specificității metodei privind diferențierea între modificările microvascularizației renale care apar în hipertensiunea arterială esențială și cele care apar în alte patologii (diabet, boala renală cronică, nefropatia ischemică, stări de

deshidratare acută, statusul post-chirurgical, bolile renale primare glomerulare, tubulare, etc) sunt necesare efectuarea de studii ulterioare care să implice un număr mare de bolnavi pentru validitatea rezultatelor.

În concluzie, studiul prospectiv și observațional „*Evaluarea microvascularizație renale prin ecografia cu substanță de contrast la bolnavii cu hipertensiune arterială*” a evidențiat următoarele:

1. Grupul studiat a fost omogen ca și vârstă pentru a exclude diferențele fiziologice aparute în funcția renală.
2. Vârsta medie a fost de 61.60 ± 10.34 ani în lotul HTA (progresiv crescută de la gradul 1 la gradul 3) fiind mai mare decât vârsta medie a bolnavilor hipertensivi din populația generală, datorita faptului ca au fost incluși în studiu bolnavii internați într-o clinica de Cardiologie și Medicină Internă și nu din populația generală. La grupul de control vârsta medie înregistrată a fost de 50.86 ± 11.14 ani.
3. Cei mai numeroși bolnavi cu vârsta cea mai crescută au fost înregistrați în HTA gradul 3, sugerând subdiagnosticarea bolii în populația generală.
4. Distribuția pe sexe a fost relativ omogenă, cu preponderența sexului feminin atât în grupul HTA (58.3%) cât și în grupul de control (61.9%), tendință observată și în populația generală în studiile epidemiologice.
5. Valoarea medie a TA la internare a fost crescută pentru ambele componente (TAs = 156.00 ± 24.52 mmHg și TAd = 89.54 ± 12.78 mmHg) fiind peste limita impusa de Ghidul ESC/ESH 2013² ca și țintă a tratamentului antihipertensiv, demonstrând controlul slab al medicației curente, motiv pentru care bolnavii au fost internați în spital.
6. Valoarea medie a IMC înregistrată la grupul HTA a fost crescută (28.54 ± 5.18 kg/m²) dar nu a depășit valoarea limită admisă de Ghidul ESC/ESH 2013² care certifică prezența obezității.
7. eRFG, ureea și creatinina serica sunt parametrii biochimici care s-au corelat cel mai bine cu gradul HTA ($p < 0.01$), confirmând afectarea renală din HTA evidențiable în special în stadiile tardive ale bolii.
8. Proteinuria decelată în urina de dimineață nu a înregistrat diferențe semnificative statistic între grupurile studiate datorită numărului mic de bolnavi la care a fost semnalată: în HTA gradul 1 nici un bolnav nu a avut proteinurie, în timp ce în HTA gradul 2 proteinuria a fost semnalată la 5 bolnavi iar în HTA gradul 3 la 13 bolnavi.
9. Colesterolul total, LDL colesterol, glicemia și VSH-ul au evidențiat diferențe

semnificative față de grupul de control ($p < 0.01$), având valori medii peste limita prag impusa de Ghidul ESC/ESH 2013², fiind considerați factori de prognostic negativ în stratificarea riscului cardiovascular total.

10. Acidul uric a înregistrat valori medii la limita superioară a valorilor normale explicate prin efectul medicației antihipertensive asupra acestui parametru.
11. Dintre factorii de risc cardiovasculari asociați, dislipidemia a avut cea mai mare pondere (57.4%), urmată de diabet (31.4%) și obezitate (15.7%). Datele din literatură raportează valori mult mai mari în cazul obezității.
12. Organul țintă cel mai afectat în studiul de față a fost cordul (38.8% din bolnavi aveau boala coronariană ischemică, 36.1% insuficiență cardiacă, 31.4% valvulopatii și 25% fibrilație atrială), urmat de afectarea vasculară (22.2%), afectarea renală (15.7%), cerebrală (8.3%) și oculară (4.62%).
13. Ecografia cu substanță de contrast (CEUS) a permis evaluarea microvascularizației renale la subiecții incluși în studiu, un număr total de 129 de examinări CEUS fiind efectuate în studiul prezent, durata medie a unei examinări fiind mai mică de 15 minute.
14. Cuantificarea ecografică dinamică cu substanță de contrast (DCE-US) prin analiza curbelor de încărcare timp-intensitate (TIC) a adus informații specifice importante celor obținute la explorarea convențională ecografică cu contrast în timp real.
15. Doza de contrast injectată a fost de 1.2 ml de SonoVue[®], fiind mai mică decât cea recomandată pentru explorările abdominale datorită preformanței crescute a ecografului și a vascularizației bogate a rinichiului.
16. Nici o reacție adversă nu a fost înregistrată în timpul și după administrarea substanței de contrast la nici unul din subiecții investigați, tolerabilitatea produsului SonoVue[®] dovedindu-se a fi excelentă.
17. Nu a fost înregistrată nici o modificare în statusul biologic și hemodinamic al bolnavilor investigați CEUS.
18. Observarea în timp real a fazelor vasculare renale la investigația CEUS a arătat diferențe în paternul dinamicii vasculare al distribuției substanței de contrast în parenchimul renal.
19. La bolnavii cu HTA, în special în stadiile tardive, s-au observat: scurtarea fazei corticale renale prin întârzierea semnificativă a începutului de fază corticală (precoce și tardivă), scăderea intensității contrastului în cortexul renal și scurtarea fazei medulare.

20. Evaluarea calitativă CEUS a microvascularizație renale a arătat rezultate similare cu cele obținute la observarea în timp real a pasajului substanței de contrast în cortexul renal.
21. Faza corticală precoce la bolnavii cu HTA a început la 19.23 ± 8.81 secunde din momentul injectării contrastului, comparativ cu grupul de control care a înregistrat 11.24 ± 1.45 secunde ($p < 0.01$), cu o întârziere progresivă din gradul 1 în gradul 3 al HTA: 17.67 ± 3.98 secunde în gradul 1 și 20.72 ± 11.18 secunde în gradul 3.
22. Faza corticală tardivă a fost scurtată progresiv în stadiile HTA prin întârzierea începutului de fază: de la 22.33 ± 4.59 secunde în HTA gradul 1 la 24.98 ± 11.50 secunde în HTA gradul 3, față de grupul de control care a înregistrat 15.48 ± 1.57 secunde ($p < 0.01$).
23. Sfârșitul fazei medulare renale a fost scurtat semnificativ la bolnavii cu HTA (107.51 ± 19.96 secunde) versus control (119.05 ± 5.39 secunde) ($p < 0.01$).
24. La bolnavii care aveau diabet zaharat tip II și/sau boală renală cronică ca și comorbidități asociate, parametrii CEUS ai evaluării calitative asupra microvascularizației renale s-au dovedit a fi crescuți în ceea ce privește începutul fazelor vasculare renale. Aceste modificări au fost mai evidente la bolnavii cu diabet și mai puțin evidente la cei cu boală renală cronică, susținând afectarea suplimentară produsă de prezența diabetului zaharat asupra microvascularizație renale.
25. Analiza calitativa CEUS la bolnavii hipertensivi fără comorbidități a arătat similitudini cu grupul HTA cu comorbidități privind dinamica substanței de contrast la nivelul microvascularizației renale, confirmând faptul că afectarea microvasculară renală în HTA este evidentă și semnificativă, independent de prezența comorbidităților, asocierea acestora determinând accentuarea afectării microvasculare renale.
26. Evaluarea cantitativă DCE-US prin analiza curbelor de încărcare timp-intensitate (TIC) a confirmat observațiile făcute la evaluarea calitativa asupra modificărilor microvascularizației renale la bolnavii cu HTA.
27. Analiza TIC arată diferențe în curbele de încărcare având o panta ascendentă mai puțin abruptă și mai plată cu un vârf al intensității mai mic și o pantă descendentă mai scurtă și mai abruptă la bolnavii hipertensivi, în special la cei din stadiile tardive ale bolii.
28. Parametrii TIC care au dovedit cea mai mare acuratețe în evaluarea modificărilor microvascularizație renale au fost AT, PI și AUC ($p < 0.01$), în timp ce TP și MTT au

fost semnificativ modificați doar la bolnavii cu diabet.

29. PI s-a dovedit a fi cel mai sensibil parametru al evaluării cantitative asupra modificărilor microvascularizație renale, fiind cel mai bine corelat ($p < 0.01$) cu progresia bolii, scăzând de la $23.41 \pm 7.39\%$ în HTA gradul 1 la $20.11 \pm 7.40\%$ în HTA gradul 2 și la $16.84 \pm 4.90\%$ în HTA gradul 3. În grupul de control valoarea PI a fost de $30.18 \pm 6.12\%$.
30. AT și AUC au arătat diferențe semnificative statistic ($p < 0.01$) la comparația dintre gradele HTA și grupul de control dar nu și la comparația între gradele de hipertensiune, corelația cu progresia bolii fiind din acest motiv scăzută.
31. TP și MTT au căpătat semnificație statistică la comparația dintre grupul bolnavilor cu diabet și grupul bolnavilor cu HTA fără comorbidități, respectiv al bolnavilor cu boală renală cronică, datele fiind similare cu cele din literatură.
32. În comorbiditățile asociate (DZ și BRC), parametrii AT, PI și AUC s-au remarcat prin accentuarea valorilor acestora, corespunzător modificărilor suplimentare de la nivel microvascular renal produse de prezența diabetului zaharat.
33. AT, PI și AUC au dovedit aceeași acuratețe în evaluarea modificărilor microvascularizației renale și la grupul bolnavilor cu HTA fără comorbidități, sugerând afectarea renală importantă produsă de HTA asupra microvascularizație renale, independent de prezența comorbiditatilor, asocierea acestora amplificând gradul afectării renale.
34. Acest studiu confirmă profilul de siguranță ridicat al produsului SonoVue[®], permițând utilizarea de rutină în practica medicală curentă la majoritatea bolnavilor, fără afectarea funcției renale, substanța fiind eliminată pe cale expiratorie.
35. CEUS este o metoda noninvazivă simplă, rapidă, ușor de realizat și înalt repetitivă ce a permis caracterizarea cu acuratețe a modificărilor microvascularizație renale la bolnavii cu HTA.
36. Rezultatele obținute în studiul de față se pot constitui în viitor ca puncte de plecare pentru elaborarea de ghiduri de diagnostic și tratament adresate modificărilor microvascularizației renale în HTA, în vederea standardizării metodei.

Sumarizând, rezultatele studiului demonstrează că afectarea microvasculară renală este prezentă și progresiv crescută în toate gradele hipertensiunii arteriale și mai mult în comorbiditățile asociate cum sunt diabetul zaharat și boala renală cronică. Ecografia cu substanță de contrast (CEUS) este o metodă bine tolerată, noninvazivă, simplă, rapidă și

sigură pentru detectarea în timp real a modificărilor microvascularizației renale, fără nici un efect asupra funcției renale. Evaluarea ecografică calitativă și cantitativă cu contrast folosind cuantificarea dinamică (DCE-US) prin analiza curbelor de încărcare timp-intensitate (TIC) s-a dovedit a fi un instrument de diagnostic important în depistarea precoce a modificărilor microvascularizație renale la bolnavii hipertensivi precum și în aprecierea progresiei bolii. Parametrii AT, PI și AUC pot evalua cu acuratețe afectarea microvascularizației renale în diferite stadii de boală. Dintre acestia, parametrul PI s-a dovedit a fi cel mai bine corelat cu progresia bolii. În comorbiditățile asociate HTA și în special la bolnavii cu diabet zaharat, parametrii TP și MTT, în plus față de parametrii AT, PI și AUC, au dovedit sensibilitate în evaluarea modificărilor microvascularizației renale, demonstrând afectarea suplimentară produsă de prezența diabetului asupra microvascularizației renale.

Lipsa datelor de literatură privind utilizarea CEUS în această patologie impune necesitatea efectuării de studii ulterioare care să stabilească corelații între modificările microvascularizației renale, parametrii biologici și modificările structurale patologice de la nivelul rinichiului, în vederea standardizării metodei și a evaluării eficacității diferitelor medicamente antihipertensive asupra microvascularizației renale.

Bibliografie selectiva

1. Weber M, Schiffrin E, White W, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. *Journal of Hypertension*. 2014;32(1):3-16
2. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2013;34(28):2159–2219.
3. Fogo A.B, Bruijn J.A, Cohen A.J, Calvin R.B. *Fundamentals of Renal Pathology*. Springer. 2006:117-124
4. Itoh Y. Current topics on urinary proteins: human albumin, protein 1, beta 2-microglobulin, and type IV collagen. *Rinsho Biory. The Japanese Journal of Clinical Pathology*. 2002;50(6):555-560
5. Duarte D, Santos-Araujo C, Leite-Moreira A.F. Hypertension and angiogenesis in the aging kidney: A review. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2011;52(3):93-102
6. Thomas DB, Franceschini N, Hogan LS, et al. Clinical and pathologic characteristics of focal segmental glomerulosclerosis pathologic variants. *Kidney Int*. 2006;69(5):920-926
7. Harvey JM, Howie AJ, Lee SJ, et al. Renal biopsy findings in hypertensive patients with proteinuria. *Lancet*. 1992;340(8833):1435-1436
8. Zucchelli P, Zuccala A. The kidney as a victim of essential hypertension. *Journal of Nephrology*. 1997;10(4):203-206
9. Stokes MB, Valeri AM, Markowitz GS, et al. Cellular focal segmental glomerulosclerosis: Clinical and pathologic features. *Kidney Int*. 2006;70(10):1783-1792
10. Wan L, Yang N, Hiew CY, et al. An assessment of the accuracy of renal blood flow estimation by Doppler ultrasound. *Intensive Care Med*. 2008;34(8):1503-1510
11. Prowle JR, Molan MP, Hornsey E, et al. Measurement of renal blood flow by phase contrast magnetic resonance imaging during septic acute kidney injury: a pilot investigation. *Crit Care Med*. 2012;40(6):1768-1776

12. Thomsen HS, Morkos SK, Almen T, et al. Nephrogenic systemic fibrosis and gadolinium based contrast-media: Updated ESUR Contrast Medium Safety Committee Guidelines. *Eur Radiol.* 2013;23(2):307-318
13. Gleeson TG, Bulugahapitiya S. Contrast induced nephropathy. *AJR Am J Roentgenol.* 2004;183(6):1673-1679
14. Mantha M, Kumar KS, MacGiuley R, et al. Screening tests for diagnosis of renal artery stenosis. *Nephrology.* 2010;15:S218-S226
15. Esteves FP, Taylor A, Manatunga A, et al. 99mTc-MAG 3 renography: normal values for MAG 3 clearance and curve parameters, excretory parameters and residual urine volume. *AJR Am J Roentgenol.* 2006;187(6):610-617
16. Piscaglia F, Bolondi L. The safety of SonoVue in abdominal applications: retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound Med Biol.* 2006;32:1369-1375
17. ter Haar G. Safety and bio-effects of ultrasound contrast agents. *Med Biol Eng Comput.* 2009;47:893-900
18. Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T, et al. Guideliness and good clinical practice recommandations for contrast enhanced ultrasound (CEUS). Update 2008. *Ultraschall Med.* 2008;29:28-44
19. Piscaglia F, Nolsoe C, Dietrich CF, et al. The EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Practice of Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS): update 2011 on non-hepatic applications. *Ultraschall in Med.* 2012;33:33-59
20. Dietrich CF, Averkiou MA, Correas JM, et al. An EFSUMB Introduction into Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound (DCE-US) for Quantification of Tumour Perfusion. *Ultraschall in Med.* 2012;33:344-351
21. Benozzi L, Cappelli G, Granito M, Davoli D, Favali D, Montecchi MG, et al. Contrast-Enhanced Sonography in Early Kidney Graft Dysfunction. *Transplant Proc.* 2009;41(4):1214-1215
22. Ma F, Cang Y, Zhao B, Liu Y, Wang C, Liu B, et al. Contrast-enhanced ultrasound with SonoVue could accurately assess the renal microvascular perfusion in diabetic kidney damage. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(7):2891-2898
23. Schneider AG, Goodwin MD, Schelleman A, Bailey M, Johnson L, Bellomo R. Contrast-enhanced ultrasound to evaluate changes in renal cortical perfusion around cardiac surgery: a pilot study. *Crit Care.* 2013;17(4):R138
24. Schneider AG, Hofmann L, Wuerzner G, Glatz N, Maillard M, Meuwly JY, et al. Renal perfusion evaluation with contrast-enhanced ultrasonography. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(2):674-681
25. World Health Organization. Cardiovascular Diseases: Fact Sheet No. 317. Geneva, Switzerland:WHO, 2007
26. Dorobantu M, Darabont R, Ghiorghe S, Babes K, Pop D, Toma D, Vasilescu M, Dobreanu M, Tautu O. Profile of the Romanian Hypertensive Patient. Data from SEPHAR II Study. *Rom. J. Intern. Med.* 2012;50(4):285-296
27. European Cardiovascular Diseases Statistics 2012. Available from: <http://ehnheart.org/cvd-statistics.html>
28. Dorobantu M, Darabont RO, Badila E, Ghiorghe S. Prevalence, Awareness, Treatment, and Control of Hypertension in Romania: Results of the SEPHAR Study. *Int. J. Hypertens.* 2010: 970694
29. Lindsay RS, Howard BV. Cardiovascular risk associated with the metabolic syndrome. *Curr Diab Rep.* 2004;4:63-68
30. Mancia G, Fagart R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens.* 2013;31:1281-1357
31. Societatea Romana de Nefrologie. Ghiduri de buna practica medicala - Boala cronica de rinichi. Editura Curtea Veche, Bucuresti, 2007
32. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *AM J Kidney Dis.* 2007;49(Suppl 2)
33. Barry YM. Hypertension and kidney disease: a deadly connection. *Curr Cardiol Rep.* 2006;8(6):411-417
34. The PURE (Prospective Urban Rural Epidemiology) Study investigators. Prevalence, Awareness, Treatment and Control of Hypertension in Rural and Urban Communities in High-, Middle-, and Low-Income Countries. *JAMA.* 2013;310(9):1-10
35. Lindeman RD, Tobin JD, Shock NW. Association between blood pressure and rate of decline in renal function with age. *Kidney Int.* 1984;26:861-868
36. Aokage T, Sato N, Kajimoto K, et al. Baseline blood uree nitrogen as a marker for predicting cardiac events in patients hospitalized for acute heart failure syndrome-beyond other renal variables. *European Heart Journal.* 2011;32:126-127
37. Meyrier A, Simon P. Nephroangiosclerosis and hypertension: things are not as simple as you might think. *Nephrol Dial Transplantation.* 1996;11:2116-2120
38. James M, Grams M, Woodward M, et al. A meta-analysis of the association of estimated GFR, albuminuria,

diabetes mellitus, and hypertension with AKI. *Am J Kidney Dis*. 2015;66(4):602-6012

39. Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, et al. Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension*. 2011;57:132-140
40. Das M, Borah NC, Ghose M, Choudhury M. Reference Ranges for Serum Uric Acid among Healthy Assamese People. *Biochemistry Researchs International* (2014), Article ID 171053, 7 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/171053>
41. Poudel B, Yadav BK, Kumar A, et al. Serum uric acid level in newly diagnosed essential hypertension in a Nepalese population: A hospital based cross sectional study. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(1):59-64
42. Choi HK, Soriano LC, Zhang Y, et al. Antihypertensive drugs and risk of incident gout among patients with hypertension: population based case-control study. *BMJ*. 2012;344:d8190
43. Olafiranye O, Zizi F, Brimah P, et al. Management of hypertension among Patients with Coronary Heart Disease, *International Journal of Hypertension* (2011), Article ID 653903, 6 pages, doi:10.4061/2011/653903
44. Levy D, Kenchiah S, Larson MG, et al. Long term trends in the incidence of survival with heart failure. *New Engl J Med*. 2002;347:1397-1400
45. Murabito JM, Evans JC, Nieto K, et al. Prevalence and clinical correlates of peripheral arterial disease - epidemiological aspects. *Vasc Med*. 2001;6(Suppl 1):3
46. Lindeman RD, Tobin JD, Shock NW. Association between blood pressure and rate of decline in renal function with age. *Kidney Int*. 1984;26:861-868
47. Collins R, MacMahon S. Blood pressure, antihypertensive drug treatment and the risk of stroke and of coronary heart disease. *Br Med Bull*. 1994;50:272-298
48. Steward R, Xue QL, Masaki K, et al. Change in blood pressure and incident dementia: a 32-year prospective study. *Hypertension*. 2009;54:233-240
49. Wang JJ, Mitchell P, Leung H, et al. Hypertensive retinal vessel wall signs in the general older population: the Blue Mountains eye study. *Hypertension*. 2003;42:534-541
50. Cosgrove D, Eckersley R. Contrast-Enhanced Ultrasound: Basic physics and technology overview. *Enhancing the Role of Ultrasound with Contrast Agents*. Lencioni R (Ed). Springer, Berlin Heidelberg New York. 2006:165-172
51. Greis C. Technological review: contrast enhanced ultrasound. In: *Contrast Enhanced Ultrasound Modality: The New Diagnostic Imaging Tool*. Springer-Verlag, Italia. 2008:1-5
52. Schneider M, Arditi M, Barrau MB, et al. A new ultrasonographic contrast agent based on sulfur hexafluoride-filled microbubbles. *Investigative Radiology*. 1995;30(8):451-457
53. Averkiou M, Powers J, Skyba D et al. Ultrasound contrast imaging research. *Ultrasound Q*. 2003;19:27-37
54. Phillips P, Gardner E. Contrast Agent Detection and Quantification. *Eur Radiol*. 2004;14:4-10
55. Sporea I, Badea R, Martie A, et al. Contrast Enhanced Ultrasound for the evaluation of Focal Liver Lesions in daily practice. A multicenter study. *Medical Ultrasonography*. 2012;14(2):95-100
56. Badea R, Seicean A, Diaconu B, et al. Contrast-Enhanced Ultrasound of the Pancreas - a Method Beyond its Potential or a New Diagnostic Standard? *J Gastrointest Liver Dis*. 2009;18(2):237-242
57. Danila M, Popescu A, Sirli R, et al. Contrast enhanced ultrasound in the evaluation of liver metastases. *Medical Ultrasonography*. 2010;12(3):233-237
58. Sporea I, Badea R, Martie A, et al. Contrast enhanced ultrasound for the characterisation of focal liver lesions. *Med Ultrason*. 2011;13(1):38-44
59. Sporea I, Badea R, Popescu A, et al. Contrast-enhanced ultrasound for the evaluation of focal liver lesions - a prospective multicenter study of its usefulness in clinical practice. *Ultraschall Med*. 2014;35(3):259-266
60. Badea R, Ciobanu L. Contrast enhanced and Doppler ultrasonography in the characterisation of microcirculation. Expectancies and performance. *Med Ultrason*. 2012;14(4):307-317
61. Cokkinos DD, Antypa EG, Skilakaki M, et al. Contrast-enhanced ultrasound of the kidneys: what is capable of? *Biomed Res Int*. 2013 doi:10.1155/2013/595873
62. Wang L, Lv F, Fei X, et al. Study on the characteristic of contrast-enhanced ultrasound and its utility in assessing the microvessel density in ovarian tumors or tumor like lesions. *Int J Biol Sci*. 2011;7(5):600-606
63. Badea R, Ciobanu L, Botan E, et al. Contrast-enhanced ultrasound defines vascularization pattern of hamartomatous colonic polyps in Peutz-Jeghers syndrome. *Gut Liver*. 2014;8(6):680-682
64. Tranquart F, Correas JM, Martegani A, et al. Feasability of contrast enhanced ultrasound in real time renal

disease. *J Radiol.* 2004;85:31-36

65. Nilsson A. Contrast-enhanced ultrasound of the kidney. *European Radiology.* 2004;14(8):104-109
66. Bertolotto M, Martegani A, Aiani L, Zappetti R, Cemic S, Cova MA. Value of contrast-enhanced ultrasonography for detecting renal infarcts proven by contrast enhanced CT. A feasibility study. *Eur Radiol.* 2008;18(2):376-383
67. Ignee A, Straub B, Brix D, Schuessler G, Ott M, Dietrich C.F. The value of contrast enhanced ultrasound (CEUS) in the characterisation of patients with renal masses. *Clinical Hemorheology and Microcirculation.* 2010;46(4):275-290
68. Grzelak P, Szymczyk K, Strzelczyk J, et al. Perfusion of kidney graft pyramids and cortex in contrast-enhanced ultrasonography in the determination of the cause of delayed graft function. *Ann Transplant.* 2011;16:48-53
69. Piscaglia F, Nolsoe C, Dietrich CF, et al. The EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Practice of Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS): update 2011 on non-hepatic applications. *Ultraschall in Med.* 2012;33:33-59
70. Wang L, Cheng JF, Liu XY, et al. Diagnostic value of quantitative contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for early detection of renal hyperperfusion in diabetic kidney disease. *J Nephrol.* 2015;28:669-678
71. Honore PM, Jacobs R, De Waele E, et al. Renal blood flow and acute kidney injury in septic shock: an arduous conflict that smolders intrarenally? *Kidney Int.* 2016;90:22-24
72. Jimenez C, de Garcia R, Aguilera A, et al. In situ kidney insonation with microbubble contrast agent does not cause renal tissue damage in a porcine model. *J ultrasound Med.* 2008;27:1607-1615
73. Kogan P, Johnson KA, Feingold S, et al. Validation of dynamic contrast enhanced ultrasound in rodent kidneys as an absolute quantitative method for measuring blood perfusion. *Ultrasound Med Biol.* 2011;37:900-908
74. Schweiger H, Ohlerth S, Gerber B. Contrast-enhanced ultrasound in both kidneys in healthy, non-anaesthetized cats. *Acta Vet Scand.* 2015;57:80
75. Macri F, Di Pietro S, Liotta L, et al. Effects of size and location of region of interest examined by use of contrast-enhanced ultrasonography on renal perfusion variables of dogs. *Am J Vet Res.* 2016;77:869-876
76. Ma F, Yadav GP, Cang YO, Dang YY, Wang CQ, et al. Contrast-enhanced ultrasonography is a valid technique for the assessment of renal microvascular perfusion dysfunction in diabetic Goto-Kakizaki rats. *Nephrology (Carlton).* 2013;18:750-760
77. Haers H, Daminet S, Smets PM, Duchateau L, Aresu L, et al. Use of quantitative contrast-enhanced ultrasonography to detect diffuse renal changes in Beagles with iatrogenic hypercortisolism. *Am J Vet Res.* 2013;74:70-77
78. Fisher K, Meral FC, Zhang Y, Vangel MG, Jolesz FA, et al. High-resolution renal perfusion mapping using contrast-enhanced ultrasonography in ischemia-reperfusion injury monitors changes in renal microperfusion. *Kidney Int.* 2016;89:1388-1398
79. Sui F, Zheng Y, Li WX, Zhou JL. Renal circulation and microcirculation during intra-abdominal hypertension in a porcine model. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20:452-461
80. Brabrand K, de Lange C, Emblem KE, Reinholt FP, Saugstad OD, et al. Contrast-enhanced ultrasound identifies reduced overall and regional renal perfusion during global hypoxia in piglets. *Invest Radiol.* 2014;49:540-546
81. Arger PH, Sehgal CM, Pugh CR, Kirchoffer JI, Kotlar EY, et al. Evaluation of changes in blood flow by contrast-enhanced power Doppler imaging during norepinephrine-induced renal vasoconstriction. *J Ultrasound Med.* 1999;18:843-851
82. Kalantarina K, Belcik JT, Patrie JT, Wei K. Real-time measurement of renal blood flow in healthy subjects using contrast-enhanced ultrasound. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;297:F1129-1143
83. Schneider AG, Goodwin MD, Schelleman A, Bailey M, Johnson L, et al. Contrast-enhanced ultrasonography to evaluate changes in renal cortical microcirculation induced by noradrenaline: a pilot study. *Crit Care.* 2014;18:653
84. Kishimoto N, Mori Y, Nishiue T, Shibasaki Y, Iba O, et al. Renal blood flow measurement with contrast-enhanced harmonic ultrasonography: evaluation of dopamine-induced changes in renal cortical perfusion in humans. *Clin Nephrol.* 2003;59:423-428
85. Imamura H, Hata J, Iida A, Manabe N, Haruma K. Evaluating the effects of diclofenac sodium and etodolac on renal hemodynamics with contrast-enhanced ultrasonography: a pilot study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013;69:161-165

86. Wang L, Cheng JF, Sun LP, Song YX, Guo LH, et al. Use of Contrast-Enhanced Ultrasound to Study Relationship between Serum Uric Acid and Renal Microvascular Perfusion in Diabetic Kidney Disease. *Biomed Res Int*. 2015;732317
87. Kalantarinia K. Novel imaging techniques in acute kidney injury. *Curr Drug Targets*. 2009;10:1184-1189
88. Wang X, Yu Z, Guo R, Yin H, Hu X. Assessment of prospective perfusion with contrast-enhanced ultrasonography in kidney trasnplantation. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8:18399-18405
89. Jin Y, Yang C, Wu S, Zhou S, Ji Z, et al. A novel, simple, noninvasive index to predict renal transplant acute rejection by contrast-enhanced ultrasonography. *Transplantation*. 2015;99:636-641
90. Dong Y, Wang WP, Lin P, Fan P, Mao F. Assessment of renal perfusion with contrast-enhanced ultrasound: Preliminary results in early diabetic nephropaties. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2015;62:229-238
91. Dong Y, Wang W-p, Cao J, et al. Early assessment of chronic kidney dysfunction using contrast-enhanced ultrasound:a pilot study. *Br J Radiol*. 2014;87(1042):20140350
92. Wang L, Cheng JF, Liu XY, et al. Diagnostic value of quantitative contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for early detection of renal hyperperfusion in diabetic kidney disease. *J Nephrol*. 2015;28:669-678
93. Fröhlich E, Muller R, Ciu X-W, Schreiber-Dietrich D, Dietrich CF. Dynamic contrast-enhanced ultrasound for quantification of tissue perfusion. *J Ultrasound Med*. 2015;34(2):179-196
94. Hudson JM, Williams R, Tremblay-Darveau C, Sheeran PS, Milot L, et al. Dynamic contrast enhanced ultrasound for therapy monitoring. *Eur J Radiol*. 2015;84(9):1650-1657
95. Saftoiu A, Vilmann P, Dietrich CF, Iglesias-Garcia J, Hocke M, et al. Quantitative contrast-enhanced harmonic EUS in differential diagnosis of focal pancreatic masses (with videos). *Gastrointest Endosc*. 2015;82(1):59-69
96. Lassau N, Bonastere J, Kind M, Vilgrain V, Lacroix J, et al. Validation of dynamic contrast-enhanced ultrasound in predicting outcomes of antiangiogenic therapy for solid tumors: the French multicenter support for innovative and expensive techniques study. *Invest Radiol*. 2014;49(12):794-800
97. Cosgrove D, Lassau N. Imaging of perfusion using ultrasound. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37:565-585
98. Kay DH, Mazonakis M, Geddes C, Baxter G. Ultrasonic microbubbles contrast agents and the transplant kidney. *Clin Radiol*. 2009;64(11):1081-1087
99. Bracco presentation book. SonoVue safety. 2004

