

MÔNICA SILVEIRA LAPA

Avaliação do comprometimento da função do endotélio em pacientes com hipertensão arterial pulmonar idiopática e em esquistossomóticos

**Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências**

**Área de concentração: Pneumologia
Orientador(a): Prof. Dr. Mário Terra Filho**

**São Paulo
2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Lapa, Mônica Silveira

Avaliação do comportamento da função do endotélio em pacientes com hipertensão arterial pulmonar idiopática e em esquistossomóticos / Mônica Silveira Lapa. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Pneumologia.

Orientador: Mário Terra Filho.

Descritores: 1.Hipertensão pulmonar/complicações 2.Esquistossomose 3.Endotélio

USP/FM/SBD-311/09

“A Teoria sempre acaba, mais cedo ou mais tarde, assassinada pela Experiência”

Albert Einstein

DEDICATÓRIAS

DEDICATÓRIAS

À minha Mãe, Vera, que vive dedicada aos filhos. Você é a base da minha existência e a formadora do meu caráter. Sem a sua ajuda, essa tese jamais terminaria. Todo o seu apoio não foi em vão! Este é o fruto de todo o seu esforço, carinho e amor durante todos esses anos.

“O essencial da vela não é a cera que deixa suas marcas, mas sim a luz que ela liberta”. Antoine de Saint-Exupéry

Ao meu Pai, Antonio José. Como sua colega uma vez me disse: “deve ser fantástico ser filha do Professor Lapa”. Fácil realmente não é, ser filha de um professor que vai atrás dos seus objetivos, que não depende dos outros para resolver as coisas, que não tem pressa pra chegar ao seu destino, que insiste que não é preciso competir com os outros e apenas ser você mesmo... Mas ao final desta tese, eu posso concluir que, sem você e os seus ensinamentos, eu não seria nem um terço da pessoa que eu sou hoje. E isso é realmente fantástico.

Aos meus Avós, Argemiro e Elce, que sempre se mostraram orgulhosos com os netos e sempre acompanharam e apoiaram a minha trajetória. Gostaria que vocês também pudessem fazer parte desta conquista.

À minha Irmã, Nane. Pelo amor incondicional. Por todos os momentos difíceis que eu passei nestes anos e que você estava do meu lado para me apoiar.

Ao meu Irmão, Marcos, que me estimula com a sua paciência. Você é o exemplo de integridade como médico e como pessoa.

À minha sobrinha, Débora, que por forças que a minha razão não entende, está amolecendo o meu coração.

Aos meus tios, Lena e Lauro. Meus padrinhos da infância que permanecem eternamente no meu coração. Pelo carinho e amor imensuráveis.

À minha tia Lair. Por todo apoio, confiança e amor de todos esses anos.

DEDICATÓRIAS

Ao meu segundo pai, Mário. Também chamado de Big Boss, Terra ou Magrão. Pai na medicina, na vida e nos botecos. O qual, após MUITO esforço, conseguiu me transformar numa legítima pós-graduanda do Prof. Dr. Mário Terra Filho.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Minha Família: Vera, Antonio, Nane e Marcos**. Obrigada por todo o apoio durante estes anos e por sempre estarem presentes e dispostos a ajudar. O ano de 2007 que estudei no exterior foi importante para eu saber como a companhia de pessoas queridas é fundamental para a nossa existência. Tenho muita sorte de ter vocês ao meu redor.

“Tecemos muito lentamente a trama das amizades e afeições. Aprendemos devagar.” Antoine de Saint-Exupéry

Ao **meu Orientador, Prof. Dr. Mário Terra Filho**. Agradeço todo o apoio, a paciência e a confiança durante o desenvolvimento desta tese. Uma vez você me falou que talvez o seu maior defeito fosse pegar afeições pelas pessoas e pelos pós-graduandos. Eu, no entanto, acho que esta é a sua melhor qualidade. Você é o exemplo de professor universitário e orientador, sempre presente na sua sala do quinto andar do Incor e na vida de todos os alunos, inclusive na minha (ou talvez fosse eu que não o deixasse em paz...). Acho que o papel de um orientador vai além de discutir com profundidade o assunto de cada tese e engloba também o apoio e o suporte para que o projeto se realize. Agradeço todo o seu ensinamento e suas extensas conversas na sua sala e no ambulatório de TEP crônico. Agradeço, principalmente, por você ter acreditado em uma estranha que “caiu de paraquedas” no Incor (a pedido do Elie Fiss) para fazer pós-graduação em hipertensão pulmonar, especificamente com VOCÊ. Seu mérito ainda está presente na Faculdade de Medicina do ABC. Agradeço por você ter se deixado convencer de que as células progenitoras endoteliais podem ser um futuro e ter-me propiciado a oportunidade de realizar o doutorado-sanduíche no Canadá.

AGRADECIMENTOS

Às pessoas que foram importantes nestes 4 anos...

Eu tenho a mania de acreditar em pessoas...e a cada dia que passa, eu percebo que as grandes realizações são ainda feitas com os favores e a boa vontade dos outros...

Ao **Prof. Dr. Elie Fiss**. Meu primeiro contato com a pneumologia. Desde a nossa primeira conversa na escada da faculdade, em 1997, você me instigou a conseguir uma bolsa de iniciação científica e a fazer pneumologia. Abriu as portas para o estágio no Canadá em 2003, no qual tive o prazer de conhecer o Dr. Noé Zamel e o Dr. John Granton. Agradeço todo o apoio e o investimento que ele faz para eu me tornar uma profissional melhor e para, juntos, contribuirmos com o crescimento da Faculdade de Medicina do ABC. E, por fim, abriu as portas do Incor para mim, ao me apresentar para o Mário Terra Filho. Sem ele, o rumo da minha vida teria tomado outro sentido. Seu mérito extrapola muros e está certamente presente na Faculdade de Medicina do ABC.

À **Milena Acêncio**. Obrigada pelos ensinamentos árdios das placas de ELISA e pelas longas e intermináveis tardes que você me ajudou a fazer as diluições de amostras e as repetições dos testes (acreditem, foram muitas!). Obrigada, também, por ter tido paciência comigo e por acreditar no meu aprendizado no exterior com as culturas de células. Acredito que, sem você, as pesquisas no INCOR seriam bem mais difíceis (praticamente impossíveis!). Espero que eu ainda tenha o prazer de poder trabalhar com você no futuro.

Ao **Carlos Jardim**. Você me surpreende a cada dia mais. Conheci dois Carlos diferentes: aquele antes de eu viajar para o Canadá e aquele depois que eu voltei do Canadá. O primeiro parecia sempre se manter distante, apesar de sempre prestativo. O segundo apóia, conversa e aparece nos “botecos” para comemorar com amigos quando se comprometeu a ir. Você foi muito amigo neste ano que

AGRADECIMENTOS

passou e agradeço, de coração, toda a ajuda que me deu com os pacientes e com essa tese. Você é um exemplo de médico e de pessoa. Íntegro e verdadeiro. Obrigada por me deixar fazer parte da sua vida.

Ao **Prof. Dr. Rogério de Souza**. Com certeza, foi uma das pessoas que mais me ensinaram na vida. Aprendi a gostar de estudar hipertensão pulmonar com as suas longas discussões de casos no ambulatório. Agradeço a sua ajuda inicial para desenvolver esta tese. Obrigada pelas oportunidades, por me “abrir as portas” da hipertensão pulmonar e por ter me estimulado a procurar novos horizontes.

Ao **Prof. Dr. Alberto Farias**, que me ajudou a recrutar os pacientes e a desenvolver grande parte da tese.

Ao **Prof. Dr. Francisco Vargas**. Agradeço a oportunidade de poder fazer doutorado na pneumologia da USP.

À **Prof. Dra. Leila Antonangelo**, à **Prof. Dra. Lisete Teixeira** e ao grupo de Pleura. Obrigada por me permitirem utilizar as instalações do laboratório e por ajudarem nas discussões (e nas doações) para a realização deste trabalho. Ao **Carlos**. Obrigada pela ajuda e companhia nas longas tardes de placas de ELISA. Obrigada também pelo apoio moral nos dias que eu estava desanimada. À **Gabriela**, pelo auxílio e pelos ensinamentos.

Ao **grupo de Hipertensão Pulmonar: Susana, Bruno, André, Babi e Caio**. Obrigada pela ajuda no recrutamento de pacientes e na realização dos cateterismos.

Ao **laboratório do Prof Francisco Laurindo: Vítor e Marcos**. Obrigada por toda a ajuda, por todas as discussões sobre disfunção endotelial e pelo uso da centrífuga e do *Speed Vac*.

Ao **laboratório do Prof. Raul Maranhão: Denise e Elaine**, pela utilização do *Speed Vac*.

Ao **laboratório de Coleta: Mercedes e Ângela**. Agradeço todos os intermináveis favores! Sem vocês, minha tese teria sido mais difícil.

Às **meninas da Pneumologia da Faculdade de Medicina do ABC: Aline, Amanda, Regina, Nadine e Priscila**. Agradeço todo o apoio e toda a ajuda durante todos esses anos. Obrigada por resolverem os problemas dos ambulatórios e ajudarem os pacientes!

Aos **meus Amigos, em especial: Nane, Ana Cláudia, Daniela Miti, Cinira, Flávia, Valente, Susana, Denise, Mônica, Selma, Letícia, Sandrigo, Leonardo, Cristina e Cristiane**. Obrigada por estarem presentes nas fases boas e nas fases ruins destes anos que passaram. Agradeço todo o apoio e todas as longas conversas.

“Não há como substituir um velho companheiro. Nada vale o tesouro de tantas recordações comuns, de tantos momentos vividos juntos, tantas desavenças e reconciliações, tantas emoções compartilhadas. Não se reconstroem essas amizades”. Antoine de Saint-Exupéry

À **minha prima Milena**, que me ajudou a ter mais FÉ.

Ao **Dr. John T. Granton**. Ele foi o primeiro médico que me mostrou os pacientes com hipertensão pulmonar em tratamento e, graças ao seu jeito de ser, ele me estimulou a estudar sobre a doença. Obrigada pela oportunidade de estudar células progenitoras endoteliais em um país desenvolvido e com uma realidade diferente do Brasil, o que me proporcionou uma nova visão da pesquisa.

Ao **Ricardo Teixeira**, pela companhia nos ambulatórios e pela ajuda com a realização da tese.

AGRADECIMENTOS

À **Edna**. A primeira paciente que eu cuidei na UNICAMP com hipertensão pulmonar. Ela foi o gatilho inicial para eu decidir fazer pós-graduação em Hipertensão Pulmonar.

Aos **Pacientes**, agradeço toda a disposição e boa vontade ao me ajudarem a desenvolver a tese. Obrigada também pela confiança e amizade adquiridas com algumas pacientes.

Aos **Controles**, meu eterno agradecimento pela participação deste estudo. Agradeço a **Fátima**, por ter me ajudado a encontrar os indivíduos sadios.

À **Solange**. O que seriam dos pacientes e da Pneumologia sem ela? Agradeço toda a ajuda em orientar e recrutar os pacientes, todos os cafés e as conversas no meio das tardes.

À **Neli, Sueli, André, Alessandra, Luzinete, Vera e Catia**. Obrigada por toda a ajuda e competência.

À **Luciana e Dina**, por facilitarem o caminho árduo da burocracia da pós-graduação.

À **Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**. Agradeço o financiamento empregado para a realização desta tese.

À **CAPES**. Obrigada pela bolsa de doutorado-sanduíche cedida para o desenvolvimento da pesquisa com células progenitoras endoteliais em Toronto, no Canadá.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

SUMMARY

INTRODUÇÃO	01
Histórico da Hipertensão Pulmonar.....	02
Hipertensão Pulmonar.....	04
Esquistossomose.....	07
Fisiopatologia.....	09
Disfunção Endotelial.....	11
Alterações Hemodinâmicas na Esquistossomose.....	13
OBJETIVOS.....	17
MÉTODOS.....	19
População.....	19
Avaliação Clínica e Funcional.....	21
Avaliação Hemodinâmica.....	22
Avaliação da Função Endotelial.....	22
Cálculo da Amostra.....	25
Análise Estatística.....	26
RESULTADOS.....	28
Organograma de recrutamento dos pacientes.....	28
Características gerais.....	29
Características hemodinâmicas.....	31
Marcadores de disfunção endotelial.....	32
Curva ROC e regressão logística.....	34
Dosagem dos marcadores após intervenção.....	37
Correlação dos níveis séricos de selectina E e BNP.....	38

SUMÁRIO

Regressão linear: selectina E.....	39
Exames laboratoriais.....	40
Características dos pacientes com esquistossomose.....	42
Comorbidades e medicações utilizadas.....	43
Regressão logística: Esplenomegalia e Plaquetas.....	44
Regressão logística: Esplenomegalia e Leucócitos	45
Regressão logística: Esquistossomose e plaquetas e leucócitos.....	46
Regressão linear múltipla 2: Selectina E.....	47
Regressão logística: Esplenomegalia e Selectina E.....	48
DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS.....	67
ANEXOS	

LISTAS

Lista de Símbolos

mL	mililitro
pg/mL	picograma por mililitro
ng/mL	nanograma por mililitro
mmHg	milímetro de mercúrio
(L/min/m ²)	litro por minuto por metro quadrado
(dyne.s.cm ⁻⁵)	dina
mg/dL	miligrama por decilitro
g/dL	grama por decilitro
U/L	unidade por litro
microUI/mL	microunidade por mililitro
ng/100mL	nanograma por 100 mililitros
L/min.....	litro por minuto

Lista de Abreviaturas

CVF	Capacidade Vital Forçada
DC	Débito Cardíaco
EHE	Esquistossomose Hepatoesplênica
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ET-1	Endotelina-1
GPVH	Gradiente de Pressão Venosa Hepática
HAP	Hipertensão Arterial Pulmonar
HAPI	Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática
HC-INCOR	Hospital das Clínicas do Instituto do Coração da Universidade de São Paulo
FMUSP	
HP	Hipertensão Pulmonar
HPo	Hipertensão Portal
HPP	Hipertensão Pulmonar Primária
IC	Índice Cardíaco
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular
IECA	Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina
INR	Razão Normalizada Internacional
NO	Óxido Nítrico
NYHA	New York Heart Association
PAOP	Pressão de Oclusão de Artéria Pulmonar
PAPm	Pressão de Artéria Pulmonar média
PDAP	Pressão Diastólica de Artéria Pulmonar
PDGF	Platelet Derived Growth Factor

LISTAS

PSAP	Pressão Sistólica de Artéria Pulmonar
PSVD	Pressão Sistólica do Ventrículo Direito
RVPI	Resistência Vascular Pulmonar Indexada
T4L	Tiroxina Livre
TEP	Tromboembolismo Pulmonar
TSH	Hormônio Estimulante da Tiróide
USG	Ultrassom
VCAM-1	Molécula de Adesão de Célula Vascular
VEF1	Volume Expirado Forçado no primeiro segundo
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

RESUMO

Lapa MS. Avaliação do Comprometimento da Função do Endotélio em Pacientes com Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática e em Esquistossomóticos.[tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2009.

INTRODUÇÃO: Existem várias doenças que evoluem com hipertensão pulmonar (HP), entre elas a Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática (HAPI) e a Esquistossomose. Acredita-se que um dos principais fatores desencadeantes da HP esteja relacionado com a disfunção endotelial. **OBJETIVOS:** 1. Avaliar a disfunção endotelial de pacientes com HAPI e esquistossomóticos com e sem HAP usando os marcadores plasmáticos Endotelina-1, Selectina E, VEGF, PDGF-AB e PDGF-BB; 2. Avaliar se pacientes com HAP associada à esquistossomose possuem o mesmo grau de disfunção endotelial que pacientes com esquistossomose sem HAP. **METODOLOGIA:** Foram formados 4 grupos distintos: Controle (n=13), HAPI (n=11), pacientes com esquistossomose e HP (ESQ+HP) (n=13) e pacientes com esquistossomose sem HP (ESQ)(n=13). Os pacientes foram submetidos a avaliação clínica (caracterizados quanto a gravidade), funcional (realizaram ecocardiograma com medida de pressão sistólica de ventrículo direito, ultrassonografia abdominal quando indicada e exames para excluir outras doenças) e laboratorial (entre eles, contagem de leucócitos, plaquetas e dosagem de BNP). A avaliação hemodinâmica foi realizada nos pacientes com HP. Para a análise da disfunção endotelial, foram coletados 40 mL de sangue de todos os indivíduos para a dosagem de Endotelina-1, Selectina E, VEGF, PDGF-AB e PDGF-BB. **RESULTADOS:** Observou-se que os grupos não se diferiram quanto a idade, houve um predomínio do sexo feminino e os grupos controle e ESQ apresentaram valores de PSVD menores do que os grupos com HP (controles: $23,4 \pm 4,6$, ESQ: $29,5 \pm 8,5$, HAPI: $79,8 \pm 26,4$ e ESQ+HP: $75,2 \pm 15,3$ mmHg). As medidas hemodinâmicas foram semelhantes em ambos os grupos com HAP. Quanto aos marcadores da função endotelial, o grupo controle apresentou valores séricos de PDGF-BB mais aumentados ($8,9 \pm 4,8 \times 10^3$ pg/mL, $p < 0,001$) que os grupos HAPI, ESQ+HP, ESQ ($3,7 \pm 2,1$; $5,2 \pm 3$; $2,4 \pm 1,7 \times 10^3$ pg/mL, respectivamente). O grupo HAPI apresentou valores mais elevados de Selectina E ($61,5 \pm 24,2 \times 10^3$ pg/mL) que os grupos controle, ESQ+HP e ESQ ($14,5 \pm 12,2$; $23,9 \pm 15,3$; $21,4 \pm 18 \times 10^3$ pg/mL, respectivamente, $p = 0,005$). Os

valores séricos de PDGF-AB do grupo controle foram mais elevados que no grupo ESQ ($p=0,006$). Não foram encontradas diferenças significantes nos valores séricos de Endotelina-1 entre os grupos ($p=0,281$). Em relação ao VEGF, os pacientes com HAPI apresentaram valores séricos similares ao grupo ESQ+HP e mais elevados que o grupo controle e ESQ ($p=0,002$). O ponto de corte da selectina E (43.806 pg/mL) para diferenciar pacientes com HAPI dos pacientes com ESQ+HP apresentou uma sensibilidade de 91% e a especificidade de 89%. O PDGF-BB apresentou uma boa acurácia para distinguir o grupo controle dos demais, com uma sensibilidade de 77% e uma especificidade de 83%. Além disso, a Selectina E apresentou uma forte correlação com o níveis séricos de BNP ($r=0,74$, $p=0,006$). O número de leucócitos e de plaquetas foram diferentes entre os três grupos do estudo. Pacientes com HAPI tinham maior número de leucócitos e plaquetas quando comparados com esquistossomóticos. CONCLUSÕES: 1. Pacientes com HAPI apresentaram valores séricos mais elevados de Selectina E do que pacientes com esquistossomose e controles; 2. Pacientes portadores de esquistossomose com e sem HP apresentaram os mesmos valores séricos dos marcadores de disfunção endotelial.

Descritores: 1. Hipertensão pulmonar/complicações 2. Esquistossomose 3. Endotélio

SUMMARY

SUMMARY

Lapa MS. Endothelial dysfunction in patients with pulmonary arterial hypertension and schistosomiasis.[thesis] São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo", 2009.

INTRODUCTION: There are several diseases that cause Pulmonary hypertension (PH), such as Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension and Schistosomiasis. The mechanisms that lead to PH are thought to be related to endothelial dysfunction. **OBJECTIVES:** To evaluate endothelial dysfunction, using plasma markers such as Endothelin-1(ET-1), E-Selectin, VEGF, PDGF-AB and -BB, in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH) and schistosomiasis patients with or without PH; and to evaluate if schistosomiasis groups have endothelial dysfunction in the same degree. **METHODOLOGY:** Patients were divided in 4 different groups: Patients with IPAH (n=11), Patients with PH associated to Schistosomiasis (SchPH)(n=13), Patients with Schistosomiasis without PH (Sch)(n=13) and Controls(n=13). PAH patients were classified according to severity. All groups were submitted to echocardiography and right ventricle systolic pressure(RVSP) was measured. Abdominal ultrasonography was used to rule in or rule out schistosomiasis diagnosis. PH patients went through haemodynamics evaluation and all patients had laboratorial assessment (leucocytes and platelet count and BNP levels) Soluble adhesion molecules such as E-Selectin, VEGF, PDGF-AB, PDGF-BB e ET-1 were determined by ELISA. Leucocytes and platelet counts as well as BNP levels were also evaluated. **Results:** Subjects did not differ according to age and there was a higher proportion of female patients. Controls and Sch subjects had lower RVSP compared to PH groups (Sch: 23.4±4.6, controls: 29.5±8.5, IPAH: 79.8±26.4 and Sch+HP: 75.2±15.3 mmHg). Haemodynamics data did not differ in PH patients. In IPAH group, E-selectin was elevated ($61.5 \pm 24,2 \times 10^3$ pg/mL) compared to controls, Sch+HP and Sch (14.5 ± 12.2 ; 23.9 ± 15.3 ; $21.4 \pm 18 \times 10^3$ pg/mL, respectively, $p=0,005$). PDGF-BB was decreased in IPAH, Sch+HP, Sch (3.7 ± 2.1 ; 5.2 ± 3 ; $2.4 \pm 1.7 \times 10^3$ pg/mL, respectively) compared to controls ($8.9 \pm 4.8 \times 10^3$ pg/mL, $p<0.001$). PDGF-AB was elevated in controls ($25.6 \pm 8.6 \times 10^3$ pg/mL) when compared to Sch ($11.4 \pm 8.6 \times 10^3$ pg/mL)($p=0.006$). There were no differences in ET-1 levels within groups. In relation to VEGF, IPAH group had higher levels compared to controls and Sch ($96,6 \pm 68,2$, $38,4 \pm 28$, $37, \pm 19,2$

SUMMARY

pg/mL, respectively) ($p=0,002$). Based on ROC curve, E-selectin cutoff value of 43.806 pg/mL showed a sensitivity of 91% and a specificity of 89% to distinguish IPAH patients from other groups and PDGF-BB had a good accuracy to differentiate controls with a sensitivity of 77% and a specificity of 83%. Furthermore, E-selectin had a strong correlation with BNP levels ($r=0,74$, $p=0,006$). The number of leucocytes and platelets were different within groups. IPAH patients had the highest, and Sch group had the lowest blood cells and platelets count. Conclusions: 1. IPAH patients had higher levels of serum E-selectin and VEGF and controls had higher levels of PDGF-BB and -AB; 2. Schistosomiasis patients with or without PH had the same levels of endothelial dysfunction serum markers.

Descriptors: 1. Pulmonary Hypertension/complications 2. Schistosomiasis 3. Endothelium

INTRODUÇÃO

Histórico da Circulação Pulmonar

Desde a época dos antigos gregos, romanos e egípcios já é sabido que o coração é um órgão involuntário que pulsa de forma fundamental para o organismo. No entanto, não era conhecida a forma como o sangue circulava pelo coração ou como passava do ventrículo direito para o esquerdo. Em meados do segundo século, Galeno observou que o lado direito do coração recebia sangue de grandes veias e este sangue era ejetado para o lado esquerdo que, por sua vez, era bombeado para a Aorta. Além disso, reconheceu que o coração tinha o papel de uma bomba e que as artérias conduziam sangue ao invés de ar. No entanto, suas teorias não foram aceitas como aplicáveis ao homem pois nunca admitiu que estas observações foram feitas em seres humanos.

No século XVI, Servet considerou a descoberta da circulação pulmonar feita por Galeno e confirmou que a artéria pulmonar conduzia todo o sangue do corpo para os pulmões e estes eram capazes de alterá-lo. Afirmou, ainda, que a única maneira do sangue do ventrículo direito chegar ao ventrículo esquerdo seria passando pela artéria pulmonar e pelo pulmão.

Entretanto, foi apenas no século XVII que estas descobertas foram aceitas pelos ingleses, quando William Harvey publicou seu manuscrito descrevendo que o coração tinha a função de apenas bombear o sangue e que os átrios (antigamente chamados de “aurículas”) batiam antes dos ventrículos. Descreveu a anatomia e a função do coração, a pulsação das artérias e a dinâmica da circulação pulmonar. Em seguida, demonstrou o fluxo sanguíneo nas veias e artérias periféricas [1, 2].

No século XIX, Rudolf Virchow estudou os processos tromboembólicos que ocorriam na circulação e, com base nas suas observações, expôs a idéia previamente descrita por Cruveilhier de que existe uma inflamação vascular que está ligada à formação e à transformação do trombo no vaso. Esta inflamação estaria comprometendo apenas a parede do vaso e não qualquer conteúdo na sua luz. Este processo inflamatório causaria uma lesão na “camada interna”(como elevações ou depressões), alteraria o fluxo sanguíneo local e levaria à formação de trombose [3, 4]. Posteriormente, verificou que o trombo não é composto de pus, como assim se supunha, e sim de várias camadas que se transformam em fibrina e debris. Elaborou, então, a teoria de que, para haver a formação de trombos vasculares, eram necessários três fatores (tríade de Virchow): lesão endotelial, alterações do fluxo sanguíneo (estase) e alterações na constituição do sangue (hipercoagulabilidade). O coração não teria participação relevante nesse processo. Por esta ocasião, houve o início da pesquisa dos fatores reguladores da circulação do sangue pelos vasos.

O primeiro relato de pacientes com hipertensão pulmonar foi feito por Romberg (1851) o qual diagnosticou um paciente com sinais de insuficiência cardíaca direita como portador de “esclerose da circulação pulmonar” *.

Já no começo do século XX, foram descritos novos casos com pacientes que apresentavam cianose central, dispnéia e hipertrofia do ventrículo direito sem causa aparente. Estes doentes foram, previamente, diagnosticados como portadores de “aterosclerose pulmonar primária”.

A esclerose vascular pulmonar passou a ser o substrato patológico da hipertensão pulmonar, quadro a que, inevitavelmente, evoluíam os portadores de

*Rubin LJ.Primary pulmonary hypertension. ACCP consensus statement. Chest. 1993 104(1):236-50 apud Menna-Barreto SS. Novas diretrizes em hipertensão pulmonar. Diretrizes brasileiras para o manejo da hipertensão pulmonar. J Bras Pneumol 2005; 31(2): editorial.

enfisema pulmonar, fibrose pulmonar, pneumonia intersticial crônica, pneumoconiose e deformidades torácicas. No entanto, alguns doentes com esclerose vascular pulmonar não possuíam doença pulmonar aparente e foram classificados como portadores de “esclerose vascular pulmonar idiopática” [5]. A histologia dos pulmões da época mostrava espessamento da íntima tipo concêntrico por vários níveis de ateroma em artérias e arteríolas, sem o acometimento da camada média [6], mas tão grande era o comprometimento cardíaco que em 1940, a doença passou a ser chamada de “hipertrofia ventricular direita idiopática”.

Em 1950, após alguns trabalhos publicados que utilizaram o cateterismo cardíaco direito no estudo da hipertensão pulmonar, o nome “hipertrofia ventricular direita idiopática” foi substituído por “Hipertensão Pulmonar Primária”(HPP) [7].

Em 1967, houve o primeiro relato de pacientes com hipertensão pulmonar associada a esquistossomose [8]. O exame anatomopatológico de três doentes com esquistossomose evidenciou a presença de ovos de *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) no lúmen dos capilares, com um processo inflamatório ao seu redor e espessamento da camada íntima das artérias pulmonares.

Hipertensão Pulmonar (HP)

A HP é uma doença grave que acarreta insuficiência cardíaca direita e óbito. Ela é caracterizada por remodelamento e hipertrofia da camada média de artérias pulmonares e pela presença de trombose *in situ*, que ocasiona o aumento da resistência vascular pulmonar [9]. Existem várias causas que induzem à HP, entre

elas a Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática (HAPI), antigamente chamada de HPP, e a Esquistossomose (tabela I)[10].

A Hipertensão arterial pulmonar (HAP) é definida pelo aumento da pressão arterial pulmonar média (PAPm) $\geq 25\text{mmHg}$ sendo que a pressão de oclusão de artéria pulmonar(PAOP) deve ser $\leq 15\text{mmHg}$ [11]. Alguns exemplos de doenças que evoluem com HAP além da HAPI são as doenças do colágeno, cardiopatias congênitas, exposição a drogas como anorexígenos, tromboembolismo pulmonar crônico e infecciosas (HIV) [12, 13].

Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática (HAPI)

A HAPI é uma doença rara que acomete anualmente 1 a 2 indivíduos por milhão de pessoas, número provavelmente subestimado [11]. Um estudo epidemiológico realizado na França mostrou que a prevalência de HAP é de 15 pessoas por milhão de habitante [12]. Segundo a classificação de Veneza (OMS, 2003), a HAPI está enquadrada na primeira categoria – HAP, no subgrupo em que não se encontra uma causa identificável (tabela I) [10, 14, 15]. Atualmente, a expectativa de vida média sem tratamento da HAPI é de 2 anos após o diagnóstico da doença [11], a mesma sobrevida descrita em 1940 [6].

Tabela I – Classificação da Hipertensão Pulmonar (Veneza 2003).

Grupo I: Hipertensão Arterial Pulmonar:

- HP Idiopática
- Familiar
- Relacionada a
 - Doenças do Colágeno
 - Shunts Pulmonares congênitos
 - Hipertensão Portal
 - Infecção pelo HIV
 - Drogas/Toxinas (Anorexígenos e outras)
 - Outras
- Associada ao componente capilar ou venoso
 - Doença veno-oclusiva pulmonar
 - Hemangiomas capilar pulmonar
 - HP persistente no neonato

Grupo II: HP associada a doenças do coração esquerdo

- Insuficiência Cardíaca Esquerda (Átrio e Ventrículo)
- Doença Cardíaca Valvar Esquerda

Grupo III: HP Associada a Doenças do Sistema Respiratório ou Hipoxemia

- Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
- Doença Pulmonar Intersticial
- Apnéia do Sono
- Distúrbios de Hipoventilação Alveolar
- Exposição Crônica à Altas Altitudes
- Anormalidades do desenvolvimento

Grupo IV: HP causada por Doença Trombótica ou Embólica Crônica

- Obstrução Tromboembólica de Artérias Pulmonares Proximais
- Obstrução Distal de Artérias Pulmonares

Grupo V: Miscelânea

- Esquistossomose
- Linfangioleiomiomatose
- Sarcoidose
- Histiocitose X
- Compressões de veias pulmonares

Hipertensão Pulmonar associada à Esquistossomose

A HP associada à Esquistossomose passou a suscitar interesse nacional e internacional por ser uma doença que apresenta indícios de ser mais frequente que a HAPI e que tem, aparentemente, uma fisiopatologia diferente desta segunda. O seu melhor entendimento pode originar medidas terapêuticas capazes de influenciar a história natural da doença da hipertensão pulmonar e a sobrevivência dos pacientes.

Esquistossomose no Brasil

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a esquistossomose é uma doença endêmica em 76 países e territórios. Uma estimativa realizada em 2003 evidenciou que 779 milhões de pessoas no mundo estão em risco de serem infectadas e 207 milhões de pessoas são portadoras da doença. O desenvolvimento socioeconômico, associado aos programas de controle de morbidade e às mudanças no ambiente (por exemplo, a introdução de competidores da espécie de caramujo), levou à uma diminuição da transmissão da doença em alguns países e à consequente redução da morbidade da doença e do número de pessoas infectadas [16, 17].

A esquistossomose é uma doença endêmica em algumas regiões do Brasil: no estado da Bahia, no norte de Minas Gerais e em Pernambuco, e é um problema de saúde pública. Ela está relacionada ao hábito das pessoas nadarem ou lavarem as roupas em habitats (lagos e lagoas) de caramujos da família *Planorbidae*, pertencentes às espécies *Biomphalaria glabata* e *Biomphalaria straminea*,

hospedeiros do verme *S. Mansonii*, o qual infesta a espécie humana [18]. Estima-se que existem de 12 a 14 milhões as pessoas pela doença no Brasil. No entanto, a sua incidência vem diminuindo nos últimos vinte anos [19].

Esquistossomose e Hipertensão Pulmonar

Estudos epidemiológicos em regiões endêmicas tem mostrado uma diminuição da prevalência da esquistossomose hepatoesplênica (EHE) em pessoas previamente tratadas. Menos de 10% das pessoas desenvolveram EHE em 10 anos de acompanhamento [19]. Entretanto, faltam informações nestes estudos quanto ao acometimento pulmonar e pouco se sabe sobre a mudança na prevalência da HAP nestes doentes.

Em um estudo realizado em uma região endêmica de Minas Gerais (Projeto Queixadinha), 80% da população tinha ovos de *S. mansoni* nas fezes (o que é suficiente para firmar o diagnóstico de esquistossomose) e 11% apresentou hipertensão pulmonar definida pela medida não invasiva do tempo de aceleração do fluxo pulmonar (abaixo de 90 milissegundos); nenhum deles tinha evidências de cor pulmonale. A incidência de pacientes com fibrose hepática moderada ou intensa foi de 34%, mas não foi observada a relação entre a presença de fibrose hepática e hipertensão pulmonar. No entanto, é possível existir HP na ausência de EHE. A prevalência da HP associada à esquistossomose é variável e pode chegar a acometer 30% dos pacientes com EHE [20]. O limite de corte utilizado para definir hipertensão pulmonar, neste caso, não foi o preconizado atualmente pelo Terceiro Simpósio Mundial de Hipertensão Pulmonar da OMS [10, 11, 21-23]. (utiliza-se a PSVD=35 mmHg ou a velocidade do refluxo tricúspide=2,8 a 3,4 m/s).

Portanto, a prevalência de HP nestes pacientes pode ser, na verdade, menor que a descrita. Estudo realizado pelo grupo de Hipertensão Pulmonar do HC-INCOR FMUSP mostrou que 7,7% dos pacientes com EHE apresentavam hipertensão pulmonar confirmada por cateterismo cardíaco[24], o que também foi evidenciado em outros estudos [25, 26].

Apesar da prevalência de HP em esquistossomóticos não ser tão alta como demonstrado anteriormente, um estudo publicado por dois centros de referência de Hipertensão Pulmonar no país evidenciou que 30% dos pacientes atendidos nos ambulatórios apresentavam HP associada à esquistossomose [27]. Isto corresponde a uma prevalência maior do que a prevalência da HAP associada a anorexígenos, segunda causa mais comum do grupo I na classificação de Hipertensão Pulmonar e responsável por 11% dos casos de HAP (tabela 1) [10, 14, 28].

Desta forma, um melhor entendimento desta doença é importante para avaliar a possibilidade de indicação de tratamento específico para HAP e para melhorar a sobrevida destes pacientes.

Fisiopatologia

1) Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática (HAPI)

A HAPI é caracterizada pelo remodelamento e hipertrofia muscular arterial, aumento da resistência vascular pulmonar e diminuição do número de pequenas artérias [29], que leva a insuficiência cardíaca direita progressiva e, finalmente, ao óbito. Esta doença rara pode ser esporádica ou familiar, sendo que a última apresenta uma herança genética autossômica dominante com penetração variável.

Já foi evidenciado que pelo menos 50% da forma familiar de HAP e 10% da esporádica estavam associadas às mutações no gene do receptor de proteína morfogenética óssea (BMPRII), localizado no cromossomo 2q31-33[30]. Mutações neste gene levam a proliferação desordenada especialmente de células musculares lisas. Outros mecanismos também estão envolvidos na gênese de HAP como, por exemplo, as alterações na função endotelial. O endotélio lesado produz moléculas de adesão, citocinas, torna-se pró-coagulante e induz mudanças no tônus e na integridade vascular que facilitam a trombogênese, a vasoconstrição e a hipertrofia muscular[31].

2) Esquistossomose

As larvas de *S. mansoni* [18] penetram a pele com a ajuda de enzimas proteolíticas que degradam a camada de queratina. Dentro da pele, elas se protegem de um choque osmótico com a camada de glicocálix que, por sua vez, ativa o sistema de complementos. A união entre os esquistossômulos e a parede vascular é feita por carboidratos da superfície do parasita que se ligam aos receptores das células endoteliais. Os esquistossômulos migram pela vasculatura periférica, passam pelos pulmões e se instalam no sistema porta, onde se desenvolvem em fêmeas e machos adultos. As fêmeas produzem diariamente grande quantidade de ovos que estimulam a produção de granulomas e fibrose no local. Alguns ovos conseguem passar do sistema porta para o lúmen do cólon através da parede intestinal. Os ovos são, então, liberados junto com as fezes e os miracídios podem cair em locais de água parada onde encontram os caramujos, completando seu ciclo de vida [17, 32].

Os esquistossômulos mantêm, no hospedeiro, um intenso contato com o endotélio vascular, principalmente durante a sua fase pulmonar. Nesse órgão, eles estimulam o processo inflamatório e o recrutamento de leucócitos para os locais de lesão.

Os esquistossômulos, quando atingem o sistema porta, causam lesões hepáticas por vários mecanismos: os ovos liberam substâncias hepatotóxicas, estimulam a formação de granulomas e secretam a linfocina fibrogênica que estimula a proliferação de fibroblastos e a fibrose portal.

Este processo fibrótico intenso dá origem à EHE, que é caracterizada pela hipertensão portal grave, varizes esofágicas e ascite e que acomete cerca de 5% dos infectados [33, 34].

Disfunção Endotelial

O endotélio é responsável pela homeostase vascular e manutenção do tônus vascular. Uma disfunção ou lesão deste endotélio pode desencadear o desenvolvimento da HAP. Por diversos motivos como alterações genéticas, inflamação, hipóxia ou infecção (que aqui também incluem os ovos dos esquistossômulos), pode ocorrer um desequilíbrio fisiológico entre as ações de substâncias vasodilatadoras (óxido nítrico- NO) e vasoconstritoras (endotelina-1, ET-1) sintetizadas no endotélio, ou mediadoras do processo inflamatório vascular (prostaciclina e o tromboxane A₂). Na lesão arterial as células endoteliais (CE) diminuem a síntese de NO e aumentam a produção de ET-1, enquanto as plaquetas ficam ativadas e liberam tromboxane A₂ e fatores de crescimento como o VEGF e o PDGF. Estes, ao difundirem para o subendotélio estimulam a

proliferação de células musculares lisas (CML) e a hipertrofia da parede vascular. Portanto, em situações de injúria endotelial, é esperado que estes processos sejam ativados e que a concentração local dessas substâncias seja aumentada, servindo elas como marcadores do processo em curso e que podem ser detectáveis, na maioria das vezes, na corrente sanguínea com métodos sensíveis hoje disponíveis.

O processo inflamatório estimula ainda a expressão de moléculas de adesão, como as selectinas, que facilitam a migração de leucócitos para o subendotélio na tentativa de regenerar o local da lesão[9, 35].

A selectina P tem uma maior expressão no endotélio em estados de hipercoagulabilidade e a selectina E, no endotélio lesado[35]. Essas moléculas de adesão, além de serem expressas no endotélio ativado, também existem na forma solúvel e podem ser dosadas no soro[36]. O aumento dos níveis de selectinas E e P é marca de disfunção endotelial ou de ativação plaquetária e pode indicar a presença de hipercoagulação [35, 37].

A células endoteliais tem também papel importante na resposta celular e, quando são ativadas pelas citocinas inflamatórias (principalmente o TNF- α), passam a expressar na sua superfície moléculas de adesão como a selectina E, a molécula de adesão intercelular (ICAM-1) e a molécula de adesão de célula vascular (VCAM-1), as quais vão facilitar o rolamento e a migração de leucócitos para o tecido.

Estudos com o esquistossômulo, seus ovos e células endoteliais humanas mostraram que eles não estimulam a expressão de moléculas de adesão pelas células e modulam em um patamar inferior (*down-modulate*) a síntese de RNAm de VCAM-1 e Selectina E. Essa observação sugere que esse possa ser um

mecanismo de evasão do parasita para controlar o processo inflamatório [38]. Esse fenômeno levaria à perpetuação do estímulo (infestação) e da injúria vascular e, dessa maneira, os esquistossômulos atingiriam a circulação sistêmica.

Estudos mostram que as concentrações de ET-1 plasmáticas e pulmonares estão elevadas em pacientes com HAP e que o aumento das concentrações de ET-1 nas células pulmonares evidencia uma produção aumentada do vasoconstritor no local [39]. Em indivíduos saudáveis, as concentrações plasmáticas de ET-1 são baixas, ao redor de 1 a 10pg/mL, e podem não representar o impacto fisiológico da ET-1 no local de síntese, porque não se trata de um hormônio endócrino circulante [40].

Pacientes com HAP apresentavam níveis séricos elevados de selectina E, selectina L e NO relativamente a indivíduos normais, mostrando que os níveis elevados de selectinas talvez representem um quadro de disfunção endotelial e de ativação plaquetária [37].

O componente mais importante que leva a disfunção de CML e CE e ao desenvolvimento da HP em esquistossomóticos é ainda incerto. Acredita-se que um dos mecanismos seja também a disfunção endotelial causada pelo processo inflamatório gerado pelo parasita, além da hipertensão portal (HPo) que, geralmente, está presente nestes indivíduos.

Alterações Hemodinâmicas na Esquistossomose Hepatoesplênica

Alguns estudos mostraram que em pacientes cirróticos, além da disfunção cardíaca, circulação colateral, hiperemia esplâncnica e gastropatia encontradas nestes pacientes, existe uma produção sistêmica aumentada de NO e prostaciclina

(potentes vasodilatadores), que seriam os responsáveis pela vasodilatação pulmonar [41].

Pouco se conhece das alterações hemodinâmicas ocorridas no fígado de pacientes portadores de esquistossomose. Sabe-se que o fluxo sanguíneo total hepático está mantido, porém o fluxo portal parece estar aumentado[42]. Entretanto, alguns autores sugerem que o fluxo portal está reduzido e o fluxo hepático arterial está aumentado[43]. Os pacientes apresentam esplenomegalia com dilatação da artéria esplênica, o que pode ser devido ao hiperfluxo portal por obstrução de ramos intrahepáticos por ovos ou parasitas. No entanto, trata-se de uma doença pré-sinusoidal em que a função hepática permanece inalterada [44].

Alguns estudos sugerem que o aumento da pressão portal leva a formação de colaterais porto-sistêmicas que resultam na formação de varizes de esôfago e *shunts* espleno-renais, como uma forma de aliviar o sistema portal venoso [45, 46]. Além disso, a doença é caracterizada por uma circulação hipercinética composta pelo aumento do débito cardíaco e pela baixa resistência vascular periférica, que pode levar a HAP por hiperfluxo sanguíneo pulmonar e lesão de cisalhamento endotelial [47].

Esta hipótese foi levantada por alguns autores que estudaram alguns doentes que apresentavam HPo e HAP por causas não hepáticas, sugerindo que HPo seria um indutor primário de HAP. Outro possível mecanismo que levaria a HAP seria a liberação de substâncias vasoconstritoras, como o tromboxane A₂, produzidas pelo fígado na circulação sistêmica em situações de injúria celular [48]. No entanto, ainda existe uma controvérsia quanto ao papel desses mediadores inflamatórios nos pacientes com HPo.

Esquistossomóticos com e sem HPo foram avaliados quanto aos níveis séricos de VEGF e ET-1. Os pacientes sem HPo apresentaram valores séricos de ET-1 mais elevados do que os pacientes com HPo e não houve diferença dos valores séricos de VEGF entre os grupos. Em pacientes cirróticos, os valores séricos de ET-1 são elevados e, o fato dos esquistossomóticos com HPo terem apresentado valores séricos mais baixos, sugere que a ET-1 não tem um papel importante na HPo. Em relação ao VEGF, pacientes cirróticos tem valores séricos diminuídos e nos pacientes com hepatite seus valores são elevados [49].

A importância das medidas séricas de VEGF, bem como dos outros marcadores de função endotelial, é ainda incerta. No entanto, a HP associada à esquistossomose passa a ser uma entidade de interesse científico por ser a segunda causa de HP do país nos centros de referência (mas existe o potencial de ser a primeira causa, vista a prevalência da doença no país), além de ser uma doença pouco estudada em que os mecanismos fisiopatológicos não são bem conhecidos. A hipótese de que a HAPI e a HP associada à esquistossomose sejam doenças distintas estimulou o estudo mais aprofundado da segunda, uma vez que a HAPI vem sendo extensivamente estudada ao longo dos anos. Seria interessante, inclusive, definir se o fator que leva a HP nestes doentes é a HPo ou se existem outros mecanismos, como a disfunção endotelial, que contribuem para o desenvolvimento da HP. Como a esquistossomose também é uma doença que apresenta uma resposta inflamatória importante, talvez os marcadores de disfunção endotelial e os inflamatórios tenham uma importância diferente nesta doença.

OBJETIVOS

Desta forma, os objetivos deste estudo foram:

- 1) Avaliar a disfunção endotelial de pacientes com HAPI e esquistossomóticos com e sem HAP usando os marcadores plasmáticos Endotelina-1, Selectina E, VEGF, PDGF-AB e PDGF-BB.
 - 2) Avaliar se pacientes com HAP associada à esquistossomose possuem o mesmo grau de disfunção endotelial que pacientes com esquistossomose sem HAP.
-

MÉTODOS

Este projeto de pesquisa nº 0069/07 foi aprovado pela Comissão de Ética para a Análise de Projetos de Pesquisa –CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Pacientes

Os indivíduos foram recrutados entre os anos de 2005 a 2009 dos ambulatórios de Gastroenterologia do HCFMUSP e de Hipertensão Pulmonar do Instituto do Coração do HCFMUSP. Todos os pacientes aceitaram participar do estudo e assinaram o termo de consentimento. Os pacientes já apresentavam avaliação clínica, radiológica, funcional e hemodinâmica. Os indivíduos controles foram recrutados entre os funcionários no Instituto do Coração.

Os pacientes foram divididos em 4 grupos:

1 – Pacientes com hipertensão arterial pulmonar idiopática (HAPI)

Pacientes com diagnóstico de HAPI realizado através de história clínica (história familiar ou não); ecocardiograma evidenciando pressão sistólica de ventrículo direito (PSVD) maior que 35mmHg e cateterismo de câmaras direitas com pressão média de artéria pulmonar maior ou igual a 25 mmHg; angiotomografia de tórax revelando ausência de trombos na vasculatura pulmonar ou cintilografia de inalação-perfusão com baixa probabilidade de tromboembolismo pulmonar; preferencialmente com ultrassonografia (USG) de abdome sem sinais de fibrose periportal; ausência de doenças do tecido conectivo. Nenhum paciente estava em uso de medicamentos específicos para o tratamento de HAP, segundo os critérios estabelecidos pelas diretrizes brasileiras de HP [50].

2– Pacientes com hipertensão pulmonar associada à esquistossomose (ESQ+HP)

Pacientes procedentes de áreas endêmicas de esquistossomose ou tratados da doença no passado com ecocardiograma evidenciando PSVD maior que 35mmHg[51] e cateterismo de câmaras direitas com pressão média de artéria pulmonar maior ou igual a 25 mmHg; angiotomografia de toráx com dilatações de artérias pulmonares centrais e compatíveis com hipertensão pulmonar; deveriam apresentar USG de abdome com evidências de alterações hepáticas tipo fibrose periportal e aumento do lobo esquerdo, ou Kato katz ou biópsia de reto positivos para identificação do agente [52]. Nenhum paciente estava em uso de medicamentos específicos para o tratamento de HAP, segundo os critérios estabelecidos pelas diretrizes brasileiras de HP [50].

3 – Pacientes com esquistossomose e hipertensão portal, sem HAP (ESQ)

Pacientes procedentes de áreas endêmicas de esquistossomose ou tratados da doença no passado com ecocardiograma evidenciando PSVD menor ou igual a 35mmHg; com USG de abdome revelando evidências de alterações hepáticas tipo fibrose periportal e aumento do lobo esquerdo com esplenomegalia, ou kato-katz ou biópsia de reto positivos.

4 – Grupo Controle

Indivíduos assintomáticos pareados por sexo e idade que apresentavam radiografia de tórax dentro dos padrões da normalidade e o ecocardiograma com medida de PSVD estimada menor ou igual 35 mmHg.

Os pacientes seguiram os seguintes critérios de exclusão:

Critérios de Exclusão:

1. Pacientes com doenças pulmonares obstrutivas que apresentavam volume expirado forçado no primeiro segundo (VEF1) menor que 70% do predito [53](diagnosticado por prova de função pulmonar).
2. Pacientes com outras doenças que evoluam com HAP como colagenoses (diagnosticados por sorologia positiva e quadro clínico), SIDA (diagnosticados por sorologia), cardiopatias congênitas e/ou shunt direito/esquerdo (diagnosticados por ecocardiograma), doenças pulmonares restritivas {capacidade vital forçada (CVF) <65% - diagnosticado por prova de função pulmonar}[53].
3. Pacientes com insuficiência cardíaca esquerda avançada (Fração de Ejeção do ventrículo esquerdo <0,55 medida pelo ecocardiograma) e doença coronariana previamente estabelecida.
4. Pacientes com insuficiência hepática avançada (com classificação de CHILD-Pugh C, classificada de acordo com os valores de bilirrubinas, de INR e de albumina; com o grau de ascite; e com o grau de encefalopatia).
5. Pacientes tabagistas ativos.

Avaliação clínica e funcional

Os pacientes com HP foram classificados segundo a gravidade (classe funcional, medida pela classificação da NYHA adaptada para HP [14]), teste de caminhada de seis minutos e BNP sérico (já realizados previamente como parte da

avaliação de rotina assistencial). Os pacientes com esquistossomose sem HP foram classificados quanto ao grau de insuficiência hepática (Classificação de CHILD-Pugh). Os pacientes realizaram espirometria para que pudessem constituir os grupos 1, 2 e 3 (VEF1 acima de 70% do predito, e CVF > 65% do predito).

Avaliação hemodinâmica

Todos os pacientes com HAP tiveram o teste hemodinâmico realizado no momento do diagnóstico de HAP (ou seja, entraram na pesquisa com o exame realizado num período de até um ano do momento da coleta das amostras), seguindo protocolo previamente descrito [54-56]. Foram avaliadas as medidas de PAP (pressão de artéria pulmonar), POAP (pressão de oclusão de artéria pulmonar), Débito Cardíaco (DC), Resistência Vascular Pulmonar (RVP) e a resposta ao teste de vasodilatação com NO (Positiva ou negativa). A Resistência Vascular Pulmonar Indexada (RVPI) e o Índice Cardíaco também foram calculados.

Avaliação da função endotelial

A avaliação da função endotelial foi realizada no laboratório de Pleura da Disciplina de Pneumologia HCFMUSP, dotado de todo equipamento técnico para a dosagem dos marcadores séricos.

Foram coletadas amostras sanguíneas para a dosagem dos seguintes marcadores de disfunção endotelial:

- Endotelina-1 (Human endothelin-1 parameter ELISA, R&D systems, kit BBE5);
-

- PDGF (fator de crescimento plaquetário) (Human PDGFBB duo set, kit DY220 e PDGFAB duo set, kit DY222)
- Selectina E (Human E-selectin CD62E duoset, R&D systems, kit DY137)
- VEGF (Human VEGF Duoset DY293);

Foram coletados 40 mL de sangue destes pacientes e centrifugados por 10 a 15 minutos a 1500 rotações por minuto em uma centrífuga Beckman® refrigerada. Em seguida, foram estocados em freezer a -80° C.

As dosagens dos fatores de disfunção endotelial citados foram feitas no soro ou plasma do sangue centrifugado e foram medidas pelo método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) de acordo com o protocolo sugerido nos manuais dos fabricantes, adaptado para a utilização neste estudo.

Endotelina-1

Os valores séricos de ET-1 também foram analisados pelo método de ELISA sanduíche (Human endothelin-1 immunossay, R&D systems, kit BBE50). As amostras eram descongeladas e preparadas para o procedimento de extração de proteínas: 1,5 mL de amostras em EDTA eram adicionados a 2,25mL de solvente de extração. As amostras com solvente eram centrifugadas por 20 minutos a 2000g e a temperatura de 4° C em uma centrífuga refrigerada Eppendorf®. O sobrenadante era, em seguida, centrifugado em um *centrifugal evaporator* (*Speed Vac Plus*, SC210A, Savant) durante 4 horas, dependendo do número de amostras. Após a secagem do *pellet*, este era reconstituído e o experimento era realizado.

A quantificação dos fatores foi realizada por leitura de densidade óptica a partir de um leitor de ELISA (Power Wave; Bio-Tek instruments INC®; Winooski,

VT, USA) com filtro de 450 nm. Foram utilizados uma curva padrão de 7 pontos (nas colunas laterais), um branco e um controle de concentrações determinadas.

A faixa de detecção de base para os fatores estudados em portadores de HAP foi:

- 1) VEGF: 9 pg/mL (0.2 pM)[57]
- 2) PDGF AB: 420 pg/mL (único valor encontrado em humanos)[57]
- 3) Endotelina-1: variação de 0,5 a 12 pg/mL[39, 58]
- 4) Selectina-E: 70 ng/mL[37]

Quando os valores foram maiores que a faixa de detecção, as amostras foram diluídas 5, 10, 20 ou 40 vezes. Em seguida, as amostras foram novamente dosadas.

Em quatro pacientes com HAPI, as amostras sanguíneas foram colhidas antes e após o tratamento específico para HAP e, em seguida, os fatores foram dosados.

Exames Laboratoriais

Os pacientes com HAP e os pacientes com esquistossomose tiveram, previamente, sangue coletado para a análise bioquímica de rotina. Em pacientes com HAP foram dosados o BNP, o ácido úrico, a função renal e o hemograma. Nos pacientes com esquistossomose, o hemograma e a função hepática.

As amostras de BNP foram estocadas a 4°C por até 1 hora antes da centrifugação. O plasma obtido era estocado a -20°C até a análise. As concentrações plasmáticas foram quantificadas usando o método de radioimunoensaio sanduíche. Os valores séricos de ácido úrico foram medidos com

um instrumento de bioquímica automatizado (Dimension Rx Lmax). As amostras eram coletadas e analisadas no mesmo dia.

O hemograma foi analisado através do sistema automatizado no aparelho Sysmex XT 1800, Kobe, Japão.

A função hepática foi medida com métodos padrões de análise bioquímica.

Todos os exames foram analisados no laboratório de bioquímica do HC-INCOR/FMUSP.

Cálculo da Amostra

Para obter o poder do estudo de 80%, foi considerado o erro $\alpha = 0,05$ (com intervalo de confiança de 95%) e o erro $\beta = 0,2$ (para que o poder do estudo fosse de 80%). Foi esperada uma diferença de 1,5 ng/mL entre controles e pacientes com HAP, com um desvio-padrão conhecido de 0,7 [37, 59], chegamos ao cálculo amostral de 12 indivíduos por grupo.

Análise Estatística

Os dados foram analisados com os programas GraphPad Prism 4.0 e SPSS 13.0. Primeiramente, foi realizada a análise descritiva. Em seguida, as médias dos resultados de cada grupo foram comparadas entre si. Os resultados estão descritos como média \pm desvio padrão para amostras com distribuição normal ou mediana (25%-75%), para amostras com distribuição não-normal. Os testes utilizados foram o teste T (quando apenas dois grupos foram incluídos) e ANOVA (quando foram incluídos mais de dois grupos) para amostras com distribuição normal. O teste pos-hoc (teste de Tukey ou Bonferroni) foi feito nos

casos em que $p < 0,05$. Para aqueles resultados em que a distribuição não era normal, foi utilizado o teste de Mann-whitney (dois grupos incluídos) e Kruskal-Whallis (mais de dois grupos incluídos). Foram também calculados os coeficientes de Pearson. Para avaliar a capacidade dos marcadores em distinguir portadores de HAP de controles ou de pacientes sem HAP, foram feitas curvas ROC (*receiver operating characteristic*), que foram criadas ao colocar sob uma curva a sensibilidade contra 1-especificidade para todos os possíveis pontos de corte. Em seguida, foi feita a razão de verossimilhança para saber qual seria o poder dos marcadores em diagnosticarem uma doença ou um controle. Para finalizar, foram realizadas regressões lineares e logísticas para avaliar uma possível relação causal entre os marcadores de disfunção endotelial, exames laboratoriais e os grupos estudados.

RESULTADOS

De um total de 984 pacientes matriculados no ambulatório de Hipertensão Pulmonar, cento e vinte e um tinham diagnóstico de HAPI e sessenta e nove doentes eram portadores de HP associada a esquistossomose (Esq+HP). Apenas 44 pacientes com HAPI e 31 com Esq+HP responderam a convocação. Onze pacientes com HAPI e 13 com Esq+HP estavam de acordo com os critérios de inclusão e não apresentaram critérios de exclusão, como pode ser visto na Figura 1.

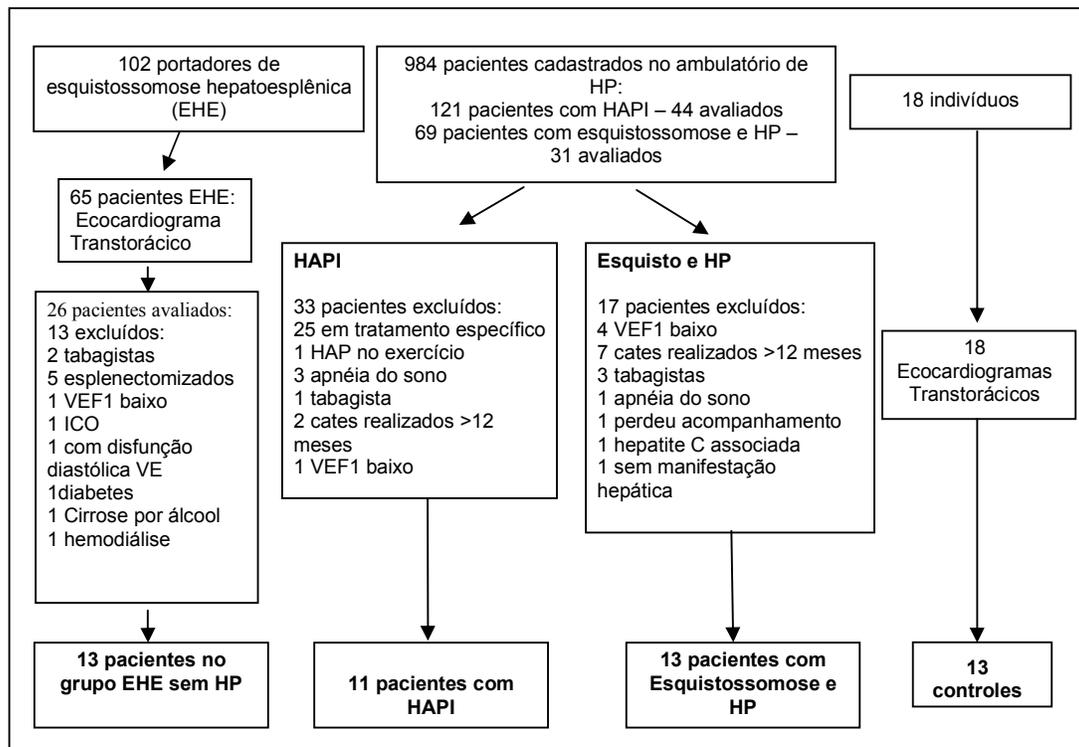


Figura 1- Organograma de recrutamento dos pacientes

(VEF1- volume expirado forçado no primeiro segundo; ICO- insuficiência coronariana; VE- ventrículo esquerdo; CATE- cateterismo cardíaco; IC- insuficiência cardíaca).

Esquisto= esquistossomose; HP=hipertensão pulmonar; EHE= esquistossomose hepatoesplênica; HAPI= hipertensão arterial pulmonar idiopática

Para formar o grupo de esquistossomose sem HP (ESQ), foram recrutados 65 de 102 pacientes com EHE oriundos do ambulatório de Gastroenterologia. Vinte e seis pacientes foram avaliados e 13 foram incluídos neste estudo. Dezoito indivíduos sadios foram avaliados para serem incluídos no grupo controle e apenas 13 possuíam critérios de inclusão (figura 1).

As características gerais e ecocardiográficas de cada grupo de pacientes podem ser vistas na Tabela 2.

Tabela 2 - Características Gerais dos pacientes

	Controle (n=13)	HAPI (n=11)	ESQ+HP (n=13)	ESQ (n=13)	Estatística do teste	p
Idade (anos)	44,5±6,7	41,4±10,5	44,8±9,3	47,8±8,2	F(3;46)=1,07	0,371
Sexo (F/M)	8:5	10:1	9:4	7:6	X ² (1)=2	0,157
Tempo de dispnéia (meses)	0	24 (12-72)	48 (12-132)	0(0-0)	T(22)=1,46	0,159 [#]
Classe Funcional (I-II:III-IV) %	13 : 0	7 : 4 64	4 : 9 36	13 : 0 69	X ² (1)=2,593	0,107 [#]
PSVD (mmHg)	23,4±4,6	79,8±26,4	75,2±15,3	29,5±8,5	F(3;36)=30,3	<0,001*

[#] Análise realizada entre os grupos HAPI x ESQ+HAP;

* p< 0,001 Controle x HAPI e ESQ+HAP; ESQ x HAPI e ESQ+HAP

^{***} ESQ+HAP x ESQ

(PSVD= pressão sistólica do ventrículo direito;)

Dados representados por média ± desvio padrão ou mediana (25-75% quartis). As proporções de predomínio de sexo e classe funcional estão representadas por n:n e porcentagem.

Em todos os grupos existe a predominância do sexo feminino. O tempo de dispnéia até o diagnóstico da doença variou muito entre eles, sendo que os pacientes do grupo ESQ não apresentaram sintomas exceto um e, portanto, foram classificados na classe funcional I. No entanto, os grupos HAPI e ESQ+HP possuíam mais pacientes sintomáticos e foram incluídos nas classes funcionais III e IV. Os pacientes com esquistossomose sem HP tinham Classificação de CHILD A. Como mostra a tabela II, não existiram diferenças significativas entre os grupos com HAP verificadas pelos parâmetros PSVD e tempo de dispnéia. Por outro lado, a medida da PSVD dos grupos controle e ESQ foi estatisticamente diferente dos grupos com HAP. Os grupos também não apresentaram variação quanto à distância percorrida pelo teste de caminhada e o diâmetro de artéria pulmonar. As medidas hemodinâmicas foram semelhantes em ambos os grupos (tabela 3). Cinco pacientes com Esq+HP possuíam valores elevados de POAP.

Tabela 3- Características hemodinâmicas dos pacientes com HP

	HAPI (n=11)	ESQ+HP (n=13)	Estatística do Teste	p
PSAP (mmHg)	98,7±23,6	93,3±21,9	T(22)=0,58	0,566
PAPm (mmHg)	64,54±12,9	58,8±13,4	T(22)=1,07	0,295
PDAP (mmHg)	43±10	34,2±11,3	T(22)=1,95	0,064
POAP (mmHg)	11±4,3	14,1±5,3	T(22)=1,57	0,130
IC (L/min/m ²)	3,1±1,3	2,9±0,7	T(19)=0,38	0,705
RVPI (dyne.s.cm ⁻⁵)	1972 (869-2182)	1142 (668-1905)	U=39,5	0,291
Teste de Reatividade (positivo)	2/11	0/13		-

Dados representados por média ± desvio padrão ou mediana (25-75% quartis). As proporções de predomínio de sexo e classe funcional estão representadas por n:n e porcentagem.
(PSAP=pressão sistólica de artéria pulmonar; PAPm=pressão média de artéria pulmonar; PDAP=pressão diastólica de artéria pulmonar); POAP= pressão de oclusão de artéria pulmonar; IC=índice cardíaco; RVPI= resistência vascular pulmonar indexada)

Os marcadores de disfunção endotelial estão demonstrados na tabela 4 e nas figuras 2 e 3. Os valores séricos de PDGF-AB do grupo controle foram estatisticamente mais elevados quando em comparação com o grupo ESQ. Não foram encontradas diferenças significantes nos valores séricos de Endotelina-1 entre os grupos. Em relação ao VEGF, os pacientes com HAPI apresentaram valores séricos similares ao grupo ESQ+HP e mais significativamente elevados quando comparados com o grupo controle e ESQ.

Tabela 4. Marcadores de disfunção endotelial nos grupos estudados.

	Controles (n=13)	HAPI (n=11)	ESQ+HP (n=13)	ESQ (n=13)	F(gl)	p
ET-1^β (pg/mL)	3,2 (2,2-4,7)	2,2 (1-4,5)	4,0 (2,9-6,6)	2,75 (2,5-3,75)	1,31(3;44)	0,281
PDGF-AB $\times 10^3$ (pg/mL)	25,6 \pm 8,6	17,8 \pm 9,5	19,9 \pm 11	11,4 \pm 8,6	4,5 (3;45)	0,006*
VEGF (pg/mL)	38,4 \pm 28	96,6 \pm 68,2	82,6 \pm 44,8	37, \pm 19,2	5,69(3;43)	0,002**

Valores representados em Média \pm DP

^β Valores em Mediana (25-75% percentis)

gl= grau de liberdade

* p< 0,01 Controles x ESQ

**p<0,05 Controles x HAPI e HAPI x ESQ

Em relação ao PDGF-BB, o grupo controle apresentou valores séricos significativamente mais aumentados ($8,9\pm 4,8 \times 10^3$ pg/mL) que os outros grupos HAPI, ESQ+HP, ESQ ($3,7\pm 2,1$; $5,2\pm 3$; $2,4\pm 1,7 \times 10^3$ pg/mL, respectivamente) (figura 2).

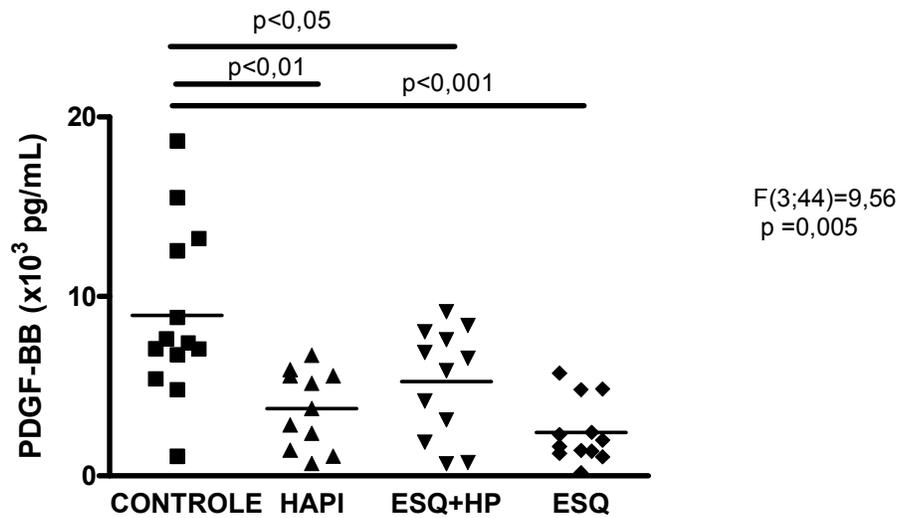


Figura 2 - Níveis séricos de PDGF-BB nos diferentes grupos estudados.

O grupo HAPI apresentou valores estatisticamente mais elevados de Selectina E ($61,5 \pm 24,2 \times 10^3$ pg/mL) que os grupos controle, ESQ+HP e ESQ ($14,5 \pm 12,2$; $23,9 \pm 15,3$; $21,4 \pm 18 \times 10^3$ pg/mL, respectivamente) (figura 3).

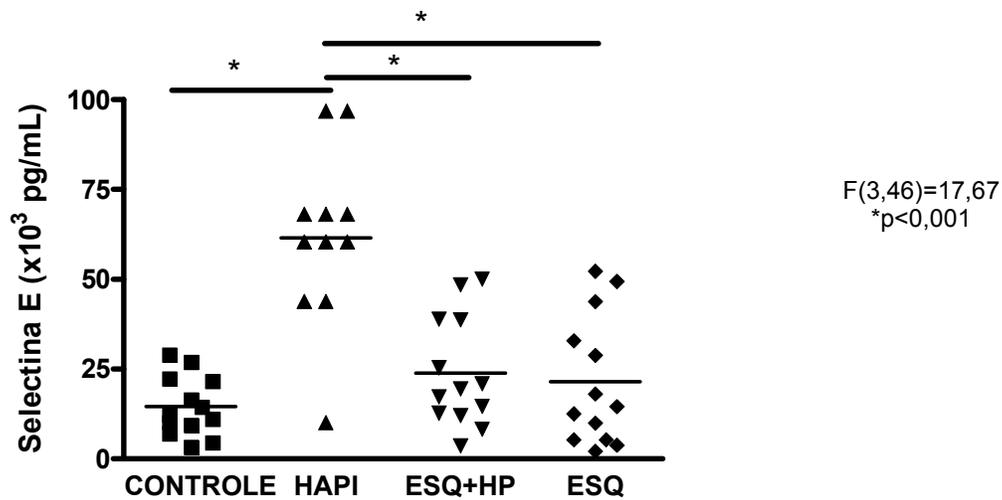


Figura 3 - Níveis séricos de Selectina E nos diferentes grupos estudados.

Como tentativa de melhor avaliar a importância da dosagem dos marcadores séricos, foi realizada uma curva ROC para cada parâmetro. A tabela 5 descreve o ponto de corte (*cutoff*) escolhido para cada fator, a sensibilidade (sens), a especificidade (esp), a acurácia, o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN).

Tabela 5- Curva ROC dos fatores de disfunção endotelial

	Cutoff	Area	Sens	Esp	Acurácia	VPP	VPN
Selectina E (Positivo para HAPI)	43.806	0,916	0,91	0,89	0,88	0,91	0,87
Selectina E (positivo para HAP)	16.873	0,764	0,75	0,61	0,7	0,76	0,61
PDGF-AB (positivo para controle)	19.645	0,771	0,76	0,69	0,7	0,77	0,69
PDGF-BB (positivo para controle)	6.747	0,813	0,77	0,83	0,82	0,77	0,83
VEGF (positivo para HAP)	54,25	0,773	0,69	0,83	0,72	0,6	0,83

(*cutoff*- ponto de corte; sens=sensibilidade; esp=especificidade; vpp=valor preditivo positivo; vpn=valor preditivo negativo)

Ao escolher o ponto de corte da dosagem da selectina E (43.806 pg/mL) para diferenciar pacientes com HAPI dos pacientes com ESQ+HP(figura 6), a sensibilidade foi de 91% e a especificidade foi de 89%. O VPP e o VPN foram 91 e 87%, respectivamente.

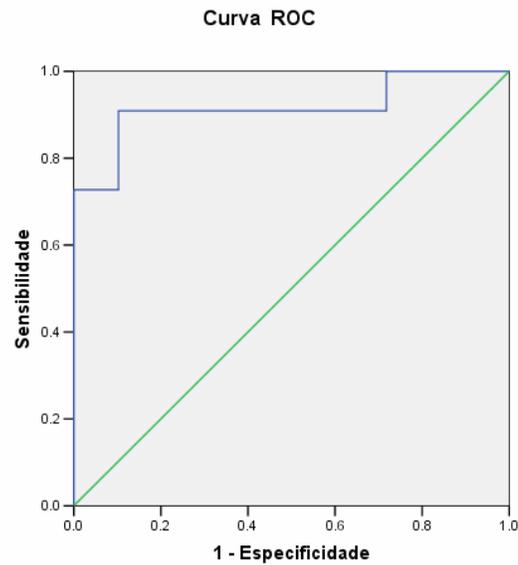


Figura 4 – Curva ROC da selectina E para diferenciar pacientes com HAPI.

A razão de verossimilhança positiva da selectina E para diagnosticar HAPI foi de 8,27, ou seja, a selectina E acima de 46.806 pg/mL é capaz de aumentar em 8 vezes a probabilidade do paciente apresentar HAPI. A análise de regressão logística confirma este achado (tabela 6), ou seja, para cada aumento de 1 pg/mL de selectina E aumenta uma vez a chance de se ter o diagnóstico de HAPI.

Tabela 6: Regressão logística: HAPI

	Beta	Erro Padrão	OR	95% IC (OR)	p
Constante (HAPI)	-3,940	1,577			0,012
Selectina E	0,091	0,034	1,095	1,024-1,171	0,008

IC(OR)= intervalo de confiança do *odds ratio*

O PDGF-BB apresentou uma boa acurácia para distinguir o grupo controle dos demais. Ao escolher o ponto de corte de 6.747pg/mL, a sensibilidade para separar o grupo controle foi de 77% e a especificidade, de 83%. O VPP foi de 77% e o VPN, 83%. A razão de verossimilhança para o PDGF-BB diferenciar controles dos pacientes foi de 4,5. Os demais marcadores séricos não apresentaram boa sensibilidade e/ou especificidade diagnóstica.

Apesar dos pacientes com HAPI apresentarem valores estatisticamente mais elevados de VEGF do que os esquistossomóticos sem HP e os controles, o VEGF apresentou uma razão de verossimilhança também baixa (4,05) quando foram comparados pacientes com HAP dos demais grupos.

Como tentativa de avaliar os possíveis efeitos dos medicamentos específicos para o tratamento da HAP, os marcadores de disfunção endotelial também foram dosados após pelo menos um ano de tratamento em 4 pacientes com HAPI. Duas pacientes faziam uso de Sildenafil, uma fazia uso de Diltiazem e a última, de ambrisentan. Os níveis séricos de Selectina E diminuíram significativamente (figura 5).

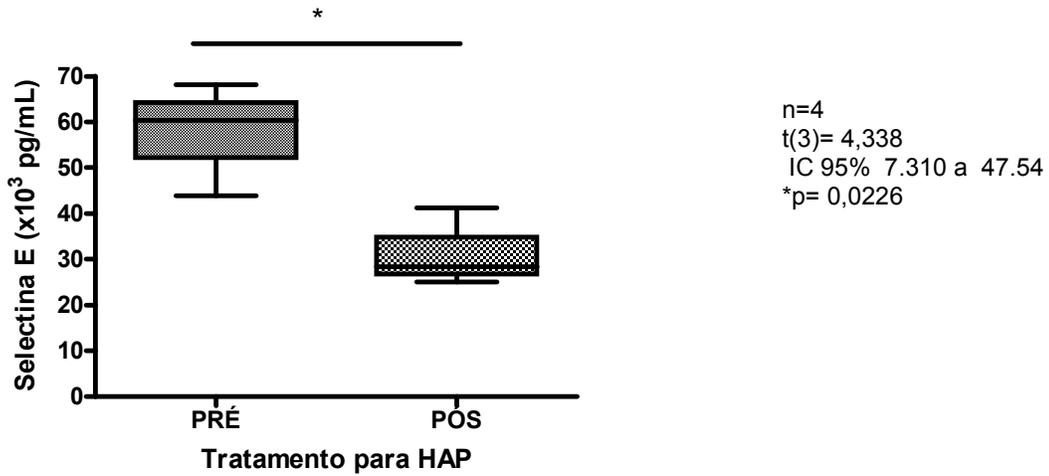


Figura 5– Valores séricos de Selectina E antes e após o tratamento específico para HAP.

Em relação ao PDGF-BB, os resultados mostraram uma tendência ao aumento dos seus valores após o tratamento (figura 6).

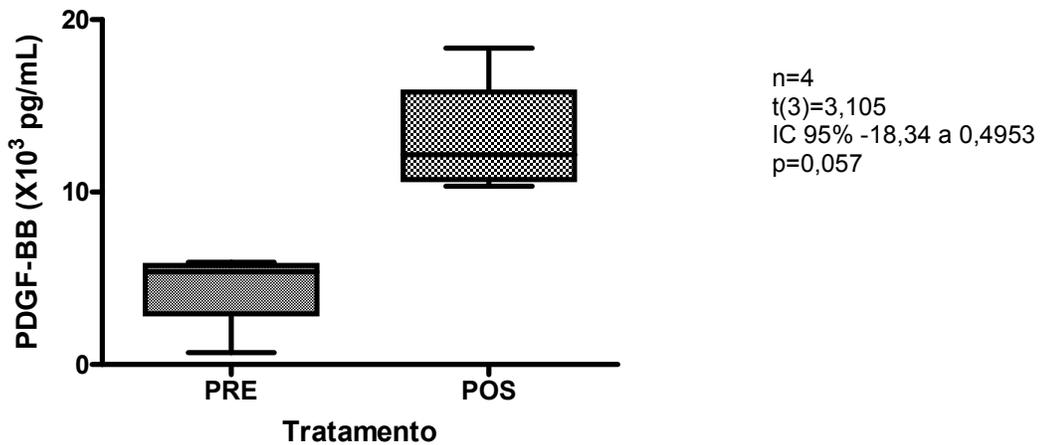


Figura 6– Valores séricos de PDGF-BB antes e após o tratamento específico para HAP

A selectina E apresentou uma forte correlação com os níveis séricos de BNP, como pode ser observado na figura 7. Os pacientes incluídos nessa análise foram aqueles em que as coletas de BNP e selectina E foram realizadas no mesmo período (diferença de até 3 meses, sendo que 9 pacientes tinham a diferença de tempo entre a coleta do BNP e da Selectina E de 1 mês).

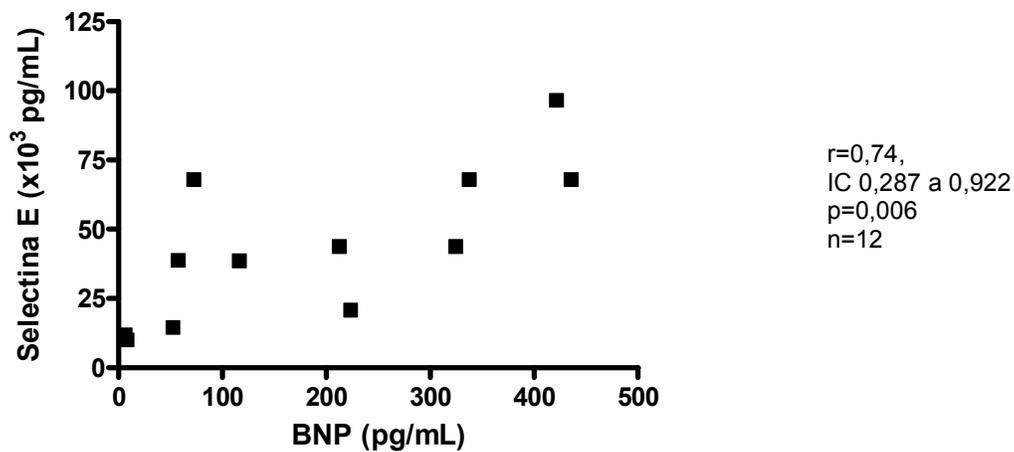


Figura 7– Correlação entre os valores séricos de Selectina E e BNP.

Não houve relação dos valores de selectina E com os valores hemodinâmicos dos pacientes. No entanto, ao fazer a regressão linear múltipla entre Selectina E (variável dependente), RVPI (resistência vascular pulmonar indexada) e índice cardíaco (IC) (variáveis predictoras), os resultados sugerem que talvez exista uma relação causal entre RVPI e Selectina E, independentemente do IC (tabela 11).

Tabela 7- Regressão linear múltipla: Selectina E

	β	Erro Padrão	t	p	95% ICon (β)
Constante	-39.230	43.960	-0,908	0,376	-132.334-52.489
RVPI	0,023	0,011	2.124	0,048	0,0-0,47
IC	15.886	9.489	1.674	0,111	-4.050-35.821

(RVPI= resistência vascular pulmonar indexada; IC=índice cardíaco; ICon=intervalo de confiança)

Quanto aos resultados dos exames laboratoriais, a tabela 8 evidencia que os pacientes com HAPI e ESQ+HP apresentaram valores séricos elevados de BNP e ácido úrico, porém estes valores não foram significativamente diferentes entre os grupos.

Entretanto, exames como a dosagem de hemoglobina(Hb) e o número de leucócitos e de plaquetas foram estatisticamente diferentes entre os três grupos do estudo (HAPI, ESQ+HP e ESQ). Pacientes com HAPI tinham maior concentração de Hb, maior número de leucócitos e plaquetas quando comparados com esquistossomóticos (tabela 8, Figuras 8 e 9). Além disso, a dosagem de aspartato alanina transferase (AST) foi estatisticamente diferente entre os pacientes com esquistossomose e os com HAPI, o que indica o comprometimento hepático dos esquistossomóticos (tabela 8).

Tabela 8 – Exames laboratoriais dos pacientes

	HAPI (n=11)	ESQ+HP (n=13)	ESQ (n=13)	Est. do teste	p
BNP (pg/mL)	228,6±176,2 (n=8)	178,1±298,2 (n=10)	-	T(16)=0,422	0,678
Ácido Úrico (mg/dL)	5,58±2,1 (n=10)	4,86±1,8 (n=10)	--	T(18)= 0,825	0,420
Hemoglobina (g/dL)	15,8± 13 (n=12)	15,1±2,4 (n=13)	13,2±1,4 (n=13)	F(2;34)=7,01	0,003*
ALT (U/L)	25,8±18,6 (n=11)	38,9±14 (n=11)	37,4±23,6 (n=13)	F(2;32)=1,49	0,240
AST (U/L)	17 (12-25) (n=10)	33,5 (25,5-45) (n=12)	34 (27,5-37,5) (n=13)	W=10,48	0,005**
Creatinina (mg/dL)	0,85±0,14 (n=11)	0,86±0,16 (n=13)	0,76±0,15 (n=13)	F(2;33)=1,96	0,157
TSH (microUI/mL)	4,03±2,6 (n=9)	2,69±1,46 (n=6)	2,98±2,11 (n=11)	F(2;23)=0,84	0,445
T4L (ng/100mL)	1,45±0,1 (n=6)	1,7±0,2 (n=4)	1,16±0,17 (n=9)	T(16)=3,53	0,003***

* p< 0,001 HAPI x ESQ; p<0,05 ESQ+HAP x ESQ.

**p< 0,05 HAPI x ESQ+HAP e ESQ

***p< 0,01 HAPI X ESQ

(BNP= peptídeo natriúretico; ALT=alanina amino transferase; AST= aspartato amino transferase; TSH= hormônio estimulante da tireóide; T4L= tiroxina livre)

Dados representados por média ± desvio padrão ou mediana (25-75% quartis).

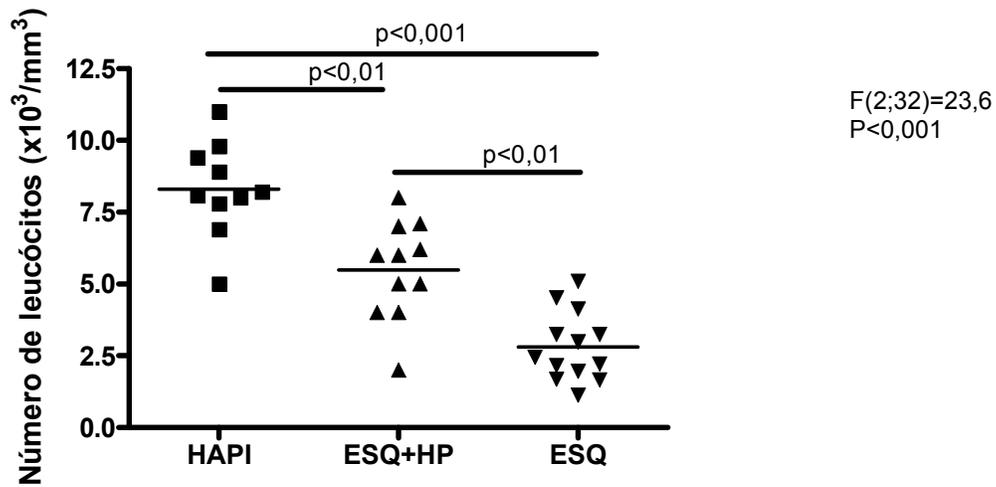


Figura 8 – Número de Leucócitos sanguíneos nos diferentes grupos estudados.

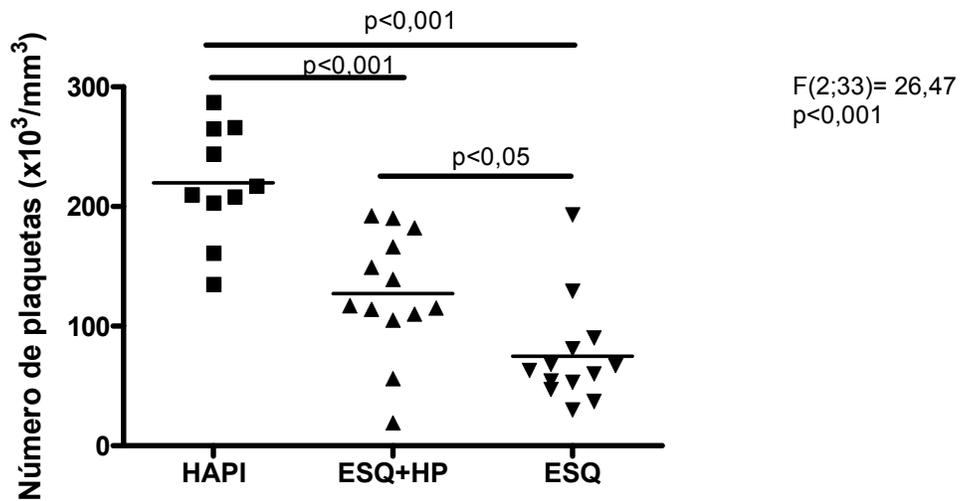


Figura 9 – Número de plaquetas sanguíneas nos diferentes grupos.

Em relação aos pacientes com esquistossomose, é possível ver na tabela 9 que todos os pacientes estudados apresentam antecedente epidemiológico de moradia em zona endêmica no passado; a maioria fez tratamento específico para

a doença e apresenta achados ultrassonográficos compatíveis com fibrose periportal no fígado. O que chama a atenção nestes grupos é que pelo menos cinco pacientes com HP não apresentam esplenomegalia e cinco também não apresentam varizes de esôfago confirmadas por endoscopia digestiva alta, ao passo que todos os doentes sem HP apresentam varizes de esôfago e esplenomegalia. É possível observar que a proporção de pacientes com esplenomegalia no grupo ESQ foi significativamente maior do que no grupo ESQ+HP.

Tabela 9 – Características dos pacientes com Esquistossomose (n=13 em cada grupo)

		ESQ+HP	ESQ	p*
Epidemiologia positiva		13 (100%)	13 (100%)	
Tratamento para esquistossomose (confirmado)	Sim	11 (85%)	9 (90%)	1,00
Kato-katz positivo		1 (7,6%)	6 (46%)	0,073
Fibrose periportal e aumento de lobo esquerdo	Sim	11 (85%)	13 (100%)	0,480
Aumento de baço	Sim	6(54%)	13 (100%)	0,011
Varizes de esôfago (confirmadas)	Sim	6 (60%)	13 (100%)	0,127

* Teste exato de Fischer

A tabela 10 evidencia as comorbidades dos pacientes estudados e a tabela 11, os medicamentos utilizados pelos pacientes.

Tabela 10 - Número de comorbidades encontradas nos pacientes estudados

	Controle	HAPI	ESQ+HP	ESQ
Tiroidopatia		3	1	
Asma		2		
HAS	1	2	3	1
Depressão		1		
IRC			1	
CCC		2		

IRC=insuficiência renal crônica; CCC=colecistopatia crônica calculosa

Tabela 11 - Medicamentos utilizados pelos pacientes (número de indivíduos por grupo)

	Controle	HAPI	ESQ+HP	ESQ
Warfarina		5	6	
Digoxina		3	7	
Diuréticos tiazídicos		3	2	1
Levotiroxina		2		
Diltiazem		1	3	
Furosemida			6	
IECA	1	1	2	1
Propranolol				8

IECA=inibidor da enzima conversora de angiotensina

Como anemia, leucopenia e plaquetopenia são sinais de hipertensão portal e como os grupos diferiram por estes valores, optou-se por avaliar a magnitude destes achados nos pacientes com esquistossomose. As análises por regressão logística mostraram que ao aumentar o número de plaquetas e leucócitos,

aumenta a probabilidade de não se ter esplenomegalia, o que condiz com a hipertensão portal (figuras 10 e 11).

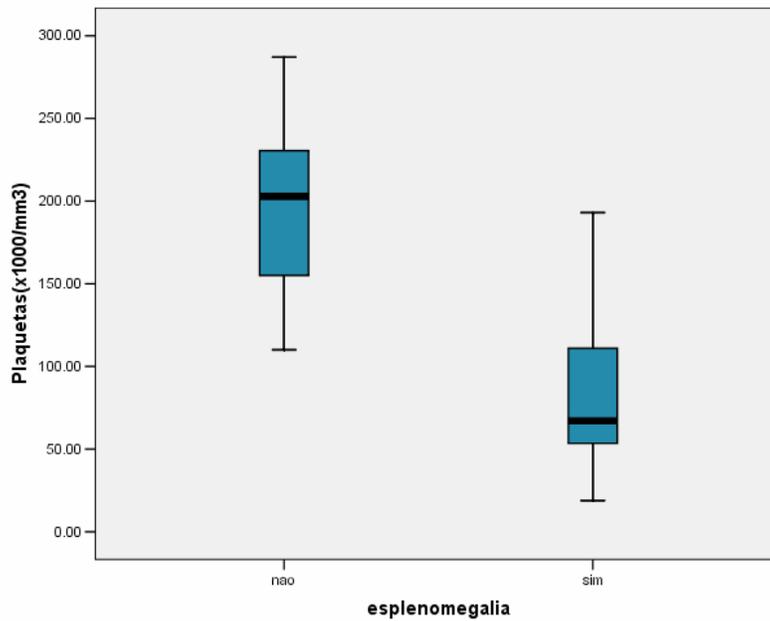


Figura 10 – Regressão logística entre número de plaquetas e esplenomegalia ($\beta=-0,031$, erro padrão=0,010; $p=0,001$; OR=0,969; IC(OR)95% = 0,951-0,988).

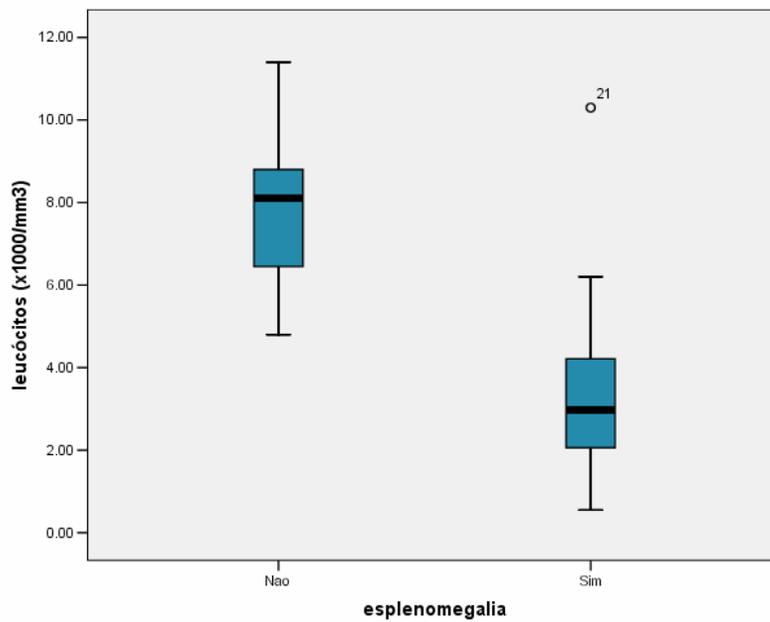


Figura 11 – Regressão logística entre número de leucócitos e esplenomegalia ($\beta = -0,859$, erro padrão = 0,272; $p = 0,002$; OR = 0,424; IC(OR)95% = 0,249-0,722).

Já as análises por regressão logística entre esquistossomóticos e o número de plaquetas e leucócitos (figuras 12 e 13) evidenciaram que a cada aumento do número de plaquetas e leucócitos, existe uma maior chance do paciente apresentar ESQ+HP.

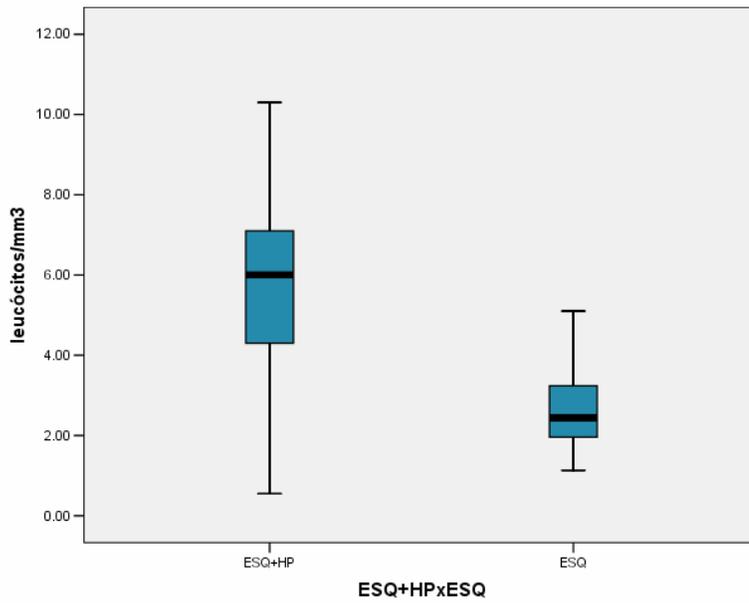


Figura 12 – Regressão logística entre grupos com esquistossomose e número de leucócitos ($\beta=0,746$, erro padrão=0,300; $p=0,013$; OR=2,109; IC(OR)95% = 1,171-3,797).

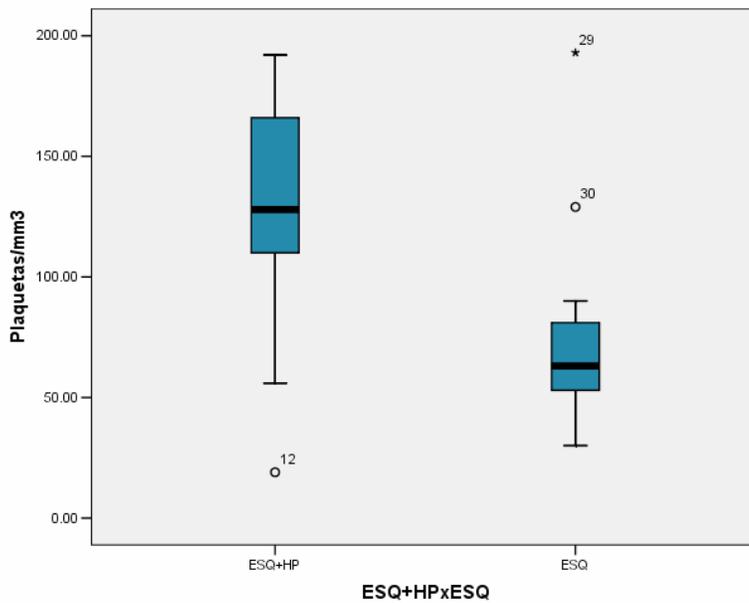


Figura 13– Regressão logística entre grupos com esquistossomose e número de plaquetas ($\beta=-0,024$, erro padrão=0,10; $p=0,016$; OR=0,976; IC(OR)95% = 0,957-0,995).

Os resultados da regressão linear descritos na tabela 12 mostraram que o número de leucócitos e portadores ESQ+HP são modificadores independentes da selectina E.

Tabela 12 -Regressão linear múltipla: Selectina E

	β	Erro Padrão	t	p	95% ICon (β)
Constante	34.058	18.843	1.807	0,081	-4.480-72.597
ESQ+HP	-27.822	10.728	-2.593	0,015	-49.763-(-5.880)
ESQ	-21.567	14.246	-1.514	0,141	-50.704-7.570
leucócitos	4.841	1.891	2.560	0,016	.974-8.708
Plaquetas	-0,062	0,074	-0,834	0,411	-0,214-0,090

Além disso, a Selectina E apresentou uma forte correlação com os valores de hemoglobina em todos os doentes ($r=0,48$, $n=36$, $p=0,003$). A análise da regressão logística demonstrada na figura 14 mostra que a cada um aumento no valor da selectina E, aumenta a chance dos pacientes não terem esplenomegalia.

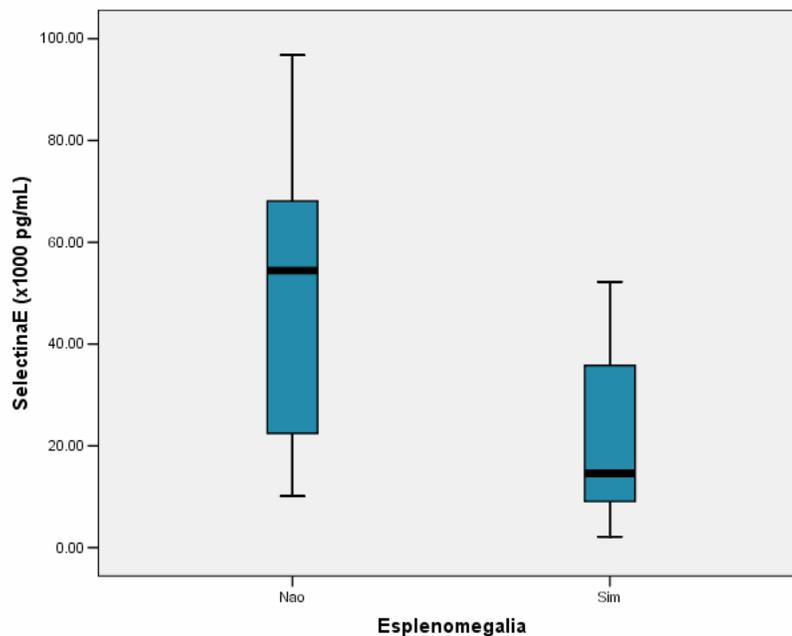


Figura 14- Regressão Logística entre Selectina E e presença de esplenomegalia (coeficiente de regressão(β) da selectina E: -0.57, erro padrão: 0.20, $p=0,004$; OR= 0,945; IC(OR)95% =0,909- 0,982).

No entanto, estas relações não foram observadas com o número de leucócitos, hemoglobina e VEGF séricos.

Não houve correlação dos valores de VEGF com a presença de varizes de esôfago e também não foi observada uma relação causal entre os valores séricos de VEGF, plaquetas e leucócitos.

DISCUSSÃO

Os mecanismos fisiopatológicos que levam ao desenvolvimento da HP tem sido tema de vários estudos. A HP associada à esquistossomose ganhou maior importância no Brasil após resultados publicados por Lapa *et al* em 2006, que mostraram que a prevalência desta doença em dois grandes centros de referência chegou a 30% dos pacientes. Criou-se, então, o interesse em estudá-la melhor, inclusive a respeito dos fatores desencadeantes que levariam à HP nestes doentes.

Como a disfunção endotelial é um dos mais importantes mecanismos que induzem à vasoconstrição, ao remodelamento vascular e à trombose *in situ* em artérias pulmonares, neste estudo optou-se por avaliar os fatores de disfunção endotelial dosados no sangue em diferentes grupos de doentes, mesmo sabendo que a importância dos marcadores séricos no diagnóstico de doenças ainda seja discutida.

Tanto os pacientes com HAPI, como os ESQ+HP apresentaram o mesmo tempo de dispnéia até o diagnóstico, não se diferenciaram quanto à classe funcional e tiveram o mesmo padrão hemodinâmico, com exceção de cinco pacientes com ESQ+HP que tiveram o componente pós-capilar associado. O único fator diferenciador dos dois grupos em questão foi a presença de fibrose portal associada ao antecedente epidemiológico.

No entanto, em relação à avaliação da função endotelial, os pacientes com HAPI apresentaram valores séricos de selectina E mais elevados do que os outros grupos.

As selectinas são fundamentais para a adesão leucocitária durante o processo inflamatório. A selectina L é responsável por perpetuar o processo

inflamatório, pois favorece a ligação de leucócitos aderidos e circulantes. A selectina E tem uma maior expressão no endotélio por estimulação de citocinas e a selectina P está relacionada com a participação de plaquetas na inflamação. Todas contribuem de alguma forma no processo inflamatório [60].

Trottein *et al.* sugeriram que a presença de ovos e esquistossômulos em contato com células endoteliais pulmonares humanas não estimulam a expressão de moléculas de adesão tipo VCAM-1 e Selectina-E, o que normalmente ocorre em processos inflamatórios. Como consequência, o recrutamento de leucócitos na esquistossomose é prejudicado e a resposta imune pode ser deficitária, acarretando uma perpetuação do agente no organismo e o favorecimento da doença crônica[38]. Com base nestes dados, seria previsível encontrar baixos títulos de selectina E em esquistossomóticos. De fato, o presente trabalho mostrou que pacientes com HAPI apresentaram valores séricos de Selectina E mais elevados comparativamente aos controles, ao grupo ESQ+HP e ao ESQ e indicou que existe uma forte evidência da Selectina E diferenciar HAPI dos ESQ+HP (RV=8). Estes resultados estão de acordo com a hipótese de Trottein *et al* [38]. e, em conjunto, os dados sugerem que a Selectina E dosada no soro pode ser um marcador diferencial entre pacientes com HAPI e pacientes com ESQ+HP, principalmente se associada a outros métodos diagnósticos. Pacientes com esquistossomose, provavelmente, apresentam alterações na expressão de moléculas de adesão. Além disso, a selectina E também poderia servir como controle de tratamento em pacientes com HP, pois se constatou que após a terapêutica específica para HAP, os valores séricos deste marcador diminuíram significativamente, apesar do número pequeno de doentes estudados. Estes dados

apontam um caminho a ser seguido em pesquisas futuras, pois com um número adequado de pacientes, possivelmente, estes marcadores se alterariam independentemente da intervenção (ou seja, do tipo do tratamento), o que evidenciaria uma redução da disfunção endotelial.

Trabalho anterior já havia demonstrado que pacientes com hipertensão pulmonar de qualquer etiologia apresentavam níveis séricos de selectina E mais elevados que os controles e que estes valores poderiam representar uma disfunção endotelial nestes doentes[37]. Em contrapartida, Esterre *et al.* mostraram que pacientes e controles residentes em áreas endêmicas de esquistossomose apresentaram níveis sanguíneos elevados de selectina E, ao passo que controles de áreas não endêmicas, os valores obtidos eram menores[36]. Este achado sugere que mesmo sem a confirmação clínica da doença, talvez indivíduos saudáveis de regiões de alta prevalência de esquistossomose tenham uma infecção latente pelo parasita.

No presente trabalho, a maioria dos pacientes com esta doença não apresentava sinais de infestação aguda pelo verme no momento da coleta de sangue, e os níveis séricos de selectina E foram semelhantes ao de controles. Possivelmente, os valores deste marcador foram menores nos indivíduos saudáveis por não residirem em área endêmica e, nos esquistossomóticos, por se encontrarem em uma fase crônica da doença.

Os resultados mostraram que pacientes dos 3 grupos não apresentaram valores séricos de ET-1 diferentes entre si, o que acarreta uma série de considerações a serem discutidas.

Toledo *et al*, por exemplo, evidenciaram que pacientes com EHE tiveram níveis séricos de ET-1 inferiores aos dos esquistossomóticos sem HPo [49] e sugerem que na EHE não existe uma maior produção deste fator por não existir o comprometimento dos sinusóides. Luo *et al* [61] já haviam relatado que experimentos que induzem a HPo pré-sinusoidal (ou seja, sem lesões hepáticas) também não aumentam a síntese de ET-1. Os resultados obtidos neste estudo poderiam então ser justificados porque os pacientes com esquistossomose hepatoesplênica apresentam uma doença hepática pré-sinusoidal.

Em relação à HP, estudos mostram que as concentrações de ET-1 plasmáticas e pulmonares estão elevadas em pacientes com HP e o aumento das concentrações de ET-1 nas células pulmonares evidencia uma produção aumentada do vasoconstritor no local [9, 39, 48, 62]. Já foi descrito anteriormente que indivíduos normais apresentam valores séricos de ET-1 baixos, ao redor de 2 pg/mL, semelhante aos valores encontrados neste trabalho[62]. O fato de não terem sido encontradas diferenças entre os grupos na dosagem deste marcador talvez indique que a ET-1 circulante não guarde uma correlação direta com sua síntese pulmonar e, também, é possível que tenha uma meia vida sérica mais fugaz, o que dificultaria a sua dosagem após um armazenamento prolongado. Uma análise crítica mais rigorosa até leva a considerar se o tempo entre a coleta e o congelamento talvez tenha sido muito longo a ponto do marcador se degradar. O controle dessas variáveis foi difícil no protocolo atual, mas deve ser considerado futuramente que a dosagem da BigET-1, molécula precursora da ET-1 e mais estável, talvez seja uma opção mais adequada [63].

Um importante fator que contribui com o remodelamento vascular e o desenvolvimento de HP é a ativação de plaquetas. Com a disfunção do endotélio, o contato destas com a parede do vaso aumenta e há liberação de fatores de crescimento como o VEGF e o PDGF. Já foi relatado anteriormente que pacientes com HAP tiveram valores séricos de VEGF mais elevados quando comparados com controles [9], como também foi observado neste presente trabalho, e estes valores seriam consequência da liberação deste fator pelas plaquetas ativadas em locais de injúria vascular. Além disso, o VEGF parece ter um efeito protetor na HP, considerando-se que foi observado um aumento dos valores séricos de VEGF em pacientes sendo tratados com prostaciclina [57].

Acredita-se que o VEGF e o PDGF estejam relacionados com o remodelamento sinusoidal e a fibrogênese, com a formação de colaterais e com o desenvolvimento da circulação esplâncnica [64, 65]. Seria esperado, se existe formação de circulação colateral e remodelamento sinusoidal, que os valores de VEGF estivessem aumentados em pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, uma vez que não existe um aumento da produção de vasoconstritores pelo fígado, como acontece na cirrose. No entanto, os valores séricos de VEGF encontrados neste estudo são diminuídos em ESQ e controles comparativamente com o grupo HAPI. Assy *et al.* referiram que os valores séricos de VEGF são diminuídos em pacientes com cirrose e HPo quando comparados com controle e, ainda, quanto maior a hipertensão portal, mais baixo é o seu valor [66]. O fato do grupo de ESQ apresentar níveis séricos de VEGF diminuídos poderia ser talvez explicado pela gravidade da HPo, ou pelo menor número de

plaquetas encontrado nestes doentes ou ainda, que a concentração sérica dos marcadores não corresponda à produção local.

Estes resultados também poderiam estar relacionados com o uso de medicações que este grupo faz, como o propranolol. No entanto, um estudo mostrou que esta droga não alterou a expressão do VEGF na retina de ratos[67].

Em relação ao outro fator de crescimento, existem cinco formas distintas de PDGF: AA, AB, BB, CC e DD, que são codificados pelos genes PDGF-A, -B, -C e -D. O PDGF-BB é liberado pelas células endoteliais e pelas plaquetas e promove o recrutamento e proliferação de células, como as CML. Este fator está presente em vários tipos de doenças, por exemplo, em processos inflamatórios e no câncer [68]. O PDGF-AB parece estar relacionado com processos fibróticos (com proliferação de fibroblastos), como o que ocorre no fígado na esquistossomose. Um estudo realizado com pacientes portadores de esquistossomose mostrou que os níveis séricos de PDGF-AB dosados foram semelhantes ao de controles [69]. Nesta pesquisa, foi identificado que indivíduos saudáveis tinham dosagens séricas de PDGF-BB e AB aumentadas em relação à pelo menos um dos três grupos. Trabalho anterior com pacientes com HP também demonstrou que estes pacientes apresentaram menores valores de PDGF em relação à controles e atribuíram este resultado ao baixo número de plaquetas [57]. Estes achados talvez também sejam um sinal de maior consumo do fator pelos processos inflamatórios, ou ainda pelo fato destes indivíduos apresentarem doenças crônicas que acarretam a disfunção endotelial, o que significa que estas células não estariam funcionalmente adequadas para a produção e liberação de substâncias que estimulam o recrutamento e a proliferação de células. Por outro lado, outros estudos mostraram

que o PDGF estimula a angiogênese em locais de injúria celular [65],[70] e o remodelamento em artérias pulmonares de pacientes com HAP [71]. Entretanto, dosagens séricas do PDGF não foram realizadas por estes autores. Estes resultados contraditórios mostram que a importância da dosagem sérica de PDGF é ainda incerta.

Em relação à avaliação hemodinâmica e ao BNP, os pacientes com HAPI apresentaram valores de BNP e de RVPI mais elevados que o grupo ESQ+HP, porém esta diferença não foi significativa. Entretanto, estudos prévios mostraram que pacientes com hipertensão pulmonar associada à esquistossomose apresentam um perfil hemodinâmico mais preservado, com o débito cardíaco maior quando comparados com os portadores de HAPI [72]. Esta constatação contraria os resultados aqui obtidos, sendo que talvez o tamanho da amostra tenha influenciado este resultado. Neste trabalho, alguns dos portadores de ESQ+HP apresentaram também POAP elevada, e mesmo quando excluídos da análise estatística, os resultados mostraram que os pacientes com HAPI tinham níveis séricos de selectina E significativamente mais elevados que os outros grupos. Infere-se que a partir destes dados o componente pós-capilar encontrado em alguns doentes não interferiu nos resultados.

Acrescentando, a Selectina E teve uma forte correlação ($r=0,74$) com os níveis séricos de BNP, apesar de que a amostra estudada (pacientes com dosagem de BNP e Selectina E) tenha sido pequena. Vale ressaltar que o tempo entre a coleta de sangue para a realização destes dois exames na maioria dos doentes, não foi concomitante, mas com até 1 mês de intervalo. No presente estudo, não foi encontrada correlação dos níveis de BNP com RVPI e IC. Todavia,

os valores da selectina E correlacionaram fortemente com os valores de BNP e parece existir uma relação causal entre a os níveis de selectina E a RVPI, o que pode favorecer a hipótese de que a selectina E também possa ser um marcador de gravidade, assim como o BNP. Neste caso, seria possível dizer que os pacientes com HAPI seriam mais graves do que os pacientes com esquistossomose e HP.

Os esquistossomóticos apresentam, na maioria das vezes, um período de muitos anos de latência desde o tratamento para esquistossomose até o aparecimento da dispnéia, o que sugere que estes pacientes demorem muito para desenvolver sintomas de insuficiência cardíaca. Recentemente foi demonstrado que pacientes com HAP associada à esquistossomose apresentam a mesma sobrevida que portadores de HAPI em tratamento, da onde se conclui que os pacientes esquistossomóticos teriam um prognóstico melhor com relação à sobrevida quando comparados com os pacientes com HAPI [73]. Isto fortalece a hipótese da selectina E também ser um marcador de gravidade.

Resultados preliminares de necrópsias realizadas em pacientes com HAP associada a esquistossomose e em portadores de HAPI mostraram as mesmas alterações morfológicas em vasos pulmonares [74], o que confirma o componente arterial desta doença. No entanto, no presente estudo, alguns pacientes com esquistossomose apresentaram valores elevados da POAP, como já foi descrito previamente pelo grupo de HP do INCOR-HC FMUSP, que mostrou que 3% dos pacientes com HP associada à esquistossomose tinham POAP elevada[24]. Estes achados favorecem a hipótese de etiologia multifatorial para a hipertensão pulmonar nestes doentes, apesar do comprometimento arterial associado ser majoritário. Em achados anatomopatológicos de pulmões de pacientes com

esquistossomose e HP, já foi descrito a presença de edema e congestão local[8], o que talvez possa justificar o componente pós-capilar destes doentes.

Os valores de selectina E também se correlacionaram com o número de plaquetas e leucócitos, ou seja, quanto maior o número de plaquetas e leucócitos dos pacientes, maior foi o valor de selectina E sérica. Este achado pode ser explicado pelo fato de existir, frente à injúria celular, um aumento concomitante da expressão desta molécula no endotélio, e um recrutamento de plaquetas e leucócitos para o local [37]. Os dados confirmam claramente a vinculação entre a expressão de selectina, o infiltrado celular e a agregação plaquetária.

Outro achado de interesse neste estudo foi que os números de plaquetas e leucócitos foram diferentes nos três grupos: os pacientes com HAPI apresentaram maior número de plaquetas e leucócitos; em seguida, os pacientes com ESQ+HP e, por fim, os pacientes com ESQ que apresentaram o menor número de leucócitos e plaquetas circulantes.

Pacientes com HPo apresentam características peculiares como hipervolemia, angiogênese, vasodilatação esplâncnica, vasoconstrição renal e alterações sanguíneas. A anemia, a trombocitopenia e a leucopenia são achados freqüentes nestes doentes. O aumento da pressão portal leva a esplenomegalia, com o conseqüente seqüestro de elementos do sangue (hiperesplenismo). A presença de varizes de esôfago é a última etapa de eventos ocasionados pelo aumento da pressão portal[44]. Os resultados deste trabalho mostraram que pacientes com HAPI não apresentam HPo (pois não tem sinais de hiperesplenismo) e que os pacientes com ESQ+HP talvez possuam um grau de hipertensão portal mais reduzido do que o grupo ESQ, uma vez que o número de

leucócitos e plaquetas séricos foram estatisticamente maiores no primeiro grupo. Isto sugere que, possivelmente, os portadores de ESQ+HP e ESQ possuam a mesma doença, porém estejam em fases distintas (e, conseqüentemente, com grau de hipertensão portal diferente), uma vez que os pacientes com ESQ apresentam sinais laboratoriais mais evidentes de hipertensão portal quando comparados com o outro grupo.

Parece também existir uma relação causal entre os valores séricos da selectina E e a presença de esplenomegalia. Isto talvez esteja relacionado com a contagem de plaquetas e leucócitos e, desta forma, pacientes com HPo possivelmente, tenham valores séricos deste marcador diminuídos.

Pelo menos dois estudos sugerem que a gravidade de hipertensão portal não está relacionada com o desenvolvimento de hipertensão portopulmonar em pacientes com insuficiência hepática [75, 76]. D'Amico *et al.* demonstraram que a gravidade da doença hepática (medida pela classificação de Child-Pugh ou pelo MELD [77]) foi um marcador de pior sobrevida em pacientes com HPo e HAP [78]. Entretanto, os resultados encontrados neste estudo mostram que a maioria dos indivíduos ESQ não possuía doença hepática importante, ou seja, eles foram classificados como Child-Pugh A e, contudo, apresentaram plaquetopenia, leucopenia, esplenomegalia e varizes esofágicas, que são sinais de hipertensão portal avançada. A esquistossomose, no entanto, é uma doença considerada intrahepática pré-sinusoidal e é caracterizada pela presença de fibrose e pela obliteração de vênulas portais. Apenas em alguns pacientes a doença pode evoluir para a fase sinusoidal, período em que se assemelha à cirrose[44]. Isto sugere que os marcadores de doença hepática não são um bom critério para avaliar a

esquistossomose, uma vez que a maioria dos indivíduos estudados neste trabalho apresentou a função hepática preservada e, portanto, não evoluiu para a fase sinusoidal. Por outro lado, os níveis séricos de AST foram mais elevados em pacientes com esquistossomose quando comparados com os pacientes com HAPI. Este resultado permite sugerir que apesar de não apresentarem insuficiência hepática, parece existir um acometimento incipiente e que este não está relacionado com a gravidade da HPo.

Como foi possível diferenciar neste estudo os dois grupos com esquistossomose pelo número de plaquetas e leucócitos, talvez a HPo não seja o principal mecanismo que levaria a HP. Além disso, o menor número de plaquetas encontrado no grupo ESQ pode sugerir não apenas maior seqüestro de plaquetas, como também maior consumo ou, ainda, menor sobrevida destas. Mesmo assim, a número de plaquetas parece ser dependente do grau de fibrose hepática, de acordo com a maioria dos estudos. Em doenças vasculares hepáticas, já foram evidenciadas tanto hipo como hiperagregabilidade das plaquetas, que colaboram com a disfunção endotelial [79]– talvez as plaquetas de pacientes com esquistossomose sem hipertensão pulmonar sejam em menor número por agregarem menos ou por terem menor sobrevida.

Sabe-se, atualmente, que em doenças vasculares crônicas existe uma maior interação entre plaquetas circulantes e a parede dos vasos. A ativação de plaquetas tem um papel importante no remodelamento vascular e na HP[57]. Talvez o estudo das plaquetas em pacientes com esquistossomose seja o próximo passo para o melhor entendimento desta doença.

Em relação ao uso de medicamentos pelos pacientes, não foi possível avaliar as interferências das drogas com a dosagem dos fatores, o que já ocorreu com outros autores da literatura[37]. Um estudo com pacientes portadores de hipertiroidismo avaliou o uso de propranolol e a dosagem de fatores de disfunção endotelial e mostrou que o uso deste medicamento não modificou os níveis séricos de selectina-E. Além disso, indivíduos controles não apresentaram maior concentração sérica deste fator quando comparados com pacientes com hipertiroidismo [80, 81]. Desta forma, talvez o fato de existirem alguns pacientes com tiroidopatia neste estudo não tenha interferido nos resultados. Da mesma maneira, talvez as dosagens de selectina E não tenham sido alteradas pelo uso do propranolol.

Este trabalho possui várias limitações. Vários pacientes estavam em uso de medicações que poderiam interferir na dosagem dos fatores. Quatro pacientes estavam em uso de diltiazem. No entanto, estes pacientes não eram respondedores ao teste de vasorreatividade com NO e usavam doses baixas com o intuito de diminuir a frequência cardíaca e não promover a vasodilatação de artérias pulmonares. É importante ressaltar que, de pelo menos 100 pacientes avaliados neste trabalho, estes foram os únicos que preencheram os critérios de inclusão. O projeto seria inviável se fossem excluídos pacientes em uso concomitante de outras medicações.

Em alguns pacientes com ESQ+HP não foram feitas dosagens séricas de albumina ou bilirrubinas (inclusive por não possuírem sinais clínicos evidentes de doença hepática avançada) o que impossibilitaram a sua classificação segundo os critérios de Child-Pugh. Além disso, este estudo não incluiu pacientes com cirrose

hepática, que também apresentam HPo e disfunção endotelial. Este grupo de indivíduos seria importante para comparar a disfunção endotelial de pacientes com esquistossomose.

CONCLUSÕES

- 1) Pacientes com HAPI apresentaram valores séricos mais elevados de Selectina E do que pacientes com esquistossomose e controles.
 - 2) Pacientes portadores de esquistossomose com e sem HP apresentaram os mesmos valores séricos dos marcadores de disfunção endotelial.
-

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências Bibliográficas

1. Harvey, W., *Estudo anatômico do movimento do coração e do sangue nos animais. em latim, francês e português*. História da Medicina. Vol. I. 2009, São Paulo: Editora UNIFESP. 296.
 2. Friedman M, Friedland.G., *William Harvey e a circulação do sangue*, in *As dez maiores descobertas da medicina.*, C.d. Letras, Editor. 2006, Editora Schwarcz Ltda.: São Paulo. p. 33-53.
 3. Virchow RL, Chance.N., *Cellular Pathology as Based Upon Physiological and Pathological Histology: Twenty Lectures Delivered in the Pathological Institute of Berlin During the Months of February, March, and April, 1858*. 7 ed. 1860: John Churchill. 511.
 4. Rather LJ, Virchow.R., Schwalbe J., *A commentary on the medical writings of Rudolf Virchow: based on Schwalbe's Virchow-Bibliographie, 1843-1901*. 1990: Norman Publishing. 236.
 5. Selzer A, Cox.A.J., *A case of pulmonary artery hypertension associated with pulmonary emphysema of a severe degree*. Calif Med, 1948. **68**(3): p. 176-178.
 6. De Nevasquez S, Forbes.J., Holling HE., *Right ventricular hypertrophy of unknown origin: so-called pulmonary hypertension*. Br Heart J, 1940. **2**(3): p. 177-188.
 7. Brinton WD, *Primary pulmonary hypertension*. Br Heart J, 1950. **12**(3): p. 305-311.
-

8. Macieira-Coelho E, Duarte.C., *The syndrome of portopulmonary schistosomiasis*. The American Journal of Medicine, 1967. **43**(6): p. 944-950.
 9. Humbert M, Morrel.N., Archer SL, Stenmark KR, et al., *Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**: p. 13s-24s.
 10. Chin KM, Rubin.L., *Pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2008. **51**(16): p. 1527-1538.
 11. McGoon M, Gutterman.D., Steen V, Loyd JE, Steen V, Barst R, et al., *Screening, early detection, and diagnosis of pulmonary arterial hypertension. ACCP evidence-based clinical practice guidelines*. Chest, 2004. **126**: p. 14s-34s.
 12. Humbert, M., *Update in pulmonary arterial hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **177**: p. 574-579.
 13. Genta PR, Jatene.F., Terra-Filho M., *Qualidade de vida antes e após tromboendarterectomia pulmonar*. J Bras Pneumol, 2005. **31**: p. 48-51.
 14. Simmonneau G, Galie.N., Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, Glbbs S, Lebrec D, Speich E, Beghetti M, Rich S, Fishman A., *Clinical classification of pulmonary hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**(12 Suppl): p. 5s-12s.
 15. Chin KM, Rubin.L., *Pulmonary Arterial Hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2008. **51**: p. 1527-38.
 16. Steinmann P, Keiser.J., Bos R, Tanner M, Utzinger J, *Schistosomiasis and water resources development:systematic review, meta-analysis and estimates of people at risk*. Lancet Infect Dis, 2006. **6**: p. 411-25.
-

-
17. Gryseels B, Polman.K., Clerinx J, Kestens L., *Human schistosomiasis*. Lancet, 2006. **368**: p. 1106-18.
 18. Kloos H, Correa.-Oliveira.R., Quites HFO, Souza MCC, Gazzinelli A., *Socioeconomic studies of schistosomiasis in Brazil: A review*. Acta Tropica, 2008. **108**: p. 194-201.
 19. Conceição MJ, Borges.-Pereira.J., Coura JR, *A thirty years follow-up study on Schistosomiasis mansoni in a community of Minas Gerais, Brazil*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2007. **102**(8): p. 1007-1009.
 20. Lambertucci JR, Gerspacher-Lara.R., Pinto-Silva RA, Barbosa MM, Teixeira R, Barbosa HF, et al., *O Projeto Queixadinha: a morbidade e o controle da esquistossomose em área endêmica no nordeste de Minas Gerais, Brasil*. Rev Soc Bras Med Trop, 1996. **29**(2): p. 127-35.
 21. Perros F, Dorfmueller.P., Humbert M, *Current insights of pathogenesis of pulmonary arterial hypertension*. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine, 2005. **26**(4): p. 355-364.
 22. Chemla D, Castelain.V., Hervé P, Lecarpentier Y et al., *Haemodynamics evaluation of pulmonary hypertension*. Eur Respir J, 2002. **20**: p. 1314-1331.
 23. Barst RJ., McGoon.M., Torbicki A., Sitbon O., Krowka MJ., Olschewski H., Gaine S., *Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**(12 S): p. 40s-47s.
 24. Lapa MS, Dias.B., Jardim C, Fernandes CJC, Dourado P, Figueiredo M, Farias A, Tutsui J, Terra-Filho M, Humbert M, Souza R, *Cardiopulmonary manifestations of hepatosplenic schistosomiasis*. Circulation, 2009. **119**: p. 1518-1523.
-

-
25. Ferreira RCS, Domingues.A., Bandeira AP, Markman filho B, Albuquerque filho ES, Correia de araujo ACC, Batista LJB, Markman M, Campelo ARL., *Prevalence of pulmonary hypertension in patients with schistosomal liver fibrosis*. Ann Trop Med Parasitol, 2009. **103**(2): p. 129-143.
 26. De Cleve R, Herman.P., D'albuquerque LAC, Pugliese V, Santarem OL, Abrão Saad W., *Pre- and postoperative systemic hemodynamic evaluation in patients subjected to esophagogastric devascularization plus splenectomy and distal splenorenal shunt: a comparative study in schistosomal portal hypertension*. World J Gastroenterol, 2007. **13**: p. 5471-5475.
 27. Lapa MS, Ferreira.E., Jardim C, Martins BCS, Arakaki JSO, Souza R, *Clinical characteristics of pulmonary hypertension patients in two reference centers in teh city of Sao Paulo*. Rev Assoc Med Bras, 2006. **52**: p. 139-143.
 28. Rubin, L., *Diagnosis and Management of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines*. Chest, 2004. **126**: p. 7s-10s.
 29. Atkinson C., Stewart.S., Upton PD., Machado R., Thomson JR., Trembath RC., Morrell NW., *Primary pulmonary hypertension is associated with reduced pulmonary vascular expression of type II bone morphogenetic protein receptor*. Circulation, 2002. **105**: p. 1672-1678.
 30. Richter A, Yeager.M., Zaiman A, Cool CD, Voelkel NF, Tuder RM., *Impaired transforming growth factor-beta signaling in idiopathic pulmonary arterial hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2004. **170**: p. 1340-1348.
-

-
31. Orfanos SE Mavrommati I, Korovesi.I., Roussos C., *Pulmonary endothelium in acute lung injury: from basic science to the critically ill*. Intensive Care Med, 2004. **30**(9): p. 1702-1714.
 32. Ross AG, Bartley.P., Sleigh AC, Olds GR,Li Y, Williams GM, McMacnus DP, *Schistosomiasis*. N Engl J Med, 2002. **346**(16): p. 1212-1220.
 33. Samuelson J, Von-Lichtenberg.F., *Infectious Diseases*, in *Robbins Pathologic Basis of Disease*, K.V. Cotran RS, Robbins SL, Schoen F J, Editor. 1994, W.B. Saunders Company: Philadephia. p. 371-372.
 34. Burke ML, Jones.M., Gobert GN, Li YS, Eliis MK, McManus DP., *Immunopathogenesis of human schistosomiasis*. Parasite Immunology, 2009. **31**: p. 163-176.
 35. Budhiraja R, Tuder RM, and Hassoun. PM, *Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension*. Circulation, 2004. **109**: p. 159-165.
 36. Esterre P, Raobelison.A., Ramarokoto CE, Ravaoalimalala VE, et al., *Serum concentrations of sICAM-1, sE-, sP- and sL-selectins in patients with schistosoma mansoni infection and association with disease severity*. Parasite Immunology, 1998. **20**: p. 369-376.
 37. Cella G, Belloto.F., Tona F, Sbarai A, et al., *Plasma markers of endothelial dysfunction in pulmonary hypertension*, in *Chest*. 2001. p. 1226-1230.
 38. Trottein F, Nutten.S., Angeli V, Delerive P, et al., *Schistosoma mansoni schistosomula reduce E-selectin and VCAM-1 expression in TNF-alpha-stimulated lung microvascular endothelial cells by interfering with NF-kappaB pathway*. Eur J Immunol, 1999. **29**: p. 3691-3701.
-

-
39. Cacoub P, Dorent.R., Nataf P, Gandjbkhch I, et al., *Endothelin-1 in lungs of patients with pulmonary hypertension*. Cardiovascular Research, 1997. **33**: p. 196-200.
 40. Shah, R., *Endothelin in health and disease*. Eur J Intern Med, 2007. **18**: p. 272-282.
 41. Cahill PA, Redmond.E., Sitzmann JV, *Endothelial dysfunction in cirrhosis and portal hypertension*. Pharmacology & Therapeutics, 2001. **2001**(89): p. 273-293.
 42. Raia S, Mies.S., Alfieri Jr, *Portal hypertension in mansonic schistosomiasis*. World J Surg, 1991. **5**: p. 176-187.
 43. Morgan JS, Grosman.R., Rojkind M, Enriquez R., *Hemodynamic mechanism of emerging portal hypertension caused by schistosomiasis in the hamster*. Hepatology, 1990. **11**: p. 98-104.
 44. Bosch J., Berzigotti.A., Garcia-Pagan JC., Abraldes JG., *The management of portal hypertension: rational basis, available treatments and future options*. Journal of Hepatology, 2008. **48**: p. s68-s92.
 45. Lambertucci JR, Serufo.J., Gerspacher-Lara R, Rayes AAM, et al, *Schistosoma mansoni: assessment of morbidity before and after control*. Acta Tropica, 2000. **77**: p. 101-109.
 46. Richter, J., *Evolution of shistosomiasis-induced pathology after therapy and interruption of exposure to schistosomes: a review of untrasonographic studies*. Acta Tropica, 2000. **77**: p. 111-131.
-

-
47. Cichoz-Lach H, Celinsky.K., Stomka M, Kasztelan-Szczerbinska B., *Pathophysiology of portal hypertension*. J Physiol Pharmacol, 2008. **59**(suppl 2): p. 231-238.
 48. Budhiraja R. and Hassoud. PM., *Portopulmonary hypertension. A tale of two circulations*. Chest, 2003. **123**: p. 562-576.
 49. Toledo CF, Carvente.C., Shigueoka DC, Borges DR, *Endothelial markers in schistosomiasis patients with or without portal hypertension*. Digestive Diseases and Sciences, 2008. **54**(6): p. 1331-1336.
 50. Sociedade Brasileira de Pneumologia. Diretrizes para o manejo da hipertensão pulmonar., J Bras Pneumol, 2005. **31**(suppl 2): p. s17-s23.
 51. Galiè N, Manes.A., Branzi A, *Evaluation of pulmonary hypertension*. Curr Opin Cardiol, 2004. **19**: p. 575-581.
 52. Vezozzo DCP, Farias.A., Cerri GG, da Silva LC, Carrilho FJ., *Assessment of portal hemodynamics by doppler ultrasound and of liver morphology in the hepatospleinc and hepatointestinal forms of schistosomiasis mansoni*. Digestive Diseases and Sciences, 2006. **51**: p. 1413-1419.
 53. Sociedade Brasileira de Pneumologia, ., *Diretrizes para testes de função pulmonar*. J Bras Pneumol, 2002. **28**(suppl 3): p. s1-s92.
 54. Costa ELV, Jardim.C., Bogossian HB, Amato MBP, Carvalho CRR, Souza R., *Acute vasodilator test in pulmonary arterial hypertension: Evaluation of two response criteria*. Vascular Pharmacol, 2005. **43**(3): p. 143-147.
 55. Fernandes, C.J.C; Carvalho, LA ; Farias, A Q; Terra- Filho, Mario ; Souza, R., *Clinical response to sildenafil in pulmonary hypertension associated to Gaucher's disease*. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2004.
-

-
56. Souza R, Amato.M.B., DemarzoSE, Dehenzelin D, Barbas CSV, Schettino GPP, Carvalho CRR., *Pulmonary capillary pressure in pulmonary hypertension*. Critical care (London. Online), 2005.
 57. Eddahibi E, Humbert.M., Sediame S, Chouaid C, et al., *Inbalance between platelet vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor in pulmonary hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2000. **162**: p. 1493-1499.
 58. Stewart DJ, Levy.R., Cernacek P, Langleben D., *Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: Marker or mediator of disease?* Ann Inter Med, 1991. **114**: p. 464-469.
 59. Sakamaki F., Kyotani.S., Nagaya N., Sato N., Oya H., Satoh T., Nakanishi N., *Increased plasma P-selectin and decreased thrombomodulin in pulmonary arterial hypertension were improved by continuous prostacyclin therapy*. Circulation, 2000. **102**: p. 2720-2725.
 60. Serrano Junior CV, Fernandes.J., da Luz, PL., *Moléculas de adesão, inflamação e endotélio*, in *Endotélio e Doenças Cardiovasculares*, P.L.d. Luz, Editor. 2005, Editora Atheneu: São Paulo. p. 97-113.
 61. Luo B, Abrans.G., Fallon MB, *Endothelin-1 in the rat bile duct ligation model of hepatopulmonary syndrome: correlation with pulmonary dysfunction*. J Hepatol, 1998. **29**: p. 571-578.
 62. Galiè N, Manes A., Branzi A, *The endothelin system in plmonary hypertension*. Cardiovascular Research, 2004. **61**: p. 227-237.
 63. Aubin P, Le.-Brun.G., Moldovan F, Villette JM, Creminon C, Dumas J, Homyrda L, Soliman H, Azizi M, Fiet J., *Sandwich-type enzyme imunossay for*
-

- big endothelin-1 in plasma: concentrations in healthy human subjects unaffected by sex or posture.* Clinical Chemistry, 1997. **43**(1): p. 64-70.
64. Fernandez M, Meijas.M., Angermayr B, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J., *Inhibition of VEGF receptor-2 decreases the development of hyperdynamic splanchnic circulation and portal-systemic collateral vessels in portal hypertensive rats.* J Hepatol, 2005. **43**: p. 98-103.
65. Fernandez M, Meijas.M., Garcia-Pagan JC, Bosch J., *Reversal of portal hypertension and hyperdynamic splanchnic circulation by combined vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor blockade in rats.* Hepatology, 2007. **46**(1208-1217).
66. Assy N., Paizi.M., Gaitini D., Baruch Y., Spira G., *Clinical implication of VEGF serum levels in cirrhotic patients with or without portal hypertension.* WJG, 1999. **5**(4): p. 296-300.
67. Zheng Z, Chen.H., Xu X, Li C, Gu Q., *Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and beta-adrenergic blockers on retinal vascular endothelial growth factor expression in rat diabetic retinopathy.* Experimental Eye Research, 2007. **84**(745-752).
68. Andrae J, Gallini.R., Betsholtz C., *Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine.* Genes Dev, 2008. **22**(10): p. 1276-1312.
69. Soares S, Rodrigues.-Junior.V., Silva DTN, Moraes-Souza H, *Participation of platelets in the process of fibrosis in patients with mansonic schistosomiasis.* Rev Soc Bras Med Trop, 2007. **40**(3): p. 321-325.
70. Andrae J., Gallini.R., Betsholtz C., *Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine.* Genes Dev, 2008. **22**(10): p. 1276-1312.
-

-
71. Perros F, Montani.D., Dormuller P, Durand-Gasselín I, et al., *Platelet-derived growth factor expression and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **178**: p. 81-88.
 72. Hoette S, Figueiredo.C., Dias B, Jardim C, Hovnanian A, Souza S, Fernandes C, SOuza R., *CT findings in schistosomiasis associated pulmonary arterial hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2009. **179**: p. A4916.
 73. Fernandes C, Jardim.C., Dias B, Hovnanian A, Hoette S, Souza S, Humbert R, Souza R. *Survival in schistosomiasis associated pulmonary arterial hypertension*. in *American Thoracic Society International conference*. 2009. San Diego, USA.
 74. Pozzan G, Souza.R., Jardim C, Dohnikoff M, Mello G, Canzian M, del Carlo Bernardi F, Mauad T, Grunberg K. *Histopathological features of pulmonary vacular disease in chronic Schistosmiasis mansoni infection are not different from those in idiopathic pulmonary hypertension*. in *American Thoracic Society International conference*. 2008. Toronto, Canada.
 75. Krowka MJ, Swanson.K., Frantz RP, McGoon MD, Wiesner RH., *Portopulmonary hypertension: results from a 10-year screening algorithm*. Hepatology, 2006. **44**(1502-1510).
 76. Kawut SM, Krowka.M., Trotter JF, Roberts KE, Benza RL, BAesch DB, Taichman DB, Horn EM, Zacks S, Kaplowitz N, Brown RS, Fallon MB., *Clinical risk factors for portopulmonary hypertension*. Hepatology, 2008. **48**(1): p. 196-203.
-

-
77. D'Amico G, Garcia.-Tsao.G., Pagliaro L., *Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systemic review of 118 studies*. J Hepatol, 2006. **44**: p. 980-986.
 78. Le Pavec J, Souza.R., Herve P, Lebrec D, et al., *Portopulmonary hypertension: survival and prognostic factors*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **178**(6): p. 637-643.
 79. Witters P, Freson.K., Verslype C, Peerlink K, Hoylaerts M, Nevens F, Van Geet C, Cassiman D., *Review article: blood platelet count number and function in chronic liver disease and cirrhosis*. Aliment Pharmacol Ther, 2008. **27**(1017-1029).
 80. Burggraaf J, Lalezari.S., Emeis JJ, Vischer UM, de Meyer PH, Pijl H, Cohen AF, *Endothelial function in patients with hyperthyroidism before and after treatment with propranolol and thiamazol*. Thyroid, 2001. **11**(2): p. 153-160.
 81. Wensch C, Myskiw D., Gessl, Graninger W, *Circulating selectins, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cel adhesion molecule-1 in hyperthyroidism*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(2122-2126).
-

ANEXO A: APROVAÇÃO DA CAPPESQ



APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPEP do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 14/03/2007, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0069/07**, intitulado: "AVALIAÇÃO DO COMPROMETIMENTO DA FUNÇÃO DO ENDOTÉLIO EM PACIENTES COM HIPERTENSÃO ARTERIAL PULMONAR IDIOPÁTICA E EM ESQUISTOSSOMIÓTICOS" apresentado pelo Departamento de Cardiopneumologia, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPEP os relatórios parciais e finais sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso X, item 14.1).

Responsável (a): Responsável: Mário Tereza Bina

Responsável (a) Execução: Márcia Siqueira Lima

CAPEP, 14 de março de 2007.

PROF. DR. EDUARDO MASSAD
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

ANEXO B: CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº

APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº

APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD

(.....).....

ANEXO B

Para recolher o sangue você tomará uma injeção na veia, provavelmente no braço.

3. desconfortos e riscos esperados:

Você sentirá um pequeno ardor no local da picada da injeção. Em algumas pessoas pode acontecer de ficar uma pequena mancha no local.

4. benefícios que poderão ser obtidos:

Com isto poderemos adquirir conhecimento e entender melhor o que acontece com pessoas que tem pressão alta nos pulmões. Talvez no futuro possamos com número menor de exames identificar e tratar pessoas que apresentem este tipo de doença. Guardaremos um pouco do seu sangue, pois como a medicina evolui rápido, talvez nos próximos anos apareçam novos testes sanguíneos que permitam que possamos tratar pessoas com maior facilidade.

5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo

ANEXO B

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

- 1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.**

 - 2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.**

 - 3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.**

 - 4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.**

 - 5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.**
-
-
-

ANEXO B

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Mônica Silveira Lapa e-mail: molapa@uol.com.br

Mário Terra Filho telefone 30695635

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 20 .

**assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal
pesquisador**

assinatura do

(carimbo ou nome Legível)

ANEXO C

Tabela 1: Características gerais dos pacientes

1.1 HAPI

	RG	Idade (anos)	sexo	Superfície Corpórea kg/m ²	tabagismo	dispnéia (meses)	CF (NYHA)
MLSF	55385044D	57	F	1,7	NÃO	60	II
LG	55398234K	34	F	1,7	NÃO	84	II-III
PFN	5155408F	36	F	1,5	NÃO	12	III
IMO	55396223C	50	F	1,6	NÃO	24	I
NCL	55389930J	28	F	1,6	NÃO	24	III
ACC	55396912A	40	F	1,59	NÃO	36	II
APFFA	55707848K	32	F	1,56	NÃO	72	II
INS	5364967I	41	F	1,15	SIM (ex)	96	II
MJOS	55392343B	60	F	1,44	SIM (ex)	12	I
MES	55712005k	44	F	2	NÃO	16	II-III
MBS	13845988a	33	M	1,64	NÃO	6	I-II

(CF-classe funcional; kg/m²= quilos por metro quadrado)

1.2 ESQ+HP

	RG	Idade (anos)	sexo	Superfície Corpórea kg/m ²	tabagismo	dispnéia (meses)	CF(NYHA)
AAC	2704836K	48	F	1,68	NÃO	30	II
BPN	55389437A	66	M	1,68	SIM ex	24	II-III
CA	55391429C	36	F	2,03	SIM ex	168	III-IV
CREJ	55705613J	40	F		NÃO	120	III
IOS	55399951H	43	F	1,89	SIM-ex	4	II
JAMO	55709790i	45	M	1,96	SIM-ex	120	III
LCOS	55716581f	52	F	1,62	NÃO	192	III
MIS	55704699g	40	F		SIM -ex	72	II
RCBC	5292196J	34	F	1,68	NÃO	0	I
SGB	5245984I	53	M	1,68	SIM-ex	144	III/IV
VFS	3316504E	43	M	2,05	NÃO	48	III
VSSB	5075689A	52	F	1,45	NÃO	12	III
ZRB	55706240D	31	F	1,62	NÃO	12	III

(CF-classe funcional;kg/m²= quilos por metro quadrado)

ANEXO C

1.3 ESQ

	RG	Idade (anos)	sexo	tabagismo	dispnéia (meses)	CF (NYHA)
ESRJ	13643122d	53	F	NÃO	0	I
GMR	13737292B	45	M	SIM -ex	0	I
JFS	13580403F	61	M	SIM -ex	0	I
JCFS	13754577E	38	M	SIM-ex	0	I
JPPV	13683864d	36	M	NÃO	0	I
JPS	2482497b	45	M	NÃO	0	I
LSD	13706644k	45	F	SIM	0	I
LHA	2995532i	42	M	SIM-ex	0	I
MCLS	2167898d	52	F	SIM-ex	0	I
MSS	13596317k	42	F	NÃO	0	I
MISR	2077929j	58	F	SIM-ex	0	I
MJMS	13687508J	60	F	NÃO	240	II
NMA	3151038e	44	F	NÃO	0	I

(CF-classe funcional)

1.4 Controles

	idade	sexo	PSVD (mmHg)	Radiografia de Tórax
AMNVG	46	f	17	normal
APJ	42	M	24	normal
ALS	47	f	28	normal
EM	50	M	Não medido	normal
LMO	51	f	26	normal
LT	54	f	Não medido	normal
LJC	42	M	20	Normal
MFPGD	50	f	Não medido	Normal
MC	44	M	21	Normal
MSL	32	F	28	Normal
RS	47	M	Não medido	Normal
SMS	41	F	29	normal
SH	32	F	18	normal

(PSVD-Pressão sistólica de ventrículo direito; mmHg= milímetro de mercúrio)

ANEXO C

Tabela 2 – Características ecocardiográficas e hemodinâmicas

2.1 HAPI

	PSVD (mmHg)	FE (%)	PSAP (mmHg)	PMAP (mmHg)	PDAP (mmHg)	POAP (mmHg)	DC (L/min)	RVPI (dyne.s.cm ⁻⁵)	Índice Cardíaco (L/min/m ²)
MLSF	136	73	140	86	60	10	4,8	2171	2,8
LG	60	71	85	70	55	8	2,9	2900	1,71
PFN	90	74	100	66	50	10	5,38	1248	3,59
IMO	63	85	60	45	30	15	6,0	640	3,75
NCL	56	65	94	61	44	10	3	2182	1,87
ACC	85	72	130	85	41	20	2,3	3586	1,45
APFFA	59	67	92	58	40	6	6,7	970	4,29
INS	118	54	75	48	25	12	6,3	525	5,5
MJOS	62	72	115	68	45	15	3,1	1972	2,15
MES	65	64	110	63	40	5	4,3	2158	2,15
MBS	84	65	85	60	43	10	4,6	869	4,6

(PSAP=pressão sistólica de artéria pulmonar; PAPm=pressão média de artéria pulmonar; PDAP=pressão diastólica de artéria pulmonar); POAP= pressão de oclusão de artéria pulmonar; IC=índice cardíaco; RVPI= resistência vascular pulmonar indexada; PSVD=Pressão sistólica de ventrículo direito; mmHg= milímetro de mercúrio; dyne.s.cm⁻⁵=dinas; L/min=litro por minuto; L/min/m²=litro por minuto por metro quadrado)

2.2 ESQ+HP

	PSVD (mmHg)	FE (%)	PSAP (mmHg)	PMAP (mmHg)	PDAP (mmHg)	POAP (mmHg)	DC (L/min)	RVPI (dyne.s.cm ⁻⁵)	Índice Cardíaco (L/min/m ²)
AAC	61/65	70/69	110	68	40	18	5,6	1201	3,44
BPN	88/90	74/72	110	63	40	20	5,2	1113	3,09
CA	95	nl	128	87	46	10	3,8	3294	1,87
CREJ	75	68	122	71	35	10	5,2		
IOS	80	62	76	49	30	21	6,6	640	3,49
JAMO	61	61	65	43	32	13	7,4	637	3,77
LCOS	74	64	105	61	31	22	2,7	1879	1,66
MIS	53	52	78	52	38	10	2,6		
RCBC	55	77	73	46	31	6	4,6	1172	2,73
SGB	68/70	75/74	80	53	38	20			
VFS	100	68	114	75	52	12	5,41	1931	2,61
VSSB	108/87	64	76-82	40-50	22-52	13-12	4,5-4,2	697	3,1
ZRB	NL	64	70	46	30	10	5,2	900	3,2

(PSAP=pressão sistólica de artéria pulmonar; PAPm=pressão média de artéria pulmonar; PDAP=pressão diastólica de artéria pulmonar); POAP= pressão de oclusão de artéria pulmonar; IC=índice cardíaco; RVPI= resistência vascular pulmonar indexada; PSVD=Pressão sistólica de ventrículo direito; mmHg= milímetro de mercúrio; dyne.s.cm⁻⁵=dinas; L/min=litro por minuto; L/min/m²=litro por minuto por metro quadrado)

ANEXO C

2.3 ESQ

	PSVD (mmHg)	FE (%)	PSAP (mmHg)	PMAP (mmHg)	PDAP (mmHg)	POAP (mmHg)	DC (L/min)	RVP (dyne.s.cm ⁻⁵)
ESRJ	35	72						
GMR	42	77	28	18	11	11	6,4	1,1
JFS	35	61						
JCFS	19	73						
JPPV	nl	73						
JPS	23	56						
LSD	nl	70						
LHA	18	68						
MCLS	29	67						
MSS	nl	78						
MISR	35	77						
MJMS	nl	59						
NMA	nl	68						

(PSAP=pressão sistólica de artéria pulmonar; PAPm=pressão média de artéria pulmonar; PDAP=pressão diastólica de artéria pulmonar); POAP= pressão de oclusão de artéria pulmonar; IC=índice cardíaco; RVPI= resistência vascular pulmonar indexada; PSVD-Pressão sistólica de ventrículo direito; mmHg= milímetro de mercúrio; dyne.s.cm⁻⁵=dinas; L/min=litro por minuto)

Tabela 3: Marcadores de disfunção endotelial**3.1 HAPI**

	VEGF (pg/mL)	Endotelina-1 (pg/mL)	PDGFBB (pg/mL)	PDGF AB (pg/mL)	Selectina E (pg/mL)
PFN	143,9	2,8	3.760	13.180	96.764
IMO	124,9	1	2.840	13.240	60.368
LG	120,6	2,5	5.927	18.600	43.859
MLSO	182,9	4,5	5.166	13.780	68.085
ACC	15,8	6,8	2.378	19.040	96.764
APFFS	15,8	0,3	700	2.190	60.368
INS	168,6	1	1.111	12.760	43.859
MJOS	15,8	1,7	1.449	20.470	68.085
NCL	165,71	1,8	5.569	15.600	60.368
MBS	20,5	2,2	5.567	39.027	10.115
MES	89,15	6,4	6.727	28.500	68.085

(PDGF= Platelet Derived Growth Factor, VEGF= Vascular Endothelial Growth Factor;
pg/mL=picogramas por mililitro)

3.2 ESQ+HP

	VEGF (pg/mL)	Endotelina-1 (pg/mL)	PDGFBB (pg/mL)	PDGF AB (pg/mL)	Selectina E (pg/mL)
AAC	15,8	6,8	748	42.761	20.850
BPN	130,7	7,6	4.173	14.550	50.050
CA	100,2	1,75	7.598	31.458	19.480
CREJ	91,4	6,4	682	5.950	38.677
IOS	98,7	3,3	1.881	6.405	3.642
JAMO	158,2	3,5	9.142	23.955	12.054
LCOS	118,62	8,0	6.875	28.995	38.891
MIS	252,5		6.562	14.420	12.747
RCBC	57,9	2,6	17.376	15.460	14.634
SGB	71,0	1,5	8.397	27.150	8.200
VFS	98,6	5,9	3.118	9.890	48.480
VSSB	30,2	4,55	5.862	11.810	25.410
ZRB	20,3	3,5	8.030	25.520	17.277

(PDGF= Platelet Derived Growth Factor, VEGF= Vascular Endothelial Growth Factor
pg/mL=picogramas por mililitro)

ANEXO C

3.3 ESQ

	VEGF (pg/mL)	Endotelina-1 (pg/mL)	PDGFBB (pg/mL)	PDGF AB (pg/mL)	Selectina E (pg/mL)
ESRJ	48,9	2	1.062	7.820	5.295
GMR	36,05	4,7	1.259	24.975	32.900
JCFS	15,8	2,7	1.374	4.113	12.544
JFS	15,8	2,6	4.810	13.490	52.221
JPPV	15,8	2,6	2.302	7.120	3.762
JPS	60,81	3,2	1.646	7.118	14.548
LHA	39,4	1,7	1.995	11.720	5.312
LSD	70,42	2,8	4.848	12.140	49.398
MCLS	207,54	4,3	5.723	31.363	28.816
MISR	15,8	3	180	2.800	2.142
MJMS	34,7				9.967
MSS	48,07	11,5	1.425	3.940	43.753
NMA	48,06	2,4	2.430	10.570	18.021

(PDGF= Platelet Derived Growth Factor, VEGF= Vascular Endothelial Growth Factor;
pg/mL=picogramas por mililitro)

3.4 Controles

	VEGF (pg/mL)	Endotelina-1 (pg/mL)	PDGFBB (pg/mL)	PDGF AB (pg/mL)	Selectina E (pg/mL)
AMNVG	45,9	4,5	13.237	36.504	14.460
APJ	15,8	4,4	4.832	26.355	4.525
ALS	15,8	1,9	15.52	20.250	11.081
EM	50,6	2,1	1.111	9.120	26.975
LMO	45	2,9	7.09	27.000	12.225
LT	15,8	2,3	22.268	16.275	9.398
LJC	103	4,9	5.42	29.685	21.593
MFPGD	417,7	2,9	8.84	40.100	28.925
MC	16,4	5,7	7.657	22.740	16.470
MSL	30,2	3,2	18.674	16.270	22.287
RS	15,8	0,9	6.767	31.560	7.062
SMS	15,8	3,9	7.105	27.420	10.248
SH	77,8	6,7	7.42	29.385	3.270

(PDGF= Platelet Derived Growth Factor, VEGF= Vascular Endothelial Growth Factor
pg/mL=picogramas por mililitro)

Tabela 4: Avaliação hepática ultrassonográfica e laboratorial**4.1 HAPI**

	USG Abdome	ALT (U/L)	AST (U/L)
MLSF	normal	6	8
LG	NORMAL	18	18
PFN	Fígado normal, CCC, baço normal	43	28
IMO	normal	28	
NCL	normal	34	21
ACC	CCC	17	16
APFFA	normal	15	14
INS	NORMAL	6	10
MJOS	NORMAL	68	50
MES	LITÍASE VESICULAR	36	23
MBS	normal	13	16

(ALT=alanina amino transferase; AST= aspartato amino transferase; USG=ultrassonografia; CCC- colecistopatia crônica calculosa; U/L= unidades por litro)

ANEXO C

4.2 ESQ+HP

	USG Abdome	ALT (U/L)	AST (U/L)
AAC	espessamento periportal difuso; esplenomegalia hipertensão periportal, provável cirrose hepática,	22	38
BPN	dismorfismo vesicular espessamento periportal até ramos de 4 ordem. Lobo	20	35
CA	hep D 13,2; lobo hep E 9,3; textura homogênea	37	22
CREJ	fibrose periportal, aumento de baço hepatopatia crônica; hiperecogenicidade periportal;	70	52
IOS	esplenomegalia aumento da ecogenicidade periportal, fígado de	não tem	não tem
JAMO	tamanhos diminuído esteatose hepática, proeminência de lobo E; veia	55	32
LCOS	porta pária de 11,3mm/ baço no limite superior	50	30
MIS	colecistopatia crônica calculosa fibrose periportal, aumento de lobo E,	32	35
RCBC	esplenomegalia leve	28	23
SGB	HEPATOPATIA CRÔNICA		19
VFS	fibrose periportal, fígado e baço tamanho normal fígado de dimensões reduzidas com	38	57
VSSB	hiperecogenicidade periportal, baco normal	37	60
ZRB	FIBROSE PERIPORTAL	39	28

(ALT=alanina amino transferase; AST= aspartato amino transferase; USG=ultrassonografia; D=direito; E=esquerdo; U/L= unidades por litro)

ANEXO C

4.3 ESQ

	USG Abdome	ALT (U/L)	AST (U/L)
ESRJ	Fibrose periportal, esplenomegalia aumento de lobo E e fibrose periportal; esplenomegalia;	27	32
GMR	ascite Aumento relativo lobo E e espessamento periportal,	20	29
JFS	esplenomegalia hepatoesplenomegalia com hipertensão portal, vesícula	34	34
JCFS	biliar hidrópica Fígado com dimensões reduzidas a custa de lobo direito, borda fina, superf. Regular, espessamento periportal de 6mm ate 4 ordem.aumento da circulação colateral e anastomose portosistemica intrahepatica. Esplenomegalia.	44	39
JPPV	Cálculo em vesícula de 4mm	55	36
JPS	fibrose periportal, figado diminuído; esplenomegalia Diminuições reduzidas as custas de LHD. Lobo hepático D 121 e LHE 91; textura homogênea; leve espessamento	70	81
LSD	periportal Fígado com dimensões normais e espessamento periportal.	12	16
LHA	Baço pouco aumentado Fígado diminuído, aumento relativo de lobo E,	81	36
MCLS	espessamento periportal, esplenomegalia Fígado de dimensões reduzidas difusamente.Superfície. Regular.Aumento difuso da ecogenicidade e intenso espessamento periportal de ramos principais. Veia	67	41
MSS	paraumbilical muito dilatada. Esplenomegalia Fígado de dimensões normais, leve redução do lobo D e proeminência do lobo E. Superfície irregular e ondulada. Textura homogenea. Espessamento periportal de ramos principais . Esplenomegalia. Sem componente de hiperfluxo	24	35
MISR	de veia esplênica e sem sinais de hipertensão portal. Fígado dimensões reduzidas, espessamento periportal,	21	26
MJMS	esplenomegalia aumento de lobo E sinais de hipertensão portal/EHE sem	11	21
NMA	componente de hiperfluxo	20	29

ALT=alanina amino transferase; AST= aspartato amino transferase; USG=ultrassonografia; D=direito; E=esquerdo; U/L= unidades por litro

ANEXO C

Tabela 5: Avaliação hematológica

5.1 HAPI

	Hb (g/dL)	LEUCÓCITOS (/mm ³)	Plaquetas (/mm ³)
MLSF	17,2		244.000
LG	16	6.900	217.000
PFN	17,6	9.400	135.000
IMO	13	7.800	287.000
NCL	16,2	9.800	
ACC	17,2	11.400	210.000
APFFA	15,1	5.500	265.000
INS	14,2	8.700	266.000
MJOS	14,9	8.100	203.000
MES	16,6	8.200	208.000
MBS	16,2	8.900	161.000

(Hb=hemoglobina; g/dL= gramas por decilitro; mm³=milímetro cúbico)

5.2. ESQ+HP

	Hb (g/dL)	LEUCÓCITOS (/mm ³)	Plaquetas (/mm ³)
AAC	10,3	2.200	19.000
BPN	17,6	6.750	114.000
CA	14,3	7.100	110.000
CREJ	12	4.300	56.000
IOS	14,2	4.100	105.000
JAMO	16,6	8.200	149.000
LCOS	14,5	10.300	182.000
não			
MIS	tem	não tem	139.000
RCBC	15,5	6.200	192.000
SGB	16,8	0.550	117.000
VFS	19,3	4.900	115.000
VSSB	14,5	4.800	190.000
ZRB	15,3	6.000	166.000

(Hb=hemoglobina; g/dL=gramas por decilitro; mm³=milímetro cúbico)

ANEXO C

5.3 ESQ

	Hb (g/dL)	LEUCÓCITOS (/mm ³)	Plaquetas (/mm ³)
ESRJ	13,3	1.660	60.000
GMR	11,4	1.960	54.000
JFS	12,9	1.680	30.000
JCFS	14,3	4.520	129.000
JPPV	13,1	2.160	67.000
JPS	13	2.210	53.000
LSD	13,4	2.980	63.000
LHA	15,3	5.100	193.000
MCLS	14,7	3.240	68.000
MSS	10	1.133	37.000
MISR	13,3	3.240	90.000
MJMS	14,4	2.440	47.000
NMA	12,8	4.130	81.000

(Hb=hemoglobina; g/dL= gramas por decilitro; mm³=milímetro cúbico)
