

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

Rejane Maria Oravec

**NT-ProBNP e Hipertensão Arterial Pulmonar
em Esclerose Sistêmica**

Porto Alegre, 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**NT-ProBNP e Hipertensão Arterial Pulmonar
em Esclerose Sistêmica**

Rejane Maria Oravec

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Machado Xavier

Co-orientador: Dra. Claudia Cilene Fernandes Correia Laurino

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2007

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ricardo Machado Xavier, pela oportunidade de participar deste Curso de Pós-Graduação e pela valiosa orientação na realização deste projeto.

À minha família, pela compreensão e apoio durante a realização desta etapa.

Ao Dr. Markus Bredemeier e à Dra. Cláudia C.F.C. Laurino, pelo auxílio com seus conhecimentos científicos, paciência e contribuição nesta redação.

Aos colegas do Laboratório Weinmann e à equipe do Serviço de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela oportunidade de realização deste Mestrado.

Dedicatória

Aos meus pais, Franjo e Atila, pelo imenso amor e dedicação,
exemplo de vida e incentivo aos estudos.

Ao meu esposo, Marco, por todo o amor e carinho,
compreensão, estímulo e apoio na realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR: American College of Rheumatology – Colégio Americano de Reumatologia

AD: Átrio direito

ANP: Atrial natriuretic peptide – Peptídeo natriurético atrial

ANTI-PDGFR: Anti-Platelet-derived growth factor receptor – Anti-Receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas

ARA: American Rheumatism Association – Associação Americana de Reumatismo

BNP: Brain natriuretic peptide – Peptídeo natriurético tipo B (ou cerebral)

CNP: C-type natriuretic peptide – Peptídeo natriurético tipo C

CREST: Calcinosis, Raynaud's phenomenon, esophageal dysmotility, sclerodactyly and telangiectasia – Calcinose, fenômeno de Raynaud, dismotilidade esofágica, esclerodactília e teleangiectasias

DNP: D-type natriuretic peptide – Peptídeo natriurético tipo D

ECO: Ecocardiografia com Doppler

ES: Esclerose sistêmica

FR: Fenômeno de Raynaud

GT: Gradiente tricúspide

HAP: Hipertensão arterial pulmonar

LBA: Lavado bronquíolo-alveolar

NT-proBNP: fragmento N-terminal do pró-peptídeo natriurético cerebral

PAD: Pressão no átrio direito

PDGF: Platelet-derived growth factor – Fator de crescimento derivado das plaquetas

PMAP: Pressão média da arterial pulmonar

PSAP: Pressão sistólica na artéria pulmonar

TCAR: Tomografia computadorizada de alta resolução pulmonar

TGF- β : Transforming growth factor- β – Fator de crescimento e transformação beta

VD: Ventrículo direito

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação funcional da hipertensão pulmonar, de acordo com os critérios da NYHA (New York Heart Association) modificados pela OMS (Organização Mundial da Saúde)1988.....	27
Tabela 2. Estudos sobre a acurácia diagnóstica do NT-proBNP em pacientes com HAP na ES.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Envolvimento de diferentes tipos de células na patogênese da ES.....	17
Figura 2. Patogênese da hipertensão arterial pulmonar na esclerose sistêmica.....	26
Figura 3. Seqüência de aminoácidos dos três peptídeos natriuréticos humanos.....	33

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
REVISÃO DA LITERATURA.....	14
1 Definição e Epidemiologia da Esclerose Sistêmica.....	14
2 Critérios de Diagnóstico e Classificação da Esclerose Sistêmica.....	14
3 Patogênese da Esclerose Sistêmica.....	16
4 Auto-anticorpos e a Esclerose Sistêmica.....	18
5 Órgãos Envolvidos na Esclerose Sistêmica.....	20
5.1 Envolvimento Cutâneo.....	20
5.2 Envolvimento Vascular.....	21
5.3 Envolvimento do Trato Gastrointestinal.....	22
5.4 Envolvimento Cardíaco.....	23
5.5 Envolvimento Renal.....	23
5.6 Envolvimento Pulmonar.....	23
5.6.1 Doença Intersticial Pulmonar.....	24
5.6.2 Hipertensão Arterial Pulmonar.....	25
6 Tratamento da Esclerose Sistêmica.....	30
7 Prognóstico da Esclerose Sistêmica.....	32

8	Peptídeos Natriuréticos.....	32
8.1	Peptídeos Natriuréticos Tipo B.....	34
8.1.1	Efeitos Fisiológicos dos Peptídeos Natriuréticos Tipo B.....	35
8.1.2	Utilidade Clínica dos Peptídeos Natriuréticos Tipo B.....	36
8.1.3	NT-proBNP e Hipertensão Arterial Pulmonar.....	37
8.1.4	NT-proBNP e Hipertensão Arterial Pulmonar em Esclerose Sistêmica.....	38
8.1.5	Características do Teste NT-proBNP.....	40
	JUSTIFICATIVA.....	42
	OBJETIVOS.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44
	ARTIGO (Versão em inglês).....	58
	ARTIGO (Versão em português).....	72
	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	87
	ANEXOS	
	ANEXO 1 Protocolo de Pesquisa.....	88
	ANEXO 2 Protocolo de Capilaroscopia Periungueal.....	94
	ANEXO 3 Protocolo de Ecocardio.....	96
	ANEXO 4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Pacientes.....	97
	ANEXO 5 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Controles.....	98

RESUMO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença difusa do tecido conjuntivo caracterizada por fibrose e envolvimento vascular, com distúrbio generalizado da microcirculação, podendo resultar em hipertensão arterial pulmonar (HAP). Atualmente, com o avanço no tratamento das crises renais, a mortalidade desses pacientes está relacionada basicamente ao envolvimento pulmonar. A HAP grave é de difícil tratamento e de mal prognóstico.

O gene do peptídeo natriurético tipo B (BNP) codifica um pró-hormônio que é clivado no cardiomiócito produzindo o hormônio ativo BNP e o fragmento N-terminal do proBNP (NT-proBNP), biologicamente inativo, mas secretado na circulação em quantidades equimolares ao BNP. O NT-proBNP, uma molécula maior contendo 76 aminoácidos, tem meia-vida plasmática mais longa do que a do BNP (120 minutos versus 20 minutos) e, conseqüentemente, níveis circulantes mais elevados, o que facilita sua dosagem do ponto de vista analítico. Os níveis de NT-proBNP estão aumentados não somente em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva e infarto agudo do miocárdio, mas também naqueles com hipertensão arterial pulmonar.

Esta revisão aborda aspectos gerais do diagnóstico e manejo da esclerose sistêmica, com ênfase no envolvimento pulmonar; contempla também avaliação da estrutura e da importância dos peptídeos natriuréticos, com foco no NT-proBNP relacionado à hipertensão arterial pulmonar e esclerose sistêmica.

ABSTRACT

Systemic sclerosis (SSc) is a diffuse connective tissue disease, characterized by skin and visceral fibrosis and vascular dysfunction. It may lead to pulmonary arterial hypertension (PAH). Currently, with the advance in the treatment of renal problems, the mortality of these patients is related basically to pulmonary involvement. Severe HAP is difficult to treat and has a poor prognosis.

The B-type natriuretic peptide (BNP) gene encodes a pro-hormone, which is cleaved in the cardiomyocyte to produce the hormone, BNP, and the biologically inactive N-terminal proBNP (NT-proBNP) fragment. Both are secreted in equimolar quantities. NT-proBNP, composed of 76 amino acids, has a longer half-life than BNP (120 minutes versus 20 minutes), and thus higher circulating levels and better analytical performance. The NT-proBNP levels are raised in patients with congestive heart failure, acute myocardial infarction and also in pulmonary arterial hypertension.

This review highlights general aspects of diagnosis and management of systemic sclerosis, emphasizing pulmonary involvement. It also assesses the structure and importance of natriuretic peptides, focusing on the NT-proBNP related to pulmonary hypertension and systemic sclerosis.

INTRODUÇÃO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença difusa do tecido conjuntivo caracterizada por fibrose e envolvimento vascular, com distúrbio generalizado da microcirculação, podendo resultar em hipertensão arterial pulmonar (HAP) (1). Atualmente, com o avanço no tratamento das crises renais, a mortalidade desses pacientes está relacionada basicamente ao envolvimento pulmonar (2). A HAP é amplamente reconhecida como uma importante complicação das formas limitada e difusa da ES. A HAP grave é de difícil tratamento e de mau prognóstico (3). Poucos sintomas de HAP são observados até que essa complicação represente um risco de vida. Portanto, são necessários diagnóstico e tratamento rápidos (4), preferencialmente através de método não invasivo.

O gene do peptídeo natriurético tipo B (BNP) codifica um pró-hormônio que é clivado no cardiomiócito produzindo o hormônio ativo BNP e o fragmento N-terminal do proBNP (NT-proBNP), biologicamente inativo, mas secretado na circulação em quantidades equimolares ao BNP (5). Ambos, o BNP e o NT-proBNP, podem ser dosados na circulação por imunoenaios validados e disponíveis comercialmente.

O NT-proBNP, uma molécula maior contendo 76 aminoácidos, tem uma meia-vida plasmática mais longa do que a do BNP (120 minutos versus 20 minutos) e, conseqüentemente, níveis circulantes mais elevados, o que facilita sua dosagem do ponto de vista analítico (6). Os níveis de NT-proBNP são elevados não somente em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva e infarto agudo do miocárdio, mas também naqueles com hipertensão arterial pulmonar (7;8).

Allanore et al. publicou a utilidade da dosagem sérica do NT-proBNP para a identificação de HAP inicial em pacientes com ES (9). Por tratar-se de primeira observação e por incluir um número relativamente pequeno de pacientes, torna-se importante tentar reproduzir e melhor analisar a utilidade desse teste em um número maior de pacientes.

REVISÃO DA LITERATURA

1 Definição e Epidemiologia da Esclerose Sistêmica

A Esclerose sistêmica (ES) é uma doença difusa do tecido conjuntivo, de etiologia desconhecida, caracterizada por graus variáveis de fibrose cutânea e visceral, presença de auto-anticorpos séricos circulantes e envolvimento vascular (1). A fibrose da pele e do tecido conjuntivo leva ao espessamento e endurecimento (esclerodermia). Excessiva resposta de vasoconstrição e obliteração dos vasos expressa-se clinicamente através do Fenômeno de Raynaud (FR) e eventos isquêmicos periféricos (10). O acometimento visceral afeta predominantemente os pulmões, o trato gastrointestinal, o coração e os rins.

A prevalência da doença varia com a população estudada e os critérios utilizados para a seleção dos pacientes. A prevalência da ES na população em geral dos EUA foi estimada em 276 casos por milhão de indivíduos adultos, com uma incidência de 19,3 casos novos por milhão de indivíduos adultos por ano (11). A prevalência mais alta relatada foi na população de índios Choctaw em Oklahoma, sendo estimada em 660 casos por milhão (12).

A ES é mais freqüente em mulheres do que em homens (proporção 5:1) (11). Ocorre em todas as faixas etárias, mas o pico de incidência ocorre entre os 45 e 60 anos de idade (11).

O espectro clínico da ES compreende desde um acometimento limitado da pele nas extremidades e face, com lenta evolução e progressão da doença, até um comprometimento cutâneo difuso e grave, em que há envolvimento cutâneo do tronco e lesão precoce dos órgãos internos (13).

2 Critérios de Diagnóstico e Classificação da Esclerose Sistêmica

Os critérios preliminares para o diagnóstico da ES foram divulgados em 1980 pela “American Rheumatism Association” (ARA), atual “American College of Rheumatology” (ACR), sendo classificados em critério maior, que inclui escleroderma proximal (às

metacarpofalangeanas), e critérios menores, associados a esclerodactilia, ulcerações de polpas digitais ou reabsorção de falanges distais, e fibrose nas bases pulmonares. O diagnóstico de ES necessita da presença do critério maior ou, na sua ausência, de dois critérios menores. Nesta série, esses critérios apresentaram sensibilidade de 97% e especificidade de 98% (14).

Segundo alguns autores, os critérios de classificação são inadequados para o diagnóstico em muitos pacientes portadores de ES. Foi sugerido que pacientes com Fenômeno de Raynaud associado a alterações típicas na capilaroscopia periungueal e a auto-anticorpos específicos para ES fossem considerados como apresentando a forma limitada da ES (15).

Le Roy e Medsger, em 1988, propuseram o modelo de classificação da ES em duas formas clínicas: limitada e difusa cutâneas (1). A forma limitada cutânea apresenta evolução lenta, caracterizada por envolvimento da pele restrito às extremidades distais e face, com presença de calcinose subcutânea, longa história de FR, dismotilidade esofágica, refluxo gastroesofágico e teleangiectasias cutâneas (palma das mãos e ao redor da boca). A constelação de calcinose, FR, envolvimento esofageano, esclerodactilia e teleangiectasia foi denominada de síndrome de CREST. As manifestações viscerais, como doença intersticial pulmonar, hipertensão arterial pulmonar isolada e envolvimento do intestino delgado, ocorrem tardiamente. Muitos pacientes apresentam anticorpos anticentrômero, embora também possam exibir anticorpos antifibrilarina, anti-topoisomerase I (anti-Scl 70) e anti-RNA polimerase I e III (13).

A forma difusa cutânea apresenta início abrupto e evolução rápida, caracterizada por envolvimento generalizado da pele, afetando tronco, face e membros, com contraturas articulares, crepitação tendínea, envolvimento esofageano e comprometimento visceral precoce (doença intersticial pulmonar e crise renal hipertensiva são frequentes) (1). Pode apresentar-se com anticorpos anti-topoisomerase I (anti-Scl 70), anti-RNA polimerase I e III, anti-PM-Scl e antifibrilarina (13).

Outras formas mais recentemente mencionadas na literatura incluem a ES *sine escleroderma* e a síndrome de sobreposição (13). A ES *sine escleroderma* é uma condição rara. Caracteriza-se pela presença de achados vasculares e sorológicos típicos de ES limitada cutânea e pela ocorrência de complicações viscerais, como doença intersticial pulmonar, crise renal esclerodérmica ou envolvimento intestinal grave, mas sem evidência de esclerodermia (16). Alguns autores sugerem que a ES *sine escleroderma* deva ser

incluída no espectro da forma limitada cutânea da ES e não seja considerada uma entidade distinta (16).

Quadros de ES também podem ocorrer concomitantemente a achados de diversas outras doenças do tecido conjuntivo, como artrite reumatóide, Lúpus eritematoso sistêmico, polimiosite, dermatomiosite e síndrome de Sjögren, situação conhecida como síndrome de sobreposição (1).

3 Patogênese da Esclerose Sistêmica

Os mecanismos envolvidos na patogênese da ES são, em grande parte, desconhecidos, embora existam anormalidades fundamentais em pelo menos três tipos de células: fibroblastos, células endoteliais e células do sistema imune (principalmente linfócitos T e B) (figura 1). As alterações funcionais dessas células resultam na tríade característica de alterações patológicas: fibrose cutânea e visceral, obliteração vascular e anormalidades imunológicas (produção de auto-anticorpos, infiltrado mononuclear crônico nos tecidos afetados e alteração na produção do fator de crescimento e linfocinas) (17).

A ativação imune é um evento inicial na ES. O aparecimento da inflamação ocorre antes da evidência histológica de fibrose (18). As células T, ao serem ativadas, infiltram as lesões de pele precocemente e produzem as citocinas IL-4, IL-13 e IL-17 (19). A IL-4 estimula a produção de colágeno nos fibroblastos e induz à produção do fator de crescimento e transformação beta (Transforming growth factor- β - TGF- β). A IL-4 e o TGF- β são as maiores citocinas fibrogênicas na ES. A IL-13 age sobre os macrófagos e aumenta a produção de TGF- β . A IL-17 promove a proliferação de fibroblastos e atua sobre as células endoteliais induzindo à produção de IL-1, IL-6, fator de crescimento do tecido conjuntivo e fator de crescimento derivado das plaquetas (platelet-derived growth factor – PDGF) (20). Todos esses mediadores biológicos parecem estar implicados na patogênese da ES e afetam fibroblastos, células endoteliais e macrófagos, mas maiores detalhes de suas ações específicas e interações ainda carecem de melhor definição.

Os linfócitos B também estão ativados na ES (21); além de responsáveis pela produção dos auto-anticorpos, parecem contribuir para a fibrose, através da produção de citocinas. As células B ativadas produzem IL-6, IL-10 e TGF- β , que promovem a síntese de colágeno pelos fibroblastos. A presença de anticorpos contra as células endoteliais pode

induzir à apoptose dessas células (22). Anticorpos antifibroblastos, reagindo com moléculas de superfície dos fibroblastos, têm o potencial de ativá-los (23). Recentemente, foi descrito o envolvimento de anti-PDGFR (platelet-derived growth factor receptor - receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas) na ativação direta de fibroblastos (24). O acúmulo de células B nas lesões de pele e a produção de auto-anticorpos parecem depender da interação entre os linfócitos T e B (25).

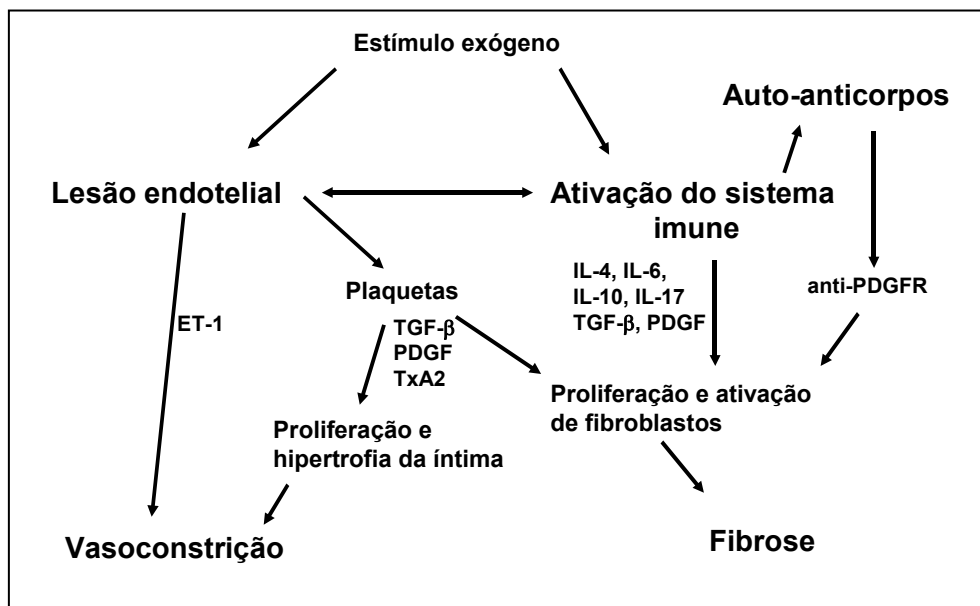


Figura 1. Envolvimento de diferentes tipos de células na patogênese da ES.

Outra hipótese proposta é a do papel do microquimerismo (26;27). Essa teoria sugere que células fetais presentes na circulação materna após o parto poderiam desencadear uma reação do tipo enxerto versus hospedeiro, a qual se manifestaria como ES. Células quiméricas de origem materna poderiam explicar a ocorrência de ES em mulheres nulíparas e homens (26;27).

A contribuição dos fatores genéticos no desenvolvimento e expressão da ES foi sugerida pela observação de alta incidência de distúrbios auto-imunes em familiares de pacientes com ES e diferenças na prevalência e manifestações clínicas entre diferentes grupos étnicos (28). Existem evidências de que os fatores genéticos hereditários determinam a produção de auto-anticorpos na ES, mas não são suficientes para o desenvolvimento da doença. A concordância para ES foi de apenas 4,7% entre gêmeos e

similar entre gêmeos monozigóticos e dizigóticos; a concordância para a presença de auto-anticorpos foi significativamente maior para gêmeos monozigóticos, em comparação com dizigóticos (29). Outros fatores, como mutações ou polimorfismos em genes relevantes, podem influenciar a expressão da doença (30).

Agentes infecciosos e químicos também parecem contribuir na patogênese da ES. Com relação aos agentes infecciosos, pesquisadores sugerem que a produção de auto-anticorpos específicos na ES resulta de resposta dirigida a antígenos próprios que contêm epítomos com estrutura similar a proteínas virais ou bacterianas. Herpesvírus, retrovírus e citomegalovírus, entre outros, são sugeridos como possíveis agentes causadores da doença (31;32). Há relatos de que os agentes ambientais implicados no desenvolvimento da ES encontram-se associados à exposição frente a sílica, poeira metálica, solventes orgânicos, cloreto de vinila, pesticidas, tinturas de cabelo e vapores industriais (33-35).

4 Auto-anticorpos e a Esclerose Sistêmica

Mais de 90% dos pacientes com ES apresentam auto-anticorpos séricos. Por serem freqüentes e específicos para certas formas clínicas da ES, os auto-anticorpos são úteis para estabelecer o diagnóstico e prever um provável padrão de envolvimento de órgão, gravidade e progressão da doença (36).

O método tradicionalmente utilizado para a investigação dos auto-anticorpos na ES é o teste de imunofluorescência indireta (IFI) em células HEp-2. Para alguns auto-anticorpos, o padrão morfológico observado na IFI é suficiente para definição da especificidade do auto-anticorpo. Para a maior parte, entretanto, o padrão é insuficiente, havendo necessidade de outros testes para sua identificação. Entre os métodos utilizados para a identificação dos auto-anticorpos, encontram-se a imunodifusão dupla, a contraímunoeletroforese, a hemaglutinação passiva, os testes imunoenzimáticos, o *immunoblot* e os testes de imunoprecipitação (36).

As freqüências relatadas para os diversos auto-anticorpos apresentam ampla variação, pois refletem os estudos de autores de diversas partes do mundo, utilizando técnicas distintas (36). Entre os auto-anticorpos mais associados a ES encontra-se anticentrômero, antitopoisomerase I, anti-RNA polimerases, antifibrilarina e anti-PM-Scl. A coexistência de mais de uma especificidade de auto-anticorpo em um mesmo paciente não

é a regra em pacientes com ES, exceção feita aos anticorpos contra as RNA polimerases. Esse fenômeno contrasta com o cenário observado no Lúpus eritematoso sistêmico e na síndrome de Sjögren, em que é freqüente a presença de vários auto-anticorpos distintos no soro de um mesmo paciente (36).

Os anticorpos anticentrômero ocorrem em 44% a 70% dos pacientes com a forma limitada e em aproximadamente 10% dos pacientes com a forma difusa da ES (37-39). Encontram-se associados a hipertensão pulmonar isolada, doença intestinal grave e, raramente, a doença intersticial pulmonar. Também podem ser detectados em pacientes com cirrose biliar primária, síndrome de Sjögren e Lúpus eritematoso sistêmico (38;40-42). Quando presentes em pacientes com FR isolado indicam a possibilidade de desenvolvimento futuro de doença reumática auto-imune (43). Os níveis desses anticorpos costumam ser estáveis ao longo dos anos, não havendo correlação entre os níveis séricos e a atividade da doença (43).

Anticorpos anti-Scl-70 são encontrados em 40% a 87% dos pacientes com a forma difusa e em cerca de 10% a 15% daqueles com a forma limitada da doença (44-46). A especificidade é de aproximadamente 93% para ES (47). Esses anticorpos foram associados ao envolvimento cardíaco, renal, intersticial pulmonar e ao aumento da mortalidade (48). A atividade da doença parece estar relacionada ao aparecimento desses anticorpos (49;50). Sua existência em pacientes com FR isolado permite supor a evolução do quadro para ES (51).

Anticorpos contra os três tipos de RNA polimerase estão presentes na ES; no entanto, anticorpos anti-RNA polimerase I e III são específicos para essa enfermidade, e anti-RNA polimerase II são também encontrados no Lúpus eritematoso sistêmico e na síndrome de sobreposição. Os anticorpos anti-RNA polimerase I ocorrem em 4% a 11% dos pacientes com ES, estando associados à forma difusa, com maior freqüência de envolvimento cardíaco e renal (52). Em estudo longitudinal, a sobrevivência em 5 e 10 anos foi menor em pacientes com anticorpos anti-RNA polimerase I (45% e 30%) do que naqueles com anticorpos anti-Scl-70 (80% e 66%) (48). Anticorpos anti-RNA polimerase III têm sido descritos em 12% a 23% dos pacientes com ES, estando relacionados ao acometimento difuso da pele e pior prognóstico (48). As associações descritas para os anticorpos anti-RNA polimerases podem apresentar alguma imprecisão, pois freqüentemente há concomitância de anticorpos contra mais de uma RNA polimerase no mesmo soro.

Anticorpos antifibrilarina aparecem em 4% a 18% dos pacientes e são altamente específicos para ES (52;53). Ocorrem nas formas limitada e difusa cutâneas. Estão

associados a pobre prognóstico na forma difusa relacionada a hipertensão arterial pulmonar, envolvimento muscular, cardíaco e renal (53;54).

Anticorpos anti-PM-Scl estão associados à síndrome de sobreposição entre forma limitada da ES e polimiosite (55). Cerca de 20% dos pacientes têm somente miosite e 10% têm apenas ES. As manifestações clínicas mais fortemente associadas a esse auto-anticorpo são miosite, artrite e FR. O prognóstico dos portadores de anti-PM/Scl é geralmente mais favorável.

5 Órgãos Envolvidos na Esclerose Sistêmica

5.1 Envolvimento Cutâneo

O endurecimento da pele e o espessamento da derme são, na maioria dos casos, as manifestações clínicas iniciais nos pacientes com ES. A extensão e a gravidade do envolvimento cutâneo variam da forma limitada, confinada aos dedos e à face, à forma difusa, com espessamento generalizado da pele. A intensidade e a extensão do envolvimento cutâneo são avaliadas através da palpação da pele, utilizando os escores de Rodnan e de Rodnam modificado. O escore de Rodnan original avalia o espessamento cutâneo em 26 sítios anatômicos, utilizando uma escala de 0 (pele normal) a 4 (espessamento extremo) (56). O escore de Rodnan modificado avalia 17 sítios anatômicos, usando uma escala de 0 (pele normal) a 3 (espessamento cutâneo grave) (57). A redução do número de áreas analisadas e da escala de graduação do espessamento cutâneo tende a diminuir a variabilidade intra e interobservador.

5.2 Envolvimento Vascular

A anormalidade vascular na ES é caracterizada clinicamente pelo Fenômeno de Raynaud e por eventos isquêmicos verificados nas extremidades digitais (cicatrizes puntiformes, reabsorção óssea e amputações digitais). O FR ocorre em episódios reversíveis e recorrentes de vasoespasmos de pequenas artérias e arteríolas, envolvendo geralmente os dedos das mãos e dos pés, nariz e orelhas. É caracterizado por crises de palidez (isquemia) seguidas, geralmente após reaquecimento, de eritema reativo (vasodilatação compensatória); em crises intensas, a isquemia é seguida por uma fase de cianose (desoxigenação do sangue), prévia ao eritema. Os episódios de FR são desencadeados por exposição ao frio, estresse ou nicotina (58).

O FR pode ser classificado em primário ou secundário, quando associado à ingestão de medicações ou presença de doença reumática. Na ES, o FR ocorre em mais de 90% dos pacientes e, principalmente na forma limitada da doença, pode preceder em anos o surgimento do envolvimento cutâneo e visceral. A frequência populacional do FR é em torno de 10% (59;60).

A capilaroscopia periungueal, método de fácil execução e não-invasivo, é uma das formas de avaliação da disfunção vascular que ocorre na ES. As alterações tipicamente observadas em 83% a 97% dos pacientes com ES são denominadas de padrão SD (de *scleroderma*), e permitem o diagnóstico diferencial entre FR primário e secundário (61). Em estudo recente no nosso grupo, encontrou-se uma forte correlação entre a presença de alterações na capilaroscopia periungueal e o comprometimento intersticial pulmonar na ES, conforme constatado por tomografia de alta resolução. No entanto, na hipertensão pulmonar, essa correlação não atingiu significância estatística, provavelmente devido ao pequeno número de pacientes com essa complicação na amostra do estudo (62).

O dano vascular na esclerose sistêmica parece ser um processo relacionado à lesão e proliferação da camada íntima, envolvendo pequenas artérias dos órgãos afetados (63-66). Há evidências de que esse processo tem origem primariamente no endotélio (64-66), que mostra indícios de lesão e ativação, consistindo no desaparecimento de células endoteliais, trombose ou necrose fibrinóide, e duplicação da membrana basal de pequenos vasos (65). O dano endotelial conduz à ativação e agregação plaquetárias, deposição perivascular de fibrina e redução do fluxo sanguíneo, contribuindo para a isquemia local. Substâncias liberadas pelas plaquetas levam à proliferação de células musculares lisas, além da migração dessas células para a camada íntima. A matriz extracelular da camada

Íntima aumenta em quantidade, havendo também edema perivascular pela passagem de proteínas e plasma para o interstício. A camada íntima sofre hipertrofia e proliferação, contribuindo para a redução do diâmetro luminal arteriolar (64;66). A liberação de substâncias plaquetárias (como o fator de crescimento derivado das plaquetas – PDGF) (67) e de células endoteliais (como a endotelina-1) (68) pode, além de induzir a vasoconstrição, estimular a proliferação celular e a síntese de colágeno em fibroblastos, conduzindo à fibrose da pele e de órgãos internos (64-66). A associação causal entre lesão microvascular e fibrose tecidual foi proposta formalmente por Campbell e Leroy (63), sendo denominada hipótese vascular da esclerose sistêmica.

Pacientes com ES podem apresentar doença macrovascular, evidenciada por claudicação intermitente e gangrena dos membros inferiores chegando à amputação, infarto cerebral isquêmico e arterite de coronárias (69;70). A patogênese do acometimento macrovascular na ES não é completamente conhecida, mas existem relatos de anomalias da coagulação como aumento do fator de von Willebrand e fibrinogênio (71).

5.3 Envolvimento do Trato Gastrointestinal

É a complicação visceral mais freqüente na ES. O trato gastrointestinal pode ser afetado em quase toda a sua extensão (72).

Praticamente todos os pacientes apresentam sintomas de disfunção esofágica. Pode haver importantes alterações funcionais e anatômicas, caracterizadas principalmente por modificação no peristaltismo e dilatação, sendo comum a queixa de pirose e dor epigástrica (72).

No intestino delgado, ocorrem redução da motilidade e supercrescimento bacteriano intraluminal. Essa insuficiência funcional pode levar à síndrome de má-absorção e até a quadros pseudo-obstrutivos. No envolvimento do intestino grosso, pode ocorrer alternância de diarreia e constipação crônicas. Lesões vasculares da mucosa intestinal são reconhecidas como uma causa de anemia em ES (72).

5.4 Envolvimento Cardíaco

Segundo Steen, o acometimento cardíaco acontece em até 15% dos pacientes com ES de forma difusa (73). Esse envolvimento pode se manifestar de diferentes formas, como derrame pericárdico, anomalias de condução e inflamação ou fibrose do miocárdio (74). As manifestações clínicas incluem bloqueios, arritmias e insuficiência cardíaca.

5.5 Envolvimento Renal

Embora as alterações histopatológicas renais estejam quase sempre presentes na ES, a manifestação clínica mais relevante é a crise renal esclerodérmica, caracterizada por início súbito de hipertensão arterial maligna associada a insuficiência renal rapidamente progressiva e anemia hemolítica microangiopática. Ocorre em aproximadamente 12% dos pacientes com ES de forma difusa e em 2% na forma limitada, nas fases iniciais da doença (dois primeiros anos) (72). As alterações laboratoriais encontradas são elevações da creatinina sérica, proteinúria, hematúria microscópica e, eventualmente, anemia e trombocitopenia secundárias ao processo microangiopático nos vasos renais.

Até a década de 70, foi a maior causa de mortalidade na esclerose sistêmica. A introdução dos inibidores da enzima conversora da angiotensina no tratamento desses pacientes possibilitou uma importante melhora no prognóstico desse quadro. Essa terapia representa um dos maiores progressos no manejo desses pacientes.(75).

5.6 Envolvimento Pulmonar

Atualmente, o comprometimento pulmonar é a maior causa de mortalidade na ES (3). Aproximadamente 30% dos pacientes com ES desenvolverão doença respiratória clinicamente significativa (72). A doença pulmonar pode apresentar-se como: alveolite, que conduz à doença intersticial pulmonar, e vasculopatia das pequenas artérias pulmonares, resultando em hipertensão arterial pulmonar.

5.6.1 Doença Intersticial Pulmonar

A doença intersticial pulmonar ocorre em até 80% dos casos de ES. O aparecimento dos sintomas é muitas vezes insidioso e caracteriza-se por dispnéia aos esforços, tosse seca e estertores crepitantes basais pulmonares bilaterais (76). A radiografia de tórax é um método pouco sensível como triagem diagnóstica de doença intersticial pulmonar. O padrão radiológico inicial é de vidro fosco ou padrão reticulonodular, achados associados à presença de doença ativa. Em estágios avançados, é observado o padrão faveolamento, refletindo lesões estruturais irreversíveis (77). A tomografia computadorizada de alta resolução pulmonar (TCAR) tem apresentado maior sensibilidade no diagnóstico da doença intersticial pulmonar. Na TCAR observam-se graus variáveis de faveolamento, infiltrado em vidro-fosco, linhas septais espessadas, bandas parenquimatosas, linhas subpleurais, micronódulos e espessamento pleural (78). Pacientes portadores de doença grave apresentam importante redução de volumes pulmonares, extensas áreas de faveolamento, bandas parenquimatosas, desorganização estrutural e bronquiectasias de tração (79). No entanto, é interessante observar que há pacientes com alterações discretas ou ausentes na TCAR que apresentam importantes alterações restritivas em provas de função pulmonar (80;81).

A determinação da atividade da alveolite fibrosante tem grande importância clínica, diante da observação de que pacientes com doença pulmonar ativa apresentam deterioração progressiva do quadro pulmonar, mas podem responder favoravelmente ao tratamento imunossupressor agressivo (79;82). A aparência histológica do pulmão na alveolite fibrosante associada à esclerose sistêmica é idêntica à da alveolite fibrosante criptogênica (83). Formas ativas de alveolite fibrosante mostram predomínio de infiltrado celular inflamatório, enquanto que, na fase tardia, há predomínio de fibrose tecidual (84). A observação de alveolite fibrosante ativa em biópsias pulmonares está associada a presença de opacidades em vidro-fosco na TCAR (84) e a um aumento no percentual de neutrófilos, eosinófilos e linfócitos no lavado bronquíolo-alveolar (LBA) de pacientes com ES (85). Há relatos de que o LBA possa representar maior sensibilidade para a detecção de alveolite fibrosante ativa do que a TCAR (86;87). Outras formas de avaliação de atividade de doença pulmonar são a cintilografia pulmonar ou provas seriadas de função pulmonar (88).

5.6.2 Hipertensão Arterial Pulmonar

A hipertensão arterial pulmonar (HAP) é uma doença das pequenas artérias pulmonares, caracterizada por aumento progressivo na resistência vascular pulmonar, levando a insuficiência ventricular direita e morte (89). HAP é definida como elevação da pressão média na artéria pulmonar acima de 25 mmHg em repouso ou acima de 30 mmHg durante exercício, com uma pressão de oclusão da artéria pulmonar normal (<15 mmHg) (90). Embora a HAP tenha sido observada em todas as doenças do tecido conjuntivo, ocorre mais freqüentemente na ES (91).

Mukerjee et al., avaliando 722 pacientes com ES, encontrou uma prevalência de HAP de aproximadamente 12% (92). A HAP pode ocorrer de maneira isolada, principalmente como uma severa complicação de ES limitada cutânea, ou de forma secundária à doença intersticial pulmonar, a qual geralmente não é tão grave quanto a HAP isolada (91). Comparado com a forma idiopática, a HAP relacionada à ES está associada a mais alta morbidade e mortalidade, e a pior resposta ao tratamento (89).

A etiopatogenia da HAP na ES parece ser complexa e multifatorial (figura 2). A maior parte das alterações histopatológicas encontradas na HAP associada à ES são similares às da HAP idiopática, com algumas diferenças (93). A natureza da lesão inicial não é clara, mas há evidências de uma predisposição genética (30;94;95), de um componente vascular (96), e de ativação ou dano das células endoteliais (97). A lesão em estágio final apresenta estreitamento luminal microvascular com hipertrofia da camada da média e adventícia, e lesões proliferativas e hiperplasia da íntima (processo também chamado de remodelação vascular). O desequilíbrio entre vasodilatadores e vasoconstritores também parece ter papel importante na patogênese da HAP na ES. A baixa produção local de vasodilatadores naturais, como óxido nítrico derivado do endotélio, ou excesso de vasoconstritores, tais como endotelina-1, podem contribuir para a patogênese (98).

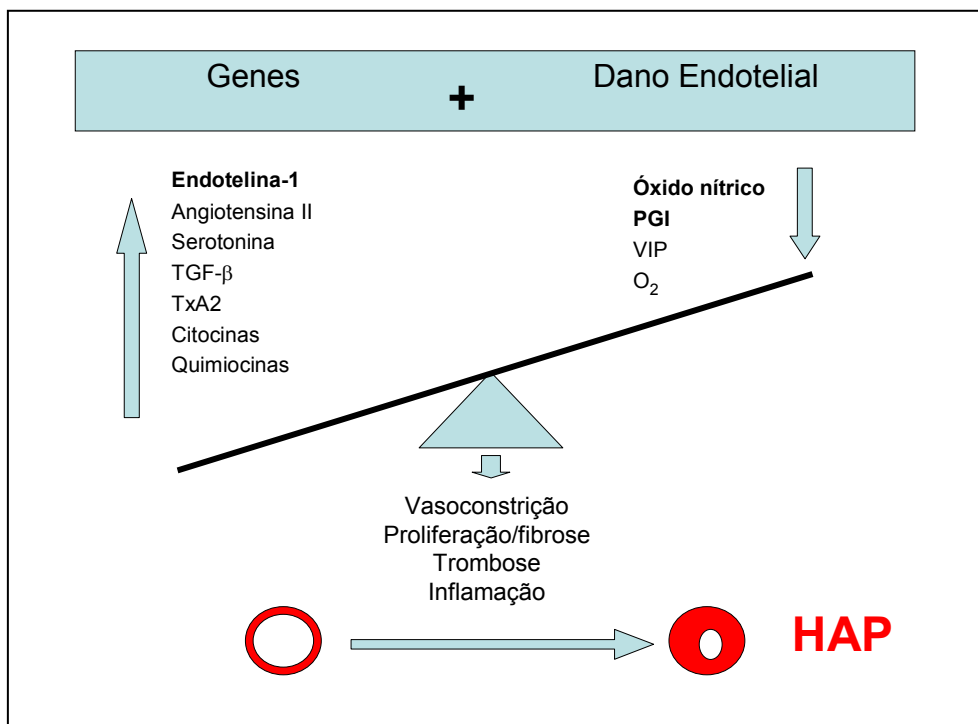


Figura 2. Patogênese da hipertensão arterial pulmonar na esclerose sistêmica.

A HAP é uma complicação tardia de ES, sendo diagnosticada geralmente em 10 a 20 anos após o início da doença, quando as alterações hemodinâmicas e morfológicas dos vasos pulmonares estão presentes (92). Embora a HAP possa ser assintomática, a manifestação da dispnéia ao exercício é o sintoma mais frequentemente encontrado. Na doença avançada, pode ocorrer dispnéia em repouso, angina e síncope. A fase avançada da HAP determina o desenvolvimento de insuficiência cardíaca direita, devido à sobrecarga ventricular (93). A sobrevida mediana em pacientes não tratados é de somente 12 meses, e o risco de morte é quase triplicado (99;100). Ao exame físico, observa-se aumento de intensidade do componente pulmonar da segunda bulha (B2) na ausculta cardíaca, impulsão parasternal esquerda, distensão venosa jugular, edema de membros inferiores e ascite (93). Os pacientes são classificados de I a IV, conforme o grau de comprometimento funcional ao exercício, de maneira análoga ao New York Heart Association (tabela 1).

Tabela1. Classificação funcional da hipertensão pulmonar, de acordo com os critérios da NYHA (New York Heart Association) modificados pela OMS (Organização Mundial da Saúde) – 1988

Classe	Descrição
I	Pacientes com hipertensão arterial pulmonar, mas sem limitação das atividades físicas. Atividades físicas habituais não causam dispnéia ou fadiga excessiva, dor torácica ou pré-síncope.
II	Pacientes com hipertensão arterial pulmonar resultando em discreta limitação das atividades físicas. Esses pacientes estão confortáveis ao repouso, mas atividades físicas habituais causam dispnéia ou fadiga excessiva, dor torácica ou pré-síncope.
III	Pacientes com hipertensão arterial pulmonar resultando em importante limitação das atividades físicas. Esses pacientes estão confortáveis ao repouso, mas esforços menores que as atividades físicas habituais causam dispnéia ou fadiga excessiva, dor torácica ou pré-síncope.
IV	Pacientes com hipertensão arterial pulmonar resultando em incapacidade para realizar qualquer atividade física sem sintomas. Esses pacientes manifestam sinais de falência ventricular direita. Dispnéia e/ou fadiga podem estar presentes ao repouso, e o desconforto aumenta em qualquer esforço.

A ausência de sinais clínicos e físicos precoces sugestivos da presença de HAP indica a necessidade do uso regular de exames complementares nos pacientes com ES: eletrocardiograma, radiografia de tórax e ecocardiografia com Doppler.

O eletrocardiograma pode demonstrar sinais de hipertrofia ventricular direita, desvio axial direito ou dilatação atrial direita, porém com sensibilidade (55%) e especificidade (79%) inadequadas para ser reconhecido como um teste de triagem (101). Os sinais radiográficos de HAP em geral ocorrem tardiamente e incluem dilatação das artérias pulmonares centrais, do átrio e ventrículo direitos. A radiografia pode ser útil para mostrar comorbidade ou condições causais, tais como congestão venosa pulmonar, doença pulmonar obstrutiva crônica ou doença intersticial pulmonar (102).

A ecocardiografia com Doppler (ECO) é o teste não invasivo mais utilizado na avaliação da HAP (103). Além de ser excelente alternativa de rastreamento, fornece

informações sobre as causas e conseqüências da HAP, oferecendo evidências diretas sobre a função sistólica e diastólica ventricular esquerda (103). A ECO estima a pressão sistólica da artéria pulmonar (PSAP), medindo a velocidade do fluxo regurgitante através da válvula tricúspide, o que reflete a diferença de pressão existente entre o ventrículo direito (VD) e o átrio direito (AD). A PSAP é equivalente à pressão sistólica do ventrículo direito, na ausência de obstrução do fluxo pulmonar. A PSAP é calculada empregando a equação modificada de Bernouilli (104).

$$\text{PSAP} = 4v^2 + \text{PAD}$$

onde: v=velocidade do jato tricúspide (m/s); PAD=pressão atrial direita (mmHg)

A acurácia dessa técnica depende de uma estimativa precisa da PAD durante o ponto médio da sístole. O valor da PAD contribui possivelmente para super ou subestimação da PSAP (105). A PAD pode ser determinada pelo grau de colapso da veia cava inferior durante inspiração (106), pelo grau de distensão da veia jugular secundária à estase circulatória retrógrada, ou atribuindo valores de 10 mmHg (mais utilizada) (107) ou 14 mmHg para a estimativa da pressão em AD (108). O fluxo regurgitante tricúspide pode ser avaliado na maioria (86%) dos pacientes com HAP (109).

Alguns estudos indicam que a estimativa da PSAP por ECO apresenta forte correlação com os valores obtidos por cateterização cardíaca direita (r entre 0,83 e 0,93), mas, na prática, existe a influência dos valores extremos (104;110;111). A discordância entre essas medidas é geralmente explicada por vários fatores, incluindo medidas não simultâneas, estimativa clínica ou valor atribuído à PAD, em vez da medida direta, e problemas metodológicos na medida do fluxo regurgitante (112). Outras limitações da ECO, como método estimativo da PSAP, incluem o fato do procedimento ser operador-dependente e um discreto grau de regurgitação poder ser especialmente difícil de avaliar. A ECO apresenta sensibilidade e especificidade altas para detectar HAP, quando realizada por um observador experiente (109;110).

A ECO é recomendada como teste de rastreamento anual em pacientes assintomáticos com ES para a detecção de HAP (3). Contudo, essas recomendações não fornecem limiares e parâmetros ótimos a serem usados para definir possível HAP. Alguns estudos adotam o gradiente tricúspide, e outros, a PSAP estimada, para definir HAP em diferentes limiares. Mukerjee et al. (105) compararam a capacidade da ECO versus cateterismo cardíaco, ao discriminar entre a presença e ausência de HAP em 137 pacientes com ES, utilizando vários limiares de gradiente tricúspide. Ao utilizar limiar de 30 mmHg, obtiveram sensibilidade e especificidade, respectivamente, de 88% e 42%. Ao adotar limiar

de 45 mmHg, os resultados foram de 47% e 97%. A ECO tende a superestimar a PSAP em pacientes com pressão normal ou menos grave e a subestimar a PSAP em pacientes com grave HAP. A combinação de ECO e achados clínicos (classe funcional pela NYHA/OMS para grau de dispnéia) identificou mais de 90% dos pacientes com HAP avançada.

É importante salientar que a definição de um nível para PSAP elevada não explicita o ponto no qual a PSAP aumentada é preditiva de complicações futuras e/ou requer tratamentos específicos. A PSAP aumenta com a idade e com o índice de massa corporal (113). A possibilidade de resultados falsos negativos para cada limiar proposto deve ser considerada em pacientes com alta suspeita clínica (105).

A realização da ECO, durante ou imediatamente após exercício, parece promissora para melhorar a sensibilidade de identificação de HAP. Entretanto, a primeira modalidade requer equipamento especializado, e a segunda foi utilizada apenas em pequenos estudos. Testes de estresse com dopamina não parecem trazer informação adicional (93).

Os testes de função pulmonar também são úteis na avaliação inicial de pacientes com suspeita de HAP, principalmente para excluir ou caracterizar a doença intersticial pulmonar (103). Nos pacientes com ES, aproximadamente 20% apresentam redução isolada na capacidade de difusão do monóxido de carbono (114). Uma capacidade de difusão inferior a 55% do valor predito pode sinalizar o desenvolvimento de HAP (115). Por outro lado, foi observado que alterações na capacidade de difusão do monóxido de carbono isoladas e freqüentemente transitórias são comuns em ES. A explicação para esse fato não é clara. Portanto, os testes de função pulmonar devem ser interpretados no contexto clínico e repetidos, caso os resultados pareçam inconsistentes (93).

O cateterismo cardíaco direito é o padrão de referência para o diagnóstico de HAP. Permite a medida direta da pressão da artéria pulmonar e exclui causas pós-capilares de hipertensão pulmonar, as quais nem sempre são detectadas por ecocardiografia (116). É recomendado como confirmatório em todos os casos suspeitos de HAP ou quando a ECO não permitir a medida do jato de regurgitação tricúspide, para determinação da gravidade da doença e para descartar a doença cardíaca esquerda (93).

O cateterismo cardíaco direito também possui algumas limitações. As medidas são geralmente obtidas somente em repouso e na posição supina, a qual pode não ser representativa das respostas hemodinâmicas para postura em pé e em atividade, e podem apresentar ampla variação espontânea intraindividual (117). Por ser um procedimento invasivo, deve ser realizado por profissional experiente (118).

6 Tratamento da Esclerose Sistêmica

A ES não deve ser considerada intratável. A educação médica e do paciente sobre os tratamentos potenciais é um importante aspecto do manejo dessa enfermidade. A terapêutica deve ser cuidadosamente combinada com a forma clínica e estágio da doença e é baseada na gravidade dos sintomas e órgãos envolvidos (13).

As manifestações do FR podem ser controladas com o uso de vasodilatadores e evitando a exposição ao frio, estresse e nicotina. Os bloqueadores do canal de cálcio parecem reduzir a frequência e a severidade das crises (119). Análogos da prostaciclina devem ser considerados em FR refratário e são efetivos na cicatrização das úlceras digitais (120). Existe evidência, a partir de estudos controlados, de que a bosentana, antagonista não seletivo dos receptores da endotelina, pode prevenir o desenvolvimento de novas úlceras digitais isquêmicas na ES (121).

Presença de calcinose cutânea está associada à reação inflamatória, a qual pode ser reduzida com uso de colchicina oral (122).

Inibidores da bomba de prótons aliviam os sintomas do refluxo gastro-esofágico. Antibióticos de amplo espectro podem ser utilizados na vigência de infecção bacteriana intestinal (123).

A hipertensão arterial e, principalmente, a crise renal esclerodérmica devem ser tratadas precoce e agressivamente com inibidores da enzima conversora da angiotensina (75).

A ciclofosfamida, administrada por via oral ou intravenosa, mostrou efeito benéfico modesto, mas significativo, no tratamento da ES associada à doença intersticial pulmonar, em recentes ensaios clínicos randomizados (124;125).

O tratamento da HAP é uma das áreas de maior crescimento na ES. Atualmente, existem novas medicações efetivas para o tratamento da HAP avançada, correspondentes às classes funcionais III ou IV (OMS), como análogos da prostaciclina (126;127), antagonistas dos receptores da endotelina (128;129) e inibidores da 5-fosfodiesterase (130).

As medidas gerais de tratamento da HAP na ES incluem anticoagulação oral, uso de diuréticos e oxigenioterapia. Os bloqueadores do canal de cálcio diminuem a resistência

arterial pulmonar e melhoram o débito cardíaco, mas devem ser utilizados apenas naqueles pacientes com resposta positiva ao teste de vasorreatividade pulmonar (13).

Os análogos da prostaciclina, iloprost e epoprostenol, induzem a potente vasodilatação e inibição da agregação plaquetária. O uso dessas medicações tem levado à melhora nos sintomas de insuficiência cardíaca e à tolerância ao exercício (103).

A bosentana é um antagonista de ambos os receptores da endotelina-1, ET_A e ET_B. Ensaio clínico controlado têm demonstrado efeitos benéficos na capacidade de exercício e na hemodinâmica cardiopulmonar (129). Comparações com controles históricos sugerem melhora significativa na sobrevida desses pacientes (131).

O sildenafil, inibidor da 5-fosfodiesterase, aumenta o cGMP, prolongando o efeito vasodilatador do óxido nítrico. Em ensaio clínico randomizado, essa droga demonstrou eficácia e segurança no tratamento de pacientes com HAP sintomática, com melhora na capacidade de exercício e medidas hemodinâmicas (130).

O tratamento combinado pode ser considerado para pacientes que não apresentam boa resposta com os tratamentos disponíveis usados isoladamente. A terapêutica combinada pode ser seguida pela utilização inicial de dois (ou mais) tratamentos ou pela adição de um segundo (ou terceiro) tratamento ao que está sendo ineficiente. A melhor estratégia a ser adotada ainda é desconhecida (103). Deve-se ter em mente o alto custo das medicações.

O transplante de células hematopoiéticas está sendo estudado como um tratamento em potencial para HAP em ES (132).

7 Prognóstico da Esclerose Sistêmica

O prognóstico dos pacientes com ES está associado à extensão do envolvimento cutâneo. A taxa de sobrevivência é menor em pacientes com a forma difusa comparada à forma limitada da doença (53% a 62% versus 75% a 79% em 10 anos) (133;134).

Outros fatores prognósticos adversos são o envolvimento visceral (cardíaco, pulmonar e renal), e a presença de anticorpos antitopoisomerase I (anti-Scl 70), de velocidade de hemossedimentação elevada e de anemia (133-135).

A mortalidade dos pacientes com a forma difusa da ES é aproximadamente 5 a 8 vezes maior que a da população em geral, enquanto que, naqueles com a forma limitada, a mortalidade é aproximadamente 2 vezes maior. O desenvolvimento de HAP nos pacientes com envolvimento cutâneo limitado torna o prognóstico pior do que para os pacientes com hipertensão pulmonar idiopática (136).

8 Peptídeos Natriuréticos

Em 1981, Bold e colaboradores observaram que a infusão de extrato de tecido atrial em ratos provocava uma potente atividade natriurética, diurética e vasodilatadora, introduzindo o conceito do coração como um órgão endócrino (137). Essa constatação conduziu à purificação e à identificação de uma estrutura proteica constituída de 28 aminoácidos, denominada peptídeo natriurético atrial (ANP) (138). A partir dessa descoberta, foram identificados dois novos peptídeos estruturalmente relacionados: peptídeo natriurético tipo B (ou cerebral - BNP) e peptídeo natriurético tipo C (CNP) (139;140). Embora o hormônio precursor para cada um desses peptídeos seja codificado por um gene separado, esses peptídeos possuem uma estrutura em anel comum com 17 aminoácidos (141). As extremidades dos grupos amino e carboxílico terminais variam entre os diferentes peptídeos, conduzindo a polipeptídeos de 28 aminoácidos (ANP), 32 aminoácidos (BNP) e 22 aminoácidos (CNP) (figura 3) (142). Ambos os genes do ANP e BNP estão localizados no cromossomo 1, enquanto que o gene precursor do CNP está localizado no cromossomo 2 (143).

Um novo peptídeo, denominado peptídeo natriurético tipo D (DNP), foi descoberto a partir do veneno da *Dendroaspis angusticeps*. O DNP é composto de 38 aminoácidos e possui estrutura similar aos demais peptídeos natriuréticos cardíacos (144), porém ainda sem evidência conclusiva de sua presença no homem (145).

A distribuição tecidual e a regulação de cada peptídeo são específicas. O ANP está presente principalmente nos átrios, mas também no tecido ventricular (142). O BNP encontra-se principalmente nos ventrículos, átrios e cérebro (146). O CNP é expresso primariamente no sistema nervoso central e tecidos vasculares, sendo quase inexistente no tecido cardíaco (147).

Os peptídeos natriuréticos exercem seus efeitos fisiológicos através da interação com receptores de alta afinidade localizados na superfície de células-alvo (figura 3): receptores A, B e C. Cada receptor possui um único domínio transmembrana e um domínio de ligação extracelular (148).

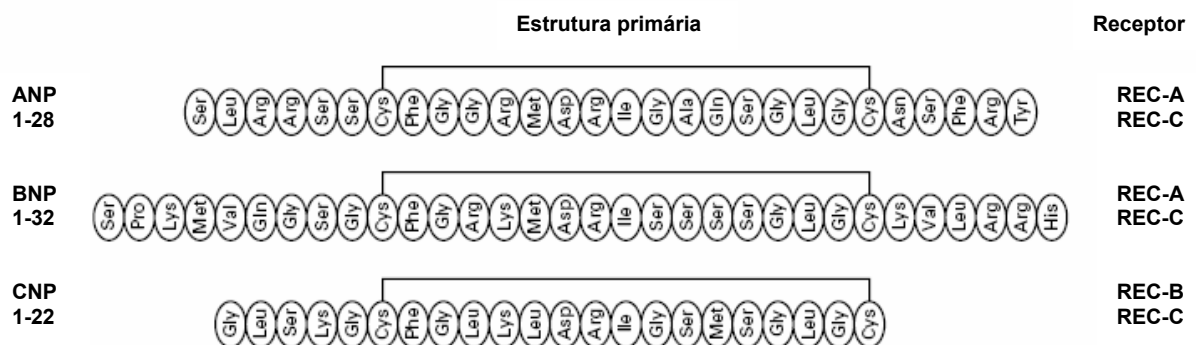


Figura 3. Seqüência de aminoácidos dos três peptídeos natriuréticos humanos.

Os colchetes indicam a localização das pontes de cistina presentes em cada peptídeo, Os receptores (REC) de cada peptídeo natriurético estão listados à direita. ANP= peptídeo natriurético atrial;

BNP= peptídeo natriurético cerebral; CNP= peptídeo natriurético tipo C.

Os peptídeos natriuréticos tipo A e B ligam-se preferencialmente ao receptor A, enquanto que o CNP age através do receptor B. Os receptores natriuréticos A e B são estruturalmente similares, com aproximadamente 44% de homologia no domínio de ligação extracelular (149). O receptor A é o mais abundante nos grandes vasos sanguíneos, o receptor B predomina no cérebro, e ambos os receptores estão presentes nas glândulas adrenais, rins, coração e pulmões (150). A ligação dos peptídeos natriuréticos a seus receptores ativa guanil ciclase, produzindo uma elevação no cGMP intracelular, o que modula as atividades biológicas desses peptídeos (151).

O receptor C serve como receptor de depuração para ANP, BNP e CNP a partir da circulação (152). Os peptídeos ligam-se a esse receptor, na ordem de afinidade ANP>CNP>BNP (153); são internalizados e enzimaticamente degradados, após o receptor C retorna à superfície celular (142). Esse receptor está localizado em vários tecidos, incluindo endotélio vascular, músculo liso, coração, glândulas adrenais e rins (152). Os peptídeos natriuréticos circulantes podem ser inativados pela atividade das endopeptidases neutras, presentes principalmente nas células tubulares renais e vasculares, (141) as quais rompem a estrutura comum em anel (150).

8.1 Peptídeos Natriuréticos Tipo B

O peptídeo natriurético tipo B foi isolado inicialmente em extratos de cérebro de suínos (154). O gene BNP codifica o hormônio pré-proBNP, um precursor intracelular contendo 134 aminoácidos, sintetizado na célula miocárdica e encontrado somente no tecido miocárdico. O pré-proBNP é processado, produzindo o pró-hormônio (proBNP), constituído de 108 aminoácidos (1-108), presente no miocárdio e no plasma, e o peptídeo N-terminal contendo 26 aminoácidos (155). O proBNP, após clivagem proteolítica, libera uma molécula biologicamente ativa de 32 aminoácidos (BNP), a qual corresponde à porção C-terminal do proBNP, e um fragmento N-terminal de 76 aminoácidos (NT-proBNP), sem função biológica definida. O local onde ocorre a clivagem proteolítica do proBNP ainda não está esclarecido. O proBNP intacto é encontrado dentro ou na superfície do cardiomiócito e na circulação (156). A depuração do NT-proBNP parece ocorrer principalmente através de excreção renal (157).

Os cardiomiócitos constituem a maior fonte de BNP e NT-proBNP na circulação. O principal estímulo para a síntese e secreção desses peptídeos é a distensão da parede ventricular em resposta à sobrecarga ventricular (158). Certos hormônios, como endotelina-1 (159), angiotensina II (160) e catecolaminas (157), e outros fatores, como idade avançada (161), sexo feminino (161), presença de insuficiência renal (162;163) e de diabetes mellitus (161) participam da regulação ou modificação da concentração circulante desses peptídeos. As variações relacionadas à idade e ao sexo podem ser explicadas, respectivamente, pela diminuição das funções cardíaca e renal, típicas da senescência, e pelo estímulo dos hormônios esteróides sexuais femininos (164), e devem ser levadas em consideração quando da definição dos valores de referência para BNP e NT-proBNP.

Em indivíduos normais, as concentrações plasmáticas de BNP e NT-proBNP são similares. Em decorrência da meia-vida de aproximadamente 22 minutos (150), o BNP pode acuradamente refletir alterações hemodinâmicas a cada duas horas. A meia-vida plasmática do NT-proBNP é de 120 minutos, sugerindo que alterações hemodinâmicas significativas podem ser identificadas por este teste aproximadamente a cada 12 horas (165). Contudo, em pacientes com disfunção ventricular esquerda, os níveis de NT-proBNP aumentam mais rapidamente do que os níveis de BNP, atingindo uma concentração plasmática 2 a 10 vezes maior que o BNP (166). O exato mecanismo responsável por esta alteração é desconhecido.

8.1.1 Efeitos Fisiológicos dos Peptídeos Natriuréticos Tipo B

Os peptídeos natriuréticos tipo B exercem vários efeitos fisiológicos. Os mais importantes são (5):

- vasodilatação e decorrente hipotensão arterial;
- promoção da natriurese e diurese;
- inibição do sistema nervoso simpático e de atividades hormonais, incluindo o sistema renina-angiotensina-aldosterona, endotelinas, citocinas e vasopressinas;
- inibição dos mecanismos patofisiológicos responsáveis por hipertrofia vascular e ventricular e remodelamento miocárdico;
- efeitos benéficos sobre a disfunção endotelial secundária ao processo aterosclerótico, e regulação da coagulação e fibrinólise, assim como inibição da ativação plaquetária.

Um importante mecanismo patofisiológico na doença cardiovascular é o desequilíbrio entre a ação vasoconstritora/antinatriurética de alguns fatores neuroendócrinos, compreendendo o sistema renina-angiotensina-aldosterona, vasopressina, endotelinas, sistema nervoso simpático, e a resposta vasodilatadora/natriurética, principalmente representada pelos peptídeos natriuréticos (167). A redução do desempenho cardíaco determina o estímulo progressivo de todos os sistemas neuro-hormonais, na tentativa de sustentar o débito cardíaco e a homeostase circulatória. Entretanto, a ativação do mecanismo neuro-humoral pode agravar a hemodinâmica, ocasionar efeitos adversos

diretos sobre a função do miocárdio, e estimular o sistema dos peptídeos natriuréticos (5). De acordo com essa hipótese, o amplo aumento na concentração circulante dos peptídeos natriuréticos na insuficiência cardíaca pode estar relacionado à ativação do sistema neuroendócrino e, então, ser considerado um mecanismo de resposta adaptativo e potencialmente protetor na doença cardiovascular.

8.1.2 Utilidade Clínica dos Peptídeos Natriuréticos Tipo B

A potencial utilidade clínica da mensuração dos peptídeos natriuréticos circulantes, especialmente BNP e NT-proBNP, é sugerida principalmente para:

- diagnóstico diferencial de dispnéia aguda em sala de emergência (168);
- avaliação diagnóstica, prognóstica e estratificação de risco em pacientes com insuficiência cardíaca (169);
- detecção de disfunção ventricular esquerda sistólica ou diastólica (170).

O diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva como causa de dispnéia aguda é extremamente importante. Porém os sintomas podem ser inespecíficos e os achados clínicos não sensíveis o suficiente para um acurado diagnóstico (168). Os níveis circulantes dos peptídeos natriuréticos tipo B podem indicar ou descartar o diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva em pacientes sintomáticos de baixo risco (168;171;172). Um estudo de custo-efetividade, adotando o BNP como referência frente à conduta padrão, em pacientes dispnéicos sob atendimento de emergência, concluiu que houve redução de 58% nas ecocardiografias, prevenção de 13% das hospitalizações iniciais e diminuição de 12% nos dias de hospitalização (173).

A determinação dos níveis de BNP é recomendada na avaliação de rotina de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva e também pode ser útil como informe prognóstico (174). Uma revisão sistemática analisou 19 estudos nos quais o BNP foi empregado para estimar o risco relativo de morte ou evento cardiovascular em pacientes com insuficiência cardíaca. A cada valor de 100 pg/mL de aumento no BNP plasmático, houve um incremento de 35% no risco relativo de morte. Em modelos multivariáveis de prognóstico, o BNP plasmático mostrou-se forte indicador de risco prognóstico (175).

Níveis elevados de BNP e NT-proBNP podem detectar a presença de disfunção diastólica em pacientes com padrão restritivo ou pseudonormal e em pacientes sintomáticos. Pacientes com déficit de relaxamento ou que são assintomáticos podem apresentar níveis normais desses peptídeos, indicando nenhuma ou somente leve elevação da pressão de enchimento ventricular esquerda (176). Contudo, os valores de NT-proBNP não podem diferenciar entre disfunção sistólica e diastólica (177).

8.1.3 NT-proBNP e Hipertensão Arterial Pulmonar

Diferentemente dos estudos sobre disfunção ventricular esquerda, existem poucos relatos sobre os níveis dos peptídeos natriuréticos tipo B em pacientes com disfunção ventricular direita, na presença de doença vascular pulmonar (7;8;178). O entendimento da relação entre os peptídeos natriuréticos e a sobrecarga de pressão ventricular direita pode possibilitar o desenvolvimento de estratégias de tratamento e monitorização de progressão em HAP (179).

Em pacientes com hipertensão pulmonar idiopática, há relatos de que os níveis de BNP plasmático aumentam proporcionalmente ao grau de disfunção ventricular direita (7), relacionam-se à capacidade funcional (178), sendo considerados preditores independentes de mortalidade (8), e podem fazer parte dos parâmetros para avaliação de eficácia de tratamento em disfunção ventricular direita (7).

Segundo Nagaya et al. (7), os níveis de BNP foram significativamente mais elevados ($p < 0,05$) em pacientes com sobrecarga de pressão ventricular direita, por hipertensão pulmonar idiopática e tromboembólica, quando comparados aos controles. Houve correlação desses níveis com a pressão média da artéria pulmonar (PMAP) ($r = 0,73$), bem como diminuição durante tratamento com vasodilatadores.

Em outro estudo dos mesmos autores (8), foi avaliado o significado prognóstico do BNP plasmático em 60 pacientes com HAP idiopática. Através de análise multivariada, os níveis de BNP foram preditores independentes de mortalidade.

Leuchte et al. (178), avaliando 28 pacientes com hipertensão pulmonar idiopática, sugerem que as concentrações plasmáticas de BNP relacionam-se ao dano funcional e à extensão das alterações hemodinâmicas pulmonares e insuficiência cardíaca direita.

8.1.4 NT-proBNP e Hipertensão Arterial Pulmonar em Esclerose Sistêmica

A esclerose sistêmica, particularmente na forma limitada cutânea, representa a principal doença do tecido conjuntivo associada a HAP, sendo a única patologia na qual é recomendado o rastreamento anual para HAP (103). Existem poucos estudos sobre a acurácia diagnóstica do NT-proBNP em pacientes com HAP na ES (tabela 2) (9;180;181).

Mukerjee et al (180), analisando 49 pacientes com ES, 23 com e 26 sem HAP, demonstraram correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre NT-proBNP e pressão média na artéria pulmonar (PMAP) ($r = 0,53$), medida por cateterismo cardíaco direito. O valor médio de NT-proBNP encontrado em pacientes com HAP foi de 3365 pg/mL ($dp = 1095$) e de 347 pg/mL ($dp = 174$) para pacientes sem HAP. A análise da curva ROC (receiver operator characteristic) para o NT-proBNP mostrou que o valor de corte de 395,3 pg/mL obteve sensibilidade de 69% e especificidade de 100% para pacientes portadores de ES e HAP. A área sob a curva ROC obtida foi de 0,91, sugerindo um bom desempenho diagnóstico.

Em estudo posterior (181), com amostragem de 109 pacientes portadores de ES, 68 com e 41 sem HAP, o mesmo grupo de pesquisadores avaliou, prospectivamente, a reprodutibilidade do valor de corte de 395,3 pg/mL e o valor prognóstico do NT-proBNP. Os pacientes com e sem HAP tiveram um nível médio de NT-proBNP de 1474 pg/mL ($dp = 2642$) e de 139 pg/mL ($dp = 151$), respectivamente. Os valores de NT-proBNP basais correlacionaram positivamente com PMAP ($r = 0,62$; $p < 0,0001$). Entre pacientes com HAP, 13 (19%) eram de classe funcional II (NYHA/OMS) e níveis médios de NT-proBNP de 325 pg/mL ($dp = 388$); 53 (78%) possuíam classes funcionais III e IV e valor médio de NT-proBNP de 1677 pg/mL ($dp = 2835$) ($p = 0,02$). No valor de corte de 395,3 pg/mL, a sensibilidade e a especificidade do NT-proBNP para HAP foram de 56% e 95%, respectivamente. Na análise da curva ROC de NT-proBNP para predizer a presença de HAP na ES, um valor de corte de 91 pg/mL mostrou sensibilidade de 90%, especificidade de 51% e valores preditivos positivo e negativo de 75%.

Allanore et al. (9), acompanhando 40 pacientes com ES, dos quais 10 tinham HAP, encontrou correlação positiva entre NT-proBNP e PSAP medida por ECO ($r = 0,44$; $p = 0,006$). Através da curva ROC, o valor de corte de 178,3 pg/mL obteve sensibilidade e especificidade de 80%, e área sob a curva de 0,83 (IC 95% 0,68-0,95).

Tabela 2. Estudos sobre a acurácia diagnóstica do NT-proBNP em pacientes com HAP na ES.

Autor, ano (Ref)	N	HAP (n)	Valor de corte NT-proBNP (pg/mL)	ROC (IC 95%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPN (%)	VPP (%)
Allanore, 2003 (9)	40	10	178,3	0,83 (0,68-0,95)	80	80		
Mukerjee, 2003 (180)	49	23	395,3	0,91	69	100		
Williams, 2006 (181)	109	68	395,3		56	95	57	95
			91		90	51	75	75

Outro artigo (182) descreve pacientes com ES que foram acompanhados ao longo de nove anos. O NT-proBNP foi avaliado como fator preditivo da elevação dos níveis de gradiente tricúspide (GT). Para isso, foram analisados 76 pacientes que apresentaram GT entre 24 e 38 mmHg (67 com medida considerada estável e 9 com índices de GT indicativos de progressão), 10 pacientes com nível normal de GT (<23 mmHg) e outros 10 com valor aumentado (>38 mmHg). O nível de GT entre 24 e 38 mmHg, considerado *borderline* pelos autores, foi selecionado porque, segundo os mesmos autores, freqüentemente esses pacientes são assintomáticos ou com resultado normal no cateterismo cardíaco direito, apesar da presença de HAP no exame ecocardiográfico. Os resultados mostraram correlação entre a concentração de NT-proBNP plasmático e os níveis de GT ($r=0,39$; $p=0,001$). Entretanto, as variações dos valores do NT-proBNP não foram consideradas preditivas do aumento desse gradiente. Segundo os autores, essa falta de correlação pode ser creditada ao pequeno número de pacientes ou à carência de maior sensibilidade da ecocardiografia em obter uma medida exata do nível de GT.

8.1.5 Características do Teste NT-proBNP

O reagente proBNP Elecsys[®] (tecnologia desenvolvida pela Roche Diagnostics, Basel, Suíça), empregado neste estudo, é o reagente mais usado para a determinação desse peptídeo natriurético. O ensaio baseia-se na eletroquimioluminescência, utilizando dois anticorpos policlonais dirigidos contra os fragmentos 1-21 e 39-50 da molécula do NT-proBNP. Um dos anticorpos é marcado com biotina e o outro com quelato de rutênio, os quais ligam-se ao NT-proBNP formando um complexo do tipo “sandwich”. A detecção ocorre por adição de micropartículas marcadas com estreptavidina, que se liga à biotina. É um teste altamente específico para NT-proBNP, possuindo reatividade cruzada com BNP inferior a 0,01% (183). A elevada especificidade do ensaio possibilita sua utilização como biomarcador ao monitoramento durante o tratamento da insuficiência cardíaca com BNP recombinante (184). O NT-proBNP não sofre interferências significativas de hemoglobina, triglicerídeos, bilirrubina e biotina (184).

O tempo de realização do ensaio é de 18 minutos, podendo ser efetuado nos equipamentos da linha Elecsys 1010, 2010 e E170, que adotam a mesma metodologia. A faixa de medida é de 5 a 35.000 pg/mL, com sensibilidade funcional de 50 pg/mL. O coeficiente de variação intra e inter-ensaios para os três equipamentos (1010, 2010 e E170) é de 0,7%-1,6% e 5,35%-6,6%; 1,2%-1,5% e 4,4%-5,0%; 2%-4% e 3%-5%, respectivamente. A comparação entre instrumentos mostrou: $y=0,97x + 2,6$; $r=1,00$ ($n=215$) para Elecsys 2010 (x) versus Elecsys 1010 (y) e $y=1,02x-0,3$; $r=1,00$ ($n=99$) para Elecsys 2010 (x) versus Elecsys E170 (y) (183).

O NT-proBNP é estável no soro e no plasma (heparina ou EDTA) por 7 dias à temperatura ambiente, por 21 dias a 4°C, por no mínimo 1 ano a -80°C, e após 5 ciclos de descongelamento (183;185). A concentração de NT-proBNP no plasma/EDTA é de até 10% inferior ao valor encontrado no soro ou plasma heparinizado (186). É provável que esta diferença não seja importante clinicamente, pois a variação biológica do NT-proBNP é de aproximadamente 33,3% (187;188).

Raymond et al. (161), em um estudo populacional, identificou vários fatores de significado independente para a concentração plasmática de NT-proBNP. A presença de dispnéia, doença valvular cardíaca, fração de ejeção ventricular esquerda $\leq 45\%$, e eletrocardiograma anormal, como variáveis de significado independente para o valor plasmático do NT-proBNP neste estudo é explicada pela conhecida associação com

distensão da parede ventricular esquerda. As associações encontradas com a idade avançada e o sexo feminino devem ser consideradas quando da determinação do valor de referência para NT-proBNP. Outras variáveis independentemente associadas com níveis plasmáticos elevados de NT-proBNP incluem: altos níveis de creatinina sérica (níveis elevados de NT-proBNP são relatados em pacientes com insuficiência renal) (162), e diabetes mellitus (provavelmente explicada pela presença de nefropatia diabética em estágios iniciais). Também houve associação, sem justificativa, de níveis plasmáticos elevados de NT-proBNP com níveis baixos de hemoglobina glicada e com baixa frequência cardíaca.

Os valores de referência obtidos pelo fabricante do teste proBNP Elecsys® (percentil 97,5), em doadores de sangue, foram: 88 pg/mL para homens e 153 pg/mL para mulheres com idade <50 anos; 227 pg/mL para homens e 334 pg/mL para mulheres entre 50 e 65 anos. O nível de decisão médica sugerido para uso no diagnóstico da insuficiência cardíaca congestiva com este ensaio é de 100 pg/mL para homens e de 150 pg/mL para mulheres na Europa, e de 125 pg/mL para ambos os sexos nos EUA (183).

JUSTIFICATIVA

A hipertensão arterial pulmonar apresenta alta prevalência na esclerose sistêmica, sendo recomendado rastreamento anual por ecocardiografia com Doppler. Esse é um procedimento operador-dependente e não disponível em todos os serviços de diagnóstico.

Existem poucos estudos sobre os níveis de NT-proBNP e o diagnóstico de HAP em ES. A utilização de um biomarcador sanguíneo, rápido, confiável e disponível na rotina laboratorial pode ser de grande auxílio no manejo desses pacientes.

Tendo em vista os estudos descritos, seria interessante avaliar o desempenho do NT-proBNP em uma amostra maior de pacientes do nosso meio.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar os níveis séricos de NT-proBNP em uma série de pacientes com esclerose sistêmica.

Objetivo específico

Avaliar a associação entre os níveis séricos de NT-proBNP e a pressão sistólica arterial pulmonar estimada pela ecocardiografia com Doppler.

Referências

- (1) LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, Jr. et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15(2):202-205.
- (2) Trad S, Amoura Z, Beigelman C, Haroche J, Costedoat N, Boutin IT et al. Pulmonary arterial hypertension is a major mortality factor in diffuse systemic sclerosis, independent of interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 2006; 54(1):184-191.
- (3) MacGregor AJ, Canavan R, Knight C, Denton CP, Davar J, Coghlan J et al. Pulmonary hypertension in systemic sclerosis: risk factors for progression and consequences for survival. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40(4):453-459.
- (4) Recommendations on the management of pulmonary hypertension in clinical practice. *Heart* 2001; 86 Suppl 1:11-13.
- (5) Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem* 2004; 50(1):33-50.
- (6) Rawlins ML, Owen WE, Roberts WL. Performance characteristics of four automated natriuretic peptide assays. *Am J Clin Pathol* 2005; 123(3):439-445.
- (7) Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S et al. Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31(1):202-208.
- (8) Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2000; 102(8):865-870.
- (9) Allanore Y, Borderie D, Meune C, Cabanes L, Weber S, Ekindjian OG et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of early pulmonary artery hypertension in patients with systemic sclerosis and effects of calcium-channel blockers. *Arthritis Rheum* 2003; 48(12):3503-3508.
- (10) Maricq HR, Weinrich MC, Keil JE, Smith EA, Harper FE, Nussbaum AI et al. Prevalence of scleroderma spectrum disorders in the general population of South Carolina. *Arthritis Rheum* 1989; 32(8):998-1006.
- (11) Mayes MD, Lacey JV, Jr., Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ et al. Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population. *Arthritis Rheum* 2003; 48(8):2246-2255.
- (12) Arnett FC, Howard RF, Tan F, Moulds JM, Bias WB, Durban E et al. Increased prevalence of systemic sclerosis in a Native American tribe in Oklahoma. Association with an Amerindian HLA haplotype. *Arthritis Rheum* 1996; 39(8):1362-1370.
- (13) Denton CP. Systemic sclerosis: clinical features and management. *Medicine* 2006; 34(11):480-488.

- (14) Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980; 23(5):581-590.
- (15) LeRoy EC, Medsger TA, Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28(7):1573-1576.
- (16) Poormoghim H, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr. Systemic sclerosis sine scleroderma: demographic, clinical, and serologic features and survival in forty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2000; 43(2):444-451.
- (17) Jimenez SA, Derk CT. Following the molecular pathways toward an understanding of the pathogenesis of systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 2004; 140(1):37-50.
- (18) Prescott RJ, Freemont AJ, Jones CJ, Hoyland J, Fielding P. Sequential dermal microvascular and perivascular changes in the development of scleroderma. *J Pathol* 1992; 166(3):255-263.
- (19) Sakkas LI, Platsoucas CD. Is systemic sclerosis an antigen-driven T cell disease? *Arthritis Rheum* 2004; 50(6):1721-1733.
- (20) Kurasawa K, Hirose K, Sano H, Endo H, Shinkai H, Nawata Y et al. Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43(11):2455-2463.
- (21) Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis: expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum* 2004; 50(6):1918-1927.
- (22) Worda M, Sgonc R, Dietrich H, Niederegger H, Sundick RS, Gershwin ME et al. In vivo analysis of the apoptosis-inducing effect of anti-endothelial cell antibodies in systemic sclerosis by the chorionallantoic membrane assay. *Arthritis Rheum* 2003; 48(9):2605-2614.
- (23) Chizzolini C, Raschi E, Rezzonico R, Testoni C, Mallone R, Gabrielli A et al. Autoantibodies to fibroblasts induce a proadhesive and proinflammatory fibroblast phenotype in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2002; 46(6):1602-1613.
- (24) Baroni SS, Santillo M, Bevilacqua F, Luchetti M, Spadoni T, Mancini M et al. Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354(25):2667-2676.
- (25) Zuber JP, Spertini F. Immunological basis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45 Suppl 3:iii23-iii25.
- (26) Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338(17):1186-1191.
- (27) Nelson JL. Microchimerism and the pathogenesis of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10(6):564-571.
- (28) Johnson RW, Tew MB, Arnett FC. The genetics of systemic sclerosis. *Curr Rheumatol Rep* 2002; 4(2):99-107.

- (29) Feghali-Bostwick C, Medsger TA, Jr., Wright TM. Analysis of systemic sclerosis in twins reveals low concordance for disease and high concordance for the presence of antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 2003; 48(7):1956-1963.
- (30) Tan FK, Wang N, Kuwana M, Chakraborty R, Bona CA, Milewicz DM et al. Association of fibrillin 1 single-nucleotide polymorphism haplotypes with systemic sclerosis in Choctaw and Japanese populations. *Arthritis Rheum* 2001; 44(4):893-901.
- (31) Jimenez SA, Diaz A, Khalili K. Retroviruses and the pathogenesis of systemic sclerosis. *Int Rev Immunol* 1995; 12(2-4):159-175.
- (32) Pandey JP, LeRoy EC. Human cytomegalovirus and the vasculopathies of autoimmune diseases (especially scleroderma), allograft rejection, and coronary restenosis. *Arthritis Rheum* 1998; 41(1):10-15.
- (33) Diot E, Lesire V, Guilmot JL, Metzger MD, Pilore R, Rogier S et al. Systemic sclerosis and occupational risk factors: a case-control study. *Occup Environ Med* 2002; 59(8):545-549.
- (34) Garabrant DH, Lacey JV, Jr., Laing TJ, Gillespie BW, Mayes MD, Cooper BC et al. Scleroderma and solvent exposure among women. *Am J Epidemiol* 2003; 157(6):493-500.
- (35) Mayes MD. Epidemiologic studies of environmental agents and systemic autoimmune diseases. *Environ Health Perspect* 1999; 107 Suppl 5:743-748.
- (36) Andrade LEC, Leser PG. Auto-Anticorpos na Esclerose Sistêmica (ES). *Rev Bras Reumatol* 2004; 44(3):215-223.
- (37) Catoggio LJ, Skinner RP, Maddison PJ. Frequency and clinical significance of anticentromere and anti Scl-70 antibodies in an English connective tissue disease population. *Rheumatol Int* 1983; 3(1):19-21.
- (38) Chan HL, Lee YS, Hong HS, Kuo TT. Anticentromere antibodies (ACA): clinical distribution and disease specificity. *Clin Exp Dermatol* 1994; 19(4):298-302.
- (39) Kallenberg CG, Pastoor GW, Wouda AA, The TH. Antinuclear antibodies in patients with Raynaud's phenomenon: clinical significance of anticentromere antibodies. *Ann Rheum Dis* 1982; 41(4):382-387.
- (40) Nakano M, Ohuchi Y, Hasegawa H, Kuroda T, Ito S, Gejyo F. Clinical significance of anticentromere antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2000; 27(6):1403-1407.
- (41) Parveen S, Morshed SA, Nishioka M. High prevalence of antibodies to recombinant CENP-B in primary biliary cirrhosis: nuclear immunofluorescence patterns and ELISA reactivities. *J Gastroenterol Hepatol* 1995; 10(4):438-445.
- (42) Zuber M, Gotzen R, Filler I. Clinical correlation of anticentromere antibodies. *Clin Rheumatol* 1994; 13(3):427-432.
- (43) Vazquez-Abad D, Rothfield NF. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol* 1995; 12(2-4):145-157.

- (44) Jablonska S, Blaszczyk M, Jarzabek-Chorzelska M, Chorzelski T, Kolacinska-Strasz Z. Immunological markers of the subsets of systemic scleroderma and its overlap. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1991; 39(4):381-390.
- (45) Riboldi P, Asero R, Origgi L, Crespi S, Meroni PL, Sguotti C et al. Antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 1985; 3(3):205-211.
- (46) Spencer-Green G, Alter D, Welch HG. Test performance in systemic sclerosis: anti-centromere and anti-Scl-70 antibodies. *Am J Med* 1997; 103(3):242-248.
- (47) Aeschlimann A, Meyer O, Bourgeois P, Haim T, Belmatoug N, Palazzo E et al. Anti-Scl-70 antibodies detected by immunoblotting in progressive systemic sclerosis: specificity and clinical correlations. *Ann Rheum Dis* 1989; 48(12):992-997.
- (48) Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994; 37(1):75-83.
- (49) Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, Kawakami Y, Tojo T. Longitudinal analysis of autoantibody response to topoisomerase I in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43(5):1074-1084.
- (50) Sato S, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K. Clinical significance of anti-topoisomerase I antibody levels determined by ELISA in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40(10):1135-1140.
- (51) Weiner ES, Hildebrandt S, Senecal JL, Daniels L, Noell S, Joyal F et al. Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase I antibodies in Raynaud's disease. A prospective study. *Arthritis Rheum* 1991; 34(1):68-77.
- (52) Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, Tojo T, Homma M. Autoantibody reactive with three classes of RNA polymerases in sera from patients with systemic sclerosis. *J Clin Invest* 1993; 91(4):1399-1404.
- (53) Okano Y, Steen VD, Medsger TA, Jr. Autoantibody to U3 nucleolar ribonucleoprotein (fibrillarin) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1992; 35(1):95-100.
- (54) Arnett FC, Reveille JD, Goldstein R, Pollard KM, Leaird K, Smith EA et al. Autoantibodies to fibrillarin in systemic sclerosis (scleroderma). An immunogenetic, serologic, and clinical analysis. *Arthritis Rheum* 1996; 39(7):1151-1160.
- (55) Oddis CV, Okano Y, Rudert WA, Trucco M, Duquesnoy RJ, Medsger TA, Jr. Serum autoantibody to the nucleolar antigen PM-Scl. Clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1992; 35(10):1211-1217.
- (56) Rodnan GP, Lipinski E, Luksick J. Skin thickness and collagen content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma. *Arthritis Rheum* 1979; 22(2):130-140.
- (57) Clements P, Lachenbruch P, Siebold J, White B, Weiner S, Martin R et al. Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1995; 22(7):1281-1285.

- (58) Block JA, Sequeira W. Raynaud's phenomenon. *Lancet* 2001; 357(9273):2042-2048.
- (59) Generini S, Kahaleh B, Matucci-Cerinic M, Pignone A, Lombardi A, Ohtsuka T. Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Ann Ital Med Int* 1996; 11(2):125-131.
- (60) Klippel JH. Raynaud's phenomenon. The French tricolor. *Arch Intern Med* 1991; 151(12):2389-2393.
- (61) Maricq HR, LeRoy EC, D'Angelo WA, Medsger TA, Jr., Rodnan GP, Sharp GC et al. Diagnostic potential of in vivo capillary microscopy in scleroderma and related disorders. *Arthritis Rheum* 1980; 23(2):183-189.
- (62) Bredemeier M, Xavier RM, Capobianco KG, Restelli VG, Rohde LE, Pinotti AF et al. Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease activity in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2004; 31(2):286-294.
- (63) Campbell PM, LeRoy EC. Pathogenesis of systemic sclerosis: a vascular hypothesis. *Semin Arthritis Rheum* 1975; 4(4):351-368.
- (64) Jayson MI. Systemic sclerosis: a collagen or microvascular disease? *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984; 288(6434):1855-1857.
- (65) Kahaleh MB, Sherer GK, LeRoy EC. Endothelial injury in scleroderma. *J Exp Med* 1979; 149(6):1326-1335.
- (66) Norton WL, Nardo JM. Vascular disease in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Ann Intern Med* 1970; 73(2):317-324.
- (67) Klareskog L, Gustafsson R, Scheynius A, Hallgren R. Increased expression of platelet-derived growth factor type B receptors in the skin of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1990; 33(10):1534-1541.
- (68) Kahaleh MB. Endothelin, an endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. Enhanced production and profibrotic action. *Arthritis Rheum* 1991; 34(8):978-983.
- (69) Veale DJ, Collidge TA, Belch JJ. Increased prevalence of symptomatic macrovascular disease in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1995; 54(10):853-855.
- (70) Youssef P, Englert H, Bertouch J. Large vessel occlusive disease associated with CREST syndrome and scleroderma. *Ann Rheum Dis* 1993; 52(6):464-466.
- (71) Ames PR, Lupoli S, Alves J, Atsumi T, Edwards C, Iannaccone L et al. The coagulation/fibrinolysis balance in systemic sclerosis: evidence for a haematological stress syndrome. *Br J Rheumatol* 1997; 36(10):1045-1050.
- (72) Denton CP, Black CM. Scleroderma--clinical and pathological advances. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18(3):271-290.
- (73) Steen VD, Medsger TA, Jr. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000; 43(11):2437-2444.
- (74) Coghlan JG, Mukerjee D. The heart and pulmonary vasculature in scleroderma: clinical features and pathobiology. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13(6):495-499.

- (75) Steen VD, Costantino JP, Shapiro AP, Medsger TA, Jr. Outcome of renal crisis in systemic sclerosis: relation to availability of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann Intern Med* 1990; 113(5):352-357.
- (76) LeRoy EC. Sentinel signs and symptoms of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 1989; 1(4):499-504.
- (77) Terriff BA, Kwan SY, Chan-Yeung MM, Muller NL. Fibrosing alveolitis: chest radiography and CT as predictors of clinical and functional impairment at follow-up in 26 patients. *Radiology* 1992; 184(2):445-449.
- (78) Schurawitzki H, Stiglbauer R, Graninger W, Herold C, Polzleitner D, Burghuber OC et al. Interstitial lung disease in progressive systemic sclerosis: high-resolution CT versus radiography. *Radiology* 1990; 176(3):755-759.
- (79) Remy-Jardin M, Remy J, Wallaert B, Bataille D, Hatron PY. Pulmonary involvement in progressive systemic sclerosis: sequential evaluation with CT, pulmonary function tests, and bronchoalveolar lavage. *Radiology* 1993; 188(2):499-506.
- (80) Diot E, Boissinot E, Asquier E, Guilmot JL, Lemarie E, Valat C et al. Relationship between abnormalities on high-resolution CT and pulmonary function in systemic sclerosis. *Chest* 1998; 114(6):1623-1629.
- (81) Warrick JH, Bhalla M, Schabel SI, Silver RM. High resolution computed tomography in early scleroderma lung disease. *J Rheumatol* 1991; 18(10):1520-1528.
- (82) White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA. Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med* 2000; 132(12):947-954.
- (83) Harrison NK, Myers AR, Corrin B, Soosay G, Dewar A, Black CM et al. Structural features of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(3 Pt 1):706-713.
- (84) Wells AU, Hansell DM, Corrin B, Harrison NK, Goldstraw P, Black CM et al. High resolution computed tomography as a predictor of lung histology in systemic sclerosis. *Thorax* 1992; 47(9):738-742.
- (85) Rossi GA, Bitterman PB, Rennard SI, Ferrans VJ, Crystal RG. Evidence for chronic inflammation as a component of the interstitial lung disease associated with progressive systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131(4):612-617.
- (86) Dansin E, Wallaert B, Remy-Jardin M, Perez T, Hatron PY, Remy J et al. [Study of high-resolution thoracic computerized tomography and bronchoalveolar lavage in 36 patients presenting with systemic disease and a normal thoracic radiography]. *Rev Mal Respir* 1991; 8(6):551-558.
- (87) Wells AU, Hansell DM, Rubens MB, Cullinan P, Haslam PL, Black CM et al. Fibrosing alveolitis in systemic sclerosis. Bronchoalveolar lavage findings in relation to computed tomographic appearance. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150(2):462-468.
- (88) Black CM, du Bois RM. Organ involvement pulmonary. In: Clements PJ, Furst DE e, editors. *Systemic Sclerosis*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996: 299-331.

- (89) Hachulla E, Gressin V, Guillevin L, Carpentier P, Diot E, Sibilia J et al. Early detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: a French nationwide prospective multicenter study. *Arthritis Rheum* 2005; 52(12):3792-3800.
- (90) Rubin LJ. Diagnosis and management of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2004; 126(1 Suppl):7S-10S.
- (91) McGoon M, Guterman D, Steen V, Barst R, McCrory DC, Fortin TA et al. Screening, early detection, and diagnosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2004; 126(1 Suppl):14S-34S.
- (92) Mukerjee D, St George D, Coleiro B, Knight C, Denton CP, Davar J et al. Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(11):1088-1093.
- (93) Denton CP, Black CM. Pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29(2):335-49, vii.
- (94) Crilly A, Hamilton J, Clark CJ, Jardine A, Madhok R. Analysis of transforming growth factor beta1 gene polymorphisms in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(8):678-681.
- (95) Susol E, Rands AL, Herrick A, McHugh N, Barrett JH, Ollier WE et al. Association of markers for TGFbeta3, TGFbeta2 and TIMP1 with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39(12):1332-1336.
- (96) Watson M, Hally RJ, McCue PA, Varga J, Jimenez SA. Gastric antral vascular ectasia (watermelon stomach) in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1996; 39(2):341-346.
- (97) Yamane K, Ihn H, Asano Y, Yazawa N, Kubo M, Kikuchi K et al. Clinical and laboratory features of scleroderma patients with pulmonary hypertension. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39(11):1269-1271.
- (98) Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R et al. Circulating endothelin-1 levels in systemic sclerosis subsets--a marker of fibrosis or vascular dysfunction? *J Rheumatol* 1994; 21(10):1838-1844.
- (99) Kawut SM, Taichman DB, Archer-Chicko CL, Palevsky HI, Kimmel SE. Hemodynamics and survival in patients with pulmonary arterial hypertension related to systemic sclerosis. *Chest* 2003; 123(2):344-350.
- (100) Koh ET, Lee P, Gladman DD, Abu-Shakra M. Pulmonary hypertension in systemic sclerosis: an analysis of 17 patients. *Br J Rheumatol* 1996; 35(10):989-993.
- (101) Ahearn GS, Tapson VF, Rebeiz A, Greenfield JC, Jr. Electrocardiography to define clinical status in primary pulmonary hypertension and pulmonary arterial hypertension secondary to collagen vascular disease. *Chest* 2002; 122(2):524-527.
- (102) Rubin LJ, Badesch DB. Evaluation and management of the patient with pulmonary arterial hypertension. *Ann Intern Med* 2005; 143(4):282-292.
- (103) Galie N, Torbicki A, Barst R, Dartevielle P, Haworth S, Higenbottam T et al. Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. *The*

Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2004; 25(24):2243-2278.

- (104) Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation* 1984; 70(4):657-662.
- (105) Mukerjee D, St George D, Knight C, Davar J, Wells AU, Du Bois RM et al. Echocardiography and pulmonary function as screening tests for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(4):461-466.
- (106) Ommen SR, Nishimura RA, Hurrell DG, Klarich KW. Assessment of right atrial pressure with 2-dimensional and Doppler echocardiography: a simultaneous catheterization and echocardiographic study. *Mayo Clin Proc* 2000; 75(1):24-29.
- (107) Abaci A, Kabukcu M, Ovunc K, Tokgozoglu L, Tarrach M, Batur MK et al. Comparison of the three different formulas for Doppler estimation of pulmonary artery systolic pressure. *Angiology* 1998; 49(6):463-470.
- (108) Chan KL, Currie PJ, Seward JB, Hagler DJ, Mair DD, Tajik AJ. Comparison of three Doppler ultrasound methods in the prediction of pulmonary artery pressure. *J Am Coll Cardiol* 1987; 9(3):549-554.
- (109) Borgeson DD, Seward JB, Miller FA, Jr., Oh JK, Tajik AJ. Frequency of Doppler measurable pulmonary artery pressures. *J Am Soc Echocardiogr* 1996; 9(6):832-837.
- (110) Denton CP, Cailles JB, Phillips GD, Wells AU, Black CM, Bois RM. Comparison of Doppler echocardiography and right heart catheterization to assess pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1997; 36(2):239-243.
- (111) Murata I, Kihara H, Shinohara S, Ito K. Echocardiographic evaluation of pulmonary arterial hypertension in patients with progressive systemic sclerosis and related syndromes. *Jpn Circ J* 1992; 56(10):983-991.
- (112) Naeije R, Torbicki A. More on the noninvasive diagnosis of pulmonary hypertension: Doppler echocardiography revisited. *Eur Respir J* 1995; 8(9):1445-1449.
- (113) McQuillan BM, Picard MH, Leavitt M, Weyman AE. Clinical correlates and reference intervals for pulmonary artery systolic pressure among echocardiographically normal subjects. *Circulation* 2001; 104(23):2797-2802.
- (114) Owens GR, Fino GJ, Herbert DL, Steen VD, Medsger TA, Jr., Pennock BE et al. Pulmonary function in progressive systemic sclerosis. Comparison of CREST syndrome variant with diffuse scleroderma. *Chest* 1983; 84(5):546-550.
- (115) Steen V, Medsger TA, Jr. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum* 2003; 48(2):516-522.
- (116) Barst RJ, McGoan M, Torbicki A, Sitbon O, Krowka MJ, Olschewski H et al. Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(12 Suppl S):40S-47S.

- (117) Rich S, D'Alonzo GE, Dantzker DR, Levy PS. Magnitude and implications of spontaneous hemodynamic variability in primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1985; 55(1):159-163.
- (118) Guillinta P, Peterson KL, Ben Yehuda O. Cardiac catheterization techniques in pulmonary hypertension. *Cardiol Clin* 2004; 22(3):401-15, vi.
- (119) Thompson AE, Shea B, Welch V, Fenlon D, Pope JE. Calcium-channel blockers for Raynaud's phenomenon in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2001; 44(8):1841-1847.
- (120) Wigley FM, Seibold JR, Wise RA, McCloskey DA, Dole WP. Intravenous iloprost treatment of Raynaud's phenomenon and ischemic ulcers secondary to systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1992; 19(9):1407-1414.
- (121) Korn JH, Mayes M, Matucci CM, Rainisio M, Pope J, Hachulla E et al. Digital ulcers in systemic sclerosis: prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 2004; 50(12):3985-3993.
- (122) Pope JE. Treatment of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am* 1996; 22(4):893-907.
- (123) Sjogren RW. Gastrointestinal motility disorders in scleroderma. *Arthritis Rheum* 1994; 37(9):1265-1282.
- (124) Hoyles RK, Ellis RW, Wellsbury J, Lees B, Newlands P, Goh NS et al. A multicenter, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of corticosteroids and intravenous cyclophosphamide followed by oral azathioprine for the treatment of pulmonary fibrosis in scleroderma. *Arthritis Rheum* 2006; 54(12):3962-3970.
- (125) Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ, Goldin J, Roth MD, Furst DE et al. Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 2006; 354(25):2655-2666.
- (126) Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD, Brundage BH, Rubin LJ, Wigley FM et al. Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary hypertension due to the scleroderma spectrum of disease. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2000; 132(6):425-434.
- (127) Olschewski H, Simonneau G, Galie N, Higenbottam T, Naeije R, Rubin LJ et al. Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2002; 347(5):322-329.
- (128) Barst RJ, Langleben D, Frost A, Horn EM, Oudiz R, Shapiro S et al. Sitaxsentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169(4):441-447.
- (129) Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002; 346(12):896-903.
- (130) Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2005; 353(20):2148-2157.

- (131) Williams MH, Das C, Handler CE, Akram MR, Davar J, Denton CP et al. Systemic sclerosis associated pulmonary hypertension: improved survival in the current era. *Heart* 2006; 92(7):926-932.
- (132) Braun-Moscovici Y, Furst DE. Stem cell therapy in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14(6):711-716.
- (133) Ferri C, Valentini G, Cozzi F, Sebastiani M, Michelassi C, La Montagna G et al. Systemic sclerosis: demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *medicine (baltimore)* 2002; 81(2):139-153.
- (134) Scussel-Lonzetti L, Joyal F, Raynaud JP, Roussin A, Rich E, Goulet JR et al. Predicting mortality in systemic sclerosis: analysis of a cohort of 309 French Canadian patients with emphasis on features at diagnosis as predictive factors for survival. *medicine (baltimore)* 2002; 81(2):154-167.
- (135) Ioannidis JP, Vlachoyiannopoulos PG, Haidich AB, Medsger TA, Jr., Lucas M, Michet CJ et al. Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. *Am J Med* 2005; 118(1):2-10.
- (136) Mitri GM, Lucas M, Fertig N, Steen VD, Medsger TA, Jr. A comparison between anti-Th/To- and anticentromere antibody-positive systemic sclerosis patients with limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum* 2003; 48(1):203-209.
- (137) de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981; 28(1):89-94.
- (138) Flynn TG, de Bold ML, de Bold AJ. The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 117(3):859-865.
- (139) Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332(6159):78-81.
- (140) Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168(2):863-870.
- (141) Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens* 1992; 10(10):1111-1114.
- (142) Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998; 339(5):321-328.
- (143) Tamura N, Ogawa Y, Yasoda A, Itoh H, Saito Y, Nakao K. Two cardiac natriuretic peptide genes (atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide) are organized in tandem in the mouse and human genomes. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28(8):1811-1815.
- (144) Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M. A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem* 1992; 267(20):13928-13932.

- (145) Richards AM, Lainchbury JG, Nicholls MG, Cameron AV, Yandle TG. Dendroaspis natriuretic peptide: endogenous or dubious? *Lancet* 2002; 359(9300):5-6.
- (146) Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):261-268.
- (147) Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168(2):863-870.
- (148) Porter JG, Arfsten A, Fuller F, Miller JA, Gregory LC, Lewicki JA. Isolation and functional expression of the human atrial natriuretic peptide clearance receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 171(2):796-803.
- (149) Koller KJ, Goeddel DV. Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. *Circulation* 1992; 86(4):1081-1088.
- (150) Valli N, Gobinet A, Bordenave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. *J Lab Clin Med* 1999; 134(5):437-444.
- (151) Kone BC. Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 2001; 51(3):429-441.
- (152) Maack T, Suzuki M, Almeida FA, Nussenzveig D, Scarborough RM, McEnroe GA et al. Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* 1987; 238(4827):675-678.
- (153) Suga S, Nakao K, Hosoda K, Mukoyama M, Ogawa Y, Shirakami G et al. Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 1992; 130(1):229-239.
- (154) Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332(6159):78-81.
- (155) Sudoh T, Maekawa K, Kojima M, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 159(3):1427-1434.
- (156) Hunt PJ, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM, Yandle TG. The role of the circulation in processing pro-brain natriuretic peptide (proBNP) to amino-terminal BNP and BNP-32. *Peptides* 1997; 18(10):1475-1481.
- (157) Hall C. NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. *J Card Fail* 2005; 11(5 Suppl):S81-S83.
- (158) Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92(6):1558-1564.
- (159) Bruneau BG, Piazza LA, de Bold AJ. BNP gene expression is specifically modulated by stretch and ET-1 in a new model of isolated rat atria. *Am J Physiol* 1997; 273(6 Pt 2):H2678-H2686.
- (160) Wiese S, Breyer T, Dragu A, Wakili R, Burkard T, Schmidt-Schweda S et al. Gene expression of brain natriuretic peptide in isolated atrial and ventricular human

- myocardium: influence of angiotensin II and diastolic fiber length. *Circulation* 2000; 102(25):3074-3079.
- (161) Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Trawinski J et al. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart* 2003; 89(7):745-751.
- (162) Akiba T, Tachibana K, Togashi K, Hiroe M, Marumo F. Plasma human brain natriuretic peptide in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1995; 44 Suppl 1:S61-S64.
- (163) Vesely DL. Natriuretic peptides and acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285(2):F167-F177.
- (164) Clerico A, Del Ry S, Maffei S, Prontera C, Emdin M, Giannessi D. The circulating levels of cardiac natriuretic hormones in healthy adults: effects of age and sex. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(4):371-377.
- (165) McCullough PA, Omland T, Maisel AS. B-type natriuretic peptides: a diagnostic breakthrough for clinicians. *Rev Cardiovasc Med* 2003; 4(2):72-80.
- (166) Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Doughty RN, Espiner EA. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997; 47(3):287-296.
- (167) Ruskoaho H. Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev* 2003; 24(3):341-356.
- (168) Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347(3):161-167.
- (169) Rodeheffer RJ. Measuring plasma B-type natriuretic peptide in heart failure: good to go in 2004? *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(4):740-749.
- (170) Krishnaswamy P, Lubien E, Clopton P, Koon J, Kazanegra R, Wanner E et al. Utility of B-natriuretic peptide levels in identifying patients with left ventricular systolic or diastolic dysfunction. *Am J Med* 2001; 111(4):274-279.
- (171) Battaglia M, Pewsner D, Juni P, Egger M, Bucher HC, Bachmann LM. Accuracy of B-type natriuretic peptide tests to exclude congestive heart failure: systematic review of test accuracy studies. *Arch Intern Med* 2006; 166(10):1073-1080.
- (172) Bayes-Genis A, Santalo-Bel M, Zapico-Muniz E, Lopez L, Cotes C, Bellido J et al. N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP) in the emergency diagnosis and in-hospital monitoring of patients with dyspnoea and ventricular dysfunction. *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):301-308.
- (173) Siebert U, Januzzi JL, Jr., Beinfeld MT, Cameron R, Gazelle GS. Cost-effectiveness of using N-terminal pro-brain natriuretic peptide to guide the diagnostic assessment and management of dyspneic patients in the emergency department. *Am J Cardiol* 2006; 98(6):800-805.
- (174) Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update

- 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26(11):1115-1140.
- (175) Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, Glasziou P. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *BMJ* 2005; 330(7492):625.
- (176) Dahlstrom U. Can natriuretic peptides be used for the diagnosis of diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):281-287.
- (177) Tschope C, Kasner M, Westermann D, Gaub R, Poller WC, Schultheiss HP. The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur Heart J* 2005; 26(21):2277-2284.
- (178) Leuchte HH, Holzapfel M, Baumgartner RA, Ding I, Neurohr C, Vogeser M et al. Clinical significance of brain natriuretic peptide in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(5):764-770.
- (179) Yap LB, Ashrafian H, Mukerjee D, Coghlan JG, Timms PM. The natriuretic peptides and their role in disorders of right heart dysfunction and pulmonary hypertension. *Clin Biochem* 2004; 37(10):847-856.
- (180) Mukerjee D, Yap LB, Holmes AM, Nair D, Ayrton P, Black CM et al. Significance of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension. *Respir Med* 2003; 97(11):1230-1236.
- (181) Williams MH, Handler CE, Akram R, Smith CJ, Das C, Smee J et al. Role of N-terminal brain natriuretic peptide (N-TproBNP) in scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2006; 27(12):1485-1494.
- (182) Hesselstrand R, Ekman R, Eskilsson J, Isaksson A, Scheja A, Ohlin AK et al. Screening for pulmonary hypertension in systemic sclerosis: the longitudinal development of tricuspid gradient in 227 consecutive patients, 1992-2001. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(3):366-371.
- (183) Collinson PO, Barnes SC, Gaze DC, Galasko G, Lahiri A, Senior R. Analytical performance of the N terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) assay on the Elecsys 1010 and 2010 analysers. *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):365-368.
- (184) Yeo KT, Wu AH, Apple FS, Kroll MH, Christenson RH, Lewandrowski KB et al. Multicenter evaluation of the Roche NT-proBNP assay and comparison to the Biosite Triage BNP assay. *Clin Chim Acta* 2003; 338(1-2):107-115.
- (185) Nowatzke WL, Cole TG. Stability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide after storage frozen for one year and after multiple freeze-thaw cycles. *Clin Chem* 2003; 49(9):1560-1562.
- (186) Sokoll LJ, Baum H, Collinson PO, Gurr E, Haass M, Luthe H et al. Multicenter analytical performance evaluation of the Elecsys proBNP assay. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(8):965-972.
- (187) van der Merwe DE, Henley R, Lane G, Field R, Frenneaux M, Dunstan F et al. Effect of different sample types and stability after blood collection of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as measured with Roche Elecsys system. *Clin Chem* 2004; 50(4):779-780.

- (188) Wu AH, Smith A. Biological variation of the natriuretic peptides and their role in monitoring patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):355-358.

NT-proBNP AND THE DIAGNOSIS OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION IN SYSTEMIC SCLEROSIS

REJANE M. ORAVEC, MARKUS BREDEMEIER, CLAUDIA C. F. C. LAURINO, ANTONIO F. F. PINOTTI, LUIS E. P. ROHDE, RICARDO M. XAVIER

ABSTRACT

BACKGROUND: Pulmonary arterial hypertension (PAH) is an important complication and cause of death in systemic sclerosis (SSc). The aim of this study was to evaluate the accuracy of the N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) for screening of PAH in SSc in comparison to Doppler echocardiography.

METHODS: 119 consecutive patients with definite SSc and 20 healthy controls were prospectively evaluated. The concentration of NT-proBNP was determined using a sandwich immunoassay. Pulmonary systolic arterial pressure (PSAP) was determined in the patients by adding the tricuspid gradient to the right atrial pressure, estimated at 10 mmHg. Patients with PSAP \geq 40 mmHg were considered to have PAH.

RESULTS: Twenty three (19.3%) patients had PAH. Levels of NT-proBNP in PAH patients (median=273.0 pg/mL), patients without PAH (61.0 pg/mL), and controls (32.5 pg/mL) were significantly different ($p < 0.001$). Age and the estimated PSAP were significantly positive correlated to the level of NT-proBNP ($r=0.48$, $p < 0.001$ and $r=0.58$, $p < 0.001$, respectively). An multivariable regression model indicated that PSAP and age were factors independently and additively associated with the NT-proBNP. Using receiver operator characteristic (ROC) curve for the diagnosis of PAH, a cutoff value of 115.5 pg/mL had a sensitivity of 95.7% and specificity of 68.8%. In patients with age \geq 60, a cutoff value of 184.0 pg/mL had a sensitivity of 100% and specificity of 50%.

CONCLUSION: Determination of NT-proBNP concentration is a valuable tool for the screening of PAH in SSc patients. It could be used to select a subset of patients for echocardiographic evaluation.

KEY WORDS: Systemic sclerosis; Pulmonary arterial hypertension; Pulmonary arterial systolic pressure; NT-proBNP.

INTRODUCTION

Systemic sclerosis (SSc) is a diffuse connective tissue disease of unknown etiology, characterized by skin and visceral fibrosis, vascular dysfunction and circulating autoantibodies [1].

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is widely recognized as an important complication and cause of death in both limited and diffuse SSc [2]. Until recently, systemic sclerosis associated with pulmonary arterial hypertension (SScPAH) was considered difficult to treat. However, important advances in the treatment of the PAH have occurred following the introduction of new classes of drugs, such as endothelin antagonists and prostanoids, with improvement in quality of life and decrease in mortality. Therefore, early recognition and management of this complication are now considered key points in the treatment of SSc [3].

Annual Doppler echocardiography has been recommended for the screening of PAH in SSc patients [4]. Nevertheless, this is an observer dependent procedure and might not be available in all clinical settings. Therefore, a noninvasive screening blood test could have an important impact on the management of SScPAH patients.

B-type natriuretic peptide (BNP) and its co-released peptide N-terminal fragment (NT-proBNP) are both secreted mainly by the cardiac ventricles as a consequence of pressure and volume overload. The role of BNP in the diagnosis of congestive heart failure is well known [5]. In patients with idiopathic pulmonary hypertension, few studies have shown that high levels of BNP can be found in proportion to the degree of right ventricular dysfunction and were an independent predictor of mortality [6,7]. In SScPAH, the measurement of NT-proBNP has been described as useful for the diagnosis in two recent case-control studies [8,9].

The aim of our study was to prospectively evaluate the performance of the NT-proBNP for the screening of PAH in SSc, using Doppler echocardiography as a standard for comparison, in consecutive SSc patients in whom the presence of PAH has not been already defined.

METHODS

Population. We prospectively studied 119 consecutive patients with definite SSc (according to the evaluation of experienced rheumatologists) and 20 healthy controls. All patients were Brazilian, inhabitants from the urban area of Porto Alegre/RS, referred from the

rheumatology clinics of four clinical centers and private practices to the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, between May 2000 and December 2004. SSc was defined by the American College of Rheumatology (ACR) criteria for SSc [10] or the criteria suggested by LeRoy and Medsger for diagnosis of early forms of SSc (objective evidence of Raynaud's phenomenon plus SD pattern on nailfold capillary microscopy or SSc selective autoantibodies; alternatively, subjective evidence of Raynaud's phenomenon plus SD pattern on nailfold capillary microscopy and SSc selective autoantibodies) [11]. Exclusion criteria were overlapping syndromes, active chronic or acute infections, insulin dependent diabetes mellitus, or with long-standing diabetes (>5 years since diagnosis), impaired renal function (serum creatinine >1,5 mg/dL), symptoms of heart failure (including class III or IV dyspnea, as defined by the NYHA - New York Heart Association -, venous distension, and recent major lower limb edema) and left ventricular ejection fraction below 55%. The controls were healthy volunteers including blood donors, students, faculty or employees at the HCPA. Written informed consent was obtained from every patient and controls before entry in the study. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Clinical evaluation. All patients were interviewed and examined by the same experienced rheumatologist, according to a questionnaire directed to the evaluation of end-organ damage. The severity and extent of cutaneous disease was quantified using the modified Rodnan skin score [12]. Dyspnea was evaluated according to the NYHA/WHO (World Health Organisation) functional class. Disease subtype was classified as follows: diffuse cutaneous SSc, limited cutaneous SSc and sine *scleroderma* [1,11].

NT-proBNP determination. Blood samples were drawn in the day of clinical evaluation and kept at 4°C until centrifugation (3,000 rpm for 10 minutes), within 1 h; the serum and plasma (EDTA) obtained were kept at -80°C until analysis. The NT-proBNP concentration was determined by the same investigator, who was blinded for all information related to the patient, with the Elecsys proBNP sandwich immunoassay on Elecsys 2010 automation system (Roche Diagnostics). All the samples were analyzed on the same run. Within-run coefficients of variation were 2.1% (n=21) for a concentration of 112.7 pg/mL and 1.8% (n=21) for a concentration of 4131.0 pg/mL. To verify the impact of different sample types on NT-proBNP measurements, EDTA plasma and serum samples obtained from the 20 controls were used in the analysis. Plasma (EDTA) NT-proBNP levels were 10% lower than the serum NT-proBNP levels.

The 97.5th percentiles of reference values, as determined by the manufacturer in blood donors, are 88 pg/mL for men and 153 pg/mL for women at age <50 years old; 227 pg/mL for men and 334 pg/mL for women at age 50-65 years old.

Doppler echocardiography. Ninety percent of the echocardiograms were performed within 6 months of the clinical evaluation (median 54 days, IQR 12-98), and the remaining ten percent within 1 year, by experienced echocardiographers, who were blinded to the clinical information. The methods used for the estimation of pulmonary systolic arterial pressure were standardized. The pulmonary systolic arterial pressure was calculated by adding the tricuspid gradient to the right atrial pressure, estimated at 10 mmHg [13]. Patients with pulmonary systolic arterial pressure (PSAP) \geq 40 mmHg were considered to have pulmonary arterial hypertension [14]. To the diastolic function evaluation, mitral flow velocity was recorded from the apical four-chamber view, with the sample-volume placed at the tip of the mitral leaflets. The following measurements were obtained: peak velocity of early diastolic filling (Peak E), peak velocity of late diastolic filling (Peak A) and deceleration time of early diastolic filling. The ratio between the early and late diastolic filling was calculated by dividing Peak E by Peak A (Peak E/Peak A). The isovolumic relaxation time was obtained by continuous Doppler, with the beam placed between mitral valve and the left ventricular outflow, where the time between aortic closure and mitral opening was determined. The pulmonary flow was recorded from an apical four chamber view, with the sample volume placed 1cm inside of right pulmonary vein. There are four distinct components in pulmonary venous Doppler recording. The first and second positive components are the systolic (s), followed by a positive diastolic (d) component and after the p wave of the electrocardiogram we record the “a atrial flow” reversal (negative flow).[15]. Based on left ventricular diastolic filling parameters, the echocardiogram was classified as normal, deficit of relaxation, pseudo-normal or restrictive pattern, according to the criteria set forth by the *American Society of Echocardiography* [15,16].

Other evaluations. The antinuclear antibodies (ANA) titers and patterns (anticentromere antibodies included) and the presence of antitopoisomerase I were determined using indirect immunofluorescence with HEp-2 cells as substrate and enzyme immunoassay (Quanta lite[®] Scl-70 – ELISA, INOVA Diagnostics), respectively. ANA was considered positive in titers \geq 1:80.

Forced vital capacity (FVC) and carbon monoxide diffusing capacity test (DL_{CO}) were considered reduced when <80% and <75% of the predicted values were observed, respectively.

All high resolution computed tomography scans were assessed for the presence of interstitial disease by two radiologists, in consensus.

Statistical Analysis. The data were analyzed using EPI-INFO version 6, SPSS for Windows version 6, and Medcalc version 6. Categorical variables were presented as numbers and proportions. The association between categorical variables was tested using the chi-square test or the Fisher's exact test. Quantitative variables were tested graphically (with normal probability plots) and statistically (with the Kolmogorov-Smirnov goodness-of-fit test) for the normality of its distribution. Variables with a normal distribution were presented as mean and standard deviation (SD), and the between-group comparisons were performed using the Student's t test or analysis of variance (ANOVA) with Tukey's test. Non-normal quantitative variables were presented as median and interquartile range, and the between-group comparisons were performed using the Mann-Whitney or Kruskal-Wallis tests. The Pearson's (r_P) and Spearman's (r_S) correlation coefficients, along with 95% confidence intervals, were used to test for correlations involving normal and non-normal continuous variables, respectively. Values of $p < 0.05$ (two-tailed) were considered statistically significant.

To evaluate the association of clinical variables with the NT-proBNP levels a multivariable linear regression model was prepared. The variables selected for inclusion in the model were those previously reported to be related with the NT-proBNP levels [17-19] (no automatic method of selection of variables was used). The assumptions of the regression model were assessed by means of the Kolmogorov-Smirnov test for normality of the residuals, the White's test for heteroscedasticity, the evaluation of variance inflation factors for detection of collinearity, and tests for nonlinear associations with the aid of the Gretl software. Partial correlation coefficients (partial r) and 95% confidence intervals were estimated for the independent variables included in the model.

Based on the findings from the study of Allanore [8], we estimated that a sample size that included 20 patients with elevated PSAP and 50 without it would have a 99,9% power to detect a significant difference ($p < 0.001$) between NT-proBNP levels.

RESULTS

Of the 135 patients initially evaluated, 16 patients were excluded from the analysis: 2 did not fulfill the diagnostic criteria for SSc, 8 had no record of the PSAP, 4 had left ventricular ejection fraction lower $< 55\%$, and 2 presented serum creatinine higher than 1.5 mg/dL. The characteristics of the 119 patients included in the present analysis are described

in table 1. Of the 119 patients, 23 (19.3%) had a PSAP ≥ 40 mmHg, and were considered to have PAH. The patients with PAH were older ($p=0.003$), had higher prevalence of anticentromere antibodies ($p=0.026$) and diastolic dysfunction ($p=0.027$) than patients without PAH. Levels of NT-proBNP in PAH patients, patients without PAH and controls were significantly different ($p<0.001$). The NT-proBNP levels were not statistically different in male (median 85.5, IQR 40.5-157.0) and female (median 83.0, IQR 42.5-215.0) patients ($p=0.417$). Patients with evidences of left ventricular diastolic dysfunction had higher levels of NT-proBNP (median 155.0, IQR 51.5-301.7 versus median 71.0, IQR 37.0-147.0; $p=0.004$). The levels of NT-proBNP were higher in patients with NYHA/WHO functional class III than in patients with class II or I (median 233.5, IQR 57.0-756.5, $n=16$ vs median 146.0, IQR 41.0-273.0, $n=34$ or median 61.0, IQR 41.0-161.0, $n=67$, respectively; $p=0.011$). Patients with anticentromere antibodies presented a higher NT-proBNP level in comparison to other patients (median 158.0, IQR 45.5-339.0, $n=48$ vs median 61.0, IQR 41.0-163.0, $n=71$, respectively; $p=0.009$). There was no significant difference in the NT-proBNP levels between diffuse and limited form of disease ($p=0.788$), between patients with or without antitopoisomerase I antibodies ($p=0.056$) or patients with or without interstitial lung disease ($p=0.242$).

Age and the estimated PSAP were significantly correlated to the level of NT-proBNP ($r=0.48$, $p<0.001$ and $r=0.58$, $p<0.001$, respectively) (figures 1 and 2).

Table 1. Clinical, demographic and laboratory features of patients and controls*

	SSc patients with PAH N=23	SSc patients without PAH N=96	Controles N=20	p
Female	22 (95.7)	83 (86.5)	17 (85.0)	0.221
Age, years - mean (SD)	57.5 (12.8)	48.6 (13.2)	44.2 (13.5)	0.003
Disease duration, years - median (IQR)	12 (4.0-20.0)	8 (3.0-17.0)		0.299
Diffuse cutaneous	5 (21.7)	26 (27.1)		0.601
Limited cutaneous	16 (69.6)	57 (59.4)		0.369
Sine <i>scleroderma</i>	2 (8.7)	13 (13.5)		0.531
SD pattern on NCM†	19/21 (90.5)	91/94 (96.8)		0.225
ANA ≥1:80	21 (91.3)	80 (83.3)		0.339
Anticentromere antibodies	14 (60.9)	34 (35.4)		0.026
Atitopoisomerase I antibodies	3 (13.0)	21 (21.9)		0.345
Interstitial lung disease on HRCT†	12/21 (57.1)	55/92 (59.8)		0.824
Reduced FVC†	12/23 (52.2)	34/93 (36.6)		0.172
Reduced DL _{CO} †	22/23 (95.7)	76/92 (82.6)		0.116
Diastolic dysfunction	16 (69.6)	42 (43.8)		0.026
NYHA/OMS class				
I	10 (43.5)	57/94 (60.6)		0.137
II	7 (30.4)	27/94 (28.7)		0.871
III	6 (26.1)	10/94 (10.6)		0.054
IV	0 (0)	0 (0)		---
PSAP, mmHg - mean (SD)	51.5 (14.7)	29.6 (5.7)		<0.001
NT-proBNP, pg/mL - median (IQR)	273.0 (161.0-680.0)	61.0 (38.7-161.0)	32.5 (18.8-65.5)	<0.001

* Data are presented as number (%), except when indicated otherwise. † Data not available for all patients; the values represent: number of patients with the indicated abnormalities/ number of patients that were examined (%). NCM: Nailfold capillary microscopy; ANA: antinuclear antibodies; HRCT: high resolution computed tomography; FVC: forced vital capacity; DL_{CO}: carbon monoxide pulmonary diffusing capacity; PSAP: pulmonary systolic arterial pressure.

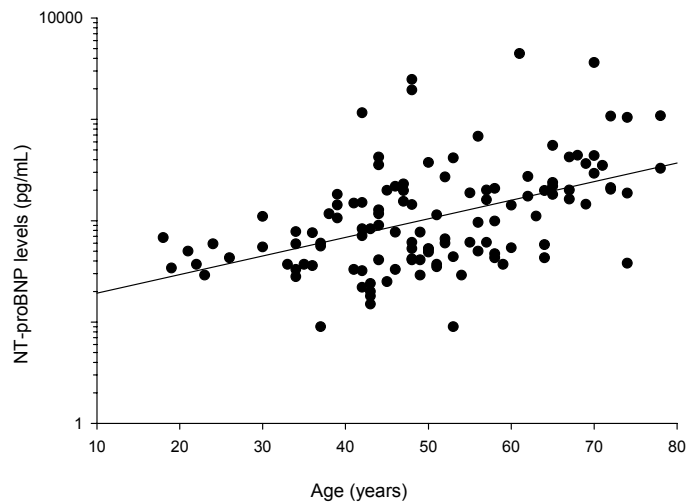


Figure 1. Correlation between NT-proBNP levels (pg/mL) and age (years) in SScPAH patients ($r=0.48$).

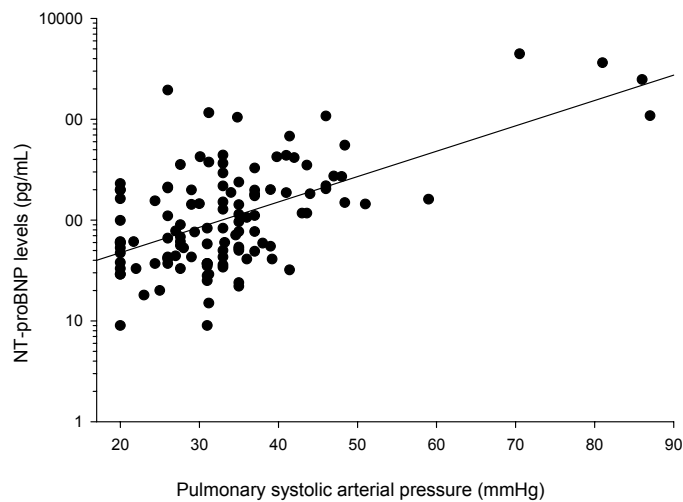


Figure 2. Correlation between NT-proBNP levels (pg/mL) and PSAP (mmHg) in SScPAH patients ($r=0.58$).

Figure 3 shows a ROC curve demonstrating the diagnostic performance of the NT-proBNP level for the identification of PAH defined by Doppler echocardiogram. The cutoff value of 115.5 pg/mL (area under the curve 0.84, 95% CI 0.76-0.93) would provide a sensitivity of 95.7% and a specificity of 68.8% (table 2). ROC curve analysis suggested different cutoff values when studying separately patients with age below and above 60 years: in those with age <60, the suggested cutoff value was 115.5 pg/mL (area under the curve 0.83, 95% CI 0.70-0.97), while in those with age ≥ 60 , the cutoff value was 184.0 pg/mL (area under the curve 0.83, 95% CI 0.68-0.97).

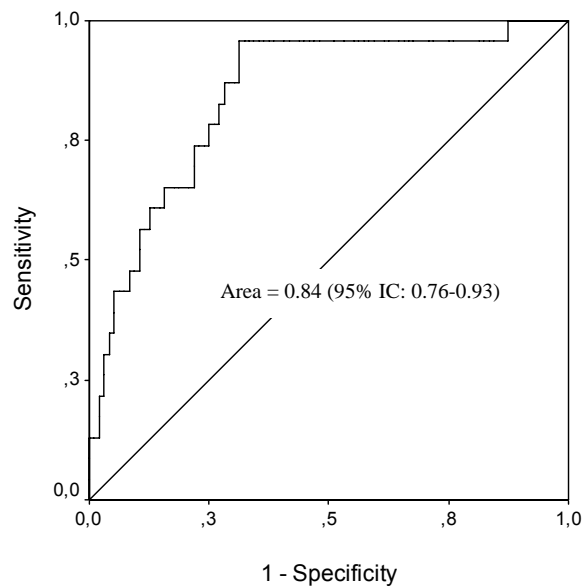


Figure 3. ROC curve for NT-proBNP levels in SSc patients in the diagnosis of PAH.

Table 2. Sensitivity, especificity, positive and negative predictive value of differents cutoff values of NT-proBNP (pg/mL) for predicting SScPAH.

	PAH	No PAH	
All patients			Sensitivity 95.7% (95% CI 76.0,99.8)
NT-proBNP > 115.5	22	30	Specificity 68.8% (95% CI 58.4,77.6)
≤ 115.5	1	66	Positive Predictive Value 42.3% (95% CI 29.0,56.7)
			Negative Predictive Value 98.5% (95% CI 90.9,99.9)
Patients <60 years			Sensitivity 91.7% (95% CI 59.8,99.6)
NT-proBNP >115.5	11	15	Specificity 80.3% (95% CI 69.2,88.2)
≤ 115.5	1	61	Positive Predictive Value 42.3% (95% CI 24.0,62.8)
			Negative Predictive Value 98.4% (95% CI 90.2,99.9)
Patients ≥60 years			Sensitivity 100% (95% CI 67.9,100)
NT-proBNP > 184.0	11	10	Specificity 50.0% (95% CI 27.9,72.1)
≤ 184.0	0	10	Positive Predictive Value 52.4% (95% CI 30.3,73.6)
			Negative Predictive Value 100% (95% CI 65.5,100)

Table 3 shows a multivariable regression model in which the dependent variable is the logarithmically transformed NT-proBNP levels. After logarithmic transformation, the variable NT-proBNP level showed a distribution that was not different from the normal curve (Kolmogorov-Smirnov Goodness-of-fit test, $p=0.153$). From this model, it is observed that the PSAP and the age were factors independently and additively associated with the NT-proBNP levels, with no significant influence of sex and diastolic dysfunction. The exclusion of 15 cases identified as outliers from the model did not change significantly the overall coefficient of determination or the coefficients of the independent variables.

Table 3. Variables associated with NT-proBNP levels in SSc patients: Multivariable analysis.

Independent variables	B*	Partial Correlation Coefficients (95% CI)†	P
Pulmonary systolic arterial pressure (mmHg)	0.021	0.528 (0.382, 0.648)	< 0.001
Age (y)	0.012	0.341 (0.168, 0.493)	< 0.001
Diastolic dysfunction ‡	0.051	0.057 (-0.127, 0.238)	0.544
Female sex ‡	0.094	0.078 (-0.107, 0.257)	0.403
Constant §	0.578	---	0.015

$R^2=0.46$; adjusted $R^2=0.44$; $n=119$. Kolmogorov-Smirnov test=0.702, $p=0.708$. White's test=11.15, $p=0.515$. Non-linearity tests: quadratic=1.62, $p=0.655$; logarithmic=1.77, $p=0.413$. The highest variance inflation factor was 1.52. *Partial correlation coefficients. †95% confidence interval. ‡Variables defined numerically as follows: yes=1, no=0. §Value of the dependent variable when all independent variables are equal to zero.

DISCUSSION

NT-proBNP is a noninvasive blood test, reliable and available in routine laboratory conditions [20]. The role of NT-proBNP in the evaluation of PAH is under investigation, and there are evidences of its utility in terms of screening, diagnosis, monitoring and prognostic determination. Particularly, studies of Williams et al [19] have addressed these questions using a typical case-control study design, in patients with SSc and established diagnosis of PAH defined by right-heart catheterization. Their conclusion was that NT-proBNP identifies patients with SScPAH with similar negative and positive predictive values to those of Doppler echocardiography. However, to better address the screening value of the test, studies with

larger number of patients in whom the presence of PAH has not been defined yet, are needed. These would be more representative of the clinical situations where the test would be used.

With this aim in mind, we have designed the present study using a relatively large sample of consecutive SSc patients without clear cut symptoms of PAH. For these patients, annual screening with Doppler echocardiogram has been recommended [4]. Our results suggest that NT-proBNP could be a good alternative to Doppler echocardiography as a screening test for diagnosis of PAH in patients with SSc. A cutoff value of 115.5 pg/mL, provided sensitivity of 95.7%, specificity of 68.8%, positive predictive value of 42.3% and negative predictive value of 98.5% for finding an estimated PSAP \geq 40 mmHg on Doppler echocardiography. In patients older than 60, a higher cutoff value (184.0 pg/mL) had sensitivity of 100%, specificity of 50%, positive and negative predictive value of 52.4% and 100%, respectively. These findings are in agreement with those of Williams et al, who, in a case-control study, evaluated NT-proBNP levels in 41 patients without and 68 patients with SScHAP confirmed by right-heart catheterization and observed a sensitivity of 90%, specificity of 51% and positive and negative predictive values of 75% for a cutoff value of 91.0 pg/mL [19].

Using a multivariable regression model, age and estimated PSAP were factors independently and additively associated with the NT-proBNP levels. Female and left ventricular diastolic dysfunction were associated with NT-proBNP levels in other studies [17,18]. In our study population there were few men (11.8%), and that certainly contributed to the absence of association with sex. Concerning the diastolic dysfunction, there was no independent association, despite the observation of higher NT-proBNP in the univariate analysis. Of the 58 patients with diastolic dysfunction, only two were stage II (pseudo-normal) according the *European Study Group on Diastolic Heart Failure* [21], while the others presented stage I (deficit of relaxation). Patients with deficit of relaxation and mild symptoms or asymptomatic can have normal or slightly elevated natriuretic peptides levels, indicating no or minimal elevation of the ventricular filling pressure [22]. That could explain the lack of independent association in our study.

There are limitations in our study. PAH was established by Doppler echocardiography, not by right-heart catheterization, the reference standard for the diagnosis. However, our aim was to evaluate the role of the NT-proBNP for screening, in comparison to Doppler echocardiography, to select patients with suspect PAH, and not its diagnostic role for this condition. We found 19.3% of the patients with PSAP \geq 40 mmHg, a prevalence of PAH similar to that found in studies where the diagnosis was confirmed by

right-heart catheterization [24]. In clinical practice, these are the patients that are usually referred for right heart catheterization for a definitive diagnosis of PAH, especially if they are symptomatic. There are few studies comparing echocardiography with right cardiac catheterization in SSc patients where PAH is not clinically evident. Denton et al [25], using Doppler echocardiography and cardiac catheterization, identified PAH with a sensitivity of 90% and specificity of 75%. Mukerjee et al [26], performing echocardiography using tricuspid gradient thresholds of 30 mmHg found PAH with a sensitivity of 88% and a specificity of 42%. Despite this good sensitivity, echocardiographic studies have important limitations as a screening method. It is operator-dependent and, therefore, of difficult standardization. Furthermore, it has higher costs and less availability than serum biomarkers. In the present study, the high negative predictive value of the NT-proBNP for patients with PSAP ≥ 40 mmHg suggests that it can be useful to rule out the presence of PAH in SSc patients, without the need of routine periodic echocardiographic evaluations.

CONCLUSIONS

In sequential patients with systemic sclerosis we found an independent association of levels of NT-proBNP with age and PSAP estimated by Doppler echocardiography. Patients with PSAP ≥ 40 mmHg had significantly higher levels of NT-proBNP. As for the diagnostic performance to identify these patients, NT-proBNP had a high negative predictive value.

These findings demonstrate the utility of NT-proBNP for the screening of SScPAH. Considering its availability and low cost, we believe that periodic testing in SSc patients, with posterior echocardiographic evaluation of patients with elevated levels, is a good substitute for the current recommendation of annual echocardiography for all patients. On the other hand, echocardiographic evaluations of those patients with elevated levels of NT-proBNP would still be important to assess the systolic and diastolic functions prior to a referral for heart catheterization.

ACKNOWLEDGMENT

We acknowledge the support of Roche Diagnostics in the provision of reagent kits for the NT-proBNP analysis. The authors have declared no conflict of interest.

Reference List

1. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, Jr. et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J.Rheumatol.* 1988;15(2):202-5.
2. Trad S, Amoura Z, Beigelman C, Haroche J, Costedoat N, Boutin IT et al. Pulmonary arterial hypertension is a major mortality factor in diffuse systemic sclerosis, independent of interstitial lung disease. *Arthritis Rheum.* 2006;54(1):184-91.
3. Denton CP. Systemic sclerosis: clinical features and management. *Medicine* 2006;34(11):480-8.
4. Recommendations on the management of pulmonary hypertension in clinical practice. *Heart* 2001;86 Suppl 1:11-13.
5. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N.Engl.J.Med.* 2002;347(3):161-7.
6. Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S et al. Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J.Am.Coll.Cardiol.* 1998;31(1):202-8.
7. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2000;102(8):865-70.
8. Allanore Y, Borderie D, Meune C, Cabanes L, Weber S, Ekindjian OG et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of early pulmonary artery hypertension in patients with systemic sclerosis and effects of calcium-channel blockers. *Arthritis Rheum.* 2003;48(12):3503-8.
9. Mukerjee D, Yap LB, Holmes AM, Nair D, Ayrton P, Black CM et al. Significance of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension. *Respir.Med.* 2003;97(11):1230-6.
10. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum.* 1980;23(5):581-90.
11. LeRoy EC, Medsger TA, Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J.Rheumatol.* 2001;28(7):1573-6.
12. Brennan P, Silman A, Black C, Bernstein R, Coppock J, Maddison P et al. Reliability of skin involvement measures in scleroderma. The UK Scleroderma Study Group. *Br.J.Rheumatol.* 1992;31(7):457-60.
13. Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation* 1984;70(4):657-62.
14. Murata I, Takenaka K, Yoshinoya S, Kikuchi K, Kiuchi T, Tanigawa T et al. Clinical evaluation of pulmonary hypertension in systemic sclerosis and related disorders. A

- Doppler echocardiographic study of 135 Japanese patients. *Chest* 1997;111(1):36-43.
15. Oh JK, Appleton CP, Hatle LK, Nishimura RA, Seward JB, Tajik AJ. The noninvasive assessment of left ventricular diastolic function with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J.Am.Soc.Echocardiogr.* 1997;10(3):246-70.
 16. Rakowski H, Appleton C, Chan KL, Dumesnil JG, Honos G, Jue J et al. Canadian consensus recommendations for the measurement and reporting of diastolic dysfunction by echocardiography: from the Investigators of Consensus on Diastolic Dysfunction by Echocardiography. *J.Am.Soc.Echocardiogr.* 1996;9(5):736-60.
 17. Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Trawinski J et al. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart* 2003;89(7):745-51.
 18. Tschope C, Kasner M, Westermann D, Gaub R, Poller WC, Schultheiss HP. The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur.Heart J.* 2005;26(21):2277-84.
 19. Williams MH, Handler CE, Akram R, Smith CJ, Das C, Smee J et al. Role of N-terminal brain natriuretic peptide (N-TproBNP) in scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *Eur.Heart J.* 2006;27(12):1485-94.
 20. Yap LB, Ashrafian H, Mukerjee D, Coghlan JG, Timms PM. The natriuretic peptides and their role in disorders of right heart dysfunction and pulmonary hypertension. *Clin.Biochem.* 2004;37(10):847-56.
 21. How to diagnose diastolic heart failure. European Study Group on Diastolic Heart Failure. *Eur.Heart J.* 1998;19(7):990-1003.
 22. Dahlstrom U. Can natriuretic peptides be used for the diagnosis of diastolic heart failure? *Eur.J.Heart Fail.* 2004;6(3):281-7.
 23. Mukerjee D, St George D, Coleiro B, Knight C, Denton CP, Davar J et al. Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach. *Ann.Rheum.Dis.* 2003;62(11):1088-93.
 24. Denton CP, Cailles JB, Phillips GD, Wells AU, Black CM, Bois RM. Comparison of Doppler echocardiography and right heart catheterization to assess pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Br.J.Rheumatol.* 1997;36(2):239-43.
 25. Mukerjee D, St George D, Knight C, Davar J, Wells AU, Du Bois RM et al. Echocardiography and pulmonary function as screening tests for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Rheumatology.(Oxford)* 2004;43(4):461-6.

NT-proBNP E O DIAGNÓSTICO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL PULMONAR EM ESCLEROSE SISTÊMICA

REJANE M. ORAVEC, MARKUS BREDEMEIER, CLAUDIA C. F. C. LAURINO, ANTONIO F. F. PINOTTI, LUIS E. P. ROHDE, RICARDO M. XAVIER

RESUMO

OBJETIVO: A hipertensão arterial pulmonar (HAP) é uma importante complicação e causa de morte em esclerose sistêmica (ES). O objetivo deste estudo foi avaliar a acurácia do fragmento N-terminal do pró-peptídeo natriurético cerebral (NT-proBNP) como teste de rastreamento de HAP em ES, em comparação à ecocardiografia com Doppler.

MÉTODOS: Cento e dezenove pacientes consecutivos com diagnóstico de ES e 20 controles saudáveis foram avaliados prospectivamente. A concentração de NT-proBNP foi determinada utilizando um imunoensaio do tipo “sandwich”. Nos pacientes, a pressão sistólica da artéria pulmonar (PSAP) foi calculada por adição do gradiente tricúspide à pressão atrial direita, estimada em 10 mmHg. Pacientes com PSAP \geq 40 mmHg foram considerados como apresentando HAP.

RESULTADOS: Vinte e três (19,3%) dos pacientes apresentaram HAP. Os níveis de NT-proBNP nos pacientes com HAP (mediana=273,0 pg/mL), pacientes sem HAP (61,0 pg/mL) e controles (32,5 pg/mL) foram significativamente diferentes ($p < 0,001$). A idade e a PSAP correlacionaram positivamente com os níveis de NT-proBNP ($r=0,48$; $p < 0,001$ e $r=0,58$; $p < 0,001$, respectivamente). Através do modelo de regressão multivariável, foi observado que a PSAP e a idade foram fatores independente e aditivamente associados com os níveis de NT-proBNP. Utilizando a curva ROC (*receiver operator characteristic*) para o diagnóstico de HAP, o valor de corte de 115,5 pg/mL apresentou sensibilidade de 95,7% e especificidade de 68,8%. Nos pacientes com idade \geq 60 anos, o valor de corte de 184,0 pg/mL obteve sensibilidade de 100% e especificidade de 50%.

CONCLUSÃO: A medida do NT-proBNP é útil no rastreamento de HAP em pacientes com ES, podendo ser empregada na seleção dos pacientes para a realização de ecocardiografia.

PALAVRAS-CHAVE: Esclerose sistêmica; Hipertensão arterial pulmonar; Pressão sistólica da artéria pulmonar; NT-proBNP.

INTRODUÇÃO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença difusa do tecido conjuntivo de etiologia desconhecida, caracterizada por fibrose cutânea e visceral, disfunção vascular e auto-anticorpos circulantes (1).

A hipertensão arterial pulmonar (HAP) é uma grave complicação e causa de morte nas formas limitada e difusa da ES (2). Até recentemente, HAP associada à esclerose sistêmica (HAP-ES) era considerada como uma condição de difícil tratamento. Entretanto, importantes avanços no tratamento da HAP ocorreram após a introdução de novas classes de medicamentos, como antagonistas dos receptores da endotelina e prostanóides, com melhora na qualidade de vida e diminuição da mortalidade. A identificação precoce dessa complicação é atualmente considerada como essencial no manejo da ES (3).

A ecocardiografia com Doppler anual é recomendada para o rastreamento da HAP em pacientes com ES (4). Porém, esse é um procedimento subjetivo, dependente do operador e pode não estar disponível em muitas situações. Portanto, um teste sorológico não invasivo teria importante impacto na identificação dos pacientes com HAP-ES.

O peptídeo natriurético do tipo B (BNP) e o fragmento N-terminal do pró-peptídeo natriurético cerebral (NT-proBNP) são ambos secretados principalmente pelos ventrículos cardíacos, como consequência da sobrecarga de volume e pressão ventriculares. O papel do BNP no diagnóstico da insuficiência cardíaca congestiva é bem conhecido (5). Em pacientes com hipertensão pulmonar idiopática, há relatos de que níveis elevados de BNP foram encontrados em proporção ao grau de disfunção ventricular direita e foram considerados como preditores independentes de mortalidade (6;7). Em dois recentes estudos de casos e controles, a determinação de NT-proBNP foi considerada útil para o diagnóstico de HAP em pacientes com ES (8;9).

O objetivo do nosso estudo foi avaliar de forma prospectiva o desempenho do NT-proBNP como teste de rastreamento de HAP na ES, comparado com a ecocardiografia com Doppler, em uma série consecutiva de pacientes sem diagnóstico definido de HAP.

MÉTODOS

População. Foram avaliados prospectivamente 119 pacientes consecutivos com diagnóstico de ES (de acordo com a avaliação de reumatologistas experientes) e 20 controles saudáveis. Todos os pacientes eram brasileiros, habitantes da área urbana de

Porto Alegre/RS, e encaminhados a partir de quatro centros clínicos de Reumatologia e consultórios particulares ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre, entre maio de 2000 e dezembro de 2004. A ES foi definida pelos critérios do Colégio Americano de Reumatologia (American College of Rheumatology - ACR) (10) ou pelos critérios sugeridos por LeRoy e Medsger para o diagnóstico de formas iniciais de ES (evidência objetiva de Fenômeno de Raynaud mais padrão SD - de *scleroderma* - na capilaroscopia periungueal ou auto-anticorpos específicos para ES; alternativamente, evidência subjetiva de Fenômeno de Raynaud mais padrão SD na capilaroscopia periungueal e auto-anticorpos específicos para ES) (11). Foram excluídos pacientes que apresentavam síndromes de sobreposição com outras doenças do tecido conjuntivo, infecções agudas ou crônicas ativas, pacientes com diabetes mellitus insulino-dependente ou com diabetes de mais de cinco anos de evolução, função renal diminuída (creatinina sérica >1,5 mg/dL), sintomas de insuficiência cardíaca (incluindo classe funcional de dispnéia III ou IV, definida pela NYHA - *New York Heart Association*, distensão venosa e edema recente de membros inferiores) e fração de ejeção ventricular esquerda <55%. Os controles eram voluntários saudáveis, incluindo doadores de sangue, estudantes e funcionários do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os pacientes e controles assinaram termo de consentimento informado. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Avaliação clínica. Os pacientes foram entrevistados e examinados pelo mesmo pesquisador, reumatologista experiente, conforme questionário padronizado dirigido à avaliação dos órgãos-alvo da ES. A avaliação da gravidade e extensão do acometimento cutâneo foi feita pelo escore de Rodnan modificado (12). A gravidade da dispnéia foi graduada de acordo com a escala da NYHA/OMS (Organização Mundial da Saúde). Os pacientes foram classificados segundo a forma da doença: difusa cutânea, limitada cutânea e *sine scleroderma* (1;11).

Determinação de NT-proBNP. As amostras de sangue foram coletadas no dia da avaliação clínica e armazenadas a 4°C até a centrifugação (3.000 rpm por 10 minutos), dentro de 1 h; o soro ou plasma (EDTA) obtido foi conservado a -80°C até a análise. A concentração de NT-proBNP foi determinada pelo mesmo analista, o qual desconhecia o resultado das outras avaliações, utilizando o imunoensaio Elecsys® proBNP (Roche Diagnostics, Basel, Suíça) no sistema automatizado Elecsys 2010. Todas as amostras foram analisadas na mesma rotina. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 2,1% (n=21) para concentração de 112,7 pg/mL, e de 1,8% (n=21) para concentração de 4131,0 pg/mL. Para verificar a influência de diferentes tipos de amostra sobre os níveis de NT-proBNP, realizamos essa análise em

amostras de plasma (EDTA) e soro obtidas dos 20 controles. A concentração de NT-proBNP em plasma (EDTA) foi 10% inferior à encontrada em soro.

Segundo o fabricante, os valores encontrados para o NT-proBNP (percentil 97,5) em uma amostragem de doadores de sangue foram: 88 pg/mL para homens e 153 pg/mL para mulheres, com idade <50 anos; 227 pg/mL para homens e 334 pg/mL para mulheres, entre 50 e 65 anos de idade.

Ecocardiografia com Doppler. Noventa por cento das ecocardiografias foram realizadas até 6 meses após a avaliação clínica, por profissionais experientes, que usaram métodos padronizados e desconheciam os achados clínicos. As avaliações restantes foram realizadas em até 1 ano. A pressão sistólica da artéria pulmonar (PSAP) foi calculada pela adição do gradiente tricúspide à pressão atrial direita, estimada em 10 mmHg (13). Pacientes com PSAP ≥ 40 mmHg foram considerados como apresentando HAP (14). Para a avaliação da função diastólica, a velocidade do fluxo mitral foi obtida a partir da visão das quatro câmaras apical, com a amostra de volume situada ao nível dos bordos dos folhetos. As seguintes medidas foram obtidas: velocidade da onda de enchimento diastólico inicial (onda E), velocidade da onda de enchimento diastólico final (onda A) e tempo de desaceleração do enchimento diastólico inicial. A razão entre o enchimento diastólico inicial e final foi calculada dividindo a onda E pela onda A (onda E/onda A). O tempo de relaxamento isovolumétrico foi obtido por Doppler contínuo, com o cursor colocado entre a válvula mitral e o fluxo ventricular esquerdo, onde foi determinado o tempo entre o fechamento aórtico e a abertura mitral. O fluxo pulmonar foi obtido a partir da visão apical de quatro câmaras, com a amostra de volume situada 1 cm dentro da veia pulmonar direita. Existem quatro componentes no fluxo pulmonar. Os dois primeiros componentes positivos são sistólicos (s), seguidos por um componente diastólico (d) positivo e, após a onda p do eletrocardiograma, segue o “fluxo atrial a” reverso (fluxo negativo) (15). Com base nos parâmetros de enchimento diastólico ventricular esquerdo e no fluxo venoso pulmonar, a função diastólica foi classificada como normal, déficit de relaxamento (estágio I), pseudo-normal (estágio II) ou padrão restritivo (estágio III), de acordo com os critérios estabelecidos pela *American Society of Echocardiography* (15;16).

Outras avaliações. A presença de anticorpos antinucleares (incluindo anticorpos anticentrômero) e de anticorpos antitopoisomerase I foi avaliada através das técnicas de imunofluorescência indireta (utilizando-se como substrato células HEp-2) e ensaio imunoenzimático (QUANTA lite[®] ScI-70 ELISA, INOVA Diagnostics), respectivamente. Os anticorpos antinucleares foram considerados positivos quando reagentes em diluição $\geq 1:80$.

A capacidade vital forçada (CVF) e a capacidade de difusão do monóxido de carbono (DL_{CO}) foram consideradas reduzidas quando menores do que 80% e 75% do valor esperado, respectivamente.

A presença de doença intersticial pulmonar foi avaliada através da análise de imagens obtidas por tomografia computadorizada de alta resolução pulmonar, definida em consenso por dois radiologistas.

Análise estatística. Os dados foram analisados utilizando os programas EPI-INFO versão 6, SPSS para Windows versão 6 e Medcalc versão 6. As variáveis categóricas foram apresentadas como números e proporções. A análise da associação entre variáveis categóricas foi feita empregando o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Variáveis quantitativas foram testadas graficamente quanto à normalidade da distribuição (com curvas de probabilidade normal) e também utilizando o teste de ajustamento (*goodness-of-fit*) de Kolmogorov-Smirnov. Variáveis quantitativas com distribuição normal foram apresentadas como média e desvio-padrão (dp), e a comparação entre grupos foi realizada usando o teste t de Student ou análise de variância (ANOVA) com teste de Turkey. Variáveis quantitativas não-normais foram apresentadas como mediana e percentis (25, 75), e a comparação entre os grupos foi obtida aplicando o teste Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis. Os coeficientes de correlação de Pearson (r_P) e Spearman (r_S), e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foram utilizados para testar as correlações envolvendo variáveis contínuas normais e não-normais, respectivamente. Valores de $p < 0,05$, bicaudais, foram considerados estatisticamente significativos.

Para avaliação da associação de variáveis clínicas com os níveis de NT-proBNP, foi elaborado um modelo de regressão linear múltipla. As variáveis selecionadas para inclusão no modelo são aquelas relacionadas aos níveis de NT-proBNP em estudos prévios (17-19) (não foram utilizados métodos automáticos para a seleção de variáveis). Os pressupostos do modelo de regressão foram avaliados através do teste de Kolmogorov-Smirnov para normalidade dos resíduos, do teste de White para heteroscedasticidade, da avaliação dos fatores de inflação de variância para detecção de colinearidade e de testes para associação não-linear com o auxílio do programa Gretl. Coeficientes de correlação parcial (r parcial) e intervalos de confiança de 95% foram estimados para as variáveis independentes incluídas no modelo.

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado nos achados do estudo de Allamore et al. (8). Uma amostragem incluindo 20 pacientes com PSAP elevada e 50 pacientes sem

alteração da PSAP teria poder de 99,9% em detectar uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) entre os níveis de NT-proBNP.

RESULTADOS

Dos 135 pacientes inicialmente avaliados, 16 foram excluídos da análise: 2 não preenchiam os critérios diagnósticos de ES, 8 não tinham estimativa de PSAP, 4 possuíam fração de ejeção ventricular esquerda $< 55\%$, e 2 apresentavam concentrações séricas de creatinina $> 1,5$ mg/dL. A descrição dos 119 pacientes estudados encontra-se na tabela 1. Dos 119 pacientes, 23 (19,3%) tinham PSAP ≥ 40 mmHg, e foram considerados como apresentando HAP. Os pacientes com HAP eram mais idosos ($p = 0,003$), apresentavam maior prevalência de anticorpos anticentrômero ($p = 0,026$) e de disfunção diastólica ($p = 0,027$) do que os pacientes sem HAP. Os níveis de NT-proBNP nos pacientes com HAP, sem HAP e controles foram significativamente diferentes ($p < 0,001$). Os níveis de NT-proBNP não foram estatisticamente diferentes em pacientes dos sexos masculino (mediana [percentis 25,75], 85,5 [40,5-157,0]) e feminino (83,0 [42,5-215,0]) ($p = 0,417$). Pacientes com evidências de disfunção diastólica ventricular esquerda tiveram níveis mais elevados de NT-proBNP (mediana [percentis 25,75], 155,0 [51,5-301,7] versus 71,0 [37,0-147,0]; $p = 0,004$). As concentrações de NT-proBNP foram maiores em pacientes com classe funcional (NYHA/WHO) III do que nos com classe funcional II ou I (mediana [percentis 25,75], 233,5 [57,0-756,5], $n = 16$ versus 146,0 [41,0-273,0], $n = 34$ ou 61,0 [41,0-161,0], $n = 67$, respectivamente; $p = 0,011$). Pacientes com anticorpos anticentrômero apresentaram níveis de NT-proBNP mais elevados, em comparação aos demais pacientes (mediana [percentis 25,75] 158,0 [45,5-339,0], $n = 48$ versus 61,0 [41,0-163,0], $n = 71$, respectivamente; $p = 0,009$). As concentrações de NT-proBNP não foram estatisticamente diferentes entre as formas difusa e limitada da doença ($p = 0,788$), entre pacientes com ou sem anticorpos antitopoisomerase I ($p = 0,056$) ou entre pacientes com ou sem doença intersticial pulmonar ($p = 0,242$).

Os níveis de NT-proBNP mostraram correlação positiva significativa com a idade e a estimativa de PSAP ($r = 0,48$; $p < 0,001$ e $r = 0,58$; $p < 0,001$, respectivamente) (figuras 1 e 2).

Tabela 1. Achados clínicos, demográficos e laboratoriais de pacientes e controles*

	Pacientes com HAP N=23	Pacientes sem HAP N=96	Controles N=20	p
Sexo feminino	22 (95,7)	83 (86,5)	17 (85,0)	0,221
Idade, anos - média (dp)	57,5 (12,8)	48,6 (13,2)	44,2 (13,5)	0,003
Duração da doença, anos - mediana (percentis 25, 75)	12 (4,0-20,0)	8 (3,0-17,0)		0,299
Difusa cutânea	5 (21,7)	26 (27,1)		0,601
Limitada cutânea	16 (69,6)	57 (59,4)		0,369
Sine scleroderma	2 (8,7)	13 (13,5)		0,531
Padrão SD na CPU†	19/21 (90,5)	91/94 (96,8)		0,225
FAN ≥1:80	21 (91,3)	80 (83,3)		0,339
Anticorpos anticentrômero	14 (60,9)	34 (35,4)		0,026
Anticorpos antitopoisomerase I	3 (13,0)	21 (21,9)		0,345
Doença pulmonar intersticial na TCAR†	12/21 (57,1)	55/92 (59,8)		0,824
Reduzida CVF†	12/23 (52,2)	34/93 (36,6)		0,172
Reduzida DL _{CO} †	22/23 (95,7)	76/92 (82,6)		0,116
Disfunção diastólica	16 (69,6)	42 (43,8)		0,027
Classe NYHA/OMS				
I	10 (43,5)	57/94 (60,6)		0,137
II	7 (30,4)	27/94 (28,7)		0,871
III	6 (26,1)	10/94 (10,6)		0,054
IV	0 (0)	0 (0)		
PSAP, mmHg - média (dp)	51,5 (14,7)	29,6 (5,7)		<0,001
NT-proBNP, pg/mL - mediana (percentis 25, 75)	273,0 (161,0-680,0)	61,0 (38,7-161,0)	32,5 (18,8-65,5)	<0,001

* Dados apresentados como número (%), exceto quando indicado diferente. † Dados não disponíveis para todos os pacientes; os valores representam: número de pacientes com a anormalidade indicada/número de pacientes que foram examinados (%). CPU: Capilaroscopia periungueal; FAN: anticorpos antinucleares; TCAR: tomografia computadorizada de alta resolução; CVF: capacidade vital forçada; DL_{CO}: capacidade de difusão do monóxido de carbono; PSAP: pressão sistólica da artéria pulmonar.

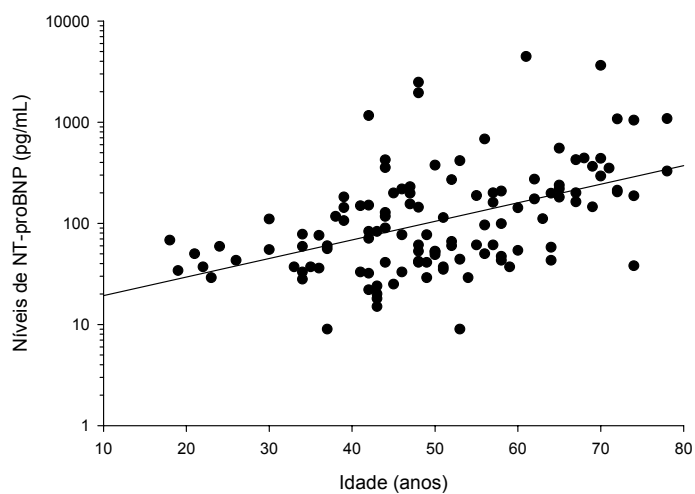


Figura 1. Correlação entre níveis de NT-proBNP (pg/mL) e idade (anos) em pacientes com HAP-ES ($r=0,48$).

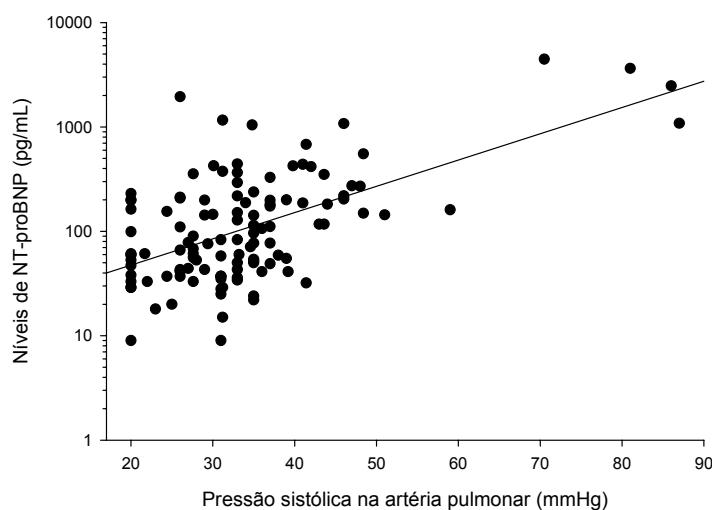


Figura 2. Correlação entre níveis de NT-proBNP (pg/mL) e PSAP (mmHg) em pacientes com HAP-ES ($r=0,58$).

A capacidade do NT-proBNP em identificar HAP, definida por ecocardiografia com Doppler, foi demonstrada utilizando-se curva ROC (figura 3). O valor de corte de 115,5 pg/mL (área sob a curva de 0,84, IC 95% 0,76-0,93) apresentou sensibilidade de 95,7% e especificidade de 68,8% (tabela 2). A análise da curva ROC apontou diferentes valores de corte para pacientes com idade abaixo e acima de 60 anos: <60 anos, o valor de corte sugerido foi de 115,5 pg/mL (área sob a curva de 0,83; IC 95% 0,70-0,97), enquanto que naqueles com idade ≥ 60 anos, o valor de corte foi de 184,0 pg/mL (área sob a curva de 0,83; IC 95% 0,68-0,97).

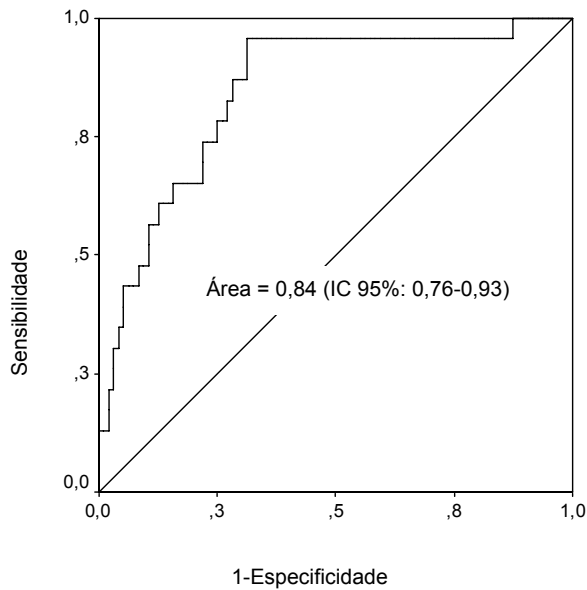


Figura 3. Curva ROC para níveis de NT-proBNP no diagnóstico de HAP em pacientes com ES.

Tabela 2. Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo de diferentes valores de corte de NT-proBNP (pg/mL) para prever HAP-ES.

	Com HAP	Sem HAP	
Todos os pacientes			Sensibilidade 95,7% (IC 95% 76,0-99,8)
			Especificidade 68,8% (IC 95% 58,4-77,6)
NT-proBNP > 115,5	22	30	Valor Preditivo Positivo 42,3% (IC 95% 29,0-56,7)
≤ 115,5	1	66	Valor Preditivo Negativo 98,5% (IC 95% 90,9-99,9)
Pacientes <60 anos			Sensibilidade 91,7% (IC 95% 59,8-99,6)
			Especificidade 80,3% (IC 95% 69,2-88,2)
NT-proBNP > 115,5	11	15	Valor Preditivo Positivo 42,3% (IC 95% 24,0-62,8)
≤ 115,5	1	61	Valor Preditivo Negativo 98,4% (IC 95% 90,2-99,9)
Pacientes ≥60 anos			Sensibilidade 100% (IC 95% 67,9-100)
			Especificidade 50,0% (IC 95% 27,9-72,1)
NT-proBNP > 184,0	11	10	Valor Preditivo Positivo 52,4% (IC 95% 30,3-73,6)
≤ 184,0	0	10	Valor Preditivo Negativo 100% (IC 95% 65,5-100)

A tabela 3 mostra o modelo de regressão multivariável no qual a variável dependente é a concentração de NT-proBNP com transformação logarítmica. Após a transformação, a distribuição desta variável foi semelhante à da curva normal (Kolmogorov-Smirnov Goodness-of-fit test, $p=0,153$). Através desse modelo, a PSAP e a idade foram fatores independente e aditivamente associados aos níveis de NT-proBNP, sem influência significativa das variáveis sexo e disfunção diastólica. A exclusão de 15 casos identificados como extremos, a partir do modelo, não alterou significativamente a determinação do coeficiente global ou os coeficientes das variáveis independentes.

Tabela 3. Fatores associados com níveis séricos do NT-proBNP em pacientes com ES: Análise multivariável.

Variáveis independentes	B*	Coefficientes de Correlação Parcial (IC 95%)†	p
Pressão sistólica da artéria pulmonar (mmHg)	0,021	0,528 (0,382 - 0,648)	< 0,001
Idade (anos)	0,012	0,341 (0,168 - 0,493)	< 0,001
Disfunção diastólica ‡	0,051	0,057 (-0,127 - 0,238)	0,544
Sexo feminino ‡	0,094	0,078 (-0,107 - 0,257)	0,403
Constante §	0,578	---	0,015

$R^2=0,46$; R^2 ajustado=0,44; $n=119$. Teste Kolmogorov-Smirnov=0,702; $p=0,708$. Teste White=11,15; $p=0,515$. Testes não lineares: quadrática=1,62; $p=0,655$; logarítmica=1,77; $p=0,413$. *Coeficientes de correlação parcial. †Intervalo de confiança 95%. ‡Variáveis definidas numericamente: sim=1, não=0. §Valor da variável dependente quando todas as variáveis independentes são iguais a zero.

DISCUSSÃO

A determinação dos níveis de NT-proBNP é realizada através de um teste sorológico não invasivo, confiável e disponível na rotina laboratorial (20). O papel do NT-proBNP na avaliação de HAP é objeto de estudo, existindo evidências de sua utilidade como teste de rastreamento, diagnóstico, monitoramento e prognóstico. Os estudos de Williams et al. (19), utilizando delineamento caso-controle, têm abordado esses aspectos em pacientes com ES e HAP definida por cateterização cardíaca direita. Os autores concluíram que o NT-proBNP identifica pacientes com HAP-ES com valores preditivos positivo e negativo similares aos da

ecocardiografia com Doppler. Entretanto, para melhor avaliar o valor do teste como rastreamento são necessários estudos prospectivos, com amostragem maior, em pacientes nos quais a presença de HAP ainda não foi definida. Essa população representaria melhor a situação clínica onde o teste seria empregado.

Com esse objetivo, delineou-se o presente estudo utilizando uma amostragem relativamente grande de pacientes consecutivos com ES, sem diagnóstico estabelecido de HAP. Nesses pacientes é recomendada a investigação anual por ecocardiografia com Doppler (4). Os resultados obtidos sugerem que o NT-proBNP pode ser uma boa alternativa à ecocardiografia com Doppler, como teste de rastreamento para o diagnóstico de HAP em pacientes com ES. O valor de corte de 115,5 pg/mL obteve sensibilidade de 95,7%, especificidade de 68,8%, valor preditivo positivo de 42,3% e negativo de 98,5%, para detectar uma PSAP ≥ 40 mmHg estimada por ecocardiografia. Em pacientes com idade acima de 60 anos, um valor de corte mais elevado, 184,0 pg/mL, apresentou sensibilidade de 100%, especificidade de 50%, valores preditivos positivo e negativo de 52,4% e 100%, respectivamente. Esses dados estão em concordância com as observações de Williams et al., que, em estudo de casos e controles, avaliaram os níveis de NT-proBNP em 41 pacientes sem e 68 com HAP-ES confirmada por cateterismo cardíaco direito e obtiveram sensibilidade de 90%, especificidade de 51% e valores preditivos positivo e negativo de 75% para um valor de corte de 91,0 pg/mL (19).

O uso de modelo de regressão multivariável indicou que idade e PSAP estimada foram fatores independente e aditivamente associados aos níveis de NT-proBNP. Outros estudos também demonstraram associação com sexo feminino e disfunção diastólica ventricular esquerda (17;18). A nossa amostra incluiu um número pequeno de homens (11,8%), e isso certamente contribuiu para a ausência de associação com sexo. Em relação à disfunção diastólica, não houve associação independente, apesar de os pacientes apresentarem níveis mais elevados de NT-proBNP na análise univariada. Dos 58 pacientes com disfunção diastólica, somente dois apresentavam estágio II (pseudonormal) conforme critérios do *European Study Group on Diastolic Heart Failure* (21), sendo que os demais apresentavam estágio I (déficit de relaxamento). Pacientes com déficit de relaxamento e sintomas leves ou assintomáticos podem apresentar níveis normais ou levemente elevados de peptídeos natriuréticos, indicando nenhuma ou somente leve elevação da pressão de enchimento ventricular (22). Isso poderia explicar a falta de associação independente no nosso estudo.

Existem limitações neste estudo. Talvez a principal seja a de que a presença de HAP foi estabelecida por ecocardiografia, e não por cateterismo cardíaco, que é o padrão de

referência para o diagnóstico. Entretanto, o objetivo foi avaliar o papel do NT-proBNP como rastreamento, em comparação com a ecocardiografia, na seleção de pacientes com suspeita de HAP, e não seu papel diagnóstico para a HAP. Encontramos 19,3% de pacientes com PSAP ≥ 40 mmHg, uma prevalência não muito diferente da HAP confirmada por cateterismo na ES, de 10% a 16% (23). Na prática clínica, geralmente esses são os pacientes encaminhados à cateterização cardíaca direita para diagnóstico definitivo de HAP, especialmente se sintomáticos.

Existem poucos estudos comparando ecocardiografia com Doppler com a cateterização cardíaca direita em pacientes com HAP-ES. Denton et al. (24), utilizando ecocardiografia com Doppler e cateterização cardíaca direita, identificaram HAP com sensibilidade de 90% e especificidade de 75%. Mukerjee et al. (25), utilizando limiar de gradiente tricúspide de 30 mmHg na ecocardiografia, encontrou uma sensibilidade de 88% e especificidade de 42%. Apesar da boa sensibilidade, a ecocardiografia tem limitações como método de rastreamento. Ela é uma técnica operador-dependente e, portanto, de difícil padronização. Além disso, trata-se de exame de custo maior e menor disponibilidade do que biomarcadores séricos. No presente estudo, o alto valor preditivo negativo do NT-proBNP em distinguir indivíduos com PSAP ≥ 40 mmHg sugere sua utilidade clínica em descartar HAP em pacientes com ES, sem necessidade de recorrer sistematicamente à ecocardiografia.

CONCLUSÕES

Em uma amostra consecutiva de pacientes com esclerose sistêmica, encontramos uma associação independente entre os níveis de NT-proBNP e a idade e a PSAP avaliada pela ecocardiografia com Doppler. Pacientes com níveis de PSAP ≥ 40 mmHg tiveram níveis significativamente mais elevados de NT-proBNP. Quanto ao desempenho diagnóstico para identificar os pacientes com PSAP ≥ 40 mmHg, o NT-proBNP apresentou elevado valor preditivo negativo.

Dessa forma, o NT-proBNP se mostrou um método de rastreamento útil para HAP-ES. Tendo em vista maior disponibilidade e menor custo, acreditamos que sua realização periódica em pacientes com ES, com posterior encaminhamento somente dos pacientes com níveis elevados de NT-proBNP para avaliação ecocardiográfica, possa substituir a recomendação atual de realizar ecocardiografia em todos os pacientes anualmente. Por outro lado, a avaliação ecocardiográfica dos pacientes com níveis elevados de NT-proBNP

seria importante para verificar a função sistólica e diastólica ventriculares previamente a um possível encaminhamento para cateterismo cardíaco direito.

AGRADECIMENTO

À Roche Diagnostics, pelo fornecimento gratuito de reagentes para a realização do NT-proBNP. Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- (1) LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, Jr. et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15(2):202-205.
- (2) Trad S, Amoura Z, Beigelman C, Haroche J, Costedoat N, Boutin IT et al. Pulmonary arterial hypertension is a major mortality factor in diffuse systemic sclerosis, independent of interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 2006; 54(1):184-191.
- (3) Denton CP. Systemic sclerosis: clinical features and management. *Medicine* 2006; 34(11):480-488.
- (4) Recommendations on the management of pulmonary hypertension in clinical practice. *Heart* 2001; 86 Suppl 1:11-13.
- (5) Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347(3):161-167.
- (6) Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S et al. Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31(1):202-208.
- (7) Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2000; 102(8):865-870.
- (8) Allanore Y, Borderie D, Meune C, Cabanes L, Weber S, Ekindjian OG et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of early pulmonary artery hypertension in patients with systemic sclerosis and effects of calcium-channel blockers. *Arthritis Rheum* 2003; 48(12):3503-3508.
- (9) Mukerjee D, Yap LB, Holmes AM, Nair D, Ayrton P, Black CM et al. Significance of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension. *Respir Med* 2003; 97(11):1230-1236.
- (10) Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980; 23(5):581-590.
- (11) LeRoy EC, Medsger TA, Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001; 28(7):1573-1576.
- (12) Brennan P, Silman A, Black C, Bernstein R, Coppock J, Maddison P et al. Reliability of skin involvement measures in scleroderma. The UK Scleroderma Study Group. *Br J Rheumatol* 1992; 31(7):457-460.
- (13) Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation* 1984; 70(4):657-662.

- (14) Murata I, Takenaka K, Yoshinoya S, Kikuchi K, Kiuchi T, Tanigawa T et al. Clinical evaluation of pulmonary hypertension in systemic sclerosis and related disorders. A Doppler echocardiographic study of 135 Japanese patients. *Chest* 1997; 111(1):36-43.
- (15) Oh JK, Appleton CP, Hatle LK, Nishimura RA, Seward JB, Tajik AJ. The noninvasive assessment of left ventricular diastolic function with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1997; 10(3):246-270.
- (16) Rakowski H, Appleton C, Chan KL, Dumesnil JG, Honos G, Jue J et al. Canadian consensus recommendations for the measurement and reporting of diastolic dysfunction by echocardiography: from the Investigators of Consensus on Diastolic Dysfunction by Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 1996; 9(5):736-760.
- (17) Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Trawinski J et al. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart* 2003; 89(7):745-751.
- (18) Tschope C, Kasner M, Westermann D, Gaub R, Poller WC, Schultheiss HP. The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur Heart J* 2005; 26(21):2277-2284.
- (19) Williams MH, Handler CE, Akram R, Smith CJ, Das C, Smee J et al. Role of N-terminal brain natriuretic peptide (N-TproBNP) in scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2006; 27(12):1485-1494.
- (20) Yap LB, Ashrafian H, Mukerjee D, Coghlan JG, Timms PM. The natriuretic peptides and their role in disorders of right heart dysfunction and pulmonary hypertension. *Clin Biochem* 2004; 37(10):847-856.
- (21) How to diagnose diastolic heart failure. European Study Group on Diastolic Heart Failure. *Eur Heart J* 1998; 19(7):990-1003.
- (22) Dahlstrom U. Can natriuretic peptides be used for the diagnosis of diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail* 2004; 6(3):281-287.
- (23) Mukerjee D, St George D, Coleiro B, Knight C, Denton CP, Davar J et al. Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach. *Ann Rheum Dis* 2003; 62(11):1088-1093.
- (24) Denton CP, Cailles JB, Phillips GD, Wells AU, Black CM, Bois RM. Comparison of Doppler echocardiography and right heart catheterization to assess pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1997; 36(2):239-243.
- (25) Mukerjee D, St George D, Knight C, Davar J, Wells AU, Du Bois RM et al. Echocardiography and pulmonary function as screening tests for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(4):461-466.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Em uma amostra consecutiva de pacientes com esclerose sistêmica, encontramos uma associação independente entre os níveis de NT-proBNP e a idade e a PSAP avaliada pela ecocardiografia com Doppler. Pacientes com níveis de PSAP ≥ 40 mmHg tiveram níveis significativamente mais elevados de NT-proBNP. Quanto ao desempenho diagnóstico para identificar os pacientes com PSAP ≥ 40 mmHg, o NT-proBNP apresentou elevado valor preditivo negativo.

Dessa forma, o NT-proBNP se mostrou um método de rastreamento útil para HAP-ES. Tendo em vista maior disponibilidade e menor custo, acreditamos que sua realização periódica em pacientes com ES, com posterior encaminhamento somente dos pacientes com níveis elevados de NT-proBNP para avaliação ecocardiográfica, possa substituir a recomendação atual de realizar ecocardiografia em todos os pacientes anualmente. Por outro lado, a avaliação ecocardiográfica dos pacientes com níveis elevados de NT-proBNP seria importante para verificar a função sistólica e diastólica ventriculares previamente a um possível encaminhamento para cateterismo cardíaco direito.

Os dados obtidos neste trabalho permitem a perspectiva de pesquisa da avaliação do NT-proBNP com os resultados do cateterismo cardíaco direito, com o monitoramento do tratamento e com a mortalidade relacionada a HAP-ES.

ANEXOS

ANEXO 1 Protocolo de Pesquisa (Pacientes)

Níveis de ET-1 e alterações capilaroscópicas em pacientes com esclerose sistêmica

Serviço de Reumatologia -HCPA

Markus Bredemeier (fones 99858618, 3112794, 3168246, 3313834)

CASO: _____

DATA DA ENTREVISTA: ___/___/___

NOME: _____ REGISTRO: _____/___

IDADE: _____ anos

SEXO ___ (1-masc 2-fem) COR: ___ (1-branco 2-preto 3-misto)

ENDEREÇO:

—

NOME E ENDEREÇO DE

PARENTE: _____

TELEFONE : casa: _____ celular: _____ TELEFONE DE PARENTE:

Falta de ar (MRC mod): _____

- 0- não tem falta de ar, exceto com atividade extrema;
- 1- incomodado pela falta de ar quando caminha rapidamente no plano ou sobe lombo leve;
- 2- anda mais devagar no plano que pessoas da mesma idade devido à falta de ar ou tem que parar quando caminha no seu ritmo no plano;
- 3- pára para respirar após caminhar mais ou menos 100 metros ou após poucos minutos no plano;
- 4- muita falta de ar para sair de casa ou falta de ar ao vestir ou trocar de roupa.

NYHA: ___ (classe)

- 1- sem limitação; atividade rotineira sem fadiga exagerada ou dispnéia ou palpitação;
- 2- com pequena limitação de atividade física; bem em repouso; atividade rotineira causa fadiga, dispnéia ou palpitação;
- 3- limitação importante; dispnéia aos mínimos esforços; bem em repouso;
- 4- dispnéia em repouso; qualquer atividade com muito desconforto;

Fumo: _____ (1-sim 2-não 3- no passado) dos _____ aos _____ anos _____ cigs/dia.

O Sr.(a) tem pressão alta? _____ (1-sim 2-não) PA1: _____/_____ PA2: _____/_____ BRAÇO: _____

cm D E

Sr. (a) tem algum problema cardíaco) ____

Qual? _____

O Sr(a) tem diabetes? _____

Usa inibidor da ECA: ____ Verapa: ____ Nifedi: ____ Amlo: ____ Diltia ____

betabloqueador ____ diurético ____ AINE : ____ Qual? _____ outros

(anotar): _____, _____, _____, _____, _____

A medicação vasoativa será suspensa: ____ (1-sim 2-não)

Quantos dias antes ? ____ Por quê? _____

AINE será suspenso? ____ (1-sim 2-não)

Quantos dias antes? ____ Por quê? _____

CASO: _____

Dificuldade de deglutição: ____ (0-não; 1- sim, para pedaços de carne; 2- sim, para comer arroz e feijão; 3- sim, para líquidos) ou _____

Vezes: ____ por mês ou ____ por semana ou ____ dia ou sempre

Classifique a severidade do sintoma: ____ (0-não tem 1- leve 2-moderado 3- severo)

Tem azia ou pirose (queimação na boca do estômago ou atrás do peito)? ____ (1-sim 2-não)

Vezes: ____ por mês ou ____ por semana ou ____ dia ou sempre

Classifique a severidade do sintoma: ____ (0-não tem 1- leve 2- moderado 3- severo)

Tem dor ao engolir? ____ (1-sim 2-não)

Vezes: ____ por mês ou ____ por semana ou ____ dia ou sempre

Classifique a severidade do sintoma: ____ (0-não tem 1- leve 2- moderado 3- severo)

Vomita ou sente o conteúdo do estômago voltar até a garganta após as refeições ou longe delas? _____

Vezes: ____ por mês ou ____ por semana ou ____ dia ou sempre

Classifique a severidade do sintoma: ____ (0-não tem 1- leve 2- moderado 3- severo)

Costuma ter dor no peito ou atrás do peito ? ____

Vezes: ____ por mês ou ____ por semana ou ____ dia ou sempre

Classifique a severidade do sintoma: ____ (0-não tem 1- leve 2- moderado 3- severo)

Usa omeprazol ? ____ (1-sim 2-não)

Vezes: ___ por mês ou ___ por semana ou sempre

Usa rantidina, cimetidina, famotidina? ___ (1-sim 2-não)

Vezes: ___ por mês ou ___ por semana ou sempre

Usa cisaprida (prepulsid) ou metoclopramida (plasil)? ___ (1-sim 2-não)

Vezes: ___ por mês ou ___ por semana ou sempre

Desde quando começou a ter Raynaud? Há ___ anos.

Desde quando notou que a pele começou a ficar endurecida e lisa? Há ___ anos.

Quando foi diagnosticada a ES? Há ___ anos.

Responder a essas perguntas no dia da capilaroscopia (data ___ / ___ / ___):

CASO: ___

Temperatura na Zona 16: ___ °C

Temperatura do dia pela manhã: ___ °C

Horário em que entrou na Z16: ___

Horário da capilaroscopia: ___ (deve ser pelo menos 20 min após entrada na Z16)

Horário da coleta: ___ (logo após a capilo e em repouso). Raynaud durante a coleta? ___

PA1: ___ / ___ FC1: ___ PA2: ___ / ___ FC2: ___ (após as coletas)

Quantas vezes teve episódios de Raynaud (crises em que as mãos ficam pálidas -seguido ou não por cianose e/ou eritema- ou cianóticas) nos últimos 2 dias?

Anteontem: ___ minutos: ___ RCS: ___

Ontem: ___ minutos: ___ RCS: ___

Hoje: ___ minutos: ___ RCS: ___

Raynaud durante a capilo: ___

ESCALA : (nenhum Raynaud) **0—1—2—3—4—5—6—7—8—9—10** (o pior Raynaud que teve)

Fumou ontem? ___ (1-sim 2-não) Quantos cigarros? ___

Usou medicação vasoativa nos últimos 7 dias: ___ (1-sim 2-não)

Quais? _____

Usou medicação vasoativa nas últimas 24 horas:

____ Quais? _____

Usou AINE nos últimos 7 dias: ____ Qual? _____

Usou AINE nas últimas 24 horas: ____ Qual? _____

EXAME FÍSICO:

Critérios:

Maior (esclerodermia simétrica proximal às MCFs ou MTFs): ____ (1-sim 2-não)

Menores:

esclerodactilia: ____ (1-sim 2-não)

pitting scars: ____

perda de substância distal: ____

fibrose em bases pulmonares ao Rx: ____

espessamento da pele proximal aos joelhos e cotovelos: ____ (1-sim 2-não)

calcinoses: ____ (1- sim 2- não)

teleangiectasias: ____ (1-sim 2-não)

Apresenta amputação de extremidades MsSs: ____ Quantos dedos: ____

Apresenta amputação de extremidades MsIs: ____ Quantos dedos: ____

CASO: ____

Apresenta úlceras ativas em MsSs: ____ Quantas: ____

Maior diâmetro das úlceras em MsSs em mm: ____ _ ____ _ ____ _ ____ _ ____ _

Apresenta úlceras ativas em MsIs: ____ Quantas: ____

Maior diâmetro das úlceras em MsIs em mm: ____ _ ____ _ ____ _ ____ _ ____ _

Crepitantes pulmonares: ____ (1-sim 2-não) escala (0- não 1- discreto 2- moderado 3- severo)

Área de crepitantes: (marcas: 5 cm abaixo das bordas inf. escapulares, metade das escápulas)

direita: 1/3inf ____ 1/3 médio ____ 1/3 sup ____

esquada: : 1/3inf ____ 1/3 médio ____ 1/3 sup ____

pulso radial D: ____ (número de cruces em 4) pulso radial esquerdo: ____

pulso femoral D: ____ femoral E: ____ pedioso D: ____ pedioso E: ____

ESCORE CUTÂNEO

Rodnan modificado por Clements: 0= normal 1- espessamento leve 2- moderado 3-severo

	DIREITA	ESQUERDA
quirodáticos	0 1 2 3	0 1 2 3
mãos	0 1 2 3	0 1 2 3
antebraços	0 1 2 3	0 1 2 3
braços	0 1 2 3	0 1 2 3
face		0 1 2 3
tórax anterior		0 1 2 3
ABD		0 1 2 3
coxas	0 1 2 3	0 1 2 3
pernas	0 1 2 3	0 1 2 3
dorso dos pés	0 1 2 3	0 1 2 3

abertura oral máxima: _____ mm (maior de 3 tentativas)

extensão ativa mão direita: _____ mm extensão ativa mão esquerda: _____ mm (maior de 3 tentativas)

fechamento ativo da mão (**menor de 3 tentativas**) direita: _____ mm esquerda: _____ mm

PESO: _____ Kg ALTURA: _____ cm.

CASO: _____

PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR (data ___/___/___)

EXAMINADOR: _____

Capacidade pulmonar total: _____ ml (_____% do previsto)

Volume residual: _____ ml (_____% do previsto)

capacidade vital: : _____ ml (_____% do previsto)

capacidade vital forçada: : _____ ml (_____% do previsto)

VEF1: : _____ ml (_____% do previsto)

difusão de CO: _____% do previsto

coeficiente de transferência: _____% do previsto

CINTILOGRAFIA DE TRÂNSITO ESOFÁGICO (data ___/___/___)

EXAMINADOR: _____

líquido em pé: _____ % de estase em 60 seg, trânsito (80%) _____ seg; trânsito (90%) _____ ; área : _____
 semi-sólido em pé: _____ % de estase em 60 seg; trânsito (80%) _____ seg; ; trânsito (90%) _____ ;
 área: _____

líquido deitado: _____ % de estase em 60 seg; trânsito (80%) _____ seg; ; trânsito (90%) _____ ; área: _____
 semi-sólido deitado: _____ % de estase em 60 seg; trânsito (80%) _____ seg, ; trânsito (90%) _____ ;
 área: _____

OBS: área corresponde à area em que houva retenção.

EXAMES DE LABORATÓRIO:

Última creatinina sérica _____ mg/dl (data ___/___/___)

Última glicemia de jejum _____ mg/dl (data ___/___/___)

Última TGO _____ U/ml (data ___/___/___)

Última TGP _____ U/ml (data ___/___/___)

Última hemoglobina sérica _____ g/dl (data ___/___/___)

QUE (___/___/___)

:

Último FAN em fígado de rato: 1/_____ data (___/___/___) padrão: _____, _____

Último FAN positivo em fígado de rato: 1/_____ data (___/___/___) padrão:

_____, _____

Anti-DNA positivo : ___ (1-sim 2-não) ; título: 1/___ ; data (___/___/___)

U1-RNP: _____ Anti-SM: _____ Anti SS-A: _____ Anti SS-B: _____ Scl70: _____ (data
 ___/___/___)

FAN em HEP-2 (título): 1/_____ padrão _____, _____

Centrômero: ___ (1-sim 2-não) U1RNP: _____ Scl70: _____

DOSAGEM DE ET-1:

ANEXO 2 Protocolo de Capilaroscopia Periungueal**I. IDENTIFICAÇÃO****NOME:****DATA DE NASCIMENTO:****SEXO:****ESTADO CIVIL:****ENDEREÇO:****Prontuário:****IDADE:****COR:****PROFISSÃO:****TELEFONE(S):****MÉDICO(A) SOLICITANTE:****DATA DO EXAME:****II. MACROSCOPIA PERIUNGUEAL****COR PERIUNGUEAL:** ()Rósea ()Pálida ()Cianótica ()Eritematosa**TRAUMATISMO:** () Sim () Não**VISIBILIDADE GERAL ADEQUADA:** () Sim () Não**FENÔMENO DE RAYNAUD NO MOMENTO DO EXAME:** () Sim () Não**III. MICROSCOPIA PERIUNGUEAL: (MAGNIF. 10 A 65X)**

	MÃO D				MÃO E			
	V	IV	III	II	II	III	IV	V
NÚMERO DE CAPILARES/mm:	___	___	___	___	___	___	___	___
GRAU DE DELEÇÃO:	___	___	___	___	___	___	___	___
PRESENÇA DE HEMORRAGIAS:	___	___	___	___	___	___	___	___
ÍNDICE DE VISIBILIDADE DO PLEXO VENOSO SUBPAPILAR (IVPV):	___	___	___	___	___	___	___	___
ENOVELAMENTOS:	___	___	___	___	___	___	___	___
ARBUSTOS:	___	___	___	___	___	___	___	___
ECTASIAS:	___	___	___	___	___	___	___	___
MEGACAPILARES:	___	___	___	___	___	___	___	___
BIZARROS :	___	___	___	___	___	___	___	___

PADRÃO DE FLUXO SANGÜÍNEO CAPILAR

() Homogêneo () Granular () Granular com estase () Estase

MORFOLOGIA CAPILAR NORMAL PREDOMINANTE

() abertos () tortuosos () cruzados () indefinida () cuticulite

HALO DISTAL () Presente () Ausente**OBSERVAÇÕES:****RECOMENDAÇÕES AOS PACIENTES INCLUÍDOS NO PROTOCOLO DE PESQUISA:**

- **SUSPENDER FUMO, ÁLCOOL E CAFÉ NO DIA ANTERIOR A CAPILAROSCOPIA E COLETA DE SANGUE;**
- **SUSPENDER A INGESTÃO DE LÍQUIDOS MUITO QUENTES OU GELADOS NO DIA ANTERIOR A CAPILAROSCOPIA E COLETA;**
- **JEJUM A PARTIR DAS _____ HORAS DA NOITE QUE ANTECEDE A CAPILAROSCOPIA E COLETA;**
- **COMPARECER À ZONA 16 DO HCPA ÀS _____ DA MANHÃ DO DIA PLANEJADO (____/____/____);**
- **TRAZER PELO MENOS UM AGASALHO DE MANGA COMPRIDA;**
- **MEDICAÇÕES SUSPENSAS NOS 7 DIAS ANTES DA COLETA:**
_____, _____, _____, _____;
- **NÃO RETIRAR AS CUTÍCULAS E NÃO PINTAR AS UNHAS;**
- **EVITAR ATIVIDADES QUE POSSAM MACHUCAR OS DEDOS;**
- **TELEFONAR EM CASO DE DÚVIDA;**

Markus Bredemeier (Fones 99858618, 3112794, 3168246, 3168340)

ANEXO 3 Protocolo de Ecocardio

Nome do paciente: _____ CASO: _____
 Examinador: _____ Prontuário: _____ data da ECO: ____/____/____

Diâmetro da Aorta: _____ cm
 Diametro do Atrio Esquerdo: _____ cm
 VE - Diâmetro Diastólico Final: _____ cm
 VE - Diâmetro Sistólico Final: _____ cm
 Volume VE Diastólico Final: _____ ml
 Volume VE Sistólico Final: _____ ml
 Fração de Ejeção: _____ %
 Encurtamento Fracional Sistólico: _____ %
 Espessura Diastólica do Septo: _____ cm
 Espessura diastólica da Parede posterior: _____ cm
 Massa de Ventrículo Esquerdo: _____ cm
 Diâmetro do Ventrículo Direito: _____ cm
 Distância do E - Septo _____ cm

ACHADOS

Mitral: _____
 Aórtica: _____
 Tricúspide: _____
 Pulmonar: _____
 AE: _____ AD: _____

Septo Interatrial: _____
 Septo Interventricular: _____
 VE: _____
 VD: _____
 Aorta: _____
 Arteria Pulmonar: _____
 Veias Cavas: _____

Obs: _____

PSAP: _____

ANEXO 4 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Pacientes

Estamos convidando o Sr. (a) para participar de um estudo clínico sobre esclerose sistêmica. Nesse estudo, os pacientes deverão passar por :

- **coleta de sangue** (aprox. 20 ml);
- **entrevista e exame físico**;
- **capilaroscopia periungueal**, que é feita com uma lupa (aparelho parecido com um microscópio) que examina a pele de perto das unhas. É um exame que **não** causa dor e **não** leva qualquer risco para o paciente;
- **tomografia computadorizada (TC) de alta resolução do pulmão** , que **não** utiliza contraste endovenoso (e que **não** tem risco de causar reações na hora do exame) e utiliza menos da metade da radiação de uma TC normal de tórax. É um exame que faz parte da avaliação de pacientes com fibrose pulmonar causada pela esclerose sistêmica;
- **cintilografia de trânsito esofágico**, exame no qual o paciente deve engolir mais ou menos 10 ml de comida pastosa (que libera quantidades muito pequenas de radiação) e avalia o funcionamento do esôfago. O esôfago é um órgão que funciona como um tubo que transporta a comida da boca para o estômago. Esse exame faz parte da avaliação dos pacientes com esclerose sistêmica;
- **espirometria ,teste de difusão pulmonar e volumes pulmonares**, que são exames da capacidade de funcionamento do pulmão e que **não** causam qualquer dor. Todos os pacientes com esclerose sistêmica devem fazer esses exames pelo menos uma vez em cada ano.
- **ecocardiografia** (ecografia do coração) e **eletrocardiograma**.

Todas as informações derivadas dos exames acima podem ter importância clínica na avaliação de sua doença, sendo que todos os dados significativos serão comunicados ao Sr.(a) e ao seu médico assistente.

CONSENTIMENTO PARA PESQUISA:

Eu, _____, autorizo a utilização dos dados coletados durante a investigação, estando ciente que serão utilizados com finalidade científica e clínica, respeitando os todos preceitos da ética.

Assinatura: _____

Data: ___/___/_____

Pesquisador responsável: Prof. Ricardo Machado Xavier - CRM 15491
Doutor em imunologia. Professor de Reumatologia e
do Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica da
UFRGS. Fone: (0xx51) 3313834

Markus Bredemeier (fones 99858618, 3112794, 3168340, 3168246)

ANEXO 5 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Controles

Estamos convidando o Sr. (a) para participar de um estudo clínico sobre esclerose sistêmica. O (a) Sr. (a) fará parte de um grupo de pessoas sem esclerose sistêmica para comparação com pacientes acometidos por essa doença. Nesse estudo, o (a) Sr. (a) deverá passar por :

- **coleta de sangue** (aprox. 16 ml);
- **entrevista** e medida da pressão arterial;
- **capilaroscopia periungueal**, que é feita com uma lupa (aparelho parecido com um microscópio) que examina a pele de perto das unhas. É um exame que **não** causa dor e **não** leva qualquer risco para o paciente;

CONSENTIMENTO PARA PESQUISA:

Eu, _____, autorizo a utilização dos dados coletados durante a investigação, estando ciente que serão utilizados com finalidade científica e clínica, respeitando os todos preceitos da ética.

Assinatura: _____

Data: ____ / ____ / ____

Pesquisador responsável: Prof. Ricardo Machado Xavier - CRM 15491
Doutor em imunologia. Professor de Reumatologia e
do Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica da
UFRGS. Fone: (0xx51) 3313834

Markus Bredemeier (fones 99858618, 33112794, 3168340, 3168246)

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)