

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GESTÃO E
ECONOMIA DA SAÚDE**

JUSSARA CAVALCANTI DE ALIANÇA BEZERRA

**REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE PARA AVALIAÇÃO DA
EFICÁCIA DA BOSENTANA E ILOPROSTA NO TRATAMENTO DA
MICROVASCULARIZAÇÃO DA ESCLEROSE SISTÊMICA**

RECIFE

2018

JUSSARA CAVALCANTI DE ALIANÇA BEZERRA

REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE PARA AVALIAÇÃO DA
EFICÁCIA DA BOSENTANA E ILOPROSTA NO TRATAMENTO DA
MICROVASCULARIZAÇÃO DA ESCLEROSE SISTÊMICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gestão e Economia da Saúde – PPGGES, da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do Título de Mestre em Gestão e Economia da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maira Galdino da Rocha Pitta

Coorientadoras:
Msc. Priscilla Stela Santana de Oliveira
Dr^ª. Meline Rossetto Kron Rodrigues

Recife

2018

,Catalogação na Fonte
Bibliotecária Ângela de Fátima Correia Simões, CRB4-773

B574r Bezerra, Jussara Cavalcanti de Aliança
Revisão sistemática com metanálise para avaliação da eficácia da bosentana e iloprostá no tratamento da microvascularização da esclerose sistêmica / Jussara Cavalcanti de Aliança Bezerra. - 2018.
68 folhas: il. 30 cm.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta e Coorientadoras Prof.^a Msc. Priscilla Stela Santana de Oliveira e Dra. Meline Rossetto Kron Rodrigues.

Dissertação (Mestrado em Gestão e Economia da Saúde) – Universidade Federal de Pernambuco, CCSA, 2018.
Inclui referências e apêndices.

1. Microvasculopatia. 2. Bosentana. 3. Endotelina. I. Pitta, Maira Galdino da Rocha (Orientadora). II. Oliveira, Priscilla Stella Santana de (Coorientadora). III. Rodrigues, Meline Rossetto Kron (Coorientadora). IV. Título.

330.9 CDD (22. ed.) UFPE (CSA 2018 – 093)

JUSSARA CAVALCANTI DE ALIANÇA BEZERRA

REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE PARA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA
BOSENTANA E ILOPROSTA NO TRATAMENTO DA MICROVASCULARIZAÇÃO DA
ESCLEROSE SISTÊMICA

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Pernambuco para obtenção do
título de Mestre em Gestão e Economia da
Saúde.

Aprovada em: 17/03/2018

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Andrea Tavares Dantas (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Maria Danielly Lima de Oliveira (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Ao amado Deus, em que todos os momentos, trabalhando meus temores, ansiedades, amor ao trabalho proposto, levando a perseverar no propósito, confiando, pois, sem Ele nada poderia fazer. Esteve ao meu lado, fortalecendo, dando ânimo e esperança para que pudesse alcançar meus objetivos. A Ti dedico meu sincero agradecimento, glória, honra e louvor, pelas bênçãos recebidas!

AGRADECIMENTOS

À minha família Durval, Higor e Yamê por todos os momentos de apoio, carinho e paciência, de alguma forma colaboraram para realização deste trabalho.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Gestão e Economia da Saúde, Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, pelo carinho e atenção.

À Maíra, minha Orientadora contribuindo com seus saberes e atenção para tão sonhada conclusão deste trabalho.

À Priscilla Stela, orientadora, pelo apoio e contribuição na elaboração deste trabalho.

À Meline Kron, orientadora, muito precisa e prestativa na finalização dos resultados estatísticos, mesmo em meio à apresentação de seu doutorado.

Aos amigos da PIBA, MNL e IPBA pelo apoio e palavras de carinho e conforto.

Aos colegas do mestrado, em especial a Ana Paula e Antônia pelo carinho e amizade, pelos momentos de aprendizado, de apreensão e de alegrias.

À coordenação, professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Gestão em Economia da Saúde.

Aos demais familiares, amigos, colegas que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste sonho.

RESUMO

A Esclerose Sistêmica (ES) é uma doença autoimune do tecido conjuntivo caracterizada por fibrose cutânea e dos órgãos internos. As manifestações clínicas podem acometer órgãos internos, pele incluindo o fenômeno de Raynaud e as úlceras digitais (UD). Estudos têm mostrado uso da iloprostá (ILO) e bosentana (BOS) na prevenção do aparecimento de novas úlceras digitais. O objetivo deste trabalho foi à avaliação da eficácia da ILO+BOS (intervenção) em comparação a ILO isolada (comparador) no tratamento da microvascularização na ES. Para tanto, foi realizada uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos, identificados nas bases de dados eletrônicas MEDLINE (via Pubmed), LILACS, *Center for Reviews and Dissemination* (CRD) e Biblioteca COCHRANE, no período de 30/08 à 20/12/2017. Em relação ao desfecho de micro hemorragia (MH), analisando o *score* ao fim do tratamento, e o desfecho capilares ramificados (CR) no tempo basal, houve diferença estatística significativa, favorecendo o grupo do tratamento. O desfecho de perfusão sanguínea (PS) teve diferença estatística significativa no início favorecendo a ILO, porém no final do tratamento favoreceu a intervenção ILO+BOS. Contudo, a medida de efeito global nos desfechos capilares gigantes (CG), MH, CR, UD e PS não favoreceu nenhum fármaco, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos. Dessa forma, conclui-se que as evidências recuperadas demonstram que não há diferença estatística significativa entre a associação ILO+BOS em comparação a ILO no tratamento da microvascularização da ES. O custo-benefício da associação da bosentana a iloprostá não é suficiente benéfica para ser recomendado como tratamento.

Palavras-chave: Endotelina. Bosentana. Iloprostá. Microvasculopatia.

ABSTRACT

Systemic sclerosis (SS) is an autoimmune disease of connective tissue characterized by cutaneous fibrosis and internal organs. The clinical manifestations of ES include the Raynaud phenomenon and digital ulcers (DU). Studies have shown iloprost (ILO) and bosentan (BOS) to prevent the onset of new digital ulcers. The objective of this study was to evaluate the efficacy of ILO + BOS (intervention) compared to ILO alone (comparator) in the treatment of microvascularization in ES. A systematic review was conducted with a meta-analysis of clinical trials, identified in the electronic databases MEDLINE (via Pubmed), LILACS, Center for Reviews and Dissemination (CRD) and COCHRANE Library, from August 30 to December 20 / 2017. Regarding the outcome of micro hemorrhage (MH), analyzing the score at the end of treatment, and the outcome of branched capillaries (BC) at baseline, there was a statistically significant difference, favoring the treatment group. The blood perfusion (BP) outcome had a significant statistical difference at the beginning favoring the ILO, but at the end of the treatment it favored the ILO + BOS intervention. However, the overall effect measure on the giant capillary outcomes (GC), MH, BC, DU and BP did not favor any drug, and there was no statistically significant difference between the groups. Thus, it is concluded that the evidence recovered shows that there is no statistically significant difference between the ILO + BOS association compared to ILO in the treatment of ES microvascularization. The cost-benefit of the association of bosentan to iloprost is not sufficient to be recommended as a treatment.

Keywords: Endothelin. Bosentan. Iloprost. Microvasculopathy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Perspectiva histórica dos estudos de esclerodermia.....	16
Figura 2 - Etiopatogênese da Esclerose Sistêmica.....	17
Figura 3 - Critérios de classificação da ES.....	19
Figura 4 - Complicações vasculares FR.....	22
Figura 5 - Achados morfológicos de capilares periungueais.....	24
Figura 6 - Mecanismos de ação sobre receptores de ET _A	27
Figura 7 - Forest plot.....	33
Figura 8 - Fluxograma de seleção dos estudos.....	38
Figura 9 - Avaliação do Risco de Viés dos Ensaio Clínicos não Randomizados (Review Manager 5.3).....	41
Figura10. Avaliação do Risco de viés dos Ensaio Clínicos não Randomizados (Review Manager 5.3).....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios de Classificação ACR/EULAR 2013.....	20
Tabela 2 – Possíveis manifestações de órgãos envolvidos na ES.....	21
Tabela 3 – Tabela de contingência 2x2 e os seus derivados.....	32
Tabela 4 – Eixos norteadores da pergunta PICO.....	34
Tabela 5 – Estratégias de buscas.....	35
Tabela 6 – Descrição dos estudos incluídos para análise.....	39
Tabela 7 – Avaliação do risco de viés dos estudos incluídos.....	40
Tabela 8 – <i>Forest plot</i> : Metanálise da avaliação de Capilares Gigantes.....	42
Tabela 9 – <i>Forest plot</i> : Metanálise da avaliação de Microhemorragias.....	43
Tabela 10 – <i>Forest plot</i> : Metanálise da avaliação de Capilares Ramificados.....	44
Tabela 11 – <i>Forest plot</i> : Metanálise da avaliação de Perfusão Sanguínea Ungueal.....	44
Tabela 12 – <i>Forest plot</i> : Metanálise da avaliação de Incidência de Ulceras Digitais	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACPL	Análise de contraste por laser pulsado
BOS	Bosentana
CPU	Capilaroscopia periungueal
CG	Capilares Gigantes
cAMP	Monofosfato de adenosina cíclico
CD	Cutâneo difusa
cGMP	Monofosfato de guanosina cíclico
CL	Cutâneo limitada
CR	Capilares ramificados
DIP	Doença intersticial pulmonar
DRAI	Doença reumática autoimune
ECR	Ensaio Clínico e Randomizado
ECnR	Ensaio Clínico não Randomizado
ES	Esclerose Sistêmica
FAN	Fator Antinuclear
FLD	Fluxometria de laser Doppler
FR	Fenômeno de Raynaud
HAP	Hipertensão Arterial Pulmonar
IV	Intravenoso
ILO	Iloprosta
LIM	Limitada
MH	Microhemorragias
NO	Óxido nítrico
PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
PSP	Perfusão de sangue periférico
PGEHS	Prostaglandina Endoperóxido H Sintaxe
RV	RevMan
RS	Revisão Sistemática
SUS	Sistema Único de Saúde
VC	Videocapilaroscopia
VO	Via oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Objetivos	14
1.1.1	Objetivo geral	14
1.1.2	Objetivos específicos	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	Esclerose sistêmica	15
2.2	Epidemiologia	16
2.3	Etiopatogênese	17
2.4	Diagnóstico da ES	18
2.5	Manifestações clínicas da ES	20
2.5.1	Fenômeno de Raynaud	21
2.5.2	Úlcera Digital	22
2.6	Capilaroscopia periungueal	22
2.7	Tratamento da ES	24
2.7.1	Iloprostá	26
2.7.2	Bosentana	27
2.8	Tipos de Estudos	28
2.8.1	Ensaio clínico	28
2.8.1.2	<i>Ensaio Clínico não Randomizado (ECnR)</i>	29
2.8.1.3	<i>Revisões Sistemáticas</i>	29
2.8.1.4	<i>Metanálise</i>	30
2.9	Avaliação de Qualidade dos Estudos	33
3	METODOLOGIA	34
3.1	Delineamento do Estudo	34
3.2	Período de Estudo e Considerações Éticas	34
3.3	Formulação da Pergunta PICO	34

3.4	Crêterios de Elegibilidade.....	35
3.5	Estratégias de Busca.....	35
3.6	Fontes de Informa�o e Base de Dados.....	36
3.7	Triagem dos Estudos.....	36
3.8	Análise Estatística.....	36
4	RESULTADOS	37
4.1.	Sele�o dos Estudos.....	37
4.2	Características gerais dos estudos incluídos.....	38
4.3	Avalia�o da Qualidade dos Estudos.....	38
4.4	Metanálise.....	41
5	DISCUSSÃO.....	46
6	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	APÊNDICE A – ARTIGO.....	58

1 INTRODUÇÃO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença crônica caracterizada pelo espessamento na pele e por anormalidades vasculares na estrutura e no funcionamento nos órgãos viscerais. O fenômeno de Raynaud e as úlceras digitais são características iniciais da doença como consequência dos distúrbios vasculares (V. BOTZORIS, 2011).

Duas formas clínicas podem ser identificadas na Esclerose sistêmica. A forma limitada cutânea caracteriza-se por espessamento simétrico limitado nas extremidades dos pés, mãos e face. A forma difusa apresenta envolvimento cutâneo generalizado, acometendo a face, os membros e o tronco, rapidez de progressão nas alterações cutâneas, nas contraturas das articulações, crepitação dos tendões e acometimento precoce nos órgãos internos (MOTA J, 2011).

Uma das características da ES, o fenômeno de Raynaud (FR), está presente em 90 a 95% dos pacientes com ES, marcada por eventos de vasoconstrição, podendo ser desencadeado pelo frio, estresse emocional, vibrações, tabagismo, uso de cafeína, descongestionantes e betabloqueadores. Este fenômeno os atinge dedos das mãos e pés, o nariz e pavilhão auricular. O FR normalmente apresenta três fases, com colorações diferentes, palidez, cianose e eritema (PCDT, 2014).

As úlceras digitais são complicações comuns e dolorosas em 30-50% dos pacientes de ES, acomete normalmente nas extremidades dos dedos, sobre a saliência óssea e na parte extensora das articulações interfalângicas das mãos. São dolorosas e causam limitações nas atividades diárias do doente. A etiologia da UD é multifatorial, pode ocorrer infecção secundária evoluindo a necrose profunda e gangrena levando a amputação digital, em casos extremos (FREIRE EAM, et al., 2004).

A abordagem terapêutica da ES é diversa devida heterogeneidade de acometimento dos órgãos internos (STEEN V, 2009). A iloprostá e a Bosentana, representantes desta última classe de fármacos supracitados, são fármacos preconizados no Brasil para o uso na hipertensão arterial pulmonar (HAP) (PCDT, 2014). A iloprostá IV não é disponibilizada comercialmente no Brasil, tem-se usado como substituto o aloprostá dil endovenosa no caso de úlceras isquêmicas graves, que não corresponderam ao tratamento convencional. (SAMPAIO-BARROS, PERCIVAL D, 2013).

Na Relação de Medicamentos Essenciais de 2017 (RENAME 2017), Instrumento mestre para a assistência farmacêutica no Sistema único de Saúde (SUS), os dois fármacos estão

classificados como pertencentes ao componente especializado (RENAME 2017), porém a iloprosta na forma inalatória e não IV. Na Retificação do protocolo Clínico da ES, publicado pela Portaria Conjunta nº 09, de 28 de agosto de 2017, tanto a iloprosta quanto a bosentana não foram incluídos no tratamento de microvascularização na ES. Neste contexto, com o propósito analisar as evidências científicas acerca do uso de alternativas terapêuticas no tratamento de portadores de esclerose sistêmica, este trabalho teve por intuito elaborar uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos não randomizados que avaliaram a eficácia do uso da iloprosta e bosentana na microvascularização na ES.

A revisão sistemática tem relevância científica e fornece a melhor evidência que se dispõe para a prática clínica dos profissionais de saúde. É método muito aceito pela comunidade científica por fazer uso de metodologia rigorosa; impede esforços para repetir os estudos, bastando atualizar; sinaliza quando há intervenções inadequadas; os resultados são mais precisos; os resultados que levam anos e os gastos altos são apresentados com maior qualidade, aumentando a precisão; demonstram quais áreas são deficientes em estudos e servem para guiar as intervenções clínicas (HIGGINS & GREEN, 2011).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo do estudo foi realizar uma revisão sistemática com metanálise para avaliar o efeito da Iloprosta e da Bosentana no tratamento das manifestações microvasculares em pacientes portadores de Esclerose Sistêmica.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Realizar o levantamento das evidências científicas disponíveis na literatura acerca da eficácia e da Iloprosta e Bosentana no tratamento das manifestações vasculares da esclerose sistêmica.
- b) Avaliar o efeito da bosentana + iloprosta em comparação com a monoterapia iloprosta na diminuição dos capilares gigantes, capilares ramificados, microhemorragias, ulcera digitais e perfusão sanguínea;
- c) Avaliar os desfechos críticos e importantes para os grupos que foram beneficiados com a associação iloprosta + bosentana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Esclerose sistêmica

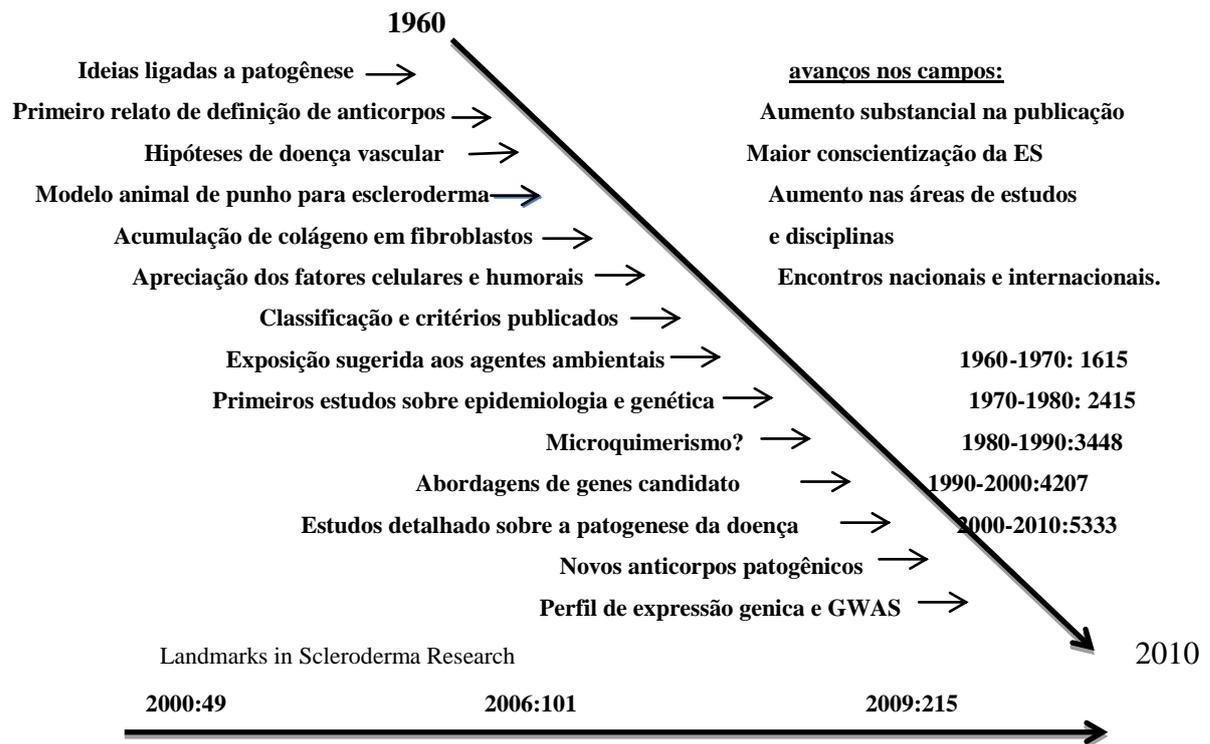
A ES é uma doença autoimune do tecido conjuntivo e caracterizada por manifestações ligadas à fibrose e disfunção vascular (JOHNSON et al., 2007). As células do sistema imune causam dano vascular através da proliferação e/ou estimulação de fibroblastos, para produzir colágeno (QUAN *et al*, 2004). Esta ativação exacerbada pode ser causada pela disposição genética, fatores ambientais e infecções bacteriana e viral (TAN, 2003). Varias classes de drogas podem ser capazes induzir ou aumentar a esclerose cutânea limitada (VERDELLI, 2014). A lesão vascular, a fibrose e a ativação da imunidade, são os principais fatores patogênicos (VISWANATH, 2013).

A sintomatologia inicial da ES é de natureza vascular. Podendo apresentar outros sintomas clínicos como edemas, contração das artérias, veias e capilares distais, dificuldades de deglutir e dores nas articulações. À medida que a doença se agrava, aparece o fenômeno de Raynaud (VITIELLO, 2012). A doença é responsável por substancial morbidade e mortalidade dos pacientes, apresentando média de 70 a 90% de sobrevida em cinco anos. Em 10 anos o percentual decresce para 60-80% (MITTAG, 2001; MEDSGER, 2004).

A anamnese e o exame físico do paciente são essenciais, e em 90% são suficientes fechar o diagnóstico. Há uma dificuldade na condução de ensaios clínicos e terapêutica padronizada, devido a prevalência ser baixa e a clínica ser muito diversificada (TAN, 2003). O tratamento do paciente vai depender do acometimento multissistêmico da doença bem como da presença de doença ativa e reversível ou de dano irreversível (MATUCCI-CERINIC et al, 2009).

A linha do tempo demonstrada na figura 1 revela que tem havido crescente interesse cada vez mais complexos pelos estudos sobre a ES no decorrer dos anos. É possível constatar que nos últimos 20 anos houve um progresso no entendimento em relação a doença e uma melhora significativa em sua avaliação. Conseqüentemente, houve a promoção de maior sobrevida e qualidade de vida desses pacientes (VARGA, 2011).

Figura 1 - Perspectiva histórica dos estudos de esclerodermia (Fonte: VARGA, 2011).



2.2 Epidemiologia

Estudos recentes sobre a prevalência no Japão foi de 38 casos por milhão/habitantes e na América do Sul, mais precisamente na Argentina, foi de 296 casos por milhão/habitantes (ROSA, 2011). Um estudo observacional prospectivo, feito em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, sobre a ES teve prevalência de 105,6 casos por milhão/habitantes e incidência de 11,9 casos por milhão/habitantes. O estudo revelou que em sua maioria eram mulheres, de cor branca, incidência entre 40-50 anos (BARNES; MAYES, 2012). Além do mais a população era composta de pessoas cujas famílias eram descendentes de imigrantes vindos da Alemanha, Espanha, Itália, Japão, Paraguai, Síria e Líbano (HORIMOTO, 2017).

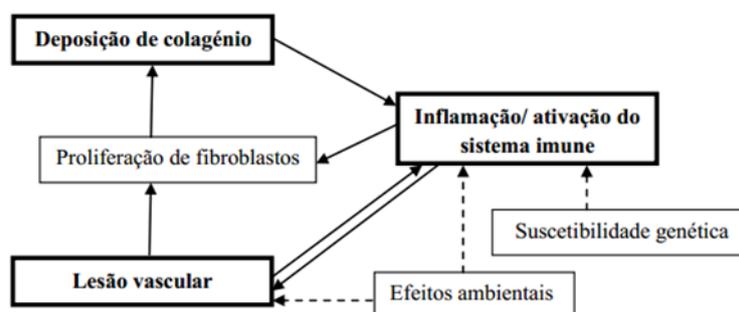
Estudos apontam haver prevalência do sexo feminino (6:1), com idade entre 40-50 anos, acometidos por ES. No Brasil não é diferente do restante do mundo, as mulheres também foram à maioria em comparação aos homens (BARNES; MAYES, 2012). O EUSTAR liga europeia, associou as influências quanto ao sexo de acordo com a região onde o paciente vive (HORIMOTO et al, 2017). Foi descrito que dependendo das regiões geográficas do paciente, pode haver interferência na associação aos anticorpos e a ocorrência dos sexos (WALKER, 2009). As exposições ambientais e as variações genéticas regionais também poderão influenciar tanto nas taxas de incidência quanto a de prevalência (BARNES, 2012).

2.3 Etiopatogênese

Doença de etiologia multifatorial, a ES é desencadeada fundamentalmente por fatores genéticos e ambientais. Como exemplo de fatores ambientais, a exposição à sílica e solventes orgânicos bem como a agentes infecciosos, como o parvovirus B19, *Epstein-Barr* e citomegalovírus e infecção bacteriana têm sido implicados no desenvolvimento da ES (BORTHWICK, 2013).

A lesão vascular, a fibrose e a ativação da imunidade, são os principais componentes da patogênese da doença (VISWANATH, 2013). A figura 2 demonstra esta complexa inter-relação das células endoteliais que são constantemente atacadas e lesionadas (disfunção vascular), as imunidades inatas e adaptativas são ativadas ocorrendo acúmulo de matriz extracelular que formam cicatrizes causadas pelo recrutamento e ativação dos fibroblastos, contribuem no desenvolvimento da fibrose (BAGNATO et al., 2015).

Figura 2 - Etiopatogênese da Esclerose Sistêmica (Fonte: CHARLES et al, 2006).



Apesar de não ser totalmente entendida, sabe-se que existe uma série de mecanismos envolvidos. Entre estes, destaca-se a interação complexa das células do endotélio, musculatura lisa da parede vascular, mediadores solúveis e estímulos neurais os quais controlam o tônus vascular. O desequilíbrio entre vasoconstrição e vasodilatação, com predominância da vasoconstrição, mostra ser um dos eventos principais da fisiopatologia da ES (HERRICK, 2005).

Os principais mediadores da vasoconstrição influenciados pelo frio nas células da musculatura lisa são os receptores α_2 – adrenérgicos. As alterações na produção dos neuropeptídios e a hiper-reatividade de receptores α_2 – adrenérgicos são um dos mecanismos envolvidos no episódio de vasoespasm induzido pelo frio (FLAVAHAN, 2003). As lesões e

a ativação do endotélio desequilibram a produção de substâncias vasodilatadora e vasoconstrictora, aumentando a endotelina-1, que é um potente vasoconstritor, e diminuindo óxido nítrico e prostaciclina, que são vasos dilatadores (HERRICK, 2005).

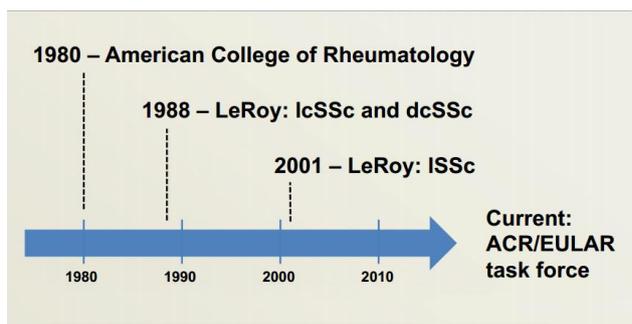
O efeito vasodilatador do óxido nítrico e da prostaciclina ocorre pela via Monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) e Monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), várias fosfodiesterases controlam sua degradação (CLAPP, 2002). Da mesma forma, para bloquear a produção de substâncias vasoconstrictora faz uso de antagonistas de receptores da endotelina-1. Sendo assim estes mecanismos são explorados no ponto de vista das terapias empregadas (KAYSER et al., 2009).

No caso, ainda não esclarecido, esses processos são deficientes na ES, havendo desequilíbrio entre os fatores angiogênicos e angiostáticos e a restauração vascular ineficaz. Resulta em capilares morfologicamente anormais e disfuncionais (KOCH; DISTLER, 2007). Embora tenha havido avanços acerca dos mecanismos que desencadeiam a ES, falta muito para entender como o processo patológico é iniciado e como apresenta várias expressões clínicas (TAN, 2003)

2.4 Diagnóstico da ES

A orientação diagnóstica para ES é preconizada pelos critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR), os critérios maior e menor. A classificação de Leroy e Colaboradores (1988) basearam-se na extensão do acometimento cutâneo e visceral. Esta classificação permite a divisão da ES em duas formas clínicas: cutânea limitada e difusa. A Liga Europeia contra o Reumatismo (EULAR), do inglês, *European League Against Rheumatism* e o grupo EULAR escleroderma, criaram parâmetros para classificar a ES muito precoce, incluíram entre outros critérios, os exames laboratoriais, a capilaroscopia periungueal (CPU) e autoanticorpos específicos (VANDEN HOOGEN et al., 2013). A figura 3 abaixo descreve os critérios de classificação.

Figura 3 - Critérios de classificação da ES (fonte: VANDEN HOOGEN et al., 2013)



A classificação de LeRoy e colaboradores (1980) como Limitada e difusa é quem mostra claramente as diferenças clínicas (SAMPAIO-BARROS; PERCIVAL, 2013). Na forma difusa podemos observar características como: rápida progressão das alterações cutâneas após início de fenómeno de Raynaud, envolvimento precoce de órgãos internos, envolvimento intersticial pulmonar, envolvimento miocárdico, fricção tendões, envolvimento renal precoce, pior sobrevida global e 20-30% com anticorpo anti-Scl70 positivo, na forma difusa. Enquanto que na forma limitada possui características com longa evolução de fenómeno de Raynaud isolado, espessamento cutâneo acral (limitado a face, mãos, antebraços, pernas e pés), envolvimento tardio de órgãos internos, desenvolvimento tardio de hipertensão pulmonar com ou sem doença intersticial pulmonar, associação a calcinose e telangiectasias e 30-40% com Ac anticentrômero positivo, na forma limitada. A manifestação clínica da ES não são homogêneas, dependendo do envolvimento pode existir maior predominância e/ou gravidade de algumas delas (KHANNA, 2010).

São critérios importantes na confirmação de ES numa fase bem precoce quando se detecta os anticorpos específicos, anticentrômero e anti-Scl70 e o padrão de esclerodermia na capilaroscopia periungueal (CPU). O anticorpo anticentrômero está associado à ES limitada e a detecção do anti-Scl-70 tem forte associação com a ES difusa, além do importante valor prognóstico (SAMPAIO-BARROS, 2013). É possível detectar anticorpos altamente específicos em amostras de soro de pacientes com ES (KRAAIJ; VAN LAAR, 2008). São características fundamentais e são evidências do sistema imune humoral. Encontrados principalmente os anticorpos centrômeros (ACA), anticorpos anti-DNA topoisomerase I e anticorpos anti RNA polimerase III (anti-POL3) (HAMAGUCHI, 2010). Há estudos que mostram o potencial patogênico desses autoanticorpos, podem ativar os fibroblastos e células do endotélio, lesionando os tecidos. (VARGA; ABRAHAM, 2007).

Estudo feito por Horimoto A M C & Costa I P (2015), observou-se que estes autoanticorpos específicos são capazes de contribuir na evolução e prognóstico da doença

nestes pacientes. Na literatura em relação aos autoanticorpos com o perfil autoimune da população em estudo estando relacionados à forma clínica e a algumas manifestações da ES. Na forma precoce da doença foi encontrado principalmente o ACA. Quando observado o anti-SCL70 positivo, houve maior gravidade da ES em pacientes com FRy, objetivo e microvarizes, quando pacientes com ACA observou-se mais telangiectasias e os que apresentaram anticorpos anti-POL3 observou-se mais atrofia muscular.

Devido à importância da CPU no diagnóstico da doença, em 2013 o exame foi proposto pelo ACR/EULAR (2013), aplicado a doentes inclusos em estudos de ES e que não envolvam acometimento nos dedos, que o paciente é considerado como portador de ES se a soma da pontuação de cada categoria, o total for ≥ 9 (VAN DEN HOOGEN et al, 2013). A tabela 1 descreve os critérios de classificação e respectivas pontuações.

Tabela 1- Critérios de Classificação ACR/EULAR 2013 (VAN DEN HOOGEN et al, 2013).

ITEM	SUB-ITEM	PONTUAÇÃO
• Espessamento cutâneo dos dedos das mãos com extensão proximal às MCF (critério suficiente)		9
• Espessamento cutâneo dos dedos (contar o score maior)	"Puffy fingers" Esclerodactilia dos dedos (entre as MCF e IFP)	2 4
• Lesões das polpas digitais (contar o score maior)	úlceras das polpas dos dedos "pitting scars"	2 3
• Telangiectasias		2
• Alterações dos capilares periungueais		2
• Hipertensão arterial pulmonar e/ou doença Pulmonar intersticial (score máximo é 2)	Hipertensão arterial pulmonar Doença Pulmonar intersticial	2 2
• Fenômeno de Raynaud		3
• Autoanticorpos relacionados com SSc (Anticentrómero, anti-topoisomerase I(anti-Scl70), Anti-RNA polimerase III) (pontuação máxima é III)	Anticentrómero Anti-topoisomerase I Anti-RNA polimerase III	3 3

2.5 Manifestações clínicas da ES.

A tabela 2 apresenta de forma resumida as possíveis manifestações de órgãos associadas à ES. O envolvimento da doença é muito vasto, multissistêmico, grave, principalmente quando acomete pulmão, rins e o trato gastro-intestinal.

Tabela 2 - Possíveis manifestações de órgãos envolvidos na ES (CORDEIRO, 2011).

Órgão /sistema envolvido	Manifestações
Pele	Espessamento cutâneo, telangiectasias, hiperpigmentação/despigmentação, contracturas, fenômeno Raynaud, úlceras digitais, perda substância polpa digital, isquemia digital/gangrena, calcinose
Renal	Hipertensão acelerada, proteinúria, insuficiência renal aguda, vasculopatia crônica
Músculo - esqueleto	Artralgias, artrite, miopatia, miosite, atrofia muscular, fricção/ atrito tendões, acrosteólise,
Pulmonar	Doença intersticial pulmonar (pneumonia intersticial inespecífica), derrame pleural, fibrose pulmonar, hipertensão pulmonar, bronquiectasias
Cardíaco/ Cardiovascular	Palpitações ,arritmias, alterações de condução, fibrose em banda ("patch band fibrosis"), derrame pericárdico, disfunção diastólica, miocardite, hipertensão pulmonar
Gastro-intestinal	Disfagia, refluxo, úlceras, esôfago Barret, esofagite, "watermelon stomach", saciedade precoce, dismotilidade, enfartamento, diarreia/ obstipação, pseudo-obstrução, má-absorção, vasculopatia com hemorragias, Cirrose biliar primária
Neurológico	Síndrome canal cãrpico, neuropatia periférica por vasculite

2.5.1 Fenômeno de Raynaud

O Fenômeno de Raynaud (FRy) são manifestações clínicas que resultam da vasculopatia da ES. O FR, com episódio de isquemia digital é consequência do vasoespasmó desencadeado pela exposição ao frio e/ou estresse intenso. As artérias e arteríolas se estreitam impedindo o fluxo normal do sangue no local causando a isquemia (SCHIOPU, 2010). O FR normalmente apresenta três fases, com colorações diferentes, palidez, cianose e eritema indicando a vasodilatação compensatória. (GAYRAUD, 2007). A terapia não medicamentosa pode incluir uso de cera de parafina, exercícios de amplitude de movimento para áreas afetadas e terapia de calor (POOLE et al., 2013). Os pacientes com FR devem evitar exposição ao frio, nicotina e estímulos vasoespásticos devido ao stress (FOX et al., 2013). Como observado na figura 4, o FR pode ser agravado com o aparecimento de úlceras digitais (YOUNG; KHANNA, 2011).

Figura 4. Complicações vasculares, fenômeno de Raynaud (seta azul) e úlceras digitais (seta vermelha) (Fonte: YOUNG e col. 2016).



Diante da comprovação deste fenômeno, deve-se investigar também algum medicamento que possa estar induzindo, como betabloqueadores não seletivos e ciclosporina, contato com agente tóxico, como os utilizados na quimioterapia e manuseio de instrumentos vibracionais que possam estar causando traumas repetitivos (KAYSER et al., 2009).

2.5.2 Úlcera Digital

A úlcera digital (UD) é uma manifestação da vasculopatia periférica a qual ocorre em aproximadamente em 30% dos pacientes com ES limitada e 58% com ES difusa. São lesões superficiais do tecido cutâneo que não cicatrizam com facilidade (Browns S., 2010). A UD está associada ao começo precoce do FR na ES. A UD é dolorosa, aparece nas polpas dos dedos sobre a parte óssea e nas articulações interfalângicas. São vários fatores que contribuem a sua etiologia (MOTA et al., 2011).

O tratamento não farmacológico pode prevenir e/ou curar a UD. Como abordagem preventiva é recomendada ao paciente evitar exposição ao frio, evitar fumo, ferimentos e traumas nas mãos (MOUTHON et al., 2014). É necessário tratamento multidisciplinar para que haja logo cicatrização, pois podem evoluir para infecções secundárias, ulcerações e até amputação, em decorrência da necrose isquêmica. Dessa forma, provoca o comprometimento do bem-estar do paciente causando impotência funcional interferindo nas atividades cotidianas (HINCHCLIFF; VARGA, 2008).

2.6 Capilaroscopia periungueal

A Capilaroscopia periungueal (CPU) é o exame de imagem que auxilia no diagnóstico precoce da ES, também útil na detecção da gravidade e prognóstico da doença (SAMPAIO-BARROS; PERCIVAL et al., 2013). A primeira descrição da visualização de capilares

sanguíneos por meio de amplificação óptica é datada de 1663. Apesar de ser um método antigo, existente a mais de 400 anos, só foi introduzido e padronizado no Brasil na década de 80 (ANDRADE, 1990).

É um exame não invasivo de grande importância para observação e identificação da morfologia na microcirculação em ES ou doenças associadas. Dois métodos são mais utilizados para elaboração da CPU, a lupa estereomicroscópica e a videocapilaroscopia, que usa sistema informatizado na aquisição das imagens. O Videocapilaroscópio acopla um microscópio com lente de maior aumento a uma câmera de vídeo digital (KAYSER; ANDRADE, 2004).

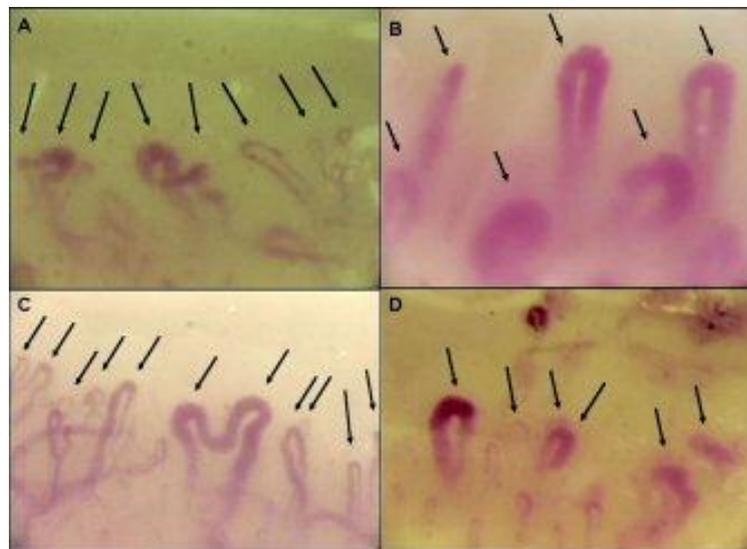
De acordo com os padrões definidos por Cutolo e colaboradores (2000), há uma tendência sequencial temporal de evolução do padrão capilaroscópico. Os padrões baseados na morfologia dos capilares são: o padrão precoce, onde há uma boa organização nos capilares, eles são poucos dilatados ou megacapilares e apresentam escassas hemorragias. O padrão ativo existe uma ligeira a moderada desorganização nos capilares, megacapilares e frequentes hemorragias. Já no padrão tardio, observa-se uma desorganização muito evidente nos capilares, áreas avasculares, fenómeno de neovascularização, escassos megacapilares e hemorragias.

Em indivíduos saudáveis, a forma, o tamanho e a cor dos capilares são homogêneos. As alças podem apresentar pequenas variações morfológicas, como tortuosas ou enoveladas. A densidade capilar é feita pela contagem das alças em um milímetro, variando de 7 a 12 capilares, embora a maioria dos estudos apontam ≥ 9 capilares/mm (GRASSI, 2007). Capilares dilatados ou megacapilares e microhemorragias apresentados na CPU, tem grande significado no diagnóstico precoce da ES. Estas alterações são mais comuns de serem encontradas na fase ativa da doença, a presença de capilares ramificados ou arbustos, estão associados a danos vascular na fase avançada da doença (MUROI et al., 2011). Alguns achados em CPU relacionados aos padrões panorâmicos: o padrão normal apresenta capilares dispostos em paliçadas, distribuição regular e homogeneia, discretas variações na forma e tamanho da alça e ausência de desvascularização capilar, no padrão SD observa-se desvascularização capilar focal e difusa, capilares ectasiados e capilares aneurismáticos-megacapilares (ANDRADE, 1990).

Estas fases evoluem e são correlacionadas à magnitude da doença. Havendo diminuição nos capilares ocorrerão grandes riscos de o paciente desenvolver UD. A figura 5 mostra algumas imagens ilustrativas de achados morfológicos na CPU. Os agrupamentos de

capilares torcidos e espinhosos caracterizam a neoangiogênese e significam hipóxia local. Os megacapilares ou capilares gigantes são a característica mais marcante e primeira a ser visualizada. Apresenta forma simétrica com diâmetro de 50 μ m, marcador de microangiopatia ligada a ES. As microhemorragias são também associadas a dano microvasculares, esta ligada a falta de integridade das células (SEBASTIANI, 2009).

Figura 5. Achados morfológicos de capilares periungueal (SEBASTIANI, 2009). Na figura 5A podem ser visualizados 8 capilares, 2 capilares gigantes; na figura 5B, são visualizados 6 capilares, 4 capilares gigantes; em 5C, há a presença de 11 capilares, sendo 1 capilar gigante e na figura 5D, 6 capilares, 4 capilares gigantes



2.7 Tratamento da ES

Esforços vêm sendo conduzidos a fim de promover o diagnóstico precocemente, o retardo do desenvolvimento da doença e a elucidação de mecanismos moleculares envolvidos para a identificação de alvos terapêuticos específicos e eficazes (ZIMMERMANN; PIZZICHINI, 2013)

Apesar do esforço, há dificuldade na condução de ensaios clínicos e terapêutica padronizada, devido a prevalência da doença ser baixa e a clínica ser muito diversificada. O tratamento do paciente vai depender do acometimento multissistêmico da doença, bem como a presença de doença ativa e reversível ou de dano irreversível (MATUCCI-CERINIC et al., 2009).

A primeira abordagem é sintomática e deve promover o alívio da dor do paciente proveniente das UDs, caso o paciente já seja acometido. É importante normalizar a circulação

do local, a cicatrização e evitar eventuais novas UD's. Estas podem durar meses ou até anos e são acompanhadas de muita dor. Recomenda-se, neste caso, o uso de curativos e antibióticos tópicos. O uso de antibióticos por via oral ou parenteral dependerá dos resultados da cultura antimicrobiana. Não são recomendados os anti-inflamatórios não esteroides, devidos à toxicidade renal e risco de doenças gastrointestinais. Aconselha-se o uso de analgésicos e antipiréticos não opiáceos (GHOLAM, 2009). Não existe ainda nenhum tratamento disponível que bloqueie completamente o curso normal da ES. Cuida-se, portanto, da sintomatologia e complicações surgidas com a sua progressão (VITELLO, 2012).

A secretaria de atenção à saúde do Ministério da Saúde aprovou o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da esclerose sistêmica, cuja portaria conjunta nº 09, de 28 de agosto de 2017 preconiza os seguintes fármacos para tratamento da ES:

- Ciclofosfamida: drágeas de 50 mg; frasco-ampola de 1.000 mg e 200 mg. Reduz a progressão da fibrose pulmonar e cutânea.
- Metotrexato: comprimidos de 2,5 mg; solução injetável de 50 mg/2mL. Melhora clínica do espessamento cutâneo e sintomas articulares.
- Sildenafil: comprimidos de 25 e 50 mg. Melhora do FRY, cicatrização e diminui o número de úlceras digitais isquêmicas.
- Captopril: comprimidos de 25 mg . Normaliza a pressão arterial e função renal.
- Nifedipino: comprimidos de 10 mg. Diminui a frequência e gravidade de ataques isquêmicos relacionados ao FRY.
- Azatioprina: Cartucho contendo 50 comprimidos revestidos de 50 mg. Reduz a progressão da fibrose pulmonar.
- Metoclopramida: comprimidos de 10 mg. Melhora da motilidade esofágica e da plenitude gástrica.
- Omeprazol: cápsulas de 10 e 20 mg. Melhora do refluxo gastroesofágico.
- Besilato de anlodipino: comprimidos de 5 e 10 mg. diminui a frequência e gravidade de ataques isquêmicos relacionados ao FRY

- Prednisona: comprimidos de 5 e 20 mg. Doença intersticial pulmonar relacionada à esclerose sistêmica.

2.7.1 Iloprostá

A Iloprostá, análogo de prostaciclina estável, usado para o tratamento do FRy secundário, pode ter efeito favorável no retardo da progressão da ES. Iloprostá tem efeito citoprotetor e imunomodulador, sendo benéfica e efeito durador na microcirculação (SCORZA, et al.; 2001). Há um sinergismo entre o óxido nítrico (NO) e a prostaglandina (PG12). O ON é catalisado pela enzima óxido nítrico sintases (NOSs). A prostaglandina endoperóxido H sintase-1 (PGHS-1), enzima que converte o ácido araquidônico em PG12 nas células do endotélio. A adenilato ciclase é ativada pela PG12 elevando o monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) intracelular), ocorrendo uma ação antiplaquetária e induzindo a vasodilatação. A L-arginina forma o ON que promove a produção de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP). A isoforma motivada na PGHS é a ciclo-oxigenase. (LEUNG; MORSER, 2012).

O uso da iloprostá é contraindicado em mulheres grávidas, período de amamentação, traumas, úlceras péptica ativa, cardiopatia, hemorragia intracraniana, entre outro (PCDT, 2014). Este medicamento provoca dentre outros efeitos colaterais insônia, dores de cabeça, rubor e insuficiência renal (CHEN; JOWETT; BARTON et al., 2009).

Um estudo feito com a administração da iloprostá intravenoso associada com bosentana indicou que houve melhora na cicatrização de úlceras existentes antes do tratamento e bloqueio do aparecimento de novas UD's (KOWAL-BIELECKA et al., 2009). Ainda não faz parte da primeira linha do SUS para tratamento de úlceras digitais, mas tem-se usado muito no Brasil, através de demanda judicial, mesmo tendo-se tornado padrão no tratamento pra vasculopatia digital. Na Europa e Estados Unidos, a iloprostá, por via endovenosa, é muito usada no tratamento de FRy grave e com aparecimento de úlceras e isquemia (RIEMEKASTEN, 2006). No Brasil, o uso de iloprostá inalatório é preconizado pelo protocolo clínico para tratamento de hipertensão arterial pulmonar (HAP) (PCDT, 2014).

O fármaco nifedipina é utilizado como terapia de primeira linha pelo SUS no tratamento de FRy para evitar o aparecimento das UD's. A iloprostá vem sido sugerida pela Liga Europeia Contra o Reumatismo (EULAR) para uso como tratamento de primeira linha na vasculopatia digital grave, com objetivo minimizar os eventos e gravidade dos ataques do FR, curar as UD's do momento (EULAR) (KOWAL-BIELECKA, 2009). Em pesquisa recente, Foti e

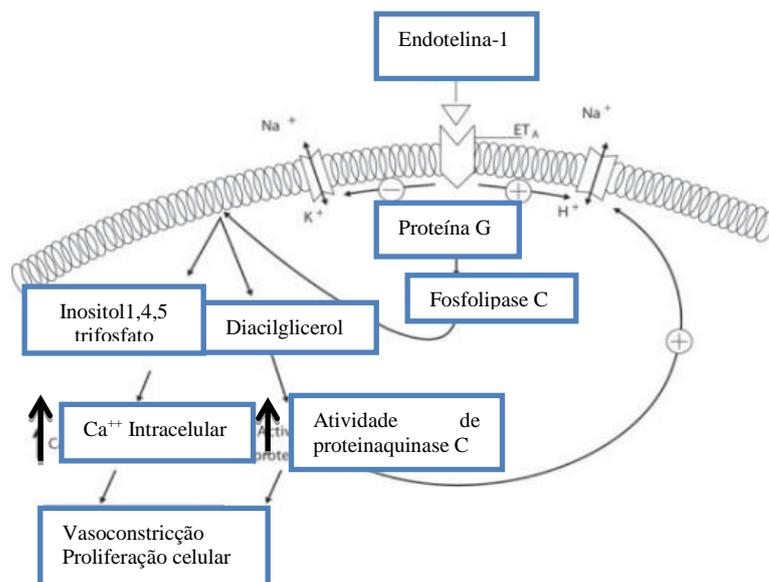
colaboradores (2017) demonstraram que a infusão da iloprosta por seis dias ininterruptos reduziu o aparecimento de novas UD's.

2.7.2 Bosentana

A Bosentana é um bloqueador duplo dos receptores A e B da molécula endotelina. Está entre os medicamentos de primeira linha da lista do SUS para tratamento de HAP (PCDT, 2017). É sugerido a sua utilização em pacientes com ES difusa que apresentam múltiplas úlceras, após utilização de antagonistas de cálcio. (STEEN, 2009).

A endotelina é um vasoconstritor muito potente e seu efeito tem longa duração. É liberada das células endoteliais e pelas enzimas conversoras de endotelina. É essencial no controle da atividade dos vasos sanguíneos. Em condições normais tem baixo nível, mas em condições patológicas, como na HAP e em doenças do tecido conjuntivo, como a ES os níveis são elevados (YAMANE, 1994; ROUX et al., 1999; KIM et al, 2002). Com base na figura 6. Com base nestas descobertas achou-se conveniente bloquear os efeitos adversos desencadeados pela endotelina, este é feito pelos antagonistas dos receptores da endotelina (ARE). Estes receptores bloqueiam a ligação entre a endotelina e os vasos sanguíneos, fazendo o sangue fluir entre coração e pulmão. Quando os receptores são estimulados pela ET-1 a fosfolipase C é ativada, fazendo com que haja um aumento de trifosfato de inositol, diacilglicerol e cálcio intracelular contraindo as células musculares lisas (ERGUL, 2002).

Figura 6 - Mecanismos de ação sobre receptores de ET_A (Fonte: LEVIN, 1995)



A bosentana foi analisada em dois estudos do tipo clínico randomizado, RAPIDs-1 e RAPIDs-2, os quais concluíram que este fármaco não correspondeu com eficácia na cicatrização das UDs, no entanto foi eficaz na prevenção de novas. No RAPIDs-1, houve uma diminuição de 48% aparecimento de novas UDs nos pacientes que fizeram uso do bosentana por 16 semanas. No RAPIDs-2 teve uma baixa de 30% no aparecimento de novas UDs, porém não houve redução da dor (Korn JH et al 2004). A bosentana é o medicamento importado, usado como terceira linha para de HP na ES. Cada comprimido revestido de 125 mg contém: bosentana (monoidratada) 129,082 mg (equivalente a 125 mg de bosentana). Excipientes: amido, amido pré-gelatinizado, amidoglicolato de sódio, povidona, beenato de glicerila, estearato de magnésio e opadry amarelo. O valor da caixa com 60 comprimidos de 125 mg custa R\$ 13.383,57 (MS1221400860016PMC/SP). (<https://consultaremedios.com.br/bosentana-zodiac/p>).

2.8 Tipos de Estudos

2.8.1 Ensaio clínicos

Ensaio clínico consiste na avaliação do impacto clínico gerado por uma intervenção em certa condição clínica (TURA, 2003).

2.8.1.1 *Ensaio Clínico Randomizado (ECR)*

Segundo Carvalho (2013), o Ensaio Clínico Randomizado (ECR) é definido, de maneira geral, como um estudo do tipo experimental, há manipulação de intervenções diretas sobre os indivíduos em estudo e atribuição aleatória da intervenção em causa. Este é avaliado como padrão de excelência entre outros métodos de investigação clínica estudada, pois tem a capacidade de exibir evidências científicas diretas e menor probabilidade de erro. Entretanto, é propenso a vieses, se houver descuido dos pesquisadores na seleção da amostra e avaliação das variáveis, ou na dificuldade de controlar alguns fatores influenciadores do desfecho de interesse.

Para que um estudo seja classificado como ECR é necessário que apresente quatro características importantes no estudo científico: i) comparação entre intervenções aplicadas à saúde de seres humanos, ou seja, estudos sem relação direta com a saúde; ii) as intervenções são planejadas antes e após a exposição controlada pelos estudiosos; iii) duas ou mais intervenções são comparadas ao estudo, consistindo em grupo controle, sem nenhum

procedimento ativo; e iv) a aplicação das interferências deve ser aleatória, tendo apenas a chance influenciando o processo (SOUSA, 2009).

2.8.1.2 *Ensaio Clínico não Randomizado (ECnR)*

Neste estudo há dois grupos, um de intervenção outro de controle, porém a escolha de cada grupo fica por conveniência do pesquisador, não se dá de forma aleatória. Os controles podem ser pacientes tratados simultaneamente ou tirados de registros médicos. É realizado quando está querendo demonstrar a eficácia de um novo tratamento. Faz uso desse estudo quando um ECR seria o melhor, porém não factível, devido a custos ou sem aceitação de gestores ou dos pacientes. As suas desvantagens são: i) o grupo amostral é determinado por conveniência; ii) a causalidade não é inferida diretamente; iii) os efeitos dos fatores confundidores podem não ser óbvios (GOULART; RAMSEY; PARVATHANENI, 2014).

Podemos classificar os ensaios clínicos como aberto (*Open label*), onde todos os envolvidos sabem a que grupo de tratamento pertence; mascarado ou cego (*blinded*), onde alguns ou todos os envolvidos na pesquisa não sabem sobre quais dos pacientes estão grupos nos grupos de controle ou experimental. Podem ainda ser simples cego, quando só o paciente não conhece o tratamento administrado (FLETCHER; FLETCHER; WAGNER, 2003); duplo cego, quando o paciente nem o médico sabem do tratamento (HADDAD, 2004); ou triplo cego, quando o paciente, o médico e nem o pesquisador sabem que paciente faz parte do grupo de controle ou do grupo de estudo (The Cochrane reviewers' handbook glossary, 2001); quadruplo cego, quando a pessoa que está escrevendo a discussão de forma geral também não sabe a identidade dos pacientes, somente ao final que os pacientes são identificados (CASTRO, 2001). De acordo com a procedência e execução da investigação do estudo pode classifica-lo como único centro, onde todos os pacientes selecionados pertencem a uma mesma instituição (HOCHMAN e col, 2005); e quando se tratar de vários centros é chamado multicêntrico, existindo nesse caso um estudo cooperativo envolvendo varias instituições (CAMPANA e col, 2001).

2.8.1.3 *Revisões Sistemáticas*

As Revisões Sistemáticas são estudos secundários que sumarizam os resultados e procuram estabelecer conclusões a partir de estudos primários (COOK; MULROW; HAYNES, 1997). Estes utilizam um processo abrangente de revisão da literatura, de forma imparcial e reprodutível, para localizar, avaliar criticamente e sintetizar o conjunto de evidências disponíveis na literatura científica para obter uma visão geral sobre determinada

questão de pesquisa (Clarke M, Horton R. 2001). A RS com metanálise é constituída instrumento valioso para agrupar evidências, quando assim for rigorosamente adotada nas etapas de elaboração. Pode-se incluir metanálise caso os resultados obtidos sejam agregados, quando não for possível, a RS fica só como qualitativa, ou seja, sem tratamento estatístico dos dados (Fuchs SC, 2010).

Segundo Cooper (2010) a RS pode ser apresentada em sete passos “i) identificação/formulação do problema de pesquisa, ii) coleta da literatura, livros, artigos, teses, documentos, artigos não publicados, entre outras fontes; iii) coleta das informações de cada estudo; iv) avaliação da qualidade dos estudos; v) análise e síntese dos resultados dos estudos; vi) interpretação dos dados coletados e vii) apresentação dos resultados de pesquisa”.

2.8.1.4 Metanálise

A metanálise é um método estatístico para demonstrar quantitativamente os resultados dos estudos individuais (Higgins JPT & Green S, 2011). Ela sintetiza os resultados dos estudos primários se beneficiando de estratégias que minimizam a ocorrência de erros aleatórios e sistemáticos (Goulart BH, et al, 2014). É baseada em uma linha de pesquisa na qual o autor deverá dar continuidade, mantendo-se atualizada, sempre incorporando novos trabalhos publicados (Higgins & Green, 2011).

Atualmente, existem vários *softwares* disponíveis para executar a meta-análise. Os comerciais incluem o FAST PRO, o STATA, o True Epistat, o DSTAT e o DESCARTES. Os de domínio público, de que é exemplo o *RevMan*, o Easy MA e o Meta-Analyst (Pocinho, 2008). As análises estatísticas possibilitam controlar a influência dos fatores de confusão e de interação em estudos primários. Tem-se como desafio, o fato de que nem todos os fatores importantes são conhecidos ou considerados nas análises. Devido a isto, os ECR são hierarquicamente superiores aos observacionais e, portanto, é necessário que ocorra ajustes da associação entre o fator da exposição e o desfecho. Os autores dos estudos individuais podem controlar a influência das variáveis de confusão, por regressão múltipla. Cada fator de confusão é colocado no modelo ao mesmo tempo com o fator de exposição. Nesses casos, o resultado terá um “desconto” da influência desses fatores de confusão e terminará numa medida “ajustada”. Se forem considerados tipos diferentes de estudos, para cada um terá a metanálise correspondente. Todas as metanálises querem de estudos observacionais ou ECR estão sujeitas a influência de heterogeneidade entre os diferentes estudos incluídos, mesmo não existindo dentro deles individualmente. As variáveis de confusão que foram consideradas nos

ajustes estatísticos, no caso de estudos observacionais, variam de acordo com os estudos e esta variabilidade contribui para aumentar a heterogeneidade entre os estudos (Diretrizes metodológicas, 2014).

Um parâmetro essencial da metanálise é a medida da heterogeneidade dos estudos incluídos. Esta pode ser atribuída como clínica, quando há diferença entre o perfil dos pacientes, tipo de intervenção e desfecho analisados ou quando aspectos metodológicos são discrepantes. São aplicadas técnicas estatísticas para verificar se há ou não diferença entre os estudos (Pereira MG e Galvão TF, 2014). A medida usual de heterogeneidade é o Q de Cochran, que possui distribuição como o teste do qui-quadrado com k (número de estudos) menos 1 grau de liberdade. O Q possui baixo poder como teste de heterogeneidade quando o número de estudos é pequeno (GAVAGHAN e Col. 2000) e muito poder quando há grande número de estudos (HIGGINS e Col. 2003). A estatística I^2 descreve o percentual de variação entre estudos que é devida à heterogeneidade mais do que ao acaso. Diferentemente do Q, a interpretação do I^2 não depende do número de estudos considerados (HIGGINS; THOMPSON, 2002). De acordo com Pereira MG e Galvão TF (2014), deve-se questionar a legalidade de agrupamento dos resultados dos estudos quando a heterogeneidade for alta. Diante de um resultado heterogêneo, o pesquisador pode ignorar, usando um modelo de efeito fixo na meta-análise; considerar a heterogeneidade, utilizando modelo de efeito aleatório e explorar a heterogeneidade, realizando análise de sensibilidade e meta-regressão.

Os métodos estatísticos são utilizados para ponderar as medidas de associação. O método do inverso da variância é usado para combinar tantos dados dicotômicos com contínuos. Tem alta aplicabilidade, combina qualquer medida de associação que tenha que mencionado erro padrão ou intervalo de confiança. A variância é o quadrado do erro padrão, e o erro padrão descreve a extensão em que a estimativa pode estar errada devido ao erro aleatório. Por este método constata que a variância é inversamente proporcional à importância do estudo, quer dizer, quanto maior a variância, mais peso é o dado ao estudo (Diretrizes metodológicas, 2014).

A tabela 3 eventos normalmente dicotômicos, tem como definição apresentada na tabela de contingência 2 x 2. Os estudos normalmente apresentam estimativas de medidas para tamanho do efeito, como, Odds ratio (OR), razão de chances, risco de relativo (RR) e número necessário para tratar (RODRIGUES; ZIEGELMANN, 2010).

Tabela 3 - Tabela de contingência 2x2 e os seus derivados (fonte: CARNEIRO, 2008)

		Resultado (outcome)	
		SIM	NÃO
Exposição	SIM	a	b
	NÃO	c	d

Risco Relativo. $RR = [a / (a + b)] / [c / (c + d)]$

Redução do Risco Relativo. $RRR = [c / (c + d)] - [a / (a + b)] / [c / (c + d)]$

Redução do Risco Absoluto. $RRA = [c / (c + d)] - [a / (a + b)]$

Número Necessário Tratar. $NNT = 1 / RRA$

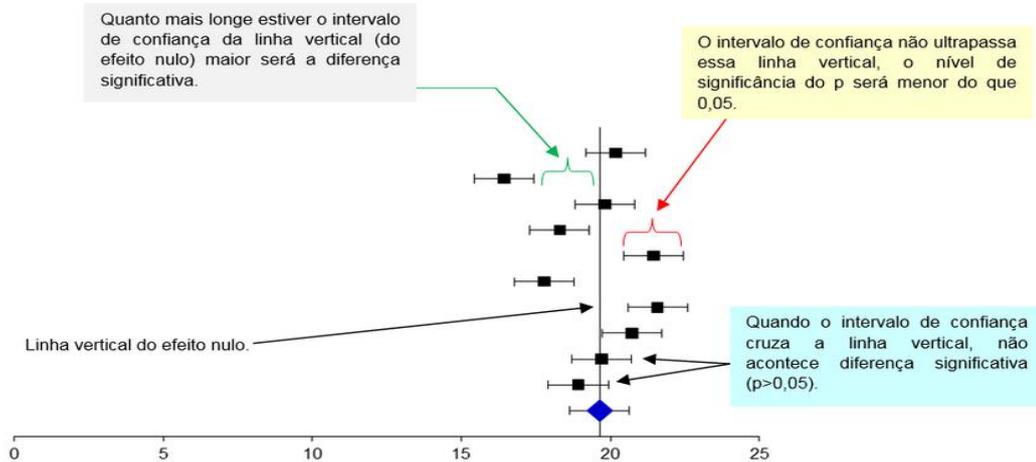
Odds Ratio. $OR = [(a / b) / (c / d)] = ad / cb$

O programa mais utilizado na estatística para calcular a meta-análise é o *Review Manager* (RM). Utilizado quando os estudos inclusos apresentarem os números de eventos no grupo exposto e não exposto pelo método de Mantel-Haenszel, gera uma medida mais justa. O *Review Manager* também permite sumarizar as medidas de associação dos estudos. Para calcular a metanálise de uma medida de associação em escala logarítmica no RM, deve-se escolher como tipo de dado “inverso da variância genérica”, sendo assim possível colocar os dados da medida de associação de escolha e seu erro padrão. O método de análise é o inverso da variância, que permite calcular a metanálise. O gráfico da metanálise também será em escala logarítmica, sendo assim os intervalos de confiança parecem simétricos. A apresentação dos resultados pode ser expressa por tabelas ou gráficos. A mais usada é o gráfico “*Forest plot*” ou floresta. (Diretrizes metodológicas, 2014).

O gráfico de floresta é um gráfico que apresenta várias informações importantes, onde se podem interpretar os dados da meta-análise. Na figura 7 o gráfico apresenta as medidas de associação, com respectivos intervalos de confiança, tanto para os estudos individuais como para a meta-análise, em textos ou gráficos. As linhas horizontais representam cada estudo, podendo ser identificado pelo nome do autor e a data de publicação ou pelo acrônimo do estudo. Ao lado estão os dados da incidência do desfecho (numero de caso sobre o total de pacientes no grupo intervenção e controle). O quadrado com linhas em ambos os lados horizontais do quadrado, que representam o intervalo de confiança da estimativa, corresponde à medida entre exposição e desfecho nos estudos individuais. Os pontos situados sobre as linhas horizontais representam a medida de associação de cada estudo. O tamanho de cada quadrado é proporcional ao peso do estudo na meta-análise e quanto maior o quadrado, maior o número de participantes/eventos analisados. Atravessando a linha vertical, o intervalo de

confiança 95% contém o valor 1(um), deduz-se que naquele estudo referente o efeito do tratamento sobre a ocorrência do evento não foi significativo (RAMALHO, 2005).

Figura 7 - *Forest plot* (Fonte: https://www.researchgate.net/profile/Nelson_Marques_junior)



Quando a divisão das proporções dos acontecimentos, no grupo exposto e do grupo controle for 1 (um), ou o resultado das diferenças nas proporções dos acontecimentos nos dois grupos for 0 (zero), significa que os efeitos da intervenção foram iguais nos dois grupos. Significando ausência de associação entre o tratamento em estudo e a ocorrência do evento. Resultados representados a esquerda da linha vertical demonstra que o evento é mais tendente a ocorrer no grupo de controle, e no lado direito da linha vertical, demonstram maior propensão a ocorrer no grupo experimental. O diamante negro, apresentado na parte inferior do gráfico, representa a medida sumaria das medidas de associação, significando a metanálise. (MARTINEZ, 2007)

2.9 Avaliação de Qualidade dos Estudos

Para avaliação da qualidade metodológica de estudos não randomizados, é utilizada a ferramenta *Newcastle-Ottawa Scale* (NOS). Este instrumento avalia parâmetros relacionados à amostragem, seleção, exposição e desfechos clínicos. É composto de um questionário com os domínios de avaliação de risco de viés, seleção de pacientes, comparabilidade dos grupos no estudo, métodos de avaliação dos desfechos, comprovação da exposição e seguimento adequado (Ministério da Saúde, 2012). A qualidade dos estudos sinaliza a segurança que será mostrado nos resultados. A delimitação dos estudos e especificidade desses vieses pode ter maior ou menor magnitude (PEREIRA, 2014).

3 METODOLOGIA

3.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo de recuperação e análise crítica de ensaios clínicos não randomizados, cujo delineamento tenha avaliado a eficácia dos medicamentos bosentana e iloprostá no tratamento das microvasculopatia da Esclerose Sistêmica.

3.2 Período de Estudo e Considerações Éticas

De acordo com a Resolução nº 466/12, Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, neste modelo de estudo, não há necessidade de autorização prévia do Comitê de Ética. A coleta dos dados realizou-se no período de 30/08 à 20/12/2017.

3.3 Formulação da Pergunta PICO

Os elementos principais do acrônimo PICO nortearam a identificação dos descritores em saúde que permitam recuperar a melhor evidência disponível em cada base tabela 4. Foi utilizada para estruturar a pergunta para a pesquisa. “P” de população, pacientes portadores de ES; “I” de intervenção, bosentana; “C” de comparador, iloprostá; “O” de *outcomes*, traduzido ao português - desfecho, parâmetros microvasculares: capilares gigantes, ramificados, presença de microhemorragias, perfusão sanguínea ungueal e presença de úlceras digitais. A estrutura dos elementos norteadores da ferramenta PICO. A pergunta da pesquisa é: “A *Iloprostá associada à Bosentana é eficaz no tratamento das manifestações microvasculares quando comparado a Iloprostá em pacientes com esclerose sistêmica?*”

Tabela 4 - Eixos norteadores da pergunta PICO

População	Pacientes com microvascularização da ES
Intervenção	Bosentana + Iloprostá
Comparador	Iloprostá
Outcomes	Capilares gigantes, ramificados, presença de micro-hemorragias, perfusão sanguínea ungueal e presença de úlceras digitais

3.4 Critérios de Elegibilidade

Foram incluídas no trabalho ensaios clínicos não cujo delineamento avaliou a eficácia da bosentana e iloprost no tratamento da microvasculatura periférica das mãos em pacientes portadores de esclerose sistêmica. Foram excluídos estudos que não foram disponibilizados leitura em texto integral, avaliaram elementos diferentes da pergunta PICO estabelecida e escritos em idiomas diferentes do inglês, espanhol e português.

3.5 Estratégias de Busca

As estratégias de busca foram elaboradas utilizando as ferramentas: “Descritores em saúde” da Biblioteca Virtual em Saúde (DECS - <http://decs.bvs.br/>) e o Medical Subject Headings (*MeSH*) do Medline via Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/MeSH/>). Os operadores booleanos “AND” e “OR” foram usados para conexão dos termos. A tabela 3 descreve as estratégias construídas, a data da busca e a quantidade de estudos localizados em cada base de dados.

Tabela 5 - Estratégias de busca

Base de dados	Estratégias	Nº de estudos (04/12/2017)
Pubmed	("iloprost"[mesh] OR iloprost OR "zk-36374" OR "zk 36374" OR "zk36374" OR ventavis) AND ("bosentan monohydrate"[mesh] OR "4-t-butyl-n-(6-(2-hydroxyethoxy)-5-(2-methoxyphenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-yl)benzenesulfonamide" OR tracleer OR "bosentan anhydrous" OR "ro 47-0203" OR "ro-47-0203") AND ("systemic sclerosis"[mesh] OR "sclerosis, systemic" OR "systemic scleroderma")	41
CRD	"systemic, scleroderma"	25
LILACS	(tw:(iloprost)) AND (tw:(bosentan)) AND (tw:("sclerosis, systemic"))	34
The Cochrane Library	iloprost AND bosentan	33
Total de estudos localizados		133

3.6 Fontes de Informação e Base de Dados

As bases de dados eletrônicas compreenderam: MEDLINE via Pubmed (www.pubmed.gov), *Center for Reviews and Dissemination* (CRD) (<http://www.crd.york.ac.uk/CRDWeb/>), LILACS (<https://www.clinicaltrials.gov/>) e Biblioteca COCHRANE (<http://onlinelibrary.wiley.com/cochranelibrary/search>). Também foram pesquisados os registros de estudos clínicos em andamento ou recentemente finalizados nas bases de dados *International Clinical Trial Registry Platform* (ICTRP, <http://www.who.int/ictpr>), *Clinical trials* (<https://clinicaltrials.gov/>) e na plataforma do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos ReBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>).

3.7 Triagem dos Estudos

A triagem dos estudos foi feita na etapa inicial pela leitura do título e resumo e posteriormente pela leitura de texto completo, de maneira independente por dois revisores. O *software* Endnote Web (www.myendnoteweb.com/) foi utilizado para remoção de amostras duplicadas ou sobrepostas. Em casos de sobreposição, foi incluído o estudo com maior número de casos. Quando o resumo do artigo não foi disponibilizado, entretanto o título for sugestivo de inclusão, preconiza mantê-lo entre os elegíveis de acordo com as diretrizes metodológicas do Ministério da Saúde (2014). Todas as divergências foram resolvidas por meio de consenso com a consulta de um terceiro investigador.

3.8 Análise Estatística

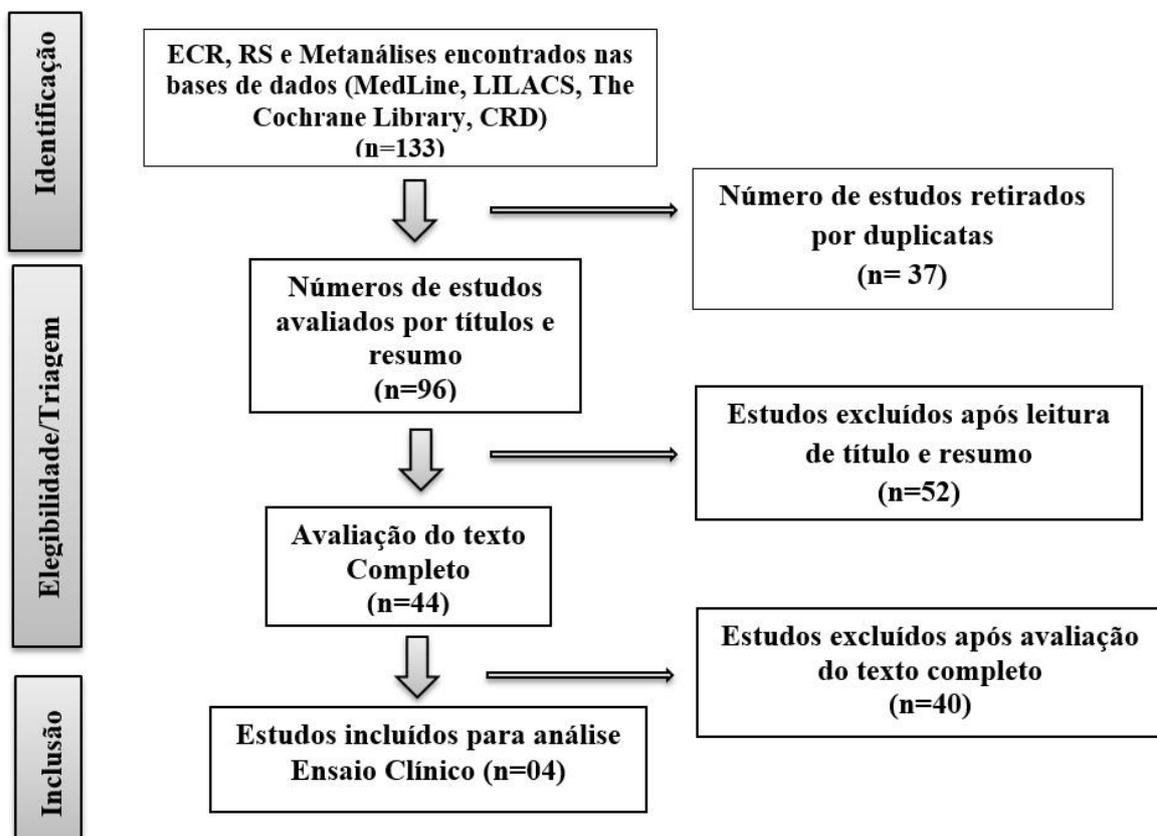
A análise estatística foi realizada utilizando o software Review Manager 5.3 (*RevMan*). Foi calculada a razão de chance (OR, do inglês *odds ratio*) para as variáveis dicotômicas, e a diferença da média (DM) para as variáveis contínuas. Em ambos os casos foram considerados um intervalo de confiança (IC) de 95%. Os desfechos avaliados foram quantitativamente resumidos utilizando o método Mantel-Haenszel para as variáveis calculadas pela métrica do OD, e o inverso da variância (IV) para as variáveis calculadas pela métrica foi testada com o Chi², sendo o Tau² (método IV) e (I²), utilizados para estimar a variância entre os estudos e como medida do nível de heterogeneidade estatística. O teste do qui-quadrado é o mais usado para identificar a heterogeneidade, com a finalidade de observar se as diferenças encontradas são explicadas ou não pelo acaso. Ela é avaliada pelo cálculo do I-quadrado, variando de 0-100%. Quando o i-quadrado for superior a 50% tem heterogeneidade substancial e acima de 75% já é considerada considerável (HIGGINS; GREEN, 2014).

4 RESULTADOS

4.1. Seleção dos Estudos

As estratégias de buscas utilizadas recuperaram um número total 133 artigos nas bases de dados eletrônicas distribuídos da seguinte forma: MEDline via Pubmed, 41; CRD, 25; LILACS, 34 e Biblioteca COCHRANE, 33. Destes estudos 37 foram retirados por estarem indexados em mais de uma base de dados, restando 96 artigos para leitura dos títulos e resumos. Após esta triagem inicial descartou-se 52 estudos por não corresponderem aos critérios de elegibilidade. Dessa maneira, 89 estudos no total foram excluídos no começo do processo de seleção, finalizando 44 à serem triados para leitura de texto completo, como apresentada na figura 8. Na leitura dos artigos na íntegra observou-se que 40 estudos não corresponderam aos critérios de elegibilidade: 26 diferiam do acrônimo PICO, 10 correspondiam ao delineamento experimental diferente de ensaio clínico e 4 estavam em idioma diferente dos estabelecidos para análise. Após triagem final, 4 estudos foram elegíveis para compor a revisão sistemática como observado o fluxograma de seleção dos estudos.

Figura 8 - Fluxograma de seleção dos estudos: Iloprosta só e Iloprosta associada à Bosentana



4.2 Características gerais dos estudos incluídos

Os estudos selecionados para inclusão mostrados na **Tabela 6** foram do tipo ensaio clínico, *openlabel*, com tempo médio de acompanhamento de 33 ± 15 meses. Um total de 181 indivíduos acometidos com ES, média de idade de $61,7 \pm 7,3$ anos e diagnosticados segundo os critérios da Academia Americana de Reumatologia (2013) e LeRoy e Medsger (2001). Os grupos intervenção e comparador obtiveram 105 e 76 pacientes recrutados, respectivamente.

Tabela 6. Descrição dos estudos incluídos

Estudo	Classificação Lim/Dif	Tempo de seguimento	Amostra	Metodologia	Iloprosta	Bosentana
Cutolo M, <i>et al</i> , 2013	24/6	36 meses	15 vs 15	VC	Infusão IV contínua de 80µg/dia, em ciclos de 5 dias a cada 3 meses	62,5mg 2x/dia durante 1 mês seguido de 125 mg2x/dia até o final do tratamento VO
Cutolo M, <i>et al</i> , 2014	13/13	36 meses	13 vs 13	VC FLD	Infusão IV contínua de 80µg/dia, em ciclos de 5 dias a cada 3 meses	125 mg2x/dia VO
Cestelli V, <i>et al</i> , 2016		12 meses	62 vs 33	VC	Infusão IV de 2ng/kg/min, mensal	125 mg2x/dia VO
Trombetta <i>et al</i> , 2017	A 22/8	48 meses	15 vs 15	VC FLD ACLP	Infusão IV contínua de 80µg/dia, em ciclos de 5 dias a cada 3 meses	125mg 1x/dia durante 1 mês seguido de 125 mg2x/dia até o final do tratamento VO

Lim: limitada; DIF: difusa; VC: videocapilaroscopia; FLD: fluxometria de laser doppler; ACLP: análise de contraste por laser pulsado; IV intravenosa; VO: via oral

4.3 Avaliação da Qualidade dos Estudos

Os estudos selecionados para meta-análise foram estudos tipo *open label*, de seguimento prospectivo e não randomizados. Portanto, conforme retratado na tabela 6, foram avaliados os estudos de acordo com a ferramenta para avaliação do risco de viés *Newcastel Ottawa Scale*.

Tabela 7 - Avaliação do Risco de Viés dos estudos incluídos.

Autor, ano	A seleção das coortes expostas e não expostas tiradas da mesma população?	Podemos ter confiança na avaliação da exposição?	Podemos ter certeza de que o resultado do interesse não estava presente no início do estudo?	O estudo fez o pareamento do grupo exposto e não exposto para todas as variáveis que estão associadas ao resultado de interesse ou a análise estatística se ajusta para essas variáveis prognósticas?	Podemos ter confiança na avaliação da presença ou ausência de fatores prognósticos?	Podemos ter confiança na avaliação do resultado?	O acompanhamento das coortes foi adequado?	As co-intervenções foram semelhantes entre grupos?
Cutollo, 2013	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Provavelmente sim	Definitivamente não (alto risco de viés)	Provavelmente sim	Provavelmente sim
Cutollo, 2014	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Provavelmente sim	Definitivamente não (alto risco de viés)	Provavelmente sim	Provavelmente sim
Cestelli, 2016	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Provavelmente sim	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Provavelmente sim	Provavelmente sim
Trombetta, 2016	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés)	Provavelmente sim	Definitivamente não (alto risco de viés)	Provavelmente sim	Provavelmente sim

Com a ferramenta do programa *RevMan* pode-se obter figuras resumindo o julgamento do risco de viés. A figura 9 apresenta os resultados individuais dos quatro estudos incluídos: Cutollo 2013, Cutollo 2014, Cestelli 2016 e Trombetta 2016. No domínio “O estudo fez pareamento do grupo exposto e não exposto para todas as variáveis associadas ao desfecho de interesse?”, Cutollo 2014, Cestelli 2016 e Trombetta 2016 tiveram alto risco de viés. No domínio sobre a segurança do desfecho, Cutollo 2013, Cutollo 2014 e Trombetta 2016 foram classificados como alto risco. Nos demais domínios todos foram baixo risco de viés.

Figura 9 – Avaliação de Risco de Viés dos Ensaio Clínicos não Randomizados (Review Manager 5.3)

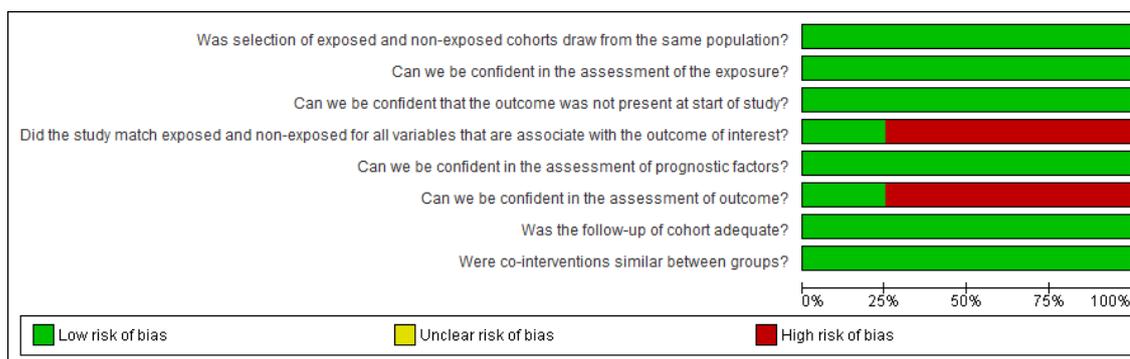
	Cestelli et al., 2016	Cutollo et al., 2013	Cutollo et al., 2014	Trombetta et al., 2016	
+	+	+	+	+	Was selection of exposed and non-exposed cohorts draw from the same population?
+	+	+	+	+	Can we be confident in the assessment of the exposure?
+	+	+	+	+	Can we be confident that the outcome was not present at start of study?
●	●	+	●	●	Did the study match exposed and non-exposed for all variables that are associate with the outcome of interest?
+	+	+	+	+	Can we be confident in the assessment of prognostic factors?
●	●	●	+	+	Can we be confident in the assessment of outcome?
+	+	+	+	+	Was the follow-up of cohort adequate?
+	+	+	+	+	Were co-interventions similar between groups?



Baixo risco de viés Risco de viés incerto Alto risco de viés

Em relação aos mesmos estudos o julgamento foi representado na Figura 10 na forma de percentual em relação aos mesmos domínios, ficando com 75% de risco de viés em relação aos mesmos estudos demonstrados na figura 9.

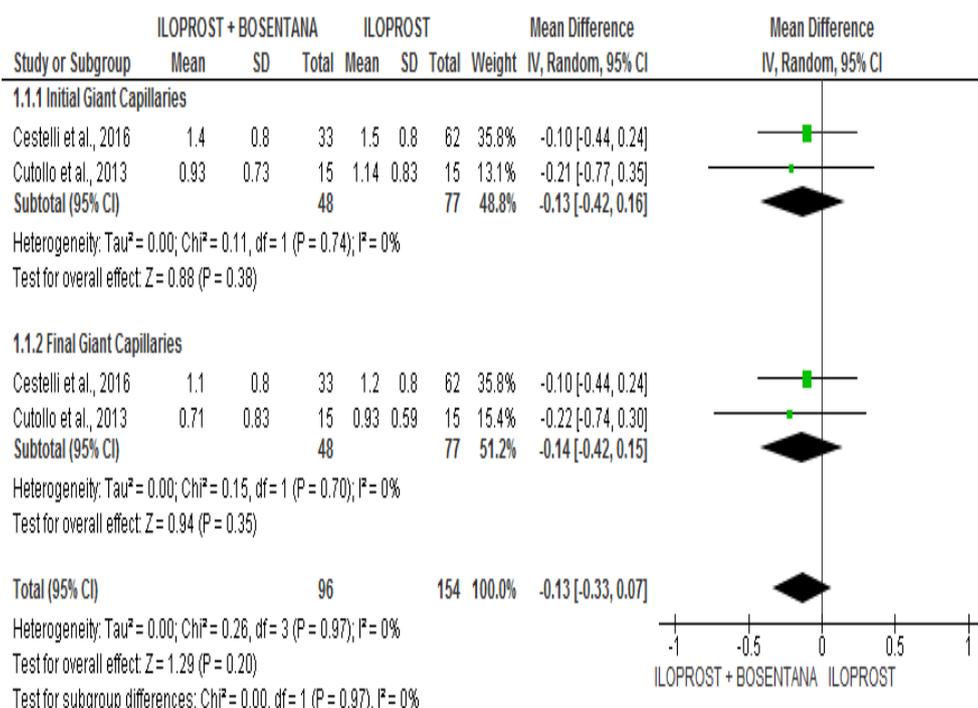
Figura 10 - Avaliação do risco de Viés dos ensaios Clínicos não-Randomizados (Review Manager 5.3)



4.4 Metanálise

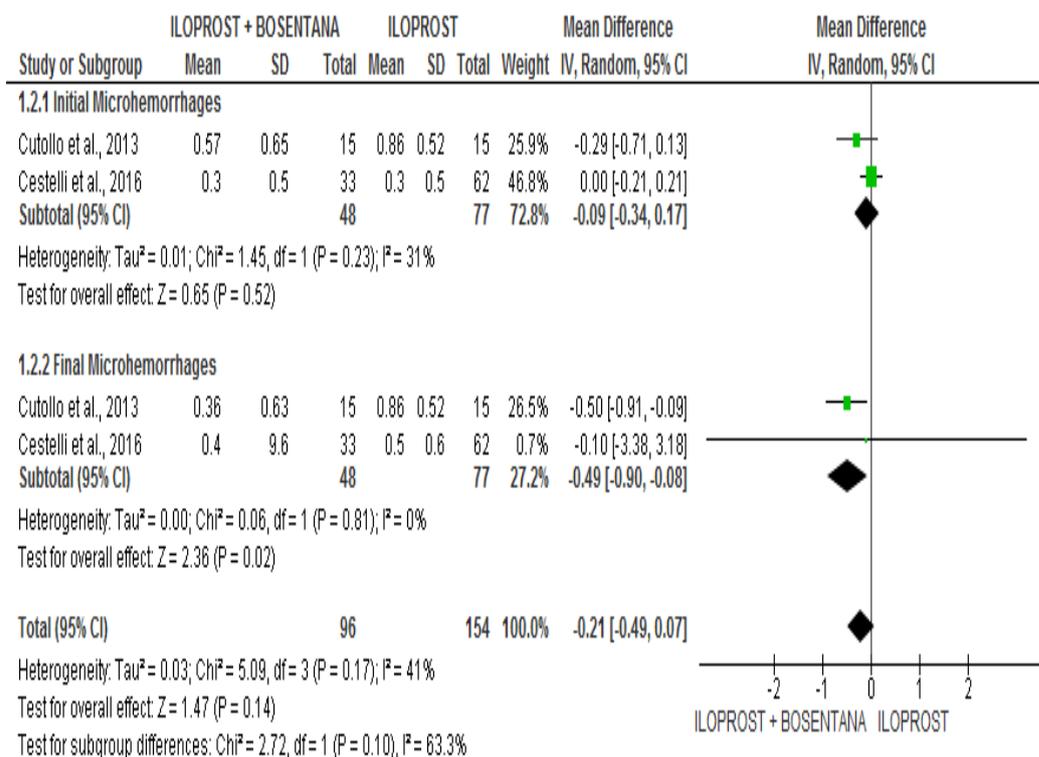
É possível verificar no gráfico de meta-análise demonstrado na **tabela 8**, tanto para os subgrupos capilares gigantes iniciais quanto para capilares gigantes finais, não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo intervenção e comparador, com $p=0.38$ e $p=0.35$, respectivamente. A meta-análise para este desfecho evidenciou, portanto, que não houve diferença entre os grupos intervenção e comparador, com diferença média (DM) = $-0,13[-0,33-0,07]$ e $p=0.20$. Pode-se constatar também que não houve heterogeneidade significativa, $I^2=0\%$.

Tabela 8-*Forest plot*: Meta-análise da avaliação de capilares Gigantes



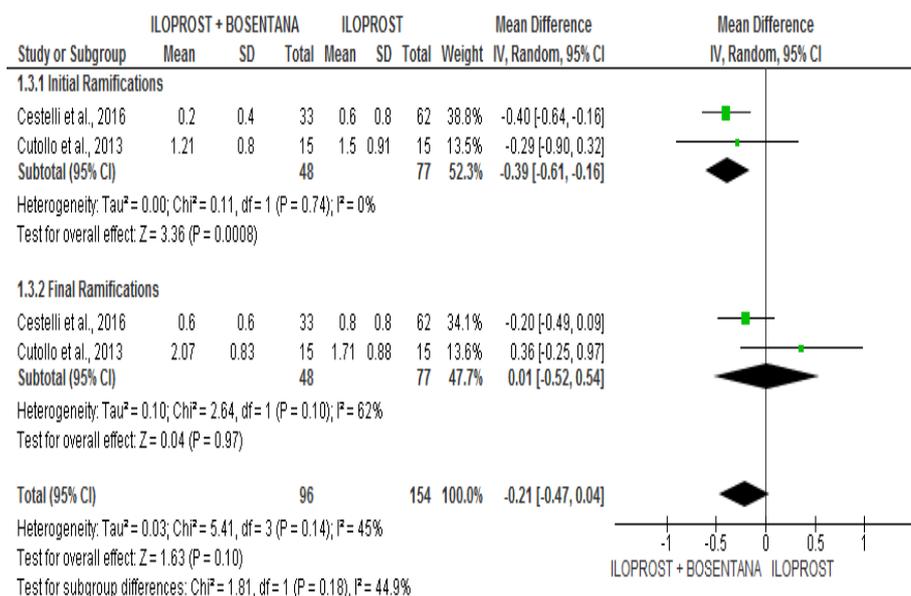
Na **tabela 9** abaixo está ilustrada a meta-análise do parâmetro “micro hemorragias”. Para este desfecho, não houve diferença estatística significativa entre os grupos intervenção e comparador na análise inicial com IV = -0,09[-0,34 0,17] e p=0,23. Entretanto, na análise da incidência final, houve diferença estatística significativa com IV= -0,49 [-0,90 -0,08] e p=0,02 favorecendo o grupo intervenção Iloprosta+ Bosentana. Todavia, a análise global da meta-análise, não apresentou diferença significativa entre os grupos, tendo o resultado IV = -0.21[-0,49 0,07] e p=0,14. Vale salientar que, houve presença de heterogeneidade moderada (I²=41%).

Tabela 9 - *Forest plot*: Meta-análise da avaliação de Micro hemorragias



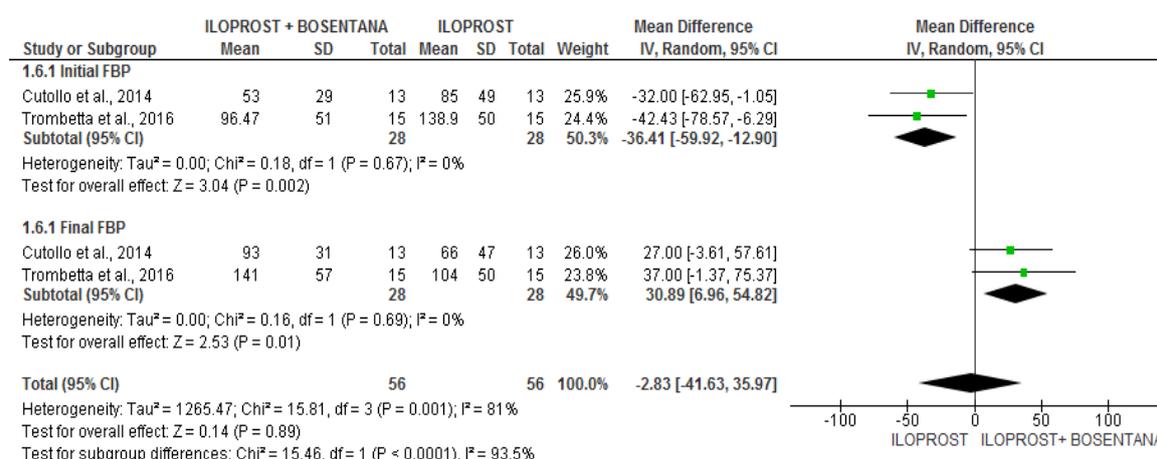
Para o desfecho “capilares ramificados” no início do tratamento, houve diferença estatística significativa entre os grupos, mostrando-se favorável a Iloprosta associada à Bosentana, com DM = -0.39 [-0.61, -0.16], $p = 0,0008$. Contudo, a avaliação dos capilares ramificados no final do tratamento não mostrou diferença estatística significativa e o resultado geral da meta-análise, visto no gráfico da **tabela 10**, não favoreceu nenhum grupo, com DM = -0,21[-0,47 0,04] e $p = 0,1$; e heterogeneidade moderada $I^2 = 44,9\%$.

Tabela 10 - *Forest plot*: Metanálise de Capilares Ramificados



A perfusão sanguínea ungueal foi avaliada pelos autores Cutollo *et al.*, 2014 e Trobetta *et al.*, 2016. Para este desfecho, houve diferença estatística significativa no subgrupo perfusão inicial favorável para o grupo comparador, com DM = -36.41 [-59.92, -12.90] e p=0,002. De maneira antagônica, a perfusão no final do tratamento beneficiou a intervenção Iloporosta + Bosentana com DM=30.89 [6.96, 54.82], p= 0,01. Todavia, na comparação global dos grupos intervenção e comparador, não foi revelada significância estatística como visto na **tabela 11**. É ressaltada a presença de heterogeneidade alta, com I²= 81%.

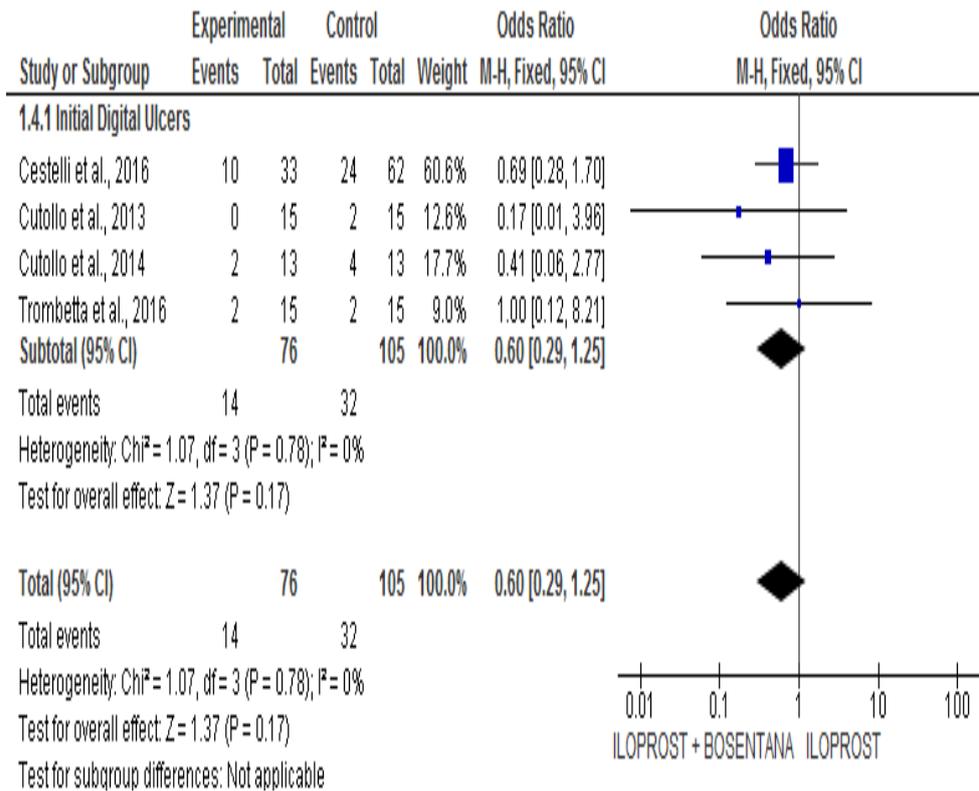
Tabela 11 - *Forest plot*: Metanálise de perfusão sanguínea ungueal



Por fim, todos os estudos avaliaram a incidência de úlceras digitais como demonstrado na figura 15. É possível constatar, para este desfecho que não ocorreu diferença estatística

significante entre os grupos intervenção e controle bem como se verificou ausência de heterogeneidade, com OD = 0,60 [0,29 1,25], $p=0,17$ e $I^2=0\%$.

Tabela 12. **Forest plot:** Metanálise incidência de Úlceras Digitais



5 DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática com meta-análise avaliou a eficácia da Iloprosta associada à Bosentana em comparação com a Iloprosta isolada no tratamento da microcirculação periungueal de portadores de Esclerose Sistêmica. Foram selecionados quatro estudos que avaliaram os desfechos: i) capilares gigantes ii) micro hemorragias iii) capilares ramificados iv) perfusão de sangue periungueal e iv) incidência de novas úlceras digitais. Estes parâmetros da microvascularização são marcadores úteis para o monitoramento das fases precoce, ativa e tardia da ES e foram utilizados nos ensaios clínicos como indicadores da eficácia do tratamento entre os grupos investigados.

A meta-análise mais recente dentro do tema proposto foi publicada por Tingey et al. 2013 que avaliou a eficácia de diversas terapias na cura e prevenção de úlceras digitais na esclerose sistêmica. Nesse trabalho foram incluídos 60 ensaios clínicos realizados até o ano de 2011. Dentre as classes de fármacos avaliadas, a Iloprosta foi alvo de 8 trabalhos os quais: 4 compararam ILO IV versus placebo, 1 comparou ILO oral versus placebo, 2 ILO IV versus nifedipina e 1 ILO IV versus aloprostadil. De todos os estudos, somente o de Wigley *et al.*, 1992 obteve resultado favorável ao uso da Iloprosta comparada ao placebo, com diferença média padrão = -0,77[-0,46, -0,08], IC95%. Em relação à Bosentana, apenas 2 ECR avaliaram o efeito do fármaco em comparação ao placebo na prevenção e cura de UD. Ambos começaram com 62,5 mg, duas vezes ao dia por via oral durante um mês com subsequente aumento para 125 mg também 2X/dia, com acompanhamento médio de 16 semanas. O resultado da meta-análise favoreceu ao uso da Bosentana para os desfechos: redução do número médio de novas úlceras, DM= -0,34[-0,57; -0,11], IC95%, p=0,004 e redução do número médio de novas úlceras em pacientes com UD basais, DM= -0,36 [-0,61; -0,11], IC95%, p=0,005. A avaliação da qualidade metodológica dos estudos individuais nesta meta-análise foi realizada por meio da ferramenta de escala Jadad (1996) e obteve para a Iloprosta mediana = 4, pontuação mínima de 1 e máxima de 5; Bosentana =4,5; mínimo 4 e máximo 5. No geral, alcançaram boa pontuação no questionário de Jadad (1996) e, portanto, infere-se que tiveram correta condução metodológica dos ensaios clínicos randomizados.

Diante dos resultados do uso da Iloprosta e Bosentana no tratamento das UD, nosso estudo objetivou a investigação da associação dos fármacos que ainda não foi reportada em uma revisão sistemática. O enfoque multimodal da associação entre Iloprosta e Bosentana é uma abordagem interessante já que na Microvasculopatia da ES ocorre desequilíbrio entre vasodilatação e vasoconstrição (Herrick AL, 2005).

Em nossa pesquisa, a análise dos desfechos capilares gigantes, ramificados e micro-hemorragias foi descrita por apenas 2 estudos: Cutollo e colaboradores (2013) e Cestelli e colaboradores (2016). Para estes parâmetros, a medida de efeito geral não favoreceu nenhum fármaco, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos intervenção e comparador. Todavia, quando analisado o score do desfecho micro hemorragias após o tempo de tratamento, houve diferença estatística significativa, favorecendo o grupo Iloprosta+Bosentana. Inesperadamente, outro resultado estatístico significativo associado ao grupo intervenção foi obtido quando analisado os capilares ramificados no tempo basal dos estudos. Apenas o estudo de Cutollo et al. (2013), menciona que os indivíduos envolvidos também faziam uso de outras medicações como aspirina e o buflomedil, um agente vasoativo da microcirculação periférica, e dessa maneira, poderia influenciar nos resultados iniciais da comparação. Entretanto, foi o estudo de Cestelli et al. (2016) que teve maior peso na meta-análise desse desfecho.

No tocante a perfusão sanguínea avaliada por Cutollo et al., 2014 e Trombetta et al.,2016, o teste do efeito global da meta-análise revelou não haver diferença estatística significativa entre os grupos bem como pode-se observar para o desfecho de incidência de úlceras digitais. Não obstante os estudos anteriores indicarem correlação positiva entre o uso da Iloprosta e Bosentana na prevenção de novas UD, o uso concomitante dos dois fármacos pode não apresentar efeito aditivo ou sinérgico para estes desfechos (TRATO, 2005).

Segundo Tura BR et al 2003, há duas possibilidades quando há diferenças estatísticas e clínicas, quando se tem número pequeno de pacientes necessário para o teste, a diferença clínica será considerada clinicamente importante e estatisticamente não significativa; quando a pesquisa apresentar mais pacientes que o necessário seria o inverso dos resultados. Alerta ainda que ao depararmos com tal situação entre as significâncias clínicas e estatísticas, é necessário que aconteça novos estudos para reforçar melhor as opiniões.

Os estudos incluídos nesta meta-análise foram do tipo *open label* e, por conseguinte passíveis do viés de avaliação do desfecho por parte dos investigadores. Todavia, são apropriados para verificar a eficácia de tratamentos semelhantes (HOCHMAN et al.,2005). A qualidade metodológica dos estudos, segundo a escala *New Castle – Ottawa* revelou que a despeito do nível de evidência que foi recuperado, eles foram bem conduzidos metodologicamente.

6. CONCLUSÃO

As evidências científicas localizadas na busca desta revisão sistemática com metanálise demonstram que não houve diferença estatística significativa entre os grupos iloprosta associada à bosentana, em comparação ao uso da iloprosta isolada no tratamento da microvascularização da Esclerose Sistêmica;

Em relação aos desfechos de microhemorragia e perfusão sanguínea periungueal, houve diferença clinicamente importante, porém não sendo estatisticamente significativa nos desfechos;

O custo-benefício da associação do bosentana a iloprosta não é suficiente para que seja incorporada ao tratamento, mesmo ter havido uma diferença clínica significativa nos desfechos de microhemorragia e perfusão sanguínea periungueal, não havendo diferença estatística significativa em nenhum dos desfechos.

REFERÊNCIAS

- ALARCÓN, S. **Tratado Hispanoamericano de Reumatología**: Vol. II. Bogotá: Schering Plough; 2007.
- ANDRADE, L.E.C. Panoramic nailfold capillaroscopy: a new reading method and normal range. *Semin Arthritis Rheum* 1990; 20: 21-31.
- BAGNATO, G.L.; HARARI, S. Cellular interactions in the pathogenesis of interstitial lung diseases. *Eur Respir Rev* 2015; 24: 102–114).
- BARNES, J.; MAYES, M.D. Epidemiology of systemic sclerosis: incidence, prevalence, survival, risk factors, malignancy, and environmental triggers. *Curr Opin Rheumatol*. 2012;24:16.
- BORTHWICK, L.A.; WYNN, T.A.; FISHER, A.J. Cytokine mediated tissue fibrosis. *Biochimica et biophysica acta*. 2013 Jul;1832(7):1049-60.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados**. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012. 92 p.: il.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas**. Hipertensão arterial Pulmonar. Portaria SAS/MS no 35, de 16 de janeiro de 2014, republicada em 06 de junho de 2014 e 23 de setembro de 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Esclerose Sistêmica**. Portaria conjunta nº 09, de 28 de agosto de 2017.
- BROWNS, S. Gestão de úlceras digitais relacionadas com esclerose sistêmica. **Enfermagem Padrão**. 2010 11 de fevereiro; 24,32: 53-62 .
- CAMPANA, A.O. **Investigação científica na área médica**. 1st ed. São Paulo: Manole; 2001
- CARNEIRO, A. Como avaliar a investigação clínica: O exemplo da avaliação crítica de um ensaio clínico. *J. Port Gastreenterol*. 2008. 15(1): 30-36. ISSN 0872-8178.
- CARVALHO, A.P.V.; SILVA, V.; GRANDE, A. J. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Revista Diagnóstico e Tratamento**, v. 18, p. 38-44, 2013.
- CASTRO, A.A. **Ensaio Clínico Aleatório**. [diapositivos de aula]. São Paulo, 2001. [cited 2004 Feb 24]; [about 8 p.]. Available from: URL: http://www.evidencias.com/pc_rct1.PDF.

CESTELLI, V. et al. Effect of treatment with iloprost with or without bosentan on nailfold videocapillaroscopic alterations in patients with systemic sclerosis, **Modern Rheumatology**, 2017 Jan;27(1):110-114.

CHARLES, C.; CLEMENTS, P.; FURST, D.E. “Systemic sclerosis: hypothesis-driven treatment strategies.” **Lancet**, vol. 367, no. 9523, pp. 1683–1691, 2006.

CHEN, Y.F. et al. Clinical and cost-effectiveness of epoprostenol, iloprost, bosentan, sitaxentan and sildenafil for pulmonary arterial hypertension within their licensed indications: a systematic review and economic evaluation. **Health Technol Assess**. Oct 2009;13(49):1-320.

COOK, D.J.; MULROW, CD.; HAYNES, R.B. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. **Ann Intern Med**. 1997;126(5):376-80.

COOPER, H. Research synthesis and meta-analysis: A step-by-step approach (3. ed.). Thousand Oaks, CA: Sage. 2010.

CLAPP, L.H. et al. Differential effects of stable prostacyclin analogs on smooth muscle proliferation and cyclic AMP generation in human pulmonary artery. **Am J Respir Cell Mol Biol** 2002;26:194-201.

CLARKE, M.; HORTON, R. Bringing it all together: Lancet-Cochrane collaborate on systematic reviews. **Lancet**. 2001 Jun 2;357:1728.

Classification criteria for systemic sclerosis: na ACR/EULAR, 2013. **Collaborative initiative**. **Ann Rheum**. 2013 Oct 3:NA.doi:10.1002.

CORDEIRO, A. **Esclerose sistêmica**.

http://www.spreumatologia.pt/files/publications/boletim-10-2011_s58_esclerose-sistemica_file.pdf.

CUTOLO, M.; SULLI, A. PIZZORNI, C.; ACCARDO, S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. **J Rheumatol**. 2000;27:155–60.

CUTOLO, M. et al. Longterm effects of endothelin receptor antagonism on microvascular damage evaluated by nailfold capillaroscopic analysis in systemic sclerosis. **J Rheumatol**. 2013;40:40–5.

CUTOLO, M. et al. Longterm Treatment with Endothelin Receptor Antagonist Bosentan and Iloprost Improves Fingertip Blood Perfusion in Systemic Sclerosis. **The Journal of Rheumatology**. Apr 2014, jrheum.131284; DOI: 10.3899/jrheum.131284.

ERGUL, A. **Endothelin-1 and endothelin receptor antagonists as potential cardiovascular therapeutic agents**. **Pharmacotherapy** 2002;221:54-65.

FLAVAHAN, N.A. et al. **The vasculopathy of Raynaud’s phenomenon and scleroderma**. **Rheum Dis Clin North Am** 2003;29:275-91.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Epidemiologia clínica: elementos essenciais**. 3rd ed. Porto Alegre: m Artmed; 2003.

FOTI, R. et al. **“Long-Term Clinical Stabilization of Scleroderma Patients Treated with a Chronic and Intensive IV Iloprost Regimen.”** *Rheumatology International* 37.2 (2017): 245–249. *PMC*. Web. 17 Jan. 2018.

FOX, P.; CHUNG, L.; CHANG, J. Management of the hand in systemic sclerosis. *J Hand Surg.* 2013;38D5:1012–6. doi:10.1016/j.jhsa.2013.02.012. quiz 7.

FRAKT.; A.B. An observational study goes where randomized clinical trials have not. *JAMA.* 2015;313(11):1091-2.

FUCHS, S.C.; Paim, B.S. **Revisão Sistemática de Estudos Observacionais com Metanálise.** *Clinical & Biomedical Research*, [S.l.], v. 30, n. 3, oct. 2010. ISSN 2357-9730. Available at: <<http://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/16551/9849>>. Date accessed: 31 jan. 2018.

GAVAGHAN, D.J.; MOORE, R.A.; MCQUAY, H.J. **An evaluation of homogeneity tests in meta-analyses in pain using simulations of individual patient data.** *Pain* 2000;85:415-24.

GHOLAM, P. et al. **Successful treatment of systemic-sclerosis-related digital ulcers with a selective endothelin type A receptor antagonist (sitaxentan).** *Dermatology.*2009; 219 : 171-173.

GOULART, B.H.; RAMSEY, S.D.; PARVATHANENI, U. Observational study designs for comparative effectiveness research: an alternative approach to close evidence gaps in head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;88(1):106-14.

GRASSI, W.; DE ANGELIS, R. **Capillaroscopy:** questions and answers. *Clin Rheumatol.* 2007;26:2009-16.

GAYRAUD, M. **Raynaud’s phenomenon.** *Joint Bone Spine* 2007; 74:e1-e8.

HADDAD, N. **Delineamento de Estudos Analíticos, em: Haddad N - Metodologia de Estudos em Ciências da Saúde:** como Planejar, Analisar e Apresentar um Trabalho Científico. São Paulo: Editora Roca, 2004;39-70.

HAMAGUCHI, Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: predictive value for clinical evaluation and prognosis. *J Dermatol.* 2010;37:42–53.

HERRICK, A.L. Pathogenesis of Raynaud’s phenomenon. *Rheumatology* 2005;44:587-96.

HIGGINS, J.P. et al. **Measuring inconsistency in meta-analyses.** *BMJ* 2003;327:557-60.

HIGGINS, J.P.T.; THOMPSON, S.G. **Quantifying heterogeneity in a meta-analysis.** *Statistics in Medicine* 2002;21:1539-58.

HIGGINS J. P. T.; GREEN, S. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions.** Version 5.1.0. Oxford: The Cochrane Collaboration, c2011 [cited 2014 Aug 8]. Available from: www.cochranehandbook.org

HINCHCLIFF, M.; VARGA, J. Systemic sclerosis/scleroderma: a treatable multisystem disease. *Am. Fam. Physician*, vol. 78, no. 8, pp. 961–968, 2008.

HORIMOTO, A.M.C. et al. Incidence and prevalence of systemic sclerosis in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Reumatologia** (English Edition), Volume 57, Issue 2, March–April 2017, Pages 107-114.

HORIMOTO, A.M.C.; COSTA, I.P. Autoanticorpos em esclerose sistêmica e sua correlação com as manifestações clínicas da doença em pacientes do Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**. Volume 55, Issue 3, May–June 2015, Pages 229-239.

HOCHMAN, B. et al. Desenhos de pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira** - Vol 20 (Supl 2) 2005.

JADAD, A.R. et al. **Assessing the quality of randomized clinical trials: Is blinding necessary?** *Controlled Clin Trials* 1996;17:1-12.

JOHNSON, S.R.; FELDMAN, B.M.; HAWKER, G.A. Classification criteria for systemic sclerosis subsets. **J Rheumatol** 2007; 34:1855-63.

KHANNA, P.P. et al. **Tendon friction rubs in early diffuse systemic sclerosis: prevalence, characteristics and longitudinal changes in a randomized controlled trial.** *Rheumatology*. 2010;49(5):955–9. doi:10.1093/rheumatology/kep464.

KAYSER, C.; ANDRADE, L.E.C. Capilaroscopia periungueal: importância para a investigação do fenômeno de Raynaud e doenças do espectro da esclerose sistêmica. **Rev Bras Reumatol**. 2004;44:46–52.

KAYSER, C.; CORRÊA, M.J.U.; ANDRADE, L.E.C. fenômeno de Raynaud. **Rev Bras Reumatol**, 2009;49(1):48-63.

KIM et al. **J Cardiovasc Pharmacol & Therapeut** 2002;(1): 9-19).

KOCH, A.E.; DISTLER, O. **Vasculopathy and disordered angiogenesis in selected rheumatic diseases: rheumatoid arthritis and systemic sclerosis.** *Arthritis Res Ther*. 2007;9 Suppl 2:S3.

KORN, J.H. et al. **Digital ulcers in systemic sclerosis: prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist.** *Arthritis Rheum*. 2004;50(12):3985-93.

KOWAL-BIELECKA, O. et al. EULAR recomendações para o tratamento de esclerose sistêmica: um relatório a partir dos Ensaios EULAR esclerodermia e grupo Research (EUSTAR) **Ann Rheum Dis**. 2009; 68 (5): 620-628.

KRAAIJ, M.D.; VAN LAAR, J.M. **The role of B cells in systemic sclerosis.** *Biologics*. 2008;2:389–95.

LEUNG, L.; MORSER, J. **Hemostasis and Vascular Inflammation.** In: *Inflammatory Diseases of Blood Vessels*, Second Edition, Hoffman GS, Weyand CM, Langford CA, et al (Eds), Wiley-Blackwell, Oxford, UK 2012. p.105.

LEROY, E.C. et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. **J Rheumatol.** 1988;15(2):202-5.

LEROY, E.C.; MEDSGER, T.A. J. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. **J Rheumatol.** 2001;28:573-6.

LEVIN, E.R. Endothelins. **N Engl J Med.** 1995;333:356-363.

LIMA-COSTA, M.F.; BARRETO, S.M. **Epidemiologia e Serviços de Saúde.** 2003 ; 12(4) : 189 – 201.

MARTINEZ, E. Z. Metanálise de ensaios clínicos controlados aleatorizados: aspectos quantitativos. (2007). **Medicina;** 40 (2): 223-35. Ribeirão Preto.

MATUCCI-CERINIC, M. et al. The challenge of early systemic sclerosis for the EULAR Scleroderma Trial and Research group (EUSTAR) community. It is time to cut the Gordian knot and develop a prevention or rescue strategy. **Ann Rheum Dis.** 2009; 68(9):1377-80.

MEDSGER, T.A.J. Classification, prognosis. In: Clements PJ, Furst DE editors. **Systemic sclerosis.** 2th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.17-28.

MITTAG, M.; BECKHEINRICH, P.; HAUSTEIN, U.F . Systemic Sclerosis-related Raynaud's Phenomenon: Effects of Iloprost Infusion Therapy on Serum Cytokine, Growth Factor and Soluble Adhesion Molecule Levels. **Acta Derm Venereol** 2001; 81: 294-297.

MOTA, J. et al. Úlceras digitais na esclerodermia Papeldos Antagonistas dos Receptores da Endotelinana Terapêut. **Acta Med Port** 2011; 24: 837-842.

MOUTHON, L. et al. Ischemic digital ulcers affect hand disability and pain in systemic sclerosis. **J Rheumatol.** 2014;41D7]:1317-23. doi:10.3899/jrheum.130900.

MUROI, E.; **A portable dermatoscope for easy, rapid examination of periungueal nailfold capillary changes in patients with systemic sclerosis.** *Rheumatol Int* 2011; 31:1601-6.

PEREIRA, M.G.; GALVÃO, T.F. **Extração, avaliação da qualidade e síntese dos dados para revisão sistemática.** *Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v. 23, n. 3, p.577-578, Sept. 2014.*

POCINHO, M. (2008). **Lições de revisão sistemática e metanálise.** Disponível em: http://docentes.ismt.pt/~m_pocinho/Licoes_de_revisao_sistematica_e_metanalise.pdf

POOLE, J.L.; MACINTYRE, N.J.; DEBOER, H.N. Evidence-based management of hand and mouth disability in a woman living with diffuse systemic sclerosis scleroderma]. **Physiotherapy Canada.** 2013;65D4]:317-20. doi:10.3138/ptc.2012-40.

QUAN, T.E. Circulating fibrocytes: collagen-secreting cells of the peripheral blood. **Int J Biochem Cell Biol** 36 (4), 598 (2004).

RAMALHO, A. **Manual para redacção de estudos e projectos de revisão sistemática com e sem metanálise**. Coimbra: FORMASAU, 2005. ISBN 972-8485-54-9.

REVIEW Manager (RevMan)[Computer program]. Version 5.1. Compenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration.

RIEMEKASTEN G, Sunderkötter C (2006) Vasoactive therapies in systemic sclerosis. **Rheumatology** (Oxford) 45(Suppl 3):iii49–iii51.

RODRIGUES CL, Ziegelmann PK. Metanálise: um guia prático **Rev HCPA** 2010.30(4):436-447.

ROSA, J.E. Incidence and prevalence of systemic sclerosis in a healthcare plan in Buenos Aires. **J Clin Rheumatol**. 2011;17:59-63.

ROUX, S. et al. **J Mol Med** 1999;77: 364-376) .

SAMPAIO-BARROS, P.D. et al . Recomendações sobre diagnóstico e tratamento da esclerose sistêmica. **Rev. Bras. Reumatol**. São Paulo, v. 53, n. 3, p. 258-275, June 2013 Available from<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042013000300004&lng=en&nrm=iso>.access on 17 Jan. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0482-50042013000300004>

SCHIOPU, E.; IMPENS, A.J.; PHILLIPS, K. Digital ischemia in scleroderma spectrum of diseases. **Int J Reumatologia**. 2010; 2010: 923.743.

SCORZA, R. et al. **Effects of long-term cyclic iloprost therapy in systemic sclerosis with Raynaud's phenomenon. A randomized, controlled study**. Clin Exp Rheumatol. 2001 Sep-Oct;19(5):503-8.

SEBASTIANI, M. et al. **Capillaroscopic skin ulcer risk index: A new prognostic tool for digital skin ulcer development in systemic sclerosis patients**. First published: 29 April 2009.

SEYMOUR, C.W.; KAHN, J.M. **Resolving conflicting comparative effectiveness research in critical care**. Crit Care Med. 2012; 40(11):3090-2.

SOUSA, M. R.; RIBEIRO, A.L.P.; Revisão sistemática e meta-análise de estudos de diagnóstico e prognóstico: um tutorial. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 92, n. 3, p. 241-251, Mar. 2009.

SOUZA, E.J.R.; KAYSER, C. Capilaroscopia periungueal: relevância para a prática reumatológica. **Rev. Bras Reumatol**. 2015;55(3):264-271.

STEEN, V. et al. Digital ulcers: overt vascular disease in systemic sclerosis. **Rheumatology** (Oxford), v. 48 Suppl 3, p. iii19-24, Jun 2009. ISSN 1462-0324.

TAN, F.K. **Systemic sclerosis: the susceptible host (genetics and environment)**. Rheum Dis Clin North Am. 2003 May; 29(2):211-37.

The Cochrane reviewers' handbook glossary. Version 4.1.2. [serial on the Internet]; Updated March 2001 © The Cochrane Collaboration 2001; [cited 2004 Feb 24]; [about 20 p.]. Available from: <http://www.cochrane.dk/cochrane/handbook/handbook.htm>.

TROMBETTA, A.C. et al. Effects of longterm treatment with bosentan and iloprost on nailfold absolute capillary number, fingertip blood perfusion, and clinical status in systemic sclerosis. **Journal of rheumatology.** 2016, 43(11), 2033 Online Publication Date: 2017.

TURA, B.R.; SOUZA E SILVA, N.A.; PEREIRA, B.P. Avaliação crítica e limitações dos ensaios clínicos. **Rev. Bras. de Cardiologia.** 2003. 16. 110-123.

VAN DEN HOOGEN, F. et al. 2013. Classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. **Ann Rheum Dis.** 2013;72:1747–55.

VARGA, J.; ABRAHAM, D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. **J Clin Invest.** 2007;117:557–67.

VARGA, J.; DENTON, C.P.; WIGLEY, F.M. Springer Science & Business Media, 21 de dez de 2011 - 689 páginas).

VERDELLI, A. Drug induction in connective tissue diseases. **G Ital Dermatol Venereol.** 2014; 149(5): 573-80.

VISWANATH, V.; PHISKE, M.M.; GOPALANI V.V. Systemic Sclerosis: Current Concepts in Pathogenesis and Therapeutic Aspects of Dermatological Manifestations. **Indian Journal of Dermatology.** 2013;58(4):255-268.

VITIELLO, M. et al. An update of the treatment of cutaneous manifestations of systemic sclerosis. The dermatologist's point of vie. **J Clin Aesthet Dermatol.** 2012; 5(7):33-43.

WALKER, J.G. et al. **The development of systemic sclerosis classification criteria.** Clin Rheumatol 2007;26:1401-9.

WALKER, U.A. et al. Geographical variation of disease manifestations in systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) group database. **Ann Rheum Dis.** 2009;68:856-62.

WELLS, G.A. et al. Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomized studies / http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.htm
Yamane K. Intern Med 1994;33(10): 579-582).

YOUNG, A. et al. **Hand Impairment in Systemic Sclerosis: Various Manifestations and Currently.** Curr Treat Options in Rheum (2016) 2:252–269).

YOUNG, A.; KHANNA. D. **Systemic sclerosis: a systematic review on therapeutic management from 2011 to 2014.** Curr Opin Rheumatol. 2015; 27(3): 241–8.

ZIMMERMANN, A.F.; PIZZICHINI, M.M. Atualização na etiopatogênese da esclerose sistêmica. **Rev. Bras. Reumatol.** vol.53 no. 6 São Paulo Nov./Dec. 2013.

APÊNDICE A - ARTIGO

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA BOSENTANA ILOPROSTA NO TRATAMENTO DA MICROVASCULARIZAÇÃO DA ESCLEROSE SISTÊMICA: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Jussara Cavalcanti de Aliança Bezerra¹, Priscilla Stela Santana de Oliveira², Meline Rosseto Kron Rodrigues³, Andréa Tavares Dantas², Moacyr Jesus Barreto de Melo Rego^{1, 2}, e Maira Galdino da Rocha Pitta^{1,2}

1- Programa de Pós-Graduação em Gestão e Economia da Saúde, Centro de Ciências Sociais Aplicadas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

2- Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

3- Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, São Paulo, Brasil.

RESUMO – A Esclerose Sistêmica (ES) é uma doença autoimune do tecido conjuntivo caracterizada por fibrose cutânea e dos órgãos internos. De acordo com a extensão e localização do acometimento cutâneo, os pacientes são classificados em duas formas clínicas: a cutânea limitada (CL) e a cutânea difusa (CD). A forma CL tende a apresentar um início mais insidioso, geralmente precedido pela presença do fenômeno de Raynaud (FRy) durante anos e o comprometimento vascular da ES é mais proeminente nessa forma clínica. Ensaios clínicos têm mostrado uso da iloprostá (ILO) e bosentana (BOS) na prevenção e tratamento de distúrbios microvasculares na ES. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo elaborar uma revisão sistemática com metanálise de estudos observacionais que avaliaram a eficácia do uso da Iloprostá associada ou não a Bosentana na microvascularização da ES, para isso, os desfechos de capilares gigantes (CG), capilares ramificados (CR), micro hemorragia (MH), úlceras digitais (UD) e perfusão sanguínea periungueal (PS) foram analisados. Para tanto, foi realizada uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos, identificados nas bases de dados eletrônicas MEDLINE (via Pubmed), LILACS, Center for Reviews and Dissemination (CRD) e Biblioteca COCHRANE, no período de 30/08/2017 à 20/12/2017. As estratégias de buscas utilizadas recuperaram um total 133 artigos e após triagem, 4 estudos foram considerados elegíveis e

tiveram seus resultados analisados por metanálise. Em relação ao desfecho de micro hemorragia (MH), analisando o score ao fim do tratamento, e o desfecho capilares ramificados (CR) no tempo basal, houve diferença estatística significativa, favorecendo a intervenção ILO+BOS. O desfecho de perfusão sanguínea (PS) teve diferença estatística significativa no início do tratamento favorecendo a ILO, porém no final do tratamento favoreceu a intervenção ILO+BOS. Contudo, a medida de efeito global nos desfechos capilares gigantes (CG), MH, CR, UD e PS não favoreceu nenhum fármaco, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos. Dessa forma, conclui-se que as evidências recuperadas demonstram que não há diferença estatística significativa entre a associação ILO+BOS em comparação a ILO no tratamento da no tratamento da microvasculatura periférica das mãos em pacientes portadores de ES.

1. INTRODUÇÃO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença autoimune crônica caracterizada pelo dano vascular, fibrose que compromete o tecido conjuntivo da pele e de vários órgãos como pele, pulmão, rins, coração e trato gastrointestinal¹ Duas formas clínicas podem ser identificadas na ES: a forma limitada, restrita as extremidades dos pés, mãos e face e de evolução lenta e a forma difusa, com envolvimento cutâneo generalizado, rapidez de progressão e acometimento precoce nos órgãos internos².

O fenômeno de Raynaud (FRy) é uma manifestação frequente da ES marcado pela vasoconstrição induzida por fatores como o frio, estresse e nicotina. Esse vasoespasmos pode levar a complicações mais graves como as úlceras digitais (UD). Estas são manifestações dolorosas que acometem as extremidades dos dedos, sobre a saliência óssea e na parte extensora das articulações interfalângicas das mãos³.

As estratégias terapêuticas para estas manifestações vasculares incluem várias classes de fármacos com ação vasodilatadora. São mais utilizados os bloqueadores dos canais de cálcio, simpatomolíticos, inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores dos receptores de angiotensina II, inibidores da receptação de serotonina^{4, 5}. A Iloprost, análogo da prostaglandina I₂, e a Bosentana, um inibidor dos receptores da endotelina, são medicamentos preconizados no tratamento da hipertensão arterial pulmonar (HAP)⁶. Contudo, estudos clínicos vêm demonstrando a eficácia desses vasodilatadores também na redução de ataques isquêmicos e surgimento de novas úlceras digitais^{7, 8}. Desse modo, o presente estudo teve

como propósito realizar uma análise sistemática com meta-análise das evidências acerca do uso associado dos vasodilatadores Iloprost e Bosentana na microvasculopatia da ES.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção dos estudos

A pesquisa abrangeu a busca na literatura nas bases de dados eletrônicas: MedLine via Pubmed, *Center of review and Dissemination* (CRD), LILACS, Biblioteca Cochrane e no registro de ensaios clínicos *Clinicaltrials* no período de 20 de agosto a 30 de dezembro de 2017. As estratégias de busca foram elaboradas utilizando a combinação dos termos (*entry terms*) obtidos por meio da pesquisa do *Medical subject headings* (Mesh) dos descritores “iloprost”, “bosentan” e “systemic sclerosis”. Dois pesquisadores (JCAB e PSS) realizaram a triagem dos artigos de maneira independente por meio da leitura do título e resumo e o gerenciador de referências *Endnote web* foi empregado para remoção de duplicatas. As discordâncias foram resolvidas por meio de consenso e quando necessário, um terceiro investigador (MGR) foi consultado.

Elegibilidade e avaliação da qualidade

Foram incluídas no trabalho estudos primários como ensaios clínicos não incluídos em estudos secundários como *overviews* e revisões sistemáticas cujo delineamento avaliou a eficácia da Iloprost associada a bosentana no tratamento da microvasculatura periférica das mãos em pacientes portadores de esclerose sistêmica. Foram excluídos estudos que não foram disponibilizados leitura em texto integral, avaliaram elementos diferentes da pergunta PICO estabelecida e escrita em idiomas diferentes do inglês, espanhol e português. A avaliação do risco de viés dos ensaios clínicos foi feita pelo questionário a Escala *Newcastle – Ottawa* para avaliação de qualidade de estudos de cohort⁹.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software Review Manager 5.3 (Rev Man). Foi calculado o risco relativo (RR) para as variáveis dicotômicas, e a diferença da média (DM) para as variáveis contínuas. Em ambos os casos foram considerados um intervalo de confiança (IC) de 95%. Os desfechos avaliados foram quantitativamente resumidos utilizando o método Mantel-Haenszel para as variáveis calculadas pela métrica do RR, e o inverso da

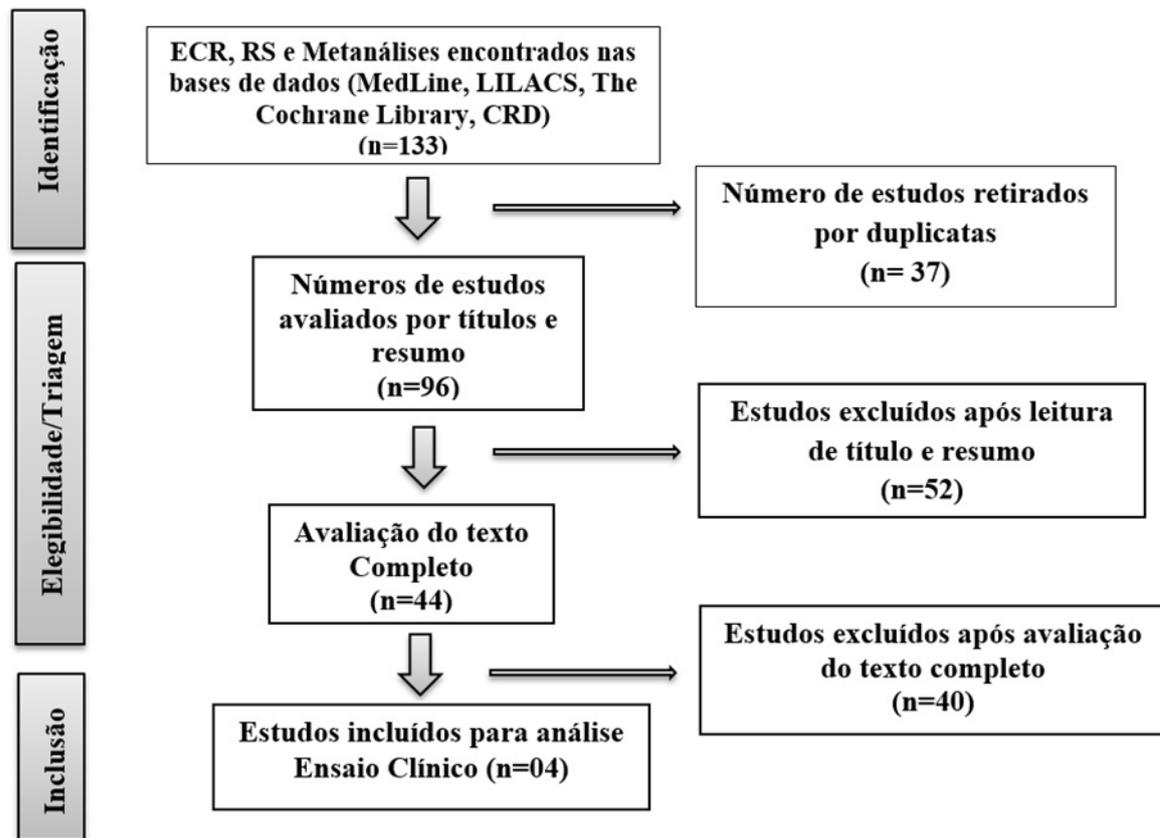
variância (IV) para as variáveis calculadas pela métrica foi testado com o Chi2, sendo o Tau2 (método IV) e (I²), utilizados para estimar a variância entre os estudos e como medida do nível de heterogeneidade estatística.

RESULTADOS

Identificação e seleção das buscas

Foram localizados 133 artigos nas bases de dados eletrônicas distribuídos da seguinte forma: MedLine via Pubmed, 41; CRD, 25; LILACS, 34 e Biblioteca COCHRANE, 33. Destes estudos 37 foram retirados por estarem indexados em mais de uma base de dados, restando 96 artigos para leitura dos títulos e resumos. Após esta triagem inicial descartou-se 52 estudos por não corresponderem aos critérios de elegibilidade. Dessa maneira, 89 estudos no total foram excluídos no começo do processo de seleção, finalizando 44 à serem triados para leitura de texto completo. Na leitura dos artigos na íntegra observou-se que 40 estudos não corresponderam aos critérios de elegibilidade: 26 diferiam do acrônimo PICO, 10 correspondiam ao delineamento experimental diferente de ensaio clínico e 4 estavam em idioma diferente dos estabelecidos para análise. Após triagem final, 4 estudos foram elegíveis para compor a revisão sistemática como observado o fluxograma de seleção dos estudos na **figura 1**.

Figura 1 - Fluxograma do processo de seleção dos estudos.



Os estudos selecionados para inclusão foram do tipo ensaio clínico open *label*, de seguimento prospectivo com tempo médio de acompanhamento de 33 ± 15 meses. Um total de 181 indivíduos acometidos com ES, média de idade de $61,7 \pm 7,3$ anos e diagnosticados segundo os critérios da Academia Americana de Reumatologia (2013)¹⁰ e LeRoy e Medsger (2001)¹¹. Os grupos intervenção e comparador obtiveram 105 e 76 pacientes recrutados, respectivamente. As características metodológicas dos estudos individuais estão descritas na **tabela 1**.

Tabela 1- Descrição dos estudos incluídos

Estudo	Classificação Lim/Dif	Tempo de seguimento	Amostra	Metodologia	Iloprostá	Bosentana
Cutolo M, <i>et al</i> , 2013	24/6	36 meses	15 vs 15	VC	Infusão IV contínua de 80µg/dia, em ciclos de 5 dias a cada 3 meses	62,5mg 2x/dia durante 1 mês seguido de 125 mg2x/dia até o final do tratamento VO
Cutolo M, <i>et al</i> , 2014	13/13	36 meses	13 vs 13	VC FLD	Infusão IV contínua de 80µg/dia, em ciclos de 5	125 mg2x/dia VO

					dias a cada 3 meses	
Cestelli V, <i>et al</i> , 2016		12 meses	62 vs 33	VC	Infusão IV de 2ng/kg/min, mensal	125 mg2x/dia VO
Trombetta A <i>et al</i> , 2017	A 22/8	48 meses	15 vs 15	VC FLD ACLP	Infusão IV contínua de 80µg/dia,em ciclos de 5 dias a cada 3 meses	125mg 1x/dia durante 1 mês seguido de 125 mg2x/dia até o final do tratamento VO

Lim: limitada; DIF: difusa; VC: videocapilaroscopia; FLD: fluxometria de laser Doppler; ACLP: análise de contraste por laser pulsado; IV intravenosa; VO: via oral

Avaliação da qualidade dos estudos

Os estudos selecionados para meta-análise foram estudos tipo ensaio clínico aberto e não randomizados. Portanto, foram avaliados segundo a ferramenta para avaliação do risco de viés *Newcastel Ottawa Scale*. No domínio “O estudo fez pareamento do grupo exposto e não exposto para todas as variáveis associadas ao desfecho de interesse?”, Cutollo 2014, Cestelli 2016 e Trombetta 2016 tiveram alto risco de viés. Na **figura 2A**, o domínio sobre a segurança do desfecho, Cutollo 2013, Cutollo 2014 e Trombetta 2016 foram classificados como alto risco. Nos demais itens para todos os estudos incluídos obtiveram boa execução metodológica por apresentarem baixo risco de viés. Na **figura 2B**, em relação aos mesmos estudos o julgamento foi representado em percentual em relação aos mesmos domínios, ficando com 75% de risco de viés em relação aos mesmos estudos demonstrados na **figura 2A**.

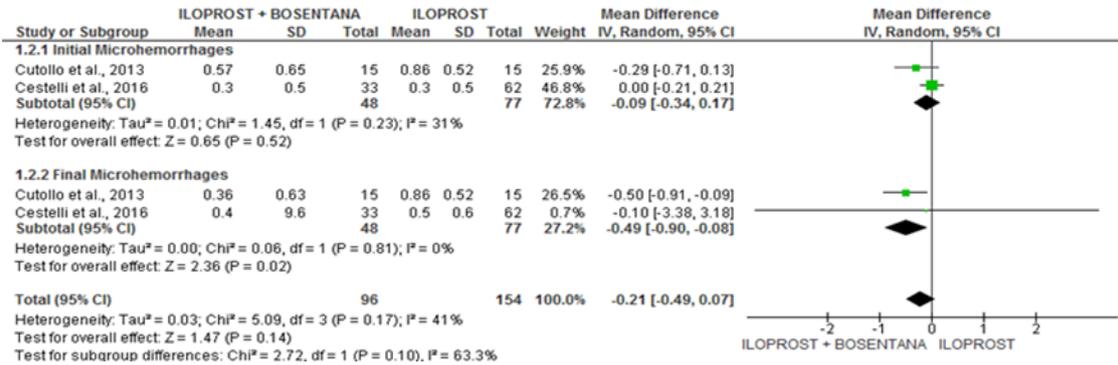
Figura 2: A) Gráfico de Risco de Viés dos Ensaio Clínicos não Randomizados individual e B) geral



Metanálise

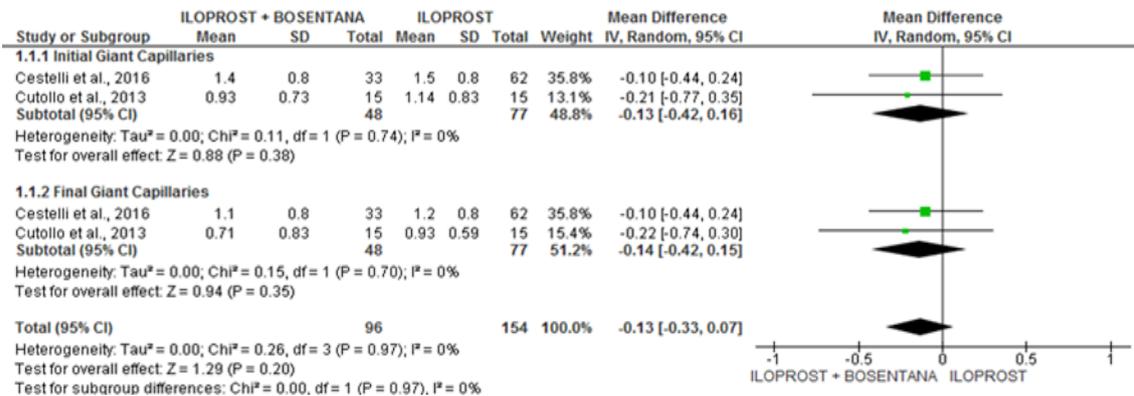
É possível verificar no gráfico de meta-análise demonstrado na **figura 3** que tanto para os subgrupos capilares gigantes iniciais quanto para capilares gigantes finais, não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo intervenção e comparador, com $p=0.38$ e $p=0.35$, respectivamente. A meta-análise para este desfecho evidenciou, portanto, que não houve diferença entre os grupos intervenção e comparador, com diferença média (DM) = $-0,13[-0,33-0,07]$ e $p=0.20$. Pode-se constatar também que não houve heterogeneidade significativa, $I^2=0\%$.

Figura 3. Metanálise do desfecho Microhemorragias

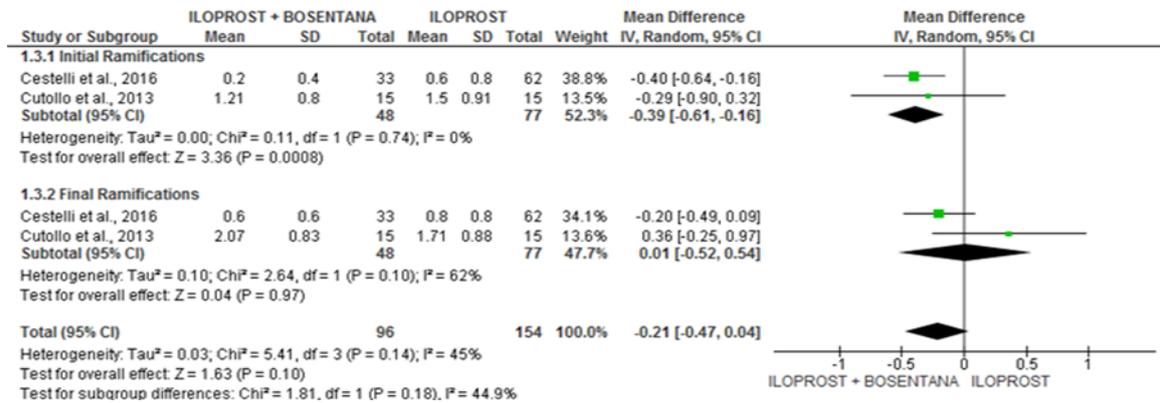


Na **figura 4** está ilustrada a meta-análise do parâmetro “micro hemorragias”. Para este desfecho, não houve diferença estatística significativa entre os grupos intervenção e comparador na análise inicial com IV = -0,09[-0,34 0,17] e p=0,23. Entretanto, na análise da incidência final, houve diferença estatística significativa com IV= -0,49 [-0,90 -0,08] e p=0,02 favorecendo o grupo intervenção Iloprosta+ Bosentana. Todavia, a análise global da meta-análise, não apresentou diferença significativa entre os grupos, tendo o resultado IV = -0.21[-0,49 0,07] e p=0,14. Vale salientar que, houve presença de heterogeneidade moderada (I²=41%).

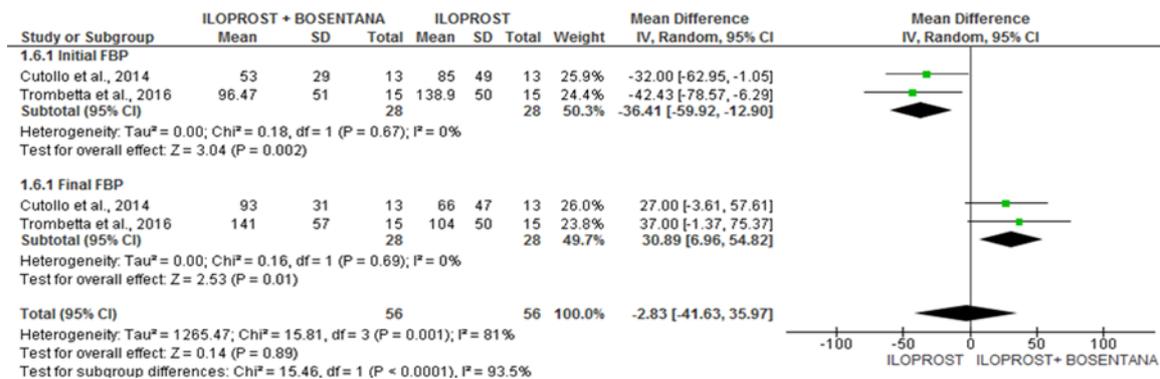
Figura 4. Metanálise do desfecho Capilares Gigantes



Para o desfecho “Capilares Ramificados” no início do tratamento, houve diferença estatística significativa entre os grupos, mostrando-se favorável a Iloprosta associada à Bosentana, com DM = -0.39 [-0.61, -0.16], p= 0,0008. Contudo, a avaliação dos capilares ramificados no final do tratamento não mostrou diferença estatística significativa e o resultado geral da meta-análise, visto na **figura 5**, não favoreceu nenhum grupo, com DM=-0,21[0,47 0,04] e p=0.1; e heterogeneidade moderada I²=44.9%.

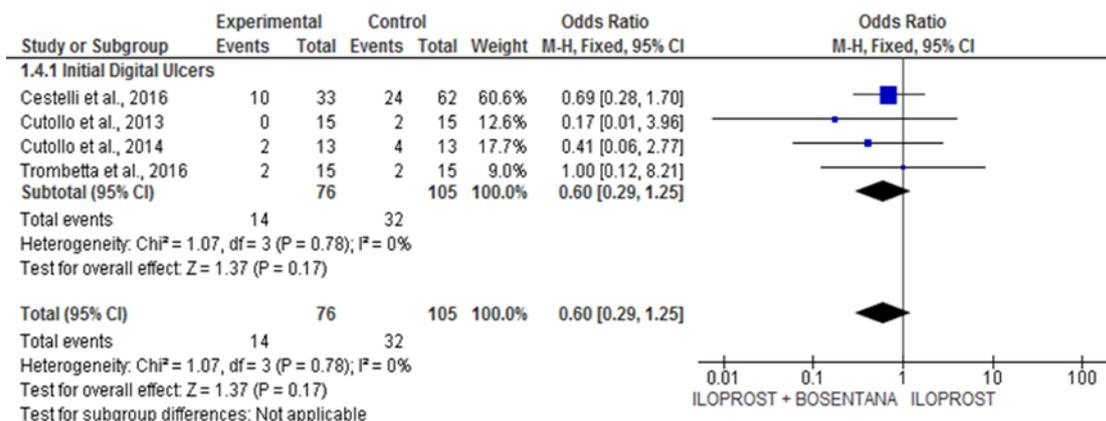
Figura 5. Metanálise do desfecho Capilares Ramificados

A perfusão sanguínea ungueal foi avaliada pelos autores Cutollo *et al.*, 2014 e Trobetta *et al.*, 2016. Para este desfecho, houve diferença estatística significativa no subgrupo perfusão inicial favorável para o grupo comparador, com DM = -36.41 [-59.92, -12.90] e p=0,002. De maneira antagônica, a perfusão no final do tratamento beneficiou a intervenção Iloporosta + Bosentana com DM=30.89 [6.96, 54.82], p= 0,01. Todavia, na comparação global dos grupos intervenção e comparador, não foi revelada significância estatística como visto na **figura 6**. É ressaltada a presença de heterogeneidade alta, com I²= 81%.

Figura 6. Metanálise do desfecho Perfusão Sanguínea Ugueal

Por fim, todos os estudos avaliaram a incidência de úlceras digitais como demonstrado na **figura 7**. É possível constatar, para este desfecho que não ocorreu diferença estatística significativa entre os grupos intervenção e controle bem como se verificou ausência de heterogeneidade, com OD = 0,60 [0,29 1,25], p=0,17 e I²=0%.

Figura 7. Metanálise do desfecho Incidência de Úlceras Digitais



DISCUSSÃO

A avaliação da capilaroscopia periungueal é um método simples e capaz de detectar achados sugestivos de distúrbios na microcirculação¹⁶. Os marcadores capilaroscópicos característicos de ES incluem presença de megacapilares, áreas de deleção capilar e hemorragias^{17, 18}. Nosso resultado da avaliação entre a terapia associada da Iloprosta e Bosentana em comparação a Iloprosta isolada não demonstrou, pelo efeito global das metanálises, indicação favorável a nenhum dos grupos aos desfechos supracitados. Em estudo anterior, Tingey *et al.* 2013¹⁹ realizou a metanálise da Bosentana *versus* Placebo com correlação positiva entre o uso da Bosentana e a prevenção de novas úlceras digitais. Já a metanálise da Iloprosta, foi feita em conjunto com outros análogos de prostaglandina como beraprost, cisaprost e teprostinil e, portanto, não podemos sumarizar de maneira isolada a eficácia desse fármaco para o desfecho de novas UD. De todos os estudos, apenas o RCT de Wigley *et al.*, 1992⁷ obteve resultado favorável ao uso da Iloprosta comparada ao placebo. Em estudo observacional retrospectivo, De Cata, *et al.* (2015)²⁰, avaliaram os dados de 34 pacientes com ES e pelo menos um UD ativa persistente mesmo após de 6 meses de terapia com a iloprosta e após outros 6 meses com tratamento associado a bosentana. Os dados analisados, dividindo os pacientes em dois grupos pelo nível de fibrose no dedo, revelou que no grupo com fibrose leve, 83,4% das UDs mostraram cicatrização completa, enquanto que, no grupo com fibrose grave, apenas 18% foram curados, p=0,024. O estudo concluiu que a associação Iloprosta + bosentana é eficaz na cicatrização de UD em pacientes com ES com fibrose cutânea digital leve. Nossa metanálise para o desfecho UD não revelou diferença entre os grupos, todavia não realizamos análise dos indivíduos por nível de fibrose. Em relação aos quatro estudos, a escala de acesso de qualidade revelou que em relação à seleção dos

participantes, houve representatividade da coorte exposta na comunidade, inclusive com a seleção da coorte não exposta na mesma comunidade; os registros foram seguros e o desfecho de interesse não estava no início do estudo. Em relação à categoria comparabilidade, houve controle de estudo e o desfecho foi baseado em registro acoplado. O acompanhamento foi suficientemente adequado para três dos estudos, exceto no estudo de Trombeta et al (2016). Em todos os estudos as co-intervenções foram provavelmente semelhantes. De maneira geral este estudo apresenta muitas limitações: a quantidade de estudos que investigaram a associação das drogas Iloprosta e Bosentana é pequena bem como a quantidade amostral dos estudos individuais, o que diminui a força desta metanálise; apenas o desfecho úlceras digitais foi avaliado por todos os trabalhos enquanto que os outros parâmetros da microvascularização, importantes para investigação do fenômeno de Raynaud, foram descritos por apenas dois autores; o tempo de seguimento dos estudos não foi homogêneo. Todavia entendemos que este trabalho mesmo com a ausência de resultados positivos em relação ao grupo intervenção pode ser o fomento para novos estudos mais bem delineados e controlados.

CONFLITO DE INTERESSE: Os autores declaram não haver conflito de interesse

REFERÊNCIAS

1. Mota, J. et al. Úlceras digitais na esclerodermia Papeldos Antagonistas dos Receptores da Endotelina Terapêut. Acta Med Port 2011; 24: 837-842
2. Botzoris, V.; Drosos, A.A. "Management of Raynaud's phenomenon and digital ulcers in systemic sclerosis." Joint. Bone. Spine, vol. 78, no. 4, pp. 341–346, Jul. 2011
3. Freire, E.A.M.; Ciconelli, R.M.; Sampaio-Barros, P.D. Análise dos Critérios Diagnósticos, de Classificação, Atividade e Gravidade de Doença na Esclerose Sistêmica. Rev Bras Reumatol, v. 44, n. 1, p. 40-5, jan./fev., 2004.

4. Linnemann, B.; Erbe, M.; Raynaud's phenomenon and digital ischaemia pharmacologic approach and alternative treatment options. *Vasa*. 2016; 45(3):201-12. doi: 10.1024/0301-1526/a000526
5. Hummers, L.K.; Wigley, F.M. Management of Raynaud's phenomen and digital ischemic lesions in scleroderma. *Rheum Dis Clin N Am* 2003; 29:293-313
6. Anderson, J.R.; Nawarskas, J.J. Pharmacotherapeutic management of pulmonary arterial hypertension. *Cardiol Rev*. 2010 May-Jun;18(3):148-62. doi: 10.1097/CRD.0b013e3181d4e921
7. Wigley, F.M.; Seibold, J.R.; Wise, R.A. et al. Intravenous iloprost treatment of Raynaud's phenomenon and ischemic ulcers secondary to systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1992; 19:1407-14
8. Matucci-Cerinic, M. Bosentan treatment of digital ulcers related to systemic sclerosis: results from the RAPIDS-2 randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jan;70(1):32-8. doi: 10.1136/ard.2010.130658. Epub 2010 Aug 30
9. Wells, G. A.; Shea, B.; O'Connel, D. et al. The Newcastle-Ottawa scale (NOS) for assessing the quailty of nonrandomised studies in meta-analyses. http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.htm 2009 Feb 1
10. Sampaio-Barros, P.D. et al . Recomendações sobre diagnóstico e tratamento da esclerose sistêmica. *Rev. Bras. Reumatol. São Paulo* , v. 53, n. 3, p. 258- 275, June 2013
11. LeRoy, E.C.; Black, C.; Fleischmajer, R.; Jablonska, S.; Krieg, T.; Medsger, T.A.J. et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988;15:202-5
12. Cutolo, M.; Zampogna, G.; Vremis, L.; Smith, V.; Pizzorni, C.; Sulli, A. Longterm effects of endothelin receptor antagonism on microvascular damage evaluated by nailfold capillaroscopic analysis in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2013;40:40–5.

13. Cutolo, M.; Ruaro, B.; Pizzorni, C.; Ravera, F.; Smith, V.; Zampogna, G. et al. Longterm treatment with endothelin receptor antagonist bosentan and iloprost improves fingertip blood perfusion in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2014;41:881–6.
14. Cestelli, V. et al (2016): Effect of treatment with iloprost with or without bosentan on nailfold videocapillaroscopic alterations in patients with systemic sclerosis, *Modern Rheumatology*, DOI: 10.1080/14397595.2016.1192761
15. Trombetta, A.C. et al . Effects of Longterm Treatment with Bosentan and Iloprost on Nailfold. *The Journal of Rheumatology* 2016; 43:11; doi:10.3899/jrheum.160592
16. Bredemeier, M. et al. Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease activity in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2004;31:286–94
17. Cruz, B.A.; Hybner, M.L.M.; Melo, A.L.V. Digital ischemia in patients with systemic sclerosis. *RBM Dez 2007 V 64 N 12*
18. Cutolo, M.; Sulli, A.; Smith, V. Assessing microvascular changes in Systemic sclerosis diagnosis and management. *Nat Rev Rheumatol.*2010;6:578-87
19. Tingey, T.; Shu, J.; Smuczek, J.; Pope, J. Meta-analysis of healing and prevention of digital ulcers in systemic sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Sep;65(9):1460-71. doi: 10.1002/acr.220
20. De Cata, A. Digital ulcers in scleroderma patients: A retrospective observational study. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2016 Jun; 29(2):180-7. doi:10.1177/0394632015606846. Epub 2015 Dec.

