

MICROANGIOPATIA EM PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA: ESTUDO PROSPECTIVO EM PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE E ESTABELECIDADA

Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde aplicadas à Reumatologia

Cintia Zumstein Camargo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Aplicadas à Reumatologia da Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, para obtenção do título de Doutor.

São Paulo – 2018

MICROANGIOPATIA EM PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA: ESTUDO PROSPECTIVO EM PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE E ESTABELECIDADA

Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde aplicadas à Reumatologia

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Kayser

Chefe do Departamento de Medicina: Profa. Dra. Ana Luisa Godoy Fernandes

Coordenadora do Curso de Pós-Graduação: Profa. Dra. Cristiane Kayser

São Paulo – 2018

Camargo, Cintia Zumstein

Microangiopatia em pacientes com esclerose sistêmica: estudo prospectivo em pacientes com doença precoce e estabelecida / Cintia Zumstein Camargo – São Paulo, 2018, xvii, 60f.

Dissertação (doutorado) – Universidade Federal de São Paulo. Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde aplicadas à Reumatologia.

Orientadora: Cristiane Kayser

Título em inglês: Microangiopathy in patients with systemic sclerosis: prospective study in patients with early and definite disease

Descritores: 1. Fenômeno de Raynaud 2. Capilaroscopia 3. Laser Doppler imaging 4. Estudo prospectivo 5. Esclerose Sistêmica

MICROANGIOPATIA EM PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA: ESTUDO PROSPECTIVO EM PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE E ESTABELECIDADA

Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde aplicadas à Reumatologia

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Daniela Aparecida de Moraes

Dr. Percival Degrava Sampaio Barros

Dr. Markus Bredemeier

Prof^a. Dr^a. Virginia Fernandes Moça Trevisani

Suplentes: Dr. Alexandre Wagner Silva de Souza

Dr. Alex Magno Coelho Horimoto

São Paulo – 2018

Dedico esta tese

A meus pais **Jocelina e Carlos**

A meu marido **Leonardo**

A meus filhos **João e Luiza**

Agradecimentos

À minha orientadora, **Prof^a. Dr^a. Cristiane Kayser**, que ao longo desses anos despertou meu interesse pela pesquisa e foi minha grande estimuladora. Agradeço pela confiança, paciência e pelos ensinamentos da capilaroscopia.

À **minha família**, a quem devo tudo o que conquistei até hoje.

A meu marido **Leonardo**, que sempre me incentivou na escolha acadêmica e é meu companheiro para a vida inteira.

Às amigas **Bertha, Mariane e Miriam**, pela amizade fraterna.

Aos amigos de grupo **Cecilia, Sandra, Lucas, Cristina, Thais, Maria Izabel** e aos demais amigos da pós graduação, pelo apoio e companheirismo. Agradeço especialmente a Maria Izabel pelo auxílio com as reações por ELISA.

Aos **pacientes**, sem os quais teria sido impossível a realização deste estudo.

À **Gianni**, pelo apoio na análise estatística.

Aos funcionários da Casinha da Reumatologia, em especial à enfermeira **Rita**, pela ajuda nas coletas.

Aos funcionários do Departamento de Reumatologia, **Eni, Patrícia, Teresa, Dona Jô, Rogério, Silvia**, que sempre me ajudaram quando precisei.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo incentivo por meio da bolsa de doutorado.

ÍNDICE

Lista de Figuras.....	VIII
Lista de Tabelas.....	IX
Lista de Quadros.....	XI
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos.....	XII
Resumo.....	XIV
Abstract.....	XVI
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Esclerose sistêmica.....	2
1.2 Métodos para avaliação do fluxo sanguíneo em pacientes com fenômeno de Raynaud.....	8
1.2.1 . Capilaroscopia periungueal.....	8
1.2.2 Videocapilaroscopia.....	9
1.2.3 Laser Doppler imaging	11
1.3 JUSTIFICATIVA.....	14
2.OBJETIVOS.....	15
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	17
3.1 Desenho do estudo.....	18
3.2 Pacientes.....	18

3.3 Coleta de dados clínicos	19
3.4 Avaliação complementar	20
3.4.1 Capilaroscopia periungueal panorâmica	20
3.4.2 Videocapilaroscopia	21
3.4.3 Avaliação do fluxo sanguíneo da microcirculação pelo método do Laser Doppler imaging antes e após estímulo frio	22
3.4.4 Dosagem sérica de fator de von Willebrand e autoanticorpos	23
3.5 Análise estatística.....	24
4. RESULTADOS.....	25
4.1 Dados demográficos e clínicos	26
4.2 Análise prospectiva da microcirculação periférica	30
4.2.1 Capilaroscopia periungueal panorâmica e videocapilaroscopia	30
4.2.2 Laser Doppler imaging	34
4.2.3 Dosagem sérica de fator de von Willebrand	35
4.3 . Fatores de risco para desenvolvimento de doença estabelecida em pacientes com ES precoce.....	36
4.4 Fatores de risco para desenvolvimento de úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida	39
4.5 Fatores de risco para doença pulmonar intersticial em pacientes com ES estabelecida	42
4.6 Fatores de risco para progressão da doença em pacientes com ES estabelecida	43
5. DISCUSSÃO	46
6. CONCLUSÕES.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

8. ANEXOS.....	61
Anexo 1-Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	62
Anexo 2- Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	64
Anexo 3- Protocolo para realização da videocapilaroscopia	68
Anexo 4- Protocolo para realização do laser Doppler imaging	69

Lista de Figuras

Figura 1 - Capilaroscopia periungueal normal (A) e com microangiopatia padrão SD (capilares dilatados, microhemorragias e áreas de desvascularização) (B)	8
Figura 2 – Figura ilustrativa mostrando imagens seqüenciais do fluxo sangüíneo de polpa digital captadas pelo aparelho Moor LDI de um indivíduo antes e logo após um estímulo frio, em que se observa diminuição importante e posterior recuperação gradual do fluxo sanguíneo	12
Figura 3 – Seleção dos pacientes nos tempos 0 e 1.....	26

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Dados clínicos e demográficos dos pacientes com esclerose sistêmica (ES) precoce e ES estabelecida na avaliação inicial (T0)	27
Tabela 2 – Dados clínicos dos pacientes com esclerose sistêmica (ES) precoce e ES estabelecida, avaliados no T0 e no T1.....	29
Tabela 3 – Parâmetros analisados através da capilaroscopia periungueal panorâmica (CPU) e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida	31
Tabela 4 – Frequência de piora dos parâmetros da capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES precoce	32
Tabela 5 – Frequência de piora dos parâmetros da capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES estabelecida.....	33
Tabela 6 – Valores de fluxo de polpa digital (FPD) medidos através do <i>laser Doppler imaging</i> (LDI) durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida	34
Tabela 7 – Níveis séricos de fator de von Willebrand (fvW) durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida	35
Tabela 8 - Fatores de risco na avaliação inicial para desenvolvimento de doença estabelecida em pacientes com ES precoce – análises univariada e multivariada.....	37

Tabela 9 – Parâmetros avaliados pela capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica, videocapilaroscopia e <i>laser Doppler imaging</i> e desenvolvimento de doença estabelecida em pacientes com ES precoce – análise univariada	38
Tabela 10 - Fatores de risco na avaliação inicial para desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada.....	40
Tabela 11 - Parâmetros avaliados pela capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica, videocapilaroscopia e <i>laser Doppler imaging</i> e desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada.....	41
Tabela 12 - Fatores de risco na avaliação inicial para progressão geral da doença em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada.....	44
Tabela 13 - Parâmetros avaliados pela capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica, videocapilaroscopia e <i>laser Doppler imaging</i> e progressão geral da doença em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada.....	45

Lista de Quadros

Quadro 1 - Critérios de 2013 do ACR/EULAR para classificação de ES ..	6
Quadro 2 - Escala de desvascularização adaptada de Lee e colaboradores	9
Quadro 3 - Escore semiquantitativo para a quantificação dos parâmetros avaliados na videocapilaroscopia	10
Quadro 4 - Protocolo para realização da capilaroscopia periungueal panorâmica	21

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

µl	Microlitro
µm	Micrômetro
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
anti-PM-Scl	Anticorpo anti-polimiosite-escleroderma
anti-RNA polimerase III	Anti-ribonuclease polimerase III
anti-Scl-70	Anticorpo anti-topoisomerase I
autoAc	Autoanticorpos
CATE	Cateterismo cardíaco
cm	Centímetro
CPU	Capilaroscopia periungueal panorâmica
CVF	Capacidade vital forçada
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DO	Densidade óptica
DOM	Densidade óptica média
DP	Desvio padrão
DPI	Doença pulmonar intersticial
DRAIs	Doenças reumatológicas autoimunes
EED	Esôfago-estômago-duodenografia
EF	Estímulo frio
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ES	Esclerose sistêmica
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
EUSTAR	<i>EULAR Scleroderma Trial and Research</i>
FAN	Fator antinúcleo
FPD	Fluxo sanguíneo de polpa digital
FRy	Fenômeno de Raynaud
fvW	Fator de von Willebrand
HAP	Hipertensão arterial pulmonar
Hep-2	Linhagem de células tumorais derivadas de carcinoma laríngeo humano
IC	Intervalo de confiança
ID	Imunodifusão dupla
IFI	Imunofluorescência indireta
IgG	Imunoglobulina G

IL-13	Interleucina-13
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
LDI	<i>Laser Doppler imaging</i>
MCFs	Metacarpofalangeanas
mL	Mililitro
Mm	Milímetro
mmHg	Milímetro de mercúrio
Nm	Nanômetro
OR	<i>Odds ratio</i>
PAP	Pressão de artéria pulmonar
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PFP	Prova de função pulmonar
RNA	Ribonucleic acid
SD	<i>Scleroderma pattern</i>
TA	Temperatura ambiente
TCAR	Tomografia computadorizada de alta resolução
TGF- β 1	<i>Transforming growth factor beta 1</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
UP	Unidades arbitrárias de perfusão
Vs	<i>Versus</i>

RESUMO

Introdução: A Esclerose Sistêmica (ES) é uma doença autoimune crônica caracterizada por microangiopatia e fibrose da pele e órgãos internos, cujo diagnóstico em fases precoces permanece um desafio. Em 2001 LeRoy e Medsger propuseram critérios para ES precoce que incluem presença de fenômeno de Raynaud (FRy), capilaroscopia alterada e autoanticorpos específicos. Recentemente, foram propostos pelo ACR/EULAR novos critérios para a classificação da ES, que incluem manifestações presentes nos estágios precoce e tardio da doença. Apesar da importância do diagnóstico precoce da ES, poucos estudos avaliaram a incidência e fatores de risco associados ao desenvolvimento de ES estabelecida em pacientes com ES precoce e fatores de risco associados à progressão da ES em pacientes com doença estabelecida. A capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica e a videocapilaroscopia são métodos que avaliam alterações anatômicas da microcirculação em pacientes com FRy. Já o *laser Doppler imaging* (LDI) é um método de avaliação dinâmica do fluxo sanguíneo da microcirculação.

Objetivos: Avaliação de fatores de risco clínicos e laboratoriais para evolução de pacientes com ES precoce para doença estabelecida, assim como para progressão de doença em pacientes com ES estabelecida em um seguimento de 3 anos. Adicionalmente, pretendemos avaliar de modo longitudinal as alterações na microcirculação periférica em pacientes com ES precoce e estabelecida.

Pacientes e métodos: Foi realizado estudo prospectivo no qual foram incluídos pacientes com ES estabelecida (n=80) (critérios do ACR/EULAR de 2013) e precoce (n=46) (critérios de LeRoy e Medsger de 2001) que realizaram avaliação no tempo 0 e após 3 anos de seguimento. Foram colhidos dados clínicos, de CPU panorâmica e videocapilaroscopia nas quais foram avaliadas o número de capilares/mm, número de capilares ectasiados, megacapilares, capilares ramificados, microhemorragias e grau de desvascularização, de avaliação de fluxo sanguíneo de polpas digitais mediante LDI (análise do fluxo antes e após estímulo frio), além de dosagem sérica de fator de von Willebrand (fvW). Foi considerada piora do número de megacapilares na CPU panorâmica ou videocapilaroscopia quando houve aumento maior ou igual a 0,1 na média do número de megacapilares para ES precoce e maior ou igual a 0,3 para ES estabelecida. Padrão SD (*scleroderma pattern*) foi subclassificado nos padrões precoce, ativo e tardio.

Resultados: Ao final de três anos ($38,4 \pm 4,1$ meses) foram reavaliados 60 pacientes com ES estabelecida (idade média $54 \pm 14,2$ anos) e 34 pacientes com ES precoce (idade média $53 \pm 12,7$ anos). Dos pacientes com ES precoce, 23,5% desenvolveram ES estabelecida. Ao final do acompanhamento, piora na CPU panorâmica e na videocapilaroscopia foi observada em 55,9% e 67,6% dos pacientes com ES precoce,

respectivamente. Já nos pacientes com ES estabelecida foi observada piora em 91,7% na CPU panorâmica e 95% na videocapilaroscopia. Aumento do número de megacapilares e piora do grau de desvascularização foram mais frequentes nos pacientes que desenvolveram ES ($p=0.02$ e $p=0.002$ para CPU panorâmica). Utilizando análise multivariada, padrão ativo ou tardio na CPU na avaliação inicial ($OR=30,0$; $p=0,01$), foi fator preditor independente para desenvolvimento de ES estabelecida em pacientes com ES precoce. Aumento do número de megacapilares tanto na CPU panorâmica ($OR=8,69$; $p=0,03$) quanto na videocapilaroscopia ($OR=6,92$; $p=0,049$), sexo masculino ($OR=40,55$; $p=0,01$) e níveis elevados de fvW ($OR= 1,03$; $p=0,03$) foram fatores preditores independentes para desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida. Progressão geral da doença na ES estabelecida foi associada a forma cutânea difusa ($OR=3,00$; $p=0,048$), menor fluxo sanguíneo de polpa digital ($OR=0,99$; $p=0,03$) e piora do número de capilares/mm avaliada pela CPU panorâmica ($OR=3,48$; $p=0,04$). Ao final do seguimento, houve aumento significativo no número de capilares ectasiados em pacientes com ES precoce e ES estabelecida, enquanto aumento do grau de desvascularização foi observado somente em pacientes com ES estabelecida.

Conclusões: Neste estudo prospectivo no qual foram avaliados tanto pacientes com ES precoce quanto pacientes com ES estabelecida, padrão ativo ou tardio na capilaroscopia foi fator independente para o desenvolvimento de ES estabelecida em pacientes com ES precoce. Piora de parâmetros da capilaroscopia apresentou influência sobre o desenvolvimento de novas úlceras digitais e progressão geral da doença em pacientes com ES estabelecida.

ABSTRACT

Introduction: Systemic Sclerosis (SSc) is a chronic autoimmune disease, characterized by microangiopathy and fibrosis of the skin and internal organs, whose diagnosis in early stages remains a challenge. In 2001 LeRoy and Medsger proposed criteria for the classification of early SSc defined by the presence of Raynaud's phenomenon (RP), capillaroscopy abnormalities and specific autoantibodies. Recently, new criteria for the classification of SSc have been proposed by the ACR/EULAR, which include manifestations present in the early and late stages of the disease. Despite the importance of the early diagnosis of SSc, few studies have evaluated the incidence and risk factors associated with the development of definite SSc in patients with early SSc, as well as the risk factors associated with disease progression in patients with definite disease. Widefield nailfold capillaroscopy (NFC) and videocapillaroscopy are methods that evaluate anatomical changes of the microcirculation in patients with RP. Laser Doppler imaging (LDI) is a method of measurement of superficial microvascular blood flow.

Objective: Evaluation of clinical and laboratorial risk factors for progression to definite disease in early SSc patients, as well for disease progression in patients with definite disease in a follow up of 3 years. In addition, the longitudinal abnormalities in the microcirculation were evaluated in patients with definite and early SSc.

Patients and methods: In this prospective study, patients with definite SSc (n=80) (ACR/EULAR 2013 criteria) and patients with early SSc (n=46) (LeRoy and Medsger 2001 criteria) were evaluated at baseline and after 3 years of follow-up. Clinical data, widefield NFC and videocapillaroscopy (parameters evaluated: number of capillaries / mm, number of enlarged capillaries, giant capillaries, ramified capillaries, microhaemorrhages and avascular score) were collected in all subjects at baseline and at the end of the follow-up. The mean finger blood flow (FBF) measured by LDI (before and after cold stimulus), and serum levels of von Willebrand factor were also evaluated. Worsening of the number of giant capillaries was considered when there was an increase in the mean number of giant capillaries greater or equivalent to 0.1 for early SSc and greater or equivalent to 0.3 for definite SSc. The scleroderma pattern was classified as early, active and late.

Results: At the end of 3 years (38.4 ± 4.1 months), 60 patients with definite SSc (mean age 54 ± 14.2 years) and 34 patients with early SSc (mean age 53 ± 12.7 years) were reevaluated. Of the patients with early SSc, 23.5% developed definite SSc. Any worsening in widefield NFC and videocapillaroscopy was observed in 55.9% and 67.6% of the patients with early SSc, respectively. In patients with definite SSc, worsening was observed in 91.7% in widefield NFC and 95% in videocapillaroscopy. An increase in the number of giant capillaries and worsening in the avascular score were more frequent in patients who

developed SSc ($p=0.02$ and $p=0.002$ in widefield NFC, respectively). By multivariate analysis, an active or late pattern in NFC at baseline (OR = 30.0, $p = 0.01$), was an independent predictor for the development of definite SSc in patients with early SSc. On the other hand, worsening of the number of giant capillaries in both widefield NFC (OR = 8.69, $p = 0.03$) and videocapillaroscopy (OR = 6.92, $p = 0.05$), male sex (OR = 40.55, $p = 0.01$) and elevated vWF levels (OR = 1.03, $p = 0.03$) were independent predictors for the development of new digital ulcers in patients with definite SSc. Overall disease progression in patients with definite SSc was associated with diffuse cutaneous form (OR = 3.00; $p=0.048$), lower fingertip blood flow (OR = 0.99, $p=0.03$) and worsening of number of capillaries/mm in widefield NFC (OR=3.48, $p=0.04$). At the end of follow-up, there was a significant increase in the number of enlarged capillaries in patients with early SSc and definite SSc, while an increase in the avascular score was observed only in patients with definite SSc.

Conclusions: In this prospective study in which both patients with early SSc and patients with defined SSc were evaluated, active or late pattern in capillaroscopy was an independent risk factor for the development of definite SSc in patients with early SSc. Worsening of capillaroscopy parameters influenced the development of new digital ulcers and overall disease progression in patients with definite SSc.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Esclerose sistêmica

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença autoimune do tecido conjuntivo, caracterizada por microangiopatia obliterativa e fibrose cutânea e de órgãos internos. Além do clássico envolvimento cutâneo, pode afetar o sistema osteoarticular, pulmões, rins, coração e trato gastrointestinal.

Apresenta uma incidência anual de 3,7 a 23 indivíduos por milhão de habitantes, afetando principalmente mulheres. A prevalência da ES pode ser influenciada por características genéticas regionais e exposições ambientais, podendo variar de 31 a 658,6 indivíduos por milhão de habitantes. Apesar da melhora da sobrevida dos pacientes ao longo dos anos, fibrose pulmonar e hipertensão arterial pulmonar continuam a ser as principais causas de mortalidade entre os pacientes com ES (1). Em um estudo recente realizado no Brasil, a taxa de incidência de ES foi de 11,9 por milhão de habitantes e a prevalência foi de 105,6 por milhão de habitantes, com predominância do sexo feminino, média de 50,58 anos de idade e tempo de evolução médio da doença de 8,19 anos (2).

As manifestações clínicas, curso e prognóstico da ES são extremamente heterogêneos e podem variar entre os indivíduos acometidos. A extensão do acometimento cutâneo é utilizada para classificar a doença em forma cutânea limitada e difusa. Indivíduos com ES forma cutânea limitada apresentam espessamento cutâneo limitado às extremidades e face e menor acometimento visceral. Muitas vezes evoluem com FRy durante muitos anos, até apresentarem uma outra manifestação. Já os pacientes com a forma cutânea difusa, apresentam espessamento cutâneo envolvendo tronco e região proximal de membros, muitas vezes rapidamente progressivo e com acometimento visceral mais grave como fibrose pulmonar, acometimento cardíaco e crise renal esclerodérmica (3). Os autoanticorpos costumam também estar associados a cada subtipo clínico, sendo que o anticorpo anti-centrômero é mais frequente em pacientes com ES forma cutânea limitada e o anticorpo anti-Scl-70, nos pacientes com ES forma difusa. Em casos mais raros, os pacientes com ES podem apresentar a forma *sine escleroderma*, quando apresentam características clínicas e autoanticorpos específicos para ES, porém sem espessamento cutâneo (3).

O sintoma inicial mais freqüente na ES costuma ser o fenômeno de Raynaud (FRy), que ocorre em até 90% dos casos ao longo da evolução da doença (4). O FRy é caracterizado por episódios reversíveis de vasoespasmo associados a alterações de coloração típicas das mãos e/ou pés, que ocorrem geralmente após estresse emocional ou estímulo frio. Clinicamente, é composto por três fases sucessivas: palidez (fase

isquêmica), cianose (venoestase e desoxigenação) e rubor (hiperemia reativa/reperfusão)(5).

A etiopatogênese da ES não é totalmente compreendida. A sua patogênese envolve principalmente alterações vasculares, ativação dos fibroblastos e alterações na resposta imune inata e adaptativa (6). Há uma série de mecanismos envolvidos nos eventos vasoespásticos relacionados à patogênese do FRy na ES. Embora o fluxo sanguíneo periférico seja normalmente resistente à vasoconstrição simpática, tal resistência é prejudicada em pacientes com FRy secundário à ES, resultante de um desequilíbrio entre vasoconstrição e vasodilatação, favorecendo a vasoconstrição (7, 8). Disfunção endotelial ocorre em fases precoces da doença, sendo que as células endoteliais ativadas passam a produzir menos substâncias vasodilatadoras, como óxido nítrico e prostaciclina, e há um aumento na produção de substâncias vasoconstritoras. Em pacientes com vasculopatia associada à ES, a disfunção endotelial pode precipitar o aumento da expressão e liberação de endotelina-1, potente vasoconstritor, mediador inflamatório e fibrótico.

Paralelamente a este processo ocorre a liberação do fator de von Willebrand (fvW) pelas células endoteliais, um mediador trombotico e hemostático (9). O fvW promove a adesão inicial das plaquetas aos locais de dano vascular, processo que levará à ativação e agregação plaquetárias (10). Já foi previamente descrita a associação do fvW à gravidade da ES (11). Em 2001, Scheja *et al* (12) observaram que pacientes com ES com elevação sérica de fvW apresentaram doença pulmonar precoce. Além disso, neste estudo, níveis de fvW correlacionaram-se inversamente com densidade capilar observada na capilaroscopia e positivamente com pressão de artéria pulmonar. Já Kumanovics *et al* (13) identificaram a associação deste marcador de disfunção endotelial com extensão da intersticiopatia na ES, evidenciada pela correlação inversa entre níveis séricos de fvW e porcentagem de difusão do monóxido de carbono (DLCO).

As células endoteliais ativadas também produzem radicais livres de oxigênio, estimulando a proliferação de fibroblastos ativados, que promovem acúmulo de colágeno na pele e órgãos internos de pacientes com ES. Tais alterações levam a alterações estruturais da parede vascular com proliferação e fibrose intimal das pequenas artérias e arteríolas, que resultam em diminuição do lúmen dos vasos. Tais alterações acarretam diminuição do fluxo sanguíneo e levam a um estado de isquemia crônica dos órgãos envolvidos (14, 15).

A fibrose cutânea e tecidual resultante do acúmulo de colágeno acomete indivíduos com ES em graus variados, o que contribui para a heterogeneidade das manifestações

clínicas da doença. A fibrose é mediada não somente por meio da ativação de fibroblastos teciduais e sua transdiferenciação em miofibroblastos, mas também através da diferenciação de fibrócitos derivados da medula óssea e transição de células endoteliais e epiteliais, pericitos e adipócitos em células mesenquimais ativadas. Tais respostas são moduladas por mediadores sinalizadores e micro RNAs que amplificam ou inibem a via do fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1) (16). O TGF- β 1 produzido pelas células endoteliais apresenta importante função na ativação e modificação fenotípica de fibroblastos em miofibroblastos. Além do TGF- β 1, outras citocinas pró-fibróticas como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e interleucina-4 (IL-4) desempenham papel importante na fibrose (17).

A presença de autoanticorpos específicos da ES (anti-centrômero, anti-Scl-70, anti-RNA polimerase III) sugere um papel das células B na patogênese da ES. Pacientes com ES exibem alterações fenotípicas de células B, com expressão excessiva de CD19 e CD21 (co-receptores de ativação do receptor de células B) e de CD86 e CD95 nas células B de memória. As células B produzem interleucina-6 (IL-6), que estimulam a secreção de colágeno por fibroblastos. Além disso, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) também exerce importante função no recrutamento de células inflamatórias. Estima-se que as células T também estejam envolvidas na patogênese da ES, secretando interleucinas 4 (IL-4) e 13 (IL-13) com conseqüente estímulo de células B (17).

Devido à heterogeneidade da doença, seu diagnóstico, principalmente em fases iniciais permanece um desafio. Os critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) de 1980 foram utilizados em estudos durante um longo período e consideravam a presença de um critério maior (espessamento cutâneo proximal às articulações metacarpofalangeanas) ou pelo menos dois de três critérios menores (esclerodactilia, úlceras digitais e fibrose pulmonar vista na radiografia) como necessários para o diagnóstico da ES (18). Entretanto, os mesmos eram pouco sensíveis e levavam à exclusão principalmente de pacientes com formas precoces, forma cutânea limitada e sine scleroderma (19). Neste contexto, em 2001, LeRoy e Medsger propuseram critérios para classificação de ES precoce, segundo os quais indivíduos que apresentassem fenômeno de Raynaud, padrão SD (*scleroderma pattern*) na capilaroscopia periungueal (CPU) e positividade para autoanticorpos específicos da ES (anti-centrômero, anti-Scl-70, anti-fibrilarina, anti-PM-Scl ou anti-RNA polimerase I/III) seriam classificados como forma precoce ou limitada da doença (20). Tais critérios oferecem maior sensibilidade para detecção da ES no início do curso da doença, quando comparados aos critérios para diagnóstico da ES de 1980 (18), altamente específicos.

Um estudo prospectivo realizado em 2008 validou os critérios de LeRoy e Medsger (20), no qual foi observado que 79,5% dos pacientes com FRy e com padrão SD na CPU panorâmica e autoanticorpos específicos para ES evoluíram para ES estabelecida (21). Adicionalmente, em 2011, o grupo EUSTAR (“European League Against Rheumatism - Scleroderma Trial and Research”) publicou um estudo baseado em consenso de especialistas de diversos centros especializados em ES a respeito de fatores considerados importantes para o diagnóstico “muito precoce da ES”. Os seguintes fatores foram considerados como sinais de alerta para o desenvolvimento de ES: edema cutâneo em quirodáctilos (*puffy fingers*), presença de FRy, FAN, padrão SD na capilaroscopia periungueal e positividade de anticorpos anti-centrômero e anti-Scl-70 (22).

Visando aumentar a sensibilidade diagnóstica dos critérios do ACR de 1980, em 2013, um comitê do ACR/EULAR foi formado e propôs novos critérios para classificação da ES, incluindo manifestações presentes tanto em estágios precoces quanto tardios da doença (23) (Quadro 1). Ressalta-se a inclusão da capilaroscopia periungueal e de autoanticorpos específicos para ES nestes novos critérios. Os critérios do ACR/EULAR de 2013 possibilitaram a identificação de um espectro maior de pacientes com ES na prática clínica. Entretanto, não incluíram todos os pacientes com ES precoce, sendo que pacientes com FRy, presença de autoanticorpo específico e capilaroscopia alterada permaneceram sem preencher os novos critérios de classificação.

Quadro 1. Critérios de 2013 do ACR/EULAR para classificação de ES *

	Item	Sub item	Valor-
1	Espessamento cutâneo dos dedos das duas mãos, proximal às articulações metacarpofalangeanas (MCFs)		9
2	Espessamento cutâneo dos dedos (somente computar o maior escore)	Edema de dedos (<i>puffy fingers</i>)	2
		Distal às articulações MCFs	4
3	Lesões de polpa digital (somente computar o maior escore)	Úlceras digitais	2
		Microcicatrices	3
4	Telangiectasias		2
5	Capilaroscopia periungueal alterada		2
6	Hipertensão arterial pulmonar ou doença intersticial pulmonar		2
7	Fenômeno de Raynaud		3
8	Autoanticorpos específicos para ES	anti-centrômero, anti-RNA polimerase III, anti - topoisomerase I (anti-Scl-70)	3

*Esses critérios são aplicáveis a qualquer paciente considerado para inclusão em estudo de ES. Os critérios não são aplicáveis a pacientes com espessamento cutâneo poupando os dedos ou a pacientes que tenham uma desordem semelhante a esclerodermia que melhor explique suas manifestações (exemplos: fibrose nefrogênica esclerosante, morfeia generalizada, fasciite eosinofílica, escleredema diabetorum, escleromixedema, eritromelalgia, porfiria, líquen esclerótico, doença do enxerto versus hospedeiro, quiroartropatia diabética)

- O escore total é determinado ao adicionar o peso máximo de cada categoria. Pacientes com um escore total de 9 são classificados como ES definida.

Nos últimos anos é crescente a importância dada ao diagnóstico da ES em suas fases iniciais, com o objetivo de tratar precocemente as manifestações clínicas da doença. Assim, coortes de pacientes com manifestações iniciais da ES tem sido estudados com o objetivo de identificar fatores de risco para desenvolvimento de doença estabelecida (21, 24-28). A maioria dos estudos nesta linha de pesquisa avalia indivíduos com FRY,

capilaroscopia periungueal alterada e/ou autoanticorpos específicos para ES, associados ou não a alguma outra manifestação clínica, como *puffy fingers* ou visceralização. No estudo de Koenig *et al* (21), que acompanhou 586 pacientes com FRy durante 20 anos, os principais fatores preditores para desenvolvimento de ES estabelecida foram positividade do fator antinúcleo (FAN), presença de autoanticorpos específicos para ES e presença de padrão SD na CPU panorâmica. Em outro estudo com 74 pacientes com FRy, Fitzgerald *et al* (26) observaram que alterações na capilaroscopia periungueal e na prova de função pulmonar conferiram maior risco para desenvolvimento de ES. De forma semelhante, Pavlov *et al* acompanharam 3.029 indivíduos com FRy e observaram associação entre padrão SD na capilaroscopia periungueal e desenvolvimento futuro de ES (27).

Adicionalmente, esforços têm sido feitos para identificação de fatores de risco para desenvolvimento de determinadas manifestações clínicas da doença em pacientes com ES já estabelecida (29-33). Pesquisas anteriores já relacionaram a presença do padrão tardio na capilaroscopia periungueal à maior incidência de úlceras isquêmicas digitais em pacientes com ES (29, 30). Em 2010, Assassi *et al* (31) observaram que presença de anticorpos anti-Scl-70 foi fator de risco independente para o desenvolvimento de menor capacidade vital forçada pulmonar em um seguimento de 266 pacientes com ES com menos de 5 anos de doença. Outro estudo publicado em 2012 (32), identificou que maior escore cutâneo de Rodnan e menor capacidade vital forçada pulmonar no início do acompanhamento conferiram risco para maior progressão do acometimento cutâneo e pulmonar ao longo de 3 anos, respectivamente. Em 2016, Avouac *et al*, utilizando o banco de dados de 1301 pacientes do EUSTAR acompanhados durante 2 anos, observaram que presença de sinovite e de atrito tendíneo, além de forma cutânea difusa e positividade para anti-topoisomerase-I, foram fatores preditores independentes para progressão da ES em pacientes com menos de 3 anos de doença (33). Mais recentemente, Avouac *et al* (34) avaliaram uma coorte de 140 pacientes com ES durante 3 anos, submetidos anualmente à análise dos parâmetros da videocapilaroscopia. Neste estudo, alterações significativas foram observadas na videocapilaroscopia (incidência ou piora da dilatação capilar, microhemorragias, desvascularização e neoangiogênese) em 51% dos pacientes ao longo do seguimento. Progressão da desvascularização foi associada à ocorrência de novas úlceras digitais e também à progressão da vasculopatia pulmonar, do acometimento cutâneo e piora do escore de gravidade de Medsger (35).

1.2 Métodos para avaliação do fluxo sanguíneo em pacientes com fenômeno de Raynaud

Diversos métodos para avaliação do fluxo sanguíneo tem sido aplicados no estudo da ES, dada a predominância da microangiopatia na fisiopatologia desta doença.

1.2.1 Capilaroscopia periungueal

A capilaroscopia periungueal (CPU) é um método não invasivo que permite a visualização da fileira distal das alças capilares da região periungueal dos dedos das mãos. É um método amplamente utilizado para o diagnóstico diferencial de FRy primário e secundário às doenças reumatológicas autoimunes (DRAIs) e para avaliação das alterações anatômicas da microcirculação.

A CPU panorâmica foi introduzida na década de 1970 por H. Maricq, que descreveu o padrão capilaroscópico associado à ES, denominado padrão SD (*scleroderma pattern*), que consiste de um conjunto de alterações morfológicas características, compostas pela presença de capilares dilatados (capilares ectasiados ou megacapilares), associada a áreas de desvascularização e desorganização capilar (Figura 1). Essas alterações muitas vezes surgem nas fases iniciais da ES, quando o FRy é ainda a única manifestação clínica da doença (36, 37). O padrão SD, porém, não é exclusivo da ES e pode ser observado também na dermatomiosite, na doença mista do tecido conjuntivo e em síndromes de superposição com componente esclerodérmico.

Após os estudos iniciais de Maricq *et al*, diversos grupos confirmaram a aplicabilidade do método para diagnóstico da ES e para avaliação do FRy. No Brasil, o método foi introduzido em 1987 por Andrade, mediante um amplo estudo de padronização da CPU para nossa população (38).

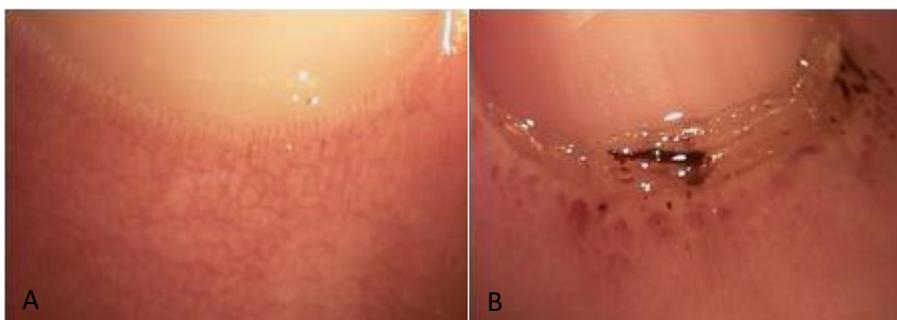


Figura 1 - Capilaroscopia periungueal normal (A) e com microangiopatia padrão SD (capilares dilatados, microhemorragias e áreas de desvascularização) (B)

A CPU panorâmica é classicamente realizada com um estereomicroscópio, com ampliações de 10 a 25 vezes. As alças capilares são visualizadas em toda a extensão da região periungueal, após a aplicação de uma gota de meio oleoso sobre a superfície cutânea (36). Os principais parâmetros analisados em cada dedo são: número de capilares por milímetro, atipias na morfologia capilar (capilares enovelados, ramificados, ectasiados e megacapilares), presença de microhemorragias e grau de desvascularização.

O aumento no calibre das alças capilares é registrado pela quantificação do número de capilares ectasiados (alças alargadas em todos os seus três ramos, com tamanho 4-9 vezes maior que o normal) e de megacapilares (alças extremamente alargadas, com calibre 10 vezes superior ao dos capilares adjacentes) em cada dedo (36). A desvascularização capilar pode ser difusa (avaliada pelo número de capilares/mm) ou focal. Para quantificarmos o grau de desvascularização focal, avalia-se a presença de áreas avasculares em cada dedo, segundo a escala de Lee *et al* (1983), que define como desvascularização a ausência de dois ou mais capilares sucessivos, permitindo quantificar este parâmetro em uma escala de 0 a 3 conforme a extensão das lesões (Quadro 2) (39).

Quadro 2 — Escala de desvascularização adaptada de Lee e colaboradores

Tipo de desvascularização	Grau
Nenhuma área de desvascularização	zero
Uma ou duas áreas de desvascularização descontínuas	um
Mais de duas áreas de desvascularização descontínuas	dois
Áreas de desvascularização extensas e confluentes	três

1.2.2 Videocapilaroscopia

A videocapilaroscopia é uma extensão da técnica de CPU panorâmica, na qual a lente de magnificação é ligada a uma câmera de vídeo associado a softwares comercialmente disponíveis. A ampliação utilizada é muito superior do que com a técnica panorâmica, variando de 200 a 600 vezes. Permite a medição das dimensões de cada um dos capilares, bem como de seus ramos arteriais e venosos, da largura das alças e da densidade capilar. Por outro lado, apenas uma pequena parte da região periungueal é visualizada, devido ao grande aumento que esta técnica proporciona (40, 41). Segundo alguns autores, a disponibilidade de imagens obtidas utilizando sistemas completamente

digitalizados, tornaram a técnica mais confiável e de fácil uso (40, 42), sendo que alguns centros especializados principalmente na Europa, utilizam a videocapilaroscopia em substituição a CPU panorâmica na avaliação de pacientes com ES.

Cutolo *et al* (2009) classificam as alterações capilaroscópicas associadas ao padrão SD em três estágios: precoce, ativo e tardio (42). No padrão “precoce”, nota-se principalmente dilatação capilar e microhemorragias, sem evidência de desorganização da arquitetura capilar ou perda de capilares; no “ativo”, observa-se uma maior frequência de dilatação capilar e de microhemorragias associada a moderada perda vascular; no padrão “tardio” encontram-se raros capilares alargados ou microhemorragias, associado a áreas avasculares extensas e desorganização da arquitetura capilar. As alterações de padrão tardio correlacionam-se com o tempo de FRy e de diagnóstico da ES.

Segundo Sulli *et al* (2008) (43), os seguintes parâmetros devem ser avaliados na videocapilaroscopia para a quantificação das anormalidades capilares específicas da ES: presença de capilares alargados (aumento no diâmetro do capilar > 20µm); presença de capilares gigantes (aumento no diâmetro do capilar > 50µm); microhemorragias (depósitos de hemossiderina); perda capilar; angiogênese (capilares ramificados e espessados); e desorganização da arquitetura capilar. Foi criado um sistema de escore semiquantitativo para a quantificação de cada um dos parâmetros avaliados segundo uma escala de 0 a 3 conforme a intensidade das anormalidades capilares (Quadro 3).

Quadro 3 - Escore semiquantitativo para a quantificação dos parâmetros avaliados na videocapilaroscopia

Proporção de alterações morfológicas	Grau
sem alterações	Zero
<33% de alterações dos capilares	Um
33–66% de alterações dos capilares	Dois
>66% de alterações dos capilares	Três

Independentemente do método (CPU panorâmica ou videocapilaroscopia), diversos estudos mostram que pacientes com FRy e alterações capilaroscópicas na CPU apresentam um elevado risco para o desenvolvimento de ES e doenças do seu espectro (37, 40). Em 2008, Ingegnoli *et al* (44) avaliaram cinco parâmetros classificados de acordo com a escala semiquantitativa utilizada por Cutolo *et al*, com o objetivo de construir um

índice de prognóstico para pacientes com FRy. Os parâmetros associados a um elevado risco para o desenvolvimento de doenças do espectro da ES foram: presença de megacapilares, microhemorragias e o número médio de capilares menor do que 7 por mm. Avaliação de marcadores séricos e medida do fluxo sanguíneo não foram realizadas.

Nosso grupo realizou recentemente um estudo com o objetivo de comparar os métodos de CPU panorâmica e videocapilaroscopia em indivíduos com FRy e ES. Foi encontrada uma forte correlação entre os métodos e uma excelente reprodutibilidade intra- e inter-observador de ambos os métodos. Neste estudo, houve uma boa performance diagnóstica de ambos os métodos na comparação entre pacientes com ES e demais pacientes com FRy (doença indiferenciada do tecido conjuntivo e FRy primário). Na análise de número de capilares/mm, a área abaixo da curva ROC foi de 0,831 e 0,872, utilizando-se CPU panorâmica e videocapilaroscopia, respectivamente ($p < 0,001$ para ambos). Na análise do escore de desvascularização, a área abaixo da curva ROC foi de 0,915 e 0,869, utilizando-se CPU panorâmica e videocapilaroscopia, respectivamente ($p < 0,001$ para ambos) (45).

1.2.3 Laser Doppler imaging

O *laser Doppler imaging* (LDI) é um método utilizado para a avaliação dinâmica do fluxo sanguíneo, fornecendo uma medida objetiva do fluxo sanguíneo da microcirculação cutânea em pacientes com FRy. O aparelho de *laser Doppler imaging* baseia-se em uma técnica relativamente recente que permite a mensuração direta do fluxo sanguíneo sobre uma área ao invés de um único ponto, como o método de *laser Doppler* convencional. Além disso, possui a vantagem de não requerer contato direto com a superfície cutânea eliminando alterações secundárias à pressão ou por artefatos causados por movimento (46). Ao contrário do fluxômetro tradicional que utiliza uma fibra óptica para levar o feixe de laser até a pele, o LDI utiliza um espelho móvel que direciona o feixe de laser até a superfície cutânea. Uma determinada região da pele é então rastreada, sob forma de varredura, gerando uma imagem bidimensional que corresponde à somatória dos movimentos das células vermelhas sobre a superfície cutânea (46) (Figura 2). O feixe de laser tem uma penetração de aproximadamente 1mm, dependendo do comprimento da onda e da configuração do aparelho. Todos os elementos vasculares da derme são incluídos na análise: vasos superficiais nutricionais e vasos termo-regulatórios mais profundos (47).

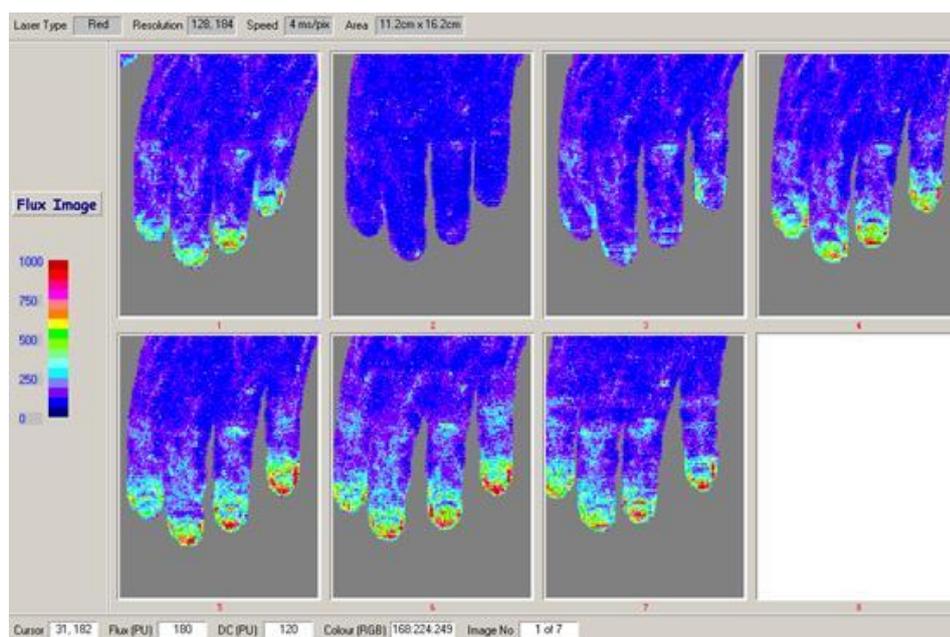


Figura 2 – Figura ilustrativa mostrando imagens seqüenciais do fluxo sangüíneo de polpa digital captadas pelo aparelho Moor LDI de um indivíduo antes e logo após um estímulo frio, em que se observa diminuição importante e posterior recuperação gradual do fluxo sangüíneo

Estudos anteriores avaliaram o fluxo sanguíneo periférico em pacientes com ES por meio do LDI (48-50). Gunawardena *et al* avaliaram a resposta vasomotora em 20 pacientes com ES, 10 pacientes com FRy primário e 17 controles saudáveis após estímulos quente e frio utilizando o LDI. Foi observada uma resposta hiperêmica máxima significativamente menor nos indivíduos com ES comparados aos controles saudáveis (50).

Em 2010, nosso grupo realizou um estudo no qual foi utilizado o LDI para avaliação do fluxo sanguíneo da microcirculação cutânea na ES. O LDI mostrou ser um método objetivo e reprodutível para a quantificação da perfusão sanguínea. O fluxo sanguíneo médio das polpas digitais (FPD) foi significativamente menor em condições basais em pacientes com ES quando comparados a controles ($296,9 \pm 208,8$ vs $503,6 \pm 146,4$ UP; $p < 0,001$). Após estímulo frio, houve queda significativa do FPD em ambos os grupos estudados, seguida de recuperação gradual do fluxo sanguíneo em indivíduos saudáveis, mas não nos pacientes com ES (51).

Em seguida, realizamos estudo transversal com pacientes com ES precoce, ES estabelecida, indivíduos com FRy primário e controles saudáveis. Neste estudo, publicado em 2015, observamos que pacientes com ES estabelecida apresentavam maior grau de

desvascularização e aumento no número de capilares ectasiados e megacapilares tanto a CPU panorâmica quanto a videocapilaroscopia em comparação a pacientes com ES precoce. A avaliação do fluxo sanguíneo da microcirculação pelo LDI mostrou valores de fluxo de polpa digital (FPD) basal significativamente mais elevados no grupo controle em relação aos pacientes com FRy primário, ES precoce e ES estabelecida. Além disso, foi observado que a recuperação do fluxo sanguíneo após estímulo frio foi mais lenta nos pacientes com ES precoce e ES estabelecida quando comparados aos pacientes com FRy primário e controles saudáveis. Neste estudo foram dosados níveis séricos de fW, sendo que encontramos valores mais elevados tanto em pacientes com ES estabelecida quanto naqueles com ES precoce em comparação aos controles e pacientes com FRy primário (52). Ao longo de 3 anos, uma parcela dos pacientes com ES precoce e estabelecida foi acompanhada e submetida novamente aos exames para avaliação anatômica e funcional da microcirculação, cujos dados serão descritos a seguir.

1.3 Justificativa

A ES é uma doença crônica na qual a microangiopatia representa uma das alterações fundamentais envolvidas na patogênese e na progressão da doença. Poucos estudos avaliaram os fatores associados ao risco de evolução para doença estabelecida em pacientes com ES precoce. No presente estudo pretende-se avaliar de forma prospectiva pacientes com diagnóstico de ES recente e estabelecida em um seguimento de 3 anos, visando avaliar a progressão da microangiopatia periférica e da doença e fatores de risco associados a sua evolução.

2. OBJETIVOS

Objetivo primário:

Avaliação de fatores de risco clínicos e laboratoriais para evolução de pacientes com ES precoce para doença estabelecida, assim como para progressão de doença em pacientes com ES estabelecida, por meio de realização de CPU panorâmica, videocapilaroscopia, LDI e marcadores séricos de lesão endotelial em um seguimento de 3 anos.

Objetivo secundário:

Avaliação longitudinal da microangiopatia periférica nos pacientes com ES precoce e estabelecida ao longo de um período de 3 anos.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Foi realizado estudo prospectivo observacional no qual foram incluídos pacientes com ES que participaram do estudo “Microangiopatia no fenômeno de Raynaud primário e secundário: marcadores séricos de lesão endotelial, alterações anatômicas e distúrbios funcionais”. Os pacientes foram avaliados em dois momentos: avaliação inicial de setembro de 2010 a setembro de 2011 (tempo 0) e 3 anos após.

3.2 Pacientes

Dos 126 pacientes incluídos no estudo inicial (52), 94 (74,6 %) pacientes foram reavaliados, sendo:

- 34 pacientes com ES precoce segundo os critérios de LeRoy e Medsger de 2001 (20);
- 60 pacientes com ES estabelecida segundo os critérios do ACR de 2013 (23).

Critérios de inclusão:

- Idade maior ou igual a 18 anos;
- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido previamente aprovado pela Comissão de Ética da UNIFESP (Estudo 1582/2015) (Anexo 1).

Critérios de exclusão:

- Sobreposição de doenças reumáticas autoimunes;
- Vasculopatia central ou periférica clinicamente significativa;
- Pacientes com hipertensão arterial sistêmica ou diabetes mellitus clinicamente descompensados;
- Tabagismo ativo.

O estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética da UNIFESP (Estudo 1582/2015) (Anexo 2)

3.3 Coleta de dados clínicos

Dados demográficos e clínicos foram obtidos por meio de entrevista e exame físico, no dia da realização dos exames, tanto no tempo 0 (coleta de dados de setembro de 2010 a setembro de 2011) quanto no tempo 1 (coleta de dados de janeiro de 2014 a janeiro de 2015).

No tempo 0 foram coletados dados de idade, sexo, tempo de FRY, tempo de doença e forma cutânea. Os pacientes com ES estabelecida foram classificados nas formas cutâneas difusa ou limitada, de acordo com os critérios propostos por LeRoy *et al* (53). Já nos tempos 0 e 1 foram registrados dados de escore cutâneo de Rodnan, presença de crise renal atual ou pregressa, presença de sinais como microcicatrices ou úlceras de polpas digitais, necrose ou amputação de dactilos, reabsorção de polpas digitais, espessamento cutâneo proximal às metacarpofalangeanas, *puffy fingers*, esclerodactilia e telangiectasias. O escore cutâneo de Rodnan modificado (54) foi avaliado por reumatologista experiente e utilizado para avaliar o grau de espessamento cutâneo (graduação de 0 a 3) no exame físico.

Dados de exames complementares foram coletados nos tempos 0 e 1 por meio de prontuário eletrônico do Ambulatório de Reumatologia do Hospital São Paulo – UNIFESP. Foram registrados pressão de artéria pulmonar (PAP) sistólica medida através de ecocardiograma transtorácico e PAP média através de cateterismo cardíaco direito, presença de intersticiopatia observada na tomografia computadorizada de tórax de alta resolução (TCAR de tórax), capacidade vital forçada (CVF) medida pela prova de função pulmonar (PFP) e presença de dismotilidade esofageana avaliada por esôfago-estômago-duodenografia (EED). Além da PAP, foi avaliada presença de disfunção diastólica medida pelo ecocardiograma transtorácico. Pacientes foram classificados como portadores de hipertensão arterial pulmonar (HAP) nos casos em que a PAP média medida através do cateterismo cardíaco direito era maior do que 25 mmHg associada a pressão de oclusão de capilar pulmonar ≤ 15 mmHg (55).

Foi considerada progressão geral da doença quando os pacientes apresentassem pelo menos uma das seguintes condições: piora do escore cutâneo de Rodnan maior de que 20%, queda maior do que 10% da capacidade vital forçada, ocorrência de novas úlceras digitais ou microcicatrices, nova incidência de HAP ou de intersticiopatia (33).

Na avaliação prospectiva dos pacientes com ES estabelecida foram avaliados incidência de novas úlceras digitais, piora da CVF e progressão da doença.

Ao final do seguimento, os pacientes com ES precoce foram reavaliados quanto ao preenchimento dos critérios do ACR/EULAR para ES de 2013.

3.4 Avaliação complementar

Todos os pacientes foram submetidos à coleta de sangue e aos exames de capilaroscopia periungueal panorâmica, videocapilaroscopia e *laser Doppler imaging* no tempo 0 e no tempo 1.

Todos os exames foram realizados pelo mesmo operador que não tinha conhecimento do diagnóstico ou estado clínico do indivíduo.

3.4.1 Capilaroscopia periungueal panorâmica

Foi utilizada uma lupa estereomicroscópica SZ40 (Olympus), com magnificação de 10-25 vezes, associado a uma fonte de epi-iluminação (Olympus) que incide a 45° sobre a superfície da pele. Aplicou-se um meio oleoso sobre a região da pele a ser examinada, que torna a superfície regular permitindo a entrada e saída de raios luminosos. Todos os dedos das mãos foram avaliados, exceto polegares. Para a obtenção de resultados mais acurados, o paciente foi orientado a não retirar a cutícula por no mínimo 3 semanas antes do exame. Todos os exames foram realizados mediante avaliação direta das alças capilares na região periungueal, sem captura de imagens.

Foi utilizado o protocolo conforme quadro abaixo. Ênfase foi dada aos seguintes parâmetros: número de capilares/mm, número de capilares ectasiados, número de megacapilares, número de microhemorragias, capilares ramificados, e escore de desvascularização. Todos os parâmetros foram compilados como a média obtida nos dedos analisados.

Quadro 4 - Protocolo para realização da capilaroscopia periungueal panorâmica

	Mão esquerda				Mão direita			
Dedos	5°	4°	3°	2°	2°	3°	4°	5°
Número de microhemorragias	—	—	—	—	—	—	—	—
Alças anômalas								
Ramificados	—	—	—	—	—	—	—	—
Ectasiados	—	—	—	—	—	—	—	—
Megacapilares	—	—	—	—	—	—	—	—
Nº capilares/mm	—	—	—	—	—	—	—	—
Escore de perda capilar	—	—	—	—	—	—	—	—

3.4.2 Videocapilaroscopia

A videocapilaroscopia foi realizada sob magnificação de 200 vezes, com equipamento computadorizado com sistema de vídeo Videocap 8.14 (DS-Medica, Itália). As imagens foram capturadas e arquivadas para posterior análise.

Os seguintes parâmetros foram avaliados:

- número de capilares/mm
- número de capilares ectasiados (aumento no diâmetro do capilar > 20 μ m)/mm;
- número de capilares gigantes (megacapilares) (aumento no diâmetro do capilar > 50 μ m)/mm;
- número de microhemorragias (depósitos de hemossiderina)/mm;
- perda capilar (avaliada pelo número de alças em 1mm);
- número de capilares ramificados/mm.

Para quantificação da perda capilar, utilizamos a seguinte escala - escore 0: ≥ 9 capilares/mm escore 1: 7 a 8 capilares/mm; escore 2: 4 a 6 capilares/mm; escore 3: ≤ 3 capilares/mm. A média de pontuação para cada valor foi calculada a partir da análise de dois campos consecutivos (um milímetro linear para cada uma) por dedo; as pontuações médias dos valores dos oito dígitos das mãos (excluindo-se os polegares) foram somadas e o valor final dividido pelo número de dedos avaliados (Anexo 3). As imagens da

videocapilaroscopia foram armazenadas em software específico e analisadas posteriormente de forma cega.

Todos os exames de CPU panorâmica e videocapilaroscopia foram também classificados em três padrões: padrão da normalidade, microangiopatia inespecífica e padrão SD. Além disso, os exames com padrão SD foram subclassificados em padrão precoce, ativo e tardio, conforme descrito previamente (56).

Na análise prospectiva dos dados, foi considerada piora do número de capilares/mm e piora do grau de desvascularização quando houve redução maior ou igual a 0,5 na média do número de capilares/mm e maior ou igual a 0,2 na média do grau de desvascularização, respectivamente. Foi considerada piora do número de megacapilares quando houve aumento maior ou igual a 0,1 no número médio de megacapilares para ES precoce e maior ou igual a 0,3 para ES estabelecida.

3.4.3 Avaliação do fluxo sanguíneo da microcirculação pelo método do *Laser Doppler imaging* antes e após estímulo frio

A mão esquerda dos indivíduos foi colocada sobre uma superfície plana (nível do coração), e o fluxo sanguíneo do dorso da falange distal (FPD) dos 4 dedos da mão esquerda (excluindo-se o polegar) foi avaliado em condições basais com o uso do *Laser Doppler imaging* (Moor LDI, Moor Instruments, Axminster, UK). Esse aparelho utiliza um sistema de emissão de laser vermelho hélio-*neon* de baixa intensidade que opera com um comprimento de onda de 633 nm. O feixe de luz é direcionado a uma área selecionada da pele por um espelho localizado a uma distância de 40 cm da superfície cutânea. Todas as imagens foram captadas com velocidade de 4 pixel/milissegundo com tempo de aquisição de 3 minutos e 15 segundos para cada imagem. O fluxo sanguíneo médio da área selecionada foi derivado com auxílio do aplicativo *MoorLDI V5.2 software* e expresso em unidades arbitrárias de perfusão (UP) em relação a uma calibração interna padrão do aparelho. O fluxo médio das quatro polpas digitais (FPD) foi considerado para análise. Em seguida foi realizado estímulo frio (EF) mediante imersão de ambas as mãos em água a 15°C por 60 segundos (UNITEMP 116, Fanem, Brasil), seguido de monitoramento do fluxo sanguíneo 20 minutos após o EF (Anexo 4).

3.4.4 Dosagem sérica de fator de von Willebrand e autoanticorpos

Para dosagem do fator de Von Willebrand (fvW) e pesquisa de autoanticorpos foram coletados 5 mL de sangue em tubos à vácuo com citrato e 5 mL em tubo seco por punção da veia antecubital. Após centrifugação, o plasma resultante foi armazenado a -20°C.

O método de ELISA foi utilizado para dosagem sérica do fvW (American Diagnostica, Stamford, CT, USA). As reações foram realizadas no Laboratório da Disciplina de Reumatologia da UNIFESP. Todas as reações foram realizadas em duplicata.

Para o ensaio, 100 µl de plasma diluídos em reagente apropriado foram dispensados em duplicata em poços de placas de ELISA cobertas com anticorpo monoclonal murino IgG anti-fvW, e incubados durante 1 hora à TA (18 a 25°C). Após lavagem da placa, foram adicionados 100 µl de solução contendo anticorpo murino monoclonal anti-fvW humano em cada poço e deixado em incubação durante 15 minutos à TA. Foi realizada nova lavagem da placa e em seguida dispensados 100 µl de tetrametilbenzidina em cada poço, seguida por incubação durante 15 minutos à TA. Finalmente, foram adicionados 100 µl de solução de parada em cada poço e em 30 minutos realizada leitura da placa em espectrofotômetro com absorvância específica (450 nm).

Os valores de DO (densidade óptica) medidos pelo espectrofotômetro de cada poço da placa de ELISA foram tabulados em programa Excel para posterior cálculo da média destes valores, sendo gerado um valor de DOM (densidade óptica média) para cada amostra de plasma de cada participante do estudo. De forma semelhante, foi determinada a DOM de amostras de soluções fornecidas pelo kit ELISA com composição padronizada, também dispensadas em duplicata nos primeiros poços de cada placa, em diferentes diluições. Utilizando os valores de DOM e de concentração de cada marcador sérico nas soluções padrão, foi construído um gráfico para cada placa a partir do qual foram calculados os valores de concentração dos marcadores séricos nas amostras dos indivíduos a partir das DOMs das mesmas.

A pesquisa de fator antinúcleo (FAN) foi realizada no Laboratório de Imunoreumatologia da UNIFESP, mediante a técnica de imunofluorescência indireta (IFI) em células Hep-2 (carcinoma de laringe humano). A pesquisa de anticorpos anti-centrômero foi considerada positiva quando observado na IFI em células HEp-2 aspecto característico em diluição $\geq 1/80$. Nos soros em que a pesquisa de autoanticorpos por IFI for positiva, foi realizado o teste de imunodifusão dupla (ID) para identificação do anticorpo anti-Scl-70. Foi realizada também a dosagem de anti-RNA polimerase III pelo método de

ELISA (Inova Diagnostics, San Diego, CA, USA) apenas na primeira avaliação (tempo 0), segundo orientações do fabricante.

3.5 Análise estatística

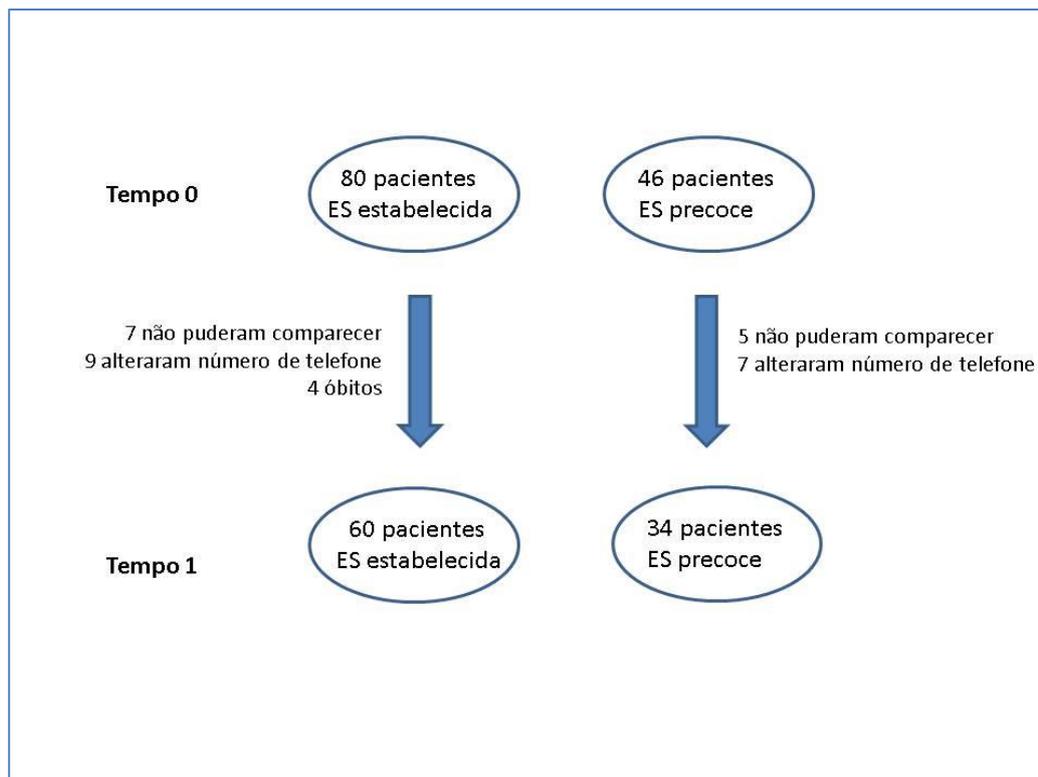
Os dados de variáveis numéricas foram apresentados como média e desvio padrão ou mediana e valores mínimo/máximo e os dados de variáveis categóricas foram apresentados como valores absolutos e frequências, sob a forma de tabelas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliação de normalidade na distribuição das variáveis numéricas. Na análise prospectiva dos dados foram utilizados os testes de t de student para amostras pareadas ou Wilcoxon para variáveis numéricas de distribuição normal e não normal, respectivamente, além de teste de McNemar para variáveis categóricas. Foram realizadas análises uni e multivariadas no estudo dos fatores relacionados à progressão da doença. Na análise univariada, foi utilizado o teste t de student para amostras não pareadas ou Mann-Whitney para dados de variáveis numéricas com distribuição normal e não-normal, respectivamente, e teste qui quadrado para dados de variáveis categóricas. Variáveis com $p \leq 0,10$ foram selecionadas para a análise multivariada, na qual foram utilizados modelos de regressão logística binária. Foi considerado p de significância estatística $< 0,05$. Todas as análises foram realizadas com software SPSS versão 18.

4. RESULTADOS

4.1 Dados demográficos e clínicos

Dos 80 pacientes com ES estabelecida e 46 pacientes com ES precoce, 60 pacientes com ES estabelecida e 34 pacientes com ES precoce compareceram na segunda avaliação, com tempo médio de seguimento de $3,2 \pm 0,3$ anos (perda de seguimento de 25% para os pacientes com ES estabelecida e de 26,08% para os pacientes com ES precoce). Foram consideradas para análise apenas os pacientes que compareceram à segunda avaliação. Do total de 32 pacientes que perderam seguimento, 12 (37,5%) não podiam comparecer à segunda avaliação, 16 (50%) alteraram o número de telefone e 4 (12,5%) foram a óbito (Figura 3).

Figura 3 – Seleção dos pacientes nos tempos 0 e 1



Os dados clínicos e demográficos dos pacientes avaliados estão descritos na tabela 1. O tempo de FRy foi maior nos pacientes com ES estabelecida ($14,55 \pm 10,25$ anos) quando comparado aos pacientes com ES precoce ($10,62 \pm 7,64$ anos). Houve predominância do sexo feminino em ambos os grupos. Dentre os pacientes com ES estabelecida, 63,3% apresentavam a forma cutânea limitada e 36,7% a forma difusa.

Tabela 1 – Dados clínicos e demográficos dos pacientes com esclerose sistêmica (ES) precoce e ES estabelecida na avaliação inicial (T0)

<i>Característica</i>	<i>ES estabelecida (n 60)</i>	<i>ES precoce (n 34)</i>	<i>P</i>
Idade média (anos) \pm DP	54,42 \pm 14,16	53 \pm 12,73	0,63
Sexo			
Feminino	54 (90%)	32 (94,1%)	0,71
Masculino	6 (10%)	2 (5,9%)	
Tempo de FRy (anos)	14,55 \pm 10,25	10,62 \pm 7,64	0,02
Tempo de doença (anos)	10,84 \pm 8,29	n/a	n/a
Forma clínica			
Difusa	22 (36,7%)	n/a	n/a
Limitada	38 (63,3%)	n/a	n/a

Os dados clínicos dos pacientes com ES estabelecida e precoce avaliados no T0 e no T1 estão descritos na tabela 2. Na avaliação inicial (T0), 3 pacientes (8,8%) com ES precoce apresentavam *puffy fingers*, 3 (8,8%) apresentavam disfunção diastólica no ecocardiograma, 1 paciente (2,9%) apresentava microcicatrices de polpa digital e 1 paciente (2,9%) apresentava telangiectasias. Ao final do acompanhamento de 3 anos, foram observados *puffy fingers* em 10 pacientes (29,4%), esclerodactilia em 5 pacientes (14,7%), telangiectasias em 2 (5,9%), disfunção diastólica em 6 (18,2%) e esofagopatia em 42,4% dos pacientes com ES precoce. Houve aumento significativo na proporção de pacientes com esofagopatia (de 0% para 42,4%, $p = 0,004$) nos pacientes com ES precoce ao longo do seguimento. Nenhum paciente com ES precoce apresentou espessamento proximal às articulações metacarpofalangeanas (MCFs) ou úlceras isquêmicas de polpa digital na avaliação final.

Na avaliação inicial (T0) dos pacientes com ES estabelecida, 5% apresentavam *puffy fingers*, 95% esclerodactilia, 58,3% microcicatrices e 51,7% telangiectasias. Na avaliação final (T1) dos pacientes com ES estabelecida, 6,7 % apresentavam *puffy fingers*, 96,7 % esclerodactilia, 66,7% microcicatrices e 55 % telangiectasias. Houve aumento da proporção de reabsorção de polpas digitais (de 8,3% para 38,3%, $p < 0,001$) e de úlceras ativas (de 3,3% para 16,7%, $p = 0,04$) nos pacientes com ES estabelecida ao longo do seguimento.

Nenhum paciente com ES precoce apresentou positividade para anti-Scl-70, ao passo que 16,9% dos pacientes com ES estabelecida apresentou anti-Scl-70 positivo na avaliação final. Na avaliação inicial, 30% dos pacientes com ES estabelecida e 35,3% dos pacientes com ES precoce apresentaram positividade para anti-centrômero. Anti-RNA polimerase III foi avaliado apenas na avaliação inicial, sendo que 10,5% dos pacientes com ES estabelecida e 14,7% dos pacientes com ES precoce apresentaram positividade para este anticorpo (Tabela 2).

Tabela 2 – Dados clínicos dos pacientes com esclerose sistêmica (ES) precoce e ES estabelecida, avaliados no T0 e no T1

Característica	ES estabelecida (n 60)			ES precoce (n 34)		
	T0	T1	P	T0	T1	P
Escore cutâneo de Rodnan	6,3 ± 5,82	5,78 ± 4,93	0,64	0 ± 0	0,24 ± 0,65	0,05
Necrose ou amputação de extremidades	2 (3,3%)	2 (3,3%)	1,00	0 (0%)	1 (2,9%)	1,00
Reabsorção de polpa digital	5 (8,3%)	23 (38,3%)	< 0,001	0 (0%)	1 (2,9%)	1,00
Espessamento proximal às MCFs	31 (51,7%)	33 (55%)	0,63	0 (0%)	0 (0%)	n/a
<i>Puffy fingers</i>	3 (5%)	4 (6,7%)	1,00	3 (8,8%)	10 (29,4%)	0,07
Esclerodactilia	57 (95%)	58 (96,7%)	1,00	0 (0%)	5 (14,7%)	0,06
Microcicatrizes	35 (58,3%)	40 (66,7%)	0,06	1 (2,9%)	1 (2,9%)	1,00
Úlceras ativas	2 (3,3%)	10 (16,7%)	0,04	0 (0%)	0 (0%)	n/a
Telangiectasias	31 (51,7%)	33 (55%)	0,50	1 (2,9%)	2 (5,9%)	1,00
HAP	2 (3,3%)	2 (3,3%)	1,00	0 (0%)	0 (0%)	n/a
Intersticiopatia	28 (46,7%)	31 (51,7%)	0,25	0 (0%)	3 (8,8%)	0,25
CVF < 70%	8 (17%)	13 (26,5%)	0,13	0 (0%)	1 (3,6%)	1,00
Disfunção diastólica	18 (30,5%)	25 (42,4%)	0,09	3 (8,8%)	6 (18,2%)	0,25
Artrite	8 (13,3%)	10 (16,7%)	0,82	1 (2,9%)	2 (5,9%)	1,00
Acometimento esofágico	36 (61%)	42 (70%)	0,06	0 (0%)	14 (42,4%)	0,004
Anti-centrômero	18 (30%)	16 (26,7%)	0,63	12 (35,3%)	11 (32,4%)	1,00
Anti-Scl-70	4 (6,7%)	10 (16,9%)	0,11	0 (0%)	0 (0%)	n/a
Anti-RNA polimerase III	6 (10,5%)	–	n/a	5 (14,7%)	–	n/a
FAN	58 (96,7%)	57 (95%)	1,00	23 (67,6%)	22 (64,7%)	1,00

MCFs: metacarpofalangeanas (articulações); HAP: hipertensão arterial pulmonar; CVF: capacidade vital forçada; FAN: fator antinúcleo

4.2 Análise prospectiva da microcirculação periférica

4.2.1 Capilaroscopia periungueal panorâmica e videocapilaroscopia

Os parâmetros analisados por meio da capilaroscopia periungueal panorâmica (CPU) e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida estão listados na tabela 3. Na CPU panorâmica, ao longo do seguimento de 3 anos, houve aumento significativo do número de capilares ectasiados no grupo de pacientes com ES precoce ($1,14 \pm 1,08$ para $1,44 \pm 1,23$; $p=0,01$), ao passo que no grupo com ES estabelecida houve aumento tanto do número de capilares ectasiados ($3,16 \pm 2,69$ para $3,97 \pm 2,64$; $p=0,01$) quanto do número de megacapilares ($0,61 \pm 0,82$ para $0,88 \pm 1,07$; $p < 0,001$) e capilares ramificados ($0,01 \pm 0,04$ para $0,09 \pm 0,23$; $p=0,01$). Também houve piora do grau de desvascularização ($1,10 \pm 0,80$ para $1,48 \pm 0,92$; $p<0,001$) e redução do número de capilares/mm ($8,06 \pm 1,64$ para $7,26 \pm 1,76$; $p<0,001$) nos pacientes com ES estabelecida no final do seguimento.

A análise prospectiva dos dados de videocapilaroscopia mostrou aumento significativo do número de capilares ectasiados ($0,55 \pm 0,53$ para $1,16 \pm 0,97$; $p<0,001$) e de megacapilares ($0,03 \pm 0,10$ para $0,17 \pm 0,35$; $p=0,01$) no grupo com ES precoce. No grupo com ES estabelecida houve aumento do número de capilares ectasiados ($1,04 \pm 0,82$ para $1,72 \pm 0,81$; $p<0,001$) e de megacapilares ($0,24 \pm 0,34$ para $0,53 \pm 0,60$; $p < 0,001$). Também houve piora do escore de desvascularização ($1,14 \pm 0,58$ para $1,38 \pm 0,68$; $p<0,001$) e redução do número de capilares/mm ($7,58 \pm 1,71$ para $6,71 \pm 1,78$; $p<0,001$) no grupo com ES estabelecida (Tabela 3).

Quando avaliamos a frequência de piora dos parâmetros da CPU panorâmica, observamos que 17,6% dos pacientes com ES precoce e 35% dos pacientes com ES estabelecida apresentaram aumento do número de megacapilares ao longo do seguimento. Adicionalmente, 11,8% dos pacientes com ES precoce e 63,3% dos pacientes com ES estabelecida apresentaram aumento do grau de desvascularização. Qualquer piora dos parâmetros da CPU panorâmica foi observada em 55,9% dos pacientes com ES precoce e em 91,7% dos pacientes com ES estabelecida (Tabelas 4 e 5).

Segundo avaliação por videocapilaroscopia, 32,4% dos pacientes com ES precoce e 45% dos pacientes com ES estabelecida apresentaram aumento do número de megacapilares ao longo do seguimento. Cerca de 23,5% dos pacientes com ES precoce e 61,7% dos pacientes com ES estabelecida apresentaram aumento do grau de desvascularização. Qualquer piora dos parâmetros da videocapilaroscopia foi observada

em 67,6% dos pacientes com ES precoce e em 95% dos pacientes com ES estabelecida (Tabelas 4 e 5).

Tabela 3 – Parâmetros analisados através da capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida

	<i>ES precoce (34)</i>			<i>ES estabelecida (60)</i>		
	<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>p</i>	<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>p</i>
CPU panorâmica						
Número de capilares/mm	9,38 ± 0,67	9,21 ± 0,88	0,18	8,06 ± 1,64	7,26 ± 1,76	<0,001
Número de capilares ectasiados	1,14 ± 1,08	1,44 ± 1,23	0,01	3,16 ± 2,69	3,97 ± 2,64	0,01
Número de megacapilares	0,06 ± 0,12	0,08 ± 0,21	0,57	0,61 ± 0,82	0,88 ± 1,07	<0,001
Número de microhemorragias	0,34 ± 0,65	0,49 ± 0,66	0,09	0,86 ± 1,54	0,92 ± 1,56	0,22
Número de capilares ramificados	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,00	0,01 ± 0,04	0,09 ± 0,23	0,01
Escore de desvascularização	0,20 ± 0,31	0,21 ± 0,36	0,91	1,10 ± 0,80	1,48 ± 0,92	<0,001
Videocapilaroscopia						
Número de capilares/mm	9,41 ± 0,94	9,28 ± 1,36	0,41	7,58 ± 1,71	6,71 ± 1,78	< 0,001
Número de capilares ectasiados/mm	0,55 ± 0,53	1,16 ± 0,97	< 0,001	1,04 ± 0,82	1,72 ± 0,81	< 0,001
Número de megacapilares/mm	0,03 ± 0,10	0,17 ± 0,35	0,01	0,24 ± 0,34	0,53 ± 0,60	< 0,001
Número de microhemorragias/mm	0,35 ± 0,54	0,25 ± 0,26	0,46	0,44 ± 0,89	0,30 ± 0,35	0,98
Número de capilares ramificados/mm	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,03	0,10	0,03 ± 0,08	0,03 ± 0,08	0,76
Escore de desvascularização/mm	0,41 ± 0,38	0,41 ± 0,48	0,98	1,14 ± 0,58	1,38 ± 0,68	< 0,001

Tabela 4 – Frequência de piora dos parâmetros da capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES precoce

<i>Frequência de piora</i>	
CPU panorâmica	
Redução $\leq 0,5$ na média do número da capilares/mm	10 (29,4%)
Aumento $\geq 0,3$ na média do número de capilares ectasiados	17 (50%)
Aumento $\geq 0,1$ na média do número de megacapilares	6 (17,6%)
Aumento $\geq 0,2$ na média do grau de desvascularização	4 (11,8%)
Qualquer piora	19 (55,9%)
Videocapilaroscopia	
Redução $\leq 0,5$ na média do número da capilares/mm	12 (35,3%)
Aumento $\geq 0,3$ na média do número de capilares ectasiados	21 (61,8%)
Aumento $\geq 0,1$ na média do número de megacapilares	11 (32,4%)
Aumento $\geq 0,2$ na média do grau de desvascularização	8 (23,5%)
Qualquer piora	23 (67,6%)

Tabela 5 – Frequência de piora dos parâmetros da capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica e videocapilaroscopia durante o seguimento dos pacientes com ES estabelecida

<i>Frequência de piora</i>	
CPU panorâmica	
Redução $\leq 0,5$ na média do número da capilares/mm	40 (66,7%)
Aumento $\geq 0,3$ na média do número de capilares ectasiados	40 (66,7%)
Aumento $\geq 0,3$ na média do número de megacapilares	21 (35%)
Aumento $\geq 0,2$ na média do grau de desvascularização	38 (63,3%)
Qualquer piora	55 (91,7%)
Videocapilaroscopia	
Redução $\leq 0,5$ na média do número da capilares/mm	41 (68,3%)
Aumento $\geq 0,3$ na média do número de capilares ectasiados	43 (71,7%)
Aumento $\geq 0,3$ na média do número de megacapilares	27 (45%)
Aumento $\geq 0,2$ na média do grau de desvascularização	37 (61,7%)
Qualquer piora	57 (95%)

4.2.2 Laser Doppler imaging

Nos pacientes com ES estabelecida observamos uma piora do fluxo de polpa digital (FPD) medido antes ($324,53 \pm 163,25$ para $208,7 \pm 106$ UP; $p < 0,001$) e 20 minutos após o estímulo frio ($300,78 \pm 168,23$ para $193,36 \pm 101,60$ UP; $p < 0,001$) através do *laser Doppler imaging* (LDI) ao longo do seguimento de 3 anos. Não foi observada diferença entre os valores de FPD nos pacientes com ES precoce ao longo do seguimento (Tabela 6).

Tabela 6 – Valores de fluxo de polpa digital (FPD) medidos através do *laser Doppler imaging* (LDI) durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida

ES precoce (34)	T0	T1	P
FPD pré EF	$363,1 \pm 160,38$	$290,45 \pm 172,14$	0,12
FPD pós EF 20 minutos	$305,29 \pm 205,67$	$274,76 \pm 174,84$	0,15
ES estabelecida (60)	T0	T1	P
FPD pré EF	$324,53 \pm 163,25$	$208,7 \pm 106$	$< 0,001$
FPD pós EF 20 minutos	$300,78 \pm 168,23$	$193,36 \pm 101,60$	$< 0,001$

EF: estímulo frio

4.2.3 Dosagem sérica de fator de von Willebrand (fvW)

A dosagem do fator de von Willebrand (fvW) mostrou aumento significativo dos seus níveis tanto nos pacientes com ES precoce ($152,38 \pm 49,37$ para $216,41 \pm 82,42$; $p < 0,001$) quanto nos pacientes com ES estabelecida ($147,13 \pm 47,86$ para $199,62 \pm 64,54$; $p < 0,001$) ao longo do seguimento de 3 anos (Tabela 7).

Tabela 7 – Níveis séricos de fator de von Willebrand (fvW) durante o seguimento dos pacientes com ES precoce e estabelecida

<i>ES precoce (34)</i>	<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>p</i>
fvW (%)	$152,38 \pm 49,37$	$216,41 \pm 82,42$	$< 0,001$

<i>ES estabelecida (60)</i>	<i>T0</i>	<i>T1</i>	<i>p</i>
fvW (%)	$147,13 \pm 47,86$	$199,62 \pm 64,54$	$< 0,001$

4.3 Fatores de risco para desenvolvimento de doença estabelecida em pacientes com ES precoce

Dos 34 pacientes com ES precoce, 8 (23,5%) desenvolveram doença estabelecida no período compreendido entre a avaliação inicial (T0) e final (T1). Na análise univariada, a frequência de *puffy fingers* na avaliação clínica inicial foi significativamente maior nos pacientes que desenvolveram ES estabelecida em comparação ao grupo que não desenvolveu ($p=0,01$) (Tabela 8). Adicionalmente, um número maior de pacientes que evoluiu para ES estabelecida apresentou padrão ativo ou tardio na CPU na avaliação inicial ($p=0,01$). Na análise multivariada, padrão ativo ou tardio na CPU foi fator de risco independente para desenvolvimento de ES estabelecida (OR=30,0 [IC de 95%: 2,1-421,1], $p=0,01$).

Além disso, a proporção de pacientes que evoluiu com aumento do número de megacapilares ($p=0,02$) e de piora do grau de desvascularização ($p=0,002$) na CPU panorâmica foi maior entre os pacientes que evoluíram para ES estabelecida. Observou-se também tendência a maior número de capilares ectasiados no T0 tanto na CPU quanto na videocapilaroscopia e a aumento do número de megacapilares na videocapilaroscopia no grupo de pacientes que evoluiu para ES estabelecida (Tabela 9). Na análise multivariada de caráter exploratório, aumento do número de megacapilares na CPU panorâmica (OR=12,0 [IC de 95%: 1,6-88,7], $p=0,02$) e na videocapilaroscopia (OR=5,6 [IC de 95%: 1,0-30,3], $p=0,04$) foram fatores preditores independentes para desenvolvimento de ES estabelecida

Tabela 8 - Fatores de risco na avaliação inicial para desenvolvimento de doença estabelecida em pacientes com ES precoce – análises univariada e multivariada

Parâmetros	Não desenvolveu ES estabelecida (26)	Desenvolveu ES estabelecida (8)	Análise univariada	Análise multivariada	
			P	P	OR (95% IC)
Idade, média ± DP (anos)	53,08 ± 14,09	52,75 ± 7,34	0,93		
Sexo, n (%)					
feminino	24 (92,3%)	8 (100%)	1,00		
masculino	2 (7,7%)	0 (0,0%)			
Tempo de FRy, média ± DP (anos)	10,42 ± 7,43	11,25 ± 8,81	0,82		
<i>Puffy fingers</i> , n (%)	0 (0,0%)	3 (37,5%)	0,01		
Esclerodactilia, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
Telangiectasias, n (%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)	1,00		
Úlceras digitais, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
Microcicatrizes, n (%)	0 (0,0%)	1 (12,5%)	0,24		
Reabsorção de polpa, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
HAP, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
Intersticiopatia, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
CVF < 70%, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
Disfunção diastólica, n (%)	3 (8,8 %)	0 (0,0%)	1,00		
Acometimento esofágico, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
Anti-RNA polimerase III, n (%)	4 (15,4%)	1 (12,5%)	1,00		
Anti-Scl-70, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a		
Anti-centrômero, n (%)	8 (30,8%)	4 (50%)	0,41		
AutoAc específico para ES, n (%)	10 (38,5%)	5 (62,5%)	0,42		
FAN, n (%)	17 (65,4%)	6 (75%)	1,00		
Fator de von Willebrand, média ± DP	155,93 ± 47,45	140,87 ± 57,05	0,46		
					30.0
Padrão CPU, n (%) precoce	15 (93,8%)	2 (33,3%)	0,01	0,01	(2.1-421.1)
ativo/tardio	1 (6,3%)	4 (66,6%)			
Laudo CPU, n (%)					
normal	6 (23,1%)	0 (0,0%)	0,31		
microangiopatia					
inespecífica	4 (15,4%)	2 (25%)			
padrão SD	16 (61,5%)	6 (75%)			
AutoAc específico ES + padrão SD, n(%)	2 (7,7%)	3 (37,5%)	0,07		

HAP: hipertensão arterial pulmonar; CVF: capacidade vital forçada; FAN: fator antinúcleo

Tabela 9 – Parâmetros avaliados pela capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica, videocapilaroscopia e *laser Doppler imaging* e desenvolvimento de doença estabelecida em pacientes com ES precoce – análise univariada

Parâmetros	Não desenvolveu ES estabelecida (26)	Desenvolveu ES estabelecida (8)	Análise univariada
			P
Capilaroscopia panorâmica			
Microhemorragias T0, média ± DP	0,40 ± 0,72	0,16 ± 0,27	0,77
Número de capilares/mm T0, média ± DP	9,46 ± 0,57	9,13 ± 0,95	0,22
Piora do número de capilares/mm, n (%)	7 (26,9%)	3 (37,5%)	0,67
Ramificados T0, média ± DP	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00
Ectasiados T0, média ± DP	0,93 ± 0,77	1,8 ± 1,67	0,05
Piora ectasiados, n (%)	11 (42,3%)	6 (75%)	0,23
Megacapilares T0, média ± DP	0,03 ± 0,07	0,16 ± 0,19	0,11
Piora megacapilares, n (%)	2 (7,7%)	4 (50%)	0,02
Desvascularização T0, média ± DP	0,15 ± 0,22	0,38 ± 0,50	0,26
Piora desvascularização, n (%)	0 (0,0%)	4 (50%)	0,002
Videocapilaroscopia			
Microhemorragias T0, média ± DP	0,04 ± 0,06	0,10 ± 0,12	0,10
Número de capilares/mm T0, média ± DP	9,60 ± 0,79	8,80 ± 1,17	0,10
Piora número de capilares/mm, n (%)	8 (30,8%)	4 (50%)	0,41
Ramificados T0, média ± DP	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00
Ectasiados T0, média ± DP	0,45 ± 0,44	0,86 ± 0,69	0,06
Piora ectasiados, n (%)	14 (53,8%)	7 (87,5%)	0,12
Megacapilares T0, média ± DP	0,00 ± 0,01	0,12 ± 0,17	0,14
Piora megacapilares, n (%)	6 (23,1%)	5 (62,5%)	0,08
Desvascularização T0, média ± DP	0,36 ± 0,35	0,58 ± 0,46	0,16
Piora desvascularização, n (%)	5 (19,2%)	3 (37,5%)	0,36
FPD pré EF T0, média ± DP	372,42 ± 160,96	332,79 ± 165,41	0,55

LDI: *laser Doppler imaging*; EF: estímulo frio

4.4 Fatores de risco para desenvolvimento de úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida

Durante o acompanhamento dos pacientes com ES estabelecida foi verificado que, dos 60 pacientes avaliados inicialmente, dois apresentavam úlceras isquêmicas ativas de polpa digital na avaliação inicial. Entre os 58 restantes, 10 (17,2%) evoluíram com novas úlceras digitais no seguimento. Na análise univariada, novas úlceras foram mais frequentes em pacientes do sexo masculino ($p=0,01$), com forma clínica difusa ($p=0,04$) e com maior escore cutâneo de Rodnan ($p=0,01$) no T0 (Tabela 10). Além disso, pacientes que desenvolveram úlceras ativas apresentaram menor número de capilares por mm e maior grau de desvascularização observados tanto na CPU panorâmica ($p=0,04$ e $p=0,01$, respectivamente) quanto na videocapilaroscopia ($p=0,02$ e $p=0,03$, respectivamente), maior número de megacapilares na videocapilaroscopia ($p=0,04$) e menor FPD no LDI ($p=0,03$) no T0. Piora do número de megacapilares na CPU panorâmica também foi mais frequente nos pacientes que evoluíram com úlceras digitais ($p=0,02$ na análise univariada). Houve uma tendência a níveis mais elevados do fator de von Willebrand nos pacientes com úlceras digitais em comparação aos pacientes que não evoluíram com úlceras digitais (Tabelas 10 e 11). Na análise multivariada, observamos que piora do número de megacapilares tanto na CPU panorâmica (OR=8,69 [IC de 95%: 1,28-58,98], $p=0,03$) quanto na videocapilaroscopia (OR=6,92 [IC de 95%: 0,94-50,79], $p=0,049$), sexo masculino (OR=40,55 [IC de 95%: 3,38-486,20], $p=0,01$) e níveis elevados de fvW (OR=1,03 [IC de 95%: 1,00-1,06], $p=0,03$) foram fatores preditores independentes para desenvolvimento de novas úlceras isquêmicas digitais (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10 - Fatores de risco na avaliação inicial para desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada

Parâmetros		Não desenvolveu úlceras digitais (48)	Desenvolveu úlceras digitais (10)	Análise univariada		Análise multivariada		
				p	p	OR (95% IC)		
Idade, média ± DP (anos)		54,42 ± 14,20	52,30 ± 14,18	0,67				
Sexo, n (%)	feminino	46 (95,8%)	6 (60,0%)	0,01	0,01	40,55 (3,38-486,20)		
	masculino	2 (4,2%)	4 (40,0%)					
Tempo de Fry, média ± DP (anos)		14,56 ± 10,01	15,10 ± 12,74	0,99				
Tempo de doença, média ± DP (anos)		10,63 ± 8,66	12,44 ± 7,06	0,21				
Forma cutânea	difusa	15 (31,9%)	7 (70,0%)	0,04				
	limitada	32 (68,1%)	3 (30,0%)					
Escore cutâneo, média ± DP		5,60 ± 5,18	10,30 ± 7,69	0,01				
<i>Puffy fingers</i> , n (%)		2 (4,2%)	1 (10,0%)	0,44				
Esclerodactilia, n (%)		45 (93,8%)	10 (100,0%)	1,00				
Telangiectasias, n (%)		23 (47,9%)	6 (60,0%)	0,49				
Úlceras digitais, n (%)		0 (0,0%)	0 (0,0%)	n/a				
Microcicatrizes, n (%)		25 (52,1%)	8 (80,0%)	0,16				
Necrose ou amputação, n (%)		1 (2,1%)	0 (0,0%)	1				
HAP, n (%)		1 (100%)	0 (0,0%)	1,00				
Intersticiopatia, n (%)		21 (43,8%)	6 (60%)	0,49				
CVF < 70%, n (%)		8 (21,1%)	0 (0%)	0,32				
Disfunção diastólica, n (%)		16 (34%)	2 (20%)	0,48				
Acometimento esofágico, n (%)		26 (55,3%)	8 (80%)	0,18				
Anti-RNA polimerase III, n (%)		4 (8,9%)	2 (20,0%)	0,30				
Anti-Scl-70, n (%)		3 (6,3%)	1 (10,0%)	0,54				
Anti-centrômero, n (%)		13 (27,1%)	3 (30,0%)	1,00				
AutoAc específico para ES, n (%)		20 (41,7%)	5 (50,0%)	0,73				
FAN, n (%)		46 (95,8%)	10 (100,0%)	1,00				
	Padrão CPU, n (%)	precoce	16 (34,8%)	2 (20,0%)	0,60			
		ativo	21 (45,7%)	5 (50,0%)				
tardio		9 (19,6%)	3 (30,0%)					
Laudo CPU, n (%)	normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,00				
	microangiopatia inespecífica	2 (4,2%)	0 (0,0%)					
	padrão SD	46 (95,8%)	10 (100,0%)					
Fator de von Willebrand, média ± DP		141,20 ± 47,19	174,05 ± 43,58	0,05	0,03	1,03 (1,00-1,06)		

HAP: hipertensão arterial pulmonar; CVF: capacidade vital forçada; FAN: fator antinúcleo

Tabela 11 - Parâmetros avaliados pela capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica, videocapilaroscopia e *laser Doppler imaging* e desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada

Parâmetros	Não desenvolveu úlceras digitais (48)	Desenvolveu úlceras digitais (10)	Análise univariada	Análise multivariada	
			p	p	OR (95% IC)
Capilaroscopia panorâmica					
Microhemorragias T0, média ± DP	0,89 ± 1,67	0,84 ± 0,94	0,53		
Número de capilares/mm T0, média ± DP	8,29 ± 1,58	7,14 ± 1,51	0,04		
Piora número de capilares/mm, n (%)	34 (70,8%)	6 (60%)	0,48		
Ramificados T0, média ± DP	0,01 ± 0,05	0,00 ± 0,00	0,42		
Ectasiados T0, média ± DP	2,93 ± 2,46	4,70 ± 3,51	0,06		
Piora ectasiados, n (%)	32 (66,7%)	6 (60,0%)	0,72		
Megacapilares T0, média ± DP	0,54 ± 0,81	1,02 ± 0,84	0,06		
Piora megacapilares, n (%)	13 (27,1%)	7 (70,0%)	0,02	0,03	8,69 (1,28-58,98)
Desvascularização T0, média ± DP	1,00 ± 0,76	1,68 ± 0,78	0,01		
Piora desvascularização, n (%)	32 (66,7%)	5 (50,0%)	0,47		
Videocapilaroscopia					
MicrohemorragiasT0, média ± DP	0,08 ± 0,15	0,10 ± 0,10	0,30		
Número de capilares/mm T0, média ± DP	7,83 ± 1,65	6,47 ± 1,52	0,02		
Piora número de capilares/mm, n (%)	36 (75%)	4 (40%)	0,06		
Ramificados T0, média ± DP	0,01 ± 0,02	0,00 ± 0,00	0,20		
Ectasiados T0, média ± DP	0,98 ± 0,81	1,40 ± 0,91	0,15		
Piora ectasiados, n (%)	35 (72,9%)	6 (60,0%)	0,46		
Megacapilares T0, média ± DP	0,19 ± 0,31	0,44 ± 0,43	0,04		
Piora megacapilares, n (%)	19 (39,6%)	7 (70,0%)	0,10	0,049	6,92 (0,94-50,79)
Desvascularização T0, média ± DP	1,05 ± 0,57	1,48 ± 0,49	0,03		
Piora desvascularização, n (%)	25 (52,1%)	4 (40%)	0,49		
FPD pré EF T0, média ± DP	348,89 ± 160,98	224,29 ± 150,59	0,03		

LDI: *laser Doppler imaging*; EF: estímulo frio

4.5 Fatores de risco para doença pulmonar intersticial em pacientes com ES estabelecida

Dos 60 pacientes incluídos, 8 já possuíam diagnóstico prévio de doença pulmonar intersticial (DPI) definida como CVF < 70%. Dentre os outros pacientes que realizaram a PFP e possuíam CVF > 70% na avaliação inicial, apenas 4 desenvolveram DPI. Devido ao pequeno número de pacientes com dados para análise, a mesma não foi realizada.

4.6 Fatores de risco para progressão da doença em pacientes com ES estabelecida

Dos 60 pacientes avaliados após 3 anos, 46,7% apresentaram progressão da doença. Destes, 13 (21,7%) apresentaram piora do escore cutâneo de Rodnan maior de que 20%, 5 (8,3%) apresentaram queda maior do que 10% da capacidade vital forçada, 13 (21,7%) ocorrência de novas úlceras digitais ou microcicatrizes, 3 (5%) ocorrência de intersticiopatia na TCAR de tórax, e 1 (1,7%) ocorrência de HAP.

Na análise univariada observamos maior frequência de acometimento cutâneo difuso, maior frequência de anti-Scl-70 positivo e maior frequência de piora do número de capilares/mm avaliada através da CPU panorâmica nos pacientes que tiveram progressão da doença ($p=0,045$, $p=0,04$, $p=0,04$, respectivamente) (Tabela 12 e 13). Os valores de FPD pré EF no T0 avaliados pelo LDI foram significativamente menores nos pacientes com progressão da doença em comparação àqueles que não apresentam progressão ($p=0,02$). Na análise multivariada, foi observado que menor FPD no T0 (OR=0,99 [IC de 95%: 0,99-1,00], $p=0,03$), acometimento cutâneo difuso (OR= 3,00 [IC de 95%: 1,01-8,93], $p=0,048$) e piora do número de capilares/mm avaliada pela CPU panorâmica (OR= 3,48 [IC de 95%: 1,04-11,61], $p=0,04$) foram fatores preditores independentes para progressão da doença em pacientes com ES estabelecida (Tabelas 12 e 13).

Tabela 12 - Fatores de risco na avaliação inicial para progressão geral da doença em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada

Parâmetros		Não progrediu doença (32)	Progrediu doença (28)	Análise	Análise
				univariada	multivariada
				p	p OR (95% IC)
Idade, média ± DP (anos)		56,66 ± 12,89	51,86 ± 15,33	0,19	
Sexo, n (%)	feminino	30(93,8%)	24(85,7%)	0,40	
	masculino	2(6,3%)	4(14,3%)		
Tempo de Fry, média ± DP (anos)		16,72 ± 11,31	12,07 ± 8,41	0,10	
Tempo de doença, média ± DP (anos)		12,13 ± 9,94	9,31 ± 5,55	0,42	
Forma cutânea	difusa	8(25,0%)	14(50,0%)	0,045	3,00 (1,01-8,93)
	limitada	24(75,0%)	14(50,0%)		
Escore cutâneo, média ± DP		5,69 ± 5,64	7,00 ± 6,06	0,31	
<i>Puffy fingers</i> , n (%)		1(3,1%)	2(7,1%)	0,59	
Esclerodactilia, n (%)		30(93,8%)	27(96,4%)	1,00	
Telangiectasias, n (%)		15(46,9%)	16(57,1%)	0,43	
Úlceras digitais, n (%)		1(3,1%)	1(3,1%)	1,00	
Microcicatrizes, n (%)		19(59,4%)	16(57,1%)	0,86	
Necrose ou amputação, n (%)		2(6,3%)	0(0,0%)	0,49	
HAP, n (%)		1 (100%)	0(0,0%)	1,00	
Intersticiopatia, n (%)		12 (37,5%)	16 (57,1%)	0,13	
CVF < 70%, n (%)		3 (11,1%)	5 (25%)	0,26	
Disfunção diastólica, n (%)		10 (31,3%)	8 (29,6%)	0,89	
Acometimento esofágico, n (%)		18 (56,3%)	18 (66,7%)	0,41	
Anti-RNA polimerase III, n (%)		3 (11,5%)	3(10,0%)	1,00	
Anti-Scl-70, n (%)		0(0,0%)	4(14,3%)	0,04	
Anti-centrômero, n (%)		10(31,3%)	8(28,6%)	1,00	
AutoAc específico para ES, n (%)		13 (40,6%)	14(50,0%)	0,47	
FAN, n (%)		31(96,9%)	27(96,4%)	1,00	
Padrão CPU, n (%)	precoce	12(40,0%)	7(25,0%)	0,38	
	ativo	11(36,7%)	15(53,6%)		
	tardio	7(23,3%)	6(21,4%)		
Laudo CPU, n (%)	normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,49	
	microangiopatia inespecífica	2(6,3%)	0(0,0%)		
	padrão SD	30(93,8%)	28(100,0%)		
Fator de von Willebrand, média ± DP		136,39 ± 53,17	159,42 ± 38,30	0,06	

HAP: hipertensão arterial pulmonar; CVF: capacidade vital forçada; FAN: fator antinúcleo

Tabela 13 - Parâmetros avaliados pela capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica, videocapilaroscopia e *laser Doppler imaging* e progressão geral da doença em pacientes com ES estabelecida – análises univariada e multivariada

Parâmetros	Não progrediu doença (28)	Progrediu doença (32)	Análise	Análise	
			univariada	p	OR (95% IC)
			p	p	
Capilaroscopia panorâmica					
Microhemorragias T0, média ± DP	0,96 ± 1,72	0,74 ± 1,34	0,76		
Número de capilares/mm T0, média ± DP	8,22 ± 1,69	7,87 ± 1,60	0,41		
Piora número de capilares/mm, n (%)	15 (53,6%)	25 (78,1%)	0,04	0,04	3,48 (1,04-11,61)
Ramificados T0, média ± DP	0,01 ± 0,06	0,00 ± 0,02	0,62		
Ectasiados T0, média ± DP	2,81 ± 2,71	3,58 ± 2,67	0,27		
Piora ectasiados, n (%)	20(62,5%)	20(71,4%)	0,46		
Megacapilares T0, média ± DP	0,49 ± 0,81	0,76 ± 0,82	0,20		
Piora megacapilares, n (%)	15(46,9%)	19(67,9%)	0,10		
Desvascularização T0, média ± DP	0,94 ± 0,74	1,29 ± 0,85	0,09		
Piora desvascularização, n (%)	16 (57,1%)	22 (68,8%)	0,35		
Videocapilaroscopia					
Microhemorragias T0, média ± DP	0,45 ± 0,80	0,43 ± 0,99	0,56		
Número de capilares/mm T0, média ± DP	7,80 ± 1,65	7,32 ± 1,76	0,28		
Piora número de capilares/mm, n (%)	21 (75%)	20 (62,5%)	0,30		
Ramificados T0, média ± DP	0,03 ± 0,10	0,02 ± 0,06	0,79		
Ectasiados T0, média ± DP	0,86 ± 0,78	1,26 ± 0,83	0,06		
Piora ectasiados, n (%)	22(68,8%)	21(75,0%)	0,59		
Megacapilares T0, média ± DP	0,18 ± 0,34	0,30 ± 0,34	0,17		
Piora megacapilares, n (%)	18(56,3%)	21(75,0%)	0,13		
Desvascularização T0, média ± DP	1,04 ± 0,56	1,25 ± 0,58	0,16		
Piora desvascularização, n (%)	11 (39,3%)	18 (56,3%)	0,19		
FPD pré EF T0, média ± DP	369,74 ± 154,96	272,86 ± 159,60	0,02	0,01	0,995 (0,991-0,999)

LDI: *laser Doppler imaging*; EF: estímulo frio

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, foram avaliados de forma prospectiva, aspectos clínicos e relacionados à microangiopatia periférica tanto em pacientes com ES precoce quanto em pacientes com doença já estabelecida em um seguimento de 3 anos. Em especial, a relevância dos métodos utilizados para avaliação de aspectos anatômicos e funcionais da microcirculação como preditores de progressão de doença foram avaliados extensamente.

Desde a classificação de Le Roy e Medsger (20) publicada em 2001, tem se dado cada vez mais importância para a investigação de fatores de risco para o desenvolvimento de ES em pacientes com FRy que possuam autoanticorpos específicos e/ou alterações capilaroscópicas típicas de ES. Após a publicação dos novos critérios de classificação de ES de 2013, o conceito de ES precoce vem sofrendo alterações, já que uma proporção dos pacientes com ES precoce segundo a definição de LeRoy e Medsger passaram a preencher os critérios de 2013 e não podem mais ser classificados como ES precoce. No entanto, uma parcela dos pacientes continua a não preencher os critérios do ACR/EULAR de 2013 e permanece sendo classificado como ES precoce.

Neste subgrupo de pacientes, observamos que a capilaroscopia foi um método capaz de identificar pacientes com risco de desenvolvimento de doença estabelecida. A presença de padrão ativo ou tardio na capilaroscopia periungueal conferiu risco para o desenvolvimento de doença estabelecida 30 vezes maior em um seguimento de 3 anos. Além disso, aumento do número de megacapilares e piora do grau de desvascularização foram mais frequentes nos indivíduos que desenvolveram ES estabelecida pela análise univariada. Portanto, podemos sugerir que uma microangiopatia mais grave na capilaroscopia periungueal pode estar associada à evolução para ES estabelecida.

Em nosso estudo, 23,5% dos pacientes com ES precoce desenvolveram ES estabelecida durante o acompanhamento. Alguns estudos prospectivos avaliaram a incidência de ES no seguimento de pacientes com FRy e enfatizaram o papel da capilaroscopia na identificação de indivíduos com risco de desenvolvimento de ES (21, 25-27, 44, 57-60). Nesses estudos, a frequência de progressão para ES variou de 17,3% (44) para 92% (57) dos pacientes.

Em 2008, Koenig *et al* observaram que 47% dos 140 pacientes com padrão SD na CPU panorâmica e/ou autoanticorpos específicos para ES, classificados como ES precoce, evoluíram para ES estabelecida em 5 anos. Neste estudo, positividade para FAN e autoanticorpos específicos da ES, além de presença de capilares dilatados e de desvascularização na CPU, foram fatores preditores para desenvolvimento de ES estabelecida (21). No mesmo ano, Ingegnoli *et al* observaram que 18 dos 104 pacientes com FRy que não preenchiam critérios para doença reumatológica autoimune

desenvolveram ES em uma mediana de 3 anos de acompanhamento (44). Neste estudo, presença de megacapilares, microhemorragias e o número de capilares menor do que 7 por mm foram associados ao desenvolvimento de doença do espectro da ES. Em outro estudo publicado em 2012, pesquisadores observaram que 92% dos pacientes com ES precoce, com padrão SD na CPU e/ou autoanticorpos específicos para ES, evoluíram para ES estabelecida em um seguimento de 5 anos (57). Entretanto, 48,7% dos pacientes com ES precoce tinham uma ou mais alterações funcionais no ecocardiograma, manometria e prova de função pulmonar (57). Em outro estudo do mesmo grupo, 52,3% dos pacientes com padrão SD e positividade para estes autoanticorpos evoluíram para doença estabelecida em um seguimento de 3 anos (60). Comparado aos estudos anteriores, observamos uma frequência menor de pacientes com ES precoce que evoluíram para ES estabelecida. Entretanto, nossa amostra de indivíduos com ES precoce apresentou menor frequência de acometimento visceral, com apenas 8,8% dos pacientes com disfunção diastólica observada inicialmente no ecocardiograma e nenhum paciente com esofagopatia ou intersticiopatia.

Adicionalmente, a variação na frequência de desenvolvimento de ES entre os diferentes estudos pode estar relacionada a diferenças no tempo de acompanhamento e na definição de ES precoce. Além disso, parte desses estudos foi realizada antes da publicação dos novos critérios ACR / EULAR de 2013 para ES, e é possível que uma parcela desses pacientes seja classificada como ES estabelecida na avaliação inicial, utilizando os novos critérios.

Tais estudos também observaram maior risco de progressão de ES precoce para estabelecida em pacientes que apresentavam maior grau de desvascularização na capilaroscopia periungueal (57). Em nosso estudo, encontramos também uma maior frequência de piora do grau de desvascularização observado na CPU panorâmica entre os pacientes com ES precoce que evoluíram para ES estabelecida. No presente estudo, a positividade de autoanticorpos associados à ES e sua associação com padrão SD não conferiram risco para o desenvolvimento de ES estabelecida, o que não está de acordo com estudos prévios (21, 60). Observamos que 62,5% dos pacientes que desenvolveram ES apresentavam positividade para autoanticorpos específicos para ES e 37,5% apresentavam associação desses autoanticorpos com padrão SD na avaliação inicial, no entanto, não encontramos uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos que desenvolveram e não desenvolveram doença estabelecida. Tal achado pode ser decorrente do menor número de indivíduos em nossa amostra. Além disso, de forma inesperada, anti-Sc170 não foi observado entre os pacientes de nossa coorte.

Além do estudo pioneiro de Koenig *et al* (21), este é o primeiro estudo a avaliar a progressão das alterações capilaroscópicas em pacientes com ES precoce. Interessantemente, Koenig *et al* observaram que a frequência do padrão SD aumentou de 58% para 88% nos pacientes que apresentaram progressão para ES estabelecida durante o acompanhamento. Especificamente, houve um aumento na frequência de capilares ectasiados e perda capilar. Neste estudo, dilatação capilar e desvascularização observados na avaliação inicial conferiram maior risco para o desenvolvimento de ES estabelecida.

Em nosso estudo, o padrão SD foi observado em 75% dos pacientes que evoluíram para ES estabelecida, e não houve um aumento na frequência do padrão SD durante o seguimento. No entanto, em conformidade com o estudo de Koenig *et al* (21), houve piora nos parâmetros da capilaroscopia em mais da metade dos pacientes durante o seguimento. Particularmente, a frequência dos padrões ativo e tardio aumentou de 22,7% para 40,9% e foi associada a um maior risco de desenvolvimento de ES. Esses achados sugerem que pacientes com ES precoce com padrão de SD apresentam uma progressão da microangiopatia, especialmente com piora da dilatação capilar, assim como piora da desvascularização.

Em nossa amostra, pacientes com ES precoce que evoluíram para ES estabelecida apresentavam maior proporção de *puffy fingers* na avaliação inicial. Tal observação está de acordo com estudo publicado em 2011, baseado em consenso de especialistas do EUSTAR, no qual *puffy fingers* foi considerado um dos fatores importantes para o diagnóstico precoce da ES (22). Uma análise preliminar publicada recentemente destacou a importância de *puffy fingers* para a investigação de ES precoce em pacientes com FRy (61).

Dentre os indivíduos com ES precoce avaliados, 3 pacientes (8,8%) apresentavam disfunção diastólica no início do estudo. No entanto, não houve diferença entre as frequências de disfunção diastólica nos grupos que desenvolveram e não desenvolveram doença estabelecida, sugerindo que esse achado ecocardiográfico também pode ser secundário a outras condições, como a cardiomiopatia hipertrófica hipertensiva. Também observamos um aumento significativo na proporção de pacientes com dismotilidade esofágica durante o acompanhamento (nenhum no início até 14 no final do seguimento). Entretanto, apenas 3 desses pacientes que desenvolveram esofagopatia progrediram para ES estabelecida.

No grupo dos pacientes com ES estabelecida optamos por avaliar fatores de risco associados a progressão geral da doença (avaliada mediante exame clínico, prova de

função pulmonar e tomografia computadorizada de tórax), desenvolvimento de novas úlceras digitais e desenvolvimento de pneumopatia intersticial. Outras manifestações, como HAP e crise renal esclerodérmica, não foram avaliadas devido ao pequeno número de pacientes que desenvolveram tais manifestações ao longo do seguimento.

A análise dos pacientes com ES estabelecida evidenciou que sexo masculino, níveis séricos elevados de fW e aumento do número de megacapilares tanto na CPU panorâmica quanto na videocapilaroscopia foram fatores preditores independentes para o desenvolvimento de novas úlceras digitais ao longo do seguimento de 3 anos. Vários estudos prospectivos anteriores avaliaram a influência dos parâmetros analisados na capilaroscopia no desenvolvimento de úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida (29, 30, 62). A presença do sexo masculino como fator de risco para desenvolvimento de úlceras digitais neste grupo de pacientes já foi estudada anteriormente (63, 64). Em um estudo publicado recentemente, pacientes com ES mais jovens e do sexo masculino apresentaram maior incidência de úlceras digitais ao longo de um seguimento de 10 anos. Entretanto, apenas a positividade para anti-topoisomerase I foi associada ao desenvolvimento de novas úlceras digitais, na análise multivariada (63). Em 2016, Silva *et al* observaram que a presença de padrão tardio na videocapilaroscopia foi associada a novos eventos de úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida (29). Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Smith *et al* , no qual foi observado que a chance de pacientes com ES estabelecida com padrão tardio na videocapilaroscopia de desenvolver úlceras digitais ao longo de 2 anos é cerca de 15 vezes maior, quando comparado a pacientes com ES com padrão normal na videocapilaroscopia (30). Já outro estudo publicado em 2009 observou que presença de maior número de megacapilares na avaliação inicial de pacientes com ES foi fator preditor para desenvolvimento de novas úlceras digitais nesses indivíduos, na análise univariada, ao longo de um seguimento de 3 meses. O mesmo grupo de pesquisadores propôs um índice de avaliação do risco de desenvolvimento de novas úlceras (62). Em nosso estudo, não houve influência do padrão da capilaroscopia no desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES. Observamos, porém, que pacientes com ES que desenvolveram novas úlceras digitais apresentavam maior grau de desvascularização na capilaroscopia periungueal e menor fluxo de polpa digital avaliado pelo *laser Doppler imaging* na análise univariada. O único parâmetro da CPU panorâmica e videocapilaroscopia preditor para desenvolvimento de novas úlceras digitais nos indivíduos com ES foi aumento do número de megacapilares, na análise multivariada. Tal achado sugere que a dilatação capilar observada na microcirculação de pacientes com ES não promove melhora funcional do fluxo sanguíneo

periférico nestes indivíduos, ocorrendo vasculopatia periférica grave com desenvolvimento de úlceras digitais e microcicatrices.

Optamos por dosar o fator de von Willebrand, um marcador de ativação endotelial, nos indivíduos participantes de nossa pesquisa, com o objetivo de avaliar sua influência nas manifestações clínicas desenvolvidas ao longo do acompanhamento dos pacientes com ES. Estudos anteriores já avaliaram outros marcadores de disfunção endotelial como fatores para desenvolvimento de úlceras digitais nesses pacientes (29, 65). De modo interessante, observamos que níveis séricos elevados de fvW foi um dos fatores preditores independentes para desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida ao longo do seguimento de 3 anos. O fvW é um importante marcador de lesão endotelial, o que pode justificar a elevação dos seus níveis séricos em pacientes com microangiopatia da ES. Tal achado sugere que o fvW possa ser utilizado como um biomarcador para avaliação do risco de desenvolvimento de úlceras digitais

A ES é uma doença multissistêmica, cuja evolução é extremamente variável. Nosso estudo evidenciou que pacientes com ES que evoluíram com progressão geral da doença apresentavam maior frequência de positividade para anti-Scl-70 e de espessamento cutâneo difuso, além de maior frequência de piora do número de capilares/mm avaliado pela CPU panorâmica e menor FPD avaliado pelo LDI. Na análise multivariada, menor FPD basal analisado pelo LDI, acometimento cutâneo difuso e piora do número de capilares/mm avaliada pela CPU panorâmica foram fatores preditores independentes para progressão geral da doença nesses pacientes.

Em um estudo publicado este ano, perda capilar observada na videocapilaroscopia ao longo do seguimento de 3 anos foi um marcador independente de progressão geral da ES em uma coorte de 140 pacientes (34). Em outro estudo recente, Avouac *et al* observaram que a presença de sinovite e de atrito tendíneo, além de forma clínica difusa e positividade para anti-topoisomerase I, representaram preditores independentes para progressão geral da doença em pacientes com ES (33). O número pequeno de pacientes incluídos nestas análises podem ter influenciado os resultados heterogêneos obtidos.

De forma interessante, observamos progressão significativa da microangiopatia nos pacientes com ES. Observamos na CPU panorâmica e videocapilaroscopia um aumento de capilares ectasiados ao longo do seguimento de 3 anos nos pacientes com ES precoce, ao passo que nos pacientes com ES estabelecida verificamos um aumento tanto do número de capilares ectasiados quanto do número de megacapilares, além de uma redução do número de capilares/mm acompanhado de um aumento do grau de desvascularização. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Sulli *et al*

(43), no qual foi observado um aumento dos escores de capilares ectasiados, capilares ramificados e de perda capilar no pacientes com ES, durante um seguimento de 6 anos. Por outro lado, foi observada uma redução dos escores de megacapilares e de microhemorragias ao longo do acompanhamento desses pacientes. Em outro estudo (66), foram acompanhados 38 pacientes com ES com padrão precoce na videocapilaroscopia e foi verificado que, ao final de 7 anos de seguimento, 47% dos pacientes mantinham o padrão precoce na videocapilaroscopia, 34% dos pacientes evoluíram para o padrão ativo e 13 % evoluíram para o padrão tardio. Nesse estudo, foram selecionados pacientes que preenchiam tanto os critérios de LeRoy (20) quanto os critérios do ACR (18) para diagnóstico de ES. Tal achado sugere que as alterações capilaroscópicas observadas nos pacientes com ES não são estáticas e sofrem alterações com a evolução da doença.

Ao longo do acompanhamento em nosso serviço, tanto os pacientes com ES precoce quanto os com ES estabelecida apresentaram elevação dos níveis de fWV, ao passo em que houve piora do FPD em pacientes com ES estabelecida, avaliado pelo LDI. Tais observações sugerem que disfunção endotelial está presente já em fases iniciais da ES; entretanto, a piora funcional da microcirculação é mais acelerada em pacientes com ES estabelecida. Em alguns estudos prospectivos que avaliaram o efeito de algumas drogas sobre a microcirculação de pacientes com ES, foi realizada a medida do FPD por meio do LDI (67-70). Tais estudos incluíram somente pacientes com ES estabelecida, com exceção de Denton *et al*, que selecionaram 19 pacientes com ES difusa ou limitada e 11 pacientes com FRy primário, estes com FAN negativo, capilaroscopia periungueal normal e sem evidência clínica de doença reumatológica autoimune. Nesta avaliação, não houve diferença no tempo de recuperação do FPD pós estímulo frio avaliado pela fluxometria por *laser Doppler* antes e após 24 semanas de tratamento convencional ou com heparina de baixo peso molecular (70). Nosso estudo avaliou prospectivamente de forma inédita o FPD por meio do LDI em pacientes com ES precoce.

Nosso estudo apresenta algumas limitações, como a perda de 25,4% dos pacientes no seguimento, com conseqüente influência sobre o tamanho da amostra. Além disso, não foi possível avaliar de forma adequada o desenvolvimento de pneumopatia intersticial, HAP e crise renal nos pacientes com ES estabelecida, uma vez que apenas dois pacientes foram submetidos ao cateterismo cardíaco direito e nenhum apresentou crise renal.

Em conclusão, a capilaroscopia periungueal mostrou-se importante na identificação da evolução de pacientes com ES precoce para doença estabelecida. Progressão da dilatação capilar foi fator determinante para o desenvolvimento de ES nesses pacientes. A identificação de fatores de risco para o desenvolvimento de doença estabelecida em

pacientes com ES precoce é uma ferramenta útil para o acompanhamento mais rigoroso deste subgrupo de pacientes que apresentam maiores chances de evolução para ES estabelecida.

Adicionalmente, a capilaroscopia periungueal mostrou ter importante papel na avaliação do desenvolvimento de novas úlceras digitais e progressão geral da doença em pacientes com ES. Aumento do número de megacapilares foi um fator de risco para o desenvolvimento de novas úlceras digitais em pacientes com ES estabelecida. Além disso, piora do número de capilares/mm representou um fator preditor para progressão da doença em pacientes com ES estabelecida.

Além da capilaroscopia periungueal, outros métodos que avaliam aspectos da microcirculação, como a dosagem sérica do fator de von Willebrand e o *laser Doppler imaging*, auxiliaram no reconhecimento de fatores de risco para desenvolvimento de manifestações clínicas específicas da ES, como úlceras digitais, e para progressão geral da ES. Tais resultados encontrados em nossa amostra de pacientes com ES estabelecida complementam estudos anteriores e reforçam a importância do acompanhamento desses pacientes com avaliações clínicas e laboratoriais regulares.

Estudos futuros são necessários para aprimorar o reconhecimento de características clínicas e alterações anatômicas e funcionais da microcirculação que possam ter influência sobre o desenvolvimento de ES estabelecida em pacientes com ES precoce, assim como sobre a progressão da doença em pacientes com ES estabelecida.

6. CONCLUSÕES

- Presença de padrão ativo ou tardio observado na capilaroscopia periungueal conferiu maior risco de desenvolvimento de ES estabelecida entre os pacientes com ES precoce.
- Aumento do número de megacapilares na capilaroscopia periungueal, sexo masculino e níveis séricos elevados de fator de von Willebrand foram fatores preditores para desenvolvimento de novas úlceras isquêmicas digitais em pacientes com ES estabelecida.
- Menor fluxo de polpa digital avaliado pelo *laser Doppler imaging*, forma cutânea difusa e piora do número de capilares/mm foram fatores preditores para progressão da doença em pacientes com ES estabelecida.
- Ao longo do seguimento, houve progressão da dilatação capilar e da desvascularização em pacientes com ES estabelecida, e progressão da dilatação capilar em pacientes com ES precoce.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barnes J, Mayes MD. Epidemiology of systemic sclerosis: incidence, prevalence, survival, risk factors, malignancy, and environmental triggers. *Curr Opin Rheumatol*. 2012;24(2):165-70.
2. Horimoto AM, Matos EN, Costa MR, Takahashi F, Rezende MC, Kanomata LB, et al. Incidence and prevalence of systemic sclerosis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Reumatol*. 2017;57(2):107-114.
3. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet*. 2017 Oct 7;390(10103):1685-1699.
4. Gayraud M. Raynaud's phenomenon. *Joint Bone Spine*. 2007;74(1):e1-8.
5. Wigley FM. Clinical practice. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med*. 2002;347(13):1001-8.
6. Abraham DJ, Krieg T, Distler J, Distler O. Overview of pathogenesis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48 Suppl 3:iii3-7.
7. Herrick AL. Pathogenesis of Raynaud's phenomenon. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44(5):587-96.
8. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med*. 2016;375(6):556-65.
9. Flavahan NA. A vascular mechanistic approach to understanding Raynaud phenomenon. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(3):146-58.
10. Nichols WL, Hultin MB, James AH, Manco-Johnson MJ, Montgomery RR, Ortel TL, et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia*. 2008;14(2):171-232.
11. Herrick AL, Illingworth K, Blann A, Hay CR, Hollis S, Jayson MI. Von Willebrand factor, thrombomodulin, thromboxane, beta-thromboglobulin and markers of fibrinolysis in primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 1996;55(2):122-7.
12. Scheja A, Akesson A, Geborek P, Wildt M, Wollheim CB, Wollheim FA, et al. Von Willebrand factor propeptide as a marker of disease activity in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Res*. 2001;3(3):178-82.
13. Kumánovics G, Minier T, Radics J, Pálkás L, Berki T, Czirják L. Comprehensive investigation of novel serum markers of pulmonary fibrosis associated with systemic sclerosis and dermato/polymyositis. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(3):414-20.
14. Campbell PM, LeRoy EC. Pathogenesis of systemic sclerosis: a vascular hypothesis. *Semin Arthritis Rheum*. 1975;4(4):351-68.
15. Sunderkötter C, Riemekasten G. Pathophysiology and clinical consequences of Raynaud's phenomenon related to systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45 Suppl 3:iii33-5.
16. Wei J, Bhattacharyya S, Tourtellotte WG, Varga J. Fibrosis in systemic sclerosis: emerging concepts and implications for targeted therapy. *Autoimmun Rev*. 2011;10(5):267-75.
17. Desbois AC, Cacoub P. Systemic sclerosis: An update in 2016. *Autoimmun Rev*. 2016;15(5):417-26.
18. 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.
19. Valentini G, Marcocchia A, Cuomo G, Iudici M, Vettori S. The concept of early systemic sclerosis following 2013 ACR/EULAR criteria for the classification of systemic sclerosis. *Curr Rheumatol Rev*. 2014;10(1):38-44.
20. LeRoy EC, Medsger TA. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2001;28(7):1573-6.
21. Koenig M, Joyal F, Fritzler MJ, Roussin A, Abrahamowicz M, Boire G, et al. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2008;58(12):3902-12.
22. Avouac J, Fransen J, Walker UA, Riccieri V, Smith V, Muller C, et al. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of a Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):476-81.

23. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an american college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2737-47.
24. Harper FE, Maricq HR, Turner RE, Lidman RW, Leroy EC. A prospective study of Raynaud phenomenon and early connective tissue disease. A five-year report. *Am J Med.* 1982;72(6):883-8.
25. Hirschl M, Hirschl K, Lenz M, Katzenschlager R, Hutter HP, Kundi M. Transition from primary Raynaud's phenomenon to secondary Raynaud's phenomenon identified by diagnosis of an associated disease: results of ten years of prospective surveillance. *Arthritis Rheum.* 2006;54(6):1974-81.
26. Fitzgerald O, Hess EV, O'Connor GT, Spencer-Green G. Prospective study of the evolution of Raynaud's phenomenon. *Am J Med.* 1988;84(4):718-26.
27. Pavlov-Dolijanovic S, Damjanov NS, Stojanovic RM, Vujasinovic Stupar NZ, Stanisavljevic DM. Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: a follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud's phenomenon. *Rheumatol Int.* 2012;32(10):3039-45.
28. Gualtierotti R, Ingegnoli F, Griffini S, Grovetti E, Borghi MO, Bucciarelli P, et al. Detection of early endothelial damage in patients with Raynaud's phenomenon. *Microvasc Res.* 2017;113:22-8.
29. Silva I, Teixeira A, Oliveira J, Almeida I, Almeida R, Águas A, et al. Endothelial Dysfunction and Nailfold Videocapillaroscopy Pattern as Predictors of Digital Ulcers in Systemic Sclerosis: a Cohort Study and Review of the Literature. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2015;49(2):240-52.
30. Smith V, Decuman S, Sulli A, Bonroy C, Piette Y, Deschepper E, et al. Do worsening scleroderma capillaroscopic patterns predict future severe organ involvement? a pilot study. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(10):1636-9.
31. Assassi S, Sharif R, Lasky RE, McNearney TA, Estrada-Y-Martin RM, Draeger H, et al. Predictors of interstitial lung disease in early systemic sclerosis: a prospective longitudinal study of the GENISOS cohort. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(5):R166.
32. Hasegawa M, Asano Y, Endo H, Fujimoto M, Goto D, Ihn H, et al. Investigation of prognostic factors for skin sclerosis and lung function in Japanese patients with early systemic sclerosis: a multicentre prospective observational study. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51(1):129-33.
33. Avouac J, Walker UA, Hachulla E, Riemekasten G, Cuomo G, Carreira PE, et al. Joint and tendon involvement predict disease progression in systemic sclerosis: a EUSTAR prospective study. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(1):103-9.
34. Avouac J, Lepri G, Smith V, Toniolo E, Hurabielle C, Vallet A, et al. Sequential nailfold videocapillaroscopy examinations have responsiveness to detect organ progression in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2017 Aug;47(1):86-94.
35. Medsger TA, Bombardieri S, Czirjak L, Scorza R, Della Rossa A, Bencivelli W. Assessment of disease severity and prognosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21(3 Suppl 29):S42-6.
36. Maricq HR. Wide-field capillary microscopy. *Arthritis Rheum.* 1981;24(9):1159-65.
37. Maricq HR, Maize JC. Nailfold capillary abnormalities. *Clin Rheum Dis.* 1982;8(2):455-78.
38. Andrade LE, Gabriel Júnior A, Assad RL, Ferrari AJ, Atra E. Panoramic nailfold capillaroscopy: a new reading method and normal range. *Semin Arthritis Rheum.* 1990;20(1):21-31.
39. Lee P, Leung FY, Alderdice C, Armstrong SK. Nailfold capillary microscopy in the connective tissue diseases: a semiquantitative assessment. *J Rheumatol.* 1983;10(6):930-8.
40. Herrick A. Diagnosis and management of scleroderma peripheral vascular disease. *Rheum Dis Clin North Am.* 2008;34(1):89-114; vii.
41. Cutolo M, Grassi W, Matucci Cerinic M. Raynaud's phenomenon and the role of capillaroscopy. *Arthritis Rheum.* 2003;48(11):3023-30.
42. De Angelis R, Grassi W, Cutolo M. A growing need for capillaroscopy in rheumatology. *Arthritis Rheum.* 2009;61(3):405-10.
43. Sulli A, Secchi ME, Pizzorni C, Cutolo M. Scoring the nailfold microvascular changes during the capillaroscopic analysis in systemic sclerosis patients. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(6):885-7.

44. Ingegnoli F, Boracchi P, Gualtierotti R, Lubatti C, Meani L, Zahalkova L, et al. Prognostic model based on nailfold capillaroscopy for identifying Raynaud's phenomenon patients at high risk for the development of a scleroderma spectrum disorder: PRINCE (prognostic index for nailfold capillaroscopic examination). *Arthritis Rheum.* 2008;58(7):2174-82.
45. Sekiyama JY, Camargo CZ, Andrade LE, Kayser C. Reliability of Widefield Nailfold Capillaroscopy and Videocapillaroscopy in the Assessment of Patients with Raynaud's Phenomenon. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013.
46. Murray AK, Herrick AL, King TA. Laser Doppler imaging: a developing technique for application in the rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(10):1210-8.
47. Herrick AL, Clark S. Quantifying digital vascular disease in patients with primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 1998;57(2):70-8.
48. Clark S, Campbell F, Moore T, Jayson MI, King TA, Herrick AL. Laser doppler imaging--a new technique for quantifying microcirculatory flow in patients with primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Microvasc Res.* 1999;57(3):284-91.
49. Barbano B, Marra AM, Quarta S, Gigante A, Barilaro G, Gasperini ML, et al. In systemic sclerosis skin perfusion of hands is reduced and may predict the occurrence of new digital ulcers. *Microvasc Res.* 2017;110:1-4.
50. Gunawardena H, Harris ND, Carmichael C, McHugh NJ. Maximum blood flow and microvascular regulatory responses in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(7):1079-82.
51. Correa MJ, Andrade LE, Kayser C. Comparison of laser Doppler imaging, fingertip lacticemy test, and nailfold capillaroscopy for assessment of digital microcirculation in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(4):R157.
52. Camargo CZ, Sekiyama JY, Arismendi MI, Kayser C. Microvascular abnormalities in patients with early systemic sclerosis: less severe morphological changes than in patients with definite disease. *Scand J Rheumatol.* 2015;44(1):48-55.
53. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol.* 1988;15(2):202-5.
54. 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):1281-5.
55. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J.* 2016;37(1):67-119.
56. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2000;27(1):155-60.
57. Valentini G, Vettori S, Cuomo G, Iudici M, D'Abrasca V, Capocotta D, et al. Early systemic sclerosis: short-term disease evolution and factors predicting the development of new manifestations of organ involvement. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(4):R188.
58. Gerbracht DD, Steen VD, Ziegler GL, Medsger TA, Rodnan GP. Evolution of primary Raynaud's phenomenon (Raynaud's disease) to connective tissue disease. *Arthritis Rheum.* 1985;28(1):87-92.
59. Kallenberg CG, Wouda AA, Hoet MH, van Venrooij WJ. Development of connective tissue disease in patients presenting with Raynaud's phenomenon: a six year follow up with emphasis on the predictive value of antinuclear antibodies as detected by immunoblotting. *Ann Rheum Dis.* 1988;47(8):634-41.
60. Valentini G, Marcoccia A, Cuomo G, Vettori S, Iudici M, Bondanini F, et al. Early systemic sclerosis: analysis of the disease course in patients with marker autoantibody and/or capillaroscopic positivity. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2014;66(10):1520-7.

61. Minier T, Guiducci S, Bellando-Randone S, Bruni C, Lepri G, Czirják L, et al. Preliminary analysis of the very early diagnosis of systemic sclerosis (VEDOSS) EUSTAR multicentre study: evidence for puffy fingers as a pivotal sign for suspicion of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(12):2087-93.
62. Sebastiani M, Manfredi A, Colaci M, D'Amico R, Malagoli V, Giuggioli D, et al. Capillaroscopic skin ulcer risk index: a new prognostic tool for digital skin ulcer development in systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum*. 2009;61(5):688-94.
63. Wirz EG, Jaeger VK, Allanore Y, Riemekasten G, Hachulla E, Distler O, et al. Incidence and predictors of cutaneous manifestations during the early course of systemic sclerosis: a 10-year longitudinal study from the EUSTAR database. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(7):1285-92.
64. Sunderkötter C, Herrgott I, Brückner C, Moinzadeh P, Pfeiffer C, Gerss J, et al. Comparison of patients with and without digital ulcers in systemic sclerosis: detection of possible risk factors. *Br J Dermatol*. 2009;160(4):835-43.
65. Avouac J, Meune C, Ruiz B, Couraud PO, Uzan G, Boileau C, et al. Angiogenic biomarkers predict the occurrence of digital ulcers in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(3):394-9.
66. Sulli A, Pizzorni C, Smith V, Zampogna G, Ravera F, Cutolo M. Timing of transition between capillaroscopic patterns in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(3):821-5.
67. Bose N, Bena J, Chatterjee S. Evaluation of the effect of ambrisentan on digital microvascular flow in patients with systemic sclerosis using laser Doppler perfusion imaging: a 12-week randomized double-blind placebo controlled trial. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:44.
68. Meijs J, Voskuyl AE, Bloemsaat-Minekus JP, Vonk MC. Blood flow in the hands of a predefined homogeneous systemic sclerosis population: the presence of digital ulcers and the improvement with bosentan. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54(2):262-9.
69. Timár O, Szekanecz Z, Kerekes G, Végh J, Oláh AV, Nagy G, et al. Rosuvastatin improves impaired endothelial function, lowers high sensitivity CRP, complement and immunocomplex production in patients with systemic sclerosis--a prospective case-series study. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(5):R105.
70. Denton CP, Howell K, Stratton RJ, Black CM. Long-term low molecular weight heparin therapy for severe Raynaud's phenomenon: a pilot study. *Clin Exp Rheumatol*. 2000;18(4):499-502.

8. ANEXOS

Anexo 1-Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

NOME _____
DATA _____

MICROANGIOPATIA EM PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA: ESTUDO PROSPECTIVO EM PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE E ESTABELECIDADA

A Esclerose Sistêmica (ES) é uma doença autoimune do tecido conjuntivo, caracterizada por microangiopatia obliterativa e fibrose cutânea e de órgãos internos. Além do efeito sobre a pele, pode afetar o sistema osteoarticular, pulmões, rins, coração e trato gastrointestinal. Sabemos que alterações vasculares podem estar envolvidas na origem desta doença. Assim sendo, uma avaliação mais adequada e objetiva das alterações microcirculatórias (vasos sanguíneos de menor calibre) , assim como dosagem de marcadores de dano vascular encontradas em pacientes com ES precoce e estabelecida, poderiam ajudar a compreender melhor a progressão desta doença e com isso estabelecer tratamentos mais eficientes.

O presente estudo visa reavaliar as alterações da microcirculação em pacientes com ES precoce e estabelecida com a realização de três exames: capilaroscopia periungueal panorâmica, videocapilaroscopia e *Laser Doppler Imaging*. Além disso, será coletada uma amostra de sangue para dosagem de fator de von Willebrand (fvW) , que são marcadores de lesão vascular. Serão reavaliados pacientes que participaram do estudo "Associação entre marcadores séricos e alterações na microcirculação em pacientes com fenômeno de Raynaud" - parecer CEP número 0825/10.

As presentes informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste estudo, no qual você será submetido aos seguintes exames:

- capilaroscopia periungueal panorâmica e videocapilaroscopia: consiste na visualização da região da cutícula das unhas através de um microscópio. Será necessário não retirar a cutícula 30 dias antes da realização do exame. Não há desconforto nem riscos ao realizar este exame

- *Laser Doppler imaging*: avaliação do fluxo sanguíneo por meio de imagens geradas por um aparelho que emite um feixe de luz, não apresenta desconforto e é isento de riscos

- coleta de exame de sangue: serão coletados 5 ml de sangue por punção da veia antecubital. O procedimento será realizado por uma enfermeira na casinha da Reumatologia, apresenta desconforto mínimo durante a punção e é isento de riscos

Durante qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O investigador principal é a Dra Cintia Zumstein Camargo pertencente à disciplina de Reumatologia do Hospital São Paulo que pode ser encontrado na Disciplina de Reumatologia à Rua Botucatu, 470 – 3º andar (Fone: 5576-4239). Havendo qualquer dúvida quanto à ética desta pesquisa, os pacientes deverão se dirigir ao Comitê de ética em Pesquisa, situado na Rua Botucatu, 572, primeiro andar, (fone: 5571-1062 ou 5539-7162).

Os pacientes terão plena liberdade de se recusarem a participar ou de retirarem o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer forma de penalização ou prejuízo ao seu tratamento.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

Os pacientes terão o direito de serem atualizados em relação aos resultados obtidos durante a pesquisa desde que estes sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Não haverá despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não haverá compensação financeira relacionada à

sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será arcada pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente provocado pelos procedimentos ou tratamentos propostos pelo estudo (nexo causal comprovado), o participante terá direito a tratamento médico na instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Os pesquisadores se comprometem a utilizar os dados e o material coletados somente para esta pesquisa. O acesso aos seus registros médicos será tratado com confidencialidade, respeitando a legislação brasileira, uma vez que serão coletados dados de prontuários conforme descrito no formulário da plataforma Brasil.

Acredito ter recebido explicações suficientes a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo da **MICROANGIOPATIA EM PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA: ESTUDO PROSPECTIVO EM PACIENTES COM DOENÇA PRECOCE E ESTABELECIDADA**

Eu discuti com a Dra. Cintia Zumstein Camargo sobre a minha decisão de participar voluntariamente deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia ao acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento antes, durante e após o mesmo, sem que haja penalidade ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido ou no meu atendimento neste serviço.

Este termo está sendo disponibilizado em 2 vias originais, uma para o participante do estudo e outra para o pesquisador.

_____ **Data** __/__/____

Assinatura do paciente

_____ **Data** __/__/____

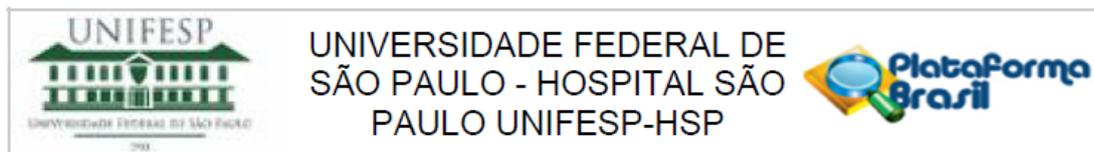
Assinatura de testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a participação neste estudo.

_____ **Data** __/__/____

Assinatura do pesquisador

Anexo 2- Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Microangiopatia em pacientes com Esclerose Sistêmica: estudo prospectivo em pacientes com doença precoce e estabelecida

Pesquisador: Cintia Zumstein Camargo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 51962314.6.0000.5505

Instituição Proponente: Departamento de Medicina

Patrocinador Principal: Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.496.550

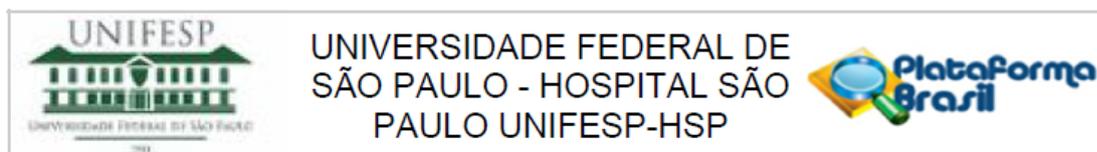
Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta de pendência apontada no parecer 1.387.946 de 13/1/2016

Nº CEP: 1582/2015

A Esclerose Sistêmica (ES) é uma doença autoimune caracterizada por fibrose da pele e órgãos internos. Nos últimos anos, a propagação de métodos diagnósticos possibilitou a identificação de um maior número de indivíduos com características da doença que não preenchem os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR). Neste contexto, em 2001, LeRoy e Medsger propuseram critérios para o diagnóstico precoce da ES. Apesar da importância do diagnóstico precoce da ES, poucos estudos prospectivos avaliaram a incidência de ES no acompanhamento de pacientes com FRy. A capilaroscopia periungueal (CPU) panorâmica é um método que permite a visualização da fileira distal das alças capilares da região periungueal dos dedos das mãos. Além da CPU panorâmica, a videocapilaroscopia vem sendo também amplamente utilizada. Já o laser Doppler imaging (LDI) é um método de avaliação dinâmica do fluxo sanguíneo nos pacientes com ES. Da mesma forma, a pesquisa de auto-anticorpos e de marcadores séricos para avaliação de função endotelial vem

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
 Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)5571-1062 Fax: (11)5539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.496.550

ganhando importância na literatura.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliação de fatores de risco para evolução da microangiopatia periférica em pacientes com ES por meio de realização de CPU panorâmica, videocapilaroscopia e LDI, em um seguimento de 3anos.

Objetivo Secundário: Correlacionar a microangiopatia em pacientes com ES precoce e estabelecida com parâmetros clínicos e marcadores séricos de lesão endotelial (endotelina-1 e fator de von Willebrand), visando a identificação de fatores de risco relacionados a evolução e gravidade de doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

CONFORME DECLARADO NO PARECER INICIAL

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo com o objetivo acadêmico de Doutorado, vinculado ao departamento/ Disciplina de Reumatologia da Unifesp, Campus Vila Clementino. Pesquisador responsável: Cristiane Kayser Médica Assistente e Profa. Afiada da Disciplina de Reumatologia da UNIFESP Pós-Graduando: Cintia Zumstein Camargo Será realizado estudo prospectivo no qual serão incluídos pacientes com ES estabelecida e recente (n=126) que realizaram avaliação no tempo 0 e realizarão reavaliação após 3 anos de seguimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de resposta de pendencia

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendencias apontadas no parecer inicial:

1) Quanto ao TCLE:

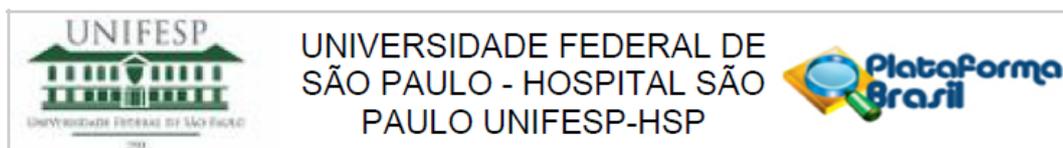
a - é necessário informar que o termo está sendo disponibilizado em 2 vias originais (não usar a palavra cópias), uma para ficar com o participante e outra para ficar com o pesquisador.

b - todas as folhas devem ser numeradas (ex: 1/4, 2/4, etc.).

c - No momento da aplicação do TCLE, todas as páginas deverão ser rubricadas pelo pesquisador e pelo participante da pesquisa.

d - Deve constar no TCLE que O acesso aos seus registros médicos será tratado com confidencialidade, respeitando a legislação brasileira, uma vez que serão coletados dados de

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14		
Bairro: VILA CLEMENTINO		CEP: 04.023-061
UF: SP	Município: SAO PAULO	
Telefone: (11)5571-1062	Fax: (11)5539-7162	E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.496.550

prontuários conforme descrito no formulário da plataforma Brasil)

e - especificar como será a coleta de sangue: a quantidade de sangue, quem fará a coleta, em que local o procedimento será realizado.

f - não consta claramente no TCLE os possíveis riscos relacionados ao procedimento coleta de sangue.

g - no projeto consta que os dados colhidos em outro projeto serão usados neste novo projeto. Este dado não consta no TCLE.

2) Havendo participação de menores de idade, deve ser apresentado o Termo de assentimento além do TCLE obrigatório a ser firmado pelos responsáveis legais. - O Termo de Assentimento deve ser aplicado aos menores de 18 anos, redigido de em texto bastante simples e direto, conforme o grau de entendimento da criança ou adolescente. Nele, devem estar explicados quais são os objetivos, quais são os procedimentos pelos quais o menor irá passar, deve ser perguntado se ele quer participar e deve ser informado que caso ele queira deixar de participar, ele poderá sair da pesquisa sem que seja de forma alguma, punido por isso.

resposta: novas versões dos documentos (TCLE e assentimento) apresentadas - PENDENCIA ATENDIDA

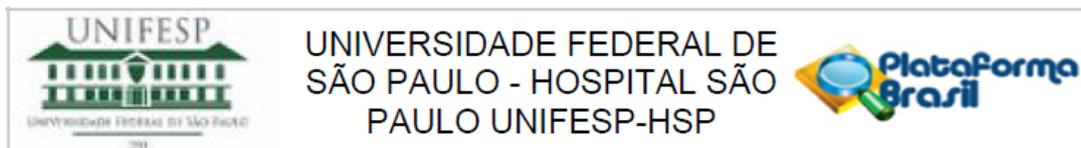
Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP informa que a partir desta data de aprovação, é necessário o envio de relatórios parciais (anualmente), e o relatório final, quando do término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_275779.pdf	30/03/2016 22:39:50		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.docx	30/03/2016 22:37:57	Cintia Zumstein Camargo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_para_menores_de_idade.docx	30/03/2016 22:37:20	Cintia Zumstein Camargo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido.doc	30/03/2016 22:36:52	Cintia Zumstein Camargo	Aceito

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
 Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)5571-1062 Fax: (11)5539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.496.550

Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Escelido.doc	30/03/2016 22:36:52	Cintia Zumstein Camargo	Aceito
Outros	carta_de_autorizacao_da_coordenadora_de_ensino_e_pesquisa_do_HSP.jpeg	16/12/2015 22:33:54	Cintia Zumstein Camargo	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_dez_2015.docx	16/12/2015 22:26:05	Cintia Zumstein Camargo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado_CEP.doc	25/11/2015 23:58:44	Cintia Zumstein Camargo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 11 de Abril de 2016

Assinado por:
Miguel Roberto Jorge
(Coordenador)

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
 Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)5571-1062 Fax: (11)5539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com

Anexo 3- Protocolo para realização da videocapilaroscopia

Mão esquerda

Dedos	2º			3º			4º			5º		
	1	2	média									
Campos												
Nº de capilares/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de capilares ectasiados/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de megacapilares/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de microhemorragias/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de capilares ramificados/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Escore de desvascularização/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mão direita

Dedos	2º			3º			4º			5º		
	1	2	média									
Campos												
Nº de capilares/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de capilares ectasiados/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de megacapilares/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de microhemorragias/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº de capilares ramificados/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Escore de desvascularização/mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Anexo 4- Protocolo para realização do *laser Doppler imaging*

Fluxo de polpa digital	Dedos				
Campos	2º	3º	4º	5º	média
Basal	-	-	-	-	-
Pós EF 20 minutos	-	-	-	-	-