ALEKSANDER SNIOKA PROKOPOWITSCH

**Avaliação não-invasiva das propriedades da
parede arterial em pacientes portadoras de
lúpus eritematoso sistêmico**

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

Área de concentração: Reumatologia

Orientador: Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto

Co-orientador: Dr. Luiz Aparecido Bortolotto

São Paulo

2007

Para Telma, minha querida esposa,

com todo o meu amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa Telma, que já trilhou esses caminhos antes de mim, pelo amor, auxílio, incentivo e paciência incondicionais durante a execução deste trabalho.

Aos meus pais, Arkadij e Olga, aos quais devo muito do que sou hoje, por todo o amor e entrega à minha educação e formação humana.

Ao meu orientador, Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto, pela confiança e amizade cultivadas desde que nos conhecemos, bem como por toda a atenção dedicada ao presente trabalho.

Ao meu co-orientador, Dr. Luiz Aparecido Bortolotto, pela presença constante e enorme disponibilidade na coleta dos dados e no ensino dos métodos utilizados neste estudo.

À Prof^a. Dra. Eloisa Bonfá, por todas as oportunidades de aprendizado e crescimento profissional como médico e pesquisador ao longo dos últimos anos.

A todo o pessoal do LIM-17, especialmente à Francisca, Margarete, Cleonice e Eliana, pelo auxílio sempre prestativo nas coletas de sangue e armazenamento dos soros.

À Sra. Creusa Maria Roveri Dal Bó, pelo valioso auxílio na realização das análises estatísticas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro dado a este trabalho.

A todas as mulheres que participaram deste estudo, tanto como controles quanto pacientes, sem as quais teria sido impossível a execução do mesmo.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª edição. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Resumo

Summary

1. Introdução	1
2. Objetivos	9
3. Casuística e métodos	11
3.1. Pacientes	12
3.2. Coleta de sangue	13
3.3. Exames laboratoriais	13
3.4. Protocolo do estudo	14
3.4.1. Velocidade de onda de pulso (VOP)	15
3.4.2. Echo-tracking da artéria carótida comum	16
3.5. Análise estatística	17
4. Resultados	19
4.1. Influência da atividade de doença na VOP e echo-tracking	23
4.2. Correlações entre VOP e echo-tracking com parâmetros clínicos do LES	26
5. Discussão	30
6. Conclusões	37
7. Anexo	39
8. Referências	42

Apêndice

RESUMO

Prokopowitsch AS. *Avaliação não-invasiva da propriedades da parede arterial em pacientes portadoras de lúpus eritematoso sistêmico* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007.

OBJETIVO: Avaliar a rigidez e distensibilidade arterial em mulheres não-menopausadas portadoras de lúpus eritematoso sistêmico (LES), bem como a influência da atividade de doença sobre esses parâmetros. MÉTODOS: 37 pacientes lúpicas do sexo feminino com idade menor ou igual a 40 anos e com até 10 anos de doença foram selecionadas para o estudo. Os critérios de exclusão utilizados foram: tabagismo atual ou prévio, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, obesidade, insuficiência renal crônica, síndrome antifosfolípide secundária e gravidez ou menopausa no momento do estudo. As pacientes foram divididas em portadoras de doença ativa (SLEDAI maior ou igual a 4) e não-ativa (SLEDAI menor que 4) e comparadas a 25 mulheres saudáveis. Todos os indivíduos participantes foram submetidos à avaliação de rigidez e distensibilidade arterial por mensuração da velocidade de onda de pulso (VOP) carótido-femoral e echo-tracking da artéria carótida comum direita. RESULTADOS: Houve diferença significativa em relação à VOP entre os grupos estudados ($p=0.01$). Pacientes com LES em atividade apresentaram menor VOP que pacientes fora de atividade (6.89 ± 1.00 vs. 7.79 ± 1.10 m/s, $p<0.05$) e controles (6.89 ± 1.00 vs. 8.14 ± 1.07 m/s,

$p < 0.05$). Além disso, houve correlação negativa significativa entre VOP e SLEDAI ($r = -0.354$, $p = 0.03$). Todos os parâmetros obtidos através do echo-tracking foram semelhantes entre os grupos: espessura íntima-média (EIM) ($p = 0.50$), diâmetro diastólico ($p = 0.34$), coeficiente de distensibilidade ($p = 0.98$), coeficiente de complacência ($p = 0.74$) e módulo elástico ($p = 0.87$). A EIM correlacionou-se significativa e positivamente com a idade ($r = 0.328$, $p = 0.04$) e negativamente com os níveis de HDL-colesterol ($r = -0.366$, $p = 0.03$) e apolipoproteína A1 ($r = -0.407$, $p = 0.01$). Foi observada tendência de correlação positiva entre EIM e tempo de doença ($r = 0.306$, $p = 0.06$).
CONCLUSÃO: Este estudo demonstra que a atividade lúpica é responsável por alterações na parede arterial compatíveis com processo aterosclerótico precoce, uma vez que a redução de rigidez arterial observada na doença ativa pode ser secundária a maior infiltração inflamatória e formação de células espumosas.

Descritores: lúpus eritematoso sistêmico, aterosclerose, inflamação, pulso arterial, ultra-sonografia, fatores de risco, mulheres.

SUMMARY

Prokopowitsch AS. *Non-invasive evaluation of the arterial wall properties in female patients with systemic lupus erythematosus* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2007.

OBJECTIVE: To evaluate arterial stiffness and distensibility in premenopausal female systemic lupus erythematosus (SLE) patients and assess the influence of disease activity on these parameters. **METHODS:** Thirty-seven female SLE patients aged less than 40 years old and with less than 10 years of disease duration were selected. Exclusion criteria were smoking, arterial hypertension, diabetes mellitus, obesity, chronic renal failure, secondary antiphospholipid syndrome, and pregnancy or menopause at the time of the study. Patients were divided into active (SLEDAI $\geq$ 4) or inactive (SLEDAI $<$ 4) disease, and compared to twenty-five healthy female controls. All subjects underwent arterial stiffness and distensibility evaluation by carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) and common carotid echo-tracking. **RESULTS:** PWV was significantly different among the studied groups ($p=0.01$). Active SLE patients had lower PWV levels compared to inactive SLE patients (6.89 ± 1.00 vs. 7.79 ± 1.10 m/s, $p<0.05$) and also to controls (6.89 ± 1.00 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p<0.05$). Moreover, there was a significant negative correlation between PWV and SLEDAI ($r=-0.354$, $p=0.03$). All carotid echo-tracking parameters were similar among groups

($p > 0.05$): intima-media thickness (IMT) ($p = 0.50$), diastolic diameter ($p = 0.34$), distensibility coefficient ($p = 0.98$), compliance coefficient ($p = 0.74$), and elastic incremental modulus ($p = 0.87$). IMT had a positive significant correlation with age ($r = 0.328$, $p = 0.04$) and a negative significant correlation with HDL ($r = -0.366$, $p = 0.03$) and apolipoprotein A1 ($r = -0.407$, $p = 0.01$). A trend of positive correlation between IMT and disease duration ($r = 0.306$, $p = 0.06$) was observed. CONCLUSION: This study demonstrates that SLE activity is responsible for alterations in arterial walls compatible with early atherosclerotic process, since the reduced arterial stiffness observed in active disease may be secondary to a greater inflammatory infiltration and foam cell formation.

Descriptors: systemic lupus erythematosus, atherosclerosis, inflammation, pulse, ultrasonography, risk factors, women.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, considera-se que o processo inflamatório possui grande importância na gênese da aterosclerose. Nesse processo, além da participação de lipídios plasmáticos (em particular do LDL-colesterol) e de células como macrófagos e linfócitos T, há marcante presença de numerosas citocinas, fazendo parte de um conjunto de respostas que, globalmente, pode ser interpretado como uma doença inflamatória, levando à lesão endotelial e ao acúmulo de lipídios e células no interior da parede arterial (Ross, 1999).

Já foi demonstrado que, em doenças inflamatórias sistêmicas (como, por exemplo, na artrite reumatóide), há uma maior incidência de doenças cardiovasculares secundárias à aterosclerose que na população normal, independentemente da presença de outros fatores de risco “clássicos”, como tabagismo, hipertensão arterial e outros, o que fortalece a hipótese de que há uma íntima relação entre fenômenos inflamatórios e o surgimento de doença aterosclerótica (Del Rincón et al., 2001; Maradit-Kremers et al., 2005; Szekanecz e Shoenfeld, 2006).

Em relação ao lúpus eritematoso sistêmico (LES), várias opções terapêuticas têm melhorado o prognóstico dos acometimentos provocados pela doença. Nesse contexto, nas últimas décadas, tem havido um progressivo aumento da expectativa de vida de pacientes com a doença, o que evidenciou um novo problema: a constatação de que pacientes com LES tendem a apresentar doença aterosclerótica precoce. Com efeito,

pacientes lúpicas do sexo feminino entre 35 e 44 anos de idade apresentam risco 50 vezes maior de desenvolver infarto agudo do miocárdio que a população normal da mesma faixa etária (Manzi et al., 1997). Além disso, estima-se que 6 a 15% dos pacientes com LES possam vir a apresentar doença arterial coronária sintomática, e que até 8% possam apresentar acidentes vasculares cerebrais isquêmicos não-fatais ao longo da vida. Por fim, as doenças cardiovasculares são a terceira causa mais freqüente de óbito em pacientes com LES, atrás apenas da atividade da própria doença e de complicações infecciosas (Petri, 2000; Bruce, 2005).

Muitos estudos têm demonstrado que os fatores de risco “tradicionais” (hipertensão arterial, diabetes, tabagismo e dislipidemia) são importantes para a gênese da aterosclerose em pacientes com LES. Além disso, sabe-se que pacientes com LES apresentam risco cardiovascular aumentado, com maior incidência de doenças cardiovasculares que o esperado para o mesmo sexo e faixa etária, sem que esse fenômeno seja completa e exclusivamente explicado pela presença de fatores de risco cardiovascular tradicionais, tais como tabagismo, hipertensão arterial e diabetes (Petri, 2000; Doria et al., 2003; Bruce, 2005; Lee et al., 2006). Portanto, pode-se afirmar que há fatores intrinsecamente ligados ao LES que aumentam de forma independente o risco cardiovascular (Frostegard, 2005; McMahon et al., 2006). Pacientes lúpicos que desenvolvem doenças cardiovasculares ou evidência de aterosclerose tendem a apresentar maior grau de atividade inflamatória relacionada ao LES, com níveis séricos elevados de proteína C-reativa (Manzi et al., 1999), fator de necrose tumoral alfa (Svenungsson et

al., 2003) e homocisteína (Von Feldt et al., 2006), além da ocorrência mais freqüente de anticorpos antifosfolípidos (Petri, 2004). O uso de corticóides na terapêutica do LES também pode contribuir para a aterogênese, primariamente ou provocando alterações (intolerância à glicose, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemia) capazes de aumentar o risco cardiovascular de pacientes com a doença (Schattner e Liang, 2003).

Portanto, justifica-se a importância de vigiar o surgimento de fenômenos ateroscleróticos em pacientes portadores de LES, se possível de modo prático e não-invasivo, no sentido de se detectar alterações precoces da parede arterial que indiquem evolução para aterosclerose.

Atualmente, é possível obter, através de técnicas não-invasivas, dados sobre as propriedades da parede arterial que mostram correlação com alguns desfechos clínicos de relevância. Já foi demonstrado, por exemplo, que aumentos no grau de rigidez arterial (mensurada pela velocidade de onda de pulso) correlacionam-se fortemente com a ocorrência histopatológica de aterosclerose e são preditores de risco cardiovascular em pacientes hipertensos, além de serem também preditores de mortalidade geral e cardiovascular em pacientes renais crônicos dialíticos (Blacher et al., 1999; Laurent et al., 2001; Boutouyrie et al., 2002; Kingwell et al., 2002; Blacher et al., 2003). Da mesma forma, observou-se que medidas aumentadas da espessura íntima-média carotídea correlacionam-se com o risco de eventos coronarianos agudos e de acidentes vasculares cerebrais (O'Leary et al., 1999).

Entretanto, não há grande quantidade de evidências, na literatura, concernentes à possível relação entre a presença de inflamação sistêmica secundária a doenças reumatológicas e alterações de propriedade da parede arterial. Foi recentemente demonstrado que pacientes portadores de artrite reumatóide apresentam redução do grau de elasticidade arterial (obtida através de análise de onda de pulso captada por transdutor de pressão), a qual mostrou-se inversamente correlacionada às medidas do grau de inflamação presente naquele momento (Wong et al., 2003). Mais recentemente, demonstrou-se que pacientes com artrite reumatóide também apresentam aumento da rigidez arterial aórtica mensurada pela velocidade de onda de pulso, diretamente proporcional ao grau de atividade e à gravidade da doença (Turesson et al., 2005; Maki-Petaja et al., 2006).

Em relação ao LES, dois estudos para análise do grau de rigidez arterial aórtica através da velocidade de onda de pulso carótido-femoral demonstraram que alguns fatores relacionados especificamente à doença (presença de anticorpos anti-ds-DNA, níveis elevados de C3 e não-uso de antimaláricos) parecem estar associados a um aumento na velocidade de onda de pulso, indicando um aumento do grau de rigidez arterial, especialmente em pacientes não-menopausadas (Selzer et al., 2001; Selzer et al., 2004). Foi também demonstrado que, em pacientes com LES, idade e pressão arterial sistólica são variáveis independentemente associadas com níveis mais elevados de velocidade de onda de pulso (Tso et al., 2005). Além disso, outro estudo evidenciou correlação positiva entre níveis séricos de homocisteína e velocidade de onda de pulso em pacientes com LES,

sugerindo existir relação entre homocisteinemia e rigidez arterial na doença (Tso et al., 2006). Entretanto, até o momento não foram identificadas associações definitivas da velocidade de onda de pulso com atividade e duração de doença no LES.

Assim, devido à relativa escassez de dados existentes acerca do assunto, o presente estudo propõe-se a avaliar as alterações da parede arterial de modo não-invasivo em pacientes portadoras de LES através de dois métodos: a velocidade de onda de pulso (VOP) carótido-femoral, e a avaliação da espessura, complacência, distensibilidade e elasticidade da parede arterial através do “*echo-tracking device*”.

A VOP aplica-se ao estudo regional da rigidez da parede arterial, à qual é diretamente relacionada: quanto maior a VOP, maior o grau de rigidez da parede. Estudos já demonstraram que há uma forte correlação entre o grau de rigidez arterial e a intensidade do processo aterosclerótico de sua parede, mensurada através de análises anátomo-patológicas (Wada et al., 1994). Por conseguinte, a avaliação da VOP é um método fácil, não-invasivo e confiável para inferir o grau de aterosclerose da parede de grandes artérias. Além disso, também já foi observado que o aumento da rigidez arterial, mensurada pela VOP, é um parâmetro preditor de maior risco de doenças cardiovasculares (Kingwell et al., 2002). A medição da VOP é realizada através de dois transdutores de pressão, colocados à distância um do outro sobre artérias de grande calibre (como, por exemplo, as artérias carótidas e femorais), que detectam a passagem da onda de pulso pelo vaso. A VOP, nesse modelo, é dada pela razão entre a distância entre os

transdutores e o tempo decorrido entre a passagem da onda de pulso pelos locais sobre os quais os mesmos estão acoplados.

O “*echo-tracking device*” é um método que se aplica à avaliação local de parâmetros relativos à parede arterial, e foi descrito pela primeira vez na literatura por Hoeks e colaboradores em 1990. Consiste num método de mensuração da espessura íntima-média da parede arterial, do diâmetro do vaso e da variação sistó-diastólica do mesmo, através do processamento de sinais de ultra-som (obtidos em modo M, ou seja, linear), transformados em sinais de radiofrequência e interpretados por um software específico. A avaliação simultânea da espessura da parede arterial, do seu diâmetro e da sua variação sistó-diastólica, em conjunto com a medida da pressão arterial, torna possível o cálculo da distensibilidade, da complacência e do módulo elástico (uma medida das propriedades elásticas da parede arterial) do segmento arterial analisado. Da mesma forma que para a VOP, há estudos que observaram correlação entre alterações na espessura íntima-média das artérias carótidas e o risco do desenvolvimento de doença cardiovascular, particularmente infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral, de modo que tal parâmetro pode ser considerado como preditor de maior risco para a ocorrência desses fenômenos (Bots et al., 1997; Hodis et al., 1998). Da mesma forma, é sabido que indivíduos hipertensos e coronariopatas apresentam redução nos níveis de distensibilidade arterial (Laurent et al., 1994; Alan et al., 2003). Além disso, já foi demonstrado que o LES pode exercer um efeito independente sobre a rigidez arterial medida pelo echo-tracking em mulheres menopausadas (Brodzski et al., 2004).

Em conclusão, tendo em vista a íntima relação existente entre inflamação e aterosclerose, pode-se supor que a rigidez e a distensibilidade arterial estão relacionadas à inflamação induzida pelo LES. O objetivo do presente estudo foi investigar a associação entre dano arterial precoce e atividade do LES, duração de doença e uso de corticosteróides, através da mensuração da VOP carótido-femoral e do *echo-tracking* da artéria carótida comum.

2. OBJETIVOS

Avaliar a velocidade de onda de pulso no LES, relacionando os achados com variáveis demográficas, características da doença (tempo de doença e grau de atividade) e parâmetros laboratoriais.

Avaliar os parâmetros obtidos a partir do “echo-tracking device” no LES, verificando sua relação com dados demográficos, características da doença (tempo de doença e grau de atividade) e variáveis laboratoriais.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Pacientes:

Trinta e sete pacientes do sexo feminino portadoras de LES foram selecionadas entre as pacientes em seguimento no Ambulatório da Disciplina de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, entre os meses de janeiro de 2004 e junho de 2005. Todas as pacientes preenchiam ao menos quatro critérios do Colégio Americano de Reumatologia para classificação de LES (Tan et al., 1982). Ao ingressar no estudo, todas as pacientes tinham menos de 40 anos de idade e menos de 10 anos de duração de doença. Os critérios de exclusão utilizados foram: presença de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, tabagismo e/ou etilismo atuais ou prévios, ocorrência de eventos ateroscleróticos prévios (infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral), diagnóstico de síndrome antifosfolípide secundária, evidência bioquímica de doença tireoidiana e/ou insuficiência renal crônica, ocorrência de menopausa natural ou induzida e gestação no momento do estudo. Todas as pacientes e controles apresentavam índice de massa corpórea menor que 30 kg/m^2 e nível sérico de creatinina menor que 1.3 mg/dl . A atividade clínica da doença foi mensurada conforme o escore SLEDAI - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (Bombardier et al., 1992). Vinte e cinco mulheres saudáveis com menos de 40 anos de idade foram selecionadas para compor o grupo controle. O estudo foi aprovado

pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e consentimento informado foi obtido de todos os participantes.

3.2. Coleta de sangue:

Todos os indivíduos participantes do estudo foram submetidos a coleta de sangue após jejum de 12 horas, no mesmo dia da realização do protocolo. Foram colhidas amostras para a realização das seguintes determinações plasmáticas: colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, triglicérides, apolipoproteína A1, apolipoproteína B, proteína C-reativa e homocisteína. O sangue foi coletado em tubos secos (ou em tubo contendo EDTA, no caso da coleta para dosagem de homocisteína) e centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos. O plasma resultante foi separado e acondicionado em *eppendorfs*, sendo armazenado a -70°C para posterior realização das determinações laboratoriais.

3.3. Exames laboratoriais:

Todas as determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, através de protocolo aprovado pelo mesmo sob o código PR-405. Os métodos empregados para tais determinações foram os seguintes:

- Colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e triglicérides: espectrofotometria em aparelho Modular P (Roche Diagnostic, Basiléia, Suíça);
- Apolipoproteínas A1 e B: imunoturbidimetria em aparelho Modular P (Roche Diagnostic, Basiléia, Suíça);
- Proteína C-reativa: nefelometria em aparelho Nephemeter II (Dade Behring, Alemanha);
- Homocisteína: quimioluminescência em aparelho Immulite 2000 (DPC, Estados Unidos da América).

A realização de todos os exames laboratoriais teve o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, através do projeto de auxílio-pesquisa número 05/60831-7.

3.4. Protocolo do estudo:

Todas as pacientes e controles foram proibidas de tomar quaisquer bebidas contendo cafeína ou outros estimulantes, bem como de realizar quaisquer atividades físicas no dia da realização dos testes, no sentido de evitar influências de curto prazo sobre os mesmos, conforme recomendação prévia existente na literatura (Van Bortel et al., 2002). Foi permitida a ingestão de refeição leve após a coleta de exames descrita acima. No início da realização do protocolo, foram aferidos peso e altura dos participantes, os quais permaneceram a seguir confortavelmente em repouso na posição

supina durante quinze minutos, em sala climatizada com temperatura estável de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.4.1. Velocidade de onda de pulso (VOP):

Após a obtenção dos valores de frequência cardíaca e pressão arterial, a VOP foi determinada usando-se o *Complior* (Colson, França). Trata-se de um dispositivo automático que permite o registro contínuo de ondas de pulso e o cálculo automático da VOP (Asmar et al., 1995). Para tanto, as ondas de pulso foram obtidas de forma não-invasiva utilizando-se transdutores de pressão TY-306-Fukuda, colocados sobre as artérias carótida comum direita e femoral direita. Ambas as ondas de pulso são digitalizadas pelo *Complior* durante a sua aquisição e armazenadas em um *buffer* de memória. Um sistema de pré-processamento automaticamente analisa os ganhos de cada onda de pulso, ajustando-os para que haja equivalência de ambos os sinais. No momento em que o operador observa ondas de pulso de qualidade suficiente na tela do computador, a aquisição pode ser interrompida, permitindo o cálculo, pelo *Complior*, do tempo transcorrido entre as duas ondas de pulso. Esse procedimento foi repetido em pelo menos dez diferentes ciclos cardíacos para cada participante do estudo, sendo que a média dos valores de tempo transcorrido entre as ondas de pulso foi utilizada para a análise final. A distância percorrida pela onda de pulso (denominada “D”) foi medida sobre a superfície corporal entre os dois pontos de aquisição das ondas de pulso, enquanto que o tempo

transcorrido entre as duas ondas de pulso (denominado "t") foi calculado e fornecido automaticamente pelo *Complior*, permitindo o cálculo da VOP pela fórmula $VOP=D/t$. A validação e a reprodutibilidade desse método foram previamente descritas na literatura, com um coeficiente de repetibilidade intra-observador de 0.935 e um coeficiente de reprodutibilidade inter-observador de 0.890 (Asmar et al., 1995).

3.4.2. *Echo-tracking da artéria carótida comum:*

As propriedades da parede vascular da artéria carótida comum foram avaliadas pelo *Wall-Track System* (Neurodata, Maastricht; Holanda). Trata-se de um sistema de ultra-som pulsado baseado na análise de sinais de radiofrequência que permite a obtenção contínua dos valores do diâmetro arterial. Tal método já foi descrito, validado e utilizado previamente em estudos clínicos (Hoeks et al., 1990; Laurent et al., 1994; Hoeks et al., 1997). A acurácia desse método é de 30 μm para as medidas do diâmetro arterial diastólico e menor que 1 μm para as variações pulsáteis do diâmetro arterial (ou seja, para as diferenças entre os diâmetros sistólico e diastólico). As medidas foram realizadas na artéria carótida comum direita, dois centímetros abaixo da sua bifurcação, sobre a parede posterior e distante de placa aterosclerótica, caso presente. Duas medidas consecutivas foram realizadas, simultaneamente à determinação da pressão arterial braquial com um esfigmomanômetro. Os valores obtidos usados para análise foram as médias do diâmetro arterial diastólico ("d"), distensão (" Δd ", definida como

a diferença entre os diâmetros sistólico e diastólico), espessura íntima-média (EIM) e pressão de pulso (“ ΔP ”, definida como a diferença entre a pressão arterial sistólica e diastólica). Tais parâmetros permitiram o cálculo do coeficiente de distensibilidade (CD), definido como a variação relativa da área de secção transversal do vaso por unidade de pressão, do coeficiente de complacência (CC), definido como a variação absoluta da área de secção transversal do vaso por unidade de pressão, e do módulo elástico (ME), que fornece informações sobre as propriedades elásticas intrínsecas ao material da parede arterial, conforme as equações abaixo (Van Bortel et al., 2002):

$$CD = 2.(\Delta d / d) / \Delta P$$

$$CC = \pi.d.\Delta d / 2.\Delta P$$

$$ME = (\Delta P / \Delta d) . (d / EIM)$$

3.5. Análise estatística:

Os resultados serão apresentados na forma de média $\pm$ desvio-padrão. Os dados foram analisados pelo teste t de Student ou pelo teste não-paramétrico de Mann-Whitney para avaliar diferenças entre os grupos LES e controle. O teste de análise de variância a um fator (ANOVA) com teste de Bonferroni ou o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com teste de Dunn foram utilizados para avaliar diferenças entre três grupos. A análise de covariância foi utilizada para realizar comparações entre grupos com correção para determinada variável. Comparações entre proporções foram realizadas através do teste exato de Fisher. Correlações entre variáveis

numéricas foram calculadas através do teste de correlação linear de Spearman. O nível de significância estatística adotado foi $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

A distribuição das variáveis idade (26.9 ± 6.0 vs. 28.4 ± 5.0 anos, $p=0.33$), raça branca (86.5% vs. 92.0%, $p=0.69$), peso (59.8 ± 10.6 vs. 60.2 ± 11.2 kg, $p=0.89$), altura (1.62 ± 0.08 vs. 1.63 ± 0.07 m, $p=0.68$) e índice de massa corpórea (22.7 ± 3.4 vs. 22.6 ± 3.7 kg/m², $p=0.91$) foi similar no grupo de pacientes (grupo LES) e no grupo controle, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Dados demográficos dos grupos LES e controle

	LES (n=37)	Controles (n=25)	p
Idade (anos)	26.9 ± 6.0	28.4 ± 5.0	0.33
Raça branca (%)	86.5	92.0	0.69
Peso (kg)	59.8 ± 10.6	60.2 ± 11.2	0.89
Altura (m)	1.62 ± 0.08	1.63 ± 0.07	0.68
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	22.7 ± 3.4	22.6 ± 3.7	0.91
Duração de doença (meses)	39.3 ± 26.0	-	-
Dose atual de prednisona (mg/d)	20.0 ± 20.1	-	-
Dose cumulativa de prednisona (g)	19.4 ± 12.9	-	-
Uso de corticosteróide (%)	75.7	-	-
Uso de antimalárico (%)	86.5	-	-

Valores expressos em média $\pm$ desvio-padrão ou porcentagem.

No grupo LES, a duração média de doença foi de 39.3 ± 26.0 meses. A dose média atual de prednisona foi de 20.0 ± 20.1 mg/d, com uma dose cumulativa média de prednisona de 19.4 ± 12.9 gramas. No momento do estudo, 75.7% e 86.5% das pacientes estavam em uso de corticosteróides e antimaláricos, respectivamente (Tabela 1).

A velocidade de onda de pulso (VOP) foi significativamente menor no grupo LES que no grupo controle (7.52 ± 1.14 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p=0.04$), conforme mostrado na Tabela 2. Não houve diferenças significativas entre os grupos no que concerne aos parâmetros obtidos pelo *echo-tracking*, tais como diâmetro diastólico ($p=0.95$), espessura íntima-média ($p=0.43$), coeficiente de distensibilidade ($p=0.84$), coeficiente de complacência ($p=0.73$) e módulo elástico ($p=0.63$). Além disso, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em relação à pressão arterial sistólica ($p=0.18$) e à frequência cardíaca ($p=0.07$). No entanto, a pressão arterial diastólica foi maior no grupo LES que no grupo controle (71.5 ± 11.5 vs. 64.3 ± 8.4 mmHg, $p=0.009$). Os níveis séricos de apolipoproteína A1 foram menores no grupo LES em comparação aos controles (148.9 ± 26.4 vs. 170.5 ± 30.5 mg/dl, $p=0.005$), mas não houve diferenças significativas entre os dois grupos quanto ao restante do perfil lipídico, proteína C-reativa e homocisteína. Tais dados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Velocidade de onda de pulso, características hemodinâmicas, parâmetros do *echo-tracking* e variáveis laboratoriais nos grupos LES e controle

	LES	Controles	p
	(n=37)	(n=25)	
Velocidade de onda de pulso (m/s)	7.52 ± 1.14	8.14 ± 1.07	0.04
Pressão arterial sistólica (mmHg)	109.3 ± 15.0	105.2 ± 8.4	0.18
Pressão arterial diastólica (mmHg)	71.5 ± 11.5	64.3 ± 8.4	0.009
Frequência cardíaca (bpm)	81.9 ± 10.7	76.9 ± 10.4	0.07
Diâmetro diastólico carotídeo (µm)	6102 ± 644	6112 ± 570	0.95
Espessura íntima-média (µm)	554 ± 78	537 ± 91	0.43
Coeficiente de distensibilidade (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	32.9 ± 9.3	32.4 ± 10.3	0.84
Coeficiente de complacência (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	9.62 ± 3.16	9.35 ± 2.74	0.73
Módulo elástico (kPa.10 ³)	0.92 ± 0.34	0.96 ± 0.30	0.63
Colesterol total (mg/dl)	174.4 ± 42.0	186.8 ± 33.5	0.23
HDL-colesterol (mg/dl)	64.4 ± 15.0	70.0 ± 13.1	0.13
LDL-colesterol (mg/dl)	88.1 ± 32.3	99.2 ± 29.0	0.18
VLDL-colesterol (mg/dl)	22.0 ± 11.6	17.6 ± 7.9	0.08
Triglicérides (mg/dl)	109.9 ± 58.3	88.3 ± 39.8	0.09
Apolipoproteína A1 (mg/dl)	148.9 ± 26.4	170.5 ± 30.5	0.005
Apolipoproteína B (mg/dl)	83.9 ± 28.9	81.0 ± 18.5	0.63
Homocisteína (µmol/ml)	8.30 ± 2.54	8.39 ± 4.18	0.75
Proteína C-reativa (mg/l)	6.33 ± 20.7	4.02 ± 5.53	0.33

Valores expressos em média ± desvio-padrão.

4.1. Influência da atividade de doença na VOP e echo-tracking

No sentido de avaliar a influência da atividade do LES sobre a VOP e os parâmetros obtidos pelo *echo-tracking*, os indivíduos do grupo LES foram divididos conforme o grau de atividade em pacientes com doença ativa e inativa (SLEDAI ≥ 4 e SLEDAI < 4 , respectivamente) e comparados aos controles. Conforme demonstrado na Tabela 3, não foram constatadas diferenças significativas entre esses três grupos no que diz respeito à idade ($p=0.13$) e índice de massa corpórea ($p=0.99$). Como já esperado, as pacientes com doença ativa, quando comparadas com as pacientes com doença inativa, apresentaram níveis maiores de SLEDAI (9.67 ± 5.31 vs. 0.52 ± 0.87 , $p<0.001$), além de maiores doses atuais de prednisona (35.8 ± 19.8 vs. 12.1 ± 15.2 mg/d, $p=0.001$) e maior frequência de uso de corticosteróides (100% vs. 65.4%, $p=0.036$). Entretanto, não foram encontradas diferenças em relação às doses cumulativas de prednisona (17.0 ± 12.1 vs. 20.4 ± 13.4 gramas, $p=0.49$), duração de doença (26.3 ± 20.2 vs. 44.8 ± 26.6 meses, $p=0.06$) e frequência de uso de antimaláricos no momento do estudo (81.8% vs. 88.5%, $p=0.62$).

Tabela 3 – Idade, índice de massa corpórea, velocidade de onda de pulso, parâmetros do echo-tracking e dados hemodinâmicos e laboratoriais nos pacientes com doença ativa (SLEDAI $\geq$ 4) e inativa (SLEDAI $<$ 4) e controles

	SLEDAI $\geq$ 4 (n=11)	SLEDAI $<$ 4 (n=26)	Controles (n=25)	p
Idade (anos)	24.5 $\pm$ 5.8	28.0 $\pm$ 5.8	28.3 $\pm$ 5.0	0.13
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	22.8 $\pm$ 3.3	22.7 $\pm$ 3.6	22.6 $\pm$ 3.7	0.99
Velocidade de onda de pulso (m/s)	6.89 $\pm$ 1.00 [†]	7.79 $\pm$ 1.10	8.14 $\pm$ 1.07	0.01
Diâmetro diastólico carotídeo (μ m)	6331 $\pm$ 645	6005 $\pm$ 631	6112 $\pm$ 570	0.34
Espessura íntima-média (μ m)	536 $\pm$ 52	562 $\pm$ 86	537 $\pm$ 91	0.50
Coef. de distensibilidade (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	32.9 $\pm$ 10.3	32.9 $\pm$ 9.0	32.4 $\pm$ 10.3	0.98
Coef. de complacência (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	10.15 $\pm$ 2.83	9.39 $\pm$ 3.32	9.35 $\pm$ 2.74	0.74
Módulo elástico (kPa.10 ³)	0.94 $\pm$ 0.30	0.91 $\pm$ 0.37	0.96 $\pm$ 0.30	0.87
Pressão arterial sistólica (mmHg)	113.6 $\pm$ 21.9	107.4 $\pm$ 10.9	105.2 $\pm$ 8.4	0.19
Pressão arterial diastólica (mmHg)	73.8 $\pm$ 16.9 [†]	70.5 $\pm$ 8.5	64.3 $\pm$ 8.4	0.02
Frequência cardíaca (bpm)	84.3 $\pm$ 12.4	81.0 $\pm$ 10.1	76.9 $\pm$ 10.4	0.14
Colesterol total (mg/dl)	204.1 $\pm$ 50.4 [*]	160.2 $\pm$ 28.8 [†]	186.8 $\pm$ 33.5	0.002
HDL-colesterol (mg/dl)	63.8 $\pm$ 12.4	64.6 $\pm$ 16.3	70.0 $\pm$ 13.1	0.33
LDL-colesterol (mg/dl)	110.6 $\pm$ 43.0 [*]	77.2 $\pm$ 18.6 [†]	99.2 $\pm$ 29.0	0.002
VLDL-colesterol (mg/dl)	29.7 $\pm$ 14.9 [†]	18.3 $\pm$ 7.5	17.6 $\pm$ 7.9	0.001
Triglicérides (mg/dl)	148.3 $\pm$ 75.2 [†]	91.4 $\pm$ 37.5	88.3 $\pm$ 39.8	0.001
Apolipoproteína A1 (mg/dl)	152.7 $\pm$ 25.0 [†]	147.1 $\pm$ 27.4 [†]	170.5 $\pm$ 30.5	0.016
Apolipoproteína B (mg/dl)	106.7 $\pm$ 37.8 [†]	73.0 $\pm$ 14.7	81.0 $\pm$ 18.5	<0.001
Homocisteína (μ mol/ml)	9.88 $\pm$ 3.16	7.54 $\pm$ 1.81	8.39 $\pm$ 4.18	0.09
Proteína C-reativa (mg/l)	12.06 $\pm$ 35.01	3.58 $\pm$ 7.73	4.02 $\pm$ 5.53	0.49
SLEDAI	9.67 $\pm$ 5.31	0.52 $\pm$ 0.87	-	<0.001

Valores expressos em média $\pm$ desvio-padrão. SLEDAI = SLE Disease Activity Index.

† p<0.05 vs. controles

* p<0.05 vs. SLEDAI $<$ 4

De forma interessante, foi encontrada diferença significativa em relação à VOP entre os grupos estudados ($p=0.01$), como demonstrado na Tabela 3. As pacientes com LES em atividade apresentaram níveis menores de VOP que os controles (6.89 ± 1.00 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p<0.05$) e as pacientes com LES fora de atividade (6.89 ± 1.00 vs. 7.79 ± 1.10 m/s, $p<0.05$). Não houve diferença nos níveis de VOP entre pacientes com doença inativa e controles (7.79 ± 1.10 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p>0.05$).

Não houve diferença significativa entre os grupos quanto aos parâmetros obtidos pelo *echo-tracking* da artéria carótida comum, quais sejam: diâmetro diastólico ($p=0.34$), espessura íntima-média ($p=0.50$), coeficiente de distensibilidade ($p=0.98$), coeficiente de complacência ($p=0.74$) e módulo elástico ($p=0.87$). Tais dados são mostrados na Tabela 3.

Além disso, não houve diferenças entre os grupos no que concerne à pressão arterial sistólica ($p=0.19$) e frequência cardíaca ($p=0.14$). No entanto, os valores de pressão arterial diastólica foram diferentes entre os grupos ($p=0.02$), sendo significativamente maiores nos indivíduos com LES em atividade que nos controles (73.8 ± 16.9 vs. 64.3 ± 8.4 mmHg, $p<0.05$), mas não em comparação aos indivíduos com LES inativo, conforme demonstrado na Tabela 3.

Vale ressaltar que, mesmo após a correção para a pressão arterial diastólica através de análise de covariância, os grupos permaneceram diferentes em relação à VOP, com as pacientes com LES em atividade apresentando menores valores de VOP que as pacientes fora de atividade e os controles ($p<0.001$).

Conforme demonstrado na Tabela 3, pacientes com LES em atividade apresentaram níveis mais elevados de apolipoproteína B, LDL-colesterol e colesterol total quando comparadas às pacientes fora de atividade ($p<0.05$), bem como níveis maiores de VLDL-colesterol e triglicérides em relação às pacientes com doença inativa ($p<0.05$) e aos controles ($p<0.05$). Já os níveis de HDL-colesterol e apolipoproteína A1 foram semelhantes entre os grupos com doença ativa e inativa ($p>0.05$). Por outro lado, as taxas de apolipoproteína A1 foram menores nos grupos com LES em comparação aos controles ($p<0.05$). Não foram encontradas diferenças entre os três grupos quanto aos níveis de proteína C-reativa e homocisteína (Tabela 3).

4.2. Correlações entre VOP e echo-tracking com parâmetros clínicos do LES

Confirmando os achados acima, foi observada correlação negativa significativa entre VOP e SLEDAI ($r=-0.354$, $p=0.03$), conforme exposto na Tabela 4. VOP também correlacionou-se positivamente com a idade ($r=0.452$, $p=0.005$), mas não com pressão arterial sistólica ($r=0.169$, $p=0.32$), pressão arterial diastólica ($r=0.286$, $p=0.09$) e índice de massa corpórea ($r=-0.059$, $p=0.73$). Além disso, duração de doença ($r=0.073$, $p=0.67$), dose atual de prednisona ($r=-0.157$, $p=0.36$) e dose cumulativa de prednisona ($r=-0.016$, $p=0.93$) também não se correlacionaram significativamente com a VOP.

Tabela 4 – Correlações entre velocidade de onda de pulso (VOP) e espessura íntima-média (EIM) com idade, índice de massa corpórea, pressão arterial, parâmetros laboratoriais, SLEDAI, duração de doença e doses de prednisona

	VOP		EIM	
	r	p	r	p
Idade	0.452	0.005	0.328	0.04
Índice de massa corpórea	-0.059	0.73	-0.017	0.92
Pressão arterial sistólica	0.169	0.32	-0.114	0.50
Pressão arterial diastólica	0.286	0.09	0.064	0.71
Duração de doença	0.073	0.67	0.306	0.06
Dose atual de prednisona	-0.157	0.36	-0.235	0.17
Dose cumulativa de prednisona	-0.016	0.93	0.216	0.21
Colesterol total	-0.124	0.47	-0.228	0.18
HDL-colesterol	-0.061	0.72	-0.366	0.03
LDL-colesterol	-0.087	0.61	-0.090	0.59
VLDL-colesterol	-0.128	0.45	-0.100	0.56
Triglicérides	-0.128	0.45	-0.100	0.56
Apolipoproteína A1	-0.040	0.81	-0.407	0.01
Apolipoproteína B	-0.145	0.39	-0.158	0.35
Homocisteína	0.043	0.80	-0.109	0.52
Proteína C-reativa	-0.069	0.69	0.149	0.38
SLEDAI	-0.354	0.03	-0.158	0.35

VOP: velocidade de onda de pulso; EIM: espessura íntima-média; SLEDAI: SLE Disease Activity Index.

Conforme demonstrado na Tabela 4, as correlações dos parâmetros obtidos através do *echo-tracking* da artéria carótida comum mostraram que a espessura íntima-média correlacionou-se positivamente com a idade ($r=0.328$, $p=0.04$) e apresentou tendência de correlação positiva com a

duração de doença ($r=0.306$, $p=0.06$). Além disso, houve correlação negativa significativa entre espessura íntima-média e níveis de HDL-colesterol ($r=-0.366$, $p=0.03$) e apolipoproteína A1 ($r=-0.407$, $p=0.01$). No entanto, não foram observadas correlações significativas entre espessura íntima-média e SLEDAI ($r=-0.158$, $p=0.35$), dose atual de prednisona ($r=-0.235$, $p=0.17$), dose cumulativa de prednisona ($r=0.216$, $p=0.21$) ou outros parâmetros laboratoriais.

Quanto aos demais parâmetros obtidos pelo “*echo-tracking device*”, foi constatada somente correlação negativa significativa entre coeficiente de complacência e idade ($r=-0.335$, $p=0.04$), conforme mostrado na Tabela 5. O coeficiente de distensibilidade, o coeficiente de complacência e o módulo elástico não mostraram correlações significativas com SLEDAI, duração de doença, dose atual de prednisona e dose cumulativa de prednisona, nem tampouco com as variáveis laboratoriais estudadas.

Tabela 5 – Correlações entre os parâmetros obtidos pelo echo-tracking da artéria carótida comum e idade, SLEDAI, duração de doença e doses atuais e cumulativas de prednisona

	CD		CC		ME	
	r	p	r	p	r	p
Idade	-0.274	0.10	-0.335	0.04	0.105	0.54
SLEDAI	-0.067	0.69	0.209	0.21	0.140	0.41
Duração de doença	0.083	0.63	-0.030	0.86	-0.169	0.32
Dose atual de prednisona	-0.272	0.11	-0.046	0.79	0.211	0.20
Dose cumulativa de prednisona	-0.160	0.35	-0.204	0.23	0.065	0.71

CD: coeficiente de distensibilidade; CC: coeficiente de complacência; ME: módulo elástico; SLEDAI: SLE Disease Activity Index.

5. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo que mostra que a atividade clínica do LES promove clara redução na rigidez da parede arterial, o que possivelmente está associado a uma fase precoce do processo aterosclerótico na doença.

A maior vantagem do presente estudo foi a de discriminar condições que sabidamente influenciam na progressão da aterosclerose, o que foi atingido através de critérios rigorosos de inclusão e exclusão. Nesse aspecto, a idade foi limitada no sentido de minimizar seu impacto sobre a rigidez arterial (Benetos et al., 2002, Mitchell et al., 2004). Pela mesma razão, pacientes com tempo de doença muito longo também foram excluídos. Vale ressaltar que a presença de doenças cardiovasculares, tais como infartos do miocárdio, acidentes vasculares cerebrais e trombozes decorrentes de síndrome antifosfolípide foram condições também eliminadas pelos critérios de exclusão adotados no estudo. Além disso, importantes fatores tradicionais de risco cardiovascular, como hipertensão arterial, diabetes mellitus, obesidade, menopausa e tabagismo foram também excluídos, lembrando que a hipertensão arterial afeta diretamente a rigidez arterial e aumenta os níveis de VOP (Hashimoto et al., 2002). Por outro lado, dislipidemias não foram excluídas do estudo, tendo em vista que a atividade lúpica promove alterações específicas no perfil lipídico (Borba e Bonfá, 1997).

Sabe-se que a rigidez arterial é um fator intimamente relacionado à presença e gravidade da aterosclerose. De fato, a mensuração da VOP é um

método não-invasivo capaz de avaliar a rigidez vascular e, portanto, inferir a progressão da doença aterosclerótica (Van Popele et al., 2001). No presente estudo, foi observada clara redução dos valores da VOP no LES, sendo que a atividade de doença parece intensificar diretamente esse achado. Com efeito, a redução significativa dos níveis de VOP no LES correlacionou-se negativamente com os valores do SLEDAI, mas não com a duração da doença ou com a dose atual de prednisona.

Apoiando este achado, alguns estudos já publicados demonstraram que níveis reduzidos de C3 em pacientes com LES associaram-se à redução da rigidez arterial aórtica (Selzer et al., 2001; Selzer et al., 2004). Outros estudos falharam em identificar quaisquer associações entre atividade lúpica e rigidez arterial (medida pela VOP bráquio-tibial, método diferente do utilizado no presente estudo), uma vez que a maioria dos pacientes lúpicos nesses estudos tinham baixos escores de SLEDAI (Tso et al., 2005 e 2006).

De qualquer maneira, tais estudos prévios no LES identificaram associações esperadas entre aumentos de VOP e idade, hipertensão arterial, obesidade e ocorrência de menopausa (Selzer et al., 2001; Tso et al., 2005). No presente estudo, uma correlação positiva significativa foi observada entre VOP e idade, bem como entre idade e espessura íntima-média da artéria carótida comum, apesar da exclusão de pacientes lúpicos com mais de 40 anos. Vale ressaltar que também foi evidenciada correlação negativa significativa entre idade e complacência da artéria carótida comum. Estes achados reforçam a idéia de que pacientes lúpicos jovens apresentam um aumento esperado de rigidez arterial e de espessura íntima-média com a

idade, que acaba sendo agravado ao longo do tempo pela progressão da aterosclerose motivada pela própria doença. Contrastando com esse fato, não foram constatadas associações entre VOP e pressão arterial (sistólica e diastólica) ou índice de massa corpórea. Embora, no presente trabalho, tenham sido observadas diferenças entre os grupos quanto aos níveis de pressão arterial diastólica, nenhum dos indivíduos participantes era hipertenso, e os níveis observados de pressão arterial diastólica encontravam-se dentro de limites normais. Além disso, é importante considerar que a pressão arterial diastólica é variável que não influencia diretamente a VOP, e que as diferenças observadas entre os grupos quanto à VOP mantiveram-se mesmo após a correção estatística para a mesma.

Na literatura, já foi descrito que a rigidez arterial aórtica pode ser afetada por vários mecanismos, incluindo fibrose, alterações em fibras elásticas, calcificações e difusão de macromoléculas no interior da parede arterial, o que usualmente ocorre com o envelhecimento e pode ser exacerbado por fatores de risco cardiovascular (Boutouyrie et al., 2002). É possível que o processo inflamatório promovido pelo LES exerça influência sobre essas alterações da parede arterial, determinando o seu grau de rigidez. Nesse sentido, a redução da VOP observada no LES em atividade pode ser explicada por uma maior infiltração inflamatória com uma maior formação de células espumosas no interior da parede arterial, que ocorre nas fases iniciais do processo aterosclerótico (Ross, 1999). Além disso, tem sido demonstrado que pacientes com LES apresentam considerável grau de disfunção endotelial (Lima et al., 2002; El-Magadmi et al., 2004; Karadag et

al., 2006; Wright et al., 2006), especialmente na presença de complicações cardiovasculares (Kiss et al., 2006), e que a atividade lúpica correlaciona-se positivamente com a vasodilatação arterial mediada por fluxo (El-Magadmi et al., 2004), que é dependente do endotélio (Behrendt e Ganz, 2002). Isso pode também explicar a redução de VOP observada no presente estudo, uma vez que a atividade lúpica induz um aumento na vasodilatação mediada por fluxo, que, por sua vez, relaciona-se inversamente à VOP (Kobayashi et al., 2004).

Infelizmente, alterações na rigidez arterial não se mostraram relacionadas à espessura vascular no presente estudo. Com efeito, não foram observadas diferenças em relação à espessura íntima-média entre os grupos, e placas ateroscleróticas não foram identificadas em nenhum dos participantes. Uma possível explicação para esse fato pode ser a relativamente curta duração de doença dos indivíduos participantes deste estudo, uma vez que podem ser necessários mais de 10 anos de LES, mesmo em pacientes jovens, para que seja possível detectar sinais de progressão de aterosclerose por métodos não-invasivos (Soep et al., 2004) como o *echo-tracking*. Entretanto, espessura íntima-média e idade correlacionaram-se positivamente, tendo sido observada também uma tendência de correlação positiva entre espessura íntima-média e duração de doença, de forma similar aos achados de outro recente estudo (Kiss et al., 2006). Vale ressaltar que um estudo prévio não encontrou diferenças entre pacientes com LES e controles em relação à espessura íntima-média, embora a rigidez arterial estivesse associada à duração de doença (Roman

et al., 2005). Além disso, uma associação de idade e duração de doença com presença de calcificações em artérias coronárias também já foi demonstrada em pacientes com LES (Von Feldt et al., 2006). Ao que tudo indica, idade e duração do LES são importantes preditores de desenvolvimento de aterosclerose e da formação de placas ateroscleróticas (Manzi et al., 1999; Roman et al., 2003; Selzer et al., 2004; Wolak et al., 2004).

Outro fator a ser considerado é o importante papel exercido pelo HDL-colesterol no espessamento vascular no LES. Tanto o HDL-colesterol como a apolipoproteína A1 correlacionaram-se negativamente com a espessura íntima-média no presente estudo. Vale ressaltar que baixos níveis de HDL-colesterol foram demonstrados no LES em atividade (Borba e Bonfá, 1997) e que a persistência de inflamação ao longo da doença deve agravar o espessamento vascular e a rigidez arterial. Além disso, a existência de uma modalidade pró-inflamatória de HDL-colesterol foi recentemente descrita no LES, a qual, independentemente dos seus níveis séricos, parece ser incapaz de prevenir a oxidação do LDL-colesterol e o recrutamento de monócitos, intensificando, dessa forma, a resposta inflamatória na parede vascular (McMahon et al., 2006).

Portanto, este estudo demonstra que a atividade lúpica de fato influencia a rigidez arterial, causando uma notável redução dos níveis de VOP, provavelmente relacionada às fases iniciais do processo aterosclerótico. Este estudo, além disso, confirma que o LES, por si mesmo, é fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose, que se intensifica

com a idade e com a maior duração de doença. Estes achados reforçam o fato de que conseguir o melhor controle possível da atividade de doença é essencial para reduzir o risco de futuras complicações cardiovasculares nos pacientes com LES.

6. CONCLUSÕES

Há redução da velocidade de onda de pulso (VOP) carótido-femoral no LES, a qual correlaciona-se de forma inversa ao grau de atividade da doença. Existe também relação direta entre VOP e idade no LES, não tendo sido constatadas associações da VOP com tempo de doença ou com os parâmetros laboratoriais analisados (perfil lipídico, proteína C-reativa e homocisteína sérica).

Os parâmetros obtidos através do “*echo-tracking device*” não diferem entre pacientes com LES e indivíduos controles, porém a espessura íntima-média correlaciona-se diretamente com a idade e inversamente com os níveis de HDL-colesterol e apolipoproteína A1. Não foram observadas associações dos parâmetros do “*echo-tracking device*” com atividade de doença ou com as demais variáveis laboratoriais analisadas.

7. ANEXO

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

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS - INFORMAÇÃO

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

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA AVALIAÇÃO NÃO-INVASIVA DAS PROPRIEDADES DA PAREDE ARTERIAL EM PACIENTES PORTADORAS DE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

PESQUISADOR: **Aleksander Snioka Prokopowitsch**

CARGO/FUNÇÃO: **Médico** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA (SP) No. **90736**

UNIDADE DO HC-FMUSP: **Disciplina de Reumatologia do HC-FMUSP**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐

RISCO MÍNIMO ☒ **x**

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 36 MESES

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA:

Pessoas que tem lúpus eritematoso sistêmico costumam ter problemas relacionados ao coração e aos vasos sanguíneos. Este estudo procura avaliar o quanto essa doença afetou seus vasos sanguíneos através de alguns exames. Serão realizados um ultra-som de um vaso sanguíneo do pescoço e uma avaliação do pulso de um vaso sanguíneo no pescoço e na virilha. Nenhum desses exames vai furar a sua pele ou causar dor, e você precisará apenas ficar deitada durante os exames. Será colhido um pouco de sangue para exames em uma veia do seu braço, e pode ser que você fique com um pequeno arroxamento da pele no lugar da retirada do sangue. Com isso, poderemos descobrir se o lúpus está causando algum tipo de problema nos seus vasos sanguíneos. Se isso estiver acontecendo, você poderá receber ajuda de especialistas no assunto.

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

A qualquer momento você poderá tirar dúvidas a respeito das avaliações e dos resultados do estudo. Se, por acaso, você resolver desistir de participar da pesquisa, não haverá qualquer punição ou prejuízo à continuidade do tratamento médico. A sua identidade será preservada. Todas as informações obtidas durante o estudo serão escritas em fichas numeradas, e apenas o pesquisador terá acesso a elas. Se houver qualquer problema ou dúvida, você poderá entrar em contato com Aleksander Snioka Prokopowitsch pelo telefone 3069-6384 (que é o telefone do ambulatório onde você recebe o tratamento médico).

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

Aleksander Snioka Prokopowitsch

Disciplina de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Ambulatório de Reumatologia – Prédio dos Ambulatórios – 5º andar – Sala 4A

Telefone: 3069-6384

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   .

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

8. REFERÊNCIAS

Alan S, Ulgen MS, Ozturk O, Alan B, Ozdemir L, Toprak N. Relation between coronary artery disease, risk factors and intima-media thickness of carotid artery, arterial distensibility, and stiffness index. *Angiology*. 2003; 54: 261-7.

Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement: validation and clinical application studies. *Hypertension*. 1995; 26: 485-90.

Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol*. 2002; 90: 40L-8L.

Benetos A, Waeber B, Izzo J, Mitchell G, Resnick L, Asmar R, et al. Influence of age, risk factors, and cardiovascular and renal disease on arterial stiffness: clinical applications. *Am J Hypertens*. 2002; 15: 1101-8.

Blacher J, Asmar R, Djane S, London G, Safar M. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension*. 1999; 33: 1111-7.

Blacher J, Guerin A, Pannier B, Marchais S, Safar M, London G. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal failure. *Circulation*. 1999; 99: 2434-9.

Blacher J, Safar ME, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Aortic pulse wave velocity index and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2003; 63: 1852-60.

Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, and the committee on prognosis studies in SLE. Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum.* 1992; 35: 630-40.

Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus.* 1997; 6: 533-9.

Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 1997; 96: 1432-7.

Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension.* 2002; 39: 10-5.

Brodzki J, Bengtsson C, Lanne T, Nived O, Sturfelt G, Marsal K. Abnormal mechanical properties of larger arteries in postmenopausal women with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004; 13: 917-23.

Bruce IN. 'Not only...but also': factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2005; 44: 1492-502.

Del Rincón ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum*. 2001; 44: 2737-45.

Doria A, Shoenfeld Y, Wu R, Gambari PF, Puato M, Ghirardello A, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2003; 62: 1071-7.

El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y, Durrington PN, Mackness M, Walker M, et al. Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women. *Circulation*. 2004; 110: 399-404.

Frostegard J. Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 1776-85.

Hashimoto J, Chonan K, Aoki Y, Nishimura T, Ohkubo T, Hozawa A, et al. Pulse wave velocity and the second derivative of the finger photoplethysmogram in treated hypertensive patients: their relationship and associating factors. *J Hypertens*. 2002; 20: 2415-22.

Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med.* 1998; 128: 262-9.

Hoeks APS, Brands PJ, Smeets GAM, Reneman RS. Assessment of the distensibility of superficial arteries. *Ultrasound Med Biol.* 1990; 16: 121-8.

Hoeks APS, Williekes C, Boutouyrie P, Brands PJ, Willigers JM, Reneman RS. Automated detection of local artery wall thickness based on M-line signal processing. *Ultrasound Med Biol.* 1997; 23: 1017-23.

Karadag O, Calguneri M, Atalar E, Yavuz B, Akdogan A, Kalyoncu U, et al. Novel cardiovascular risk factors and cardiac event predictors in female inactive systemic lupus erythematosus patients. *Clin Rheumatol.* 2006 Aug 15; epub ahead of print.

Kingwell BA, Waddell TK, Medley TL, Cameron JD, Dart AM. Large artery stiffness predicts ischemic threshold in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 40: 773-9.

Kiss E, Soltesz P, Der H, Kocsis Z, Tarr T, Bhattoa H, et al. Reduced flow-mediated vasodilation as a marker for cardiovascular complications in lupus patients. *J Autoimmun.* 2006 Nov 3; epub ahead of print.

Kobayashi K, Akishita M, Yu W, Hashimoto M, Ohni M, Toba K. Interrelationship between non-invasive measurements of atherosclerosis: flow-mediated dilation of brachial artery, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity. *Atherosclerosis*. 2004; 173: 13-8.

Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001; 37: 1236–41.

Laurent S, Caviezel B, Beck L, Girerd X, Billaud E, Boutouyrie P, et al. Carotid artery distensibility and distending pressure in hypertensive humans. *Hypertension*. 1994; 23: 878-83.

Lee AB, Godfrey T, Rowley KG, Karschimkus CS, Dragicevic G, Romas E, et al. Traditional risk factor assessment does not capture the extent of cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus. *Intern Med J*. 2006; 36: 237-43.

Lima DS, Sato EI, Lima VC, Miranda F Jr, Hatta FH. Brachial endothelial function is impaired in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2002; 29: 292-7.

Maki-Petaja KM, Hall FC, Booth AD, Wallace SM, Bearcroft PW, Harish S, et al. Rheumatoid arthritis is associated with increased aortic pulse-wave velocity, which is reduced by anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Circulation*. 2006; 114: 1185-92.

Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA Jr, Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol*. 1997; 145: 408-15.

Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Rairie JE, Tracy RP, et al. Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1999; 42: 51-60.

Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum*. 2005; 52: 722-32.

McMahon M, Grossman J, Chen W, Hahn BH. Inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2006; 15: 59-69.

McMahon M, Grossman J, Fitzgerald J, Dahlin-Lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for

atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 2541-9.

Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, et al. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension.* 2004; 43: 1239-45.

O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med.* 1999; 340: 14-22.

Petri M. Detection of coronary artery disease and the role of traditional risk factors in the Hopkins Lupus Cohort. *Lupus.* 2000; 9: 170-5.

Petri M. The lupus anticoagulant is a risk factor for myocardial infarction (but not atherosclerosis): Hopkins Lupus Cohort. *Thromb Res.* 2004; 114: 593-5.

Roman MJ, Devereux RB, Schwartz JE, Lockshin MD, Paget SA, Davis A, et al. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. *Hypertension.* 2005; 46: 194-9.

Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantoy R, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2003; 349: 2399-406.

Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340: 115-26.

Schattner A, Liang MH. The cardiovascular burden of lupus: a complex challenge. *Arch Intern Med*. 2003; 163: 1507-10.

Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Pratt JE, Tracy RP, Kuller LH, et al. Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery and aorta in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2004; 50: 151-9.

Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Tracy R, Kuller L, Manzi S. Vascular stiffness in women with systemic lupus erythematosus. *Hypertension*. 2001; 37: 1075-82.

Soep JB, Mietus-Snyder M, Malloy MJ, Witztum JL, Von Scheven E. Assessment of atherosclerotic risk factors and endothelial function in children and young adults with pediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2004; 51: 451-7.

Svenungsson E, Fei GZ, Jensen-Urstad K, de Faire U, Hamsten A, Frostegard J. TNF-alpha: a link between hypertriglyceridaemia and inflammation in SLE patients with cardiovascular disease. *Lupus*. 2003; 12: 454-61.

Szekanecz Z, Shoenfeld Y. Lupus and cardiovascular disease: the facts. *Lupus*. 2006; 15: 3-10.

Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982; 25: 1271-7.

Tso TK, Huang HY, Chang CK, Huang WN. A positive correlation between homocysteine and brachial-ankle pulse wave velocity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2006; 25: 285-90.

Tso TK, Huang WN, Huang HY, Chang CK. Association of brachial-ankle pulse wave velocity with cardiovascular risk factors in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2005; 14: 878-83.

Tso TK, Huang WN, Huang HY, Chang CK. Relationship of plasma interleukin-18 concentrations to traditional and non-traditional cardiovascular risk factors in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2006; 45: 1148-53.

Turesson C, Jacobsson L, Ryden-Ahlgren A, Sturfelt G, Wollmer P, Lanne T. Increased stiffness of the abdominal aorta in women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2005; 44: 896-901.

Van Bortel LM, Duprez D, Starmans-Kool MJ, Safar ME, Giannattasio C, Cockcroft J, et al. Clinical applications for arterial stiffness, Task Force III: recommendations for user procedures. *Am J Hypertens*. 2002; 15: 445-52.

Van Popele NM, Grobbee DE, Bots ML, Asmar R, Topouchian J, Reneman RS, et al. Association between arterial stiffness and atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Stroke*. 2001; 32: 454-60.

Von Feldt JM, Scalzi LV, Cucchiara AJ, Morthala S, Kealey C, Flagg SD, et al. Homocysteine levels and disease duration independently correlate with coronary artery calcification in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2006; 54: 2220-7.

Wada T, Kodaira K, Fujishiro K, Maie K, Tsukiyama E, Fukumoto T, et al. Correlation of ultrasound-measured common carotid artery stiffness with pathological findings. *Arterioscler Thromb*. 1994; 14: 479-82.

Wolak T, Todosoui E, Szendro G, Bolotin A, Jonathan BS, Flusser D, et al. Duplex study of the carotid and femoral arteries of patients with systemic lupus erythematosus: a controlled study. *J Rheumatol*. 2004; 31: 909-14.

Wong M, Toh L, Wilson A, Rowley K, Karschimkus C, Prior D, et al. Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis Rheum*. 2003; 48: 81-9.

Wright SA, O'Prey FM, Rea DJ, Plumb RD, Gamble AJ, Leahey WJ, et al. Microcirculatory hemodynamics and endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26: 2281-7.

APÊNDICE

ARTERIAL STIFFNESS IS INFLUENCED BY DISEASE ACTIVITY IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Aleksander S. Prokopowitsch¹, Luiz A. Bortolotto², Eloisa Bonfá¹,
Eduardo F. Borba¹

¹Aleksander S. Prokopowitsch, M.D., Research Fellow; Eloisa Bonfá, M.D., Ph.D., Full Professor; Eduardo F. Borba, M.D., Ph.D., Assistant Professor: Rheumatology Division of São Paulo University, São Paulo, SP, Brazil.

²Luiz A. Bortolotto, M.D., Ph.D., Assistant Professor: Heart Institute of São Paulo University, São Paulo, SP, Brazil.

This work was supported by FAPESP grant # 05/60831-7 (to EFB).

Address correspondence:

Aleksander Snioka Prokopowitsch, M.D.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Disciplina de
Reumatologia

Av. Dr. Arnaldo 455, 3^o andar, Sala 3133, São Paulo – SP – Brazil.

CEP: 01246-903. FAX: 55-11-30617490

E-mail: reumato@usp.br

ABSTRACT

Objective: To assess the influence of disease activity on arterial stiffness and distensibility in pre-menopausal female systemic lupus erythematosus (SLE) patients.

Methods: Thirty-seven female SLE patients aged ≤ 40 years old and ≤ 10 years of disease duration were selected. Exclusion criteria were smoking, arterial hypertension, diabetes mellitus, obesity, chronic renal failure, secondary antiphospholipid syndrome, and pregnancy or menopause at the time of the study. Patients were divided into active (SLEDAI ≥ 4) or inactive (SLEDAI <4) disease, and compared to twenty-five healthy female controls. All subjects underwent arterial stiffness and distensibility evaluation by carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) and common carotid echo-tracking.

Results: PWV was significantly different among the studied groups ($p=0.01$). Active SLE patients had lower PWV levels compared to inactive SLE patients (6.89 ± 1.00 vs. 7.79 ± 1.10 m/s, $p<0.05$) and also to controls (6.89 ± 1.00 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p<0.05$). Moreover, there was a significant negative correlation between PWV and SLEDAI ($r=-0.354$, $p=0.03$). All carotid echo-tracking parameters were similar among groups ($p>0.05$): intima-media thickness (IMT) ($p=0.50$), diastolic diameter ($p=0.34$), distensibility coefficient ($p=0.98$), compliance coefficient ($p=0.74$), and elastic incremental modulus ($p=0.87$). Intima-media thickness (IMT) had a positive significant correlation

with age ($r=0.328$, $p=0.04$) and a negative significant correlation with HDL ($r=-0.366$, $p=0.03$) and apolipoprotein A1 ($r=-0.407$, $p=0.01$).

Conclusions: This study demonstrates that activity in SLE is responsible for alterations in arterial walls compatible with early atherosclerotic process, since the reduced arterial stiffness observed in active disease may be secondary to a greater inflammatory infiltration and foam cell formation.

Keywords: systemic lupus erythematosus, atherosclerosis, arterial stiffness, pulse wave velocity, echo-tracking, lipoprotein.

INTRODUCTION

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by multi-systemic inflammation and large autoantibody production (1). It is now well recognized that SLE patients have an increased cardiovascular risk (2), with higher rates of cardiovascular diseases than expected that are not completely explained by traditional risk factors (3-6). Factors related to SLE itself, such as inflammation, endothelial dysfunction, immune complexes, and abnormalities in lipid metabolism, may play an important role in the progression of atherosclerosis in this disease (7,8). In addition, there is a growing amount of evidence suggesting that inflammation and immunity have an important role in the pathogenesis of atherosclerosis (9). In fact, it involves many cellular processes that promote inflammatory infiltration and increased cytokines production in arterial wall, leading to lipoprotein deposits and foam cell formation in atherosclerosis (10).

Acute and chronic inflammation are associated with endothelial dysfunction and arterial stiffness is now recognized as an important determinant of cardiovascular risk (11-15) since it is a premature event in the progression of atherosclerosis. In this regard, pulse wave velocity (PWV) is a noninvasive method to measure arterial stiffness, and it has been demonstrated that increased aortic stiffness, as measured by PWV, is an independent predictor of cardiovascular mortality in hypertension (11,12) and chronic renal failure (13,14). In fact, PWV have been evaluated in SLE (16-

20) but no definitive associations with disease activity and duration were identified.

In addition, ultrasound echo-tracking is another noninvasive method to assess distensibility, compliance and elasticity of the arterial wall. It has been demonstrated an impaired arterial distensibility in hypertensive subjects (21) and in patients with coronary artery disease (22). Moreover, another study has demonstrated that SLE may have an independent effect on arterial stiffness measured by ultrasound echo-tracking (23). Hence, increased arterial stiffness and reduced arterial distensibility are indeed early markers of atherosclerosis (16), and inflammation may have a critical role in this process.

We hypothesized that arterial stiffness would be related to SLE inflammation and therefore the aim of the present study was to investigate the association of premature arterial damage with SLE activity by carotid-femoral PWV and common carotid echo-tracking device.

PATIENTS AND METHODS

Patients: Thirty-seven consecutive female SLE patients were selected among our lupus patients attending the outpatient clinics of the Rheumatology Division of the University of São Paulo from January, 2004 until June, 2005. All of them fulfilled 4 or more of the revised American College of Rheumatology criteria for the classification of SLE (24). At entry, all SLE patients had less than 40 years old and less than 10 years of disease duration. Exclusion criteria were presence of systemic arterial hypertension, diabetes mellitus, previous or current tobacco and/or alcohol use, previous atherosclerotic events (myocardial infarction and stroke), secondary antiphospholipid syndrome, biochemical evidence of thyroid disease and/or chronic renal failure. None of them were pregnant or menopausal at the time of the study. All patients and controls had body mass index (BMI) less than 30 kg/m² and serum creatinine levels below 1.3 mg/dl. Overall clinical activity was measured according to the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) (25). Twenty-five healthy female controls with less than 40 years old and without the above exclusion criteria were selected for comparison. The study was approved by the local Ethics Committee and informed consent was obtained from all participants.

Study protocol: All patients and controls were not allowed to drink beverages containing caffeine or any stimulant, or to perform any physical activity on the protocol day in order to avoid short-term influences on the

tests, as previously recommended (26). At the beginning of the protocol height and weight were assessed, and then subjects comfortably rested in supine position for 15 minutes in an acclimatized room (with stable temperature at $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Pulse Wave Velocity (PWV): After heart rate and blood pressure determinations, PWV was determined in all subjects by the same experienced research clinician (LAB) blind to diagnosis using the Complior* (Colson, France) as an automatic device which allowed on-line pulse wave recording and also automatic PWV calculation (27). Briefly, common carotid artery and femoral artery pressure waveforms were recorded non-invasively using a TY-306-Fukuda pressure-sensitive transducer (Fukuda, Tokyo, Japan). The two pressure waveforms were digitized at the sample acquisition (frequency of 500 Hz) and then stored in a memory buffer. A preprocessing system automatically analyzed the gain in each waveform and adjusted it for equality of the two signals. Details of this procedure have been previously published (27). When the operator observed a pulse waveform of sufficient quality on the computer screen, digital register was stopped and then the delay time between the two pressure upstrokes was calculated. This procedure of measurement was repeated in over at least 10 different cardiac cycles and the mean was used for final analysis. The distance traveled by the pulse wave was measured over the body surface as the distance between the two recording sites (D), while pulse transit time (t) was automatically determined by Complior* which calculated PWV as $\text{PWV} = D/t$. The validation

and reproducibility of this automatic method have been previously described, with an intra-observer repeatability coefficient of 0.935 and an inter-observer reproducibility coefficient of 0.890 (27).

Common carotid echo-tracking: The vessel wall properties of the common carotid artery (CCA) were determined in all subjects by the same experienced research clinician (LAB) blind to diagnosis using a pulsed ultrasound echo-tracking system (Wall-Track System; Neurodata, Maastricht; The Netherlands), based on the radiofrequency signal analysis that has been described, validated and used in previous clinical studies (21,28,29). The accuracy of the system is 30 μm for the diastolic diameter measurement and <1 μm for the pulsatile change in diameter (difference between systolic and diastolic diameters). Measurements were performed by the same operator (LAB) in the right CCA, 2 cm below bifurcation, at the posterior wall and far from an atherosclerotic plaque if present. Two consecutive measurements were performed in parallel with brachial arterial pressure determination using a sphygmomanometer. The mean values of arterial diastolic diameter (d), distension (Δd , defined as the difference between systolic and diastolic diameter), intima-media thickness (IMT), and pulse pressure (ΔP , defined as the difference between systolic and diastolic arterial pressure) were used for analysis. These parameters allowed calculation of the distensibility coefficient (DC) (defined as the relative change in cross-sectional area of the vessel per unit of pressure), the compliance coefficient (CC) (defined as the absolute change in cross-sectional area of the vessel per unit of pressure), and the

elastic incremental modulus (E_{inc}) (which gives information on the intrinsic properties of the arterial wall biomaterial), according to the following equations (26):

$$DC = 2.(\Delta d / d) / \Delta P$$

$$CC = \pi.d.\Delta d / 2.\Delta P$$

$$E_{inc} = (\Delta P / \Delta d) . (d / IMT)$$

Laboratorial evaluation. All SLE patients and controls were in their usual diet and were fasting for at least 12 hours at the beginning of the study. Blood samples were obtained immediately before PWV and echo-tracking for baseline biochemical analysis. Plasma total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein cholesterol (LDL), very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL) and triglycerides (TG) were measured by spectrophotometry on a Modular P analyzer (Roche Diagnostic, Basel, Switzerland). Apolipoproteins A1 and B were assayed by immunoturbidimetry on the same analyzer. C-reactive protein was determined on a Nephometer II (Dade Behring, Germany), and homocysteine was measured on an Immulite 2000 analyzer (DPC, USA).

Statistical analysis. Results are presented as the mean $\pm$ SD. Data were analyzed by Student's T-test or Mann-Whitney's U-test to evaluate differences between SLE and controls. ANOVA (with Bonferroni's test) or Kruskal-Wallis' non-parametric test (with Dunn's test) were used to identify differences between three groups. Comparisons between proportions were

calculated using Fisher's exact test. Correlations between numeric variables were calculated using Spearman's rank correlation test. Statistical significance was set as $p < 0.05$.

RESULTS

The distribution of age (26.9 ± 6.0 vs. 28.4 ± 5.0 years, $p=0.33$), white race (86.5% vs. 92.0%, $p=0.69$), weight (59.8 ± 10.6 vs. 60.2 ± 11.2 kg, $p=0.89$), height (1.62 ± 0.08 vs. 1.63 ± 0.07 , $p=0.68$), and body mass index (BMI) (22.7 ± 3.4 vs. 22.6 ± 3.7 kg/m², $p=0.91$) was similar in SLE patients and controls, as shown in Table 1. SLE patients had mean disease duration of 39.3 ± 26.0 months with mean current and cumulative prednisone doses of 20.0 ± 20.1 mg/d and 19.4 ± 12.9 g, respectively. At the time of the study, 75.7% of SLE patients were on corticosteroid use and 86.5% were on antimalarials (Table 1).

Pulse wave velocity (PWV) was significantly lower in SLE group compared to controls (7.52 ± 1.14 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p=0.04$) (Table 2). In contrast, no significant differences were detected in all echo-tracking parameters among groups, such as diastolic diameter ($p=0.95$), intima-media thickness ($p=0.43$), distensibility coefficient ($p=0.84$), compliance coefficient ($p=0.73$), and elastic incremental modulus ($p=0.63$). In addition, no significant differences were found in systolic blood pressure ($p=0.18$) and heart rate ($p=0.07$) between groups. On the contrary, diastolic blood pressure was higher in SLE patients compared to controls ($p=0.009$) (Table 2). Moreover, apolipoprotein A1 levels were lower in SLE compared to controls (148.9 ± 26.4 vs. 170.5 ± 30.5 mg/dl, $p=0.005$) but no significant differences were detected among groups regarding all the other lipoproteins, CRP, and homocysteine levels (Table 2).

Influence of disease activity in pulse wave velocity (PWV) and echo-tracking

In order to evaluate the influence of disease activity in PWV and echo-tracking, SLE patients were further divided in active and inactive disease (SLEDAI $\geq$ 4 and SLEDAI<4, respectively) and compared to controls. As demonstrated in Table 3, no significant differences among groups were found concerning age ($p=0.13$) and BMI ($p=0.99$). As expected, SLE patients with active disease had higher levels of SLEDAI compared to those with inactive disease (9.67 ± 5.31 vs. 0.52 ± 0.87 , $p<0.001$), and also higher current doses and frequency of prednisone use (35.8 ± 19.8 vs. 12.1 ± 15.2 mg/d and 100% vs. 65.4%; $p=0.001$ and $p=0.036$, respectively), but no differences were found concerning cumulative prednisone dose (17.0 ± 12.1 g vs. 20.4 ± 13.4 , $p=0.49$), disease duration (26.3 ± 20.2 vs. 44.8 ± 26.6 months, $p=0.06$), and frequency of antimalarial use at the time of the study (81.8% vs. 88.5%, $p=0.62$).

Interestingly, a significant difference was found in PWV among studied groups ($p=0.01$) (Table 3). SLE patients with active disease had lower PWV levels compared to controls (6.89 ± 1.00 vs. 8.14 ± 1.07 m/s, $p<0.05$) and also to inactive SLE patients (6.89 ± 1.00 vs. 7.79 ± 1.10 m/s, $p<0.05$). In contrast, PWV was similar in inactive SLE patients and controls ($p>0.05$).

On the other hand, common carotid echo-tracking parameters were no different among groups since similar mean values of diastolic diameter ($p=0.34$), intima-media thickness ($p=0.50$), distensibility coefficient ($p=0.98$),

compliance coefficient ($p=0.74$) and elastic incremental modulus ($p=0.87$) were detected (Table 3). In addition, no differences were found between groups concerning systolic blood pressure ($p=0.19$) and heart rate ($p=0.14$) (Table 3). In contrast, mean diastolic blood pressure was different among groups ($p=0.02$) and was significantly higher in active SLE ($SLEDAI \geq 4$) compared to controls (73.8 ± 16.9 vs. 64.3 ± 8.4 mmHg, $p<0.05$) but not compared to inactive SLE patients ($p>0.05$).

As shown in Table 3, active SLE patients ($SLEDAI \geq 4$) had higher levels of apolipoprotein B, total and LDL cholesterol levels compared to inactive SLE patients ($p<0.05$) and also higher levels of VLDL and triglycerides compared to SLE patients with $SLEDAI < 4$ ($p<0.05$) and controls ($p<0.05$). On the other hand, HDL levels were similar between SLE groups ($p>0.05$) as well as apolipoprotein A1 levels ($p>0.05$). In contrast, apolipoprotein A1 levels were lower in SLE patients with $SLEDAI \geq 4$ and $SLEDAI < 4$ compared to controls ($p<0.05$ and $p<0.05$, respectively). No differences among groups were found regarding CRP and homocysteine levels ($p>0.05$) (Table 3).

Association of PWV and echo-tracking with clinical and laboratorial parameters

Confirming the above findings, a negative significant correlation between PWV and SLEDAI was observed ($r=-0.354$, $p=0.03$) (Table 4). As expected, PWV did also positively correlated with increasing age ($r=0.452$,

$p=0.005$). In contrast, no significant correlations were found with systolic blood pressure ($r=0.169$, $p=0.32$), diastolic blood pressure ($r=0.286$, $p=0.09$), and BMI ($r=-0.059$, $p=0.73$). Moreover, disease duration ($r=0.073$, $p=0.67$), current prednisone dose ($r=-0.157$, $p=0.36$), and cumulative prednisone dose ($r=-0.016$, $p=0.93$) did not significantly correlated with PWV (Table 4).

As shown in Table 4, correlations of echo-tracking parameters showed that intima-media thickness (IMT) had a positive significant correlation with age ($r=0.328$, $p=0.04$) and a trend with disease duration ($r=0.306$, $p=0.06$). There was also a negative significant correlation between IMT and HDL ($r=-0.366$, $p=0.03$), as well as IMT and apolipoprotein A1 ($r=-0.407$, $p=0.01$). In contrast, no significant correlations were shown between IMT and SLEDAI ($r=-0.158$, $p=0.35$), current prednisone dose ($r=-0.235$, $p=0.17$) and cumulative prednisone dose ($r=0.216$, $p=0.21$). There were no further correlations between IMT and other laboratorial parameters, as shown in Table 4.

Distensibility coefficient (DC), compliance coefficient (CC), and elastic incremental modulus (E_{inc}) did not significantly correlated with SLEDAI, disease duration, current prednisone dose, and cumulative prednisone dose ($p>0.05$, data not shown).

DISCUSSION

This is the first study that clearly shows that SLE activity promotes a striking reduction in arterial wall stiffness which is associated to the premature phase of atherosclerosis in the disease.

The great advantage of our study was to discriminate conditions known to increase atherosclerosis progression which was achieved by rigorous selection criteria. In this regard, age had to be limited in order to avoid its impact in arterial stiffness (30,31). For the same reason, patients with long disease duration were also excluded. Importantly, cardiovascular diseases, such as myocardial infarction, stroke, and thrombosis due to antiphospholipid syndrome were conditions that had to be eliminated in the selection. Moreover, most of the traditional risk factors such as hypertension, diabetes mellitus, obesity, menopause, and smoking were excluded (17). In addition, it is well-known that arterial hypertension affects stiffness and increases PWV (32). On the other hand, dyslipidemias were not excluded since SLE activity promotes specific changes in lipid profile (33).

Arterial stiffness is known to be closely related to the presence and severity of atherosclerosis. In fact, PWV is a noninvasive method that assesses vascular stiffness and thus the progression of atherosclerosis (34). In the present study, a striking reduction of PWV was observed in SLE and its activity seems to directly aggravate this finding. Indeed, the significant decrease in PWV values in SLE was negatively correlated with SLEDAI scores but not with disease duration and current prednisone doses.

Supporting this finding, previous studies demonstrated that low C3 levels in SLE patients were associated with decreased aortic stiffness (16,20). Other studies failed to identify any association of SLE activity and vascular stiffness measured by brachial-ankle PWV since most of lupus patients had low SLEDAI scores (17-19).

In fact, these previous studies in SLE had identified a predictable association between increased PWV with age, hypertension, and obesity, as well as the presence of menopause (16,17). In our study, a significant correlation was observed between PWV and increasing age despite the exclusion of older SLE patients. This finding also supports that young lupus patients have an expected arterial stiffness progression with ageing which is aggravated by the disease itself. In contrast, systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and BMI were not associated with PWV. Although a difference in DBP levels was observed herein between groups, none of the patients were hypertensive and DBP levels were within a normal range.

It has been described that aortic stiffness is affected by several mechanisms, including fibrosis, alterations in elastin fibers, calcifications and diffusion of macromolecules within the arterial wall which usually occur with ageing and are also exacerbated by cardiovascular risk factors (15). It is then possible that SLE itself directly affects these abnormalities determining the degree of arterial stiffness. In this regard, the observed reduction on aortic stiffness in active SLE may be explained by a greater inflammatory infiltration and foam cell formation that occurs in an initial phase of atherosclerosis (10).

On the other hand, it is well demonstrated that SLE patients have a considerable endothelial dysfunction (35-38), especially in the presence of cardiovascular complications (39). It has been shown that disease activity correlates positively with an increase in arterial flow-mediated dilation (FMD) (35) which is endothelium-dependent (40). This may also explain the reduced PWV observed herein since SLE activity may induce an increase in FMD, which is known to be inversely related to PWV (41).

Unfortunately, changes in stiffness were not closely related to vascular thickness in our study. In fact, no differences were observed in intima-media thickness (IMT) between groups and atherosclerotic plaques were not identified in any subjects. The relative lesser disease duration is a possible explanation for these findings since it may be necessary more than 10 years of SLE, even in young patients, to clearly identify atherosclerosis progression by non-invasive methods (42) including echo-tracking. In this study, IMT and age were closely related and a trend with disease duration was also observed, in the same ways that in another recent work (39). Interestingly, a previous study did not find differences in IMT between SLE and controls although arterial stiffness was associated to disease duration (43). Moreover, an association of age and disease duration with coronary artery calcification has also been demonstrated in SLE patients (44). It seems that age and SLE duration are important predictors in the development of atherosclerosis, including plaque formation (20,45-47).

Another contributing factor to be considered is the crucial role of HDL in vascular thickening during SLE. Both HDL and apolipoprotein A1 levels

were inversely related to IMT in our study. It should be emphasized that low HDL levels were identified in active disease (33) and the persistence of inflammation in the course of SLE should aggravate vascular thickness and stiffness. Additionally, a proinflammatory HDL was recently described in SLE which, despite of its levels, seems to be unable to prevent LDL oxidation and the recruitment of monocytes thus enhancing the inflammatory response in vessel walls (48).

This study clearly demonstrated that SLE activity indeed affects arterial stiffness leading to a striking reduction in PWV which reflects the initial phase of atherosclerosis. It also confirmed that SLE itself is a major atherosclerotic factor that progresses with ageing and longer disease duration. These findings reinforce that reaching optimal control of disease activity is essential to reduce the risk of further cardiovascular complications in lupus patients.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank Creusa Maria Roveri Dal Bó, MSc for performing the statistical analysis. We are indebted to Central Laboratory (HC-FMUSP) for performing the laboratorial analysis and to Francisca Souza and Margarete Vendramini (LIM-17 – FMUSP) for technical assistance.

REFERENCES

1. Steinberg AD, Klinman DM. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 1988; 14: 25-41.
2. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA Jr, Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 408-15.
3. Petri M. Detection of coronary artery disease and the role of traditional risk factors in the Hopkins Lupus Cohort. *Lupus* 2000; 9: 170-5.
4. Bruce IN. 'Not only...but also': factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 1492-502.
5. Doria A, Shoenfeld Y, Wu R, Gambari PF, Puato M, Ghirardello A, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1071-7.
6. Lee AB, Godfrey T, Rowley KG, Karschimkus CS, Dragicevic G, Romas E, et al. Traditional risk factor assessment does not capture the extent of cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus. *Intern Med J* 2006; 36: 237-43.
7. Frostegard J. Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1776-85.

8. McMahon M, Grossman J, Chen W, Hahn BH. Inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2006; 15: 59-69.
9. Szekanecz Z, Shoenfeld Y. Lupus and cardiovascular disease: the facts. *Lupus* 2006; 15: 3-10.
10. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
11. Blacher J, Asmar R, Djane S, London G, Safar M. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension* 1999; 33: 1111–7.
12. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001; 37: 1236–41.
13. Blacher J, Guerin A, Pannier B, Marchais S, Safar M, London G. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal failure. *Circulation* 1999; 99: 2434–9.
14. Blacher J, Safar ME, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Aortic pulse wave velocity index and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2003; 63: 1852-60.
15. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension* 2002; 39: 10-5.

16. Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald S, Tracy R, Kuller L, Manzi S. Vascular stiffness in women with systemic lupus erythematosus. *Hypertension* 2001; 37: 1075-82.
17. Tso TK, Huang WN, Huang HY, Chang CK. Association of brachial-ankle pulse wave velocity with cardiovascular risk factors in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2005; 14: 878-83.
18. Tso TK, Huang HY, Chang CK, Huang WN. A positive correlation between homocysteine and brachial-ankle pulse wave velocity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2006; 25: 285-90.
19. Tso TK, Huang WN, Huang HY, Chang CK. Relationship of plasma interleukin-18 concentrations to traditional and non-traditional cardiovascular risk factors in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2006; 45: 1148-53.
20. Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Pratt JE, Tracy RP, Kuller LH, et al. Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery and aorta in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 151-9.
21. Laurent S, Caviezel B, Beck L, Girerd X, Billaud E, Boutouyrie P, et al. Carotid artery distensibility and distending pressure in hypertensive humans. *Hypertension* 1994; 23: 878-83.
22. Alan S, Ulgen MS, Ozturk O, Alan B, Ozdemir L, Toprak N. Relation between coronary artery disease, risk factors and intima-media thickness of carotid artery, arterial distensibility, and stiffness index. *Angiology* 2003; 54: 261-7.

23. Brodzski J, Bengtsson C, Lanne T, Nived O, Sturfelt G, Marsal K. Abnormal mechanical properties of larger arteries in postmenopausal women with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 917-23.
24. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, Mcshane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-7.
25. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, and the committee on prognosis studies in SLE. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630-40.
26. Van Bortel LM, Duprez D, Starmans-Kool MJ, Safar ME, Giannattasio C, Cockcroft J, et al. Clinical applications for arterial stiffness, Task Force III: recommendations for user procedures. *Am J Hypertens* 2002; 15: 445-52.
27. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension* 1995; 26: 485-90.
28. Hoeks APS, Brands PJ, Smeets GAM, Reneman RS. Assessment of the distensibility of superficial arteries. *Ultrasound Med Biol* 1990; 16: 121-8.
29. Hoeks APS, Williekes C, Boutouyrie P, Brands PJ, Willigers JM, Reneman RS. Automated detection of local artery wall thickness based on M-line signal processing. *Ultrasound Med Biol* 1997; 23: 1017-23.
30. Benetos A, Waeber B, Izzo J, Mitchell G, Resnick L, Asmar R, et al. Influence of age, risk factors, and cardiovascular and renal disease on arterial stiffness: clinical applications. *Am J Hypertens* 2002; 15: 1101-8.

31. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, et al. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2004; 43: 1239-45.
32. Hashimoto J, Chonan K, Aoki Y, Nishimura T, Ohkubo T, Hozawa A, et al. Pulse wave velocity and the second derivative of the finger photoplethysmogram in treated hypertensive patients: their relationship and associating factors. *J Hypertens* 2002; 20: 2415-22.
33. Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997; 6: 533-9.
34. Van Popele NM, Grobbee DE, Bots ML, Asmar R, Topouchian J, Reneman RS, et al. Association between arterial stiffness and atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Stroke* 2001; 32: 454-60.
35. El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y, Durrington PN, Mackness M, Walker M, et al. Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women. *Circulation* 2004; 110: 399-404.
36. Lima DS, Sato EI, Lima VC, Miranda F Jr, Hatta FH. Brachial endothelial function is impaired in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002; 29: 292-7.
37. Karadag O, Calguneri M, Atalar E, Yavuz B, Akdogan A, Kalyoncu U, et al. Novel cardiovascular risk factors and cardiac event predictors in female inactive systemic lupus erythematosus patients. *Clin Rheumatol* 2006 Aug 15; epub ahead of print.

38. Wright SA, O'Prey FM, Rea DJ, Plumb RD, Gamble AJ, Leahey WJ, et al. Microcirculatory hemodynamics and endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2281-7.
39. Kiss E, Soltesz P, Der H, Kocsis Z, Tarr T, Bhattoa H, et al. Reduced flow-mediated vasodilation as a marker for cardiovascular complications in lupus patients. *J Autoimmun* 2006 Nov 3; epub ahead of print.
40. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol* 2002; 90: 40L-8L.
41. Kobayashi K, Akishita M, Yu W, Hashimoto M, Ohni M, Toba K. Interrelationship between non-invasive measurements of atherosclerosis: flow-mediated dilation of brachial artery, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity. *Atherosclerosis* 2004; 173: 13-8.
42. Soep JB, Mietus-Snyder M, Malloy MJ, Witztum JL, Von Scheven E. Assessment of atherosclerotic risk factors and endothelial function in children and young adults with pediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 51: 451-7.
43. Roman MJ, Devereux RB, Schwartz JE, Lockshin MD, Paget SA, Davis A, et al. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. *Hypertension* 2005; 46: 194-9.
44. Von Feldt JM, Scalzi LV, Cucchiara AJ, Morthala S, Kealey C, Flagg SD, et al. Homocysteine levels and disease duration independently correlate with coronary artery calcification in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2220-7.

45. Wolak T, Todosoui E, Szendro G, Bolotin A, Jonathan BS, Flusser D, et al. Duplex study of the carotid and femoral arteries of patients with systemic lupus erythematosus: a controlled study. *J Rheumatol* 2004; 31: 909-14.
46. Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Rairie JE, Tracy RP, et al. Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 51-60.
47. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantoy R, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 2399-406.
48. McMahon M, Grossman J, Fitzgerald J, Dahlin-Lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2541-9.

Table 1: Demographics of SLE and control groups.

	SLE (n=37)	Control (n=25)	p
Age (years)	26.9 ± 6.0	28.4 ± 5.0	0.33
White race (%)	86.5	92.0	0.69
Weight (kg)	59.8 ± 10.6	60.2 ± 11.2	0.89
Height (m)	1.62 ± 0.08	1.63 ± 0.07	0.68
Body mass index (kg/m ²)	22.7 ± 3.4	22.6 ± 3.7	0.91
Disease duration (months)	39.3 ± 26.0	-	-
Current prednisone dose (mg/d)	20.0 ± 20.1	-	-
Cumulative prednisone dose (g)	19.4 ± 12.9	-	-
Corticosteroid use (%)	75.7	-	-
Antimalarial use (%)	86.5	-	-
Values are expressed in mean ± SD or percentage.			

Table 2: Pulse wave velocity, echo-tracking features, hemodynamic and laboratorial parameters of SLE and control groups.

	SLE (n=37)	Control (n=25)	p
Pulse wave velocity (m/s)	7.52 ± 1.14	8.14 ± 1.07	0.04
Systolic blood pressure (mmHg)	109.3 ± 15.0	105.2 ± 8.4	0.18
Diastolic blood pressure (mmHg)	71.5 ± 11.5	64.3 ± 8.4	0.009
Heart rate (bpm)	81.9 ± 10.7	76.9 ± 10.4	0.07
Common carotid diastolic diameter (µm)	6102 ± 644	6112 ± 570	0.95
Intima-media thickness (µm)	554 ± 78	537 ± 91	0.43
Distensibility coefficient (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	32.9 ± 9.3	32.4 ± 10.3	0.84
Compliance coefficient (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	9.62 ± 3.16	9.35 ± 2.74	0.73
Elastic incremental modulus (kPa.10 ³)	0.92 ± 0.34	0.96 ± 0.30	0.63
Total cholesterol (mg/dl)	174.4 ± 42.0	186.8 ± 33.5	0.23
HDL (mg/dl)	64.4 ± 15.0	70.0 ± 13.1	0.13
LDL (mg/dl)	88.1 ± 32.3	99.2 ± 29.0	0.18
VLDL (mg/dl)	22.0 ± 11.6	17.6 ± 7.9	0.08
Triglycerides (mg/dl)	109.9 ± 58.3	88.3 ± 39.8	0.09
Apolipoprotein A1 (mg/dl)	148.9 ± 26.4	170.5 ± 30.5	0.005
Apolipoprotein B (mg/dl)	83.9 ± 28.9	81.0 ± 18.5	0.63
Homocysteine (µmol/ml)	8.30 ± 2.54	8.39 ± 4.18	0.75
C-reactive protein (mg/l)	6.33 ± 20.7	4.02 ± 5.53	0.33

Values are expressed in mean ± SD.

Table 3: Age, body mass index, pulse wave velocity, echo-tracking features, and hemodynamic and laboratorial parameters in SLE groups with active (SLEDAI $\geq$ 4) and inactive disease (SLEDAI<4) and controls.

	SLEDAI $\geq$ 4 (n=11)	SLEDAI<4 (n=26)	Control (n=25)	p
Age (years)	24.5 $\pm$ 5.8	28.0 $\pm$ 5.8	28.3 $\pm$ 5.0	0.13
Body mass index (kg/m ²)	22.8 $\pm$ 3.3	22.7 $\pm$ 3.6	22.6 $\pm$ 3.7	0.99
Pulse wave velocity (m/s)	6.89 $\pm$ 1.00 ^{*†}	7.79 $\pm$ 1.10	8.14 $\pm$ 1.07	0.01
Carotid diastolic diameter (μ m)	6331 $\pm$ 645	6005 $\pm$ 631	6112 $\pm$ 570	0.34
Intima-media thickness (μ m)	536 $\pm$ 52	562 $\pm$ 86	537 $\pm$ 91	0.50
Distensibility coefficient (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	32.9 $\pm$ 10.3	32.9 $\pm$ 9.0	32.4 $\pm$ 10.3	0.98
Compliance coefficient (kPa ⁻¹ .10 ⁻³)	10.15 $\pm$ 2.83	9.39 $\pm$ 3.32	9.35 $\pm$ 2.74	0.74
Elastic incremental modulus (kPa.10 ³)	0.94 $\pm$ 0.30	0.91 $\pm$ 0.37	0.96 $\pm$ 0.30	0.87
Systolic blood pressure (mmHg)	113.6 $\pm$ 21.9	107.4 $\pm$ 10.9	105.2 $\pm$ 8.4	0.19
Diastolic blood pressure (mmHg)	73.8 $\pm$ 16.9 [†]	70.5 $\pm$ 8.5	64.3 $\pm$ 8.4	0.02
Heart rate (bpm)	84.3 $\pm$ 12.4	81.0 $\pm$ 10.1	76.9 $\pm$ 10.4	0.14
Total cholesterol (mg/dl)	204.1 $\pm$ 50.4 [*]	160.2 $\pm$ 28.8 [†]	186.8 $\pm$ 33.5	0.002
HDL (mg/dl)	63.8 $\pm$ 12.4	64.6 $\pm$ 16.3	70.0 $\pm$ 13.1	0.33
LDL (mg/dl)	110.6 $\pm$ 43.0 [*]	77.2 $\pm$ 18.6 [†]	99.2 $\pm$ 29.0	0.002
VLDL (mg/dl)	29.7 $\pm$ 14.9 ^{*†}	18.3 $\pm$ 7.5	17.6 $\pm$ 7.9	0.001
Triglycerides (mg/dl)	148.3 $\pm$ 75.2 ^{*†}	91.4 $\pm$ 37.5	88.3 $\pm$ 39.8	0.001
Apolipoprotein A1 (mg/dl)	152.7 $\pm$ 25.0 [†]	147.1 $\pm$ 27.4 [†]	170.5 $\pm$ 30.5	0.016
Apolipoprotein B (mg/dl)	106.7 $\pm$ 37.8 ^{*†}	73.0 $\pm$ 14.7	81.0 $\pm$ 18.5	<0.001
Homocysteine (μ mol/ml)	9.88 $\pm$ 3.16	7.54 $\pm$ 1.81	8.39 $\pm$ 4.18	0.09
C-reactive protein (mg/l)	12.06 $\pm$ 35.01	3.58 $\pm$ 7.73	4.02 $\pm$ 5.53	0.49
SLEDAI	9.67 $\pm$ 5.31	0.52 $\pm$ 0.87	-	<0.001

Values are expressed in mean $\pm$ SD or percentage. SLEDAI = SLE Disease Activity Index.

† p<0.05 vs. controls.

* p<0.05 vs. SLEDAI<4.

Table 4: Correlations among pulse wave velocity (PWV) and intima-media thickness (IMT) with age, body mass index, blood pressure, laboratorial parameters, SLEDAI, disease duration, current, and cumulative prednisone doses.

	PWV		IMT	
	r	p	r	p
Age	0.452	0.005	0.328	0.04
Body mass index	-0.059	0.73	-0.017	0.92
Systolic blood pressure	0.169	0.32	-0.114	0.50
Diastolic blood pressure	0.286	0.09	0.064	0.71
Disease duration	0.073	0.67	0.306	0.06
Current prednisone dose	-0.157	0.36	-0.235	0.17
Cumulative prednisone dose	-0.016	0.93	0.216	0.21
Total cholesterol	-0.124	0.47	-0.228	0.18
HDL	-0.061	0.72	-0.366	0.03
LDL	-0.087	0.61	-0.090	0.59
VLDL	-0.128	0.45	-0.100	0.56
Triglycerides	-0.128	0.45	-0.100	0.56
Apolipoprotein A1	-0.040	0.81	-0.407	0.01
Apolipoprotein B	-0.145	0.39	-0.158	0.35
Homocysteine	0.043	0.80	-0.109	0.52
C-reactive protein	-0.069	0.69	0.149	0.38
SLEDAI	-0.354	0.03	-0.158	0.35

SLEDAI = SLE Disease Activity Index.