

# Avaliação da capilaroscopia usando Endotelina-1 como um marcador de ativação endotelial na lesão microvascular e úlceras cutâneas

## *Evaluation of the capillaroscopy using endothelin-1 as a marker of endothelial activation in microvascular injury and cutaneous ulcerations*

THIAGO MICHAELIS<sup>1</sup>; MARIANNE ANDRETTA<sup>2</sup>; CAROLINA ALBERS<sup>2</sup>; THELMA LAROCCA SKARE<sup>3</sup>; CARMEN AUSTRALIA PAREDES MARCONDES RIBAS<sup>3</sup>; LUCIANA BUGMANN MOREIRA<sup>3</sup>

### R E S U M O

**Objetivo:** Avaliar a presença da ET-1 em pacientes portadores de esclerodermia e a sua correlação com o nível de atividade da doença; verificar se os níveis de endotelina estão associados com o perfil clínico e de autoanticorpos da esclerodermia e, ainda, se há associação com lesão microvascular detectada pela capilaroscopia periungueal. **Métodos:** Um total de 74 pacientes, sendo 37 portadores de esclerodermia e o restante controle, foram submetidos à dosagem de ET-1 por meio de teste de ELISA. Pacientes com esclerodermia foram analisados através de um questionário sobre características da doença e pesquisa de autoanticorpos. A gravidade da doença foi definida pelos critérios de Medsger e a doença microvascular foi acessada através de capilaroscopia periungueal. **Resultados:** Dos 37 pacientes com esclerodermia três (8,1%) eram homens e 34 (91,89%) mulheres, com idade média de 48,97 ± 13,36 anos e tempo médio de doença de 42,54 ± 13,35 anos. Os valores da ET-1 nos controles foram de 0,41 a 5,65 pg/ml (mediana de 2,26 pg/ml) e nos com esclerodermia de 0,41 a 8,82 pg/ml (mediana de 0,41 pg/ml) com p de 0,0007. Não houve correlação com o tempo de doença, idade do paciente e com o nível de acometimento cutâneo. Não encontrou-se correlação entre nível de ET-1 sérica e gravidade da doença (p=0,13). Níveis maiores de ET-1 foram observados na forma de superposição (1,49 a 6,82 pg/ml). **Conclusão:** Os níveis de ET-1 em esclerodérmicos mostraram-se inferiores aos controles. Não houve associação dos níveis de ET-1 com as variáveis estudadas.

**Descritores:** Esclerodermia difusa. Marcadores biológicos. Endotelina-1. Angioscopia microscópica. Úlcera cutânea.

### INTRODUÇÃO

As lesões vasculares são causa importante de morbimortalidade em esclerodermia (ES)<sup>1,2</sup>. Tais lesões implicam em fenômenos isquêmicos que alteram a função de órgãos como rins, coração, pulmões e do aparelho músculo-esquelético. Neste último caso, o fenômeno de Raynaud é considerado um dos achados mais marcantes, podendo levar a isquemia e amputação de dígitos, lesões ulceradas em membros que não só alteram o seu desempenho funcional como a qualidade de vida de seu portador por serem extremamente dolorosas e de difícil cicatrização<sup>2,3</sup>.

A etiopatogenia da esclerodermia ainda é discutida. A base da lesão vascular parece ser a disfunção endotelial e o espessamento fibrótico da camada íntima<sup>2</sup>. Esse processo é visto inicialmente nas pequenas e médias

artérias promovendo endurecimento e espessamento da parede dos vasos sanguíneos<sup>2</sup>. Com isso, os vasos sanguíneos perdem sua capacidade normal de relaxamento, tornando-se predispostos a episódios de vasoespasmos desencadeados, principalmente, por temperaturas frias e a outros estímulos como o estresse emocional. A hipóxia causada pela diminuição do fluxo sanguíneo leva à produção de algumas substâncias como radicais de oxigênio e citocinas que poderão causar dano tissular<sup>4</sup>. Prognóstico e evolução da doença são dependentes da extensão e da gravidade das lesões vasculares<sup>1</sup>.

Um endotélio lesado produz maior quantidade de fatores vasoconstritores, como a endotelina-1(ET-1) e menor quantidade de substâncias vasodilatadoras, como o óxido nítrico (NO) e a prostaciclina (PGI-2). Além disso, a lesão endotelial predispõe ativação plaquetária que, por sua vez, tem duas importantes consequências: 1) forma-

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba/ Instituto de Pesquisas Médicas, Curitiba, PR, Brasil.

1. Mestre do Programa de Pós Graduação em Princípios da Cirurgia do Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil; 2. Acadêmica de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil; 3. Professor permanente do Programa de Pós Graduação em Princípios da Cirurgia do Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR, Brasil.

ção de microagregados de plaquetas nos capilares e vênulas e 2) liberação de um potente vasoconstritor (Tromboxano A<sub>2</sub>). Em suma, os vasos estão propensos à vasoconstrição e ao vasoespasmoprovocando episódios repetidos de isquemia e reperfusão tecidual<sup>4</sup>.

Por outro lado, postula-se também que a injúria celular decorrente do dano vascular desencadearia resposta isquêmica, e conseqüentemente, resposta inflamatória. As citocinas pró-inflamatórias, os fatores de crescimento e a própria ET-1 gerados por este processo seriam os responsáveis finais pela atração e ativação dos fibroblastos<sup>5</sup>.

A ET-1 é um peptídeo natural com múltiplos efeitos sobre a vasculatura. Tem funções essenciais de desenvolvimento e regulação da fisiologia normal, incluindo a homeostase cardiovascular, equilíbrio hidroeletrólítico e desenvolvimento da função respiratória<sup>6</sup>. No entanto, a endotelina também é um mediador patogênico com vários efeitos deletérios, incluindo vasoconstrição, fibrose por proliferação desordenada de fibroblastos e colágeno, hipertrofia vascular e inflamação<sup>6</sup>. Há ampla gama de efeitos fisiológicos observados em laboratório mostrando as manifestações da endotelina nas doenças reumatológicas sistêmicas<sup>6</sup>.

Assim sendo entende-se que a ET-1 é um mediador dos possíveis efeitos deletérios verificados em pacientes com ES e que o grau desse envolvimento vascular prediz o prognóstico nesta doença.

Neste contexto realizou-se o presente estudo que tem por objetivos: comparar os níveis da ET-1 sérica em pacientes portadores de ES em relação à população normal e verificar a sua correlação com o nível de gravidade da doença; verificar se os níveis de ET-1 estão associados com o perfil clínico e de auto anticorpos da ES; verificar se os níveis de ET-1 estão associados com lesão microvascular detectada pela capilaroscopia periungueal.

## MÉTODOS

O presente estudo é transversal, observacional, caso-controle e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente (SEB – FEPAR). Todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. Incluíram-se 74 pacientes sendo que 37 apresentavam diagnóstico de ES e 37 pacientes pertenciam ao grupo controle. A escolha dos pacientes com ES foi feita por ordem de chegada para consulta no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba e pela disposição em participar do estudo. Para inclusão dos pacientes com esclerodermia, eles deviam preencher os Critérios Classificatórios Preliminares do Colégio Americano de Reumatologia<sup>7</sup> para diagnóstico dessa doença, assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e possuir idade igual ou superior a 18 anos. Foram excluídas pacientes grávidas, abaixo de 18 anos ou com incapacidade cognitiva para entender e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. A amostra de controles

foi obtida do ambulatório de Cirurgia Vascular do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, PR, Brasil e foi composta por pacientes que procuraram o serviço para tratamento de varizes e que não tinham doença inflamatória reumática conhecida.

Pacientes com ES e controles foram protocolados em ficha individual contendo nome, sexo, idade e fatores de risco para aterosclerose (diabete melito, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, obesidade, história familiar de doença cardiovascular, dislipidemia) e provas de atividade inflamatória (VHS e proteína C reativa).

Nos pacientes com ES foram coletados dados demográficos, do tipo de esclerodermia, dados acerca de envolvimento cutâneo-visceral, de presença de auto-anticorpos: fator antinuclear ou FAN, anticardiolipinas (aCLs) IgG e IgM, LAC (anticoagulante lúpico), anti Ro, anti La, anti RNP (ribonucleoproteína), anti Scl 70 (ou anti-topoisomerase) e anticentrômero. A medida da gravidade da doença foi feita pelo índice de Medsger<sup>8</sup>.

O índice de gravidade de Medsger<sup>8</sup> é uma escala que vai de zero até 36 e é pontuada conforme comprometimento de pele e aparelho locomotor, sintomas gerais como fraqueza e emagrecimento, envolvimento gastrointestinal, presença de Raynaud, envolvimento cardíaco e pulmonar e envolvimento renal, sendo zero a ausência de envolvimento e 36 a gravidade máxima.

Pacientes e controles foram submetidos à punção venosa para obtenção de 5 ml de sangue venoso o qual foi centrifugado para a separação do soro e alíquotado sendo conservado a -16°C até a confecção dos testes. A dosagem de ET-1 foi executada com kit Human Endothelin-1 (EIA-3111 – DRG Internation Inc., USA), de acordo com as instruções do fabricante.

Capilaroscopia periungueal foi realizada por um único observador utilizando-se um estereomicroscópio com fonte de baixa irradiação térmica, incidindo a 45° sobre a superfície da pele e aumento de 10 vezes<sup>9</sup>. Após imersão da área a ser estudada em óleo secante de esmalte, analisou-se o leito periungueal do 2º ao 5º dígito de ambas as mãos, procedendo-se à contagem do número de alças/mm e observando-se presença de deleções e de alterações na morfologia capilar. Foi considerada como área de deleção focal ou avascular, a ausência de pelo menos dois capilares sucessivos<sup>9</sup>. Para fins estatísticos, o valor utilizado na contagem de alças de cada paciente foi o da média de todas as unhas analisadas.

Os dados obtidos foram tabulados em tabelas de frequência e de contingência. Utilizou-se como medida de tendência central a média e desvio-padrão para as variáveis paramétricas e a mediana para as não paramétricas. Para estudos de associações de dados nominais foram usados os testes de Fisher e de qui-quadrado, para dados numéricos os teste t não pareado e Mann-Whitney de acordo com distribuição paramétrica ou não da amostra. Para estudos de correlação foram usados os testes de Spearman. Os cálculos foram feitos com auxílio do software Graph

Pad Prism versão 4.0 adotando-se 5% como nível de significância.

## RESULTADOS

### Características da amostra

A prevalência de achados clínicos pode ser vista na tabela 1 que evidencia os achados mais comuns: fenômeno de Raynaud, cicatrizes estelares, doença intersticial pulmonar e telangiectasias.

Dos 37 pacientes com esclerodermia três (8,1%) eram homens e 34 (91,89%) mulheres. A idade foi de 18 a 79 anos (média de 48,97+/-13,36) e o tempo de duração de doença de 10 a 69 anos (média de 42,54+/-13,35). Existia tabagismo em 11/37 ou 29,72%. A forma de maior prevalência foi a limitada que totalizou 54,05%, seguida pela forma difusa com 35,13% e pela forma de overlap com 10,8%.

O índice de gravidade de Medsger variou de 2 a 13; média de 6,472 / 2,893. A análise do perfil de autoanticorpos mostrou que o FAN estava presente em 75,6% dos pacientes: 13,5% (5/34) tinham o antitopoisomerase ou anti Scl-70; 34,3% (11/32) tinham o anticentrômero; 9,1% (3/33) tinham antirribonucleoproteína (ou anti RNP); 8,3% (3/36) tinham anticardiolipina IgG positivo; 11,7 % (4/34) tinham o anticardiolipina Ig M e 5,5% (1/18) tinham o anticoagulante lúpico.

Na tabela 2 encontram-se os dados dos achados de capilaroscopia periungueal na amostra estudada.

### Dados do pareamento da amostra de ES com controles

Estudando-se o pareamento da amostra para fatores de risco de aterosclerose encontraram-se os dados da tabela 3. Só o HDL demonstrou diferença, o que seria esperado em uma população com doença inflamatória.

### Comparação da endotelina sérica (ET-1) entre controle versus ES

Os valores da endotelina sérica nos controles foram de 0,41 a 5,65 pg/ml (mediana de 2,26 pg/ml) e nos pacientes com esclerodermia de 0,41 a 8,82 pg/ml (mediana de 0,41 pg/ml) com p de 0,0007.

### Valores de endotelina na população de ES de acordo com variáveis demográficas, clínicas e sorológicas

Variabilidade dos níveis de endotelina sérica em pacientes com esclerodermia de acordo mostrou que homens tinham um valor mediano de 0,88 (de 0,41 a 2,73) e mulheres de 0,41 a 6,82 com p=0,61. Endotelina sérica em 37 pacientes com ES de acordo com a forma foram (valores limítrofes em pg/ml/ mediana em pg/ml): 1) forma limitada - 0,41 a 2,73 e 0,4250; 2) forma difusa - 0,41 a 4,23 e 0,4100; 3) forma de superposição - 1,49 a 6,82 e 2,315 (p = 0,0424 Kruskal Wallis)

**Tabela 1 -** Prevalência de achados clínicos na população estudada (37 pacientes com esclerodermia).

Achado clínico	N	%
Calcinose	4 / 37	10,81%
Microstomia	12 / 37	32,43%
Envolvimento cutâneo medido pelo Rodman m	4 a 46	média de 22,75 11,63
Fenômeno de Raynaud	34 / 37	91,89%
Cicatrizes estelares	23 / 37	62,16%
Úlceras cutâneas	12 / 37	32,43%
Necrose digital	10 / 37	27,02%
Necrose de pele em outros locais	2 / 37	5,40%
Telangiectasias	18 / 37	48,64%
Tromboembolismo	3 / 37	8,10%
Miosite	14 / 37	37,83%
Artrite	16 / 37	43,24%
Envolvimento esofágico	16 / 37	43,24%
Miocardite	0	
Pericardite	0	
Pneumopatia intersticial	19 / 37	51,35%
Hipertensão pulmonar	9 / 37	24,32%
Neuropatia periférica	1 / 37	2,70%
Crise renal	1 / 37	2,70%
Emagrecimento (*)	11 / 37	29,72%

(\*) emagrecimento - considerado como perda ponderal involuntária igual ou maior do que 3kg em dois meses.

**Tabela 2** – Achados da capilaroscopia periungueal em 37 pacientes com esclerodermia (dados disponíveis em 30 pacientes).

Achados capilaroscópicos	Limiares	Valores médios
Densidade de capilares em número de alças capilares/mm	3,3 a 7	5,08 / 1,094
Deleção/dígito	0 a 3	1,50 / 0,97
Capilares dilatados/dígito	0 a 10	2,06 / 2,58

**Tabela 3** - Pareamento da amostra de esclerodermia com controles.

	Pacientes com esclerodermia N=37	Controles N=37	P
Sexo	3 homens / 34 mulheres	3 homens / 34 mulheres	1,00
Idade média (em anos)	48,97 / 3,36	49,57 / 11,29	0,83
DM	1 / 33	3 / 37	0,61
Obesidade	3 / 36	9 / 37	0,11
Tabagismo	11 / 37	10 / 37	0,58
Presença de HAS	7 / 32	11 / 37	0,58
Colesterol ( mg/dl)	169,1 / 47,66	182,2 / 36,83	0,22
Triglicerideo (mg/dl)	114,8 / 62,52	108,6 / 55,14	0,68
HDL colesterol ( mg/dl)	45,89 / 12,18	57,09 / 9,850	0,0002
Glicemia (mg/dl)	90,53 / 15,22	91,86 / 16,62	0,77

HAS= hipertensão arterial sistêmica

DM= diabete melito

A análise de acordo com o subtipo de esclerodermia mostrou que pacientes com forma de superposição têm níveis mais altos.

Estudando-se a correlação dos níveis de endotelina sérica com idade observou-se que essa variável não influenciou nos níveis da endotelina ( $p=0,23$ ; R de Spearman de  $-0,19$ ; 95% IC de  $-0,49$  a  $0,14$ ). O mesmo aconteceu com o tempo de duração de doença ( $p=0,67$ , R de Spearman de  $-0,072$ ; 95% IC de  $-0,39$  a  $0,26$ ).

A análise da variabilidade dos níveis de endotelina sérica de acordo com as principais manifestações clínicas estudadas pode ser vista na tabela 4.

A análise da correlação entre nível de endotelina sérica e gravidade da doença medida pelo índice de Medsger mostrou  $p=0,13$ , R de Spearman de  $0,25$ , 95% IC de  $-0,091$  a  $0,54$ . A análise de correlação entre valores de capilaroscopia periungueal e níveis séricos de endotelina pode ser avaliada na tabela 5.

A análise dos achados de endotelina sérica de acordo com a presença de auto-anticorpos encontra-se na tabela 6.

## DISCUSSÃO

Existem diversas evidências de que a ET-1 modula o tônus arterial periférico em seres humanos e de que o efeito vasoconstritor dela pode ser bloqueado por antagonistas dos receptores (ETA)<sup>10,11</sup>. Entretanto, apesar da ET-1 ser o mais potente dos vasoconstritores endógenos, seu

papel na esclerodermia - uma doença em que a lesão vascular é o achado etiopatogênico chave para a grande maioria das manifestações clínicas - continua sendo investigado.

O conceito de que a ET-1 pode apresentar níveis elevados em pacientes com esclerodermia tem sido aventada em vários estudos, principalmente naqueles associados à hipertensão pulmonar<sup>12</sup>. Nesse contexto, diversos antagonistas dos receptores da endotelina vêm sendo desenvolvidos e têm mostrado resultados promissores para seu tratamento<sup>13</sup>. No entanto, os resultados obtidos em ensaios clínicos são de difícil interpretação devido à grande variabilidade de tipos e de densidade de receptores para ET-1 conforme o tecido estudado. Além disso, a endotelina é um agente com atividade autócrina e parácrina, atuações essas de difícil mensuração *in vivo*<sup>14</sup>.

No presente estudo, não foi possível verificar aumento de ET-1 na amostra composta por 37 pacientes portadores de esclerodermia. Os pacientes tinham média de duração da doença de 42 anos, eram predominantemente do sexo feminino (92% da amostra) sendo a forma mais prevalente a limitada - que comprometeu cerca de 54% do total dos pacientes. O padrão demográfico da amostra estudada reflete padrão típico daquele encontrado na doença de acordo com a literatura<sup>15,16</sup>. No grupo de pacientes assim composto, foram as formas de superposição que mostraram maiores índices de ET-1. Nessa amostra não foi possível encontrar associação entre níveis aumentados de ET-1 e grau de envolvimento cutâneo, presença de fenômeno de Raynaud ou hipertensão pulmonar. O fe-

**Tabela 4** - Comparação dos níveis medianos de endotelina sérica (em pg/ml) de acordo com achados clínicos (n=37).

Variável clínica	Valor da endotelina (com)	Valor da endotelina(sem)	P(Mann-Whitney)
Calcinose	0,41 (0,41 a 2,47)	0,44 (0,41 a 6,820)	0,50
Microstomia	1,69 (0,41 a 6,82)	0,41 (0,41 a 2,47)	0,01
Fenômeno de Raynaud	0,63 (0,41 a 6,82)	0,41 (0,41 a 0,41)	0,053
Cicatrizes estelares	0,41 (0,41 a 2,730)	0,64 (0,41 a 6,82)	0,77
Úlceras cutâneas	0,41 (0,41 a 4,23)	0,44 (0,41 a 6,82)	0,69
Necrose digital	0,41 (0,41 a 4,23)	0,83 (0,41 a 6,82)	0,74
Telangiectasias	0,62 (0,41 a 2,79)	0,41 (0,41 a 5,82)	0,74
Miosite	0,41 (0,41 a 6,82)	0,41 (0,41 a 2,79)	0,17
Artrite	1,98 (0,41 a 6,82)	0,41 (0,41 a 1,48)	0,14
Envolvimento esofágico	0,64 (0,41 a 6,82)	0,41 (0,41 a 2,79)	0,70
Pneumonite intersticial	0,41 (0,41 a 4,23)	0,62 (0,41 a 2,31)	0,70
Hipertensão pulmonar	0,98 (0,41 a 2,73)	0,41 (0,41 a 5,82)	0,57
Emagrecimento	0,41 (0,41 a 2,63)	0,88 (0,41 a 6,82)	0,34

**Tabela 5** - Estudos de correlação de capilaroscopia periungueal com níveis séricos de endotelina (em pg/ml) em 30 pacientes com esclerodermia.

	R de Spearman	95% I C	P
Densidade capilar (Número de alças capilares/mm)	-0,14	-0,49 to 0,24	0,46
Grau de deleção (número de deleção/dígito)	0,049	-0,30 to 0,39	0,78
Dilatação capilar (Número de capilares dilatados/dígito)	0,20	-0,18 to 0,53	0,28

fenômeno de Raynaud acometeu grande parte dos indivíduos estudados (92%) sendo poucos os sem esse achado; isso pode ter prejudicado a análise comparativa. Por outro lado, o inverso aconteceu com hipertensão pulmonar, manifestação presente em apenas nove dos 34 indivíduos da amostra. No caso do fenômeno de Raynaud observou-se tendência para que a ET-1 estivesse aumentada naqueles com esta manifestação clínica.

Estes resultados são semelhantes aos do estudo realizado por Smyth *et al.*<sup>11</sup>, que avaliou amostra de 18 pacientes com fenômeno de Raynaud primário e 14 associados à esclerodermia. Esses autores, através da pletismografia, identificaram o vasoespasmó induzido por resfriamento e, nesse momento, foram medidos os níveis séricos de ET-1 em comparação aos pacientes não expos-

tos ao vasoespasmó. Nesse estudo não ocorreram alterações significativas nos níveis de ET-1 dos casos quando comparados ao controle.

Estes resultados e os de Smyth *et al.*<sup>11</sup> se opõem aos de Biondi *et al.*<sup>2</sup>. Este último autor avaliou o nível sérico de ET em 14 pacientes sendo que sete deles apresentavam fenômeno de Raynaud primário e os outros sete secundários à esclerodermia sistêmica, encontrando níveis maiores nos indivíduos com Raynaud do que em controles.

Em outro estudo<sup>17</sup> onde também foi analisado o nível plasmático de ET-1, 31 pacientes com ES obtiveram níveis maiores quando comparados com o controle. Nesse estudo, em contraste com o aqui apresentado, os pacientes com esclerose difusa que tinham níveis mais elevados foram os com a forma limitada. Também ficou evidente a

**Tabela 6** - Comparação dos níveis medianos de endotelina sérica (em pg/ml) de acordo com perfil de autoanticorpos (n=37)

Variável	Valor mediano da endotelina(com)	Valor mediano da endotelina(sem)	P Mann-Whitney
Fator anti nuclear (FAN)	0,62 (0,41 a 6,82)	0,410 (0,41 a 2,73)	0,87
Anti Scl70	0,41 (0,41 a 4,23)	0,44 (0,41 a 6,82)	0,43
Anti centrômero	0,83 (0,41 a 6,82)	0,41 (0,41 a 2,79)	0,31
Anti RNP	0,88 (0,41 a 0,88)	0,41 (0,41 a 6,82)	0,94
Pelo menos um anticorpo antifosfolípide presente	0,41 (0,41 a 6,82)	0,44 (0,41 a 4,23)	0,45

variação da ET-1 com manifestações pulmonares, tendo os níveis de ET-1 correlação inversa para com a capacidade de difusão de monóxido de carbono. Devido a esses dados, os autores aventaram a possibilidade de ET-1 ser preditor de gravidade da doença. No presente estudo não foi possível confirmar este achado, uma vez que não houve associação de dados de endotelina sérica com doença intersticial pulmonar.

Além disso, Hettema *et al.*<sup>10</sup> estudando 15 pacientes com ES limitada submetidos ao tratamento com bosentana por 16 semanas, observaram que o uso desse antagonista da ET-1 não demonstrou mudanças nem na resposta vasodilatadora, nem na mudança estrutural ou na função da microvasculatura após o tratamento.

A microvasculatura foi analisada no presente estudo através da capilaroscopia periungueal. Embora essa seja análise baseada apenas em dados morfológicos, ela reflete de maneira evolutiva os acontecimentos microvasculares na esclerodermia<sup>18</sup>. Neste estudo nem o grau de deleção nem o de ectasia capilar à capilaroscopia periungueal puderam ser associados a níveis de endotelina sérica, mostrando ausência de associação entre comprometimento microvascular morfológico em relação à dosagem de ET-1.

No presente estudo, foram encontrados valores de ET-1 menores nos pacientes com esclerodermia limitada quando comparado aos demais grupos, fato que poderia corroborar o menor efeito do bosentan nesses pacientes, já identificados por Hettema *et al.*<sup>10</sup> em seus 15 pacientes com a forma limitada da doença.

A atuação da ET-1 depende não apenas do seu nível sérico como, também, do tipo e grau de higidez do tecido, uma vez que isso pode determinar variação tanto no número de receptores, como na mudança de sua sensibilidade<sup>19</sup>. Por exemplo, no tecido normal, o efeito do receptor de endotelina do tipo ET-B é vasodilatador, mas em condições patológicas, predomina a vasoconstrição. Esta inversão de efeito pode resultar de aumento nos níveis de endotelina, bem como da localização e regulação dos receptores ET-B em nível endotelial, concomitante ao aumento da regulação dos receptores ET-B em algumas células do músculo liso vascular<sup>7</sup>. Além disso, uma mudança nas proporções de receptor aparece em condições patológicas como isquemia miocárdica com reperfusão, onde se observa que há bloqueio pela ET-B e vasoconstrição em normotensos; em hipertensos causa vasodilatação<sup>20</sup>. Este fato também foi visto na esclerodermia, em tecido pulmonar fibrótico, onde os níveis dos receptores ET-A foram sig-

nificativamente reduzidos, enquanto os níveis de receptor ET-B foram ligeiramente elevados, em comparação com o tecido saudável<sup>7</sup>.

Existem dados intrigantes acerca da complexa atuação da ET-1 na patogênese da ES. Se por um lado o antagonista da ET-1, o bosentan, ocasionou melhora significativa na prevenção e na formação de novas úlceras digitais, Korn *et al.*<sup>21</sup>, estudando 122 pacientes de 17 centros da Europa e América do Norte - demonstrou que ela não consegue melhorar o padrão de cicatrização das úlceras digitais já existentes. Não está claro por que uma droga que supostamente promove a vasodilatação periférica como um antagonista de ET-1 não poderia também promover a cicatrização da úlcera de uma forma mais eficaz. Os receptores de ET-1 também foram encontrados em queratinócitos, o que sugere que a ET-1 pode ser um modulador da função dessa célula e, portanto, o bloqueio do receptor poderia prejudicar a re-epitelização<sup>21</sup>. Assim sendo, não é só o nível sérico da ET que deve ser levado em consideração na etiopatogenia dos achados clínicos da esclerodermia, mas, também, os níveis e os tipos de receptores atuantes. Isso pode explicar a falta de associação encontrada entre níveis séricos de ET-1 e os principais achados clínicos de esclerodermia no presente estudo.

Este estudo tem um número pequeno de pacientes, o que é esperado em doenças relativamente raras como a esclerodermia. Tal fato pode ter conferido à presente amostra um poder muito pequeno no sentido de poder demonstrar determinadas associações. Pesquisas com maior número de pacientes (de preferência multicêntricos) são necessários no intuito de reforçar os presentes achados. Além disso, análises mais detalhadas, envolvendo a ligação deste mediador vascular com seus receptores também são interessantes no sentido de ajudar a esclarecer a fisiopatologia dos processos vasculares envolvidos na esclerodermia.

Concluindo, pode-se afirmar que este estudo evidenciou que os níveis plasmáticos de ET-1 são menores nos pacientes com ES quando comparado aos controles; não houve associação desses níveis com a gravidade de doença; não se verificou associação significativa de níveis de ET-1 com perfil clínico ou de anticorpos; não ocorreu correlação com o nível de endotelina com lesões da microvasculatura detectada pela capilaroscopia periungueal.

### Agradecimentos

Aos laboratórios Álvaro de Curitiba, PR, pelo auxílio na dosagem de endotelina 1 sérica.

## A B S T R A C T

**Objectives:** To evaluate the presence of ET-1 in patients with scleroderma and its correlation with the level of disease activity; to verify if the levels of endothelin are associated with the clinical profile and autoantibodies of scleroderma, and even if there is an association with microvascular injury detected by nailfold capillaroscopy. **Methods:** A total of 74 patients, 37 patients with scleroderma, the remaining being controls, were subjected to measurement of ET-1 by ELISA. Patients with scleroderma were evaluated through a questionnaire about characteristics of the disease and determination of autoantibodies. Disease severity was defined by the criteria of Medsger and microvascular disease was assessed through nailfold capillaroscopy. **Results:** Of the 37 patients with scleroderma, three (8.1%) were men and 34 (91.89%) women, with a mean age of  $48.97 \pm 13.36$  years and mean disease duration of  $42.54 \pm 13, 35$ . The amounts of ET-1 in the controls was 0.41 to 5.65 pg / ml (median of 2.26 pg / ml) and, in the scleroderma group, from 0.41 to 8.82 pg / ml (median, 0.41 pg / ml), with  $p = 0.0007$ . There was no correlation with disease duration, patient age and the degree of skin involvement. No correlation was found between serum levels of ET-1 and disease severity ( $p = 0.13$ ). Higher levels of ET-1 were observed in the form of overlap (1.49 to 6.82 pg / ml). **Conclusion:** The levels of ET-1 in scleroderma were inferior to controls. There was no association of ET-1 levels with the variables studied.

**Key words:** Scleroderma, diffuse. Biological markers. Endothelin-1. Microscopic angioscopy. Skin ulcer.

## REFERÊNCIAS

- Andersen GN, Caidahl K, Kazzam E, Petersson AS, Waldenström A, Mincheva-Nilsson L, et al. Correlation between increased nitric oxide production and markers of endothelial activation in systemic sclerosis: findings with the soluble adhesion molecules E-selectin, intercellular adhesion molecule 1, and vascular cell adhesion molecule 1. *Arthritis Rheum.* 2000;43(5):1085-93.
- Silva LSM, Lima ARAG, Pucinelli MLC, Atra E, Andrade LEC. Capilaroscopia panorâmica periungueal e sua aplicação em doenças reumáticas. *Rev Ass Med Bras.* 1997;43(1):69-73.
- Yamane K, Miyauchi T, Suzuki N, Yuhara T, Akama T, Suzuki H, et al. Significance of plasma endothelin-1 levels in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 1992;19(10):1566-71.
- LeRoy EC. Systemic sclerosis. A vascular perspective. *Rheum Dis Clin North Am.* 1996;22(4):675-94.
- Dedola M, Godoi E, Coppé G, Cambou JP, Cantet C, Mas JL, et al. Risk factors management in 5708 ambulatory patients suffering from peripheral vascular disease followed in urban practice. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2005;98(12):1179-86.
- Mayes MD. Endothelin and endothelin receptor antagonists in systemic rheumatic disease. *Arthritis Rheum.* 2003;48(5):1190-9.
- Mayes MD. Systemic sclerosis: clinical aspects. In: Klippel JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH, editors. *Primer on rheumatic diseases.* 13th ed. Atlanta: Springer; 2008. p.343-50.
- Medsger TA Jr, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA, et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J Rheumatol.* 1999;26(10):2159-67.
- Kayser C, Andrade LEC. Capilaroscopia periungueal: importância para a investigação do fenômeno de Raynaud e doenças do espectro da esclerose sistêmica. *Rev Bras Reumatol.* 2004;44(1):46-52.
- Hettema ME, Zhang D, Stienstra Y, Smit AJ, Bootsma H, Kallenberg CG. No effects of bosentan on microvasculature in patients with limited cutaneous systemic sclerosis. *Clin Rheumatol.* 2009;28(7):825-33.
- Smyth AE, Bell AL, Bruce IN, McGrann S, Allen JA. Digital vascular responses and serum endothelin-1 concentrations in primary and secondary Raynaud's phenomenon. *Ann Rheum Dis.* 2000;59(11):870-4.
- Oravec RM. NT-ProBNT e hipertensão arterial pulmonar em esclerose sistêmica [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina; 2007.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988;332(6163):411-5.
- Karkoulis K, Lykouras D, Sampsonas F, Drakatos P, Canova S, Tsoukalas G, et al. The role of Endothelin-1 in obstructive sleep apnea syndrome and pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and Endothelin-1 antagonists. *Curr Med Chem.* 2010;17(11):1059-66.
- Assassi S, Del Junco D, Sutter K, McNearney TA, Reveille JD, Karnavas A, et al. Clinical and genetic factors predictive of mortality in early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2009;61(10):1403-11.
- Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T. Scleroderma. *N Engl J Med.* 2009;360(19):1989-2003.
- Biondi ML, Marasini B, Bassani C, Agostoni A. Increased plasma endothelin levels in patients with Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med.* 1991;324(16):1139-40.
- Vane JR, Anggård EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med.* 1990;323(1):27-36.
- Saleh D, Furukawa K, Tsao MS, Maghazachi A, Corrin B, Yanagisawa M, et al. Elevated expression of endothelin-1 and endothelin-converting enzyme-1 in idiopathic pulmonary fibrosis: possible involvement of proinflammatory cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;16(2):187-93.
- Cowburn PJ, Cleland JG, McDonagh TA, McArthur JD, Dargie HJ, Morton JJ. Comparison of selective ET(A) and ET(B) receptor antagonists in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2005;7(1):37-42.
- Korn JH, Mayes M, Matucci Cerinic M, 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):3985-93.

Recebido em 15/07/2011

Aceito para publicação em 23/09/2011

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhum

### Como citar este artigo:

Michaelis T, Andretta M, Albers C, Skare TL, Ribas CAPM, Moreira LB. Avaliação da capilaroscopia usando endotelina-1 como um marcador de ativação endotelial na lesão microvascular e úlceras cutâneas. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2012; 39(2). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

### Endereço para correspondência:

Thiago Michaelis

E-mail: thimicha@hotmail.com