JÚLIO CÉSAR BERTACINI DE MORAES

Efeito da inflamação no peptídeo natriurético atrial (NT-proBNP) em pacientes com espondilite anquilosante ativa durante terapia anti-TNF

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

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes e Infecciosos

Orientadora: Profª. Drª. Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá

SÃO PAULO
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Moraes, Júlio César Bertacini de
Efeito da inflamação no peptídeo natriurético atrial (NT-proBNP) em pacientes com espondilite anquilosante ativa durante terapia anti-TNF / Júlio César Bertacini de Moraes -- São Paulo, 2013.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Imunes e Infecciosos.
Orientadora: Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá

Descritores: 1.Espondilite anquilosante 2.Fator natriurético atrial 3.Inflamação 4.Fator de necrose tumoral alfa/antagonistas & inibidores 5.Infliximabe 6.Adalimumabe 7.Etanercepte 8.Proteína de fusão TNFR-Fc 9.Doenças cardiovasculares

USP/FM/DBD-289/13

“Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez.”

Thomas Edison

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese ao meu pai, José Carlos de Moraes (*in memoriam*), sempre um exemplo de amor, compaixão, desprendimento e humildade; maior incentivador do meu desenvolvimento e espelho de ser humano a ser seguido.

À minha mãe, Marina Emília Bertacini de Moraes, exemplo de amor e dedicação a família; seu amor pelos estudos mesmo sem ter tido as oportunidades que merecia sempre me impulsionou nos momentos de dificuldade.

À minha esposa Érica Midori, amor da minha vida, por todo apoio e dedicação, além da compreensão nos momentos de ausência que minha profissão proporciona. É minha inspiração de disciplina e determinação na busca dos objetivos.

Às minhas filhas, Luísa Mari e Elena Tiemi, maiores tesouros que ajudei a construir em minha vida, seus rostinhos risonhos e seu amor incondicional demonstrado em todos os momentos iluminam meu caminho a cada passo.

Às minhas irmãs Joice Carla, Jane Camila e Juliana Cristina, meus cunhados Caio e José Roberto e ao meu sobrinho Pedro Henrique por todo carinho e convivência.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profª. Drª. Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, pela confiança e paciência ao longo desse período. Por todas as oportunidades de crescimento pessoal e profissional, pelo carinho, apoio e incentivo incessantes, pelos tantos ensinamentos e orientações que foram fundamentais para formar o profissional que sou hoje. Todos os agradecimentos ainda seriam insuficientes para demonstrar minha real gratidão por seu papel no meu desenvolvimento profissional.

Aos meus queridos professores Dalva e Tetsuo que primeiro acreditaram em mim e proporcionaram as oportunidades iniciais, sem as quais não teria conseguido trilhar meu caminho.

Aos meus amigos do CEDMAC, em especial à Ana Cristina e à Carla que me acompanharam desde o início, por todo apoio, convivência e compartilhamento de todos os momentos, fossem bons ou difíceis.

Ao Prof. Dr. Clóvis Artur Almeida da Silva, pelo incentivo constante e transmissão da perseverança tão característica, ajudou a tornar mais leves momentos difíceis dessa caminhada.

Aos assistentes da Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, especialmente do Ambulatório de Espondiloartrites, Dr Célio Roberto Gonçalves, Drª. Cláudia Gondenstein Schainberg e Dr. Percival Degrava Sampaio-Barros pelo apoio, amizade e conhecimentos compartilhados.

À Profª. Drª. Eliana Parisi Alvares e à Profª Drª Patrícia Gama por plantar em mim o amor pela pesquisa e me ensinar que todos os passos são fundamentais para realização de um trabalho científico.

À todos os funcionários do CEDMAC, Equipe de Enfermagem e Secretárias, por todo apoio, auxílio e convivência no desenvolvimento desse projeto.

Ao Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, na pessoa do Dr. Alessandro Cavalcanti Lianza pela contribuição no desenvolvimento desse projeto.

Ao Laboratório de Investigação Médica da Reumatologia, nas pessoas da Dra. Vilma Viana Trindade e de Elaine Leon, pelo apoio e auxílio sempre que foi necessário.

Ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, na pessoa da Sra. Paschoalina Romano, pelo auxílio no desenvolvimento desse projeto.

Às secretárias da Reumatologia, Cláudia, Iná e Marta, por estarem sempre a disposição para o que fosse necessário.

A todos os pacientes, que tornaram possível este estudo e que são o motivo maior desta pesquisa.

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.*
Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2012.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas
Lista de tabelas
Resumo
Summary

1 INTRODUÇÃO 1

2 OBJETIVO 5

3 MÉTODOS 9
3.1 Pacientes 11
3.2 Desenho do Estudo 12
3.3 Avaliação dos Parâmetros Clínicos na EA.....12
3.4 Avaliação Laboratorial dos Parâmetros Inflamatórios.....13
3.5 Avaliação dos Fatores de Risco Cardiovascular.....13
3.6 Avaliação Laboratorial do NT-proBNP 13
3.7 Avaliação Ecocardiográfica.....14
3.6 Análise Estatística.....15

4 RESULTADOS.....17
4.1 Características dos Pacientes no Início do Estudo 19
4.2 Fatores de Risco Cardiovasculares 21
4.3 Avaliação Clínica e Laboratorial Prospectiva 21
4.4 Avaliação Ecocardiográfica Convencional e por Doppler Tecidual 22
4.5 Avaliação Prospectiva das Concentrações de NT-proBNP 24

5 DISCUSSÃO 27

6 CONCLUSÕES 33

7 ANEXOS 37

8 REFERÊNCIAS.....45

9 APÊNDICE 51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINE	-	Anti-inflamatório não esteroidal
AR		Artrite Reumatoide
ASDAS		*Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*
ASQoL	-	*Ankylosing Spondylitis quality of life questionnaire*
BASDAI	-	*Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*
BASFI	-	*Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index*
DP	-	Desvio padrão
EA	-	Espondilite Anquilosante
IIQ	-	Intervalo interquartil
IL-6		Interleucina 6
NT-proBNP	-	Fragmento amino-terminal do pró-peptídeo natriurético tipo B
PCR	-	Proteina C reativa
TD	-	Tempo de desaceleração
TNF	-	Fator de necrose tumoral
TRIV	-	Tempo de relaxamento isovolumétrico
VE	-	Ventrículo esquerdo
VHS	-	Velocidade de hemossedimentação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação prospectiva dos parâmetros da doença e dos fatores de risco cardiovasculares tradicionais em 45 pacientes com espondilite anquilosante em uso de terapia anti-TNF 20

Tabela 2 - Avaliação ecocardiográfica longitudinal da função cardíaca diastólica em 45 pacientes com espondilite anquilosante ativa tratados com bloqueadores de TNF 23

Tabela 3 - Avaliação ecocardiográfica longitudinal da função cardíaca sistólica em 45 pacientes com espondilite anquilosante ativa tratados com bloqueadores de TNF..... 24

Tabela 4 - Comparação dos parâmetros de atividade de doença nos pacientes com espondilite anquilosante e valores altos ou normais de NT-proBNP no início do seguimento 25

RESUMO

Moraes JCB. *Efeito da inflamação no peptídeo natriurético atrial (NT-proBNP) em pacientes com espondilite anquilosante ativa durante terapia anti-TNF* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: O fragmento amino-terminal do pró-peptídeo natriurético do tipo B (NT-proBNP) é um forte marcador de doença cardiovascular com evidências recentes de que a inflamação também pode influenciar seus valores. A diferenciação dessa variável de confusão é de particular interesse nas doenças reumáticas. **Objetivos**: Avaliar o comportamento dos valores de NT-proBNP em pacientes com espondilite anquilosante (EA) pré e pós uso de bloqueadores de TNF para determinar a possível associação entre os valores de NT-proBNP e os parâmetros inflamatórios. **Métodos**: Quarenta e cinco pacientes consecutivos com EA sem evidência prévia ou atual de doença cardiovascular ou disfunção miocárdica sistólica e que eram elegíveis para terapia anti-TNF foram incluídos prospectivamente. Todos os pacientes receberam bloqueadores de TNF e foram avaliados para concentrações circulantes de NT-proBNP, parâmetros clínicos e laboratoriais de atividade de doença, fatores de risco cardiovasculares tradicionais e ecodopplercardiografia convencional e tecidual no momento da inclusão e após seis meses de tratamento. **Resultados**: No momento da inclusão, todos os pacientes tinham EA ativa, os valores de NT-proBNP tinham uma mediana de 36 (20-72) pg/mL e 11% dos valores estavam altos mesmo na ausência de alteração miocárdica sistólica. A análise de regressão linear múltipla revelou que esse peptídeo estava independentemente correlacionado com o VHS ($p < 0,001$), com a idade dos pacientes ($p = 0,01$) e com a pressão de pulso ($p = 0,01$) no momento da inclusão. Após seis meses, todos os parâmetros relacionados a doença de base melhoraram e os valores de NT-proBNP se reduziram significativamente [24 (16-47) pg/mL,

p = 0,037] quando comparados com os valores do momento da inclusão. As mudanças nos valores de NT-proBNP correlacionaram-se positivamente com as mudanças nos valores do VHS (r = 0,41, p = 0.006). Os fatores de risco cardiovasculares avaliados permaneceram estáveis durante o seguimento. **Conclusão:** As elevações nos valores de NT-proBNP devem ser interpretadas com cuidado nos pacientes com EA ativa e sem evidência de doença cardiovascular. A redução no curto prazo dos valores de NT-proBNP nesses pacientes recebendo terapia anti-TNF parece refletir uma melhora do estado inflamatório.

Descritores: Espondilite anquilosante. Fator natriurético atrial. Inflamação. Fator de necrose tumoral alfa/antagonistas & inibidores. Infliximabe. Adalimumabe. Etanercepte. Proteína de fusão TNFR-Fc. Doenças cardiovasculares.

SUMMARY

Moraes JCB. Effect of inflammation on atrial natriuretic peptide (NT-proBNP) levels in active ankylosing spondylitis patients receiving anti-TNF therapy. [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introduction: N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) is a strong marker of cardiovascular disease with recent evidence that inflammation may also influence its levels; discrimination of this confounding variable is of particular interest in rheumatic diseases. **Objectives**: to evaluate NT-proBNP in ankylosing spondylitis (AS) patients pre- and post-TNF blocker to determine the possible association between NT-proBNP levels and inflammatory parameters. **Methods**: Forty-five consecutive AS patients without previous/current cardiovascular disease or systolic myocardial dysfunction, who were eligible to anti-TNF therapy, were prospectively enrolled. All patients received TNF blockers and they were evaluated for circulating NT-proBNP levels, clinical and laboratory parameters of disease activity, traditional cardiovascular risk factors, and conventional and tissue Doppler imaging echocardiography at baseline (BL) and six months after (6M) treatment. **Results**: At BL, all patients had active AS, NT-proBNP levels had a median of 36 (20-72) pg/mL and 11% were high in spite of no systolic alteration. Multiple linear regression analysis revealed that this peptide, at BL, was independently correlated with ESR ($p < 0.001$), age ($p = 0.01$) and pulse pressure ($p = 0.01$). After 6M, all disease parameters improved and NT-proBNP levels were significantly reduced [24 (16-47) pg/mL, $p = 0.037$] compared to BL. Changes in NT-proBNP were positively correlated with ESR changes ($r = 0.41$, $p = 0.006$). Cardiovascular risk factors remained stable during follow-up. **Conclusion:** our data suggests that elevations of NT-proBNP should be interpreted with caution in active AS

patients with no other evidence of cardiovascular disease. The short-term reduction of NT-proBNP levels in these patients receiving anti-TNF therapy appears to reflect an improvement in inflammatory status.

Descriptors: Spondylitis ankylosing. Atrial natriuretic factor. Inflammation. Tumor necrosis factor-alpha/antagonists & inhibitors. Infliximab. Adalimumab. Etanercept. TNFR-FC fusion protein. Cardiovascular diseases.

1

INTRODUÇÃO

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença inflamatória crônica de etiologia desconhecida que acomete principalmente as articulações sacroilíacas, a coluna vertebral e as ênteses, além de articulações periféricas em uma parte dos pacientes. Outros órgãos podem ser acometidos durante o curso da doença incluindo olhos, pele, trato gastrointestinal e coração[1].

As alterações cardíacas clássicas da EA incluem acometimento da valva aórtica e da raiz da aorta, defeitos no sistema de condução, pericardite, miocardiopatia e acometimento da valva mitral[1].

Na literatura há dados que demonstram um excesso de mortalidade cardiovascular na EA da ordem de 20 a 40%, no entanto este aumento não é explicado completamente pelos fatores de risco tradicionais[1-3]. Mediadores inflamatórios, como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina 6 (IL-6), podem ser subjacentes a esse processo por afetar a função das células endoteliais[4,5].

O fragmento amino-terminal do pró-peptídeo natriurético do tipo B (NT-proBNP) é um hormônio contrarregulatório envolvido na homeostase do volume circulante, no remodelamento cardiovascular e está associado com o aumento do risco de morte e eventos cardiovasculares na população geral[6]. Nas doenças reumáticas o NT-proBNP já foi demonstrado como um preditor independente de mortalidade em 10 anos na artrite reumatoide (AR)[7].

Na AR, um robusto corpo de evidências sugere que os agentes anti-TNF seriam capazes de reduzir esse aumento de risco cardiovascular. Um estudo avaliando os valores de NT-proBNP em pacientes com AR sugere que esses pacientes podem experimentar um declínio no risco cardiovascular pelo uso de bloqueadores de TNF[8].

Nessa mesma linha, um estudo recente sugere que o NT-proBNP está possivelmente correlacionado com marcadores inflamatórios e atividade de doença na AR; entretanto a inclusão de pacientes com doença cardiovascular prévia dificulta a interpretação desses achados[9]. Alternativamente, a presença de inflamação pode ser considerada uma causa não cardíaca para a elevação de valores de NT-proBNP observada na AR, essa afirmação é amparada por estudos *in vitro*[10, 11].

O TNF também é uma citocina crucial na fisiopatologia da EA e a terapia anti-TNF vem sendo amplamente utilizada nessa doença[1]. Entretanto, não existem dados disponíveis na literatura com relação às concentrações de NT-proBNP na EA ativa e a possível influência do controle da inflamação pelo bloqueio do TNF nesses valores.

2

OBJETIVOS

a) Avaliação prospectiva das concentrações de NT-proBNP em pacientes com EA ativa, sem evidência clínica ou ecocardiográfica de disfunção miocárdica sistólica, pré e pós-bloqueio do TNF.

b) Avaliação da relação entre os valores de NT-proBNP e os marcadores inflamatórios em pacientes com EA ativa durante terapia anti-TNF.

3

MÉTODOS

3.1 Pacientes

Foram incluídos 45 pacientes consecutivos com EA ativa em seguimento no Ambulatório de Espondiloartrites do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, encaminhados ao Centro de Infusão para iniciar tratamento com inibidores de TNF. Todos os pacientes preenchiam os critérios de Nova Iorque modificados para o diagnóstico de EA[12]. Os pacientes foram avaliados no início do estudo e após seis meses do início da terapia com bloqueadores de TNF (30 Infliximabe, 13 Adalimumabe e dois Etanercepte) em doses preconizadas.

Os critérios de inclusão foram pacientes com EA e doença ativa [*Bath AS Disease Activity Index* (BASDAI) ≥ 4 e/ou parâmetros inflamatórios elevados], refratários a medicamentos anti-inflamatórios e medicações antirreumáticas modificadoras de doenças e que foram encaminhados para iniciar a terapia anti-TNF.

Os critérios de exclusão foram história prévia ou atual de insuficiência cardíaca, arritmia cardíaca, doença coronária, idade maior que 70 anos, valor de creatinina > 1,5 mg/dL, alteração valvar cardíaca ou pressão arterial maior que 160x100 mmHg.

O uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINE) e de medicações antirreumáticas modificadoras da doença (sulfassalazina/metotrexato) foi mantido estável durante todo o estudo.

3.2 Desenho do Estudo

Os pacientes foram avaliados prospectivamente no momento da inclusão e seis meses após o início da terapia anti-TNF. A análise longitudinal das concentrações de NT-proBNP, da avaliação ecocardiográfica, dos marcadores inflamatórios e dos parâmetros clínicos foi realizada com os dados colhidos no início do estudo e seis meses após o tratamento.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local [Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (Cappesq), processo número 1252/07] da Universidade de São Paulo. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento informado de acordo com a Declaração de Helsinki (Anexos A e B).

3.3 Avaliação dos Parâmetros Clínicos na EA

As medidas clínicas preconizadas para EA incluindo BASDAI, *Bath AS Functional Index* (BASFI), *Bath AS Metrology Index* (BASMI) e *AS quality of life questionnaire* (ASQoL) foram avaliadas no início do estudo e seis meses após de acordo com as recomendações para o seguimento de pacientes com EA. Posteriormente com os dados de prontuário também foram calculados os valores do *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score* (ASDAS) utilizando a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a proteína C reativa (PCR) nos momentos de início do tratamento e seis meses após[13-14].

3.4 Avaliação Laboratorial dos Parâmetros Inflamatórios

A atividade inflamatória laboratorial foi avaliada pela realização VHS em mm/h pelo método de Westergren automatizado, e pela dosagem da PCR em mg/L por imunoturbidimetria.

3.5 Avaliação dos Fatores de Risco Cardiovascular

A dislipidemia foi determinada de acordo com os critérios do *National Cholesterol Education Program* (NCEP)[15]. A hipertensão arterial sistêmica foi definida como uma pressão arterial maior ou igual a 140/90 mmHg ou pelo uso de anti-hipertensivos. O valor de glicose de jejum ≥ 7 mmol/L ou o uso de medicações hipoglicemiantes definiu a presença de diabetes. Tabagismo foi caracterizado em tabagistas atuais e não-tabagistas. O índice de massa corpórea (IMC) foi calculado pela fórmula peso corpóreo dividido pelo quadrado da altura. A circunferência abdominal também foi aferida (valores normais até 102 cm para homens e até 88 cm para mulheres).

3.6 Avaliação Laboratorial do NT-proBNP

As amostras de plasma foram coletadas de todos os pacientes imediatamente antes da aplicação do bloqueador de TNF no início do tratamento e seis meses após. Todas as amostras foram centrifugadas e congeladas em nitrogenio líquido imediatamente após a coleta e, em seguida, foram armazenadas à -80°C para posterior análise. As concentrações plasmáticas de NT-proBNP foram determinadas pelo método

de imunoensaio por eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) por um técnico cego para as características clínicas dos pacientes. O coeficiente de variação foi de 1,4% e o valor de corte foi determinado em ≥ 100 pg/mL para valores elevados.

3.7 Avaliação Ecocardiográfica

O estudo ecocardiográfico foi realizado usando o aparelho GE Vingmed System Vivid-3 Expert machine (GE medical system, Wauwatosa, WI, USA) e um transdutor eletrônico de 2.5-MHz. Todas as avaliações foram realizadas por um ecocardiografista experiente e cego para os demais parâmetros, com o paciente na posição supina. Foram realizados o modo M e as imagens em duas dimensões seguidos pelas imagens captadas com Doppler convencional e tecidual. Foram seguidas as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SAE) para determinação dos valores normais das medidas diastólicas derivadas do Doppler de acordo com a idade[16]. Eletrocardiograma de repouso foi realizado logo antes da ecocardiografia para todos os indivíduos.

3.6 Análise Estatística

Os resultados estão apresentados como percentagem para as variáveis categóricas. Com relação às variáveis contínuas, todos os valores foram expressos como média (DP) para variáveis com distribuição normal ou mediana e intervalo interquartil (IIQ) para variáveis com distribuição não-normal. As correlações entre NT-proBNP, EA e variáveis cardiovasculares no momento inicial foram calculadas usando o teste de Spearman. O teste de Mann-Whitney ou o teste t foram utilizados para observar diferenças entre os pacientes com valores de NT-proBNP normais e altos no momento inicial. Teste t pareado ou teste de Wilcoxon foram usados apropriadamente para observar as diferenças entre as medidas no momento inicial e com seis meses de tratamento. O teste exato de Fisher foi utilizado para comparação de variáveis categóricas. A análise de regressão linear múltipla foi realizada utilizando as variáveis que exibiram associação estatisticamente significante com o NT-proBNP. Foram incluídas as seguintes variáveis nessa análise: idade, gênero, VHS e pressão de pulso. Análises semelhantes foram realizadas para avaliar a correlação entre as variações nos valores de NT-proBNP e as variações nos parâmetros inflamatórios e de atividade de doença. Significância estatística foi estabelecida com valores de $p < 0,05$.

4

RESULTADOS

4.1 Características dos Pacientes no Início do Estudo

No início do estudo os pacientes apresentavam uma média de idade (DP) de 37,1 (12) anos; 73,3% eram do sexo masculino; tinham um tempo de doença de 11,6 (9) anos e 51,1% apresentavam acometimento periférico. Todos os pacientes estavam em uso de AINE e 24% recebendo prednisona. Todos os pacientes apresentavam doença ativa no momento da inclusão com média (DP) de BASDAI de 5,1 (2,2); ASDAS-PCR de 3,6 (1,1); ASDAS-VHS de 3,0 (1,1) e mediana (IIQ) de PCR de 18,6 (8,8-40,8) mg/L e VHS de 15,5 (9-30,5) mm/h (Tabela 1).

Tabela 1 - Avaliação prospectiva dos parâmetros da doença e dos fatores de risco cardiovasculares tradicionais em 45 pacientes com espondilite anquilosante em uso de terapia anti-TNF

	Início	6 meses	p
Idade (anos)	37,1 (12)	-	-
Sexo masculino (%)	73,3	-	-
Tempo de doença (anos)	11,6 (9)	-	-
Acometimento periférico (%)	51,1	-	-
AINE (%)	100	100	1,0
Prednisona (%)	24	11	0,17
BASDAI	5,1 (2,2)	3,0 (2,6)	< 0,001
ASDAS-PCR	3,6 (1,1)	1,9 (1,1)	< 0,001
ASDAS-VHS	3,0 (1,1)	1,7 (1,1)	< 0,001
BASFI	5,3 (2,5)	3,5 (2,9)	< 0,001
ASQoL	11,5 (6-14)	5,0 (2-12)	0,01
PCR (mg/L)	18,6 (8,8-40,8)	2,6 (0,9-5,8)	< 0,001
VHS (mm/h)	15,5 (9-30,5)	5 (2-8)	< 0,001
NT-proBNP (pg/mL)	36 (20-72)	24 (16-47)	0,037
Disfunção ventricular diastólica (%)	28,9	40	0,37
Pressão sistólica (mmHg)	125 (114-134)	124 (110-135)	0,10
Pressão diastólica (mmHg)	75 (64-85)	73 (61,5-84,5)	0,21
Pressão de pulso (mmHg)	51,5 (12,5)	50,1 (11,2)	0,45
Índice de massa corpórea (kg/m^2)	25,9 (4,3)	26,1 (4,4)	0,15
Circunferência abdominal (cm)	89,1 (10,9)	89,5 (10,8)	0,87
Dislipidemia (%)	37,8	24,4	0,13

Dados apresentados como médias (DP) ou medianas (IIQ)
AINH = anti-inflamatórios não-hormonais; BASDAI = *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*; ASDAS = *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*; BASFI = *Bath Ankylosing Spondylitis Function Index*; ASQoL = *Ankylosing Spondylitis Quality of Life Score*; PCR = Proteína C-reativa; VHS = velocidade de hemossedimentação; NT-proBNP = fração amino-terminal do pró-peptídeo natriurético atrial do tipo B

4.2 Fatores de Risco Cardiovasculares

Os fatores de risco cardiovasculares avaliados permaneceram estáveis durante o período do estudo: pressão arterial sistólica 125 (114-134) mmHg *versus* 124 (110-135) mmHg, p = 0,10; pressão arterial diastólica 75 (64-85) mmHg *versus* 73 (61,5-81,5) mmHg, p = 0,21; IMC 25,9 (4,3) kg/m^2 *versus* 26,1 (4,4) kg/m^2, p = 0,15; circunferência abdominal 89,1 (10,9) cm *versus* 89,5(10,8) cm, p = 0,87; dislipidemia 37,8% *versus* 24,4%, p = 0,13 (Tabela 1). Diabetes estava diagnosticado em 4,4% dos pacientes e não houve novos casos ao longo do seguimento. Nenhum dos pacientes com espondilite anquilosante apresentou eventos clínicos cardiovasculares durante o período do estudo.

4.3 Avaliação Clínica e Laboratorial Prospectiva

O tratamento com anti-TNF induziu resposta clínica e laboratorial, como aferido pela melhora significante nos parâmetros de avaliação da doença aos seis meses de seguimento: BASDAI de 3,0 (2,6), p < 0,001; ASDAS-PCR de 1,9 (1,1), p < 0,001; ASDAS-VHS de 1,7 (1,1), p < 0,001; PCR de 2,6 (0,9-5,8) mg/L, p < 0,001 e VHS de 5 (2-8) mm/h, p < 0,001 (Tabela 1).

4.4 Avaliação Ecocardiográfica Convencional e por Doppler Tecidual

Nenhum dos pacientes avaliados apresentava disfunção ventricular sistólica na avaliação inicial e nenhuma diferença significativa foi identificada quando os valores da ecocardiografia convencional e tecidual foram comparados pré- e pós-tratamento ($p > 0,05$) (Tabela 2). Em relação a função sistólica ventricular, todos os parâmetros estavam dentro do intervalo de normalidade e permaneceram inalterados durante o período de seguimento, o mesmo foi observado nos estudos eletrocardiográficos (Tabela 3). A proporção de pacientes que apresentavam disfunção diastólica subclínica (grau I) permaneceu estável durante o período do estudo (Tabela 1). Em cinco pacientes houve o diagnóstico de disfunção diastólica ventricular grau 1 durante o acompanhamento, todos leves, apenas com alterações isoladas de velocidade de fluxo, sem qualquer outra alteração estrutural atrial concomitante e em todos, com exceção de um paciente, os valores de NT-proBNP baixaram durante o acompanhamento.

Tabela 2 - Avaliação ecocardiográfica longitudinal da função cardíaca diastólica em 45 pacientes com espondilite anquilosante ativa tratados com bloqueadores de TNF

	Início	6 meses	p
Doppler convencional			
Fluxo mitral			
E (m/s)	0,81 (0,18)	0,86 (0,17)	0,26
A (m/s)	0,59 (0,18)	0,60 (0,16)	0,82
E/A	1,45 (0,42)	1,51 (0,41)	0,56
TD (ms)	220,1 (43,0)	221,9 (41,6)	0,85
TRIV (ms)	90,1 (13,7)	86,4 (20,0)	0,33
Doppler tecidual			
Ânulo mitral			
E’ (m/s)	0,13 (0,04)	0,14 (0,04)	0,78
A’ (m/s)	0,08 (0,03)	0,08 (0,02)	0,71
S’ (m/s)	0,09 (0,02)	0,09 (0,02)	0,77
E’/A’	2,05 (1,12)	1,96 (0,93)	0,71
Septo			
E’ (m/s)	0,11 (0,03)	0,10 (0,03)	0,51
A’ (m/s)	0,08 (0,02)	0,08 (0,02)	0,70
S’ (m/s)	0,08 (0,01)	0,08 (0,02)	0,79
E’/A’	1,39 (0,50)	1,33 (0,52)	0,58
Ânulo tricúspide			
E’ (m/s)	0,14 (0,03)	0,14 (0,04)	0,80
A’ (m/s)	0,12 (0,04)	0,13 (0,04)	0,80
S’ (m/s)	0,13 (0,02)	0,13 (0,02)	0,36
E’/A’	1,24 (0,43)	1,21 (0,50)	0,81

Dados apresentados como médias (DP)
TD = tempo de desaceleração, TRIV = tempo de relaxamento isovolumétrico

Tabela 3 - Avaliação ecocardiográfica longitudinal da função cardíaca sistólica em 45 pacientes com espondilite anquilosante ativa tratados com bloqueadores de TNF

	Início	Seis meses	p
Diâmetro diastólico de VE (mm)	49,0 (4,0)	49,1 (3,1)	0,93
Diâmetro sistólico de VE (mm)	30,3(3,2)	30,3(3,3)	0,99
Septo (mm)	8,4 (1,3)	8,2 (1,4)	0,54
Parede lateral (mm)	8,4 (1,2)	8,4 (1,1)	0,83
Fração de ejeção de VE (%)	67,3 (5,7)	67,1 (6,4)	0,84

Dados apresentados como médias (DP)
VE= ventrículo esquerdo

4.5 Avaliação Prospectiva das Concentrações de NT-proBNP

Na avaliação inicial as concentrações de NT-proBNP estavam elevadas em cinco pacientes (11,1%). Na análise deste subgrupo, foram encontrados valores mais altos de ASDAS-PCR e de ASDAS-VHS, além de uma tendência para serem mais altos os valores de BASDAI, VHS e PCR nos paciente com valores elevados de NT-proBNP comparados a aqueles com valores normais (Tabela 4). Análises adicionais no grupo completo revelaram correlação positiva dos valores iniciais de NT-proBNP com VHS ($r = 0,46$, $p = 0,002$), idade ($r = 0,45$, $p = 0,002$), sexo feminino ($r = 0,39$, $p = 0,01$) e pressão de pulso ($r = 0,37$, $p = 0,01$). Após análise multivariada, VHS ($p < 0,001$), idade ($p = 0,02$) e pressão de pulso ($p = 0,03$) permaneceram independentemente associadas com as concentrações de NT-proBNP.

Tabela 4 - Comparação dos parâmetros de atividade de doença nos pacientes com espondilite anquilosante e valores altos ou normais de NT-proBNP no início do seguimento

	NT-proBNP ≥ 100pg/mL (n=5)	NT-proBNP < 100pg/mL (n=40)	p
BASDAI	6,7 (1,6)	4,9 (2,2)	0,08
ASDAS-PCR	4,7 (1,1)	3,4 (1,0)	0,01
ASDAS-VHS	4,4 (1,3)	2,8 (1,0)	0,002
PCR (mg/L)	53,8 (16,7-82,1)	18,4 (7,5-39,9)	0,09
VHS (mm/h)	53 (23,5-71,5)	15 (8-28)	0,06
NT-proBNP (pg/mL)	125 (105-186)	33 (17-54)	< 0,001

Dados apresentados como médias (DP) ou medianas (IIQ**)**
NT-proBNP = fração amino-terminal do pró-peptídeo natriurético atrial do tipo B; BASDAI = *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*; ASDAS = *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*; PCR = Proteína C-reativa; VHS = velocidade de hemossedimentação

A avaliação prospectiva demonstrou que os valores de NT-proBNP caíram significativamente no período do estudo (Tabela 1), caracterizando uma variação de -31,4% (-57,4% a 14,3%) na mediana dos valores de NT-proBNP. A concentração de NT-proBNP caiu em 30 pacientes (67%), desses, 25 pacientes (56%) apresentavam valores normais e cinco pacientes (11%) valores altos antes do tratamento. Neste ultimo grupo, quatro pacientes atingiram valores dentro do intervalo de normalidade aos seis meses de tratamento. A variação nos valores de NT-proBNP entre o inicio do tratamento e a avaliação de seis meses foi significativamente correlacionada com a variação no VHS no mesmo período (r = 0,41, p = 0,006), no entanto não foi encontrada correlação com as variações de PCR, BASDAI, ASDAS, pressão de pulso ou pressão arterial sistólica.

5

Discussão

De acordo com o nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo a demonstrar uma diminuição nos valores de NT-proBNP em pacientes com espondilite anquilosante ativa durante o tratamento com agentes anti-TNF e uma correlação longitudinal positiva entre as variações das concentrações de NT-proBNP e VHS nesses pacientes.

Alterações nas concentrações dos peptídeos natriuréticos são um excelente preditor de insuficiência cardíaca sistólica na população geral e em grupos com alto risco cardiovascular. Além disso, o NT-proBNP é considerado um fator de risco independente para mortalidade mesmo na ausência de disfunção cardíaca[6,16]. Nossos achados de que uma parcela dos pacientes com EA apresentava altas concentrações de NT-proBNP no início do tratamento sem sintomas clínicos cardiovasculares apontam para a presença de um possível risco ainda não reconhecido nessa população. A redução desse peptídeo induzida pela terapia anti-TNF também foi relatada em pacientes com AR sugerindo um potencial benefício desse grupo de drogas no risco cardiovascular[8].

A frequência de concentrações elevadas de NT-proBNP foi baixa conforme o esperado. Esse fato se justifica principalmente devido à média de idade inferior a 45 anos e a ausência de disfunção ventricular sistólica nessa população; características essas que foram essenciais para permitir a

diferenciação da influência da inflamação *per se*. Do mesmo modo, a manutenção do uso de AINE durante o estudo foi importante para excluir a possibilidade de melhora nas concentrações de NT-proBNP relacionada a um possível benefício cardiovascular decorrente da descontinuação do AINE. Ainda nessa linha, a redução observada no uso da prednisona durante o estudo não parece ser um fator relevante para variações nos valores do NT-proBNP visto que uma recente revisão mostrou que baixas doses de corticorteroides não tiveram efeito na disfunção cardíaca de pacientes com AR[18].

A avaliação ecocardiográfica longitudinal de todos os pacientes teve a vantagem de excluir a presença de disfunção miocárdica sistólica que é um conhecido parâmetro de confusão no estudo do NT-proBNP[10]. Além disso, a frequência dos fatores de risco cardiovasculares observados nessa população foi semelhante ao reportado previamente na literatura em pacientes com EA e os mesmos não sofreram alterações durante o período de seguimento[19]. Os poucos casos de disfunção diastólica ventricular subclínica diagnosticados durante o estudo foram leves e sem relação com um aumento paralelo das concentrações de NT-pro-BNP sugerindo uma relevância clínica limitada. Entretanto, recomenda-se uma vigilância para desfechos cardiovasculares no longo prazo para esses pacientes visto que o período de observação do presente estudo foi limitado.

O achado original de associação significante dos valores elevados de NT-proBNP em pacientes com EA com escores mais altos de atividade de doença sugere que a inflamação pode ser uma via alternativa que induz a

liberação de NT-proBNP, como relatado previamente em pacientes com AR[9]. Reforçando essa hipótese, pela primeira vez, foi identificada uma diminuição paralela das concentrações de NT-proBNP e dos valores de VHS nos pacientes com EA ativa durante terapia anti-TNF.

De fato, há evidência que citocinas pró-inflamatórias, como o TNF e a interleucina-1 (IL-1), podem estimular a produção de BNP na ausência de diminuição da função ventricular esquerda[20]. A administração de TNF e IL-1 induziu a secreção de BNP independentemente de influências hemodinâmicas em cultura de cardiócitos de ratos neonatos. Essas citocinas estimularam uma maior expressão gênica e atividade promotora em relação a secreção de BNP de forma seletiva e altamente significante[21]. Dando suporte a este conceito, foi demonstrado que a inflamação pode ser uma causa não-cardíaca de elevação do NT-proBNP em pacientes sem doença reumática e na ausência de insuficiência cardíaca[10]. A diminuição nas concentrações desse peptídeo com manutenção da função cardíaca inalterada no presente estudo reforça a afirmação acima; o controle do estado inflamatório pode ser capaz de reduzir as concentrações de NT-proBNP mesmo na ausência de melhora efetiva na disfunção diastólica ventricular.

O valor de corte para normalidade ≥100 pg/mL para o NT-proBNP foi usado devido a esse valor ter sido demonstrado significantemente relacionado a mortalidade, morbidade e eventos cardiovasculares[22,23]. Dessa maneira, a redução prospectiva das concentrações de NT-proBNP observada no presente estudo pode sugerir um potencial benefício

cardiovascular no longo prazo para os pacientes com EA ativa durante o uso de bloqueadores de TNF.

Uma limitação do presente estudo foi o tamanho da amostra de pacientes que pode ter prejudicado a identificação de uma associação significante do NT-proBNP com a melhora de outros escores de atividade de doença ou da PCR. Reforçando essa possibilidade também foi observada uma tendência a valores maiores de BASDAI, PCR e VHS nos pacientes com valores elevados de NT-proBNP.

Em conclusão, elevações nas concentrações de NT-proBNP devem ser interpretadas com cuidado em pacientes com EA ativa sem nenhuma evidência de doença cardiovascular. A redução no curto prazo dos valores de NT-proBNP nesses pacientes recebendo terapia anti-TNF parece refletir uma melhora no estado inflamatório. A relevância clínica desses achados precisa ser confirmada em estudos longitudinais maiores com tempo de seguimento mais longo.

6

Conclusões

a) As concentrações de NT-proBNP baixaram significantemente após seis meses de uso dos bloqueadores de TNF concomitantemente a melhora dos parâmetros inflamatórios e sem sinais ecocardiográficos de melhora da função ventricular.

b) No momento da introdução da terapia anti-TNF os pacientes com EA ativa e concentrações elevadas de NT-proBNP apresentaram marcadores de atividade de doença mais altos que os pacientes com EA ativa e concentrações normais de NT-proBNP.

c) O intervalo de variação das concentrações de NT-proBNP entre o início e seis meses de tratamento se correlacionou positivamente com o intervalo de variação do VHS no mesmo período.

7

ANEXOS

Anexo A - Aprovação Cappesq do Projeto de Pesquisa nº 1252/07

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

APROVAÇÃO

A 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, em sessão de 30/01/2008, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **1252/07**, intitulado: "**AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DA FUNÇÃO CARDÍACA E DO PAPEL DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO ATRIAL DO TIPO B E DA TROPONINA T EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE E ESPONDILITE ANQUILOSANTE PRÉ E PÓS TERAPIA ANTI-TNF**" apresentado pelo Departamento de **CLÍNICA MÉDICA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Jozélio Freire de Carvalho**

Pesquisadores Executantes: **Dr.Júlio Cesar Bertacini de Moraes, Dr. Alessandro Cavalcanti Lianza, Dra. Gabriela Nunes Leal, Dra. Ana Cristina de Medeiros, DraCarla Gonçalves, Profa. Dra. Eloisa Bonfá**

CAPPesq, 11 de Fevereiro de 2008

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 255, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo – SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

Anexo B - Termo de Consentimento Geral

Anexo I

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

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

1. NOME DO PACIENTE .:.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M Ž F Ž
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 Ž F Ž
DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE: .....
CEP: .....TELEFONE: DDD (.....) .....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Avaliação Prospectiva da Função Cardíaca e do papel do Peptídeo Natriurético Atrial tipo B e da Troponina T em Pacientes com Artrite Reumatoide e Espondilite Anquilosante Pré e Pós Terapia Anti-TNF**

PESQUISADOR: Profa. Dra. Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá

CARGO/FUNÇÃO: Professor Titular

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

UNIDADE DO HCFMUSP: Clínica Médica – Disciplina de Reumatologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO Ž RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO Ž RISCO BAIXO Ž RISCO MAIOR Ž

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4.DURAÇÃO DA PESQUISA: total 60 meses

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

1. justificativa e os objetivos da pesquisa – o(a) senhor(a) está sendo convidado(a) para participar de um protocolo de 5 anos de duração para estudar como a sua doença e várias substâncias do seu corpo se comportam antes, durante e após o tratamento com a(s) medicação(ões) que o(a) senhor(a) vai receber no Centro de Dispensação de Medicação de Alto Custo (CEDMAC) do Hospital das Clínicas da FMUSP. Durante esses 5 anos, vamos ver se a sua doença ficou controlada (ou seja, se o(a) senhor(a) não sente mais dores nem inchaço nas juntas), se apareceram deformidades ou se as juntas ficaram diferentes, se houve lesão das juntas ou do osso. Vamos estudar também se existiu(ram) alguma(s) característica(s) da sua doença ou de substâncias do seu sangue logo no começo do tratamento ou durante o tratamento, que mostrariam como seria a resposta dessa doença ao(s) tratamento(s) recebido(s) , ou seja, se seria uma doença boa de tratar ou não com esses medicamentos. Com isso poderemos tratar melhor as pessoas que tenham a mesma doença e indicar com mais precisão para outras pessoas o tipo de remédio que ele(a) veio receber aqui. Com isso, poderemos impedir que a doença se torne mais grave em outras pessoas.

2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais – o(a) senhor(a) será atendido(a) de acordo com a rotina do CEDMAC do Hospital das Clínicas da FMUSP. O médico responsável pelo tratamento continuará sendo o médico que o (a) encaminhou para receber o imunobiológico, ou seja, esse novo tratamento: ele checará os exames, orientará o tratamento e o acompanhará em caso de complicações. O(a) senhor(a) receberá esse novo tratamento na veia, ou seja, por infusão, ou então, embaixo da pele, por uma pequena injeção, o que chamamos de aplicação por via subcutânea (igual a uma aplicação de insulina em paciente com diabetes). No CEDMAC, será realizada contagem de articulações dolorosas (doídas) e edemaciadas (inchadas) e serão feitos questionários sobre a sua qualidade de vida e limitações pela doença. Serão colhidos exames de sangue antes e logo após cada infusão, ou antes da primeira aplicação subcutânea e em períodos 2 a 3 meses de intervalo. Esses exames necessitarão da coleta de um pouco de sangue (20mL – menos que uma xícara de café). Eles não serão utilizados para acompanhamento de efeitos colaterais individuais, ou seja, de efeitos desagradáveis ou problemas que possam surgir com o tratamento, e não serão vistos pelo médico do CEDMAC antes das infusões ou aplicações. Serão colhidos somente para fins de estudo. Entre esse exames estarão a coleta de Troponina T e NT-pró-BNP que são dois marcadores sanguíneos da função do coração. Eles já são usados de rotina na avaliação do coração quando necessário e poderão nos ajudar a saber com antecedência se o(a) senhor(a) tem risco de desenvolver algum problema cardíaco relacionado a sua doença ou ao seu tratamento. Parte deste sangue será guardado para estudo de marcadores, ou seja, testes para substâncias que poderão indicar que tipo de paciente responde melhor a esse tipo de remédio, que tipo de paciente tem mais risco de ter efeitos colaterais, ou testes para substâncias que poderão ajudar os médicos a entender melhor o funcionamento da doença no corpo em resposta a esses tratamentos. O sangue também será usado para estudar a resposta das células do corpo a diferentes agentes, incluindo organismos que poderão vir a causar doenças durante o tratamento pelo efeito de diminuição da imunidade (defesa do corpo) provocado pelo(s) remédio(s).Também vamos guardar parte do sangue (DNA) para estudar se existem marcadores da doença, da gravidade da

doença ou da possibilidade de marcadores de resposta da doença à medicação. Ou seja, da mesma maneira que no DNA existem marcadores que mostram se uma criança é ou não filha de um casal, existem marcadores para doença, que podem mostrar se a pessoa tem uma chance maior de ter uma doença, que tipo de doença é, se esta doença será mais grave ou se responderá aos remédios. Tudo que será estudado no sangue coletado é em relação à sua doença, para entender melhor a doença e melhor tratá-la.Será realizada também uma ecocardiografia que é uma ultrassonografia do coração para avaliar se ele está com sua função adequada antes do início do tratamento e após em média a cada 3 meses para reavaliação durante o tratamento. Não há procedimentos, exames ou remédios experimentais, não se aplicará no(a) senhor(a) nada além do que foi prosposto pelo médico que o(a) acompanha, de acordo com as recomendações do(s) fabricante(s) do(s) remédio(s) do(s) qual(is) ele(a) fará uso. Lembre-se de que todos os exames que forem feitos neste centro são para fins de pesquisa. Os exames e o acompanhamento da doença individualmente serão feitos e checados pelo médico que o(a) encaminhou.

3. desconfortos e riscos esperados – desconforto levíssimo relativo à necessidade coleta de sangue por punção venosa, ou seja, risco de formar um hematoma ou mancha roxa no lugar da picada para retirada de pequena quantidade de sangue para os exames. Essa punção venosa será feita antes do início do tratamento, antes e após cada infusão e/ou então a cada 2 a 3 meses no caso de aplicação subcutânea. Exames de ultrassonografia não conferem riscos.

4. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo – não se aplica.

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

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas. O(a) senhor(a) terá acesso a qualquer momento a todas informações relacionadas ao estudo, que poderão também ser relatadas ao seu médico. Os médicos do CEDMAC e demais membros da equipe estarão disponíveis para responder a suas dúvidas.

2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. Sua participação neste estudo é voluntária. A qualquer momento seu consentimento poderá ser retirado. Não haverá qualquer prejuízo para o seu tratamento aqui no hospital. Você continuará a receber o tratamento, mesmo que não queira participar do protocolo de estudo. Se decidir sair do estudo não precisa declarar o motivo.

3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade. Todos os dados referentes a você e seu tratamento são confidenciais, somente o médico do CEDMAC e sua equipe sabem que você estará participando deste estudo. Se o estudo for publicado, você não será identificado pelo nome.

4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa. Os recursos do Hospital das Clínicas estarão disponíveis para qualquer assintência a sua saúde por problemas relacionados à pesquisa, devendo entrar em contato com o Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas. Entretanto, a responsabilidade de acompanhamento e tratamento dos efeitos colaterais inerentes ao uso da(s) medicação(ões) não observados durante o tempo em que você estiver no CEDMAC será do médico que prescreveu o(s) medicamento(s).

5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa. Não se aplica. O tratamento é indicado pelo médico assistente do paciente e autorizado de acordo com as normas do SUS para dispensação de imunobiológicos. Não é experimental – rotina do Hospital.

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

Dra. Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá - 3061-7492, 3061-7490, Dr. Jozélio Freire de Carvalho, Júlio César Bertacini de Moraes, Ana Cristina de Medeiros, Carla Gonçalves,– 3069-8023, 3069-80240, 3061-7492, 3061-7490.

Em casa de questões quanto à ética da pesquisa ou dos seus direitos como paciente, favor dirigir-se à CAPPESQ. Tel:3069-6642

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

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

São Paulo, de de 20 .

_____ _____

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

8

REFERÊNCIAS

1 Heeneman S, Daemen MJAP.Cardiovascular risks in spondyloarthritides. *Curr Opin Rheumatol*.2007; 19(4):358-62.

2 Lautermann D, Braun J. Ankylosing spondylitis--cardiac manifestations. *Clin Exp Rheumatol*. 2002; 20(6 Suppl 28):S11-5.

3 Bremander A, Petersson IF, Bergman S, Englund M. Population-based estimates of common comorbidities and cardiovascular disease in ankylosing spondylitis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011; 63(4):550-6.

4 Libby P. Role of inflammation in atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. Am J Med. 2008; 121(10 Suppl 1):S21-31.

5 Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Martin J. Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum*. 2005; 35(1):8-17.

6 Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, Wolf PA, Vasan RS.Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Eng J Med*. 2004; 350(7):655-63.

7 Provan S, Angel K, Semb AG, Atar D, Kvien TK.NT-proBNP predicts mortality in patients with rheumatoid arthritis: results from 10-year follow-up of the EURIDISS study. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69:1946-50.

8 Peters MJL, Welsh P, McInnes IB, Wolbink G, Dijkmans BA, Sattar N, Nurmohamed MT.Tumour necrosis factor α blockade reduces circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis: results from a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69(7):1281-5.

9 Armstrong DJ, Gardiner PV, O'Kane MJ. Rheumatoid arthritis patients with active disease and no history of cardiac pathology have higher brain natriuretic peptide (BNP) levels than patients with inactive disease or healthy control subjects. *Ulster Med J*. 2010; 79(2):82-4.

10 Jensen J, Ma LP, Fu MLX, Svaninger D, Lundberg PA, Hammarsten O. Inflammation increases NT-proBNP and the NT-proBNP/BNP ratio. *Clin Res Cardiol*. 2010; 99(7):445-52.

11 Meirovich YF, Veinot JP, de Bold MLK, Haddad H, Davies RA, Masters RG, Hendry PJ, de Bold AJ. Relationship between natriuretic peptides and inflammation: proteomic evidence obtained during acute cellular cardiac allograft rejection in humans. *J Heart Lung Transplant*. 2008; 27(1):31-7.

12 van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum*. 1984; 27(4):361-8.

13 Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Dougados M, Hermann KG, Landewé R, Maksymowych W, van der Heijde D. The assessment of spondyloarthritis international society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009; 68(Suppl 2):ii1-ii44.

14 Zochling J, van der Heijde D, Burgos-Vargas R, Collantes E, Davis JC Jr, Dijkmans B, Dougados M, Géher P, Inman RD, Khan MA, Kvien TK, Leirisalo-Repo M, Olivieri I, Pavelka K, Sieper J, Stucki G, Sturrock RD, van der Linden S, Wendling D, Böhm H, van Royen BJ, Braun J; 'ASsessment in AS' international working group; European League Against Rheumatism. ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65(4):442-52.

15 Lipsy RJ. The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *J Manag Care Pharm.* 2003; 9(1 Suppl):2-5.

16 Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelisa A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr*. 2009; 10:165-93.

17 Kragelund C, Grønning B, Køber L, Hildebrandt P, Steffensen R N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Eng J Med*. 2005; 352(7):666-75.

18 Ruyssen-Witrand A, Fautrel B, Saraux A, Le Loët X, Pham T. Cardiovascular risk induced by low-dose corticosteroids in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Joint Bone Spine*. 2011; 78(1):23-30.

19 Han C, Robinson DW, Hackett MV, Paramore LC, Fraeman KH, Bala MV.Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 2006; 33(11):2167-72.

20 Ma KK, Ogawa T, Bold AJD. Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36(4):505-13.

21 de Bold AJ. Cardiac natriuretic peptides gene expression and secretion in inflammation. *J Investig Med*. 2009; 57(1):29-32.

22 Tsushida K, Tanabe K. Plasma brain natriuretic peptide concentrations and the risk of cardiovascular events and death in general practice. *J Cardiol*. 2008; 52(3):212-23.

23 Brune K, Katus HA, Moecks J, Spanuth E, Jaffe AS, Giannitsis E. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations predict the risk of cardiovascular adverse events from anti-inflammatory drugs: a pilot study. *Clin Chem*. 2008; 54(7):1149-57.

9

APÊNDICE

Apêndice A - Artigo Publicado na Revista *Clinical Rheumatology*

Clin Rheumatol (2013) 32:879–883
DOI 10.1007/s10067-013-2182-x

BRIEF REPORT

NT-proBNP levels may be influenced by inflammation in active ankylosing spondylitis receiving TNF blockers: a pilot study

Julio C. B. Moraes · Ana C. M. Ribeiro · Carla G. S. Saad · Alessandro C. Lianza · Clovis A. Silva · Eloísa Bonfá

Received: 4 July 2012 / Revised: 2 January 2013 / Accepted: 21 January 2013 / Published online: 5 February 2013
© Clinical Rheumatology 2013

Abstract N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) is a strong marker of cardiovascular disease with recent evidence that inflammation may also influence its levels; discrimination of this confounding variable is of particular interest in rheumatic diseases. Therefore, we evaluated NT-proBNP in ankylosing spondylitis (AS) patients pre- and post-TNF blocker to determine the possible association between NT-proBNP levels and inflammatory parameters. Forty-five consecutive AS patients without previous/current cardiovascular disease or systolic myocardial dysfunction, who were eligible to anti-TNF therapy, were prospectively enrolled. All patients received TNF blockers and they were evaluated for circulating NT-proBNP levels, clinical and laboratory parameters of disease activity, traditional cardiovascular risk factors, and conventional and tissue Doppler imaging echocardiography at baseline (BL) and 6 months after (6M) treatment. At BL, all patients had active AS, NT-proBNP levels had a median of 36 (20–72)pg/mL and 11 % were high in spite of no systolic alteration. Multiple linear regression analysis revealed that this peptide, at BL, was independently correlated with erythrocyte sedimentation rate (ESR) ($p<0.001$), age ($p=0.01$), and pulse pressure ($p=0.01$). After 6M, all disease parameters improved and NT-proBNP levels were significantly reduced [24 (16–47)pg/mL, $p=0.037$] compared to BL. Changes in NT-proBNP were positively correlated with ESR changes ($r=0.41$, $p=0.006$). Cardiovascular risk factors remained stable during follow-up. In conclusion, our data suggest that elevations of NT-proBNP should be interpreted with caution in active AS patients with no other evidence of cardiovascular disease. The short-term reduction of NT-proBNP levels in these patients receiving anti-TNF therapy appears to reflect an improvement in inflammatory status.

Keywords Ankylosing spondylitis · Anti-TNF · Cardiovascular disease · Inflammation · NT-proBNP

ClinicalTrials.govnumber:NCT01072058

J. C. B. Moraes (✉) · A. C. M. Ribeiro · C. G. S. Saad · C. A. Silva · E. Bonfá
Division of Rheumatology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 455-3o andar-Reumatologia, sala 3190, São Paulo, SP 01246-903, Brazil
e-mail: juliocbmoraes@yahoo.com.br

A. C. Lianza
Division of Radiology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Introduction

Cardiovascular risk is increased in ankylosing spondylitis (AS) but not fully explained by traditional risk factors [1–3]. Inflammatory mediators, such as TNF and IL-6, may underlie this process by affecting endothelial cell function [4, 5].

N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) is a counterregulatory hormone involved in the homeostasis of circulating volume and cardiovascular remodeling associated with increased risk of death and cardiovascular events in the general population [6]. NT-proBNP was shown to be an independent predictor of 10-year mortality in rheumatoid arthritis (RA) [7].

In RA, a strong body of evidence suggests that anti-TNF agents are able to reduce the cardiovascular burden, and a study evaluating NT-proBNP levels suggested that RA

patients could experience a decline in cardiovascular risk using TNF blockers [8].

Accordingly, a recent study suggested that NT-proBNP is possibly correlated with inflammatory markers and disease activity in RA; however, the inclusion of subjects with previous cardiovascular disease hampers the interpretation of these findings [9]. Alternatively, the presence of inflammation might be considered a noncardiac explanation for the observed elevation in NT-proBNP levels, which is supported by in vitro studies [10, 11].

TNF is also a pivotal cytokine in AS pathophysiology, and anti-TNF therapy is widely used for this disease [1]. However, no data are available regarding NT-proBNP levels in active AS and the possible influence of inflammation control by TNF blockage.

Therefore, we prospectively evaluated NT-proBNP levels in active AS patients without evidence of clinical and echocardiographic systolic myocardial dysfunction pre- and post-TNF blockage. We also assessed the possible relationship between NT-proBNP and inflammatory status with a parallel evaluation of myocardial function.

Methods

Forty-five consecutive AS patients (New York criteria) who had inadequate responses to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and/or to disease-modifying anti-rheumatic drugs and who were eligible to receive anti-TNF agents were enrolled [12]. ASAS/EULAR recommendations for anti-TNF use were followed for eligibility criteria [13]. All patients received TNF blockers (adalimumab, etanercept, or infliximab in their regular regimen). None of them had current/previous history of heart failure, arrhythmia, coronary disease, age >70 years old, creatinine >1.5 mg/dL, cardiac valve abnormalities, and blood pressure ≥160× 100 mmHg.

Patients were prospectively evaluated at baseline (BL) and 6 months (6M) after anti-TNF therapy for demographic, clinical, laboratory, and treatment data. The study was approved by local ethics committee, and all patients signed informed consent.

Disease and activity data

Disease activity was assessed by the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) and Ankylosing Spondylitis Disease Activity Scores using erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) (ASDAS-ESR and ASDAS-CRP). ESR was measured by modified Westergreen method and CRP by nephelometric method. Functional and quality-of-life improvements were assessed by the Bath Ankylosing Spondylitis Function Index and the Ankylosing Spondylitis Quality of Life Score, respectively [12].

Cardiovascular risk factors

Dyslipidemia was determined according to the National Cholesterol Education Program [14]. Hypertension was defined as blood pressure ≥140/90 mmHg or the use of antihypertensive agents. A fasting glucose level ≥7 mmol/L or the use of hypoglycemic agents defined diabetes. Smoking status was categorized into current smokers and nonsmokers. The body mass index was calculated by the formula weight/squared height. Waist circumference was also measured (normal range, up to 102 cm for males and 88 cm for females).

NT-proBNP

NT-proBNP was measured by electrochemiluminescence immunoassay (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Plasma samples, stored at −80 °C, were analyzed by a blinded technician in a single run with samples grouped on the same plate to minimize inter-assay variations. The coefficient of variation on batch analyses was 1.4 %. The cutoff was ≥100 pg/mL for elevated values.

Echocardiography

The study was performed using a GE Vingmed System Vivid-3 Expert machine (GE medical system, Wauwatosa, WI, USA) and a 2.5-MHz electronic transducer. All echocardiography evaluations were performed with the patient in supine position by the same examiner blinded to patient data. M-mode and two-dimensional imaging followed by conventional and tissue Doppler imaging (TDI) were performed. Normal values for Doppler-derived diastolic measurements according to age were obtained from the Recommendations of the American Society of Echocardiography [15]. The electrocardiography study was performed just before the echocardiography for all subjects.

Statistical analysis

All values were expressed as means (SD) for normally distributed variables or medians and interquartile ranges (IQRs) for variables with a non-normal distribution. Correlations between NT-proBNP, AS, and cardiovascular variables at baseline were calculated using Spearman rank order correlation. Mann–Whitney test or *t* test was used to observe differences between patients with high or normal NT-proBNP levels at baseline, as appropriate. Paired sample *t* tests or the Wilcoxon signed-rank test were used to observe differences between measurements at BL and 6M, as appropriate. Fisher

exact test was used to compare categorical variables. Multivariable linear regression analysis was performed using those variables that exhibited a statistically significant association with NT-proBNP. This included evaluation of the following variables: age, gender, ESR, and pulse pressure. Similar analyses were performed to evaluate the correlations between changes in circulating levels of NT-proBNP with changes in inflammatory and disease activity parameters. All analyses used a two-sided significance level of 0.05.

Results

Baseline characteristics

Table 1 illustrated patients' characteristics at baseline regarding demographic, disease parameters, and treatment.

Cardiovascular risk factors

Prevalence of traditional cardiovascular risk factors during follow-up is illustrated in Table 1. Cardiovascular risk factors remained stable throughout study period. None of the AS patients had clinical cardiovascular events during the follow-up.

Prospective clinical and laboratory evaluation

At BL, all patients had active disease and moderate/high CRP and ESR. Treatment with anti-TNF induced clinical response at 6M, as measured by significant decreases in disease parameters (Table 1).

Conventional and TDI echocardiography evaluation

No patient had systolic ventricular dysfunction, and no significant differences were identified when the values of conventional and TDI parameters were compared pre- and posttreatment ($p>0.05$). With regard to systolic function, all parameters were within normal range and remained unchanged during follow-up as well as electrocardiography studies. The proportion of subjects with subclinical diastolic dysfunction grade I remained stable during study period (Table 1). The newly diagnosed ventricular diastolic dysfunction, in five patients, was mild with isolated velocity alterations without other concomitant structural atrial changes and in all but one NT-proBNP levels decreased.

Prospective assessment of NT-proBNP levels

NT-proBNP levels were elevated in five (11.1 %) patients prior to treatment. A higher ASDAS-CRP and ASDAS-ESR, and trend to higher BASDAI, ESR, and CRP levels were observed in patients with increased NT-proBNP compared to those with normal levels (Table 2). Further analysis in all patients revealed positive correlations of baseline NT-proBNP levels with: ESR ($r=0.46$, $p=0.002$), age ($r=0.45$, $p=0.002$), female gender ($r=0.39$, $p=0.01$), and pulse pressure ($r=0.37$, $p=0.01$). Upon multivariate analyses, ESR

Table 1 Prospective evaluation of disease parameters and traditional cardiovascular risk factors in 45 ankylosing spondylitis patients receiving TNF blockage therapy

	Baseline	6 months	*p* value
Age (years)	37.1 (12)	–	–
Male gender (%)	73.3	–	–
Disease duration (years)	11.6 (9)	–	–
NSAID use (%)	100	100	1.0
Prednisone use (%)	24	11	0.17
BASDAI	5.1 (2.2)	3.0 (2.6)	<0.001
ASDAS-CRP	3.6 (1.1)	1.9 (1.1)	<0.001
ASDAS-ESR	3.0 (1.1)	1.7 (1.1)	<0.001
BASFI	5.3 (2.5)	3.5 (2.9)	<0.001
ASQoL	11.5 (6–14)	5.0 (2–12)	0.01
CRP (mg/dL)	1.86 (0.88–4.08)	0.26 (0.09–0.58)	<0.001
ESR (mm/h)	15.5 (9–30.5)	5 (2–8)	<0.001
NT-proBNP (pg/mL)	36 (20–72)	24 (16–47)	0.037
Ventricular diastolic dysfunction (%)	28.9	40	0.37
Systolic BP (mmHg)	125 (114–134)	124 (110–135)	0.10
Diastolic BP (mmHg)	75 (64–85)	73 (61.5–84.5)	0.21
Pulse pressure (mmHg)	51.5 (12.5)	50.1 (11.2)	0.45
Body mass index (kg/m^2)	25.9 (4.3)	26.1 (4.4)	0.15
Waist circumference (cm)	89.1 (10.9)	89.5 (10.8)	0.87
Dyslipidemia (%)	37.8	24.4	0.13

Data are presented as the means (SD) or medians (IQR)

NSAID non-steroidal anti-inflammatory drugs, *BASDAI* Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, *ASDAS* Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, *BASFI* Bath Ankylosing Spondylitis Function Index, *ASQoL* Ankylosing Spondylitis Quality of Life Score, *CRP* C-reactive protein, *ESR* erythrocyte sedimentation rate, *NT-proBNP* N-terminal pro-brain natriuretic peptide, *BP* blood pressure

Table 2 Comparison of disease parameters in ankylosing spondylitis patients with high and normal NT-proBNP levels at baseline

	NT-proBNP ≥100 pg/mL (n=5)	NT-proBNP <100 pg/mL (n=40)	p
BASDAI	6.7 (1.6)	4.9 (2.2)	0.08
ASDAS-CRP	4.7 (1.1)	3.4 (1.0)	0.01
ASDAS-ESR	4.4 (1.3)	2.8 (1.0)	0.002
CRP (mg/dL)	5.38 (1.67–8.21)	1.84 (0.75–3.99)	0.09
ESR (mm/h)	53 (23.5–71.5)	15 (8–28)	0.06
NT-proBNP (pg/mL)	125 (105–186)	33 (17–54)	<0.001

Data are presented as the means (SD) or medians (IQR)

NT-proBNP N-terminal pro-brain natriuretic peptide, *BASDAI* Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, *ASDAS* Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, *CRP* C-reactive protein, *ESR* erythrocyte sedimentation rate

($p<0.001$), age ($p=0.02$), and pulse pressure ($p=0.03$) remained independently associated with NT-proBNP levels.

Prospective evaluation demonstrated that NT-proBNP levels decreased significantly from BL to 6M (Table 1), characterizing a −31.4 % (−57.4 to 14.3 %) change in the median NT-proBNP levels. Overall, NT-proBNP decreased in 30 (67 %) patients; from these, 25 (56 %) patients had normal levels and five (11 %) patients had high levels before treatment. In the latter group, four patients achieved normal range values at 6M. Changes in NT-proBNP levels at 6M were significantly correlated with ESR changes ($r=0.41$, $p=0.006$) but not with changes in CRP, BASDAI and ASDAS-ESR, pulse pressure, or systolic blood pressure.

Discussion

To our knowledge, this is the first study to demonstrate a decrease in NT-proBNP levels in active AS patients after anti-TNF therapy and a positive longitudinal correlation between NT-proBNP and ESR changes in these patients.

Alteration in the levels of this biomarker is an excellent predictor for systolic heart failure in the general population and high-risk cardiovascular groups, and is independently related to mortality even in absence of cardiac dysfunction [6, 16]. Our finding that a small proportion of AS patients at baseline had high NT-proBNP levels without clinical symptoms points toward a possible unrecognized risk in this population. A reduction in this peptide induced by anti-TNF therapy was reported in RA patients suggesting a potential cardiovascular risk benefit of this drug [8].

Frequency of high levels of NT-proBNP was as expected low, mainly due to the mean age below 40 years old and absence of systolic dysfunction in this population; these characteristics were, in fact, essential to discriminate the influence of inflammation per se. Likewise, maintenance of NSAID throughout the study was important to exclude a possible improvement in NT-proBNP levels related with a cardiovascular benefit due to NSAID withdraw. In the same way, the reduction in prednisone use observed in this study does not seem to be a relevant factor for NT-proBNP changes since a recent review showed that low dose of corticosteroids has no effect in cardiac dysfunction of RA patients [17].

Echocardiography longitudinal evaluation of all patients had the advantage to exclude systolic dysfunction, a known confounding parameter in NT-proBNP evaluation [10]. Moreover, in this population, frequencies of cardiovascular risk factors observed were similar to the reported previously in AS patients and they remained unchanged during follow-up [18]. The few newly diagnosed cases of subclinical ventricular diastolic dysfunction during follow-up were mild and not paralleled by an increase in NT-pro-BNP levels suggesting a limited clinical relevance. Long-term closer vigilance for cardiovascular endpoints is, however, recommended for these patients since the observation period of present study was limited.

The novel finding of significant association of increased levels of NT-proBNP in AS patients with higher disease activity scores suggests that inflammation may be an alternative pathway that induces NT-proBNP release, as also reported in RA patients [9]. Reinforcing this hypothesis, for the first time, we identified a parallel decrease in NT-proBNP levels and ESR in active AS patients under anti-TNF treatment.

In fact, there is some evidence that proinflammatory cytokines, such as TNF and interleukin-1 (IL-1), could stimulate the production of BNP in the absence of left ventricular function impairment [19]. Administration of TNF and IL-1 induced BNP secretion independent of hemodynamic influence in cultured neonatal rat cardiocytes. These cytokines stimulated a selective, highly significant upregulation of gene expression and promoter activity regarding BNP secretion [20]. Supporting this notion, inflammation was shown to be a noncardiac cause of increased NT-proBNP in non-rheumatic patients without heart failure [10]. The decrease in levels of this peptide in our study with unchanged cardiac function reinforces this statement; control of inflammatory status may be able to reduce NT-proBNP levels even in absence of an effective improvement in ventricular diastolic dysfunction.

The NT-proBNP cutoff of ≥100 pg/mL was used because these levels were demonstrated to be significantly related to mortality, morbidity, and cardiovascular events [21, 22]. Therefore, the prospective reduction of NT-proBNP observed herein may suggest a long-term potential cardiovascular benefit in active AS patients using TNF blocker.

A limitation of the present study was the small sample size which may have hampered the identification of a significant NT-proBNP association with other disease activity scores or CRP improvement. Reinforcing this possibility, a tendency of higher values of BASDAI, CRP, and ESR in patients with high NT-proBNP levels was also observed.

In conclusion, elevations of NT-proBNP levels should be interpreted with caution in active AS patients with no evidence of cardiovascular disease. The short-term reduction of NT-proBNP levels in these patients receiving anti-TNF therapy appears to reflect an improvement in inflammatory status. The clinical relevance of these findings needs to be confirmed in larger longitudinal studies with long-term follow-up.

Acknowledgments This study was supported by Agency for Promotion of Research, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (grants 06/61303-7 to Centro de Dispensação de Medicação de Alto Custo and 2009/51897-5 to EB), National Counsel of Technological and Scientific Development (grants 302724/2011-7 to CAS and 305468/2006-5 to EB), and Federico Foundation (grants to CGSS, CAS, and EB). Authors wish to thank Dr. Vilma Trindade Viana, Elaine Pires Leon, Dr. Nairo Sumita, Dr. Alexandre Fortini, and Paschoalina Romano (Rheumatology Laboratory and Laboratory Division of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP) for technical assistance.

Disclosures None.

References

1. Heeneman S, Daemen MJAP (2007) Cardiovascular risks in spondyloarthritides. Curr Opin Rheumatol 19:358–362
2. Lautermann D, Braun J (2002) Ankylosing spondylitis—cardiac manifestations. Clin Exp Rheumatol 20:S11–S15
3. Bremander A, Petersson IF, Bergman S, Englund M (2011) Population-based estimates of common comorbidities and cardiovascular disease in ankylosing spondylitis. Arthritis Care Res (Hoboken) 63:550–556
4. Libby P (2008) Role of inflammation in atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. Am J Med 121:S21–S31
5. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Martin J (2005) Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. Semin Arthritis Rheum 35:8–17
6. Wang TJ, Larson MG, Levy D et al (2004) Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. N Eng J Med 350:655–663
7. Provan S, Angel K, Semb AG et al (2010) NT-proBNP predicts mortality in patients with rheumatoid arthritis: results from 10-year follow-up of the EURIDISS study. Ann Rheum Dis 69:1946–1950
8. Peters MJL, Welsh P, McInnes IB et al (2010) Tumour necrosis factor α blockade reduces circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis: results from a prospective cohort study. Ann Rheum Dis 69:1281–1285
9. Armstrong DJ, Gardiner PV, O'Kane MJ (2010) Rheumatoid arthritis patients with active disease and no history of cardiac pathology have higher brain natriuretic peptide (BNP) levels than patients with inactive disease or healthy control subjects. Ulster Med J 79:82–84
10. Jensen J, Ma LP, Fu MLX et al (2010) Inflammation increases NT-proBNP and the NT-proBNP/BNP ratio. Clin Res Cardiol 99:445–452
11. Meirovich YF, Veinot JP, de Bold MLK et al (2008) Relationship between natriuretic peptides and inflammation: proteomic evidence obtained during acute cellular cardiac allograft rejection in humans. J Heart Lung Transplant 27:31–37
12. Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X et al (2009) The assessment of spondyloarthritis international society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis. Ann Rheum Dis 68:ii1–ii44
13. Zochling J, van der Heijde D, Burgos-Vargas R et al (2006) ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. Ann Rheum Dis 65:442–452
14. Lipsy RJ (2003) The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. J Manag Care Pharm 9:2–5
15. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC et al (2009) Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. Eur J Echocardiogr 10:165–193
16. Kragelund C, Grønning B, Køber L, Hildebrandt P, Steffensen R (2005) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. N Eng J Med 352:666–675
17. Ruyssen-Witrand A, Fautrel B, Saraux A, Le Loët X, Pham T (2011) Cardiovascular risk induced by low-dose corticosteroids in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. Joint Bone Spine 78(1):23–30
18. Han C, Robinson DW, Hackett MV et al (2006) Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. J Rheumatol 33:2167–2172
19. Ma KK, Ogawa T, Bold AJD (2004) Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. J Mol Cell Cardiol 36:505–513
20. de Bold AJ (2009) Cardiac natriuretic peptides gene expression and secretion in inflammation. J Investig Med 57:29–32
21. Tsushida K, Tanabe K (2008) Plasma brain natriuretic peptide concentrations and the risk of cardiovascular events and death in general practice. J Cardiol 52:212–223
22. Brune K, Katus HA, Moecks J, Spanuth E, Jaffe AS, Giannitsis E (2008) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations predict the risk of cardiovascular adverse events from anti-inflammatory drugs: a pilot study. Clin Chem 54:1149–1157