

Mariana Meira Clavé

**Tratamento específico em hipertensão arterial pulmonar
avançada associada a cardiopatias congênitas:
aspectos clínicos, bioquímicos e prognósticos**

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

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Barbosa Lopes

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Clavé, Mariana Meira
Tratamento específico em hipertensão arterial
pulmonar avançada associada a cardiopatias
congenitas : aspectos clínicos, bioquímicos e
prognósticos / Mariana Meira Clavé. -- São Paulo,
2018.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientador: Antonio Augusto Barbosa Lopes.

Descritores: 1. Hipertensão pulmonar
2. Cardiopatias congênitas 3. Complexo de
Eisenmenger 4. Endotélio 5. Plaquetas 6. Biomarcadores
7. Sobrevida 8. Inibidores de fosfodiesterase

USP/FM/DBD-075/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

**A Deus, que na sua graça, me escolheu antes mesmo de eu
nascer e me chamou para servi-lo. *Gálatas 1:15.***

Glórias ao teu santo nome!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Augusto Lopes, exímio pesquisador, orientador, estaticista, médico incansável, pessoa ímpar. Com muita paciência, me ensinou sobre a hipertensão pulmonar, estatística, e entre outras coisas, como ser uma pesquisadora completa. Pelos ensinamentos e dedicação, muito obrigada.

À Dra. Nair Yukie Maeda, a Naná, farmacêutica, pesquisadora, ótima coorientadora e querida amiga. Com muitos anos de experiência colaborou para minha formação em laboratório de pesquisa, ensinando técnicas, procedimentos e a ser mais crítica e prática na bancada. Ao longo da jornada de mais de quatro anos foi minha parceira e tornou meus dias mais alegres. Com carinho inestimável, agradeço a ti querida Naná.

À Sra. Roseli Polo, que incansavelmente ajudou durante todos estes anos, desde submissão de projetos, resumos para congressos, correção e submissão/publicação de artigos científicos, cotação de material, configuração de pôsteres, aviso de prazos entre muitas outras coisas. Por sua colaboração preciosa, muito obrigada.

Ao Prof. Dr. Sergio Paulo Bydlowski, por sua receptividade e acolhida, fazendo questão da minha integração com seu grupo de pesquisa e por gentilmente conceder um espaço em seu Laboratório de Genética e Hematologia Molecular (LIM 31) para o desenvolvimento das análises laboratoriais pertinentes à minha tese de doutorado.

Às minhas colegas e amigas Dra. Ana Maria Thomaz, Dra. Leína Zorzanelli e Dra. Claudia Castro pela parceria durante todo o doutorado nas

aulas e atividades da pós-graduação, pela ajuda inestimável em assuntos de conhecimento clínico específico sempre esclarecedores. Minhas queridas, pelo carinho, amizade e parceria, muito obrigada.

À Dra. Sonia Mesquita, que com muita disposição nos ajudou no encaminhamento de pacientes para o protocolo de pesquisa. Por sua colaboração, muito obrigada.

À Dra. Nana Miura, diretora da Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto, e aos médicos desta unidade, aos membros da pós-graduação em Cardiologia e à Comissão Científica do Instituto do Coração pelo apoio e incentivo acadêmico.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Às colegas do laboratório que além da troca de conhecimento e informações, foram minhas amigas, companheiras e tornaram meus dias mais descontraídos. Obrigada gurias.

À minha família, Iná (mãe), Carlos (pai), Carina (irmã) e Henrique (irmão) que mesmo à distância sempre apoiaram e incentivaram minha caminhada e busca de oportunidades na cidade de São Paulo e vieram me visitar sempre que possível para amenizar a saudade. Com amor, muito obrigada.

Ao meu esposo Ricardo, que desde o início apoiou minha decisão de fazer parte da pesquisa acadêmica. Por mais de um ano me deu apoio financeiro, enquanto a bolsa de estudos era aguardada, e me ajudou durante esses longos anos do doutorado em tudo que precisei. Foi paciente e

encorajador enquanto eu passava os fins de semana estudando, isto tudo sem reclamar absolutamente de nada. Meu amor, os agradecimentos nunca serão suficientes por tudo que fizeste e fazes por mim. Te amo.

Ao meu filho Davi, que ainda está no meu ventre, mas que através de Deus esperou o tempo certo para ser concebido. Filho, obrigada pelos chutes e “soquinhos” nas horas em que a mamãe estava com sono, mas que não podia perder o foco nos estudos na fase final de elaboração da tese. Te amo Davi.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia De A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de símbolos

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Hipertensão arterial pulmonar associada a cardiopatias congênitas	4
1.2. Tratamento medicamentoso da hipertensão arterial pulmonar	6
1.2.1. Manejo terapêutico da hipertensão arterial pulmonar em cardiopatias congênitas: o paciente considerado inoperável	8
1.3. Marcadores biológicos na hipertensão arterial pulmonar	10
1.3.1. Marcadores de disfunção microvascular investigados no estudo..	12
1.4. Marcadores de prognóstico na hipertensão arterial pulmonar	16
1.5. Justificativa para o estudo	19
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo primário.....	21
2.1.1. Desfechos	21
2.2. Objetivo secundário	22
2.2.1. Desfechos	22
3. MÉTODOS	23
3.1. Casuística.....	24
3.2. Critérios de inclusão	25
3.3. Critérios de exclusão	26
3.4. Tamanho amostral.....	27
3.5. Casuística ampliada	27
3.6. Tipo e desenho do estudo	28
3.6.1. Dados de triagem, demográficos e diagnósticos	30
3.6.2. Avaliação da capacidade física através do teste de caminhada de seis minutos	32
3.6.3. Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde através do questionário genérico de saúde SF-36.....	33

3.6.4. Dados laboratoriais gerais.....	33
3.6.5. Determinações laboratoriais específicas – marcadores de disfunção microvascular	34
3.6.6. Tratamento farmacológico, medidas de segurança, monitoração de efeitos adversos e eventuais mudanças na estratégia terapêutica.....	36
3.7. Análise de sobrevida livre de evento	37
3.8. Análise estatística.....	38
4. RESULTADOS	41
4.1. Análise descritiva geral – características dos pacientes incluídos no estudo.....	42
4.2. Marcadores de disfunção microvascular na condição basal.....	45
4.3. Dados clínicos e laboratoriais na condição basal, segundo a orientação para os tratamentos	48
4.4. Comportamento frente ao tratamento instituído.....	48
4.5. Efeitos do tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 sobre variáveis clínicas, funcionais e hematológicas.....	50
4.6. Efeitos do tratamento sobre marcadores plasmáticos de disfunção microvascular.....	53
4.7. Efeitos sobre indicadores de qualidade de vida.....	57
4.8. Estudo de fatores com possível impacto sobre o prognóstico.....	60
4.4. Abordando possíveis problemas (vieses) de interpretação	66
5. DISCUSSÃO.....	70
5.2. Sobre a segurança dos tratamentos.....	73
5.3. Desempenho físico e qualidade de vida relacionada à saúde	74
5.4. Implicações clínicas das alterações nos marcadores de disfunção microvascular.....	74
5.5. Perspectivas de longo prazo: importância dos tratamentos específicos.....	78
6. CONCLUSÕES.....	80
6.1. Perspectivas	82
7. ANEXOS.....	84
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
APÊNDICE.....	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMA	Dimetilarginina assimétrica
BMPR2	Receptor da proteína morfogenética óssea tipo 2
BNP	Peptídeo natriurético cerebral
Ca ⁺⁺	Cálcio
DC6M	Distância caminhada em seis minutos
ET _A	Receptor da endotelina do tipo A
ET _B	Receptor da endotelina do tipo B
F	Gênero feminino
FC	Frequência cardíaca
GDF 15	Fator de diferenciação de crescimento 15
HAP	Hipertensão arterial pulmonar
Hb	Hemoglobina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
Ht	Hematócrito
M	Gênero masculino
NT-proBNP	Fragmento N-terminal do peptídeo natriurético cerebral
PAD	Pressão arterial diastólica
PAPm	Pressão média arterial pulmonar
PAS	Pressão arterial sistólica
pCO ₂	Pressão parcial de gás carbônico
PDE 5	Fosfodiesterase 5
PSAP	Pressão sistólica arterial pulmonar
RVP	Resistência vascular pulmonar

sCD40L	Proteína de ligação do receptor CD40, forma solúvel
SF-36	Questionário de qualidade de vida relacionada à saúde (short form-36)
SpO ₂	Saturação periférica de oxigênio
TAPSE	Excursão sistólica do plano anular tricúspide
TM	Trombomodulina
t-PA	Ativador do plasminogênio tipo tecidual
VO ₂	Consumo de oxigênio
VWF:Ag	Antígeno do fator de von Willebrand
β-TG	Beta-tromboglobulina

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
\leq	Menor ou igual a
<	Menor que
\geq	Maior ou igual a
>	Maior que
bpm	Batimentos por minuto
g	Força gravitacional
k/ μ L	Mil células por microlitro
m	Metro
m/s	Metro por segundo
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mmHg	Milímetro de mercúrio
n	Número de casos
ng/mL	Nanograma por mililitro
nm	Nanômetro
p	Nível de significância
pg/mL	Picograma por mililitro
U/dL	Unidade por decilitro
UI/mL	Unidade internacional por mililitro

RESUMO

Clavé MM. *Tratamento específico em hipertensão arterial pulmonar avançada associada a cardiopatias congênitas: aspectos clínicos, bioquímicos e prognósticos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: A hipertensão arterial pulmonar associada a cardiopatias congênitas (HAP-CCg) é um tipo específico de doença vascular pulmonar com várias complicações. Os pacientes com HAP-CCg avançada são considerados inoperáveis e podem apresentar hipoxemia crônica e eritrocitose secundária devido ao desvio de sangue da direita para a esquerda através das comunicações cardíacas. O presente estudo teve como objetivo analisar a resposta a dois inibidores de fosfodiesterase 5 (iPDE 5), a saber, sildenafil e tadalafila, administrados por seis meses. Os fármacos haviam sido previamente aprovados para uso na HAP em geral. No entanto, a literatura é escassa no que diz respeito à sua utilização especificamente na HAP-CCg. Propusemo-nos a investigar potenciais efeitos destes fármacos além de suas ações como vasodilatadores. **MÉTODOS:** Foram incluídos 31 pacientes com HAP-CCg avançada (idade entre 10 e 54 anos). A maioria apresentava redução na saturação sistêmica de oxigênio, com hematócrito elevado. A sildenafil e a tadalafila foram administradas por via oral (respectivamente, 20 mg três vezes ao dia e dose única diária de 40 mg). A capacidade física foi avaliada pela distância percorrida em 6 minutos (teste de caminhada de 6 minutos, protocolo *American Thoracic Society*). A qualidade de vida relacionada à saúde foi avaliada utilizando-se o questionário genérico SF-36. Níveis circulantes de marcadores de disfunção microvascular foram analisados por ensaios imunoenzimáticos. Todas as medidas foram realizadas na condição basal, e aos três e seis meses de tratamento com iPDE 5. Utilizando casuística ampliada com análise de dados tanto de forma retrospectiva como prospectiva, investigamos variáveis com possível valor prognóstico. **RESULTADOS:** Os tratamentos com ambos os fármacos foram associados à melhora da capacidade física (classe funcional e distância percorrida em 6 minutos, $p < 0,05$), hematócrito e nível de hemoglobina ($p < 0,05$), e qualidade de vida relacionada à saúde (componentes físico e mental, $p < 0,05$). Comparados ao grupo controle, na condição basal, os pacientes apresentaram níveis plasmáticos elevados de β -tromboglobulina (β -TG, $p = 0,002$), selectina P ($p = 0,018$), ativador do plasminogênio tipo tecidual (t-PA, $p = 0,005$) e do antígeno do fator de von Willebrand (VWF:Ag, $p = 0,005$); a trombosmodulina mostrou-se significativamente reduzida (TM, $p < 0,001$). A administração de tadalafila foi seguida de melhora no nível de β -TG ($p = 0,004$), t-PA ($p = 0,003$) e TM ($p = 0,046$), enquanto a selectina P modificou-se apenas com a sildenafil ($p = 0,034$). O VWF:Ag mostrou-se com melhora significativa, porém transitória, no grupo tratado com sildenafil ($p = 0,019$). Usando casuística ampliada que incluiu pacientes de estudos anteriores de nosso grupo (coorte estendida de 75 indivíduos), analisamos dados coletados no início do seguimento para todos eles, assim como outros relacionados ao tratamento. Uma série de variáveis clínicas e laboratoriais foram testadas quanto à sua possível correlação com a

sobrevida livre de evento (seguimento de nove anos). Nesta parte do estudo, os pacientes receberam não apenas iPDE 5 como tratamento para HAP. Alguns deles receberam antagonistas dos receptores de endotelina isoladamente, enquanto outros receberam estes medicamentos (bosentana, ambrisentana) em combinação com iPDE 5. Após realização de análises univariada, bivariada e multivariada foi possível a identificação de quatro preditores de prognóstico desfavorável: 1, menor tempo de exposição a fármacos específicos para HAP ($p < 0,001$); 2, classe funcional avançada na admissão ($p = 0,010$); 3, função sistólica ventricular direita deprimida ($p = 0,010$); e 4, níveis circulantes elevados de VWF:Ag ($p = 0,013$). Menor tempo de exposição aos medicamentos específicos para HAP foi caracterizado como preditor independente de desfechos. **CONCLUSÕES E COMENTÁRIOS:** Com base nestas observações, concluímos que os iPDE 5 são importantes no manejo da HAP-CCg avançada. Os efeitos foram observados não apenas na capacidade física e na qualidade de vida, mas também em marcadores biológicos de disfunção microvascular, potencialmente relacionados à progressão e/ou complicações da doença. Além disso, as observações em longo prazo sugeriram que maior tempo de exposição aos fármacos para HAP (incluindo iPDE 5) foi benéfico, enfatizando a necessidade de instituição precoce das terapias. O fato de o estudo ter sido realizado apenas com fármacos de administração oral torna os resultados relevantes no que diz respeito a regiões onde o acesso a tratamentos específicos para HAP é limitado a tais modalidades.

Palavras-chave: hipertensão pulmonar, cardiopatias congênitas, síndrome de Eisenmenger, endotélio, plaquetas, biomarcadores, sobrevida, inibidores de fosfodiesterase 5.

ABSTRACT

Clavé MM. *Clinical, biochemical and prognostic impact of specific therapies in advanced pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2018.

INTRODUCTION: Pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease (CHD-PAH) is a particular form of pulmonary vascular disease with a number of complications. Patients with advanced CHD-PAH are deemed inoperable, and may present with chronic hypoxemia and secondary erythrocytosis due to right-to-left shunting across the cardiac communications. The present study was aimed at analyzing the response to 2 phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE5is), namely sildenafil and tadalafil, which were administered for 6 months. The drugs had been previously approved for management of PAH in general. However, there has been scarce literature on their use in the specific setting of CHD-PAH. We wished to investigate potential effects beyond their actions as vasodilators. **METHODS:** Thirty-one patients with advanced CHD-PAH were enrolled (age 10 to 54 years). Most of them had systemic oxygen desaturation with elevated hematocrit. Sildenafil and tadalafil were administered orally (respectively, 20 mg t.i.d and single daily dose of 40 mg). The physical capacity was assessed by registering the 6-minute walked distance (6-minute walk test, American Thoracic Society protocol). Health-related quality of life was assessed using the SF-36 generic questionnaire. Circulating levels of microvascular dysfunction markers were analyzed by enzyme-linked immunoassays. All measurements were performed at baseline, 3 months and 6 months of PDE5i administration. Using a larger patient population with retrospective as well as prospective data analysis, we looked for potential predictors of prognosis. **RESULTS:** Both therapies were associated with improvement of the physical capacity (functional class and 6-minute walked distance, $p < 0.05$), hematocrit and hemoglobin level ($p < 0.05$), and health-related quality of life (physical and mental components, $p < 0.05$). Compared to controls, patients had elevated baseline plasma levels of β -thromboglobulin (β -TG, $p = 0.002$), P-selectin ($p = 0.018$), tissue-type plasminogen activator (t-PA, $p = 0.005$) and von Willebrand factor antigen (VWF:Ag, $p = 0.005$), while thrombomodulin was importantly reduced (TM, $p < 0.001$). Tadalafil administration was followed by improvement of β -TG ($p = 0.004$), t-PA ($p = 0.003$) and TM level ($p = 0.046$), while P-selectin was improved by sildenafil only ($p = 0.034$). VWF:Ag improved significantly, but only transiently in the sildenafil group ($p = 0.019$). Using an extended population which included additional patients from previous studies of ours (the extended cohort consisted of 75 individuals), we analyzed data collected at the beginning of follow-up for all subjects, and treatment-related data as well. A number of clinical and laboratory parameters were tested for their possible correlation with event-free survival (9-year survival analysis). In this part of the study, patients were on monotherapy or combination therapy with PDE5is (sildenafil or tadalafil) and endothelin receptor antagonists (bosentan or ambrisentan). Univariate, bivariate and multivariate analyses were used to identify four predictors of a more worrisome

prognosis: 1, a shorter time of exposure to specific PAH therapies ($p < 0.001$); 2, an advanced functional class at entry ($p = 0.010$); 3, a depressed right ventricular systolic function ($p = 0.010$); and 4, high circulating levels of VWF:Ag ($p = 0.013$). A shorter exposure to PAH therapies was characterized as an independent predictor of poor outcome. **CONCLUSIONS AND COMMENTS:** Our observations point towards beneficial effects of PDE5is in advanced CHD-PAH. Importantly, the observed effects were not only on the physical capacity, and quality of life, but also biological markers of microvascular injury potentially related to disease progression and/or complications. Furthermore, long-term patient observation showed that a longer exposure to PAH drugs (including PDE5is) was beneficial, thus emphasizing the need for early initiation of therapies. Because only oral drugs were used, results may be relevant for countries and regions with limited access to PAH-specific medications.

Keywords: pulmonary hypertension, congenital heart disease, Eisenmenger syndrome, endothelium, platelets, biomarkers, survival, phosphodiesterase type 5 inhibitors.

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão pulmonar é uma condição clínica grave, debilitante e com repercussão no coração direito. Refere-se a qualquer elevação na pressão arterial pulmonar acima dos valores considerados normais, e sua presença pode refletir doença vascular pulmonar progressiva, podendo ser fatal^{1,2}. Considerada como uma condição hemodinâmica e fisiopatológica, a hipertensão pulmonar pode ser definida por aumento na pressão média arterial pulmonar (PAPm) em repouso ≥ 25 mmHg, avaliada pelo cateterismo cardíaco direito, e pode ser encontrada em diversas condições clínicas¹. Foram identificados cinco grupos de doenças que causam hipertensão pulmonar (**Quadro 1**). O primeiro grupo diagnóstico corresponde à *hipertensão arterial pulmonar* (HAP), seguido da doença veno-oclusiva pulmonar, hipertensão pulmonar devido à doença do coração esquerdo (grupo 2), por ocorrência de doenças pulmonares e/ou hipóxia (grupo 3), hipertensão pulmonar tromboembólica crônica (grupo 4); e aquela ocorrendo por mecanismos multifatoriais ainda não esclarecidos (grupo 5)².

Na classificação atual, no grupo 1, denominado HAP, estão classificadas as formas idiopática, hereditária, induzida por drogas e toxinas, a HAP associada às doenças do tecido conectivo, a cardiopatias congênitas, esquistossomose, infecção pelo vírus HIV, e a hipertensão porto-pulmonar^{2,3}. Para que seja caracterizada a HAP, além do aumento pressórico arterial pulmonar, é necessário que haja o registro de pressão de encunhamento ou “pressão wedge” ≤ 15 mmHg, e resistência vascular pulmonar (RVP) > 3 unidades Wood em repouso, o que é relativamente comum no subgrupo de pacientes com cardiopatias congênitas^{4,5}.

Quadro 1. Classificação clínica atual da hipertensão pulmonar³

- 1. Hipertensão arterial pulmonar (HAP)**
 - 1.1 HAP idiopática
 - 1.2 HAP hereditária
 - 1.2.1 Mutação do BMPR2
 - 1.2.2 Outras mutações
 - 1.3 Induzida por drogas e toxinas
 - 1.4 Associada a:
 - 1.4.1 Doença do tecido conectivo
 - 1.4.2 Infecção pelo HIV
 - 1.4.3 Hipertensão portal
 - 1.4.4 Cardiopatias congênitas
 - 1.4.5 Esquistossomose
- 1' Doença veno-oclusiva pulmonar e/ou hemangiomatose capilar pulmonar**
 - 1'.1 Idiopática
 - 1'.2 Hereditária
 - 1'.2.1 Mutação do EIF2AK4
 - 1'.2.2 Outras mutações
 - 1'.3 Induzida por drogas, toxinas e radiação
 - 1'.4 Associada a:
 - 1'.4.1 Doença do tecido conectivo
 - 1'.4.2 Infecção pelo HIV
- 1'' Hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido**
- 2. Hipertensão pulmonar devido à doença do coração esquerdo**
 - 2.1 Disfunção sistólica
 - 2.2 Disfunção diastólica
 - 2.3 Doença valvar
 - 2.4 Obstrução congênita/adquirida da via de saída do ventrículo esquerdo e miocardiopatias congênitas
 - 2.5 Estenose de veias pulmonares congênita/adquirida
- 3. Hipertensão pulmonar por doenças pulmonares e/ou hipóxia**
 - 3.1 Doença pulmonar obstrutiva crônica
 - 3.2 Doença pulmonar intersticial
 - 3.3 Outras doenças pulmonares com padrão restritivo e obstrutivo misto
 - 3.4 Distúrbios respiratórios do sono
 - 3.5 Distúrbios com hipoventilação alveolar
 - 3.6 Exposição crônica a altitudes elevadas
 - 3.7 Doenças pulmonares de desenvolvimento
- 4. Hipertensão pulmonar tromboembólica crônica e outras obstruções pulmonares arteriais**
 - 4.1 Hipertensão pulmonar tromboembólica crônica
 - 4.2 Outras obstruções pulmonares arteriais
 - 4.2.1 Angiosarcoma
 - 4.2.2 Outros tumores intravasculares
 - 4.2.3 Arterite
 - 4.2.4 Estenose congênita de artérias pulmonares
 - 4.2.5 Parasitas (hidatidose)
- 5. Hipertensão pulmonar com mecanismos multifatoriais não esclarecidos**
 - 5.1 Distúrbios hematológicos: anemia hemolítica crônica, distúrbios mieloproliferativos, esplenectomia
 - 5.2 Distúrbios sistêmicos: sarcoidose, histiocitose pulmonar, linfangioleiomiomatose, neurofibromatose
 - 5.3 Distúrbios metabólicos: doença de depósito do glicogênio, doença de Gaucher, distúrbios da tireoide
 - 5.4 Outros: microangiopatia trombótica tumoral pulmonar, mediastinite fibrosante, insuficiência renal crônica (com/sem diálise), hipertensão pulmonar segmentar

1.1. Hipertensão arterial pulmonar associada a cardiopatias congênitas

Apesar de ter havido progresso considerável com os cuidados e abordagem de pacientes, a incidência de cardiopatias congênitas é de aproximadamente 8 a cada 1000 nascidos vivos⁶. Em torno de 30% das crianças que não foram operadas nos primeiros anos de vida, irão desenvolver doença vascular pulmonar e chegar à vida adulta⁶. Estima-se que 10% dos adultos com cardiopatias congênitas podem ter HAP⁷, sendo uma das etiologias predominantes na América Latina⁸.

As cardiopatias congênitas com desvio do fluxo sanguíneo ou *shunt* da esquerda para a direita são caracterizadas por fluxo pulmonar aumentado e alta pressão, o que induz a anormalidades estruturais progressivas associadas com comprometimento do crescimento das artérias pulmonares⁹. A síndrome de Eisenmenger, primeira das quatro subcategorias clínicas para a HAP associada a cardiopatias congênitas (**Quadro 2**), é a forma mais avançada de apresentação, onde devido à elevação acentuada da RVP a níveis próximos do sistêmico, ocorre *shunt* de direita para esquerda no interior das cavidades cardíacas, hipoxemia crônica, eritrocitose e complicações relacionadas à hiperviscosidade sanguínea^{10,11}.

Pode-se dizer que a síndrome de Eisenmenger é considerada uma doença sistêmica, uma vez que os pacientes podem ter complicações como fenômenos trombóticos ou hemorrágicos, acidente vascular cerebral, abscesso intracraniano, endocardite infecciosa, artrite gotosa, insuficiência renal e

arritmias. Um grande número de defeitos cardíacos pode levar à doença vascular pulmonar avançada; lesões mais comuns nesses pacientes são as comunicações interventriculares, interatriais, atrioventriculares e a persistência do canal arterial⁶, isoladas ou em associação.

Apesar dos avanços no desenvolvimento de fármacos e estratégias eficazes para o tratamento da doença, a síndrome de Eisenmenger ainda é prevalente, cerca de 4 a 8% em adultos com cardiopatias congênitas, refletindo o acesso limitado à cirurgia precoce das anomalias cardíacas, principalmente em países em desenvolvimento¹².

Quadro 2. Classificação clínica atual da HAP associada a cardiopatias congênitas³

1. Síndrome de Eisenmenger

Comunicações intra e extracardíacas com *shunt* (desvio do fluxo sanguíneo) que pode ser inicialmente da circulação sistêmica para a pulmonar, progredindo para bidirecional, e finalmente predomínio de direita para esquerda (elevação acentuada da RVP), culminando com hipoxemia, eritrocitose e lesão de múltiplos órgãos.

2. Comunicações com *shunt* de esquerda para direita

- Passível de correção
- Correção não indicada

Defeitos septais não restritivos com RVP discreta a moderadamente elevada; o *shunt* é caracteristicamente sistêmico-pulmonar; a cianose não está presente.

3. Hipertensão arterial pulmonar com cardiopatia congênita coincidente

Elevação acentuada da RVP na presença de pequenos defeitos cardíacos, os quais, presumivelmente, não são responsabilizados pelo desenvolvimento da RVP; o quadro clínico é muito semelhante à HAP idiopática. A correção dos defeitos é contraindicada.

4. Hipertensão arterial pulmonar pós-operatória

A cardiopatia congênita é corrigida, mas a HAP persiste imediatamente após a cirurgia, ou se desenvolve meses ou anos depois, na ausência de lesões anatômicas residuais significantes. O curso é preocupante e o prognóstico reservado.

1.2. Tratamento medicamentoso da hipertensão arterial pulmonar

Até décadas atrás, as opções de manejo terapêutico para portadores de HAP em geral, eram limitadas a medidas paliativas, ou transplantes num grupo muito seletivo de pacientes¹³. No contexto do tratamento específico para HAP, diversos fármacos têm sido desenvolvidos e testados quanto à eficácia e segurança, e atualmente, sabe-se que essas drogas são capazes de promover melhora na capacidade funcional, parâmetros hemodinâmicos, qualidade de vida e sobrevida^{14,15}. No elenco de medicamentos para uso específico na HAP estão: o epoprostenol (derivado da prostaciclina para uso intravenoso)¹⁶, o treprostínil (prostanóide de uso subcutâneo podendo também ser administrado por via intravenosa)¹⁷, a iloprostá (prostanóide de uso primariamente inalatório podendo ser considerado o uso intravenoso)¹⁸ e a beraprostá (análogo da prostaciclina, para uso oral)¹⁹; a bosentana (antagonista inespecífico de receptores de endotelina do tipo ET_A e ET_B, para uso oral)²⁰, a ambrisentana (antagonista específico de receptores do tipo ET_A, para uso oral)²¹ e a macitentan (antagonista de receptores do tipo ET_A e ET_B, para uso oral)²²; a sildenafil, a tadalafila e a vardenafila (inibidores de fosfodiesterase 5, iPDE 5, de uso oral)²³⁻²⁵; mais recentemente, o riociguat, estimulador da guanilato ciclase solúvel, para administração oral²⁶.

A sildenafil tem sido o inibidor de PDE 5 mais amplamente utilizado na HAP. Conforme recomendação a partir de estudo multicêntrico realizado em adultos²³, a sildenafil deve ser administrada por via oral, na dose de 20 mg três vezes ao dia. O mesmo estudo indica que a administração de doses até

240 mg diárias pode proporcionar efeito hemodinâmico adicional. Por outro lado, a administração de um inibidor de fosfodiesterase com maior duração de efeito poderia ser mais cômoda. A tadalafila é administrada por via oral na dose única diária de 40 mg²⁴.

Um aspecto importante na patogênese da HAP, com implicação terapêutica, é a disfunção endotelial que acarreta alterações (inicialmente funcionais) nas células musculares lisas vasculares subjacentes, devido ao desequilíbrio entre a produção de substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras. Por exemplo, citam-se a síntese defectiva de óxido nítrico e prostaciclina, e a produção aumentada de endotelina e tromboxano. Em consequência destas alterações, ocorre vasoconstrição, hipertrofia e hiperplasia das células musculares lisas e proliferação celular intimal, reduzindo progressivamente o lúmen do vaso²⁷⁻³⁰.

Muitos recursos terapêuticos têm sido desenvolvidos³¹ com objetivo de se atuar exatamente nas vias de controle do tônus e hipertrofia vascular. Prostanóides, antagonistas dos receptores de endotelina e inibidores de PDE 5, têm sido empregados visando a compensar a produção defectiva de vasodilatadores em relação a vasoconstritores. É importante assinalar que muitos fármacos têm sido desenvolvidos com vistas ao manejo da HAP em geral, com estudos relativamente escassos em pacientes com síndrome de Eisenmenger especificamente.

Entretanto, o remodelamento vascular é um processo complexo, que envolve mecanismos muito além do desequilíbrio entre vasodilatação e vasoconstrição. No futuro, fármacos deverão ser desenvolvidos com a capacidade de ação sobre interações entre células e matriz extracelular,

diferenciação e proliferação, crescimento monoclonal e apoptose, além de eventos pró-inflamatórios e pró-trombóticos.

1.2.1. Manejo terapêutico da hipertensão arterial pulmonar em cardiopatias congênitas: o paciente considerado inoperável

Não há cura para a doença vascular pulmonar subjacente. Existe risco considerável de falência ventricular direita, baixo débito cardíaco e evolução para óbito. Na síndrome de Eisenmenger, estes desfechos são quase certos ao se considerar a cirurgia para a correção das anomalias cardíacas. Esta é, portanto, contraindicada. O tratamento clínico, no entanto, evoluiu importantemente durante os últimos anos, oferecendo alívio de sintomas, prevenção das complicações, e melhora na sobrevida. A terapia médica atual utiliza medidas convencionais que incluem reabilitação física, oxigênio-terapia, contracepção, bloqueadores dos canais de cálcio, anticoagulantes, agentes antiplaquetários, diuréticos e digitálicos³¹. No tempo, estas ações terapêuticas antecederam os tratamentos específicos.

Estudos envolvendo a utilização de fármacos específicos na HAP associada a cardiopatias congênitas encontram-se disponíveis na literatura³², embora em número limitado. O manejo do tratamento medicamentoso tem sido padronizado para a sua forma avançada de apresentação, que é a síndrome de Eisenmenger. Em ensaio realizado com pacientes portadores desta síndrome, foi demonstrado que a bosentana aumentou efetivamente a capacidade física,

em comparação ao placebo, sem causar piora na hipoxemia^{33,34}. Não se espera mudança expressiva na pressão arterial pulmonar, em particular porque a comunicação anatômica direta entre a circulação pulmonar e a sistêmica continua existindo. Entretanto, começa a haver evidência de que o uso desses fármacos altera de maneira positiva as curvas de sobrevida^{14,35}.

As casuísticas dos estudos que validaram o uso da sildenafil e da tadalafila na HAP não incluem especificamente indivíduos com síndrome de Eisenmenger. Em estudo prospectivo sobre os efeitos da sildenafil em pacientes com síndrome de Eisenmenger assim como portadores de HAP idiopática, foi observada melhora na classe funcional, saturação de oxigênio (com redução da cianose), capacidade física e hemodinâmica cardiopulmonar³⁶. Também com foco na síndrome de Eisenmenger, outro estudo randomizado, controlado por placebo, mostrou efetividade da tadalafila em melhorar a capacidade física e parâmetros hemodinâmicos³⁷. Apesar das limitações dos estudos, como a duração relativamente curta (12 a 16 semanas), os dados parecem apontar para segurança e eficácia do uso dos inibidores de PDE 5³⁸⁻⁴⁰. Estudos terapêuticos de maior duração são importantes, considerando-se principalmente que a expectativa de sobrevida, nesses pacientes, é maior quando comparada à HAP idiopática¹⁴.

A literatura é escassa no que diz respeito a estudos entre fármacos da mesma classe. Isto se aplica a inibidores de PDE 5. Na síndrome de Eisenmenger especificamente, estudos comparativos entre inibidores de PDE 5 não têm sido realizados. Embora dados com casuísticas limitadas sugiram que os medicamentos podem ser utilizados em substituição, sem prejuízo ao paciente⁴¹, estudos agudos indicam a existência de diferenças significantes

com respeito à ação na circulação pulmonar e na sistêmica, assim como na oxigenação⁴².

Por outro lado, sabe-se que a disfunção microvascular é uma condição fisiopatológica reconhecidamente presente nesta doença, envolvendo células endoteliais, plaquetas e leucócitos⁴³. Níveis circulantes alterados de marcadores endoteliais têm sido observados em associação com aumento do risco de trombose e redução de sobrevida⁴⁴⁻⁴⁶. Assim sendo, no presente estudo, procuramos explorar exatamente estes aspectos frente à administração oral crônica da sildenafil e da tadalafila.

1.3. Marcadores biológicos na hipertensão arterial pulmonar

Um marcador biológico ou biomarcador pode ser definido como elemento a ser medido objetivamente e avaliado como indicador de processos biológicos, patogênicos, ou respostas farmacológicas a intervenções⁴⁷. Idealmente, o biomarcador deve ser utilizado como uma ferramenta para identificação de doenças ou condições anormais, medindo seu estágio ou dimensão. Sua utilização também deve servir como indicador de prognóstico na monitoração de desfechos^{47,48}.

Diversos biomarcadores têm sido explorados na HAP⁴⁹, e podem ser agrupados em: marcadores de disfunção vascular (dimetilarginina assimétrica (ADMA), endotelina-1, angiopoietinas, fator de von Willebrand)^{46,50-54}; de inflamação (proteína C-reativa, interleucina 6, quimiocinas)⁵⁵⁻⁵⁸; de estresse

miocárdico (peptídeo natriurético atrial, peptídeo natriurético cerebral (BNP) / NT-proBNP, troponinas)⁵⁹⁻⁶⁴; de baixa emissão de monóxido de carbono e / ou hipóxia tecidual (pressão parcial de gás carbônico (pCO₂), ácido úrico, fator de diferenciação de crescimento 15 (GDF15), osteopontina)⁶⁵⁻⁶⁸; de lesão de órgãos secundários (creatinina, bilirrubina)^{59,62}. Dentre estes, apenas o BNP e o produto de sua clivagem N-terminal (NT-proBNP) têm sido considerados como parâmetros prognósticos nos registros mais recentes⁶⁹.

Embora a primeira ideia seja relacionar alterações nos níveis de biomarcadores a outros indicadores de gravidade da HAP, o uso racional deveria ir além. Por exemplo, gostaríamos de saber que impacto estas determinações poderiam ter sobre desfechos como respostas a tratamentos e sobrevida. Em estudos realizados especificamente na síndrome de Eisenmenger foi demonstrado que níveis séricos elevados de BNP são preditores de eventos clínicos adversos^{70,71} e na HAP em geral, recentemente foi estabelecido que com um valor de corte > 340 pg/mL na condição basal, o BNP é considerado um forte preditor de sobrevida de até 5 anos⁷². No que diz respeito à resposta a tratamento, em pacientes sob uso de prostaciclina, foi observada melhora das alterações microcirculatórias através de diminuição no nível plasmático de selectina P⁷³. O mesmo marcador foi reduzido em circulação mediante administração crônica de estatina⁷⁴. Ao antígeno do fator de von Willebrand foi atribuída a característica de biomarcador útil na predição de prognóstico em curto e longo prazo^{46,75-78}.

A mensuração de um único biomarcador pode ser um procedimento limitado em sua capacidade de refletir diferentes aspectos biopatológicos, efeito de tratamentos e prognóstico, principalmente em estudos que incluem

diversas etiologias da HAP na casuística. Neste sentido, decidimos ter como foco especificamente a HAP avançada associada a cardiopatias congênitas, empregando seis biomarcadores para a verificação dos efeitos de inibidores de PDE 5 sobre funções microvasculares. Selecionamos o antígeno do fator de von Willebrand (VWF:Ag), a selectina P, o ativador do plasminogênio tipo tecidual (t-PA), e a trombomodulina como marcadores de disfunção endotelial e a β -tromboglobulina (β -TG) e a fração solúvel da proteína de ligação do receptor CD40 (sCD40L) como indicadores de ativação plaquetária endógena.

1.3.1. Marcadores de disfunção microvascular investigados no estudo

O fator de von Willebrand é uma glicoproteína multimérica sintetizada exclusivamente por megacariócitos e células endoteliais⁷⁵. Serve como molécula de adesão para plaquetas, e como transportador para o fator VIII da coagulação⁷⁹. Em condições fisiológicas, o fator de von Willebrand endotelial é secretado em direção abluminal, e deposita-se na membrana basal participando na adesão de células endoteliais ao subendotélio^{80,81}. Em condições patológicas, a estimulação de células endoteliais e plaquetas é seguida de rápida liberação da proteína a partir dos grânulos de armazenamento (respectivamente, corpúsculos de Weibel-Palade e grânulos alfa)^{82,83}, com aumento nos níveis circulantes. Na HAP, a função alterada das células endoteliais está associada a aumento da proteína no plasma, com

redução da sua atividade biológica⁸⁴⁻⁸⁶. Os níveis circulantes aumentados do fator de von Willebrand estão associados à diminuição de sobrevida tanto na forma idiopática da doença como na síndrome de Eisenmenger^{45,46,75-77}.

A selectina P é uma molécula de adesão armazenada em células endoteliais e plaquetas, juntamente com o fator de von Willebrand, nas mesmas organelas. Tem papel importante na adesão de neutrófilos ao endotélio e na ativação plaquetária durante processos inflamatórios⁸⁷, e existe em forma solúvel na circulação⁸⁸. Estudos sugerem que em processos trombóticos, inflamatórios e na aterosclerose, a selectina P plasmática pode refletir disfunção endotelial e ativação plaquetária⁸⁹⁻⁹¹. Na HAP incluindo a síndrome de Eisenmenger, os níveis plasmáticos encontraram-se aumentados, sendo descrita melhora (diminuição) mediante tratamento específico^{73,74,92}.

O t-PA é uma serino protease, sintetizada pelas células endoteliais, com papel de clivar o zimogênio plasminogênio para gerar plasmina⁹³. Os níveis circulantes encontram-se elevados em diversas doenças agudas e crônicas que cursam com microvasculopatia e ativação endotelial⁹⁴. Em pacientes portadores de HAP, e especificamente na síndrome de Eisenmenger os níveis plasmáticos de t-PA têm se mostrado elevados quando comparados com indivíduos saudáveis⁷⁴.

A trombomodulina é um proteoglicano de superfície das células endoteliais, capaz de se ligar à trombina, com subsequente ativação da proteína C e degradação dos fatores V e VIII, agindo como anticoagulante natural^{95,96}. A trombomodulina é um marcador de lesão endotelial dentro do processo de disfunção microvascular. Seu nível plasmático, representado por fragmentos de degradação, está elevado em algumas doenças como a

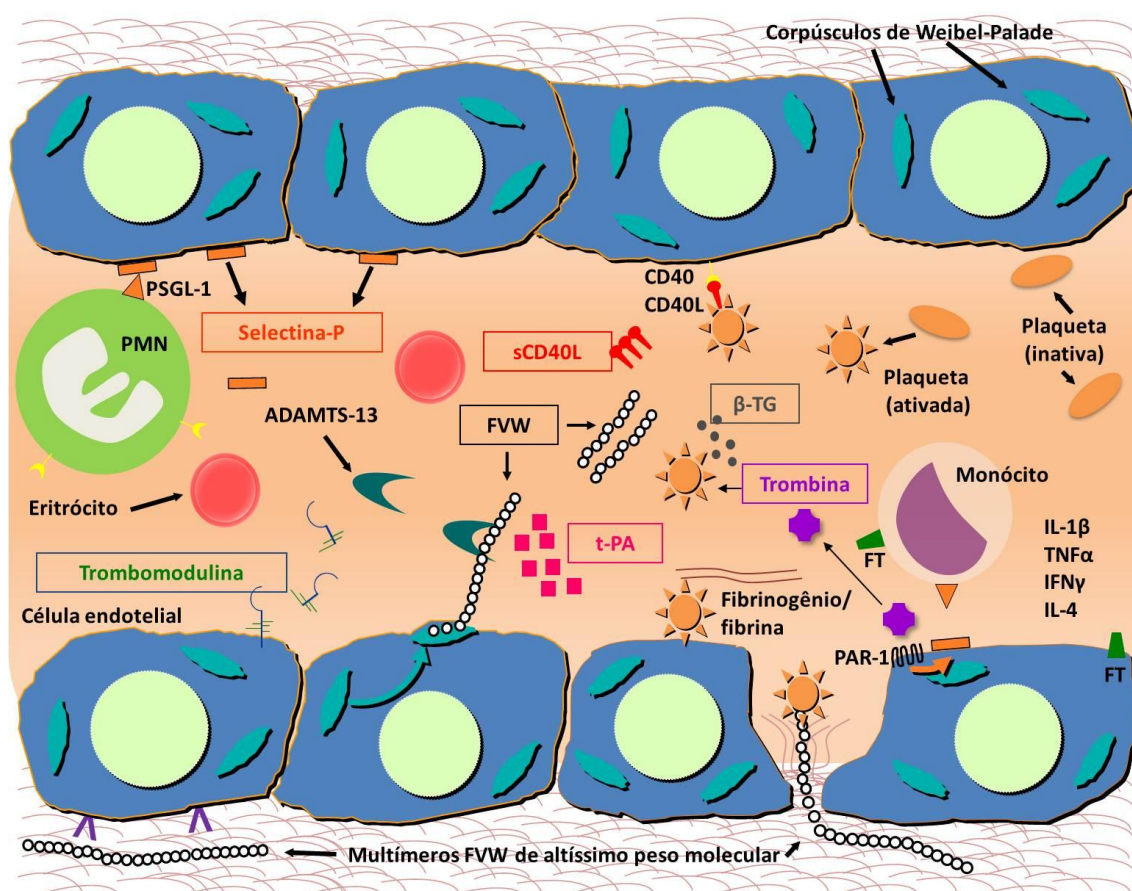
coagulação intravascular disseminada, a hepatite fulminante e trombose arterial, todas cursando com atividade proteolítica sistêmica. O nível circulante guarda correlação positiva com o antígeno do fator de von Willebrand (VWF:Ag) e com o t-PA⁹⁷. Entretanto, a trombosmodulina em circulação está reduzida em processos crônicos, nos quais se incluem a HAP idiopática e síndrome de Eisenmenger^{86,98}. Admite-se que nessas situações, o nível reduzido seja um reflexo de comprometimento na síntese endotelial. Na HAP, tem sido descrita melhora mediante tratamento específico com prostaciclina⁷³.

A β -tromboglobulina é uma proteína específica das plaquetas, secretada a partir de seus grânulos alfa durante ativação⁹⁹. Foi demonstrado que os níveis plasmáticos de β -tromboglobulina estão elevados em pacientes asmáticos quando induzidos ao exercício¹⁰⁰, e também na fibrilação atrial¹⁰¹, o que indica ativação plaquetária. Na HAP, tem sido sugerida a ocorrência de ativação e consumo crônicos de plaquetas, com aumento nos níveis plasmáticos de β -tromboglobulina e diminuição na contagem daquelas¹⁰².

A proteína de ligação do receptor CD40 (CD40L) é um elemento transmembrana expresso em células B, epiteliais, endoteliais, musculares lisas, fibroblastos e plaquetas⁴⁹. Sua fração solúvel, o sCD40L é liberada em circulação quando há ativação plaquetária¹⁰³, eventualmente associada a alterações endoteliais em condições alteradas de fluxo sanguíneo com aumento de forças do tipo *shear*. Aproximadamente 95% do sCD40L circulante é proveniente da liberação plaquetária¹⁰³. Em estudo, foi sugerido que o sCD40L tem papel importante na patogênese da HAP em geral, possivelmente como mediador da interação entre plaquetas e células endoteliais; os níveis

circulantes estiveram elevados em pacientes com as diversas etiologias de HAP, principalmente naqueles com a forma idiopática¹⁰⁴.

Na **Figura 1**, encontram-se representados alguns eventos biológicos que ocorrem em nível de microcirculação, onde moléculas de adesão e outras proteínas participam de interações entre elementos circulantes e a superfície interna do vaso, situação em que seus níveis passam a refletir a extensão do problema e suas complicações.



Modificado de Clavé MM e Lopes AA¹⁰⁵.

Figura 1. Esquema ilustrativo de alguns eventos biológicos que ocorrem no processo de ativação das células endoteliais. Diversos estímulos como mediadores de inflamação (citocinas, quimiocinas), trombina, hipóxia e forças físicas do tipo *shear* e *stretch* agem sobre o endotélio, promovendo mobilização de Ca^{++} e fusão dos corpúsculos de Weibel-Palade com a membrana plasmática, seguindo-se a secreção de seu conteúdo (selectina P e fator de von Willebrand (FVW), entre outras substâncias). O ativador de plasminogênio tipo tecidual (t-PA) é liberado a partir de compartimentos específicos. A selectina P participa do recrutamento de leucócitos (sobretudo polimorfonucleares (PMN) em condições de hipóxia), e a interação via selectina P se faz através de sua proteína de ligação, a PSGL-1 (*P-selectin glycoprotein ligand-1*). O FVW, uma vez secretado, pode circular ou permanecer em superfície, ligando-se à

selectina P, participando no recrutamento de plaquetas. Uma vez em circulação, o FVW é fisiologicamente clivado pela metaloprotease ADAMTS-13 (*a desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, member 13*), operando como transportador para o fator VIII da coagulação. A perda de integridade do endotélio expõe moléculas de altíssimo peso molecular do FVW, armazenadas na região subendotelial, que recrutam plaquetas, em condições de fluxo, mediante interação com o complexo glicoproteico plaquetário GPIIb-V-IX. Em células endoteliais e monócitos, o estímulo via mediadores inflamatórios (IL-1 β , interleucina 1-beta; TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*; IFN- γ , *interferon gamma*; IL-4, interleucina-4) induz a expressão do fator tecidual (FT), com ativação da via extrínseca do sistema de coagulação, resultando em geração de trombina. Esta age por meio de seu receptor PAR-1 (*protease-activated receptor-1*) promovendo, em células endoteliais, a secreção do conteúdo dos corpúsculos de Weibel-Palade. Plaquetas ativadas por trombina liberam beta-tromboglobulina (β -TG), CD40L, moléculas de adesão, fatores de crescimento e quimiocinas. Em situações agudas, a atividade de proteases resulta na quebra e liberação em circulação de fragmentos de trombospondina, cuja concentração se eleva. Em situações de disfunção endotelial crônica, a concentração plasmática se reduz, em consequência de expressão endotelial defectiva.

1.4. Marcadores de prognóstico na hipertensão arterial pulmonar

A HAP tem curso variável, e alguns pacientes têm desfechos como o óbito em alguns meses do diagnóstico, enquanto outros vivem por décadas. O prognóstico é dependente de uma série de fatores que caracterizam a gravidade da doença, assim como da causa subjacente. Por exemplo, pacientes com HAP associada a cardiopatias congênitas têm melhor expectativa de vida do que aqueles com outras etiologias como a forma idiopática e associada a doenças do tecido conectivo^{106,107}. Alguns indicadores de prognóstico têm sido utilizados, podendo ser citados elementos clínicos, derivados de testes de tolerância ao exercício, parâmetros hemodinâmicos, índices relacionados à função ventricular direita, incluindo o nível circulante do BNP, variáveis ecocardiográficas e resposta a tratamentos específicos.

Resultados de estudos recentes confirmam que a classe funcional pode ser utilizada como um indicador relevante de prognóstico. Na HAP

idiopática foi demonstrado que a melhora ou deterioração da classe funcional ao longo do tempo são preditores de sobrevida⁵⁹. Dados do estudo REVEAL¹⁰⁸ mostraram que a sobrevida estimada de três anos foi melhor em pacientes nos quais o *status* da classe funcional melhorou comparado com aqueles que permaneceram sem modificação ou que pioraram.

Na HAP em suas diversas etiologias, a distância percorrida no teste de caminhada de seis minutos¹⁰⁹ tem sido considerada como marcador substituto de sobrevida, juntamente com observações de que a tolerância ao exercício pode prever o efeito de tratamentos específicos com uso de vasodilatadores¹¹⁰. O papel do ventrículo direito em aumentar o índice cardíaco durante o exercício é um determinante importante da capacidade física em pacientes com hipertensão pulmonar. Foi demonstrado que o índice cardíaco ao exercício correlacionou-se com o consumo máximo de oxigênio (VO₂ pico), considerando-se este último como preditor independente de sobrevida¹¹¹.

Parâmetros hemodinâmicos têm fornecido informações importantes sobre prognóstico na HAP. A função ventricular direita comprometida está associada à insuficiência sistólica e diastólica, com pressão atrial elevada e diminuição do índice cardíaco¹¹². O nível circulante aumentado de BNP (>140 pg/mL) tem sido considerado como preditor de eventos como hospitalização por insuficiência cardíaca ou óbito⁷⁰; quanto mais alto o nível plasmático, maior a associação (independente) com a mortalidade⁶¹, sendo uma ferramenta importante na identificação de pacientes considerados graves.

Algumas variáveis ecocardiográficas fornecem informações de prognóstico desfavorável: a excursão sistólica do plano anular tricúspide (TAPSE) com valores abaixo de 1,5 cm; o índice de desempenho miocárdico

(índice de Tei) com valores acima de 0,88; e o índice de excentricidade diastólica final do ventrículo esquerdo com valores acima de 1,7. O aumento do volume do átrio direito e a presença de derrame pericárdico também correlacionam com desfechos adversos¹¹³⁻¹²⁰. Especificamente em indivíduos portadores da síndrome de Eisenmenger, valores de TAPSE reduzidos com área atrial direita aumentada, bem como a relação átrio direito / átrio esquerdo, foram fortes preditores de mortalidade de todas as causas¹²¹.

Outros fatores também são conhecidos por apresentar relação com a sobrevida na síndrome de Eisenmenger: a complexidade das lesões cardíacas parece ser central¹²². A deficiência de ferro é frequentemente associada à hiperviscosidade sanguínea nesses pacientes e representa fator de risco para desfechos¹²³. Em concordância com o estudo de Kawut et al.⁴⁶ em HAP idiopática, nosso grupo demonstrou que níveis plasmáticos elevados do fator de von Willebrand estão associados a aumento do risco de mortalidade em pacientes com a síndrome de Eisenmenger seguidos por quatro anos⁷⁷. Em estudo retrospectivo envolvendo indivíduos com esta síndrome, foi possível demonstrar que aqueles com acesso a medicamentos específicos para HAP tem sobrevida significativamente melhor quando comparados aos que não são expostos a estes fármacos¹⁴.

A identificação destes parâmetros diretamente associados com risco de deterioração clínica e mortalidade são a chave para seleção da melhor estratégia terapêutica numa doença potencialmente fatal como a HAP.

1.5. Justificativa para o estudo

Inibidores de fosfodiesterase 5, sendo a sildenafil seu representante mais conhecido, são talvez os fármacos mais amplamente difundidos como recursos terapêuticos para a HAP, sobretudo se forem considerados países ou regiões ainda em desenvolvimento no mundo todo. Fármacos mais recentemente desenvolvidos ainda são de uso relativamente limitado se considerarmos as diversas áreas. Por outro lado, a efetividade de determinado tratamento não deveria ser avaliada somente por provas funcionais que medem a capacidade física. São necessários, por exemplo, testes que avaliam a qualidade de vida relacionada à saúde. Além disso, biomarcadores são úteis. Proteínas de fácil mensuração, cujos níveis refletem a extensão da disfunção microvascular, podem revelar aspectos importantes da doença vascular pulmonar, sobretudo nas formas mais avançadas, em particular em associação a cardiopatias congênitas, onde a hipoxemia crônica e a hiperviscosidade sanguínea aparecem como complicadores e antecipadores da disfunção de vários órgãos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo primário

Verificar, em portadores de HAP acentuada associada a cardiopatias congênitas, portanto contraindicados para o tratamento cirúrgico das anomalias cardíacas, o impacto do uso crônico de inibidores de fosfodiesterase 5 (sildenafil e tadalafila), sobre: a capacidade física; a qualidade de vida relacionada à saúde; e marcadores bioquímicos de disfunção microvascular.

2.1.1. Desfechos

Os desfechos correspondem às modificações (induzidas pelos tratamentos com sildenafil ou tadalafila) na classe funcional e distância percorrida no teste de seis minutos, nos escores do questionário de qualidade de vida relacionada à saúde SF-36 e nas concentrações plasmáticas de marcadores de disfunção microvascular.

2.2. Objetivo secundário

Verificar, nos mesmos pacientes, o possível valor prognóstico de elementos clínicos, laboratoriais e relacionados ao tratamento, analisados em seguimento de longo prazo.

2.2.1. Desfechos

Os desfechos relacionados ao segundo objetivo correspondem à sobrevida livre de evento, sendo este considerado como ocorrência de óbito (todas as causas) ou piora clínica durante a evolução dos pacientes.

3.1. Casuística

O estudo foi realizado em único centro, reunindo pacientes da Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Para inclusão, os pacientes adolescentes e adultos, deveriam ser portadores de HAP avançada associada a cardiopatias congênitas. A HAP foi caracterizada através de estudo hemodinâmico em diferentes momentos anteriores ao período do estudo. O diagnóstico de HAP associada a cardiopatias congênitas foi feito por exclusão de outras etiologias, como doença do tecido conectivo, infecção pelo vírus HIV, esquistossomose e uso de anorexígenos e outras substâncias tóxicas. O diagnóstico de HAP idiopática foi excluído pela presença da cardiopatia congênita. Elementos hereditários também foram pesquisados no interrogatório. Doenças valvares, miocárdicas e outras acometendo câmaras cardíacas esquerdas foram excluídas.

Para inclusão, os pacientes deveriam estar caracterizados como inoperáveis em relação à cardiopatia congênita, em função da hipertensão pulmonar acentuada. Tal caracterização foi baseada em elementos de propedêutica clínica, exames diagnósticos subsidiários não invasivos e quando necessário, cateterismo cardíaco.

Basicamente, pacientes com dois tipos de apresentação clínica foram considerados: 1 – aqueles com aspecto compatível com a presença da síndrome de Eisenmenger, em geral cianóticos e com saturação periférica de

oxigênio reduzida (< 90%), sugerindo a ocorrência de desvio do sangue de direita para esquerda nas cavidades cardíacas ou grandes artérias; 2 – aqueles sem cianose em repouso (eventualmente com saturação de oxigênio > 93%), mas rapidamente manifesta durante o exercício.

Para o cumprimento do objetivo primário, os pacientes não deveriam ter relato de uso prévio de medicamentos específicos para HAP (prostanóides, antagonistas dos receptores de endotelina e inibidores de fosfodiesterase 5). Previamente ao uso de inibidores de PDE 5, os pacientes foram submetidos à avaliação oftalmológica, para exclusão daqueles com lesões significantes à fundusscopia. O uso de anticoagulação oral crônica (em geral com varfarina) não constituiu obstáculo para inclusão de pacientes, desde que não houvesse nenhuma programação de interrupção deste tratamento durante o período do estudo correspondente a seis meses. Doadores voluntários do Banco de Sangue da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, com idade próxima à dos pacientes, foram incluídos como grupo controle para efeito de comparações no que diz respeito às determinações bioquímicas em amostras de plasma. O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq (545.215).

3.2. Critérios de inclusão

- HAP avançada associada a cardiopatia congênita em paciente considerado não operável.

- Situação clínica estável em seguimento ambulatorial.
- Inexistência de tratamento prévio específico para HAP.
- Possibilidade plena de realização do teste de caminhada de seis minutos e de preenchimento do questionário de qualidade de vida.
- Ausência de comorbidades relevantes e outros tratamentos específicos em andamento.
- Adesão ao termo de consentimento livre e esclarecido.

3.3. Critérios de exclusão

- Doenças outras que são conhecidas como potenciais causas de HAP ou outras formas de hipertensão pulmonar.
- Instabilidade clínica avançada (classe funcional IV) expressa por sinais de baixo débito cardíaco com necessidade de drogas de suporte circulatório.
- Trombose arterial pulmonar extensa acometendo vasos centrais à angiotomografia de tórax.
- Alterações oftalmológicas detectadas à funduscopia.
- Quaisquer condições resultando em dificuldade ou impedimento à realização do teste de caminhada de seis minutos ou preenchimento do questionário de qualidade de vida.
- Síndromes cromossômicas ou gênicas exceto síndrome de Down.

3.4. Tamanho amostral

Foi inicialmente estabelecido levando-se em conta a distância percorrida durante o teste de caminhada de seis minutos como variável de referência. Assim sendo, tendo como meta a demonstração de diferenças da ordem de 0,8 desvio-padrão, com poder de 0,80 e nível de significância de 0,05, e considerando-se a possibilidade de perda em torno de 20%, chegamos ao número de 18 pacientes em cada um dos grupos de tratamento (sildenafil e tadalafila).

Para análise de biomarcadores, foi necessária a obtenção de material de indivíduos considerados como grupo controle. Em número de 30, esses indivíduos foram selecionados a partir da condição de doadores de banco de sangue, sendo adultos jovens, em sua maioria na faixa etária compreendida entre 18 e 50 anos.

3.5. Casuística ampliada

Visando ao cumprimento do objetivo secundário, procedeu-se à inclusão de um grupo de pacientes que já se encontrava em seguimento na Unidade Clínica, constituindo amostra definida com participação em estudos anteriores^{74,77}. Esses pacientes apresentavam características diagnósticas em tudo semelhantes às descritas, encontrando-se ou não sob uso de medicação

específica para HAP e/ou anticoagulação crônica com varfarina. Dados demográficos, diagnósticos e laboratoriais gerais e específicos, correspondentes ao momento da prévia inclusão, encontravam-se disponíveis. Dada a conotação de coorte, foi possível a perfeita caracterização de evento (definido adiante) e/ou óbito conforme registrado para o grupo atual. Assim sendo, para fins de seguimento de longo prazo, a casuística foi ampliada pela inclusão de 46 indivíduos.

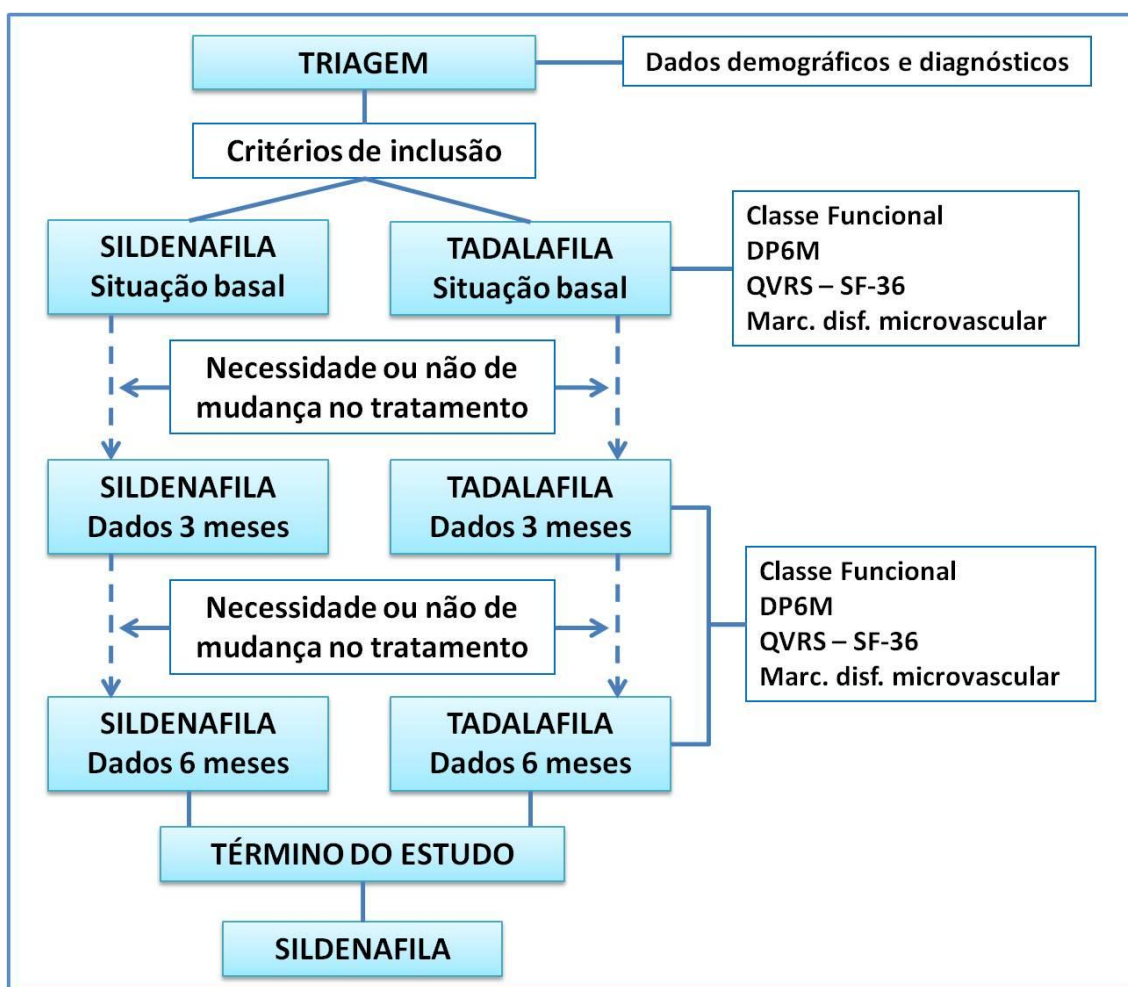
3.6. Tipo e desenho do estudo

Visando ao cumprimento do objetivo primário, o estudo foi do tipo longitudinal de coorte, prospectivo, envolvendo tratamento com dois fármacos. Foi realizado em centro único, com uso de fármacos previamente aprovados para o tratamento da HAP, com registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), disponíveis comercialmente.

Satisfeitos os critérios de inclusão, os pacientes foram recrutados de maneira consecutiva. A impossibilidade de randomização foi devida ao fato de que a tadalafila só esteve disponível em nosso meio por curto intervalo de tempo. Assim sendo, os primeiros pacientes incluídos no estudo foram direcionados ao tratamento com tadalafila, até que o grupo estivesse completo. Em seguida, os demais pacientes incluídos foram direcionados à terapia com a sildenafil.

Para a verificação dos efeitos do tratamento sobre a capacidade física, dados laboratoriais gerais e específicos e qualidade de vida, foi feita aquisição de dados nas situações basal (antes do tratamento), e aos três meses e seis meses de uso dos fármacos. Concluído o período do estudo, pacientes sob uso de tadalafila foram transicionados para a continuação do seu tratamento com a sildenafil, sendo feitos ajustes necessários.

Quadro 3. Algoritmo seguido para realização do estudo.



3.6.1. Dados de triagem, demográficos e diagnósticos

Pacientes com comunicações não restritivas entre câmaras cardíacas e/ou grandes artérias associadas a doença vascular pulmonar avançada costumam apresentar-se com exame de precórdio indicando hipertensão acentuada na pequena circulação. Com frequência, a cianose está presente em graus variados. Em cardiopatias mais simples sob o ponto de vista anatômico, observam-se sinais radiográficos e eletrocardiográficos de hipertrofia moderada a acentuada das câmaras cardíacas direitas.

Os pacientes foram submetidos à avaliação inicial, sendo registrados idade, gênero, classe funcional (baseada nos critérios propostos pela *New York Heart Association* adaptados para hipertensão pulmonar pela Organização Mundial da Saúde¹²⁴), pressão arterial, frequência cardíaca e saturação periférica de oxigênio (oximetria de pulso). A ecocardiografia com Doppler foi utilizada para a caracterização pormenorizada das alterações anatômicas, assim como exclusão de estenoses em veias pulmonares e de anormalidades em câmaras cardíacas esquerdas incluindo doença miocárdica e valvar. Considerando que o diagnóstico de HAP fora estabelecido através cateterismo cardíaco, em momentos variáveis e distantes do estudo, a atualização da informação hemodinâmica foi feita de maneira não invasiva, pela ecocardiografia, mediante determinação da pressão sistólica arterial pulmonar (PSAP). A mesma foi estimada com base na velocidade do jato de regurgitação tricuspídea, segundo a equação: $PSAP = 4 \times V^2 + \text{pressão de átrio direito}$,

onde V é a velocidade em m/s, sendo a pressão atrial direita assumida pelo observador como 5, 10 ou 15 mmHg, conforme aspecto da câmara e das veias cava¹²⁵. Embora se considere níveis acima de 40 mmHg apenas como sugestivos da presença de hipertensão pulmonar, em situação de inoperabilidade, os pacientes incluídos no estudo apresentaram valores muito acima deste limite.

Dados de avaliação ecocardiográfica qualitativa do ventrículo direito foram computados a partir de exame próximo à data de entrada. Sua obtenção não fora planejada para inclusão em resultados como critério de efetividade dos tratamentos, e não foi possível para todos os casos. Estes dados foram utilizados apenas para a análise de sobrevida, juntamente com outros fatores de potencial valor prognóstico. A avaliação qualitativa do ventrículo direito foi feita com uso de múltiplas “janelas” acústicas, conforme recomendação feita pela *American Society of Echocardiography*^{125,126}. A partir da visibilização das paredes da base ao ápice, a função ventricular direita foi classificada como normal ou discretamente comprometida, moderadamente alterada ou acentuadamente deprimida. A análise qualitativa foi feita por um único observador, cegado, o qual não teve acesso a outros dados do seguimento dos pacientes.

3.6.2. Avaliação da capacidade física através do teste de caminhada de seis minutos

O teste foi realizado de acordo com especificações padronizadas pela *American Thoracic Society*¹⁰⁹, em corredor longo de piso nivelado, com 21 metros de comprimento, e demarcações a cada 1,5 metros. Antes do início do teste, os pacientes deveriam permanecer sentados em repouso, em cadeira próxima ao corredor. Neste momento as seguintes variáveis eram coletadas: pressão arterial, frequência cardíaca e saturação periférica de oxigênio (oximetria de pulso). Os pacientes eram então instruídos de como proceder no teste, devendo eles andar o mais rápido possível durante seis minutos, mas também, que se fosse necessário poderiam diminuir a velocidade da caminhada ou parar caso ficassem exaustos. Ao final do teste, as mesmas variáveis eram coletadas e a distância total calculada em metros; a intensidade da dispneia determinada pelo observador de acordo com escala proposta por Borg¹²⁷ e a classe funcional dada conforme gradação segundo a *New York Heart Association*, modificada pela Organização Mundial da Saúde para aplicação a pacientes com hipertensão pulmonar¹²⁴.

3.6.3. Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde através do questionário genérico de saúde SF-36

A qualidade de vida foi avaliada mediante aplicação do questionário *Medical Outcomes Study 36-item Short-Form Health*, SF-36¹²⁸ (**Anexo 8**), traduzido e adaptado para a língua portuguesa¹²⁹. O SF-36 é formado por 36 itens agrupados em oito domínios: capacidade funcional, aspectos físicos, dor e estado geral de saúde (componente físico), vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais e saúde mental (componente mental). Os escores dos domínios são representados por uma escala com valor de 0 a 100, onde zero corresponde à pior qualidade de vida e 100 à melhor. Os pacientes foram orientados por um único entrevistador quanto ao preenchimento do questionário. O processamento dos escores e a interpretação dos resultados foram efetivados de acordo com diretrizes de pontuação e cálculo para o questionário¹³⁰ (**Anexos 9 e 10**).

3.6.4. Dados laboratoriais gerais

Foram realizadas determinações hematológicas para a verificação do nível de hematócrito, concentração de hemoglobina e número de plaquetas circulantes. Para tanto, foram coletadas amostras de sangue venoso periférico, em tubo contendo anticoagulante EDTA, sendo as determinações feitas em

contador hematológico automático (Cell-Dyn 3700, Abbott Diagnósticos, Illinois - EUA).

3.6.5. Determinações laboratoriais específicas – marcadores de disfunção microvascular

Os marcadores de disfunção endotelial pesquisados presentes no plasma foram o antígeno do fator de von Willebrand, a selectina P, o ativador do plasminogênio tipo tecidual, a trombomodulina e a proteína de ligação do receptor CD40, forma solúvel. Como marcadores de disfunção/ativação plaquetária, foram estudados a selectina P, a β -tromboglobulina e a proteína de ligação do receptor CD40, forma solúvel.

As amostras sanguíneas foram obtidas de punção venosa periférica e transferidas para tubos com EDTA ou citrato de sódio 3,2% (1:10 volumes). A coleta foi realizada de forma lenta e suave, de modo que não ocorresse fragmentação celular e/ou hemólise durante o processo. O plasma foi separado mediante centrifugação a 2000 x g por 20 minutos, aliqotado e estocado a -80°C, e descongelado uma única vez para uso. A determinação dos marcadores bioquímicos foi realizada por ensaio imunoenzimático (ELISA), sendo utilizados *kits* comerciais de procedência Stago (Asnières, França) (VWF:Ag, t-PA e β -tromboglobulina) ou R&D Systems (Minneapolis, MN, EUA) (selectina P, trombomodulina e sCD40L).

O processamento das amostras de plasma foi realizado sempre em duplicata, com o material de cada paciente nas diferentes situações (basal e três meses e seis meses de tratamento), analisados na mesma placa de ensaio. Curvas-padrão (construídas com reagentes fornecidos pelos *kits*) foram utilizadas para obtenção dos resultados, ajustadas com uso do software CurveExpert Professional versão 2.3.0 (disponível em www.curveexpert.net). A leitura das absorvâncias foi realizada em leitor de microplacas (SpectraMax Paradigm, Molecular Devices, Lagerhausstrasse, Áustria), tendo variação do comprimento de onda entre 450 nm e 650 nm.

Pacientes com síndrome de Eisenmenger possuem hematócrito elevado. Resultados finais podem ser inexatos com a utilização de quantidades inapropriadamente iguais de anticoagulante nos tubos de coleta, na presença de volumes diversos de plasma. Para evitar este erro, após a obtenção das leituras correspondentes às concentrações dos biomarcadores, foi feita normalização, levando-se em conta o nível do hematócrito (e, portanto o volume relativo de plasma na amostra) obtido no mesmo dia da coleta. Fatores de correção foram também aplicados para se obter a homogeneidade de resultados entre *kits*, utilizando-se como referência padrões fornecidos pelo fabricante e *pool* de plasma normal.

3.6.6. Tratamento farmacológico, medidas de segurança, monitoração de efeitos adversos e eventuais mudanças na estratégia terapêutica

A tadalafila foi administrada por via oral, na dose única diária de 40 mg²⁴. A sildenafil foi utilizada também por via oral, na dose diária de 60 mg, subdividida em três tomadas, com intervalos de 8 horas²³. O tratamento foi sustentado por seis meses, salvo aparecimento de efeitos adversos relevantes ou instabilidade clínica requerendo mudança de estratégia.

Uma vez iniciado o uso dos fármacos, após exame oftalmológico, um dos sinais monitorados foi a pressão arterial sistêmica. Esta foi observada com intuito de melhor interpretar eventuais oscilações na saturação periférica de oxigênio. Em pacientes com a síndrome de Eisenmenger, em virtude do desvio de fluxo de direita para esquerda em cavidades cardíacas, a redução na pressão sistêmica acarretaria acentuação da hipoxemia, que poderia ser considerada como efeito indesejável do tratamento.

Alguns sintomas são esperados mediante tratamento com inibidores de PDE 5, incluindo cefaleia, rubor facial, obstrução nasal, náusea, dispepsia, visão “borrada” ou com alteração das cores e sangramento ginecológico. Estes sintomas, desde que discretos, tolerados e transitórios (poucos dias) não são considerados como critério para a interrupção do tratamento. Sintomas frequentemente menos tolerados são as dores em musculatura esquelética, sobretudo em região abdominal, cintura pélvica e membros inferiores.

A verificação da aderência ao tratamento foi feita através de contato telefônico. Houve planejamento no sentido de suspensão no caso de ocorrência de sintomas de maior intensidade e/ou duração. Neste caso, a opção seria a substituição do inibidor de PDE 5 por medicamento de outra classe, antagonistas de receptores de endotelina, que se encontravam disponíveis. A partir do início do estudo, todos os demais medicamentos em uso foram mantidos inalterados por seis meses. Esta conduta foi especialmente adotada para a varfarina, nos pacientes que já se encontravam sob anticoagulação oral crônica. A eventual necessidade de alteração em quaisquer esquemas terapêuticos durante o período do estudo constituiria situação de exclusão do paciente da análise final de dados.

Completado o período de seis meses, e frente à não disponibilidade da tadalafila nos programas governamentais para uso em longo prazo, os pacientes sob tratamento com este fármaco foram transicionados para o uso da sildenafil. Nos retornos subsequentes, foram observados cuidados no sentido de monitoração de efetividade e efeitos adversos, sendo feitos ajustes na dose administrada conforme a necessidade.

3.7. Análise de sobrevida livre de evento

Para o cumprimento do segundo objetivo, além dos pacientes da casuística atual, foram incluídos 46 indivíduos que fizeram parte de estudos anteriores do grupo (início em 2005), com as mesmas características clínicas

dos atuais, e que se encontravam em seguimento ambulatorial como coorte delimitada. Assim sendo, a análise de sobrevida foi feita com base em casuística mista, conforme explicitado anteriormente, sendo os dados então obtidos de forma retro e prospectiva.

A análise foi realizada considerando-se como desfecho, o óbito ou a deterioração clínica grave, ainda que transitória, expressando-se como síndrome de baixo débito cardíaco, com necessidade de uso de drogas vasoativas. Variáveis demográficas, diagnósticas, funcionais, laboratoriais gerais e específicas (marcadores de disfunção endotelial), assim como aquelas relacionadas ao tratamento com fármacos específicos para HAP foram testadas em relação ao seu possível papel prognóstico em modelos para um, dois ou múltiplos fatores.

3.8. Análise estatística

As variáveis analisadas no estudo foram de natureza numérica ou categórica. As numéricas foram testadas quanto à sua aderência à distribuição normal (Gaussiana). São apresentadas, com maior frequência, como valor mediano e percentis 25 e 75. Eventualmente, são dados os limites inferior e superior. Em algumas construções gráficas, para maior facilidade de visualização de diferenças, variáveis numéricas com aderência à distribuição normal são apresentadas como média e erro padrão, ou ainda, como média

geométrica. As variáveis categóricas são apresentadas como número de casos e porcentagem, ou como proporção.

Comparações entre dois grupos de indivíduos foram feitas com uso do teste “t” de Student ou teste de Mann-Whitney no caso das variáveis numéricas. Para variáveis categóricas, utilizou-se a “família” de procedimentos Qui-quadrado, incluindo o teste de Pearson, o teste exato de Fisher e a razão de verossimilhança (*Likelihood ratio*).

Diferenças entre três momentos (situação pré-tratamento versus três e seis meses de uso dos fármacos) foram avaliadas com emprego de análise de variância para medidas repetidas, ou teste de Friedman, com os apropriados procedimentos *post hoc* para múltiplas comparações entre os diferentes tempos. Para análise de variáveis categóricas, utilizou-se o teste de McNemar.

Diversos procedimentos foram realizados para a identificação de variáveis com possível impacto na sobrevida livre de evento (preditor). Com uso do modelo de Cox (*proportional hazard regression analysis*), procedeu-se inicialmente à análise univariada, onde fatores potencialmente implicados foram selecionados. Uma vez identificado um fator com valor prognóstico, procedeu-se à análise bivariada para verificação de possíveis modificadores, caracterizados como capazes de produzir alteração significativa na razão de chances associada à variável principal. Modificadores alterando a razão de chances no mesmo sentido da variável principal (proteção ou risco), melhorando, portanto seu valor preditivo, foram selecionadas para possível inclusão no modelo multivariado final. Curvas de sobrevida foram construídas com uso do procedimento de Kaplan-Meier, sendo realizadas comparações

entre os níveis da variável identificada como preditor. Procedimentos adicionais foram realizados com a finalidade de resolver potenciais vieses de análise. Em todos os procedimentos, 0,05 foi adotado como nível de significância.

4. RESULTADOS

4.1. Análise descritiva geral – características dos pacientes incluídos no estudo

Foram inicialmente incluídos no estudo, 35 pacientes portadores de HAP avançada associada a cardiopatias congênitas, em sua maioria cianóticos, com apresentação clínica compatível com a síndrome de Eisenmenger, com idade variando entre 10,0 e 64,0 anos (mediana 28,0 anos), e predominância do gênero feminino. Salvo poucas exceções, as anomalias cardiovasculares eram simples sob o ponto de vista estrutural, envolvendo defeitos pré e pós-tricuspídeos e conotruncais. Apenas quatro pacientes apresentaram HAP associada a cardiopatias congênitas complexas. Foram admitidos dois pacientes portadores de síndrome de Down. Os mesmos foram colaborativos em todos os procedimentos, com eventual auxílio dos pais, nada havendo que limitasse sua participação no estudo. Conforme será explicitado adiante, quatro dos 35 pacientes não completaram o estudo por incompatibilidade com a medicação. Os dados iniciais de todos os pacientes estão expostos nos **Anexos 1 e 2**.

Nesta sessão, são apresentados os dados descritivos e inferenciais dos 31 pacientes que tiveram todas as etapas do estudo completas. Os dados descritivos relacionados com elementos diagnósticos, funcionais e laboratoriais gerais destes pacientes encontram-se dispostos na **Tabela 1**. Na maioria dos casos, o quadro clínico e funcional característico da síndrome de Eisenmenger pôde ser delineado pela presença de alguns elementos. A hipertensão pulmonar fora previamente confirmada por estudo hemodinâmico, embora

Tabela 1: Dados demográficos e diagnósticos iniciais em 31 pacientes que completaram o estudo

Idade, anos	28,0 (18,1-41,7)
Gênero, M:F, n	10:21
Síndrome de Down, n (%)	2 (6)
Diagnóstico anatômico:	
Comunicações pré-tricuspídeas, n (%)	6 (19)
Comunicações pós-tricuspídeas, exceto defeito septal atrioventricular, n (%)	16 (52)
Defeito septal atrioventricular, n (%)	3 (10)
Anomalias conotrunciais, n (%)	2 (6)
Cardiopatias complexas, n (%)	4 (13)
Dados funcionais:	
Pressão arterial sistólica (mmHg)	127 (120-139)
Pressão arterial diastólica (mmHg)	86 (78-93)
Saturação periférica de oxigênio (%)	87 (80-92)
Pressão sistólica arterial pulmonar (mmHg) [¥]	93 (80-116)
Classe funcional I/II, n (%) [†]	5 (32)
Classe funcional III/IV, n (%) [†]	26 (68)
Distância caminhada em seis minutos, metros [#]	480 (420-516)
Função ventricular direita*:	
Normal ou comprometimento discreto, n (%)	21 (68)
Comprometimento moderado, n (%)	6 (19)
Comprometimento acentuado, n (%)	1 (3)
Análise inconclusiva, n (%)	3 (10)
Dados laboratoriais:	
Hematócrito (%)	55 (51-64)
Hemoglobina (g/dL)	18,0 (17,0-20,0)
Plaquetas (k/ μ L)	210 (180-254)
BNP (pg/mL) [€]	47 (26-86)
Anticoagulação oral crônica, n (%)^{††}	18 (58)

Dados apresentados como número e porcentagem, ou mediana e percentis 25 e 75.

(†) Classificação segundo a Organização Mundial da Saúde¹²⁴

(#) Protocolo proposto pela *American Thoracic Society*¹⁰⁹

(*) n= 28. Analisada de forma qualitativa com uso de múltiplas “janelas” acústicas, conforme recomendação feita pela *American Society of Echocardiography*^{125,126}. O observador não teve acesso a outros dados dos pacientes ou seu seguimento.

(¥) n= 30. Estimação por ecocardiografia com Doppler, através da velocidade do jato de regurgitação tricuspídea

(€) BNP, peptídeo natriurético cerebral. n= 30. Obtido em algum momento próximo ao ingresso no estudo

(††) Uso de varfarina

realizado fora do período do estudo. Os níveis foram atualizados através de mensurações não invasivas (ecocardiografia). Assim sendo, a pressão sistólica arterial pulmonar foi 93 mmHg (valor mediano, com percentis 25 e 75 de 80 a 116 mmHg), nível considerado importantemente elevado (valor de corte para rastreamento de hipertensão pulmonar > 40 mmHg)³. A saturação periférica de oxigênio esteve reduzida na maioria dos casos, sendo a mediana de 87% (80% - 92%), com hematócrito de 55% (51% - 64%). Ressalte-se que mesmo os pacientes com saturação periférica de oxigênio superior a 90%, onde a denominação “síndrome de Eisenmenger” poderia ser questionada, mostraram acentuada redução da mesma ao exercício físico (ver adiante). Nestes, o hematócrito variou entre 41% e 74% e o nível de hemoglobina entre 14,3 e 24,4 g/dL, sugerindo hipoxemia crônica gerada pelo *shunt* circulatório de direita para esquerda. Assim sendo, podemos dizer que os pacientes apresentaram-se com HAP acentuada, na presença de cardiopatias congênitas, configurando ou não a síndrome de Eisenmenger no sentido estrito de sua definição, mas com evidências de hipoxemia crônica, sobretudo durante atividade física. Os pacientes tiveram algum grau de limitação física, sendo a classe funcional II, III ou IV (respectivamente, 5, 22 e 4 casos). Sob o ponto de vista da análise ecocardiográfica qualitativa, a maioria dos pacientes (68%), apresentou comprometimento discreto da função ventricular direita.

Na condição basal, analisando-se fatores com possível impacto sobre a condição física, como idade, frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e diastólica, saturação periférica de oxigênio, nível de hemoglobina e hematócrito, e complexidade da anomalia cardíaca, somente esta última apresentou uma influência limítrofe sobre a distância percorrida no teste de

seis minutos. Comparativamente a situações anatômicas menos complexas, pacientes com defeito septal atrioventricular, anomalias conotrunciais, isomerismos ou anatomia univentricular tiveram tendência a percorrer menor distância durante o teste (respectivamente, 491 (468 - 519) metros e 407 (375 - 483) metros, $p= 0,052$).

4.2. Marcadores de disfunção microvascular na condição basal

Os dados observados no estudo, com relação às proteínas circulantes investigadas indicaram a presença de disfunção microvascular (inclusive plaquetária) associada à condição hemodinâmica alterada, hipoxemia crônica e hiperviscosidade sanguínea (hematócrito elevado). Os resultados correspondentes aos níveis plasmáticos dos marcadores bioquímicos, avaliados na condição basal, comparativamente ao grupo controle, encontram-se ilustrados na **Figura 2**. O nível plasmático da trombosmodulina mostrou-se diminuído, enquanto os níveis do t-PA, VWF:Ag, selectina P e β -tromboglobulina estiveram aumentados. Não foi observada alteração significativa no nível de sCD40L.

Analisando-se a possível associação entre níveis dos marcadores bioquímicos e variáveis demográficas, clínicas e funcionais na condição basal, encontramos correlação positiva entre o nível plasmático de trombosmodulina e a distância percorrida no teste de seis minutos ($r= 0,40$, $p= 0,031$), entre o nível

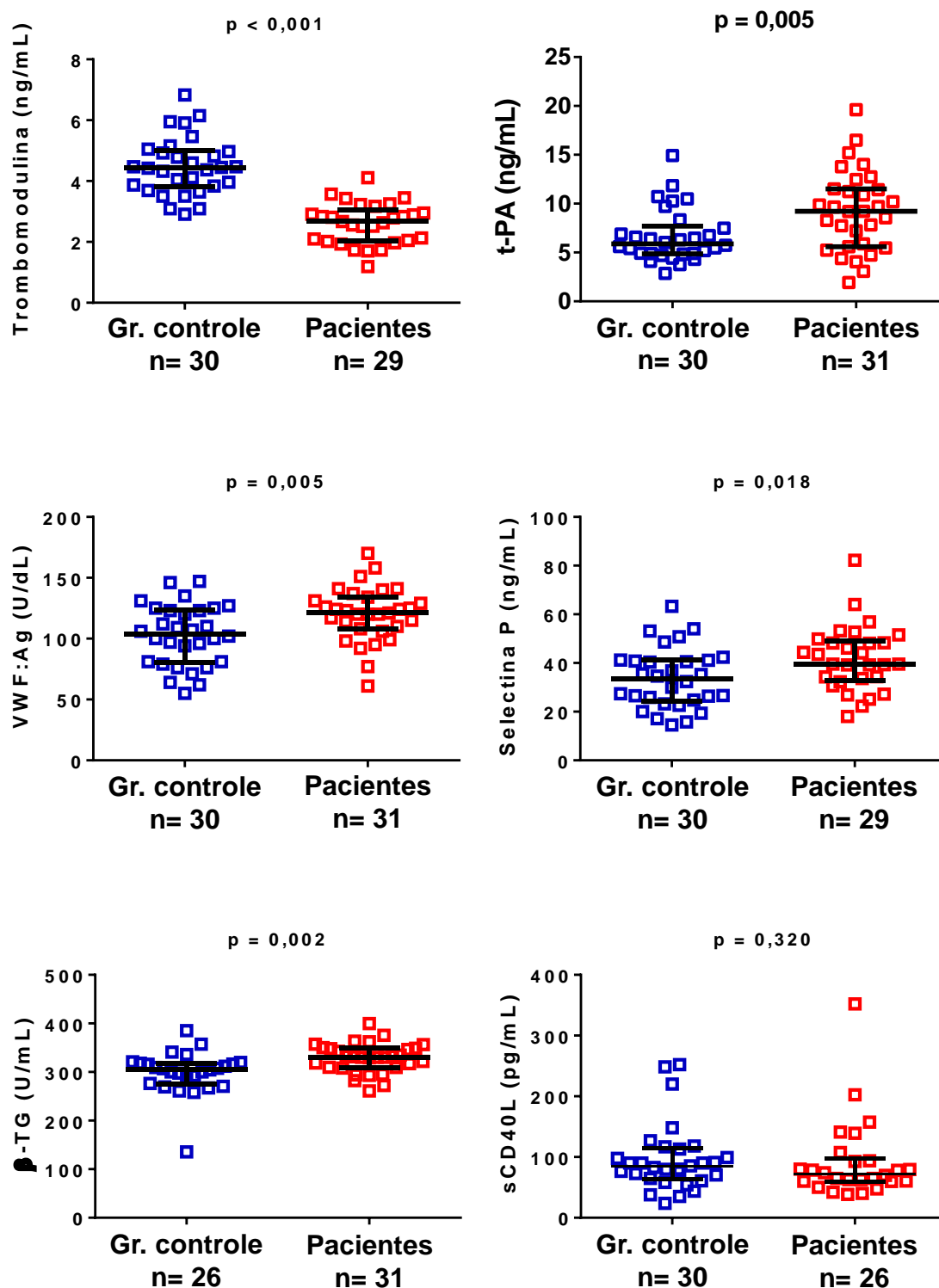


Figura 2. Níveis plasmáticos de trombomodulina, t-PA, VWF:Ag, selectina P, β -tromboglobulina (β -TG), e sCD40L na condição basal no grupo controle versus pacientes com HAP avançada associada a cardiopatias congênitas. Dados apresentados como mediana e percentis 25 e 75. Estatística: teste t para trombomodulina, t-PA, VWF:Ag e selectina P; teste de Mann-Whitney para β -tromboglobulina e sCD40L ($p=0,320$).

de selectina P e idade ($r= 0,55$, $p= 0,002$) e entre o nível do t-PA e a concentração de hemoglobina ($r= 0,53$, $p= 0,002$), **Figura 3**, sugerindo-se, neste último caso, uma relação direta entre disfunção endotelial e eritrocitose.

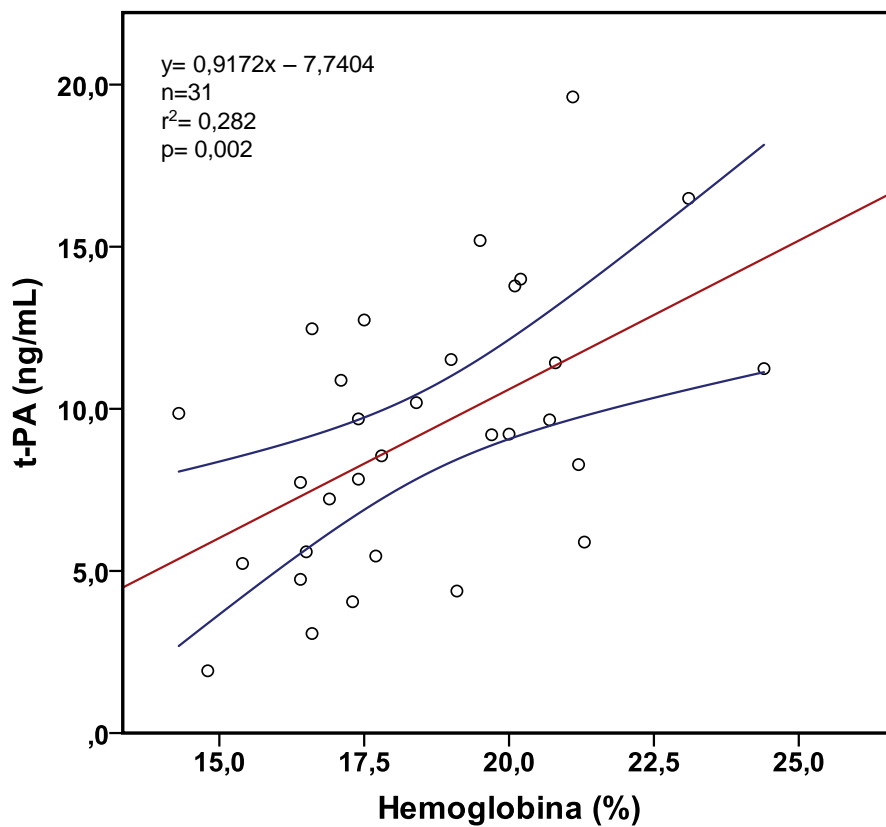


Figura 3. Influência da concentração da hemoglobina sobre o nível plasmático do t-PA.

4.3. Dados clínicos e laboratoriais na condição basal, segundo a orientação para os tratamentos

Na **Tabela 2**, estão representados os dados demográficos, diagnósticos, funcionais e laboratoriais registrados na condição basal (pré-tratamento), mas já considerando os grupos de acordo com o inibidor de PDE 5 utilizado. Exceção feita à saturação periférica de oxigênio, tanto na condição de repouso como no teste de caminhada de seis minutos, observou-se que os grupos foram homogêneos. Apesar de estarem em melhor nível de saturação de oxigênio, os pacientes direcionados ao tratamento com sildenafil não diferiram do grupo tadalafila em relação à idade, diagnósticos anatômicos, classe funcional e distância percorrida no teste de caminhada inicial, grau de dispneia e marcadores de disfunção microvascular.

4.4. Comportamento frente ao tratamento instituído

O tratamento com inibidores de PDE 5 foi inicialmente proposto e aceito por 35 pacientes. No entanto, já no primeiro mês de intervenção, quatro deles (dois em cada grupo) decidiram não prosseguir sob a terapêutica oferecida, devido à ocorrência de dor em músculos esqueléticos (sobretudo na região abdominal, cintura pélvica e membros inferiores), de intensidade moderada a acentuada, eventualmente associada a cefaleia. Estes pacientes

Tabela 2 – Dados demográficos, diagnósticos, funcionais e laboratoriais por grupos (condição pré-tratamento) †

	Sildenafil (n=16)	Tadalafila (n= 15)	p
Idade, anos	26,6 (17,4-40,0)	30,3 (19,7-43,1)	0,826 [£]
Gênero, M:F, n	7:9	3:12	0,252 [¥]
Diagnóstico anatômico:			
Comunicações pré-tricuspídeas, n (%)	2 (12,5)	4 (26,7)	
Comunicações pós-tricuspídeas, exceto defeito septal atrioventricular, n (%)	10 (62,5)	6 (40,0)	
Defeito septal atrioventricular, n (%)	2 (12,5)	1 (6,7)	0,312 [§]
Anomalias conotruncais, n (%)	0 (0,0)	2 (13,3)	
Cardiopatias complexas, n (%)	2 (12,5)	2 (13,3)	
Dados funcionais:			
Classe funcional, I/II : III/IV, n [‡]	2:14	3:12	0,654 [¥]
PSAP(mmHg)€	91 (83-105)	100 (80-128)	0,168 [*]
SpO ₂ repouso	90 (86-93)	81 (77-89)	0,008 [£]
SpO ₂ exercício	69 (59-72)	56 (52-65)	0,047 [£]
DC6M, metros	484 (410-523)	480 (462-510)	0,892 [£]
Dados laboratoriais gerais:			
Hematócrito (%)	51 (48-61)	56 (54-71)	0,064 [*]
Hemoglobina (g/dL)	17,2 (16,4-19,9)	19,1 (17,4-20,8)	0,093 [*]
Plaquetas (k/μL)	201 (183-259)	217 (158-254)	0,808 [£]
Dados laboratoriais específicos:			
Trombomodulina (ng/mL)	2,85 (2,11-3,28)	2,52 (1,93-2,84)	0,223 [*]
t-PA (ng/mL)	8,89 (5,32-11,45)	9,66 (5,89-12,47)	0,953 [*]
Beta-tromboglobulina (U/mL)	326 (294-348)	332 (319-350)	0,423 [£]
Selectina P (ng/mL)	39,2 (33,3-48,6)	43,5 (27,2-51,5)	0,559 [*]
VWF:Ag (U/dL)	120 (98-138)	124 (110-134)	0,505 [*]
sCD40L (pg/mL)	69,5 (57,5-93,2)	74,1 (60,7-131,2)	0,631 [£]

Dados apresentados como mediana e percentis 25 e 75 ou número absoluto e porcentagem.

(£) Teste de Mann-Whitney

(¥) Teste exato de Fisher

(§) *Likelihood ratio*

(*) Teste “t” de Student

(†) Somente pacientes que completaram o período de seis meses do estudo

(‡) Classificação segundo a Organização Mundial de Saúde¹²⁴

(€) n= 30. Estimação por ecocardiografia com Doppler, através da velocidade do jato de regurgitação tricuspídea

DC6M, distância caminhada em seis minutos (segundo protocolo da *American Thoracic Society*)¹⁰⁹; PSAP, pressão sistólica arterial pulmonar; sCD40L, proteína de ligação do receptor CD40, forma solúvel; t-PA, ativador do plasminogênio tipo tecidual; VWF:Ag, antígeno do fator de von Willebrand

foram subsequentemente direcionados a outras modalidades de tratamento medicamentoso para HAP, ou permaneceram sob medidas convencionais apenas. Dores musculares costumam ser ocorrência frequente no início do tratamento com inibidores de PDE 5. Em geral são discretas, limitadas a alguns dias e toleradas, sem a necessidade de nenhuma medida específica ou descontinuidade do tratamento.

Trinta e um pacientes aderiram ao tratamento proposto (16 e 15 indivíduos, respectivamente nos grupos sildenafil e tadalafila), completando o período do estudo. Os mesmos compareceram a todas as consultas, havendo registros completos de dados clínicos e laboratoriais. A aderência ao tratamento e a regularidade do uso dos fármacos foram verificadas mediante interrogatório nas visitas, não havendo razões para a suposição de interrupção temporária em nenhum dos casos. Durante o período do estudo, não foram registrados eventos graves como síncope, evolução para piora funcional com falência cardíaca, visitas ao pronto-socorro, internações ou óbito.

4.5. Efeitos do tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 sobre variáveis clínicas, funcionais e hematológicas

Os efeitos dos tratamentos com sildenafil e tadalafila sobre as variáveis em estudo encontram-se representados na **Tabela 3**. Ambos os tratamentos produziram melhora significativa na capacidade física avaliada através da distância percorrida durante o teste de seis minutos. Esta melhora

foi mais consistente nos pacientes que receberam tadalafila. Os mesmos apresentaram também redução consistente na intensidade da dispneia avaliada durante o teste. Por outro lado, pacientes tratados com sildenafil tiveram melhora progressiva e significativa na classe funcional. Paralelamente, pacientes de ambos os grupos apresentaram redução significativa tanto no valor do hematócrito como no nível de hemoglobina, sobretudo se comparado o sexto mês com a situação pré-tratamento.

Em repouso, pacientes tratados com tadalafila apresentaram melhora na saturação de oxigênio aos três meses. A ligeira queda observada aos seis meses ocorreu paralelamente à redução da pressão diastólica sistêmica. Ao exercício, a aparente sustentação da saturação de oxigênio em nível mais alto (três e seis meses, tendência sob o ponto de vista estatístico) foi verificada na ausência de redução da pressão sistêmica. No grupo tratado com sildenafil, a resposta da saturação de oxigênio ao exercício pareceu menos favorável, sobretudo do terceiro para o sexto mês. A tendência à queda foi observada paralelamente a uma redução significativa na pressão diastólica sistêmica.

Com relação à contagem de plaquetas em circulação, houve diferença entre os grupos. Enquanto no grupo tratado com tadalafila apenas uma tendência à redução foi observada, nos pacientes que receberam sildenafil a diminuição foi discreta, porém significativa e sustentada. Os valores individuais de resultados laboratoriais gerais encontram-se no **Anexo 3**.

Tabela 3 – Efeitos do tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 sildenafil e tadalafila

	Trato.	Basal	3 meses	6 meses	p
Classe funcional I/II : III/IV, n [‡]	S	2:14 ^a	4:12 ^b	8:8 ^b	0,041 [*]
	T	3:12	5:10	7:8	0,221 [*]
FC rep (bpm)	S	82 (69-91)	79 (70-86)	77 (70-90)	0,476 [†]
	T	86 (70-92)	81 (74-101)	81 (75-94)	0,950 [†]
PAS rep (mmHg)	S	126 (110-140)	130 (117-140)	132 (117-139)	0,589 [¥]
	T	127 (123-137)	123 (112-135)	119 (115-129)	0,140 [¥]
PAD rep (mmHg)	S	86 (71-93)	82 (75-95)	82 (77-91)	0,776 [¥]
	T	86 (84-90) ^a	84 (72-93) ^{ab}	79 (72-85) ^b	0,014 [¥]
SpO ₂ rep (%)	S	90 (86-93)	90 (86-93)	90 (86-94)	0,999 [†]
	T	81 (77-89) ^a	88 (81-92) ^b	86 (81-90) ^{ab}	0,012 [†]
FC ex (bpm)	S	120 (86-133)	115 (89-140)	117 (93-137)	0,642 [†]
	T	131 (121-139)	142 (117-160)	135 (130-145)	0,235 [†]
PAS ex (mmHg)	S	144 (121-154)	142 (132-151)	135 (118-151)	0,158 [¥]
	T	137 (125-141)	139 (128-163)	136 (123-151)	0,539 [¥]
PAD ex (mmHg)	S	91 (84-101) ^a	95 (81-99) ^{ab}	89 (77-94) ^b	0,016 [†]
	T	89 (80-101)	92 (87-99)	90 (75-114)	0,270 [†]
SpO ₂ ex (%)	S	69 (59-72)	70 (60-78)	66 (54-72)	0,051 [¥]
	T	56 (52-65)	62 (53-70)	63 (51-72)	0,081 [¥]
DC6M, metros	S	484 (410-523) ^a	521 (493-557) ^b	521 (484-559) ^{ab}	0,007 [†]
	T	480 (462-510) ^a	539 (491-561) ^b	540 (516-582) ^b	<0,001 [†]
Dispneia, escore [§]	S	6 (5-6) ^a	5 (4-6) ^b	6 (5-6) ^a	0,041 [†]
	T	6 (5-7) ^a	5 (5-6) ^b	5 (4-6) ^b	0,016 [†]
Hemoglobina (g/dL)	S	17,2 (16,4-19,9) ^a	17,5 (15,8-19,2) ^{ab}	17,0 (16,0-19,0) ^b	0,020 [†]
	T	19,1 (17,4-20,8) ^a	17,3 (16,4-20,3) ^{ab}	17,3 (16,7-19,2) ^b	0,011 [†]
Hematócrito (%)	S	51 (48-61) ^a	51 (46-58) ^{ab}	49 (47-56) ^b	0,046 [¥]
	T	56 (54-71) ^a	53 (51-62) ^b	53 (51-58) ^b	<0,001 [¥]
Plaquetas (k/μL)	S	201 (183-259) ^a	193 (177-213) ^b	194 (167-227) ^b	0,018 [¥]
	T	217 (158-254)	191 (153-242)	209 (191-230)	0,091 [¥]

Dados apresentados como mediana e percentis 25 e 75 ou número absoluto e porcentagem.

(¥) Análise de variância para medidas repetidas

(†) Teste de Friedman

(*) Teste de McNemar

Valores não compartilhando a mesma letra são estatisticamente diferentes.

(‡) Classificação segundo a Organização Mundial de Saúde¹²⁴

(§) Segundo escala proposta por Borg¹²⁷

DC6M, distância caminhada em seis minutos (segundo protocolo da *American Thoracic Society*)¹⁰⁹; FC rep e FC ex, respectivamente frequência cardíaca em repouso e ao exercício; PAD rep e PAD ex, respectivamente, pressão arterial diastólica em repouso e ao exercício; PAS rep e PAS ex, respectivamente, pressão arterial sistólica em repouso e ao exercício; S, sildenafil; SpO₂, saturação periférica de oxigênio; T, tadalafila; Trato., tratamento

4.6. Efeitos do tratamento sobre marcadores plasmáticos de disfunção microvascular

O tratamento com tadalafila promoveu uma redução significativa (melhora) no nível plasmático do t-PA, e da β -TG, esta última considerada como marcador de ativação plaquetária endógena (**Figuras 4 e 5**). Houve também aumento discreto, mas consistente (melhora) no nível da trombomodulina (**Figura 6**), lembrando que a pequena fração circulante da mesma, corresponde apenas a fragmentos do componente principal ancorado em membrana celular. A concentração destas proteínas não se modificou significativamente nos indivíduos tratados com sildenafil (**Figuras 4, 5 e 6**).

O tratamento com sildenafil trouxe redução significativa e progressiva no nível circulante de selectina P, fato não observado nos pacientes que receberam tadalafila (**Figura 7**). Ambos os tratamentos resultaram em redução no nível do VWF:Ag aos três meses (sendo significativa somente para os indivíduos que receberam sildenafil), porém, com retorno aos seis meses, a níveis comparáveis à fase pré-tratamento (**Figura 8**).

O nível plasmático de sCD40L, inalterado em relação ao grupo controle na situação basal, não foi modificado por nenhum dos dois inibidores de PDE 5 ensaiados no estudo. No grupo sildenafil, na condição basal, o valor mediano foi de 69,5 pg/mL (57,5 a 93,2 pg/mL, percentis 25 e 75), aos três meses, de 64,9 pg/mL (49,8 a 118,6 pg/mL) e aos seis meses de tratamento, de 66,8 pg/mL (47,6 a 104,4 pg/mL). No grupo tadalafila, os valores foram respectivamente, 74,1 pg/mL (60,7 a 131,2 pg/mL), 72,3 pg/mL (48,5 a 103,1

pg/mL) e 93,7 pg/mL (58,6 a 170,1 pg/mL). Os resultados laboratoriais gerais e específicos encontram-se nos **Anexos 4 e 5**.

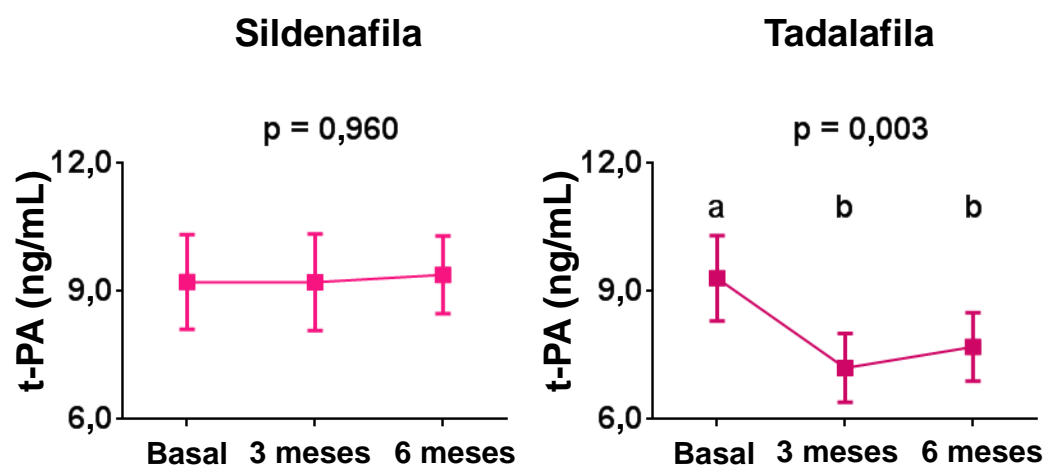


Figura 4. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre o nível plasmático do ativador do plasminogênio tecidual (t-PA). Dados apresentados como média e erro padrão. Diferenças testadas por análise de variância para medidas repetidas. Valores não compartilhando a mesma letra são estatisticamente diferentes.

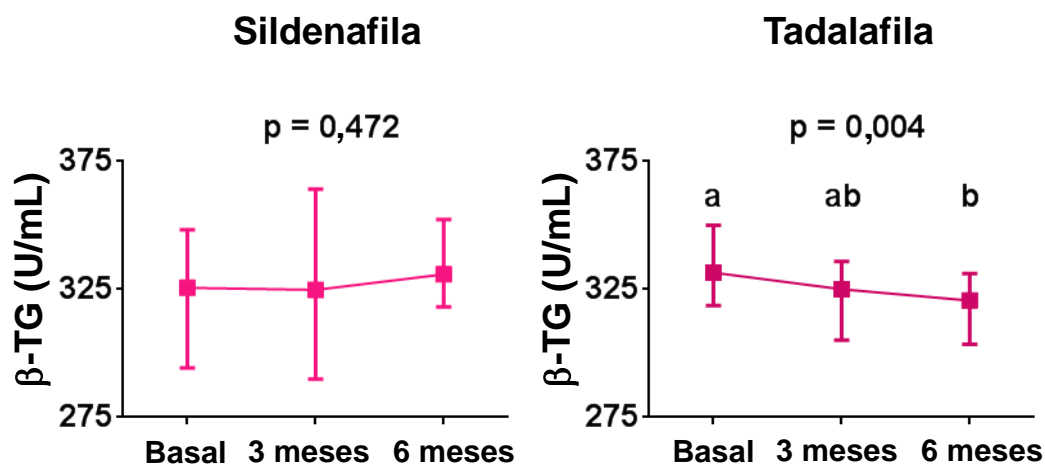


Figura 5. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre o nível plasmático da β-tromboglobulina (β-TG). Dados apresentados como mediana e percentis 25 e 75. Diferenças testadas pelo teste de Friedman. Valores não compartilhando a mesma letra são estatisticamente diferentes.

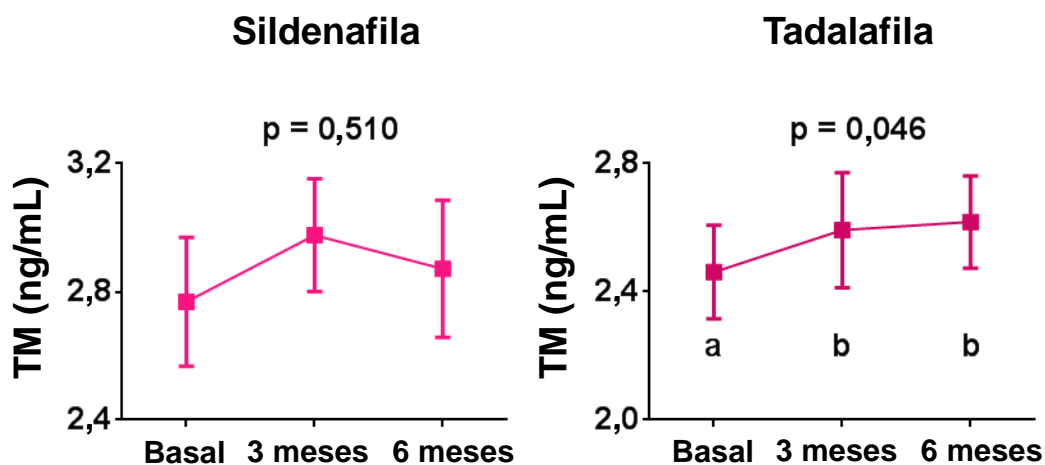


Figura 6. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre o nível plasmático de trombomodulina (TM). Dados apresentados como média e erro padrão. Diferenças testadas por análise de variância para medidas repetidas. Valores não compartilhando a mesma letra são estatisticamente diferentes.

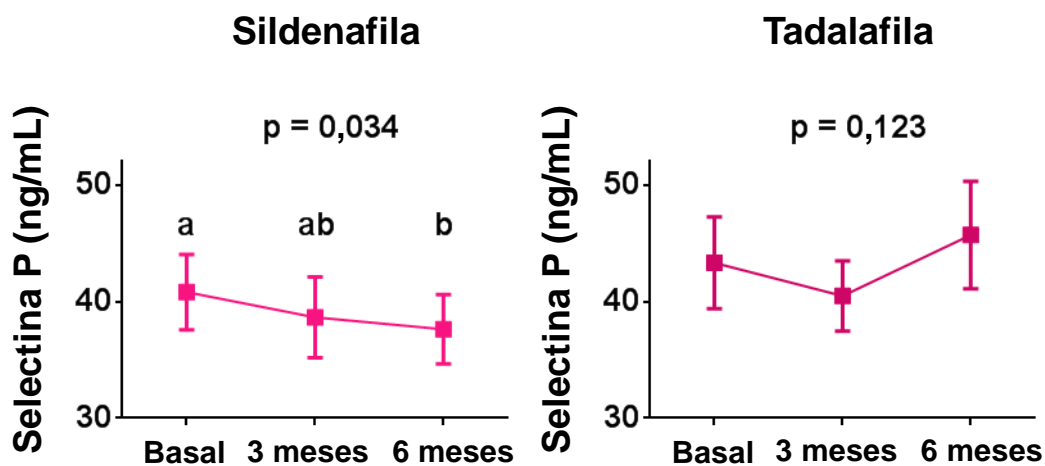


Figura 7. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre o nível plasmático da selectina P. Dados apresentados como média e erro padrão. Diferenças testadas por análise de variância para medidas repetidas. Valores não compartilhando a mesma letra são estatisticamente diferentes.

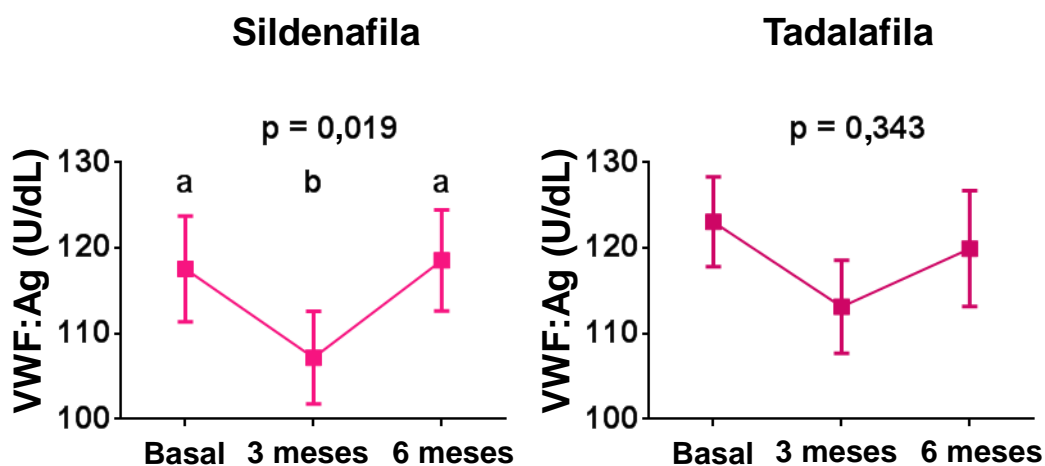


Figura 8. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre o nível plasmático do VWF:Ag. Dados apresentados como média e erro padrão. Diferenças testadas por análise de variância para medidas repetidas. Valores não compartilhando a mesma letra são estatisticamente diferentes.

4.7. Efeitos sobre indicadores de qualidade de vida

Os escores correspondentes aos oito domínios do questionário de qualidade de vida relacionada à saúde, SF-36 e a sua representação resumida (componentes físico e mental), para ambos os tratamentos, encontram-se representados respectivamente nas **Figuras 9 e 10**. Valores individuais podem ser observados nos **Anexos 6 e 7**.

Analisando-se os escores dos oito domínios separadamente (**Figura 9**), observamos que houve uma tendência à melhora, principalmente da condição basal para o terceiro mês de tratamento com os inibidores de PDE 5. Em vista da maior variabilidade dos dados, esta melhora pareceu mais consistente nos pacientes tratados com tadalafila, embora a melhora tenha sido estatisticamente significante nos dois grupos. Ambos os fármacos produziram melhora tanto em elementos físicos como mentais, que pode ser observada de maneira mais clara na representação resumida (**Figura 10**).

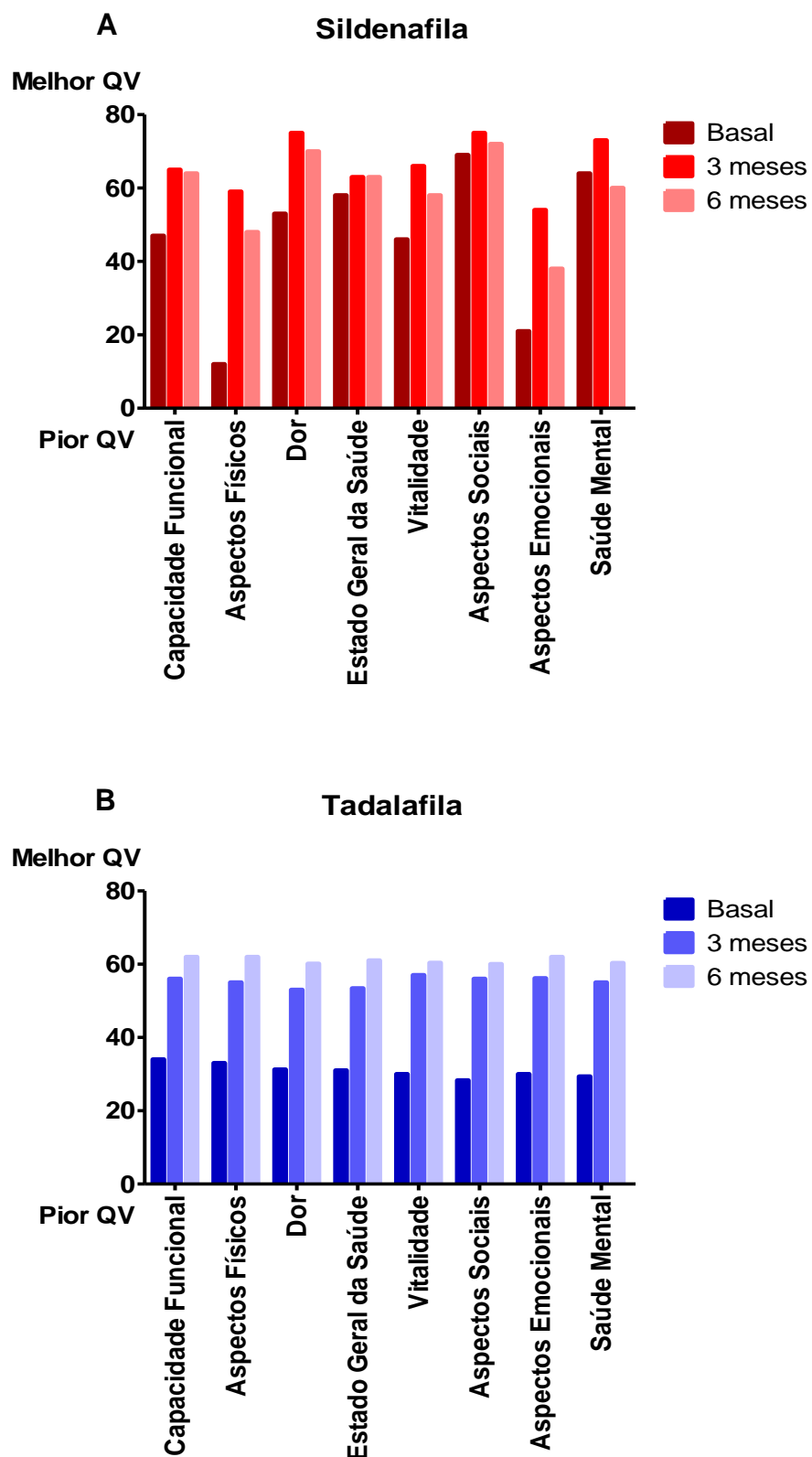


Figura 9. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre 8 domínios do SF-36. Dados apresentados como média geométrica. Escores aos três e seis meses em relação à condição basal.

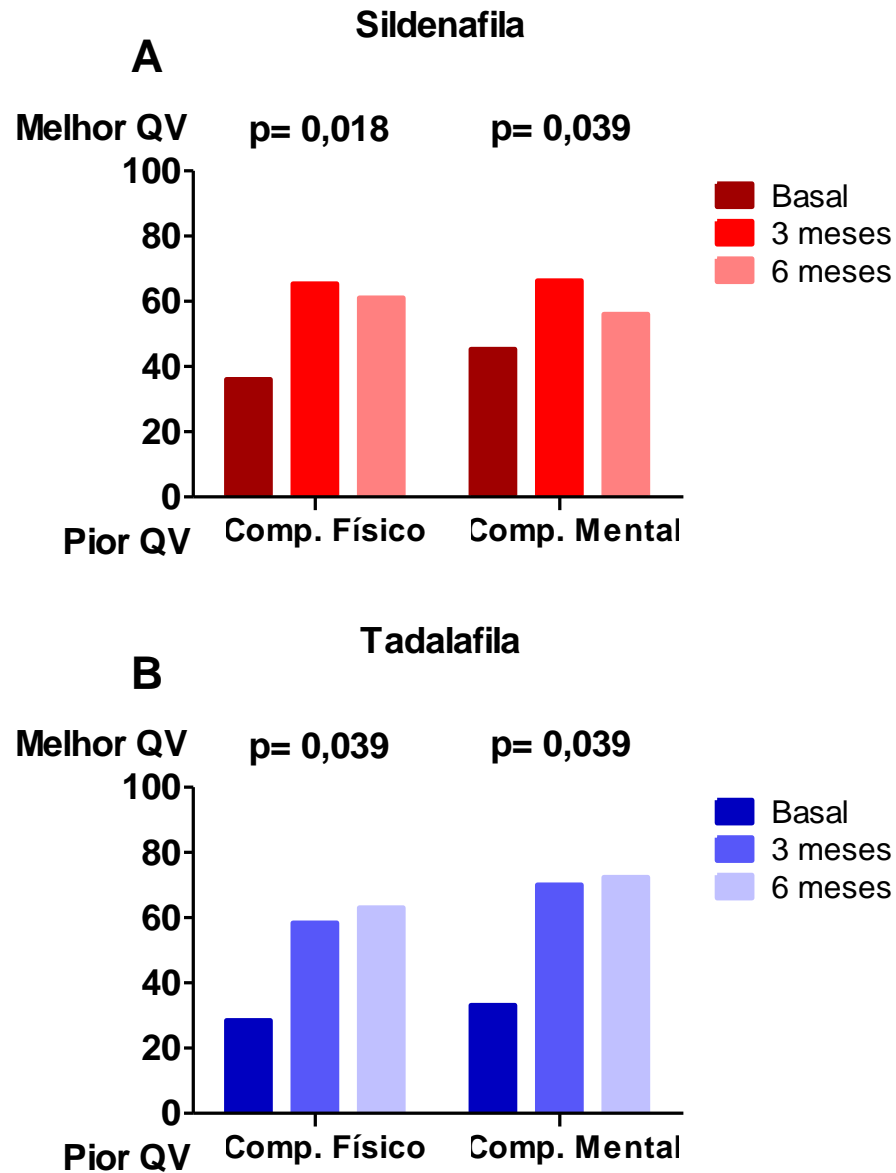


Figura 10. Efeitos de inibidores de PDE 5 sobre escores resumidos do SF-36. Dados apresentados como média geométrica. Diferenças testadas pelo teste de Friedman.

4.8. Estudo de fatores com possível impacto sobre o prognóstico

A investigação de fatores com potencial valor prognóstico foi feita com dados adquiridos de forma retrospectiva e prospectiva. Os dados retrospectivos foram obtidos de pacientes que fizeram parte de estudo anterior, realizado em nossa Unidade, envolvendo indivíduos com a síndrome de Eisenmenger, com as mesmas características clínicas daqueles incluídos na fase atual^{74,77}.

A análise de fatores prognósticos foi feita tendo a sobrevida livre de evento como desfecho. Para tanto, evento foi definido como piora clínica acentuada (classe funcional IV), requerendo internação em unidade para cuidados semi-intensivos ou intensivos, sendo caracterizada condição clínica de baixo débito cardíaco com necessidade de uso de fármacos para suporte cardiocirculatório (dobutamina, dopamina, epinefrina). Os seguintes períodos foram computados: a) seguimento total; b) tempo até o desfecho; c) duração do tratamento específico e da fase pré-tratamento quando existente. As covariáveis (possíveis preditores) foram de natureza demográfica, diagnóstica, funcional (cardíaca e relacionada à capacidade física), laboratorial geral e específica, e terapêutica.

Todos os pacientes (retro ou prospectivamente incluídos) estiveram em seguimento especificamente programado para este tipo de acompanhamento, com retornos em períodos que variaram entre três e seis meses, e estrito controle de aderência à medicação, situação funcional,

parâmetros laboratoriais e intercorrências. Desfechos fatais foram caracterizados por contato com familiares ou equipe profissional envolvida no atendimento, de modo a não haver perda da informação.

Setenta e cinco pacientes foram acompanhados. Os dados descritivos encontram-se dispostos na **Tabela 4**. Apesar de não haver relato de sintomas graves em muitos casos (a maioria encontrava-se em classe funcional II), a capacidade física na condição inicial mostrou-se reduzida (percentil 75 para a distância percorrida no teste de seis minutos igual a 504 metros, sendo 500 metros o limite mínimo para se considerar condição física satisfatória). Cinquenta e nove pacientes eram tipicamente cianóticos, com baixa saturação periférica de oxigênio. Dezesseis tiveram saturação superior a 93% em repouso, mas 13 deles com níveis entre 70% e 90% durante o exercício.

Os pacientes foram seguidos por 0,17 a 9,83 anos (mediana e percentis 25 e 75, 3,67 (1,67-9,08) anos) até a ocorrência de evento, desfecho fatal ou última visita. Foram tratados com fármacos específicos para HAP desde o início do seguimento (n= 31), a partir de algum momento após (n= 34), ou permaneceram sem tratamento específico (n= 10). Quarenta e três pacientes permaneceram em monoterapia com antagonistas dos receptores de endotelina ou inibidores da fosfodiesterase 5, enquanto 22 necessitaram de terapia combinada com esses fármacos. A mortalidade geral foi de 16% (12 casos), incluindo indivíduos com e sem evento prévio (respectivamente 5 e 7 casos). Oito pacientes tiveram evento e se recuperaram, enquanto 55 indivíduos permaneceram vivos e livres de deterioração clínica grave. As

Tabela 4 – Dados demográficos, diagnósticos e relacionados ao tratamento em 75 pacientes acompanhados em longo prazo

Idade, anos	31,7 (23,1-41,4)
Gênero, M:F, n	27:48
Síndrome de Down, n (%)	4 (5)
Diagnóstico:	
Comunicações pré-tricuspídeas, n (%)	17 (23)
Comunicações pós-tricuspídeas, exceto defeito septal atrioventricular, n (%)	40 (53)
Defeito septal atrioventricular, n (%)	11 (15)
Anomalias conotruncais, n (%)	4 (5)
Cardiopatias complexas, n (%)	3 (4)
Função ventricular direita (*):	
Normal ou comprometimento discreto, n (%)	37 (49)
Comprometimento moderado, n (%)	16 (21)
Comprometimento acentuado, n (%)	14 (19)
Análise inconclusiva, n (%)	8 (11)
Situação funcional (†):	
Classe funcional I/II, n (%)	43 (57)
Classe funcional III/IV, n (%)	32 (43)
DC6M, metros	447 (354-504)
Saturação periférica de oxigênio:	
Em repouso (%)	88 (83-93)
Ao exercício (%)	68 (60-76)
Hematócrito (%)	53 (47-64)
Tratamento específico para HAP:	
Monoterapia, n (%)	43 (57)
Terapia combinada, n (%)	22 (30)
Nunca utilizado, n (%)	10 (13)
Período pré-tratamento (anos) [‡]	0,6 (0-3,7)
Período de tratamento (anos) [§]	1,9 (0,5-4,0)
Duração total do seguimento (anos)	3,7 (1,7-9,1)
Anticoagulação oral crônica:	
Uso de varfarina, n (%)	53 (71)
Marcadores de disfunção microvascular:	
FVW:Ag (U/dL)	123 (109-137)
Selectina P (ng/mL)	42,4 (29,7-51,6)
t-PA (ng/mL)	8,44 (6,23-10,92)

Dados apresentados como número e porcentagem, ou mediana e percentis 25 e 75.

(*) Analisada de forma qualitativa com uso de múltiplas “janelas” acústicas, conforme recomendação feita pela *American Society of Echocardiography*^{125,126}. O observador não teve acesso a outros dados dos pacientes ou seu seguimento.

(†) Classificação segundo a Organização Mundial da Saúde¹²⁴

(‡) Da matrícula até o início do tratamento

(§) Somente pacientes tratados

DC6M, distância caminhada em seis minutos (segundo protocolo da *American Thoracic Society*)¹⁰⁹; FVW:Ag, antígeno do fator de von Willebrand; HAP, hipertensão arterial pulmonar; t-PA, ativador do plasminogênio tipo tecidual

causas de evolução para óbito foram: trombose arterial pulmonar, abscesso cerebral, progressão da doença com disfunção ventricular direita avançada, infecção, arritmia cardíaca e tromboembolismo pulmonar; houve também ocorrência súbita.

Análises laboratoriais específicas, na condição basal, mostraram elevação no nível plasmático do FVW:Ag em pacientes quando comparados aos controles (123 (109-137) U/dL e 107 (83–123) U/dL, respectivamente; $p < 0,001$), do t-PA (8,44 (6,23–10,92) ng/mL e 6,09 (4,90–8,50) ng/mL, respectivamente; $p < 0,001$), e da selectina P (42,4 (29,7–51,6) ng/mL e 32,7 (23,1–42,4) ng/mL, respectivamente; $p < 0,002$).

A possível associação de fatores com os desfechos foi inicialmente investigada analisando-se individualmente cada uma das variáveis, sendo os resultados expostos na **Tabela 5**. Observa-se que apenas o *tempo de tratamento específico* para HAP influenciou a sobrevida livre de evento, considerado como fator de proteção. O nível plasmático do FVW:Ag na condição basal, foi identificado como um fator de risco limítrofe.

Tendo sido identificado o *tempo de tratamento específico* como fator de proteção, a etapa seguinte foi a verificação de possíveis modificadores no sentido de desqualificá-lo ou de melhorar o seu valor preditivo. Conforme dados exibidos na **Tabela 6**, o papel protetor do *tempo de tratamento específico*, não foi importantemente reduzido por nenhuma das variáveis testadas como possíveis modificadores. Entretanto, seis variáveis incrementaram sua função como elemento de proteção, qualificando-se como candidatos à inclusão no modelo final. Com uso do procedimento *forward LR*, foi possível a construção de modelo preditivo com quatro variáveis, a saber,

tempo de tratamento específico, classe funcional, função ventricular direita e FVW:Ag (Tabela 7). O modelo final permitiu sensível redução na razão de chances relacionada ao *tempo de tratamento específico*, de um valor inicial igual a 0,58 (IC de 95% 0,40–0,84), para 0,25 (IC de 95% 0,13-0,48), consolidando seu papel protetor.

Tabela 5 – Análise univariada: variáveis com possível impacto na sobrevida livre de evento^o

Variáveis	Razão de chances	Intervalo de confiança de 95%		p
		Limite inferior	Limite superior	
Idade	1,01	0,66	1,53	0,965
Gênero [£]	1,11	0,42	2,88	0,838
Complexidade da cardiopatia [¥]	0,73	0,41	1,30	0,288
Classe funcional*	1,44	0,61	3,38	0,401
Hematócrito	0,85	0,58	1,25	0,403
Sat O ₂ em repouso [§]	0,86	0,57	1,30	0,464
Sat O ₂ ao exercício [§]	0,80	0,53	1,19	0,273
Distância percorrida [§]	0,80	0,53	1,22	0,295
Função ventricular direita [†]	1,24	0,73	2,09	0,427
Pressão sistólica arterial pulmonar ^{††}	0,90	0,60	1,35	0,608
Tratamento específico para HAP [#]	1,35	0,62	2,95	0,456
Tempo de tratamento específico	0,58	0,40	0,84	0,004
Uso de varfarina	1,37	0,18	10,49	0,761
Selectina P	0,96	0,67	1,37	0,810
t-PA	1,18	0,79	1,76	0,431
FVW:Ag	1,49	0,98	2,26	0,064

Variáveis numéricas analisadas como quartis

(O) Regressão de Cox

(£) Gênero masculino como referência

(¥) Categorias: 1, comunicações pré-tricuspidéas; 2, pós-tricuspidéas exceto defeito septal atrioventricular; 3, defeito septal atrioventricular; 4, anomalias conotruncais; 5, cardiopatias complexas.

(*) Classificação segundo a Organização Mundial da Saúde¹²⁴

(§) Teste de caminhada de seis minutos, conforme padronização pela *American Thoracic Society*¹⁰⁹.

(†) Categorias 1, 2, e 3, respectivamente, comprometimento discreto, moderado e acentuado, mediante análise qualitativa segundo critérios estabelecidos pela *American Society of Echocardiography*^{125,126}.

(††) Estimativa por ecocardiografia com Doppler, através da velocidade do jato de regurgitação tricuspídea

(#) Antagonista de receptor de endotelina e/ou inibidor de fosfodiesterase 5.

FVW:Ag, antígeno do fator de von Willebrand; HAP, hipertensão arterial pulmonar; Sat O₂ em repouso, saturação periférica de oxigênio em repouso; Sat O₂ de exercício, saturação periférica de oxigênio ao final do teste de caminhada de seis minutos; t-PA, ativador do plasminogênio tipo tecidual

Tabela 6 – Análise bivariada para identificação de possíveis modificadores da variável principal^o

	Variáveis	Razão de chances	Intervalo de confiança de 95%		p
			Limite inferior	Limite superior	
Não ajustado	Tempo de tratamento específico	0,58	0,40	0,84	0,004
Ajustado para:	Idade	0,58	0,40	0,84	0,003
	Gênero	0,58	0,40	0,84	0,004
	Complexidade da cardiopatia	0,52	0,35	0,77	0,001
	Classe funcional	0,49	0,32	0,75	0,001
	Hematócrito	0,56	0,37	0,85	0,007
	Sat O ₂ em repouso	0,56	0,39	0,82	0,003
	Sat O₂ ao exercício	0,50	0,33	0,76	0,001
	Distância percorrida	0,59	0,41	0,85	0,005
	Função ventricular direita	0,37	0,22	0,62	<0,001
	Pressão sistólica arterial pulmonar	0,58	0,40	0,84	0,004
	Tratamento específico para HAP	0,46	0,28	0,77	0,003
	Uso de varfarina	0,60	0,39	0,93	0,024
	Selectina P	0,58	0,40	0,84	0,004
	t-PA	0,58	0,40	0,84	0,004
	FVW:Ag	0,51	0,35	0,75	0,001

Variáveis numéricas analisadas como quartis.

Em negrito, variáveis produzindo incremento >10% no papel protetor de tempo de tratamento específico. Nenhuma influência significativa (>10%) verificada na direção oposta.

(O) Regressão de Cox

Distância percorrida, através do teste de caminhada de seis minutos (protocolo proposto pela *American Thoracic Society*)¹⁰⁹; FVW:Ag, fator de von Willebrand antigênico; HAP, hipertensão arterial pulmonar; Sat O₂, saturação periférica de oxigênio medida em repouso e ao final do teste de caminhada de seis minutos; t-PA, ativador do plasminogênio tipo tecidual

Tabela 7: Análise multivariada: modelo final^o

Variáveis	Razão de chances	Intervalo de confiança de 95%		p
		Limite inferior	Limite superior	
Tempo de tratamento específico	0,25	0,13	0,48	<0,001
Classe funcional [¥]	4,79	1,46	15,79	0,010
Função ventricular direita [€]	2,58	1,26	5,28	0,010
FVW:Ag	1,89	1,15	3,13	0,013

Variáveis numéricas analisadas como quartis

(o) Regressão de Cox: procedimento “Forward LR” utilizado para seleção final de variáveis

(¥) Classificação segundo a Organização Mundial da Saúde¹²⁴

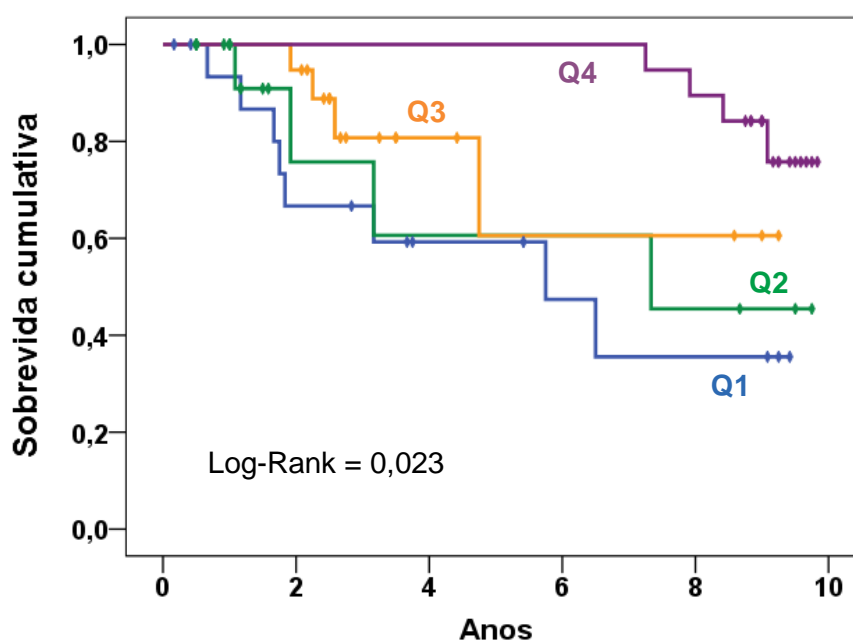
(€) Categorias 1, 2, e 3, respectivamente, comprometimento discreto, moderado e acentuado, mediante análise qualitativa segundo critérios estabelecidos pela *American Society of Echocardiography*^{125,126}

Na **Figura 11** estão representadas as curvas de sobrevida livre de evento segundo o tempo de tratamento específico expresso em quartis. Houve diferença significativa, com relação à sobrevida, entre pacientes com maior tempo de tratamento (quartil 4) e aqueles com exposição aos fármacos segundo os quartis 1 e 2.

4.4. Abordando possíveis problemas (vieses) de interpretação

Como primeiro problema, pacientes com maior tempo de tratamento específico poderiam ser exatamente aqueles com maior sobrevida sem evento, situação na qual esta última se revelaria como elemento causal e não como consequência. Nesta linha de raciocínio, os indivíduos com maior tempo de

exposição aos fármacos específicos seriam aqueles em melhor condição clínica inicial, o que lhes conferiria expectativa de maior estabilidade clínica. Entretanto, a análise dos dados constantes da **Tabela 7** não indica privilégio dos indivíduos tratados por tempo mais longo no que diz respeito à sua situação inicial (**Tabela 8**). Assim sendo, a suposição de tempo de sobrevida sem evento como elemento causal não se sustenta.



Quartil 1	n= 17	14	10	9	6	6	4	3	3	3
Quartil 2	n= 20	11	5	5	4	4	4	4	3	2
Quartil 3	n= 19	19	18	8	5	3	3	3	3	1
Quartil 4	n= 19	19	19	19	19	19	19	19	17	10

Figura 11 – Curvas de sobrevida livre de evento de Kaplan-Meier segundo a duração da exposição a fármacos específicos para hipertensão arterial pulmonar. A exposição aos fármacos é dada em quartis: quartil 1, 0,00 a 0,42 ano; quartil 2, 0,50 a 1,67 ano; quartil 3, 1,92 a 3,92 anos; quartil 4, 4,00 a 9,58 anos. A média do tempo de sobrevida livre de evento para cada um dos quartis, com respectivo intervalo de confiança de 95% foi: quartil 1, 5,51 (3,68 – 7,33) anos; quartil 2, 6,41 (3,85 – 8,98) anos; quartil 3, 7,00 (5,07 – 8,94) anos; quartil 4, 9,46 (9,12 – 9,80) anos. Os pacientes com uso de fármacos específicos segundo o quartil 4 apresentaram sobrevida significativamente maior quando comparados aos quartis 1 ($p=0,002$) e 2 ($p=0,035$), com tendência a diferença em relação ao quartil 3 ($p=0,085$).

Como segundo problema, houve um subgrupo de pacientes para os quais o tratamento específico foi iniciado não no momento da inclusão no estudo, mas certo tempo depois, durante o seguimento. Este fato poderia gerar um viés de interpretação conhecido como “de tempo imortal” (*immortal time bias*). Este problema foi solucionado com uso de duas estratégias: a) análise do subgrupo separadamente; b) tempo de tratamento específico expresso em relação ao tempo total, a fim de se levar em conta o tempo anterior ao início da medicação. Com 33 casos analisados, permaneceram como preditores de desfecho o *tempo de tratamento específico* (fator de proteção) e a *disfunção do ventrículo direito* (fator de risco) conforme exposto na **Tabela 9**.

Tabela 8: Parâmetros clínicos iniciais em pacientes que receberam tratamento específico para HAP por tempos diferentes

Parâmetros	Tempo de tratamento específico		p
	Quartis 1 e 2 n= 37	Quartis 3 e 4 n= 38	
Idade, anos	28 (20-40)	34 (24-42)	0,132
Hematócrito (%)	51 (46-58)	55 (50-66)	0,029
Sat O ₂ em repouso (%)	88 (86-94)	88 (81-92)	0,270
Sat O ₂ ao exercício (%)	69 (62-79)	65 (56-75)	0,171
Distância percorrida, metros [†]	441 (345-499)	452 (368-505)	0,954
BNP (pg/mL)*	58 (35-95)	71 (27-192)	0,887
PSAP (mmHg) [#]	90 (75-111)	97 (85-126)	0,073
Função ventricular direita, n (%) [‡]	1	23 (74)	14 (39)
	2	6 (19)	10 (28)
	3	2 (7)	12 (33)
Classe funcional, n (%) [§]	I/II	22 (60)	21 (55)
	III/IV	15 (40)	17 (45)

Dados apresentados como número e porcentagem, ou mediana e percentis 25 e 75.

(*) Quartis 1 e 2, n= 26; quartis 3 e 4, n= 36

(#) Quartis 1 e 2, n= 34; quartis 3 e 4, n= 28

(§) Classificação segundo a Organização Mundial da Saúde¹²⁴

(†) Segundo protocolo da *American Thoracic Society*¹⁰⁹

(‡) 1, Normal ou comprometimento discreto; 2, comprometimento moderado; 3, comprometimento acentuado

Sat O₂ em repouso e Sat O₂ ao exercício, referem-se à saturação periférica de oxigênio medida em repouso e após o teste de caminhada de 6 minutos, respectivamente; BNP, peptídeo natriurético cerebral plasmático; PSAP, pressão sistólica arterial pulmonar

Tabela 9: Modelo final para 33 pacientes com início do tratamento ao longo do seguimento^o

Variáveis	Razão de chances	Intervalo de confiança de 95%		p
		Limite inferior	Limite superior	
Tempo de tratamento específico*	0,04	0,003	0,62	0,021
Função ventricular direita [€]	2,69	1,11	6,52	0,028

(O) Regressão de Cox

(*) Expresso como razão em relação ao tempo de seguimento

(€) Categorias 1, 2, e 3, respectivamente, comprometimento discreto, moderado e acentuado, mediante análise qualitativa segundo critérios estabelecidos pela *American Society of Echocardiography*^{125,126}

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, encontramos efeitos positivos dos tratamentos com inibidores de PDE 5, sildenafil e tadalafila sobre a capacidade física, qualidade de vida relacionada à saúde e marcadores bioquímicos de disfunção microvascular (endotelial e plaquetária), além de redução no hematócrito, em portadores de HAP avançada associada a cardiopatias congênitas. Embora o desenho não tenha sido planejado para a comparação direta entre os fármacos, alguns elementos sugeriram efeitos diferentes proporcionados por medicamentos da mesma classe. A administração dos inibidores de PDE 5 foi possível com relativa segurança, não tendo sido registrados eventos graves que suscitassem interrupção dos medicamentos ou do estudo. Durante os seis meses, a maior parte dos efeitos observados foi sustentada. Subsequentemente, nas observações feitas em longo prazo, envolvendo dados obtidos de forma prospectiva e retrospectiva, também pôde ser constatado que o tempo de uso de fármacos específicos (incluindo inibidores de PDE 5), teve impacto significativo na sobrevida e na ocorrência de eventos clinicamente relevantes.

5.1. Sobre os fármacos utilizados

Inibidores de PDE 5 tem sido empregados para pacientes com HAP associada a cardiopatias congênitas, mas não há estudos com uso de mais de um fármaco da mesma classe, de forma descritiva ou comparativa. Em estudo randomizado, especificamente na síndrome de Eisenmenger³⁷, foi possível

verificar o efeito com tadalafila comparativamente ao placebo (seis semanas) sobre a capacidade física, RVP e saturação periférica de oxigênio. Também nesta síndrome, foi demonstrado que a administração da sildenafil foi seguida de melhora na capacidade funcional e parâmetros hemodinâmicos, sem piora na saturação de oxigênio¹³¹.

No presente estudo, houve a intenção de se utilizar dois inibidores de PDE 5 comparativamente. Entretanto, esta iniciativa foi dificultada pela impossibilidade de randomização para os diferentes fármacos. Apesar desta dificuldade, a análise comparativa entre pacientes direcionados para o uso de sildenafil e tadalafila, na situação basal, mostrou que os grupos eram até certo ponto comparáveis, ressalva sendo feita à menor saturação de oxigênio no grupo tadalafila, sugerindo maior gravidade. Os resultados obtidos, de modo geral, permitem a especulação sobre alguma superioridade da tadalafila em relação à sildenafil, no que se refere a variáveis clínicas e laboratoriais. Ressalte-se, todavia, que optamos por utilizar apenas a dose mais baixa recomendada de sildenafil (20 mg três vezes ao dia). Eventualmente, resultados mais expressivos poderiam ter sido obtidos com o uso de doses mais altas (120 mg e 240 mg ao dia) como tem sido feito em algumas situações em HAP²³.

5.2. Sobre a segurança dos tratamentos

Entre os possíveis efeitos adversos que não deveriam ocorrer mediante administração de inibidores de PDE 5, ou qualquer outro fármaco específico para HAP, na síndrome de Eisenmenger, dois são mais relevantes: a redução na saturação periférica de oxigênio (acentuação da hipoxemia) por efeito na circulação sistêmica; e a possibilidade de redução no número de plaquetas circulantes. A preocupação com relação à acentuação da hipoxemia constituiu desfecho primário em estudo anterior visando à utilização da bosentana em portadores desta síndrome³⁴.

No presente estudo, o tratamento com tadalafila resultou em queda significativa da pressão diastólica sistêmica em repouso. A saturação periférica de oxigênio elevou-se até o terceiro mês, não se sustentando aos seis meses. Acreditamos que a diminuição da pressão diastólica pode ter dificultado a sustentação da saturação de oxigênio em nível mais elevado. O tratamento com sildenafil culminou em redução da pressão diastólica sistêmica ao exercício, o que pode ter ocasionado tendência a diminuição na saturação de oxigênio nesta condição. Com relação à contagem de plaquetas, houve diminuição discreta, estatisticamente significativa, mediante administração da sildenafil. Entretanto, a magnitude deste efeito observado carece de significado clínico.

5.3. Desempenho físico e qualidade de vida relacionada à saúde

Neste estudo, não houve a preocupação ou planejamento de se verificar a possível relação entre melhora no desempenho físico e na qualidade de vida. Isto porque estudo anterior de nosso grupo¹³² mostrou que a relação entre desempenho físico e qualidade de vida é incompleta, sendo verificada apenas para alguns domínios do questionário SF-36. Portanto, estes aspectos devem ser vistos e interpretados de maneira complementar na avaliação dos efeitos das intervenções terapêuticas.

5.4. Implicações clínicas das alterações nos marcadores de disfunção microvascular

Além de melhorar a capacidade física e a qualidade de vida relacionada à saúde, os inibidores de PDE 5, sildenafil e tadalafila tiveram efeitos favoráveis nos níveis circulantes de marcadores de disfunção microvascular. Embora não tenha sido possível a randomização para permitir uma direta comparação entre os fármacos, os efeitos da administração da tadalafila sobre os biomarcadores estudados pareceram ser mais consistentes. Entretanto, o uso da sildenafil foi seguido de diminuição na concentração da selectina P plasmática, efeito não observado nos pacientes tratados com tadalafila. Enfatize-se que nem todos os efeitos observados aos três meses de

tratamento foram sustentados além deste tempo (caso da redução no VWF:Ag). Este fato ressalta a necessidade de observação do comportamento de marcadores biológicos por períodos longos.

A selectina P e o VWF:Ag estão armazenados nos corpúsculos de Weibel-Palade das células endoteliais e são liberados em circulação sob diversos estímulos que incluem hipóxia, trombina, substâncias vasoativas e citocinas^{81,88,133}. A “organela do t-PA” e a *type-2 chemokine-containing organelle*, representam um compartimento único responsável pela secreção não estimulada desta serino-protease. Este compartimento não contém VWF:Ag e selectina P detectáveis, e diferentemente dos corpúsculos de Weibel-Palade, é pouco responsivo a substâncias que promovem ou facilitam a mobilização intracelular de cálcio¹³⁴. A liberação fisiológica de t-PA é aumentada na presença de algumas doenças de fase aguda como a hepática e a trombótica, por exemplo⁹⁷. A presença de níveis circulantes aumentados destas proteínas indica disfunção endotelial no sentido de “ativação”, sem lesão com perda de integridade da membrana plasmática^{43,45}. Em nosso estudo, interessante, a sildenafil provocou uma diminuição nos níveis plasmáticos da selectina P e do VWF:Ag, mas não do t-PA, enquanto que a administração da tadalafila foi seguida de redução no nível deste último, sem modificação dos primeiros.

A hipóxia, a inflamação e a trombose são eventos profundamente relacionados e sabidamente presentes na HAP associada a cardiopatias congênitas⁴³. Sabe-se que a hipóxia promove a mobilização dos corpúsculos de Weibel-Palade endoteliais e sua fusão com a membrana plasmática, com subsequente liberação do conteúdo¹³⁵⁻¹³⁷. Uma fração da selectina P liberada

permanece retida à membrana servindo como proteína de adesão no recrutamento de leucócitos, sobretudo polimorfonucleares (neutrófilos)¹³⁸. Parte do fator de von Willebrand interage com a selectina P ancorada em membrana, participando do recrutamento de plaquetas¹³⁹. Assim sendo, especulamos que a redução nos níveis circulantes destas proteínas possa refletir, em alguma extensão, melhora no comportamento biológico das células endoteliais, em suas várias funções, notadamente no contexto da doença em discussão, que envolve hipoxemia crônica e tendência à trombose.

Outro aspecto importante com relação à hipóxia como elemento que predispõe à trombose é o seu papel na expressão endotelial da trombomodulina. A hipóxia reduz a trombomodulina endotelial suprimindo sua síntese em nível de RNA mensageiro¹⁴⁰. Por outro lado, a exposição à hipóxia induz a extensa deposição intravascular de fibrina em animais transgênicos deficientes em trombomodulina¹⁴¹. Na presente casuística, a trombomodulina circulante esteve importantemente reduzida na condição basal, e elevou-se ligeira, mas consistentemente durante a administração de tadalafila. Esta pequena elevação pode ser relevante, considerando-se que a trombomodulina plasmática corresponde a fragmentos proteolíticos, ou seja, uma fração do proteoglicano ancorado em membrana. Enfatize-se que a trombomodulina circulante é biologicamente ativa. Na forma recombinante, tem sido utilizada no manejo de doenças inflamatórias e trombóticas¹⁴². Propriedades biológicas da trombomodulina circulante podem, portanto, ter implicações no curso da doença vascular pulmonar. Por fim, a trombomodulina integral de membrana é hoje considerada como um “segundo receptor” para trombina, com sinalização oposta àquela deflagrada pelo receptor original (*protease-activated receptor 1* –

PAR 1) no sentido de inibir mecanismos nucleares relacionados à proliferação celular¹⁴³.

A β -TG e o sCD40L estão relacionados com ativação plaquetária. Entretanto estes dois marcadores tem comportamentos diferentes. A β -TG é diretamente secretada dos grânulos alfa, enquanto o CD40L fica ligado à membrana da plaqueta e só se torna solúvel após clivagem^{99,144}. Observamos uma diminuição progressiva na β -TG plasmática (marcador de fase de secreção plaquetária) durante a administração de tadalafila, sugerindo desaceleração da ativação plaquetária endógena crônica, com importância clínica imediata. A falta de diminuição concomitante na selectina P e VWF:Ag, aponta para o endotélio como principal origem destas proteínas liberadas em circulação. A não observação de modificações importantes na concentração de sCD40L, tanto na condição basal como na vigência dos tratamentos, não nos surpreendeu. A proteólise do CD40L a partir da membrana plasmática, que gera o sCD40L, é um evento complexo. Depende não somente de reações na superfície plaquetária, mas também do envolvimento de estruturas intracelulares mesmo durante a fase de solubilização¹⁴⁴.

Vasodilatação com melhora das condições de fluxo em nível microcirculatório é provavelmente uma explicação simplista para as mudanças observadas nos marcadores de disfunção microvascular como resultado dos tratamentos. Tem sido demonstrado que inibidores de PDE 5 produzem efeitos adicionais em diversos tipos celulares. Alguns descritos em endotélio e outras células vasculares, assim como em plaquetas, são a modificação na expressão de CXCR4¹⁴⁵, a indução da síntese de prostaciclina com redução dos níveis de tromboxane e fibrinogênio¹⁴⁶, a inibição da expressão de citocinas pró-

inflamatórias (*tumor necrosis factor alpha* e interleucina-1 beta)¹⁴⁷, a redução de estresse oxidativo (monócitos)¹⁴⁸, e a inibição da liberação de cálcio com mudanças em outras funções celulares seletivas (plaquetas)¹⁴⁹. As diferenças que observamos entre os efeitos da sildenafil e da tadalafila reforçam a suposição de que os fármacos não agem simplesmente como vasodilatadores.

5.5. Perspectivas de longo prazo: importância dos tratamentos específicos

Uma vez demonstrado, na literatura, o papel dos fármacos específicos para HAP no manejo de pacientes com cardiopatias congênitas¹⁴, e no presente estudo, seu efeito sobre o perfil dos marcadores biológicos, restaria discorrer sobre o significado da administração em longo prazo. Observamos que o tempo de exposição a estes fármacos (incluindo inibidores de PDE 5) foi um marcador independente de sobrevida e eventos clínicos relevantes, uma vez tomados cuidados para a eliminação de vieses de interpretação. Tal observação ressalta a importância da instituição precoce dos tratamentos e dos esforços no sentido de se assegurar aderência apropriada.

Em estudo anterior, de nosso grupo, envolvendo pacientes com o mesmo perfil clínico, porém menor período de observação (quatro anos), níveis plasmáticos elevados de VWF:Ag foram relacionados de forma independente à mortalidade⁷⁷. No presente estudo que envolveu casuística ampliada e seguimento consideravelmente mais longo (nove anos), o VWF:Ag

determinado na situação inicial, permaneceu, em certa dimensão, associado aos desfechos. Tal associação poderia ter sido demonstrada com maior consistência caso tivéssemos efetuado determinações sequenciais ao longo do acompanhamento.

Com relação à função cardíaca, a disfunção ventricular direita moderada ou acentuada também teve influência sobre desfechos neste estudo. Este achado está de acordo com observações anteriores de que a disfunção ventricular direita ocorre em pacientes com HAP associada a cardiopatias congênitas e tem relevância prognóstica^{121,150}. Assim sendo, nossas observações sugerem que pacientes em classe funcional mais desfavorável, com função ventricular direita comprometida, níveis plasmáticos elevados de VWF:Ag e principalmente com acesso restrito às terapias para HAP tem pior evolução em médio e longo prazo. Portanto, ações terapêuticas ainda que limitadas a fármacos de administração oral podem ter impacto prognóstico significativo, lembrando que tais modalidades de tratamento são, muitas vezes, as únicas disponíveis em países e regiões em desenvolvimento.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no estudo, em suas duas etapas, permitem enunciar as seguintes conclusões:

1. A administração oral crônica dos inibidores de PDE 5 sildenafil e tadalafila tem efeito favorável sobre a capacidade física e qualidade de vida relacionada à saúde em portadores de HAP avançada associada a cardiopatias congênitas.
2. O uso dos inibidores de PDE 5 mencionados também está associado a melhora das anormalidades detectadas em marcadores circulantes de disfunção microvascular (endotelial e plaquetária), sugerindo efeitos biológicos além de sua ação originalmente proposta como vasodilatadores.
3. Embora obtidos a partir de estudo não randomizado, os resultados parecem apontar para possíveis diferenças entre os efeitos da sildenafil e da tadalafila, a despeito de serem fármacos da mesma classe.
4. Em pacientes sob uso crônico de inibidores de PDE 5 e/ou antagonistas de receptores de endotelina, o tempo de exposição aos fármacos é um indicador independente de prognóstico. A classe funcional, o grau de disfunção sistólica do ventrículo direito e o nível circulante do fator de von Willebrand no início do acompanhamento apresentam-se como cofatores na predição dos desfechos.

6.1. Perspectivas

O manejo de pacientes com HAP deixou de se limitar ao emprego de medicamentos capazes de lhes proporcionar incremento de capacidade física. Os primeiros estudos clínicos foram de fato realizados, tendo como desfecho principal a distância percorrida no teste de seis minutos. Além disso, os estudos eram de duração relativamente curta (12 a 16 semanas). O que se deseja saber, no momento atual e com perspectivas futuras, é o que os diferentes tratamentos podem oferecer além da melhora na tolerância ao exercício. Estudos com desfechos mais robustos, envolvendo morbimortalidade, já têm sido desenhados. Deseja-se ainda saber se marcadores biológicos de gravidade, progressão e complicações das lesões vasculares podem ser modificados pelos tratamentos. A disfunção vascular não é restrita ao território pulmonar, sendo então imperativo estudá-la também ao nível de circulação sistêmica. No presente estudo, alguns marcadores foram caracterizados no curso de seis meses de seguimento, mas determinações repetidas, feitas em períodos mais longos, seriam desejáveis.

Não se conhece a duração de todos estes efeitos, sendo pouco provável que eles se sustentem, no longo prazo, com emprego de monoterapias. Fármacos com ação não apenas vasodilatadora, mas também modificadora de mecanismos como proliferação celular e apoptose virão em futuro breve. É importante que estudos sejam desenvolvidos em etiologias específicas da HAP. O presente estudo representou esforço neste sentido. É

improvável que determinados benefícios possam ser generalizados para diferentes formas de apresentação da doença, sobretudo em faixas etárias diversas.

ANEXO 1: Dados demográficos, diagnósticos e funcionais na condição basal individuais dos pacientes recrutados para o estudo[†]

Nº	Paciente	Idade (anos)	Gênero	Diag.	PSAP (mmHg)	FC rep (bpm)	PAS rep (mmHg)	PAD rep (mmHg)	SpO ₂ rep (%)	FC ex (bpm)	PAS ex (mmHg)	PAD ex (mmHg)	SpO ₂ ex (%)	DC6M (m)	CF	Dispneia (escore)*
1	MHPV	46,6	F	2	135	92	131	86	94	133	168	115	80	555	3	7
2	MGS	17,7	F	4	116	70	100	68	70	131	116	82	55	466.5	3	6
3	SMN	43,1	F	2	105	87	137	88	65	119	140	101	40	519	2	4
4	JCMM	17,1	M	4		86	139	75	80	121	148	80	55	294	4	8
5	JFMS	20,2	F	2	87	70	128	89	85	136	140	89	36	555	2	4
6	DSC	12,1	M	2	105	130	123	85	80	151	107	72	54	322.5	4	7
7	ETBS	31,0	F	1	155	75	119	86	90	123	137	89	71	478	2	3
8	SFSM	48,5	F	1	150	93	158	112	77	131	125	52	64	462	3	6
9	CPS	51,3	F	1	80	70	142	86	89	132	184	126	65	480	3	5
10	LSMC	34,7	F	3	126	88	123	90	78	115	119	80	62	399	3	6
§11	KAA	24,6	F	3	108	55	96	60	86	112	117	70	78	532	3	5
12	RSA	23,6	F	1	80	75	116	84	89	101	133	76	63	510	3	5
13	LCZ	30,3	M	2	95	91	123	89	69	139	137	100	43	468	3	7
§14	DMN	51,8	F	2	113	87	134	93	87	129	150	96	65	507	3	4
15	MANS	41,7	F	2	78	95	136	96	87	160	139	88	56	507	3	6
16	PRS	19,7	F	5	75	86	127	94	81	145	141	102	52	499.5	3	6
17	COS	23,5	F	3	77	61	123	84	86	121	134	97	69	483	3	6
18	APMN	47,0	F	2	100	65	125	67	91	135	176	105	87	525	3	5
19	RJM	54,2	F	2	84	82	133	93	80	104	154	102	59	441	3	6
20	DRN	21,8	F	2	90	77	127	93	96	145	148	103	69	489	3	7
21	RGS	13,7	M	2	58	97	143	104	97	135	139	87	74	478.5	3	6
§22	MARN	64,0	F	1	140	70	167	92	86	86	139	86	55	372	3	7
23	MFPG	25,1	F	1	125	71	107	77	92	119	127	89	67	510	3	7
24	HNQ	24,9	F	2	92	68	131	86	92	69	154	89	72	516	3	6
25	VRG	49,8	M	2	117	63	139	87	89	74	154	95	69	474	3	6

“continua”

ANEXO 1: Dados demográficos, diagnósticos e funcionais na condição basal individuais dos pacientes recrutados para o estudo[†] “continuação”

Nº	Paciente	Idade (anos)	Gênero	Diag.	PSAP (mmHg)	FC rep (bpm)	PAS rep (mmHg)	PAD rep (mmHg)	SpO ₂ rep (%)	FC ex (bpm)	PAS ex (mmHg)	PAD ex (mmHg)	SpO ₂ ex (%)	DC6M (m)	CF	Dispneia (escore)*
26	IJL	34,0	F	2	118	86	144	96	93	127	157	98	70	528	3	6
27	AMS	40,0	F	3	65	59	120	85	86	69	113	67	59	375	3	5
28	MHR	28,0	F	5	83	82	107	69	82	82	107	69	49	0	4	5
29	VMC	39,8	F	2	85	70	143	78	94	106	180	99	72	492	3	6
30	TGS	17,2	M	2	105	88	98	62	86	121	119	92	48	642	2	4
§31	CVS	20,4	F	4		86	127	91	93	128	147	88	55	510	2	5
32	WOMA	14,1	M	3	83	87	123	78	77	125	129	84	54	588	2	6
33	FCM	37,1	M	3	93	92	122	86	87	97	125	85	66	406.5	3	4
34	LGPA	18,1	M	1	78	101	140	105	93	126	152	106	71	420	3	8
35	RJL	10,0	M	2	104	95	105	53	89	148	118	76	68	338	4	6
Valor mínimo		10,0	-	-	58	55	96	53	65	69	107	52	36	0	-	3
Valor máximo		64,0	-	-	155	130	167	112	97	160	184	126	87	642	-	8
Mediana		28,0	-	-	95	86	127	86	87	125	139	89	64	483	-	6
Intervalo Interquartilico		19,7-43,1	-	-	82-117	70-91	120-139	78-93	80-92	106-135	125-152	80-100	55-70	420-516	-	5-6

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

(§) Pacientes que descontinuaram o tratamento após o primeiro mês.

(*) Segundo escala proposta por Borg¹²⁷

CF, classificação funcional (Organização Mundial de Saúde¹²⁴); DC6M, distância caminhada no teste de 6 minutos (*American Thoracic Society*¹⁰⁹); Diag, diagnósticos; ex, exercício; FC, frequência cardíaca; Hb, hemoglobina; Ht, hematócrito; PAD, pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; PSAP, pressão sistólica na artéria pulmonar; rep, repouso; SpO₂, saturação periférica de oxigênio.

Diagnósticos (Diag): 1, uma ou mais comunicações pré-tricuspídeas; 2, uma ou mais comunicações pós-tricuspídeas (exceto defeito septal atrioventricular), na ausência ou presença de comunicações pré-tricuspídeas; 3, defeito septal atrioventricular; 4, anomalias conotrunciais; 5 anomalias complexas.

ANEXO 2: Dados laboratoriais gerais e específicos na condição basal individuais dos pacientes recrutados para o estudo[†]

Nº	Paciente	Hemoglobina (%)	Hematócrito (%)	Plaquetas (k/μL)	TM (ng/mL)	t-PA (ng/mL)	VWF:Ag (U/dL)	Selectina P (ng/mL)	sCD40L (pg/mL)	β-TG (U/mL)
1	MHPV	20,7	61	254	1,73	9,66	137	48,3	352,1	348,2
2	MGS	21,2	71	133	1,70	8,28	134	39,5	42,0	350,0
3	SMN	21,3	74	217	2,52	5,89	140	39,3	-	375,6
4	JCMM	20,2	65	157	2,56	14,00	110	48,2	64,9	330,0
5	JFMS	19,1	55	151	2,84	4,38	106	26,9	78,3	331,5
6	DSC	17,4	54	286	3,25	7,83	124	27,2	107,6	309,2
7	ETBS	18,4	56	209	2,84	10,19	131	46,1	69,8	342,6
8	SFSM	20,8	71	266	1,73	11,42	125	82,2	157,4	356,6
9	CPS	17,7	53	220	2,95	5,46	120	56,9	60,0	308,3
10	LSMC	19,7	62	210	1,93	9,20	77	53,2	62,8	332,5
§11	KAA	15,3	52	235	-	-	-	-	-	-
12	RSA	14,8	47	229	2,10	1,92	124	25,1	-	318,6
13	LCZ	23,1	71	158	2,79	16,49	108	51,5	139,1	357,1
§14	DMN	15,6	51	317	-	-	-	-	-	-
15	MANS	17,5	54	322	2,02	12,74	170	43,5	38,5	330,4
16	PRS	16,6	55	166	2,51	12,47	114	22,3	-	330,3
17	COS	17,4	53	238	3,45	9,69	126	39,5	80,0	272,4
18	APMN	19,5	59	199	2,67	15,19	121	52,7	78,4	399,6
19	RJM	24,4	73	139	2,81	11,24	158	64,0	40,0	261,0
20	DRN	16,4	49	188	3,23	4,74	120	34,3	62,8	363,5
21	RGS	17,1	49	261	3,17	10,88	95	44,1	59,9	346,6
§22	MARN	15,1	47	211	-	-	-	-	-	-
23	MFPG	16,5	48	254	2,63	5,59	98	39,2	64,7	348,8
24	HNQ	16,9	48	251	2,91	7,22	117	39,2	60,4	362,2
25	VRG	20,0	68	203	3,57	9,22	115	49,9	202,6	334,6

“continua”

ANEXO 2: Dados laboratoriais gerais e específicos na condição basal individuais dos pacientes recrutados para o estudo[†] “continuação”

Nº	Paciente	Hemoglobina (%)	Hematócrito (%)	Plaquetas (k/ μ L)	TM (ng/mL)	t-PA (ng/mL)	VWF:Ag (U/dL)	Selectina P (ng/mL)	sCD40L (pg/mL)	β -TG (U/mL)
26	IJL	15,4	45	306	1,97	5,23	99	34,3	141,3	282,3
27	AMS	21,1	64	133	2,89	19,62	151	18,0	93,9	317,3
28	MHR	17,8	51	223	1,19	8,55	61	32,3	47,5	332,5
29	VMC	16,4	51	270	2,13	7,73	141	48,1	50,3	293,3
30	TGS	16,6	52	193	3,43	3,07	141	33,6	79,4	294,0
§31	CVS	15,6	49	246	-	-	-	-	-	-
32	WOMA	17,3	51	181	4,11	4,05	129	44,4	74,3	321,8
33	FCM	20,1	61	196	2,05	13,79	120	30,6	92,9	329,4
34	LGPA	19,0	57	180	-	11,52	92	-	-	295,3
35	RJL	14,3	41	331	-	9,86	123	-	-	309,6
Valor mínimo		41	14,3	133	1,19	1,92	61	18,0	38,5	261,0
Valor máximo		74	24,4	331	4,11	19,62	170	82,2	352,1	399,6
Mediana		54	17,5	217	2,67	9,22	121	39,5	72,1	330,4
Intervalo Interquartilico		49-62	16,4-20,1	181-254	2,04-3,06	5,59-11,52	108-134	33,0-49,1	60,0-97,3	309,2-348,8

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

(§) Pacientes que descontinuaram o tratamento após o primeiro mês.

sCD40L, proteína de ligação do receptor CD40, forma solúvel; t-PA, ativador do plasminogênio tipo tecidual; TM, trombosmodulina; VWF:Ag, antígeno do fator de von Willebrand; β -TG, beta-tromboglobulina.

ANEXO 3: Dados laboratoriais gerais individuais dos pacientes incluídos no estudo nas condições basal, três e seis meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5[†]

Nº	Paciente	Hemoglobina (%)			Hematócrito (%)			Plaquetas (k/µL)		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
1	MHPV	20,7	16,4	17,3	61	51	54	254	277	282
2	MGS	21,2	21,7	20,0	71	63	62	133	123	113
3	SMN	21,3	21,3	19,9	74	65	62	217	200	191
4	JCMM	20,2	20,0	19,2	65	62	58	157	152	195
5	JFMS	19,1	16,4	16,9	55	50	51	151	153	137
6	DSC	17,4	17,3	17,1	54	52	52	286	297	294
7	ETBS	18,4	17,3	17,4	56	51	53	209	193	216
8	SFSM	20,8	20,8	21,4	71	64	65	266	139	208
9	CPS	17,7	17,3	17,3	53	52	53	220	200	230
10	LSMC	19,7	17,6	17,4	62	55	55	210	182	199
12	RSA	14,8	14,6	15,2	47	44	43	229	191	213
13	LCZ	23,1	20,3	19,1	71	61	57	158	158	170
15	MANS	17,5	14,8	15,0	54	44	46	322	309	335
16	PRS	16,6	16,7	15,2	55	53	46	166	173	209
17	COS	17,4	17,5	16,7	53	53	51	238	242	217
18	APMN	19,5	17,8	16,8	59	55	54	199	187	172
19	RJM	24,4	22,4	19,8	73	65	58	139	194	201
20	DRN	16,4	15,7	16,9	49	46	48	188	176	144
21	RGS	17,1	16,7	16,6	49	46	46	261	217	235
23	MFPG	16,5	16,1	15,7	48	48	48	254	239	250
24	HNQ	16,9	15,0	16,3	48	47	48	251	201	234

“continua”

ANEXO 3: Dados laboratoriais gerais individuais dos pacientes incluídos no estudo nas condições basal, três e seis meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 † “continuação”

Nº	Paciente	Hemoglobina (%)			Hematócrito (%)			Plaquetas (k/µL)		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
26	IJL	15,4	15,2	15,1	45	45	46	306	262	250
27	AMS	21,1	19,6	19,4	64	61	57	133	123	123
28	MHR	17,8	17,7	18,0	51	54	53	223	266	202
29	VMC	16,4	16,5	15,9	51	50	47	270	181	165
30	TGS	16,6	18,1	16,6	52	50	48	193	145	192
32	WOMA	17,3	17,2	17,3	51	53	50	181	182	204
33	FCM	20,1	19,8	19,5	61	59	59	196	198	183
34	LGPA	19,0	17,8	17,2	57	52	53	180	191	181
35	RJL	14,3	13,3	15,9	41	40	45	331	199	196
Valor mínimo		14,3	13,3	15,0	41	40	43	133	122	103
Valor máximo		24,4	22,4	21,6	74	68	72	331	309	335
Mediana		17,8	17,3	17,2	55	52	53	210	191	201
Intervalo Interquartilico		16,6-20,2	16,4-19,6	16-3-19,2	51-64	48-61	48-57	180-254	158-217	172-230

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

ANEXO 4: Dados laboratoriais específicos individuais dos pacientes incluídos no estudo nas condições basal, três e seis meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 [†]

Nº	Paciente	Trombomodulina (ng/mL)			t-PA (ng/mL)			VWF:Ag (U/dL)		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
1	MHPV	1,73	1,58	1,64	9,66	6,65	7,58	137	110	148
2	MGS	1,70	1,85	2,06	8,28	6,75	4,74	134	136	149
3	SMN	2,52	2,59	2,65	5,89	9,54	6,03	140	103	99
4	JCMM	2,56	2,60	2,82	14,00	10,71	9,84	110	114	139
5	JFMS	2,84	3,01	2,99	4,38	3,99	5,50	106	124	149
6	DSC	3,25	3,80	3,62	7,83	5,90	6,70	124	81	68
7	ETBS	2,84	3,13	3,05	10,19	5,85	6,11	131	110	112
8	SFSM	1,73	2,06	1,95	11,42	7,50	11,47	125	102	127
9	CPS	2,95	3,24	2,99	5,46	3,35	4,76	120	140	136
10	LSMC	1,93	1,35	1,96	9,20	6,21	9,69	77	86	88
12	RSA	2,10	2,42	2,72	1,92	2,33	2,27	124	81	86
13	LCZ	2,79	3,15	3,03	16,49	14,06	14,35	108	142	118
15	MANS	2,02	2,35	2,27	12,74	5,66	7,60	170	102	170
16	PRS	2,51	2,40	2,35	12,47	8,22	8,13	114	126	106
17	COS	3,45	3,35	3,16	9,69	10,75	10,72	126	140	124
18	APMN	2,67	2,43	2,74	15,19	15,15	10,56	121	116	130
19	RJM	2,81	3,24	4,10	11,24	12,14	13,24	158	147	141
20	DRN	3,23	3,41	3,97	4,74	10,68	11,41	120	107	115
21	RGS	3,17	4,16	1,53	10,88	6,28	9,61	95	104	126
23	MFPG	2,63	2,93	3,10	5,59	4,23	4,20	98	97	97
24	HNQ	2,91	2,98	2,95	7,22	5,67	5,82	117	104	109
25	VRG	3,57	3,31	2,95	9,22	12,40	13,32	115	106	103

“continua”

ANEXO 4: Dados laboratoriais específicos individuais dos pacientes incluídos no estudo nas condições basal, três e seis meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5[†] “continuação

Nº	Paciente	Trombomodulina (ng/mL)			t-PA (ng/mL)			VWF:Ag (U/dL)		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
26	IJL	1,97	2,26	2,03	5,23	4,35	5,47	99	96	91
27	AMS	2,89	2,85	2,69	19,62	17,36	13,27	151	129	140
28	MHR	1,19	1,70	1,53	8,55	9,69	12,49	61	64	77
29	VMC	2,13	2,74	2,54	7,73	6,73	7,51	141	128	165
30	TGS	3,43	3,01	3,38	3,07	2,91	3,58	141	131	119
32	WOMA	4,11	4,07	3,78	4,05	7,51	6,55	129	114	105
33	FCM	2,05	2,58	2,90	13,79	16,34	14,77	120	113	121
34	LGPA	-	-	-	11,52	10,49	11,49	92	70	103
35	RJL	-	-	-	9,86	5,48	6,93	123	89	155
Valor mínimo		1,19	1,35	1,53	1,92	2,33	2,27	61	64	68
Valor máximo		4,11	4,16	4,10	19,62	17,36	14,77	170	147	165
Mediana		2,67	2,85	2,82	9,22	6,75	7,60	121	110	119
Intervalo Interquartilico		2,04-3,06	2,38-3,24	2,17-3,08	5,59-11,52	5,66-10,71	5,82-11,47	108-134	97-128	103-140

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

t-PA, ativador do plasminogênio tipo tecidual; VWF:Ag, antígeno do fator de von Willebrand.

ANEXO 5: Dados laboratoriais específicos individuais dos pacientes incluídos no estudo nas condições basal, três e seis meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 †

Nº	Paciente	Selectina P (ng/mL)			sCD40L (pg/mL)			β-tromboglobulina (U/mL)		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
1	MHPV	48,3	39,0	62,7	352,1	106,3	188,5	348,2	335,9	325,4
2	MGS	39,5	38,3	44,8	42,0	60,4	50,9	350,0	325,0	336,9
3	SMN	39,3	29,4	30,6	-	-	-	375,6	332,8	344,8
4	JCMM	48,2	51,7	53,4	64,9	39,2	148,6	330,0	342,1	320,6
5	JFMS	26,9	23,3	33,0	78,3	69,8	98,3	331,5	306,0	318,6
6	DSC	27,2	36,0	33,1	107,6	74,7	212,9	309,2	305,2	321,4
7	ETBS	46,1	39,3	36,8	69,8	142,8	82,2	342,6	257,2	249,6
8	SFSM	82,2	59,3	84,9	157,4	198,7	177,3	356,6	332,9	327,6
9	CPS	56,9	64,5	64,9	60,0	49,4	48,7	308,3	302,5	302,1
10	LSMC	53,2	42,2	64,4	62,8	74,7	47,4	332,5	333,9	331,2
12	RSA	25,1	24,9	26,2	-	-	-	318,6	299,1	303,5
13	LCZ	51,1	40,2	44,7	139,1	93,6	89,0	357,1	336,7	335,4
15	MANS	43,5	37,3	46,0	38,5	65,8	81,8	330,4	316,6	301,5
16	PRS	22,3	32,4	17,1	-	-	-	330,3	324,7	311,6
17	COS	39,5	49,4	43,0	80,0	57,8	108,0	272,4	414,1	308,1
18	APMN	52,7	47,9	46,1	78,4	99,3	127,3	399,6	289,4	232,0
19	RJM	64,0	59,3	52,0	40,0	48,3	112,9	261,0	398,0	341,1
20	DRN	34,3	31,3		62,8	159,3	77,1	363,5	374,8	358,0
21	RGS	44,1	46,9	48,1	59,9	130,9	34,2	346,6	370,5	410,7
23	MFPG	39,2	37,7	40,5	64,7	76,3	59,0	348,8	381,2	329,8
24	HNQ	39,2	40,1	37,2	60,4	55,2	25,1	362,2	345,3	356,0
25	VRG	49,9	51,8	51,6	202,6	48,6	42,1	334,6	338,5	368,8

“continua”

ANEXO 5: Dados laboratoriais específicos individuais dos pacientes incluídos no estudo nas condições basal, três e seis meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5 † “continuação”

Nº	Paciente	Selectina P (ng/mL)			sCD40L (pg/mL)			β-tromboglobulina (U/mL)		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
26	IJL	34,3	31,3	29,8	141,3	62,7	49,4	282,3	262,6	322,4
27	AMS	18,0	12,3	14,2	93,9	116,1	101,5	317,3	264,8	341,0
28	MHR	32,3	30,6	34,2	47,5	50,2	57,6	332,5	324,4	331,8
29	VMC	48,1	43,1	34,9	50,3	41,9	74,6	293,3	291,6	310,0
30	TGS	33,6	28,2	33,0	79,4	67,1	86,4	294,0	320,9	256,5
32	WOMA	44,4	45,7	40,7	74,3	60,3	53,5	321,8	325,1	324,8
33	FCM	30,6	27,5	26,8	92,9	126,2	114,8	329,4	302,1	333,6
34	LGPA	-	-	-	-	-	-	295,3	328,4	330,0
35	RJL	-	-	-	-	-	-	309,6	283,8	316,7
Valor mínimo		18,0	12,3	14,2	38,5	39,2	25,1	261,0	257,2	232,0
Valor máximo		82,2	64,5	84,9	352,1	198,7	212,9	399,6	414,1	410,7
Mediana		39,5	39,0	40,6	72,1	68,5	82,0	330,4	325,0	325,4
Intervalo Interquartilico		33,0-49,1	31,0-47,4	33,0-50,7	60,0-97,3	54,0-108,8	50,5-113,4	309,2-348,8	302,1-338,5	310,0-336,9

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

sCD40L, proteína de ligação do receptor CD40, forma solúvel.

ANEXO 6: Dados individuais dos pacientes que concluíram o estudo, referente aos quatro domínios do componente físico do questionário de qualidade de vida SF-36, na condição basal, aos 3 meses e aos 6 meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5[†]

Nº	Paciente	Capacidade Funcional			Aspectos Físicos			Dor			Estado Geral da Saúde		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
1	MHPV	10	65	70	0	25	0	12	41	100	0	27	57
2	MGS	45	45	50	75	75	75	10	51	74	47	62	62
3	SMN	40	50	85	50	100	100	72	100	100	55	72	57
4	JCMM	55	70	65	100	100	75	62	84	84	42	62	72
5	JFMS	60	90	85	25	100	100	100	84	100	87	100	80
6	DSC	35	45	50	25	100	100	74	100	100	67	67	72
7	ETBS	50	25	70	100	100	100	100	61	100	77	72	72
8	SFSM	60	70	70	25	100	75	41	72	74	47	72	72
9	CPS	15	50	40	0	100	100	52	84	72	37	77	92
10	LSMC	35	80	80	25	100	100	62	41	100	32	77	67
12	RSA	20	20	30	0	0	25	51	52	51	60	62	67
13	LCZ	25	55	60	0	0	0	52	74	74	30	57	42
15	MANS	20	75	60	25	100	75	22	42	51	20	62	72
16	PRS	25	70	70	0	100	100	31	74	62	32	67	72
17	COS	55	80	95	100	100	100	62	84	72	62	72	82
18	APMN	75	80	70	25	100	50	51	64	52	62	52	57
19	RJM	50	75	75	0	100	0	52	41	31	77	77	77
20	DRN	30	85	95	0	100	100	100	100	100	82	97	97
21	RGS	40	65	65	50	50	100	51	64	72	87	82	72
23	MFPG	35	40	35	0	50	75	52	74	52	32	52	47
24	HNQ	80	70	65	100	100	50	100	72	84	47	37	37
25	VRG	50	70	55	100	100	75	84	61	61	52	72	67

“continua”

ANEXO 6: Dados individuais dos pacientes que concluíram o estudo, referente aos quatro domínios do componente físico do questionário de qualidade de vida SF-36, na condição basal, aos 3 meses e aos 6 meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5[†] “continuação”

Nº	Paciente	Capacidade Funcional			Aspectos Físicos			Dor			Estado Geral da Saúde		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
26	IJL	35	80	85	0	100	100	51	100	84	82	77	87
27	AMS	75	70	70	75	100	100	100	100	100	52	87	82
28	MHR	30	50	50	0	0	0	0	62	51	10	22	37
29	VMC	40	55	40	25	50	100	41	100	100	52	72	57
30	TGS	60	80	65	25	100	100	74	51	51	72	77	62
32	WOMA	50	40	75	50	50	100	61	74	74	97	62	72
33	FCM	80	90	75	100	100	100	100	100	100	72	67	72
34	LGPA	25	55	70	0	50	50	62	74	74	50	45	62
35	RJL	50	65	60	50	75	100	100	100	100	100	97	57
Valor mínimo		10	20	30	0	0	0	0	41	31	0	22	37
Valor máximo		80	90	95	100	100	100	100	100	100	100	100	97
Mediana		40	70	70	25	100	100	61	74	74	52	72	72
Intervalo Interquartilico		30-55	50-80	55-75	0-75	50-100	50-100	51-84	61-100	61-100	37-77	62-77	57-72

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

ANEXO 7: Dados individuais dos pacientes que concluíram o estudo, referente aos quatro domínios do componente mental do questionário de qualidade de vida SF-36, na condição basal, aos 3 meses e aos 6 meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5[†]

Nº	Paciente	Vitalidade			Aspectos Sociais			Aspectos Emocionais			Saúde Mental		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
1	MHPV	15	55	75	25	50	88	0	0	0	40	60	76
2	MGS	65	65	85	50	88	88	100	67	100	72	76	80
3	SMN	45	85	90	75	75	63	67	100	100	52	92	80
4	JCMM	45	75	60	63	75	88	100	100	100	56	76	76
5	JFMS	50	80	65	50	75	100	67	100	67	64	88	76
6	DSC	55	90	65	88	100	100	100	100	100	88	92	100
7	ETBS	50	55	80	75	100	88	100	100	100	80	80	80
8	SFSM	40	60	50	13	63	75	0	100	67	32	28	28
9	CPS	35	55	85	63	100	100	33	100	100	84	88	96
10	LSMC	40	85	85	63	88	100	0	100	100	52	88	92
12	RSA	35	40	60	75	63	63	0	33	100	24	44	52
13	LCZ	45	45	70	63	63	88	0	33	33	56	72	84
15	MANS	70	70	75	50	88	63	0	100	67	68	84	76
16	PRS	50	75	65	38	100	100	33	100	67	76	92	88
17	COS	45	75	75	63	100	100	0	100	67	48	84	88
18	APMN	75	55	65	88	63	75	67	33	100	80	68	80
19	RJM	30	55	60	50	38	13	67	100	0	28	44	4
20	DRN	10	100	80	75	100	100	0	100	100	40	100	100
21	RGS	40	60	70	63	75	88	67	100	100	72	88	88
23	MFPG	25	45	40	50	63	50	0	67	100	40	56	60
24	HNQ	80	75	75	100	100	100	100	100	100	92	92	84
25	VRG	45	65	55	75	100	88	100	100	100	80	84	64

“continua”

ANEXO 7: Dados individuais dos pacientes que concluíram o estudo, referente aos quatro domínios do componente mental do questionário de qualidade de vida SF-36, na condição basal, aos 3 meses e aos 6 meses de tratamento com inibidores de fosfodiesterase 5[†] “continuação”

Nº	Paciente	Vitalidade			Aspectos Sociais			Aspectos Emocionais			Saúde Mental		
		Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses	Basal	3 meses	6 meses
26	IJL	65	75	85	88	100	100	0	100	100	80	96	88
27	AMS	80	85	75	100	100	100	33	100	100	92	96	100
28	MHR	15	35	30	25	38	50	0	33	0	40	36	36
29	VMC	65	85	80	50	75	100	33	33	100	80	84	88
30	TGS	45	65	85	63	75	88	100	100	100	84	76	92
32	WOMA	60	80	95	75	63	88	67	67	33	52	48	52
33	FCM	60	75	65	100	100	100	33	100	100	88	72	72
34	LGPA	60	50	60	63	63	75	33	33	67	80	80	88
35	RJL	85	80	10	100	100	50	67	0	0	52	96	36
Valor mínimo		10	35	10	12	38	12	0	0	0	24	28	4
Valor máximo		85	100	95	100	100	100	100	100	100	92	100	100
Mediana		45	70	70	62	75	88	33	100	100	68	84	80
Intervalo Interquartilico		40-65	55-80	60-80	50-75	62-100	75-100	0-67	33-100	67-100	48-80	68-92	64-88

(†) Os pacientes de números 1 a 17 foram inicialmente orientados para tratamento com uso da tadalafila, os demais tiveram orientação para uso da sildenafil.

ANEXO 8: Questionário de qualidade de vida relacionada à saúde SF-36¹²⁹

SF-36 PESQUISA EM SAÚDE

Instruções: Esta pesquisa questiona você sobre sua saúde. Estas informações nos manterão informados de como você se sente e quão bem você é capaz de fazer suas atividades de vida diária. Responda cada questão marcando a resposta como indicado. Caso você esteja inseguro em como responder, por favor, tente responder o melhor que puder.

1. Em geral, você diria que sua saúde é:

(circule uma)

- .Excelente.....1
- .Muito boa.....2
- .Boa.....3
- .Ruim.....4
- .Muito ruim.....5

2. Comparada a um ano atrás, como você classificaria sua saúde geral, agora?

(circule uma)

- .Muito melhor agora do que a um ano atrás.....1
- .Um pouco melhor agora do que a um ano atrás.....2
- .Quase a mesma de um ano atrás3
- .Um pouco pior agora do que a um ano atrás.....4
- .Muito pior agora do que a um ano atrás.....5

3. Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. **Devido a sua saúde**, você tem dificuldade para fazer essas atividades? Neste caso, quanto?

(circule um número em cada linha)

Atividades	Sim. Dificulta muito	Sim. Dificulta um pouco	Não. Não dificulta de modo algum
a. Atividades vigorosas , que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos	1	2	3
b. Atividades moderadas , tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa	1	2	3
c. Levantar ou carregar mantimentos	1	2	3
d. Subir vários lances de escada	1	2	3
e. Subir um lance de escada	1	2	3
f. Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	1	2	3
g. Andar mais de 1 quilômetro	1	2	3
h. Andar vários quarteirões	1	2	3
i. Andar um quarteirão	1	2	3
j. Tomar banho ou vestir-se	1	2	3

4. Durante as **últimas 4 semanas**, você teve algum dos seguintes problemas com o seu trabalho ou com alguma atividade regular diária, **como consequência da sua saúde física?**

(circule um número em cada linha)

	Sim	Não
a. Você diminuiu a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b. Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c. Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou em outras atividades?	1	2
d. Teve dificuldade de fazer seu trabalho ou outras atividades(p.ex: necessitou de um esforço extra?)	1	2

5. Durante **as últimas 4 semanas**, você teve algum dos seguintes problemas com o seu trabalho ou outra atividade regular diária, **como consequência de algum problema emocional** (como sentir-se deprimido ou ansioso)?

(circule um número em cada linha)

	Sim	Não
a. Você diminuiu a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b. Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c. Não trabalhou ou não fez qualquer das atividades com tanto cuidado com geralmente faz?	1	2

6. Durante **as últimas 4 semanas**, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação a família, vizinhos, amigos ou em grupo?

(circule uma)

- . De forma nenhuma.....1
- . Ligeiramente.....2
- . Moderadamente.....3
- . Bastante.....4
- . Extremamente.....5

7. Quanta **dor no corpo** você teve durante as últimas 4 semanas?

(circule uma)

- . Nenhuma.....1
- . Muito leve.....2
- . Leve.....3
- . Moderada.....4
- . Grave.....5
- . Muito grave.....6

8. Durante **as últimas 4 semanas**, quanto a dor interferiu com o seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora e dentro de casa)?

(circule uma)

- . De maneira nenhuma.....1
- . Um pouco.....2
- . Moderadamente.....3
- . Bastante.....4
- . Extremamente.....5

9. Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante **as últimas 4 semanas**. Para cada questão, por favor dê uma resposta que mais se aproxime da maneira como você se sente. Em relação as **últimas 4 semanas**.

(circule um número para cada linha)

	Todo tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
a. Quanto tempo você tem se sentido cheio de vigor , cheio de vontade , cheio de força ?	1	2	3	4	5	6
b. Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa muito nervosa ?	1	2	3	4	5	6
c. Quanto tempo você tem se sentido tão deprimido que nada pode animá-lo?	1	2	3	4	5	6
d. Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranquilo ?	1	2	3	4	5	6
e. Quanto tempo você tem se sentido com muita energia ?	1	2	3	4	5	6
f. Quanto tempo você tem se sentido desanimado e abatido ?	1	2	3	4	5	6
g. Quanto tempo você tem se sentido esgotado ?	1	2	3	4	5	6
h. Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz ?	1	2	3	4	5	6
i. Quanto tempo você tem se sentido cansado ?	1	2	3	4	5	6

10. Durante as **últimas 4 semanas**, quanto do seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc.)?

(circule uma)

- . Todo o tempo.....1
- . A maior parte do tempo.....2
- . Alguma parte do tempo.....3
- . Uma pequena parte do tempo.....4
- . Nenhuma parte do tempo.....5

11. O quanto **verdadeiro ou falso** é cada uma das afirmações para você?

(circule um número em cada linha)

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
a. Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b. Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c. Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d. Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

ANEXO 9: Pontuação do questionário SF-36¹³⁰

	Questão	Limites	Escala de pontuação
Capacidade Funcional	3 (a+b+c+d+e+f+g+h+i+j)	10,30	20
Aspectos Físicos	4 (a+b+c+d)	4,8	4
Dor	7+8	2,12	10
Estado Geral de Saúde	1+11(a+b+c+d)	5,25	20
Vitalidade	9 (a+e+g+i)	4,24	20
Aspectos Sociais	6+10	2,10	8
Aspecto Emocional	5 (a+b+c)	3,6	3
Saúde Mental	9 (b+c+d+f+h)	5,30	25

ANEXO 10: Cálculo do questionário SF-36¹³⁰

$$\text{Escala transformada} = \frac{[\text{Valor obtido} - \text{Valor mais baixo}]}{\text{Variação}} \times 100$$

Exemplo: Capacidade Funcional = 21
Valor mais baixo = 10
Variação = 20

$$\left. \begin{array}{l} \text{Exemplo: Capacidade Funcional} = 21 \\ \text{Valor mais baixo} = 10 \\ \text{Variação} = 20 \end{array} \right\} \frac{21 - 10}{20} \times 100 = 55$$

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Galiè N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2009;30(20):2493-537.
2. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celermajer D, Denton C, Ghofrani A, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:D34-41.
3. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The joint task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J*. 2016;37:67-119.
4. Gatzoulis MA, Beghetti M, Landzberg MJ, Galiè N. Pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease: Recent advances and future directions. *Intern J Cardiol*. 2014;177:340-7.
5. Hoeper MM, Bogaard HJ, Condliffe R, Frantz R, Khanna D, Kurzyna M, et al. Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:D42-50.
6. Diller GP, Gatzoulis MA. Pulmonary vascular disease in adults with congenital heart disease. *Circulation*. 2007;115:1039-50.
7. Engelfriet PM, Duffels MGJ, Möller T, Boersma E, Tijssen JGP, Thaulow E, et al. Pulmonary arterial hypertension in adults born with a heart septal

- defect the Euro Heart Survey on adult congenital heart disease. *Heart*. 2007;93:682-7.
8. Lopes AA, Bandeira AP, Flores PC, Santana MVT. Pulmonary hypertension in Latin America. Pulmonary vascular disease: the global perspective. *Chest*. 2010;137(6)(Suppl.):S78-84.
 9. Rabinovitch M. Pulmonary hypertension: pathophysiology as a basis for clinical decision making. *J Heart Lung Transplant*. 1999;18(11):1041-53.
 10. Vongpatanasin W, Brickner E, Hillis D, Langi RA. The Eisenmenger syndrome in adults. *Ann Intern Med*. 1998;128:745-55.
 11. Mocerri P, Kempny A, Lioudakis E, Gonzales RA, Germanakis I, Diller GP, et al. Physiological differences between various types of Eisenmenger syndrome and relation to outcome. *Intern J Cardiol*. 2015;179:455-60.
 12. Lopes AA. Is surgical treatment the cure for patients with congenital heart disease? *Pulm Circ*. 2012;2:273-4.
 13. Diller GP, Gonzales RA, Dimopoulos K, Barredo MA, Koo C, Kempny A, et al. Disease targeting therapies in patients with Eisenmenger syndrome: response to treatment and long-term efficiency. *Intern J Cardiol*. 2013;167:840-7.
 14. Dimopoulos K, Inuzuka R, Goletto S, Giannakoulas G, Swan L, Wort SJ, et al. Improved survival among patients with Eisenmenger syndrome receiving advanced therapy for pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2010;121(1):20-5.
 15. McLaughlin VV, Gaine SP, Howard LS, Leuchte HH, Mathier MA, Mehta S, et al. Treatment goals of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:D73-81.

16. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB, et al. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 1996;334(5):296-301.
17. Simonneau G, Barst RJ, Galiè N, Naeije R, Rich S, Bourge RC, et al. Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(6):800-4.
18. Olschewski H, Simonneau G, Galiè N, Higenbottam T, Naeije R, Rubin LJ, et al. Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 2002;347(5):322-9.
19. Barst RJ, McGoon M, McLaughlin V, Tapson V, Oudiz R, Shapiro S et al. Beraprost therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:2119-25.
20. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galiè, Black CM, Keogh AM, et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2002;346(12):896-903.
21. Galiè N, Badesch D, Oudiz R, Simonneau G, McGoon MD, Keogh AM, et al. Ambrisentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(3):529-35.
22. Pulido T, Adzerikho I, Channick RN, Delcroix M, Galiè N, Ghofrani HA, et al. Macitentan and morbidity and mortality in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2013;369:809–18.

23. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2005;353(20):2148-57.
24. Galiè N, Brundage BH, Ghofrani HA, Oudiz RJ, Simonneau G, Safdar Z, et al. Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2009;119(22):2894-903.
25. Jing ZC, Yu ZX, Shen JY, Wu BX, Xu KF, Zhu XY, et al. Vardenafil in pulmonary arterial hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(12):1723-9.
26. Ghofrani HA, Galiè N, Grimminger F, Grunig E, Humbert M, Jing ZC, et al. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2013;369:330-40.
27. Farber HW, Loscalzo J. Pulmonary arterial hypertension mechanisms of disease. *N Engl J Med*. 2004;351:1655-65.
28. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1995;333:214–21.
29. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1993;328:1732–9.
30. Christman BW, McPherson CD, Newman JH, King GA, Bernard GR, Groves BM, et al. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1992;327:70-5.

31. Humbert M, Lau EMT, Montani D, Jais X, Sitbon O, Simonneau G. Advances in therapeutic interventions for patients with pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2014;130:2189-208.
32. Dimopoulos K, Giannakoulas G, Wort SJ, Gatzoulis MA. Pulmonary arterial hypertension in adults with congenital heart disease: distinct differences from other causes of pulmonary arterial hypertension and management implications. *Curr Opin Cardiol*. 2008;23(6):545-54.
33. Galiè N, Beghetti M, Gatzoulis MA, Granton J, Berger RM, Lauer A, et al. Bosentan therapy in patients with Eisenmenger syndrome: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Circulation*. 2006;114(1):48-54.
34. Gatzoulis MA, Beghetti M, Galiè N, Granton J, Berger RM, Lauer A, et al. Longer term bosentan therapy improves functional capacity in Eisenmenger syndrome: results of the BREATHE-5 open-label extension study. *Int J Cardiol*. 2008;127(1):27-32.
35. Hascoet S, Fournier E, Jais X, Le Gloan L, Dauphin C, Houeijeh A, et al. Outcome of adults with Eisenmenger syndrome treated with drugs specific to pulmonary arterial hypertension: a French multicentre study. *Arch Cardiovasc Dis*. 2017;110(5):303-16.
36. Chau EM, Fan KY, Chow WH. Effects of chronic sildenafil in patients with Eisenmenger syndrome versus idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol*. 2007;120:301-5.
37. Mukhopadhyay S, Nathani S, Yusuf J, Shrimal D, Tyagi S. Clinical efficacy of phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil in Eisenmenger syndrome – A

- randomized, placebo-controlled, double-blind crossover study. *Congenit Heart Dis.* 2011;6:424-31.
38. Garg N, Sharma MK, Sinha N. Role of oral sildenafil in severe pulmonary arterial hypertension: clinical efficacy and dose response relationship. *Int J Cardiol.* 2007;120:306-13.
39. Singh TP, Rohit M, Grover A, Malhotra S, Vijayvergiya R. A randomized placebo-controlled, double-blind, crossover study to evaluate the efficacy of oral sildenafil therapy in severe pulmonary artery hypertension. *Am Heart J.* 2006;151:851.e1-5.
40. Mukhopadhyay S, Sharma M, Ramakrishnan S, Yusuf J, Gupta MD, Bhamri N, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitor in Eisenmenger syndrome: a preliminary observational study. *Circulation.* 2006;114:1807-10.
41. Tay EL, Geok-Mui MK, Poh-Hoon MC, Yip J. Sustained benefit of tadalafil in patients with pulmonary arterial hypertension with prior response to sildenafil: a case series of 12 patients. *Int J Cardiol.* 2008;125(3):416-7.
42. Ghofrani HA, Voswinckel R, Reichenberger F, Olschewski H, Haredza P, Karadaş B, et al. Differences in hemodynamic and oxygenation responses to three different phosphodiesterase-5 inhibitors in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(7):1488-96.
43. Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation.* 2004;109(2):159-65.
44. Galiè N, Grigioni F, Bacchi-Reggiani L, Ussia GP, Parlangeli R, Catanzariti P, et al. Relationship of endothelin-1 to survival in patients with primary

- pulmonary hypertension. *Eur J Clin Invest.* 1996;26(Suppl 1):A48 (Abstract).
45. Lopes AA, Maeda NY, Gonçalves RC, Bydlowski SP. Endothelial cell dysfunction correlates differentially with survival in primary and secondary pulmonary hypertension. *Am Heart J.* 2000;139:618-23.
 46. Kawut SM, Horn EM, Berekashvili KK, Widlitz AC, Rosenzweig EB, Barst RJ. von Willebrand factor independently predicts long-term survival in patients with pulmonary arterial hypertension. *Chest.* 2005;128:2355-62.
 47. Biomarker Definition Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
 48. Cracowski JL and Leutche HH. The potential of biomarkers in pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiol.* 2012;110[suppl]:32S-8S.
 49. Pezzuto B, Badagliacca R, Poscia R, Ghio S, D'Alto M, Vitulo P, et al. Circulating biomarkers in pulmonary arterial hypertension: update and future direction. *J Heart Lung Transplant.* 2015;34:282-305.
 50. Pullamsetti S, Kiss L, Ghofrani HA, Voswinckel R, Haredza P, Klepetko W, et al. Increased levels and reduced catabolism of asymmetric and symmetric dimethylarginines in pulmonary hypertension. *FASEB J.* 2005;19:1175–7.
 51. Kielstein JT, Bode-Boger SM, Hesse G, Martens-Lobenhoffer J, Takacs A, Fliser D, et al. Asymmetrical dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1414–8.
 52. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, Frolich JC, et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition

- with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation*. 2004;109:172–7.
53. Kumpers P, Nickel N, Lukasz A, Golpon H, Westerkamp V, Olsson KM, et al. Circulating angiopoietins in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2010;31:2291–300.
54. Rubens C, Ewert R, Halank M, Wensel R, Orzechowski HD, Schultheiss HP, et al. Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated with the severity of primary pulmonary hypertension. *Chest*. 2001;120:1562–9.
55. Quarck R, Nawrot T, Meyns B, Delcroix M. C-reactive protein: a new predictor of adverse outcome in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:1211–8.
56. Balabanian K, Foussat A, Dorfmueller P, Durand-Gasselín I, Capel F, Bouchet-Delbos L, et al. CX(3)C chemokine fractalkine in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:1419–25.
57. Dorfmueller P, Zarka V, Durand-Gasselín I, Monti G, Balabanian K, Garcia G, et al. Chemokine RANTES in severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:534–9.
58. Humbert M, Monti G, Brenot F, Sitbon O, Portier A, Grangeot-Keros L, et al. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;151:1628–31.
59. Nickel N, Golpon H, Greer M, Knudsen L, Olsson K, Westerkamp V, et al. The prognostic impact of follow-up assessments in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*. 2012;39:589–96.

60. Fritz JS, Blair C, Oudiz RJ, Dufton C, Olschewski H, Despain D, et al. Baseline and follow-up 6-min walk distance and brain natriuretic peptide predict 2-year mortality in pulmonary arterial hypertension. *Chest*. 2013;143:315–23.
61. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, et al. Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation*. 2000;102:865–70.
62. Leuchte HH, El NM, Tuerpe JC, Hartmann B, Baumgartner RA, Vogeser M, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and renal insufficiency as predictors of mortality in pulmonary hypertension. *Chest*. 2007;131:402–9.
63. Fijalkowska A, Kurzyna M, Torbicki A, Szewczyk G, Florczyk M, Pruszczyk P, et al. Serum N-terminal brain natriuretic peptide as a prognostic parameter in patients with pulmonary hypertension. *Chest*. 2006;129:1313–21.
64. Torbicki A, Kurzyna M, Kuca P, Fijalkowska A, Sikora J, Florczyk M, et al. Detectable serum cardiac troponin T as a marker of poor prognosis among patients with chronic precapillary pulmonary hypertension. *Circulation*. 2003;108:844–8.
65. Hoepfer MM, Pletz MW, Golpon H, Welte T. Prognostic value of blood gas analyses in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*. 2007;29:944–50.
66. Nickel N, Kempf T, Tapken H, Tongers J, Laenger F, Lehmann U, et al. Growth differentiation factor-15 in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178:534–41.

67. Nagaya N, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Nakanishi N, et al. Serum uric acid levels correlate with the severity and the mortality of primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:487–92.
68. Lorenzen JM, Nickel N, Kramer R, Golpon H, Westerkamp V, Olsson KM, et al. Osteopontin in patients with idiopathic pulmonary hypertension. *Chest.* 2011;139:1010–7.
69. McGoon MD, Benza RL, Subias PE, Jiang X, Miller DP, Peacock AJ, et al. Pulmonary arterial hypertension. Epidemiology and registries. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62:D51-9.
70. Reardon LC, Williams BS, Houser LS, Miner PD, Child JS, Aboulhosn JA. Usefulness of serum brain natriuretic peptide to predict adverse events in patients with Eisenmenger syndrome. *Am J Cardiol.* 2012;110:1523-6.
71. Barst RJ, Ivy DD, Foreman AJ, McGoon MD, Rosenzweig EB. Four- and seven-year outcomes of patients with congenital heart disease-associated pulmonary arterial hypertension (from the REVEAL Registry). *Am J Cardiol.* 2014;113:147-55.
72. Frantz RP, Farber HW, Badesch DB, Elliott CG, Frost AE, McGoon MD et al. Baseline and serial brain natriuretic peptide level predicts 5-year overall survival in patients with pulmonary arterial hypertension: data from the REVEAL registry. *Chest.* 2018;pii:S0012-3692(18)30081-3.
73. Sakamaki F, Kyotani S, Nagaya N, Sato N, Oya H, Satoh T et al. Increased plasma P-selectin and decreased thrombomodulin in pulmonary arterial hypertension were improved by continuous prostacyclin therapy. *Circulation.* 2000;102:2720-5.

74. Barreto AC, Maeda NY, Soares RPS, Cicero C, Lopes AA. Rosuvastatin and vascular dysfunction markers in pulmonary arterial hypertension: a placebo-controlled study. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(8):657-63.
75. Lopes AA, Maeda NY, Bydlowski SP. Abnormalities in circulating von Willebrand factor and survival in pulmonary hypertension. *Am J Med.* 1998;105(1):21-6.
76. Lopes AA, Maeda NY. Circulating von Willebrand factor as a predictor of short-term prognosis in pulmonary hypertension. *Chest.* 1998;114:1276-82.
77. Lopes AA, Barreto AC, Maeda NY, Cícero C, Soares RPS, Bydlowski SP et al. Plasma von Willebrand factor as a predictor of survival in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease. *Braz J Med Biol Res.* 2011;44:1269-75.
78. Friedman R, Mears JG, Barst RJ. Continuous infusion of prostacyclin normalizes plasma markers of endothelial cell injury and platelet aggregation in primary pulmonary hypertension. *Circulation.* 1997;96:2782-4.
79. Ruggeri Z, Ware J. von Willebrand factor. *FASEB J.* 1993;7:308-16.
80. Tsai H, Nagel R, Hatcher V, Sussman I. Endothelial cell-derived high molecular weight von Willebrand factor is converted into the plasma multimer pattern by granulocyte proteases. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;158:980-5.
81. Ribes J, Francis C, Wagner D. Fibrin induces release of von Willebrand factor from endothelial cells. *J Clin Invest.* 1987;79:117-23.

82. Paleolog EM, Crossman DC, McVey JH, Pearson JD. Differential regulation by cytokines of constitutive and stimulated secretion of von Willebrand factor from endothelial cells. *Blood*. 1990;75:688-95.
83. Rabinovitch M, Andrew M, Thom H, Trusler GA, Williams WG, Rowe RD, et al. Abnormal endothelial factor VIII associated with pulmonary hypertension and congenital heart defects. *Circulation*. 1987;76:1043-52.
84. Lopes AA, Maeda NY, Aiello VD, Ebaid M, Bydlowski SP. Abnormal multimeric and oligomeric composition is associated with enhanced endothelial expression of von Willebrand factor in pulmonary hypertension. *Chest*. 1993;104:1455-60.
85. Welsh CH, Hassell KL, Badesch DB, Kressin DC, Marlar RA. Coagulation and fibrinolytic profiles in patients with severe pulmonary hypertension. *Chest*. 1996;110:710-7.
86. Foris V, Kovacs G, Tscherner M, Olschewski A, Olschewski H. Biomarkers in pulmonary hypertension. What do we know? *Chest*. 2013;144(1):274-83.
87. Stenberg PE, McEver RP, Shuman MA, Jacques YV, Bainton DF. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol*. 1985;101:880-6.
88. Dunlop LC, Skinner MP, Bendall LJ, Favalaro EJ, Castaldi PA, Gorman JJ et al. Characterization of GMP-140 (P-selectin) as a circulating plasma protein. *J Exp Med*. 1992;175:1147-50.
89. Katayama M, Handa M, Araki Y, Ambo H, Kawai Y, Watanabe K et al. Soluble P-selectin is present in normal circulation and its plasma level is

- elevated in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura and haemolytic uraemic syndrome. *Br J Haematol.* 1993;84(4):702-10.
90. Sakamaki F, Ishizaka A, Handa M, Fujishima S, Urano T, Sayama K et al. Soluble form of P-selectin in plasma is elevated in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(6):1821-6.
91. Davi G, Romano M, Mezzetti A, Procopio A, Iacobelli S, Antidormi T et al. Increased levels of soluble P-selectin in hypercholesterolemic patients. *Circulation.* 1998;97(10):953-7.
92. Cella G, Bellotto F, Tona F, Sbarai A, Mazzaro G, Motta G et al. Plasma markers of endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Chest.* 2001;120:1226-30.
93. Samson AL, Nevin ST, Croucher D, Niego B, Daniel PB, Weiss TW et al. Tissue-type plasminogen activator requires a co-receptor to enhance N-Methyl-D-Aspartate receptor function. *J Neurochem.* 2008;107(4):1091-101.
94. Zaheer Z, Robinson T, Mistri AK. Thrombolysis in acute ischaemic stroke: an update. *Ther Adv Chronic Dis.* 2011;2:119–31.
95. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem.* 1989;264(9):4743-6.
96. Dittman WA, Majerus PW. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant. *Blood.* 1990;75(2):329-36.
97. Takahashi H, Ito S, Hanano M, Wada K, Niwano H, Seki Y et al. Circulating thrombomodulin as a novel endothelial cell marker: comparison of its behavior with von Willebrand factor and tissue-type plasminogen activator. *Am J Hematol.* 1992;41:32-9.

98. Cacoub P, Karmochkine M, Dorent R, Nataf P, Piette JC, Godeau P et al. Plasma levels of thrombomodulin in pulmonary hypertension. *Am J Med.* 1996;101:160-4.
99. Kaplan KL, Owen J. Plasma levels of β -thromboglobulin and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo. *Blood.* 1981;54(2):199-202.
100. Zietkowski Z, Lukaszyc BA, Tomasiak MM, Skiepkowski R, Mroczko B, Szmitkowski M. Changes in RANTES and β -thromboglobulin after intensive exercise in patients with allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009;148:31-40.
101. Lip GY, Lip PL, Zarifis J, Watson RD, Bareford D, Lowe GD. Fibrin D-dimer and beta-thromboglobulin as markers of thrombogenesis and platelet activation in atrial fibrillation. Effects of introducing ultra-low-dose warfarin and aspirin. *Circulation.* 1996;94(3):425-31.
102. Caramurú LH, Soares RPS, Maeda NY, Lopes AA. Hypoxia and altered platelet behavior influence von Willebrand factor multimeric composition in secondary pulmonary hypertension. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2003;9(3):251-8.
103. Lannan KL, Phipps RP, White RJ. Thrombosis, platelets, microparticles and PAH: more than a clot. *Drug Discov Today.* 2014;19(8):1230-5.
104. Damas JK, Otterdal K, Yndestad A, Aass H, Solum NO, Froland SS et al. Soluble CD40 ligand in pulmonary arterial hypertension possible pathogenic role of the interaction between platelets and endothelial cells. *Circulation.* 2004;110:999-1005.
105. Clavé MM, Lopes AA. Alterações Endoteliais na Hipertensão Pulmonar. Em: Luz PL, Libby P, Chagas ACP, Laurindo FRM. *Endotélio & Doenças*

Cardiovasculares - Biologia Vascular e Síndromes Clínicas. Rio de Janeiro: Atheneu; 2016. 463-76.

106. Benza RL , Miller DP , Gomberg-Maitland M , Frantz RP, Foreman AJ, Coffey CS, et al. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL). *Circulation*. 2010;122(2):164-72.
107. McLaughlin VV, Presberg KW, Doyle RL, Abman SH, McCrory DC, Fortin T, et al. American College of Chest Physicians. Prognosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2004;126(suppl 1):78S-92S .
108. Barst RJ, Chung L, Zamanian RT, Turner M, McGoon MD. Functional class improvement and 3-year survival outcomes in patients with pulmonary arterial hypertension in the REVEAL registry. *Chest*. 2013; 144(1):160-8.
109. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(1):111-7.
110. Farber HW, Miller DP, McGoon MD, Frost AE, Benton WW, Pharm D, Benza, RL. Predicting outcomes in pulmonary arterial hypertension based on the 6-minute walk distance. *J Heart Lung Transplant*. 2015;34(3):362-8.
111. Blumberg FC, Arzt M, Lange T, Schroll S, Pfeifer M, Wensel R. Impact of right ventricular reserve on exercise capacity and survival in patients with pulmonary hypertension. *Eur J Heart Fail*. 2013;15:771-5.

112. Bogaard HJ, Abe K, Vonk Noordegraaf A, Voelkel NF. The right ventricle under pressure: cellular and molecular mechanisms of right-heart failure in pulmonary hypertension. *Chest*. 2009;135(3):794–804.
113. Badano LP, Ghingina C, Easaw J, Muraru D, Grillo MT, Lancellotti P, et al. Right ventricle in pulmonary arterial hypertension: haemodynamics, structural changes, imaging, and proposal of a study protocol aimed to assess remodelling and treatment effects. *Eur J Echocardiogr*. 2010;11(1):27–37.
114. Miller D, Farah MG, Liner A, Fox K, Schluchter M, Hoit BD. The relation between quantitative right ventricular ejection fraction and indices of tricuspid annular motion and myocardial performance. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004;17(5):443–7.
115. Forfia PR, Fisher MR, Mathai SC, Houston-Harris T, Hemnes AR, Borlaug BA, et al. Tricuspid annular displacement predicts survival in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174(9):1034–41.
116. Tei C, Dujardin KS, Hodge DO, Bailey KR, McGoon MD, Tajik AJ, et al. Doppler echocardiographic index for assessment of global right ventricular function. *J Am Soc Echocardiogr*. 1996;9(6):838–47.
117. Yeo TC, Dujardin KS, Tei C, Mahoney DW, McGoon MD, Seward JB. Value of a Doppler-derived index combining systolic and diastolic time intervals in predicting outcome in primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol*. 1998;81(9):1157–61.
118. Grapsa I, Pavlopoulos H, Dawson D, Gibbs JS, Nihoyannopoulos P. Retrospective study of pulmonary hypertensive patients: is right ventricular

myocardial performance index a vital prognostic factor? *Hellenic J Cardiol.* 2007;48(3):152–60.

119. López-Candales A, Rajagopalan N, Saxena N, Gulyasy B, Edelman K, Bazaz R. Right ventricular systolic function is not the sole determinant of tricuspid annular motion. *Am J Cardiol.* 2006;98(7):973–7.
120. Ghio S, Klersy C, Magrini G, et al. Prognostic relevance of the echocardiographic assessment of right ventricular function in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol.* 2010;140(3):272–8.
121. Mocerri P, Dimopoulos K, Liodakis E, Germanakis I, Kempny A, Diller GP, et al. Echocardiographic predictors of outcome in Eisenmenger syndrome. *Circulation.* 2012;126:1461-8.
122. Diller GP, Dimopoulos K, Broberg CS, Kaya MG, Naghotra US, Uebing A et al. Presentation, survival prospects, and predictors of death in Eisenmenger syndrome: a combined retrospective and case-control study. *Eur Heart J.* 2006;27:1737-42.
123. van De Bruaene A, Delcroix M, Pasquet A, De Backer J, De Pauw M, Naeije R et al. Iron deficiency is associated with adverse outcome in Eisenmenger patients. *Eur Heart J.* 2011;32: 2790–9.
124. Barst RJ, McGoon M, Torbicki A, Sitbon O, Krowka MJ, Olschewski H et al. Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(12 Suppl S):40S-7S.
125. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of

Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015;28(1):1–39.

126. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010; 23: 685–713; quiz 786-8.
127. Borg G. Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med.* 1970;2(2):92-8.
128. Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care.* 1992;30(6):473-83.
129. Ciconelli RM, Ferraz MB, Santos W, Meinão I, Quaresma MR. Tradução para a língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). *Rev Bras Reumatol.* 1999;39:143-50.
130. Ware JE, Snow KK, Kosinski M, Gandek B. SF-36 health survey: manual and interpretation guide. Boston: The Health Institute; 1993. Chpt. 6, p.2-22.
131. Zhang ZN, Jiang X, Zhang R, Li XL, Wu BX, Zhao QH, et al. Oral sildenafil treatment for Eisenmenger syndrome: a prospective, open-label, multicenter study. *Heart.* 2011;97:1876-81.

132. Cícero C, Franchi SM, Barreto AC, Lopes AA. Lack of tight association between quality of life and exercise capacity in pulmonary arterial hypertension. *Arq Bras Cardiol.* 2012;99(4):876-85.
133. Lowenstein CJ, Morrell CN, Yamakuchi M. Regulation of Weibel-Palade body exocytosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2005;15(8):302-8.
134. Knipe L, Meli A, Hewlett L, Bierings R, Dempster J, Skehel P, et al. A revised model for the secretion of tPA and cytokines from cultured endothelial cells. *Blood.* 2010;116(12):2183-91.
135. Michiels C, Arnould T, Remacle J. Endothelial cell responses to hypoxia: Initiation of a cascade of cellular interactions. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1497(1):1-10.
136. Pinsky DJ, Naka Y, Liao H, Oz MC, Wagner DD, Mayadas TN et al. Hypoxia-induced exocytosis of endothelial cell Weibel-Palade bodies. A mechanism for rapid neutrophil recruitment after cardiac preservation. *J Clin Invest.* 1996;97(2):493-500.
137. Goerge T, Niemeyer A, Rogge P, Ossig R, Oberleithner H, Shneider SW. Secretion pores in human endothelial cells during acute hypoxia. *J Membr Biol.* 2002;187(3):203-11.
138. Polanowska-Grabowska R, Wallace K, Field JJ, Chen L, Marshall MA, Figler R, et al. P-selectin-mediated platelet-neutrophil aggregate formation activates neutrophils in mouse and human sickle cell disease. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(12):2392-9.
139. Padilla A, Moake JL, Bernardo A, Ball C, Wang Y, Arya M, et al. P-selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface. *Blood* 2004;103:2150-6.

140. Ogawa S, Gerlach H, Esposito C, Pasagian-Macaulay A, Brett J, Stern D. Hypoxia modulates the barrier and coagulant function of cultured bovine endothelium. Increased monolayer permeability and induction of procoagulant properties. *J Clin Invest.* 1990;85(4):1090-8.
141. Healy AM, Hancock WW, Christie PD, Rayburn HB, Rosenberg RD. Intravascular coagulation activation in a murine model of thrombomodulin deficiency: effects of lesion size, age, and hypoxia on fibrin deposition. *Blood.* 1998;92(11):4188-97.
142. Ito T, Kakihana Y, Maruyama I. Thrombomodulin as an intravascular safeguard against inflammatory and thrombotic diseases. *Expert Opin Ther Targets.* 2016;20(2):151-8.
143. Olivot JM, Estebanell E, Lafay M, Brohard B, Aiach M, Rendu F. Thrombomodulin prolongs thrombin-induced extracellular signal-regulated kinase phosphorylation and nuclear retention in endothelial cells. *Circ Res.* 2001;88(7):681-7.
144. Otterdal K, Pedersen TM, Solum NO. Release of soluble CD40 ligand after platelet activation: studies on the solubilization phase. *Thromb Res.* 2004;114(3):167-77.
145. Foresta C, De Toni L, Magagna S, Galan A, Garolla A. Phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil acts on endothelial progenitor cells by CXCR4 signalling. *Curr Drug Deliv.* 2010;7(4):274-82.
146. El-Sayed MI, Amin HA. Mechanism of endothelial cyto-protective and thrombo-resistance effects of sildenafil, vardenafil and tadalafil in male rabbit. *Arch Med Sci.* 2015;11(1):190-8.

147. Tsai BM, Turrentine MW, Sheridan BC, Wang M, Fiore AC, Brown JW, et al. Differential effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary artery cytokine expression. *Ann Thorac Surg.* 2006;81(1):272-8.
148. Morano S, Mandosi E, Fallarino M, Gatti A, Tiberti C, Sensi M, et al. Antioxidant treatment associated with sildenafil reduces monocyte activation and markers of endothelial damage in patients with diabetic erectile dysfunction: a double-blind, placebo-controlled study. *Eur Urol.* 2007;52(6):1768-74.
149. Wilson LS, Elbatarny HS, Crawley SW, Bennett BM, Maurice DH. Compartmentation and compartment-specific regulation of PDE5 by protein kinase G allows selective cGMP-mediated regulation of platelet functions. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105(36):13650-5.
150. Jensen AS, Broberg CS, Rydman R, Diller GP, Li W, Dimopoulos K, et al. Impaired right, left, or biventricular function and resting oxygen saturation are associated with mortality in Eisenmenger syndrome: a clinical and cardiovascular magnetic resonance study. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2015;8(12):e003596.

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU
RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME::.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº :SEXO: M F

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

ENDEREÇO

Nº APTO:

BAIRRO:.....CIDADE:.....

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

2.RESPONSÁVEL LEGAL

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

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº:.....SEXO: M F

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

ENDEREÇO:.....

Nº APTO:

BAIRRO:.....CIDADE:.....

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

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Estudo dos efeitos do uso crônico da tadalafila, independentemente e comparativamente à sildenafil, em portadores de hipertensão arterial pulmonar associada a cardiopatias congênitas em sua forma mais avançada (síndrome de Eisenmenger)

2. PESQUISADOR : Antonio Augusto Barbosa Lopes

CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente e Pesquisador da Unid.Clin. de Cardiol. Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 34143

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto do Coralão (InCor) – HC.FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	X	RISCO MÉDIO	<input type="checkbox"/>
RISCO BAIXO	<input type="checkbox"/>	RISCO MAIOR	<input type="checkbox"/>

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Estudo dos efeitos do uso crônico da tadalafila, independentemente e comparativamente à sildenafil, em portadores de hipertensão arterial pulmonar associada a cardiopatias congênitas em sua forma mais avançada (síndrome de Eisenmenger).

Nossa conversa é para convidar você a participar de um estudo que estamos realizando aqui no InCor, sobre o tratamento da doença que você tem, chamada Hipertensão Arterial Pulmonar, que significa pressão do sangue aumentada dentro dos pulmões. São poucos os medicamentos disponíveis no Brasil para o tratamento deste problema. Dois deles, a sildenafil e a tadalafila já se encontram no comércio, são muitos parecidos, com apenas uma diferença. A sildenafil é mais antiga, e você precisa tomar o medicamento três vezes durante o dia. A tadalafila é mais nova, e você toma apenas uma vez ao dia. Assim sendo, nós vamos reunir um grupo de pacientes com problema parecido com o seu. Alguns pacientes usarão a sildenafil, outros usarão a tadalafila. O estudo visa comparar os dois. No futuro, você poderá receber aquele que for mais conveniente. Algumas coisas importantes caso você aceite o convite para participar:

1. O medicamento (a sildenafil ou a tadalafila) será fornecido, você não precisará comprar. Ao término do estudo, você continuará como paciente do InCor, sendo tratado para a Hipertensão Arterial Pulmonar normalmente.
2. Sua participação é voluntária. Você não receberá nenhuma quantia em dinheiro para participar.
3. O estudo terá duração de seis meses. Durante esse período, você fará uma avaliação (consulta) inicial, e outras consultas posteriores depois de três meses e seis meses.
4. Os exames que serão feitos para verificarmos o efeito do tratamento, serão bem simples. Você fará testes de caminhada, no corredor do hospital, como você tem feito nas consultas. Além disso, pediremos para você responder algumas perguntas (um questionário) sobre sua qualidade de vida, isto é, suas atividades do dia a dia. Finalmente, coletaremos uma amostra de sangue da veia do braço, para medir algumas substâncias, no sangue, que estão relacionadas com a sua doença. Esses exames serão feitos antes do tratamento, e com três meses e seis meses de tratamento.
5. Não existem despesas que você precise pagar, nem para as consultas, nem para a realização dos exames.
6. Durante o tratamento, principalmente nos primeiros dias, você poderá ter algum desconforto, alguns sintomas relacionados ao medicamento, mas esses sintomas são muito raros. Por exemplo: dor de cabeça, dores no abdome, dores nos músculos das pernas, indisposição de estômago (náuseas), sensação de calor no corpo, sangramento nasal ou a visão

alterada das cores. Caso esses sintomas sejam discretos, você receberá remédios comuns, ou só observação até a melhora. Caso sejam persistentes, o tratamento será suspenso. O principal resultado positivo deste tratamento, se fizer efeito para você, é a melhora no cansaço durante as atividades do dia a dia (melhora na falta de ar).

7. Durante todo o curso do tratamento, plantonistas de nossa equipe estão à disposição por 24 horas em nosso pronto-socorro, a fim de esclarecer ou resolver problemas que porventura vierem a aparecer. O principal investigador é o Dr. Antonio Augusto Barbosa Lopes, que pode ser encontrado no endereço - Instituto do Coração (InCor), Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 44, Telefone (11) 2661-5000. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20 – e-mail: cappesq@hcnet.usp.br. Caso você não concorde em participar do estudo ou decida sair do mesmo, você continuará a ter acesso a todo o tratamento e acompanhamento médico que tem sido oferecido no Instituto do Coração, sem nenhum prejuízo.
8. Os resultados deste estudo serão analisados com dados de todos os pacientes incluídos. Todos terão direito a confidencialidade, e serão informados quanto ao andamento do estudo. Todos os resultados serão mantidos em sigilo, e serão utilizados exclusivamente com finalidade médica.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Estudo dos efeitos do uso crônico da tadalafila, independentemente e comparativamente à sildenafil, em portadores de hipertensão arterial pulmonar associada a cardiopatias congênitas em sua forma mais avançada (síndrome de Eisenmenger)”.

Eu discuti com o Dr. Antonio Augusto Barbosa Lopes sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

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

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO DO DOUTORADO

Manuscritos publicados

Maeda NY, **Clavé MM**, Bydlowski SP, Lopes AA. Decreased circulating thrombomodulin is improved by tadalafil therapy in hypoxemic patients with advanced pulmonary arterial hypertension. *Thrombosis Research*. 2016;146:15-9.

Zorzanelli L, Maeda NY, **Clavé MM**, Aiello VD, Rabinovitch M, Lopes AA. Serum Cytokines in Young Pediatric Patients with Congenital Cardiac Shunts and Altered Pulmonary Hemodynamics. *Mediators of inflammation*. 2016;2016:1-9.

Zorzanelli L, Maeda NY, **Clavé MM**, Thomaz AM, Galas F, Rabinovitch M, Lopes AA. Relation of cytokine profile to clinical and hemodynamic features in young patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *American Journal of Cardiology*. 2017;119:119-125.

Clavé MM, Maeda NY, Castro CRP, Bydlowski SP, Lopes AA. Factors influencing outcomes in patients with Eisenmenger syndrome: a nine-year follow-up study. *Pulmonary Circulation*. 2017;7(3):1-8.

Manuscrito submetido

Clavé MM, Maeda NY, Thomaz AM, Bydlowski SP, Lopes AA. Phosphodiesterase type 5 inhibitors improve microvascular dysfunction markers in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease. *Clinical Research in Cardiology*. 2018.

Capítulo de livro

Clavé MM, Lopes AA. Alterações Endoteliais na Hipertensão Pulmonar. Em: Luz PL, Libby P, Chagas ACP, Laurindo FRM. *Endotélio & Doenças Cardiovasculares - Biologia Vascular e Síndromes Clínicas*. Rio de Janeiro: Atheneu; 2016. 463-76.

Participação em congressos

1. Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo – SOCESP – São Paulo, 2015:

Indicação para melhor pôster do congresso: **Clavé MM**, Maeda NY, Mesquita S, Miura N, Bydlowski SP, Lopes AA. Capacidade física e disfunção microvascular em comunicação interatrial não complicada e na síndrome de Eisenmenger: estudo comparativo em adultos.

Clavé MM, Penachio FM, Barreto AC, Miura N, Lopes AA. Como se comporta o desempenho físico em portadores da síndrome de Eisenmenger sob tratamento específico para hipertensão arterial pulmonar? Estudo em 3 anos.

2. 49th Annual Meeting of the Association for European Paediatric and Congenital Cardiology – Praga, 2015:

Thomaz AM, Zorzanelli L, **Clavé MM**, Castro CRP, Maeda NY, Lopes AA. Preoperative treatment of pulmonary hypertension in congenital heart disease associated with improvement in hemodynamics, oxygen saturation and circulating interleukin-6. *Cardiology in the Young*. 2015;25(Suppl 1):S118.

3. American Heart Association Scientific Sessions – Orlando, 2015:

Clavé MM, Maeda NY, Thomaz AM, Mesquita SM, Bydlowski SP, Lopes AA. Tadalafil therapy improves endothelial thrombomodulin in hypoxemic patients

with pulmonary arterial hypertension associated with the Eisenmenger syndrome. *Circulation*. 2015;132:A10323.

Maeda NY, **Clavé MM**, Mesquita SM, Bydlowski SP, Lopes AA. Effects of chronic treatment with the phosphodiesterase-5 inhibitors sildenafil and tadalafil on platelet aggregation in patients with Eisenmenger syndrome. *Circulation*. 2015;132:A10210.

Zorzanelli L, Maeda NY, **Clavé MM**, Thomaz AM, Rabinovitch M, Lopes AA. Circulating levels of MIF, GRO α and RANTES chemokines and Interleukin 17E correlate with severity of pulmonary hypertension in Young pediatric patients with congenital heart disease. *Circulation*. 2015;132:A10188.

4. Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo – SOCESP – São Paulo, 2017:

Clavé MM, Maeda NY, Castro CRP, Miura N, Bydlowski SP, Lopes AA. Fatores de prognóstico na hipertensão arterial pulmonar associada à síndrome de Eisenmenger: estudo prospectivo de nove anos de seguimento.

5. 7th World Congress of Pediatric Cardiology & Cardiac Surgery – Barcelona, 2017.

Thomaz AM, Zorzanelli L, **Clavé MM**, Maeda NY, Kajita LJ, Lopes AA. Preoperative administration of sildenafil to pediatric patients with congenital cardiac shunts and moderately elevated pulmonary vascular resistance.