

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA**

GABRIELA MOREIRA BALARINI

**AVALIAÇÃO DOS FATORES TRADICIONAIS E NÃO TRADICIONAIS
DE RISCO CARDIOVASCULAR NA SÍNDROME DE SJÖGREN**

**VITÓRIA
2015**

GABRIELA MOREIRA BALARINI

**AVALIAÇÃO DOS FATORES TRADICIONAIS E NÃO TRADICIONAIS
DE RISCO CARDIOVASCULAR NA SÍNDROME DE SJÖGREN**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Medicina do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Mestre.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Valéria Valim
Coorientadora: M^e. Érica Vieira Serrano

**VITÓRIA
2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

“Avaliação dos fatores tradicionais e não tradicionais de risco cardiovascular na
Síndrome de Sjögren”

Gabriela Moreira Balarini

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da
Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Medicina.

Aprovada por:

Valim

Prof.^a Dr.^a Valéria Valim Cristo (UFES)

Orientadora

José Geraldo Mill

Prof. Dr. José Geraldo Mill (UFES)

Membro Interno

Gilda Aparecida Ferreira

Prof.^a Dr.^a Gilda Aparecida Ferreira (UFMG)

Membro Externo

Vitória/ES, 19 de outubro de 2015.

AGRADECIMENTOS

São muitas as pessoas que fizeram parte, direta e indiretamente, da realização deste projeto. No início, era um sonho e uma emoção dizer “sim” a uma missão desafiadora e curiosa. Foi preciso muito planejamento, estudo, dedicação, discussão, revisão e, sobretudo, disciplina e responsabilidade para sair do papel este incrível projeto.

Agradeço a Deus por me permitir mais esta conquista, por mostrar que os obstáculos nada mais são do que pontes para o sucesso, por me manter com saúde e energia para finalizar esta pesquisa e por me dar de presente pessoas maravilhosas que me auxiliaram na obtenção de mais este título.

Aos meus pais, incentivadores incansáveis dos meus estudos e torcedores enérgicos da minha conquista, que entenderam minha ausência em muitas ocasiões familiares para me dedicar a planilhas, artigos, e-mails...e hoje, seus olhares orgulhosos me transmitem paz e alegria, na certeza de que tudo valeu a pena! Ao meu noivo e futuro esposo que, sem dúvida, teve dupla participação neste projeto: a primeira e principal, como ouvinte e acolhedor nos momentos de tensão e desgaste físico-psicológico e, a segunda, como meu cardiologista particular, auxiliando no entendimento e na interpretação dos consensos e das diretrizes da sua bela especialidade. Ao meu irmão e à minha cunhada, pela vibrante torcida e cooperação.

Aos pacientes e voluntários desta pesquisa. Sem vocês, este projeto nunca seria uma Dissertação de Mestrado! Agradeço por permitirem que, através de vocês, uma hipótese se confirmasse e, diante disso, outras pessoas se beneficiassem com mais saúde e melhor tratamento médico.

Agradeço aos amigos de trabalho: médicos (reumatologistas, residentes e não reumatologistas), enfermeiros e membros da administração da Casa 6 do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) que, por vezes, compreenderam minha ausência para realização das coletas e me incentivaram a finalizar esta pesquisa. Agradecimento especial a Cláudia, Marcilene, Marcelly e Patrícia que, com extrema boa vontade e paciência, me ajudaram na solicitação de incontáveis prontuários, além de auxiliarem na organização dos mutirões de coleta e identificação dos materiais.

Agradeço a todos que deram sua contribuição, de alguma forma, na operacionalização dessa Dissertação, como Maria de Fátima, bióloga do Laboratório/HUCAM; Mara, uma recepcionista como poucas, do Laboratório de Análises Clínicas/HUCAM, pela simpatia e pela impressão cuidadosa dos resultados dos exames; as enfermeiras Adriana e Priscila, a técnica de enfermagem Karila da Casa 6 e ao interno João Felipe, pela dedicação e pelo auxílio no preenchimento meticuloso das planilhas no Excel.

Ao laboratório de pesquisas *Broegelman*, na Universidade da Noruega, em nome de Roland Jonsson, Karl Albert e Piotr Mateusz Mydel, pela contribuição nas análises e realização dos testes das citocinas e, também, a Eva Gerdts, Johan G. Brun, Hilde H. Nordal, seus colaboradores.

Ao setor de Radiologia do HUCAM, em especial ao Dr. Rodrigo Mol, por disponibilizar os horários para realização dos testes e o aparelho de ultrassonografia de elevado padrão; também à Dr^a. Cléia, por abraçar o projeto e não medir esforços para a realização de todos os exames com muita competência e dedicação interestadual. Às enfermeiras Carla e Ivanice e aos recepcionistas da Radiologia, por me auxiliarem na organização dos pacientes nos dias dos exames.

Aos meus colegas de turma de Mestrado, em especial a Adalberta, Laiza e Meirielli, agradeço pelo tempo, pelas dúvidas e alegrias que partilhamos e pelo incentivo mútuo nos momentos de desânimo.

Agradeço à reumatologista e amiga Dr^a. Érica Vieira Serrano, pelos conselhos que transcendem a execução da Dissertação, pelas sugestões de correção e pela motivação diária ao longo desses dois anos de Residência e Mestrado.

Por fim, à minha grande incentivadora e orientadora sem limites, Prof^a. Dr^a. Valéria Valim, que acreditou e confiou-me a execução de um projeto com proporções grandiosas, equivalentes ao impacto social e acadêmico do qual suspeitávamos desde o início. Agradeço também pelas sugestões construtivas, pelo convívio e aprendizado com os quais pude contar por meio de seu elevado nível técnico e de sua amizade.

RESUMO

Introdução: Pacientes com a síndrome de Sjögren primária (SSp) apresentam maior prevalência de alguns fatores tradicionais de risco cardiovascular, mas a relação entre placa de aterosclerose carotídea e fatores tradicionais e não tradicionais de risco é pouco estudada. **Objetivo:** Identificar a associação da placa de aterosclerose carotídea com os fatores de risco tradicionais, características da doença, perfil de citocinas e calprotectina em pacientes com a SSp. **Métodos:** Estudo transversal controlado, sendo 63 pacientes com a SSp e 63 controles saudáveis voluntários pareados por sexo e idade, submetidos à avaliação clínica, laboratorial e ultrassonográfica de carótidas. As variáveis de placa de aterosclerose carotídea foram identificadas em análise de regressão univariada e multivariada. **Resultados:** Os pacientes com a SSp tiveram maior frequência de aterosclerose carotídea (13% vs. 2%; $p < 0,05$). A calprotectina, o receptor 2 para o fator de necrose tumoral (TNF-R2), o *Hepatocyte Growth Factor* (HGF), a *Chemokine (C-C motif) Ligand 2* (CCL-2) e a adiponectina foram mais elevados nos pacientes. Nas análises univariadas, a calprotectina, a maioria dos fatores tradicionais de risco cardiovasculares (idade, sexo masculino, síndrome metabólica (SM), hipertensão arterial, hipertrigliceridemia e creatinina sérica) e alguns fatores de risco associados à doença (uso de glicocorticoide e de substituto salivar e, ESSDAI) foram associados com um risco mais elevado para placa. Numa análise multivariada, a SSp foi fator de risco para a placa de aterosclerose carotídea, independente de fatores tradicionais de risco (OR= 28,76, [95% intervalo de confiança 1,69-490,19], $p=0,02$). A calprotectina sérica foi fator de risco para placa de aterosclerose carotídea, independente da creatinina sérica e hipertensão (OR = 1,001 [95% intervalo de confiança 1,0001-1,001], $p = 0,02$). **Conclusões:** Pacientes com a SSp têm maior prevalência de placa de aterosclerose carotídea, que é modulada por fatores tradicionais mais elevados de risco cardiovascular, uso de glicocorticoide, atividade de doença e calprotectina. A calprotectina é um biomarcador de aterosclerose subclínica na SSp. **Palavras chaves:** Síndrome de Sjögren primária. Risco cardiovascular. Placa de aterosclerose carotídea. Citocinas.

ABSTRACT

Introduction: Patients with primary Sjögren's syndrome (pSS) have increased prevalence of some traditional cardiovascular risk, but the carotid atherosclerosis plaque and its correlation with traditional and non traditional risk are not fully understood. **Objective:** To identify the association of carotid atherosclerosis plaque with the traditional cardiovascular risk, disease characteristics, cytokine profile and calprotectin in pSS. **Methods:** Cross-sectional study with healthy control group including 63 pSS patients and 63 controls volunteers underwent clinical, laboratory and ultrasound of carotid arteries. The carotid atherosclerosis plaque variables were identified in univariate and multivariate regression analysis. **Results:** Patients with pSS had a higher frequency of carotid atherosclerosis plaque (13% vs. 2%; $p < 0.05$). Calprotectin, tumoral necrosis factor receptor 2 (TNF-R2), hepatocyte growth factor (HGF), Chemokine (C-C motif) Ligand 2 (CCL-2) and adiponectin than controls. In univariate analyses, calprotectin, the most traditional cardiovascular (age, male sex, metabolic syndrome, hypertension, hypertriglyceridemia, and serum creatinine), and some disease-associated risk factors (glucocorticoid, saliva substitute use and ESSDAI) were associated with a higher risk for plaque. In a multivariate analysis, having SS was risk factor for atherosclerosis plaque independent of traditional risk factors (OR= 28.76, [95% confidence interval 1.69-490.19], $p=0.02$). Higher serum calprotectin was the only biomarker associated with carotid atherosclerosis plaque independent of creatinine and hypertension (OR=1.001 [95% CI 1.0001-1.001], $p=0.023$). **Conclusion:** Patients with pSS have higher prevalence of carotid atherosclerosis, which are modulated by higher traditional cardiovascular risk, glucocorticoid use, disease activity and calprotectin. Calprotectin is a biomarker of subclinical atherosclerosis in pSS.

Key words: primary Sjögren's syndrome. Cardiovascular risk. Carotid atherosclerosis plaque. Cytokines.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características gerais da população estudada	28
Tabela 2 - Fatores de risco cardiovascular para placa de aterosclerose carotídea em SSp e controles	30
Tabela 3 - Fatores de risco para placa de aterosclerose carotídea em SSp após ajuste para idade, hipertrigliceridemia, hipertensão arterial e nível de creatinina	31
Tabela 4 - Fatores associados à placa de aterosclerose carotídea em SSp.....	32
Tabela 5 - Comparação de biomarcadores de inflamação entre pacientes e controles e sua relação com calprotectina	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- ADMA** – *Asymmetric Dymethyl Arginine*
- AECA** – *Anti-endothelial Cell Antibody*
- AECG** – *American-European Consensus Group*
- AINH** – Anti-inflamatório Não Hormonal
- Anti-Hsp60** – *Heat-shock Protein 60*
- Anti-Hsp65** – *Heat-shock Protein 65*
- Anti-La** – Anti-La-SSB
- Anti-Ro** – Anti-Ro-SSA
- Anti-oxi-LDL** – Anticorpos anti-lipídios oxidados
- AR** – Artrite Reumatoide
- BAFF** – *B-cell Activating Factor*
- BGSL** – Biopsia de glândula salivar labial
- CCL2** – *Chemokine (C-C motif) Ligand 2*
- CCL3** – *Chemokine (C-C motif) Ligand 3*
- CEP** – Comitê de Ética em Pesquisa
- DCV** – Doença Cardiovascular
- DM** – Diabetes Mellitus
- ESSDAI** – *EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index*
- ESSPRI** – *EULAR Sjogren's Syndrome Patient Reported Index*
- EULAR** – *European League Against Rheumatism*
- FAN** – Fator Antinúcleo
- FMV** – *Flow-mediated vasodilation*
- FR** – Fator Reumatoide
- g** – Força Gravitacional
- GC** – *Germinal-like Centre*
- Glut4** – Transportador de glicose insulino-sensível no músculo e tecido adiposo
- HAS** – Hipertensão Arterial Sistêmica
- HDL** – Lipoproteína de Alta Densidade
- HGF** – *Hepatocyte Growth Factor*
- HUCAM** – Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes
- IL6** – Interleucina 6

IL12 – Interleucina 12
IL18 – Interleucina 18
IL-1 β – Interleucina 1 Beta
IMC – Índice de Massa Corporal
IMT – Espessura do complexo médio-intimal
ITB – Índice Tornozelo-Braquial
LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade
LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico
MRP – *Myeloid-related Proteins*
NMV – *Nitrate-mediated Vasodilation*
PAD – Pressão Arterial Diastólica
PAI-1 – *Plasminogen Activator Inhibitor-1*
PAS – Pressão Arterial Sistólica
PCR-us – Proteína C reativa ultrassensível
RAGE – *Receptors of Advanced Glycation end Products*
SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SS – Síndrome de Sjögren
SSp – Síndrome de Sjögren primária
sTM – *s-Thrombomodulin*
UFES – Universidade Federal do Espírito Santo
VCAM-1– *Vascular Cell Adhesion Molecule-1*
VHS – Velocidade de Hemossedimentação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1. SÍNDROME DE SJÖGREN: DEFINIÇÃO, ETIOPATOGENESE, EPIDEMIOLOGIA, CLÍNICA E TRATAMENTO	12
1.2 RISCO CARDIOVASCULAR E ATEROSCLEROSE NA SÍNDROME DE SJÖGREN.....	15
1.3 BIOMARCADORES DE ATEROSCLEROSE NA SÍNDROME DE SJÖGREN ...	17
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 METODOLOGIA	22
3.1 TIPO DE ESTUDO E CASUÍSTICA	22
3.2 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE DE DOENÇA	22
3.3 AVALIAÇÃO DE CITOCINAS/ BIOMARCADORES	23
3.4 AVALIAÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR	23
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4 RESULTADOS	27
5 DISCUSSÃO	34
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO A – CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DO <i>AMERICAN-EUROPEAN CONSENSUS GROUP (AECG)</i> PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DE SJÖGREN	48
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	50
ANEXO C – ESSDAI	52
ANEXO D – ESSPRI	57
ANEXO E – FATORES DE RISCO PARA DOENÇA ARTERIAL CRÔNICA ATEROSCLERÓTICA E DE EVENTOS CARDIOVASCULARES ATEROSCLERÓTICOS	58
ANEXO F – ESCORE DE RISCO GLOBAL	59

ANEXO G – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO CEP	60
ANEXO H – FICHA CADASTRAL PARA COLETA DE DADOS	63
ANEXO I – ARTIGO SUBMETIDO	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 SÍNDROME DE SJÖGREN: DEFINIÇÃO, ETIOPATOGENESE, EPIDEMIOLOGIA, CLÍNICA E TRATAMENTO

A síndrome de Sjögren (SS) pode ser definida como uma doença inflamatória crônica, autoimune, de evolução lenta e progressiva, caracterizada por um infiltrado linfocitário que acomete o epitélio de glândulas exócrinas, principalmente as salivares e lacrimais, e causa uma diminuição da produção de lágrima e saliva. Além das manifestações glandulares, apresenta manifestações extraglandulares que permitem classificar a SS como uma doença sistêmica^{1,2}.

É a segunda doença reumática autoimune mais frequente. Sua prevalência é em torno de 0,5%^{3,4}. No Brasil, estudo evidenciou uma prevalência de SS de 0,17 % em Vitória, Espírito Santo⁵. A SS é mais comum no sexo feminino, em uma relação 9:1, com pico de incidência na perimenopausa, entre 40 e 60 anos⁶.

O acometimento glandular provoca manifestações clínicas de secura oral (xerostomia), secura ocular (xeroftalmia), ceratoconjuntivite seca e aumento de glândula parótida. A xeroftalmia pode manifestar-se como sensação de areia nos olhos, prurido, dor ocular ou vermelhidão. A irritação crônica e a destruição do epitélio conjuntival bulbar e corneano caracterizam a ceratoconjuntivite seca^{7,8}.

A secura pode ocorrer em outros sistemas ou órgãos, como respiratório, genitourinário e pele. A hipofunção de glândulas mucosas do trato respiratório superior e inferior ocasiona secura nasal, orofaringiana e traqueal (xerotraqueia), com tosse seca persistente. A secura genital é representada pela vaginite seca, com irritação, prurido e dor durante relação sexual (dispareunia). Diminuição das secreções das glândulas exócrinas da pele leva à pele seca (xerodermia) e ao prurido cutâneo^{7,9}.

As manifestações extraglandulares da doença podem ocorrer em mais da metade dos pacientes e surgem de forma inespecífica, com sintomas constitucionais, tais como fadiga, febre, perda de apetite e de peso. Podem vir acompanhadas de manifestações sistêmicas como: artralgias, artrites, vasculite cutânea, púrpuras, úlceras cutâneas, fenômeno de *Raynaud*, neuropatia periférica e central, vasculite de sistema nervoso,

glomerulopatia, acidose tubular renal, insuficiência renal, miopatia autoimune, atrofia gástrica, pancreatite autoimune, derrame pleural, doença pulmonar intersticial, pseudolinfoma, alveolite linfocítica, leucopenia, anemia hemolítica, plaquetopenia, linfonodomegalias, linfoma, entre outras^{10,11}.

Os sintomas da SS são diversificados, considerados vagos, de naturezas distintas e nem sempre concomitantes, sendo assim freqüentemente subdiagnosticados. Conseqüentemente, o intervalo entre o início dos sintomas da SS e seu diagnóstico é geralmente longo, demorando em média dez anos¹³.

A SS pode ocorrer isoladamente, chamada de Síndrome de Sjögren primária (SSp), ou associada a outra doença autoimune sistêmica (forma secundária), especialmente à artrite reumatoide (AR), ao lúpus eritematoso sistêmico (LES), à esclerose sistêmica, às vasculites e à polimiosite⁸.

A etiologia da doença não está totalmente esclarecida, entretanto vários fatores genéticos, infecciosos e autoimunes podem estar envolvidos na patogênese da SS. Evidências apontam para uma interface entre fatores ambientais e genéticos, sendo citado, na literatura, que infecções virais funcionam como gatilho para a ativação crônica do sistema imune. Os agentes infecciosos mais estudados para indução e manutenção desse processo são: o vírus *Epstein-Barr*, o vírus da hepatite C, HTLV 1 (*Human T leukemia vírus 1*) e o *Coxsackievirus*^{14,15}.

Em pacientes com a SS a ativação de células B é um achado consistente, ocorrendo invasão e destruição de tecidos de órgãos alvos por infiltrado linfocítico de células B e T. As células B produzem imunoglobulinas locais, principalmente IgG, e autoanticorpos órgãos-específicos contra antígenos celulares de ductos salivares, glândula tireoide, mucosa gástrica, eritrócitos, pâncreas, próstata e nervo periférico. Autoanticorpos não órgãos-específicos são achados em aproximadamente 60% dos pacientes com SS e incluem fator reumatoide (FR), fator antinúcleo (FAN) e anticorpos contra os complexos Ro/SS-A e La/SS-B^{7,10}.

A análise histopatológica da glândula salivar menor através de biópsia em mucosa labial é considerada o padrão ouro para o diagnóstico da doença e deve conter um ou mais foco-escore, definido como um infiltrado linfocitário² com mais de 50 células mononucleares em uma área de 4 mm².

O Critério Classificatório Europeu-Americano para diagnóstico da SS visa eliminar as possibilidades de diagnósticos diferenciais e documentar os elementos chave da doença, como a inflamação crônica e a autoimunidade². Ele foi criado por um Grupo Americano-Europeu de estudos de SS e possui sensibilidade de 96,1% e especificidade de 94,2%. Avalia seis itens da doença: a) queixa de secura oral; b) queixa de secura ocular; c) secura ocular confirmada por teste objetivo (teste de *Schirmer I* ou teste de Rosa Bengala); d) secura oral confirmada por teste objetivo (fluxo salivar não estimulado, sialografia de parótidas ou cintilografia de glândulas salivares); e) presença de anticorpos anti-Ro ou anti-La; f) biópsia de glândula salivar menor com um ou mais foco-escore de infiltrado linfocitário. É classificado como SS quando o indivíduo possui quatro dos seis critérios acima, desde que um deles seja obrigatoriamente a presença dos autoanticorpos anti-Ro ou anti-La ou da biópsia salivar positiva². Ou ainda, quando o indivíduo apresenta três dos quatro critérios objetivos (itens c, d, e, f). Devem ser excluídos indivíduos com sarcoidose, linfoma primário pré-existente, infecção por vírus da hepatite C, HIV e HTLV, tratamento de radiação de cabeça e pescoço no passado, doença enxerto *versus* hospedeiro e utilização prévia de fármacos anticolinérgicos por tempo menor que quatro vezes a meia vida da droga. Esses critérios estão sendo revisados e um novo consenso Americano-Europeu será proposto em breve, a partir da base de dados do projeto SICCA (Aliança Clínica de Colaboração Internacional de Sjögren), financiado pelo *National Institutes of Health* (NIH), para revisão dos atuais critérios⁸⁶.

Apesar de alguns avanços no entendimento da fisiopatogênese da doença, o tratamento de pacientes com a SS é primariamente paliativo e direcionado especialmente aos sintomas de secura¹⁷⁻²². Drogas imunomoduladoras são usadas empiricamente nas manifestações sistêmicas, pois não existe bom nível de evidência para nortear o seu uso^{11,23,95}.

A atividade de doença pode ser medida pelo EULAR *Sjögren's Syndrome Disease Activity Index* (ESSDAI)^{28,29} (ANEXO C) e por marcadores bioquímicos da via da inflamação^{25,26}. Em pesquisas também utiliza-se elevação de citocinas pró-inflamatórias, tais como Interferon (IFN) α e γ , fator de necrose tumoral (TNF) α , interleucina (IL-12 e IL-18), quimiocinas, IL-6 e *B-cell Activating Factor* (BAFF)²⁷. O *Eular Sjögren's Syndrome Patient Reported Index* (ESSPRI)^{30,31} é utilizado na prática

clínica reumatológica para avaliação funcional e da qualidade de vida do paciente e, pode ser considerado um preditor de saúde em pacientes com a SSp.

1.2 RISCO CARDIOVASCULAR E ATEROSCLEROSE NA SÍNDROME DE SJÖGREN

A aterosclerose é uma doença importante e freqüente em todo o mundo. É a principal causa de morte em homens e mulheres na população em geral³³. Os pacientes com doença reumática autoimune têm maior risco para doença cardiovascular (DCV)^{16,94}. É bem descrito no lúpus eritematoso sistêmico (LES) e na artrite reumatóide (AR)^{34,35}, mas a literatura sobre a SSp ainda é escassa.

A síndrome metabólica (SM) engloba fatores de risco cardiovascular tradicionais, como obesidade abdominal, baixo HDL, hipertensão, hipertrigliceridemia e aumento na glicemia de jejum ou diabetes⁶⁴. Em pacientes com doenças reumatológicas crônicas, como o LES e a AR, esses fatores de risco encontram-se presentes.

A SSp compartilha características clínicas e sorológicas típicas da AR e do LES, o que fala a favor do seu envolvimento na incidência de doenças cardiovasculares. Contudo, na SSp, o curso da doença é mais indolente, com padrões inflamatórios mais brandos, porém persistentes, necessitando de menos corticoterapia, que também pode influenciar no perfil de risco cardiovascular⁴⁴. Semelhante à AR e ao LES³⁵, o risco encontrado para infarto do miocárdio³⁷ e acidente vascular cerebral isquêmico³⁶ e hemorrágico^{36,38} foi 2 vezes maior na SSp, comparado com a população em geral, entre os pacientes da Suécia hospitalizados por doença imune, mediada entre 1987 e 2008^{36,37}, e da Inglaterra, entre 1999 e 2011³⁸.

Estudos anteriores demonstraram dislipidemia com HDL baixo^{54,44,73} e hipertrigliceridemia^{42,45} associada a SSp. Numa grande série espanhola, que incluiu 624 pacientes, observou-se maior frequência de diabetes *mellitus* (27% *versus* 13%, $p < 0.001$) e hipertrigliceridemia (22% *versus* 15%, $p = 0.023$) em pacientes com a SSp. Curiosamente observaram menor frequência de hipertensão (30% *versus* 46%, $p < 0.001$) e de tabagismo (19% *versus* 31%, $p < 0.001$)⁴⁵, contrariando dados ingleses que observaram que pacientes com a SSp possuem 2 vezes maior prevalência de hipertensão e que ela é subdiagnosticada e subtratada na SSp⁴². Pacientes que receberam glicocorticoide tiveram maior frequência de HAS, dislipidemia e

hipertrigliceridemia⁴⁵. Nesse mesmo estudo, pacientes com a SSp e pelo menos 3 fatores de risco cardiovascular eram mais velhos, tinham mais envolvimento hepático, acometimento do sistema nervoso central e níveis elevados de PCR. Também, curiosamente, esses pacientes tinham menor frequência de gamaglobulinas e anti-Ro baixo.⁴⁵ As gamaglobulinas são marcadores de atividade de doença, mas uma queda em seus níveis pode indicar transformação para linfoma⁴⁵. Gerli e outros também encontraram associação entre anticorpos Anti-Ro/La e níveis mais baixos de HDL ($p < 0,03$)⁴⁴, reforçando uma associação entre dislipidemia e autoanticorpos SS-específicos.

Estudo de caso-controle avaliou a espessura médio-intimal (IMT) carotídea e femoral⁴⁶ e seus resultados mostraram que quase metade dos pacientes com a SSp tinham aterosclerose subclínica e que esse espessamento era mais presente em pacientes com anticorpos Anti-Ro e leucopenia. Estudo grego encontrou que a SSp foi fator de risco independente para aumento na IMT quando fatores tradicionais de risco cardiovascular como idade, sexo, hipertensão, LDL, HDL e tabagismo foram avaliados em análise multivariada⁹⁴ e não houve associação entre presença do anticorpo Anti-Ro e a IMT, porém linfopenia foi preditor para placa de aterosclerose carotídea. Outros estudos avaliaram a IMT, porém os resultados encontrados foram semelhantes entre os pacientes com a SSp e os controles^{62,63,96}.

A medida do índice tornozelo-braquial (ITB) é um reconhecido método de detecção de aterosclerose subclínica; a avaliação do ITB em pacientes com a SSp mostrou valor reduzido, porém não houve associação com fatores de risco tradicionais ou presença de Anti-Ro⁴⁷.

A rigidez aórtica, medida pela velocidade da onda de pulso, reflete a tensão mecânica e elasticidade na aorta, e é um fator de risco independente para doenças cardiovasculares e maior mortalidade⁴⁰. Foi observada correlação entre a rigidez aórtica e disfunção diastólica de ventrículo esquerdo em pacientes com a SSp, indicando que esse método pode ser um bom preditor de risco cardiovascular nesses pacientes⁸⁷. Outro estudo ecocardiográfico mostrou maior massa ventricular esquerda nos pacientes com a SSp sem manifestação clínica aparente⁸⁸.

Pirildar e outros demonstraram que a *Flow-mediated vasodilation* (FMV), mas não *Nitrate-mediated Vasodilation* (NMV), foi menor na SSp (N = 25) em comparação com

os controles (N = 29), indicando disfunção endotelial na SSp⁷⁸. De forma semelhante, outro estudo confirma que a FMV da artéria braquial foi menor em 35 pacientes com a SSp em comparação com 20 controles saudáveis pareados por idade e sexo, apesar de IMT similares entre os grupos⁶².

1.3 BIOMARCADORES DE ATEROSCLEROSE NA SÍNDROME DE SJÖGREN

A aterosclerose é caracterizada pela presença de placas ateroscleróticas nas artérias sistêmicas, as quais são formadas por depósitos de lipídios, juntamente com a infiltração de monócitos, neutrófilos e células T, envoltos pela capa fibrosa composta principalmente de colágeno produzido pelas células do músculo liso vascular. O recrutamento de células inflamatórias, em todas as fases da doença, é dirigido por quimiocinas, moléculas de adesão e os seus receptores^{90,91}. As quimiocinas são expressas por células endoteliais ativadas, células musculares lisas e leucócitos emigrados. Eles não só controlam a emigração, mas também desempenham uma função quimioatrativa que modulam a ativação e a homeostase celular⁹².

É descrito na literatura que os pacientes com doença arterial coronariana (DAC) teriam dispositivos para uma contínua migração de células do sangue periférico para o local da placa de ateroma, criando um ambiente inflamatório propenso ao desenvolvimento da lesão e influenciando na ruptura e no surgimento de eventos isquêmicos⁵⁷.

O envolvimento de citocinas inflamatórias na resistência à insulina é muito importante por duas razões. Primeiro, as citocinas fazem a ligação entre o tecido adiposo, uma fonte importante de citocinas inflamatórias em pacientes com obesidade abdominal, com a resistência à insulina e, conseqüentemente, à SM. Em segundo lugar, elas fornecem uma explicação plausível para a inter-relação entre doenças inflamatórias crônicas, como a SSp, e SM/Doenças cardiovasculares à resistência insulínica⁴⁸.

Assim como a SSp, a aterosclerose é considerada uma doença inflamatória e ambas compartilham citocinas pró-inflamatórias. É interessante observar que algumas citocinas e quimiocinas, tais como interleucina 1 β (IL-1 β), interferon- α (INF- α), *Chemokine (C-C motif) Ligand 3* (CCL3, antigamente conhecida como proteína

inflamatória de macrófagos-1 ou MIP-1), monocina induzido pelo interferon- γ ⁹³ e *Chemokine (C-C motif) Ligand 2* (CCL2, antigamente conhecida como proteína quimioatrativa de monócitos-1 ou MCP-1) associadas com o *Germinal-like Centre* (GC) atuam na SSp e, são também muito importantes no processo de aterosclerose⁹⁰. Existem outras citocinas pró-inflamatórias associadas com a aterosclerose subclínica na população em geral, tais como a interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e seus receptores (TNF-RI e TNF-RII)⁴⁹⁻⁵¹. Alguns estudos avaliaram os biomarcadores potencialmente importantes para a patogênese da aterosclerose na SSp, mas nenhum mostrou associação com aterosclerose subclínica. Foram observados maiores níveis de *Anti-endothelial Cell Antibody* (AECA), *s-Thrombomodulin* (sTM)⁵¹, *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1)⁷⁷, nitrosine⁵², *Asymmetric Dimethyl Arginine* (ADMA)⁵³ e a homocisteína⁵⁴. Por outro lado, verificou-se níveis normais de *Heat-shock Protein* (anti-Hsp60 e anti-Hsp65)⁵¹ e anticorpos antilipídios oxidados (anti-oxi-LDL) com resultados contraditórios em relação a homocisteína^{51,55}.

O *Hepatocyte Growth Factor* (HGF) é um fator de crescimento endotelial com potentes propriedades angiogênicas e mitogênicas e está associado a doenças cardiovasculares; o aumento dos seus níveis são encontrados na síndrome coronariana aguda e resistência à insulina⁸². O HGF pode influenciar na fibrinólise e aterosclerose, alterando a expressão do *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), que é o principal inibidor fisiológico da fibrinólise, conferindo risco trombótico⁸³. O PAI-1 é mais elevado em indivíduos com resistência à insulina e o tecido adiposo pode ser uma importante fonte de PAI-1 pelo excesso de gordura e inflamação subclínica⁸⁴.

Nas doenças reumatológicas autoimunes, o TNF- α pode induzir a resistência à insulina pela supressão da enzima Glut4 (transportador de glicose insulino-sensível no músculo e tecido adiposo), inibindo a autofosforilação do receptor de insulina. De forma semelhante, a IL-6 age inibindo a transdução do sinal de insulina aos hepatócitos, aumentando a resistência à insulina⁴⁸.

As adipocitocinas são um grupo de citocinas liberadas, principalmente, pelos adipócitos e participam de inúmeros processos fisiológicos no sistema imunológico, inflamatório, aterosclerótico, sensibilização de insulina, entre outros⁷¹. Destacam-se nesse grupo: a resistina, leptina e adiponectina.

A resistina recebe este nome pelo fato de conferir resistência à insulina e, têm sido atribuída a patogênese das complicações do diabetes bem como da própria doença. Seus efeitos cardiovasculares se direcionam de forma pró-inflamatória induzindo a expressão de moléculas de adesão vasculares aumentando a infiltração de leucócitos nos tecidos, principalmente no tecido adiposo, além de prejudicar a vasodilatação dependente de bradicinina³².

A leptina promove uma ligação interessante entre sistema imune e o *status* nutricional, como observado em humanos com deficiência nesta citocina que desenvolveram aumento no apetite, obesidade, hiperlipidemia, susceptibilidade à infecção, células T hiporresponsivas e hiperinsulinemia^{32,71}. No sistema imune atuam estimulando a proliferação e diferenciação de monócitos e conseqüentemente a liberação de citocinas inflamatórias como o TNF- α , IL-6 e CCL-2. E também, agem na imunidade adaptativa promovendo a proliferação e ativação de linfócitos T e indução da produção de citocinas Th1⁷¹. No sistema cardiovascular age de forma dúbia, como demonstrado em modelo animal que após infusão de leptina induziu agudamente isquemia cardíaca e numa fase mais tardia foi capaz de reduzir a área de infarto. Outras ações cardiovasculares são: promover disfunção endotelial e aumentar os níveis de pressão arterial³².

A adiponectina apresenta diversas atividades dependendo do receptor e peso molecular, por exemplo, adiponectina de baixo peso molecular, forma circulante plasmática mais comum em humanos, tem uma atividade anti-inflamatória, enquanto a de alto peso tem ação pró-inflamatória e é mais comumente encontrada no plasma^{32,71}. Existem 3 tipos de receptores identificados: receptor-1 presente na maioria das células, porém mais comumente encontrado em células musculares esqueléticas; receptor-2 abundantemente encontrado no fígado; e, a T-caderina expressa em vários tipos de células, incluindo as endoteliais vasculares e musculares lisas com efeito antiaterogênico¹⁰⁰. Outros papéis da adiponectina são: antidiabético e antiaterogênico⁷¹. A adiponectina é inversamente proporcional à obesidade e à resistência insulínica⁹⁷. Pouco sabemos da associação adiponectina e a SSp, porém é descrita sua expressão no epitélio da glândula salivar na SSp e seu valor sérico aumentado nesses pacientes⁸⁹. Em contraste com a obesidade, em doenças inflamatórias crônicas, como a AR e o LES, observou-se aumento nos níveis de adiponectina^{41,89,97}, enquanto dados *in vitro* com condrócitos e fibroblastos sinoviais

sugerem que a adiponectina pode exercer efeitos pró-inflamatórios, porém tais dados são controversos e ainda não totalmente compreendidos^{48,97}.

A calprotectina é um biomarcador com potencial papel na aterogênese da doença autoimune. É expressa e secretada principalmente por neutrófilos e se liga aos *Receptors of Advanced Glycation end Products* (RAGE) em células de músculo liso vascular, fagócitos mononucleares e células endoteliais, modulando a resposta inflamatória, por meio de codificação de citocinas pró-inflamatórias relacionadas com a aterosclerose, tais como IL-6, IL-1 β , e TNF- α , ativando o sistema inato e estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos. A calprotectina é um complexo protéico composto pelas proteínas S100A8 e S100A9, também referidas como *Myeloid-related Proteins* (MRP) tipos 8 e 14, associados com aumento de aterosclerose em estudos com animais⁹².

Existem poucos estudos que avaliaram associação de placa de aterosclerose carotídea com fatores de risco e biomarcadores na SSp. Sabemos que os fatores tradicionais de risco cardiovascular estão mais elevados na SSp, assim como no LES/AR, porém isto não é suficiente para explicar a aterosclerose precoce e acelerada nestes pacientes, por isso se faz necessário um estudo dos fatores tradicionais e não tradicionais de risco cardiovascular na SSp e suas correlações com os fatores de atividade da própria doença. Além disso, a identificação de aterosclerose subclínica e os fatores de risco associados na SSp são importantes para contribuir para uma melhor assistência médica, melhorar a qualidade de vida e morbimortalidade neste grupo de pacientes. O estudo de biomarcadores poderá ser relevante na identificação da aterosclerose subclínica e dos possíveis mecanismos associados ao aumento do risco cardiovascular na SSp.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a frequência de placa de aterosclerose carotídea e sua associação com fatores tradicionais e não tradicionais de risco cardiovascular em pacientes com a síndrome de Sjögren primária.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar se a SSp é um fator de risco para placa de aterosclerose carotídea independente de fatores de risco tradicionais;
- 2) Avaliar a associação de placa de aterosclerose carotídea com fatores de risco cardiovascular tradicionais;
- 3) Avaliar a associação de aterosclerose de carótida com características clínicas e atividade de doença;
- 4) Avaliar se a calprotectina e um perfil de citocinas estão associados à presença de placa de aterosclerose carotídea.

3 METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO E CASUÍSTICA

Em estudo transversal com grupo controle, composto por 63 pacientes com a SSp e 63 controles, os pacientes foram procedentes e estavam em seguimento regular em 2 hospitais universitários federais brasileiros (Universidade Federal do Espírito Santo e da Universidade Federal de Minas Gerais). Os controles foram voluntários, principalmente trabalhadores das universidades e estudantes. As coletas de dados foram realizadas mediante preenchimento de ficha cadastral (ANEXO H).

No grupo dos pacientes (SSp) foram incluídos aqueles que preencheram os critérios de classificação do Consenso do Grupo Americano e Europeu (ANEXO A) e concordaram em participar do estudo, por meio de assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B).

Foram excluídos: 1) outras condições que se manifestam com xerofthalmia e xerostomia, como: hepatite C, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), radioterapia de cabeça e pescoço no passado, linfoma, doença enxerto-hospedeiro, sarcoidose e síndrome de HiperIgG4; 2) outras doenças inflamatórias autoimunes; 3) evento cardiovascular prévio; 4) insuficiência cardíaca, renal, pulmonar e/ou hepática; 5) idade menor que 18 anos e maior que 70 anos e 6) presença de infecção aguda no último mês ou infecção crônica nos últimos 6 meses.

Foram selecionados indivíduos voluntários, de acordo os critérios de inclusão e exclusão, sem doença reumática conhecida, pareados com os pacientes com SSp por idade, sexo, índice de massa corpórea (IMC) e presença de síndrome metabólica.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (ANEXO G) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) em 28/08/2013 (número de protocolo 407.199 / 2013).

3.2 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE DE DOENÇA

Os pacientes foram submetidos aos exames de rotina, utilizados também para o preenchimento do ESSDAI^{28,29} e incluem: hemograma, VHS (velocidade de hemossedimentação), PCR ultrasensível (proteína C reativa), imunoglobulinas, eletroforese de proteínas séricas, complementos (C3 e C4), EAS (elementos anormais e sedimentos). O ESSDAI^{28,29} foi preenchido por reumatologista experiente no atendimento de pacientes com a SSp (ANEXO C); essa ferramenta varia de 0 a 123, sendo considerado valor baixo de 0 a 5, moderado de 5 a 15 e valores >15 atividade elevada. O ESSPRI^{30,31} é um questionário autoaplicável em alfabetizados e foi aplicado por um avaliador nos pacientes com menos de 8 anos de escolaridade (ANEXO D); avaliado por 3 domínios: fadiga, dor e secura numa escala de 0 a 10 e, considera-se aceitável se escore total < que 5³¹.

3.3 AVALIAÇÃO DE CITOCINAS/ BIOMARCADORES

As amostras de soro foram obtidas por coleta de sangue periférico em *BD Vacutainer® SST™ II Advanced*. Para permitir a coagulação, os tubos foram incubados à temperatura ambiente durante 30-60 minutos. Após centrifugação a 1800 x g (Força gravitacional), durante 10 minutos, a camada de soro foi extraída, fracionada e armazenada a -70 ° C no congelador até análise. As análises de biomarcadores (PCR, citocinas e calprotectina) foram realizadas no laboratório de pesquisa *Broegelmann*, Noruega. As demais variáveis séricas foram dosadas no laboratório das respectivas universidades, com técnicas e valores de referências equivalentes.

Proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) e citocinas foram analisadas pelo sistema multiplex, através do kit comercial *Milliplex Map®*. Foram estudados IL-1 β , IL-6, CCL-2, HGF, Inibidor do ativador do plasminogénio-1 (PAI-1), TNF-a e seus receptores I / II, leptina, resistina e adiponectina.

A calprotectina foi investigada por kits comerciais de ELISA (CALPROLABTM, Lysaker, Noruega).

3.4 AVALIAÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR

A avaliação dos fatores não tradicionais de risco cardiovascular, além da dosagem de citocinas e biomarcadores, foi realizada com a pesquisa de aterosclerose subclínica em todos os pacientes e controles, através de ultrassonografia de carótida, para determinar a frequência de placa e IMT, feita por um radiologista experiente e cego quanto à presença de doença cardiovascular ou de fatores de risco, bem como quanto às características da SSp; usando um ultrassom modo-B (MyLab70Xvision, Esaote), 6-18 MHz transdutor Linear (LA435). A IMT foi medida na parede posterior da artéria carótida comum distal direita e esquerda, transversal e longitudinalmente, seguindo o protocolo padrão^{69,70}. Três medidas foram realizadas, calculando-se a média. Consideramos o valor de IMT alterado se $>1,0$ mm⁶⁴. Placa de aterosclerose carotídea foi definida como: protuberância dentro do lúmen $> 0,5$ mm; protusão para o lúmen $>50\%$ da IMT ou $IMT \geq 1,5$ mm (medida na parede posterior de ambas as carótidas comum distal direita e esquerda 1-2 centímetros da bifurcação)⁶⁹.

Placa de aterosclerose carotídea é definida por estruturas focais invadindo o lúmen arterial de pelo menos 0,5 mm ou 50% do valor IMT circundante, ou espessura $> 1,5$ mm, medida a partir da interface íntima-lúmen para o interface de médio-adventícia⁶⁹. As outras definições de doença cardiovascular e dos fatores de risco para doença arterial crônica aterosclerótica encontram-se no Quadro 1 (ANEXO E).

A avaliação dos fatores tradicionais de risco cardiovascular seguiu os critérios abaixo:

- História familiar foi obtida por autorrelato de doença arterial coronariana prematura (parente de primeiro grau com < 55 anos para homens e < 65 para mulheres), morte súbita e acidente vascular cerebral⁶⁴;

- Hipertensão: pressão arterial sistólica (PAS) aferida com valor ≥ 140 mmHg e pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg ou quando se utiliza o tratamento anti-hipertensivo. Aferiu-se a pressão arterial de acordo com o protocolo padrão descrito na Diretriz de Hipertensão da Sociedade Brasileira de Hipertensão⁶⁵;

- Tabagismo: uso de qualquer quantidade de tabaco no momento da entrevista, autorreferido pelo paciente;

- Índice de massa corporal (IMC): foi feita medida da altura (metros) e pesagem (quilogramas) em balança digital, calibrada, pertencente ao setor de radiologia. Foi considerado obesidade se $IMC \geq 30$ kg/m²;

- Circunferência abdominal (CA): medida com fita métrica traçando uma linha imaginária num ponto equidistante entre a borda inferior da 12^a costela e a crista ilíaca superior altura da cicatriz umbilical obtendo a medida da CA. Foi considerada obesidade abdominal quando CA ≥ 80 centímetros para mulheres e ≥ 94 centímetros para os homens, de acordo com a Diretriz Brasileira de Dislipidemia⁶⁴;

- Diabetes: considerou-se a diabetes em casos de glicemia de jejum ≥ 126 mg / dl ou o tratamento medicamentoso para hiperglicemia;

- Dislipidemia: quando o colesterol total ≥ 200 mg / dl ou HDL <40 mg / dl ou LDL ≥ 130 mg / dl ou tratamento com estatina⁶⁴;

- Hipertrigliceridemia se triglicerídeos ≥ 150 mg / dL⁶⁴;

- Síndrome metabólica (SM): foi classificada como síndrome metabólica quando presente ≥ 3 de 5 dos critérios a seguir^{64,66}: 1) Obesidade abdominal (≥ 94 centímetros para homens e ≥ 80 centímetros para mulheres); 2) HDL (<40 mg / dl para homens e <50 mg / dl para mulheres); 3) Hipertensão (PAS ≥ 130 mmHg ou PAD ≥ 85 mmHg ou tratamento medicamentoso anti-hipertensivo); 4) Hipertrigliceridemia (≥ 150 mg / dL); 5) Glicemia de Jejum ≥ 100 mg / dL;

- Escore de Risco Global (ERG) total e taxa de risco foram calculadas considerando as variáveis sexo, idade, HDL, colesterol total, PAS, tabaco e diabetes. A partir da soma de pontos, fornecida por cada variável, foi estimado o risco de evento cardiovascular em dez anos. Taxa de risco $< 5\%$ baixo risco; para mulheres: $\geq 5\%$ e $\leq 10\%$ risco intermediário e $> 10\%$ risco alto; para homens: ≥ 5 e $\leq 20\%$ risco intermediário e $> 20\%$ risco alto^{64,67,68} (ANEXO F).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística utilizou Kolmogorov-Smirnov para testar a distribuição de Gauss. Mann-Whitney e t-teste foram utilizados para comparar as variáveis quantitativas, e teste do qui-quadrado para parâmetros qualitativos. Regressão univariada e multivariada foram utilizadas para avaliar se cada fator estudado poderia ser um risco para a placa. Critérios para a inclusão de variáveis em modelos multivariados foi

alcançar valor de $p < 0,1$ na análise univariada. Para todas as análises, $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4 RESULTADOS

A maioria dos pacientes com a SSp incluídos na pesquisa eram mulheres, em idade perimenopausal, e miscigenados, com média de 10 anos de duração de doença. Dos pacientes com a SSp estudados, 69% apresentaram Anti-Ro-SSA positivo, faixa normal de PCR, índice de sintoma aceitável, avaliado por ESSPRI, e baixa a moderada atividade da doença avaliada por ESSDAI. Mesmo não tendo alto valor de ESSDAI, 71,4% tinham pelo menos uma manifestação sistêmica ativa (Tabela 1). As características gerais dos pacientes e controles mostraram que os grupos estavam pareados por idade, gênero e etnia (Tabela 1).

Ambos os grupos apresentaram alta frequência da SM e hipertensão. No entanto, o grupo controle apresentou níveis de colesterol, PAS e PAD, glicemia de jejum e triglicérides mais elevados, indicando que eles não estavam sendo tratados ou não estavam com tratamento otimizado para esses importantes fatores tradicionais de risco. Isso pôde ser confirmado pela maior taxa de pontuação total e porcentagem de risco pelo ERG no grupo controle (Tabela 1).

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

	SSp (N=63)	Controle (N=63)	p- valor
Idade (anos)	50 ± 11	50 ± 10	0,930
Feminino (%)	93,7	95,2	0,687
Etnia			0,053
Caucasianos (%)	19	33,3	
Miscigenados (%)	74,6	54	
Negros (%)	6,3	12,7	
Peso(kg)	67,42 ± 12,93	70,13 ± 12,25	0,231
IMC (kg/m ²)	26,52 ± 4,43	28,03± 5,04	0,072
Circunferência Abdominal(cm)	88,8 ± 30	90,9 ± 12,3	0,355
Síndrome Metabólica (%)	44	49	0,581
Hipertensão (%)	40	43	0,717
Diabetes (%)	10	10	0,91
PAS (mmHg)	129 ± 19	137 ± 22	0,021
PAD (mmHg)	81 ± 11	90 ± 10	<0,001
Colesterol Total (mg/dl)	181 ± 30	244 ± 26,7	<0,001
LDL (mg/dl)	101,77 ± 26	134,63± 30,98	<0,001
HDL (mg/dl)	51 ± 11	51 ± 10	0,988
Triglicerídeos (mg/dl)	135± 77	149 ± 207	0,752
Tabaco (%)	3	3	0,894
Menopausa (%)	55	45	0,180
ERG total	8 ± 6	11 ± 6	0,04
Taxa de Risco Global (%)	7,24 ± 6,72	9,12 ± 7,45	0,074
Glicose de jejum (mg/dL)	91 ± 16	99 ± 29	0,013
Hemoglobina (g/dL)	13,1 ± 1,2	13,3 ± 0,9	0,136
Leucócitos	5869 ± 2287	6092 ± 1625	0,530
Linfócitos	1598 ± 828	2008 ± 473	0,001

(cont.)

	SSp (N=63)	Controle (N=63)	p- valor
VHS (mm/1h)	31 ± 18	23 ± 18	0,219
Uréia (mg/dl)	29 ± 9	24 ± 8	0,001
Creatinina (mg/dl)	0,71± 0,13	0,61 ± 0,12	<0,001
ESSPRI	5,53 ± 2,78		
ESSDAI	5,16 ± 5,96		
Duração da doença (meses)	111 ± 76		
Manifestação sistêmica atual (%)	71,4		
Anti-Ro-SSA (U/ml) (%)	69,8		
Anti-La-SSB (U/ml) (%)	30,2		
ANA (%)	90,3		
FR (UI/ml) (%)	19,1		
Gamaglobulina (g/dl)	1,47 ± 0,54		
IgG (mg/dl)	1475,96 ± 593,42		
IgM (mg/dl)	154,99 ± 141,71		
IgA (mg/dl)	317,87 ± 144,66		
C3 (mg/dl)	152,90 ± 33,34		
C4 (mg/dl)	32,80 ± 11,77		
PCRus (mg/dl)	4,09 ± 8,67		
Glicocorticoide (%)	32		
Hidroxicloroquina (%)	40		

IMC= índice de massa corporal; LDL= lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade; PAS= pressão arterial sistólica; PAD= pressão arterial diastólica; ERG= Escala de risco Global; VHS= velocidade de hemossedimentação; SSp= Síndrome de Sjögren primária; ESSDAI= *EULAR SS DiseaseActivity*; ESSPRI= *EULAR SS Patient Repor Index*; IgG= Imunoglobulina G ; IgM= Imunoglobulina M; IgA= Imunoglobulina A ; C3= Complemento 3 ; C4= Complemento 4 ; PCR-us= Proteína C reativa ultrasensível; Anti-Ro-SSA= anticorpo anti-Ro-SSA; Anti-La-SSB= Anticorpo anti-La-SSB; FR= Fator Reumatoide; ANA= anticorpo anti-nuclear.

Fonte: Elaboração da autora (2015).

Apesar de ter menor ERG, os pacientes com a SSp apresentaram maior prevalência (13% vs. 2%, $p = 0,015$) e maior risco para placa de aterosclerose carotídea (Tabela 2). Nas análises univariadas, a maioria dos fatores de risco cardiovasculares tradicionais foram associados com maior risco de placa de aterosclerose carotídea na população total do estudo (Tabela 2). Na análise multivariada, a presença da SSp foi preditora de maior risco independente dos fatores de risco cardiovascular tradicionais (Tabela 3).

TABELA 2 - FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR PARA PLACA DE ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA EM SSP E CONTROLES

Fator de risco	Grupo	Placa		OR	OR 95%CI	p-valor
		Sim (N=9)	Não (N=117)			
SSp	SSp	8 (88%)	55 (47%)	9,02	1,09-94,41	0,040
	Controle	1 (11%)	62 (53%)			
Sexo	Masculino	2 (22%)	5 (4%)	6,4	1,05-39,86	0,040
	Feminino	7 (78%)	112 (96%)			
SM	Sim	7 (88%)	51 (44%)	8,92	1,06-74,86	0,040
	Não	1 (13%)	65 (56%)			
Hipertensão	Sim	7 (78%)	45 (38%)	5,6	1,11-28,16	0,044
	Não	2 (22%)	72 (62%)			
Hipertrigliceridemia	Sim	6 (67%)	30 (26%)	5,8	1,37-24,64	0,017
	Não	3 (33%)	87 (74%)			
História familiar de IAM	Sim	7 (88%)	45 (41%)	10,27	1,22-86,33	0,002
	Não	1 (13%)	66 (59%)			
Uso de glicocorticoide	Sim	6 (67%)	17 (15%)	11,76	2,68-51,59	0,001
	Não	3 (33%)	100 (85%)			
ERG		15 ± 2,92	9 ± 6,21	0,84	0,73-0,93	0,009
Creatinina (mg/dL)		0,89 ± 0,25	0,67 ± 0,18	0,04	0,01-0,55	0,016
Idade (anos)		61,22 ± 5,19	48,72 ± 10,85	0,86	0,78-0,95	0,002

Teste Qui-quadrado, teste de Fisher, teste Mann Whitney e teste "t". Análise estatística univariada. OR= Odds ratio. CI= intervalo de confiança. SS= Síndrome de Sjögren, SM= Síndrome Metabólica, IAM= Infarto Agudo do Miocárdio, ERG= Escala de risco Global.

Fonte: Elaboração da autora (2015).

TABELA 3 - FATORES DE RISCO PARA PLACA DE ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA EM SSp APÓS AJUSTE PARA IDADE, HIPERTRIGLICERIDEMINA, HIPERTENSÃO ARTERIAL E NÍVEL DE CREATININA

Fator de risco	Modelo1				Modelo2			
	OR	95% CI Limite inferior	95% CI Limite superior	p-valor	OR	95% CI Limite inferior	95% CI Limite superior	p-valor
SSp	28,76	1,69	490,19	0,020	-	-	-	-
Idade	0,82	0,72	0,94	0,004	-	-	-	-
Hipertensão	1,89	0,27	13,05	0,519	1,04	0,99	1,09	0,004
Hipertrigliceridemia	10,07	1,16	87,33	0,036	-	-	-	-
Creatinina	1,07	0,01	23,06	0,965	10,20	0,60	166,67	0,055
Calprotectina	-	-	-	-	1,001	1,000	1,001	0,023

Análise de regressão multivariada. SSp= síndrome de Sjögren, OR= Odds ratio, CI= intervalo de confiança.

Fonte: Elaboração da autora (2015).

No grupo dos pacientes com a SSp, os fatores de risco associados à doença, como o uso atual de glicocorticoide, menopausa, ESSDAI no domínio constitucional e uso de substituto salivar, tiveram maior risco de placa de aterosclerose carotídea (todos $p < 0,05$) (Tabela 4). Em contraste, não houve associação com a pontuação total do ESSDAI ou qualquer outro domínio de ESSDAI ou com a presença de auto-anticorpos, nível de leucócitos ou linfócitos. Investigou-se também se pacientes com SM e SSp estavam em uso de glicocorticoide. Frequência de uso de glicocorticoide foi semelhante entre pacientes com e sem a SM (44% *versus* 29%, $p = 0,225$, Qui-quadrado).

Os níveis sérico de TNF-R2 e algumas citocinas (CCL-2 e HGF) potencialmente importantes na patogênese da aterosclerose foram mais elevadas na SSp (Tabela 5). A leptina e resistina foram semelhantes em ambos os grupos. Paradoxalmente, a adiponectina foi maior em pacientes com a SSp.

Entre todos os biomarcadores, curiosamente a calprotectina apresentou níveis mais elevados e foi associada com a presença de placa de aterosclerose carotídea (Tabelas 3 e 4). A calprotectina foi também associada com inflamação (PCR), com

citocinas envolvidas na SM e resistência insulínica (resistina) e com a aterogênese (HGF e receptores de TNF) (Tabela 5).

TABELA 4 - FATORES ASSOCIADOS À PLACA DE ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA EM SSp

Fator de risco	Grupo	Placa		p-valor*
		Sim (N=8)	Não (N=55)	
Uso de Glicocorticoide	Sim	6 (75%)	17 (31%)	0,016
	Não	2 (25%)	38 (69%)	
Substituto Salivar	Sim	3 (38%)	6 (11%)	0,045
	Não	5 (63%)	49 (89%)	
Menopausa	Sim	6 (100%)	29 (55%)	0,032
	Não	0 (0%)	24 (45%)	
Anti-Ro-SSA	Sim	7 (88%)	37 (69%)	0,270
	Não	1 (13%)	17 (31%)	
ESSDAI constitucional	Sim	1 (13%)	0 (0%)	0,046
	Não	7 (88%)	55 (100%)	
ESSDAI		5,38 ±5,88	5,13 ± 6,03	0,967
Tempo de atraso		88 ± 71,47	57,84 ±63,93	0,265
Duração da doença		138 ±96,55	107,16 ±72,18	0,451
Calprotectina (ng/mL)		3035 ± 2825,40	1681,89 ± 1341,55	0,025

*Teste Qui-quadrado, Mann Whitney ou t-test. ESSDAI= *EULAR SS DiseaseActivity*; Anti-Ro-SSA= anticorpo anti-Ro.

Fonte: Elaboração da autora (2015).

TABELA 5 - COMPARAÇÃO DE BIOMARCADORES DE INFLAMAÇÃO ENTRE PACIENTES E CONTROLES E SUA RELAÇÃO COM CALPROTECTINA

Biomarcadores	SSp (N=63)	Controles (N=63)	p-valor*	Spearman	p-valor**
Calprotectina	1878,8 ± 1501,1	1215 ± 520	0,039	-	-
IL-1B (pg/ml)	1,9 ± 5,45	0,49 ± 0,65	0,732	0,46	0,622
IL-6 (pg/ml)	11,65 ± 23,38	5,21 ± 9,23	0,229	0,019	0,839
TNF-α (pg/ml)	4,7 ± 5,0	3,6 ± 3,4	0,239	-0,138	0,136
TNF-R1 (pg/ml)	1113,65 ± 691,39	919,01 ± 408,53	0,435	0,277	0,002
TNF-R2 (pg/ml)	8144,32 ± 4106,39	5914,74 ± 2458,23	0,002	0,269	0,003
CCL-2 (pg/ml)	251,8 ± 139,5	208,3 ± 83,8	0,186	0,081	0,382
Leptina (pg/ml)	3056,8 ± 2295,3	2786,6 ± 1881,1	0,704	-0,83	0,373
Resistina (pg/ml)	12031,8 ± 4923,6	12902,2 ± 4226	0,241	0,379	0,000
Adiponectina (pg/ml)	152558,2 ± 28456,5	40875,65 ± 38121,54	0,000	0,100	0,280
HGF (pg/ml)	266,1 ± 189,5	206,6 ± 150,7	0,047	0,182	0,049
PCR(mg/dL)	4,09 ± 8,67	3,36 ± 7,09	0,115	0,391	0,000

SSp= Síndrome de Sjögren, IL=interleucina, TNF= fator de necrose tumoral, TNF-R1= fator de necrose tumoral receptor 1, TNF-R2= fator de necrose tumoral receptor 2, CCL-2= *Chemokine (C-C motif) Ligand 2*, HGF= *Hepatocyte Growth Factor*, PCR= Proteína C reativa. *Teste t ou Mann-Whitney comparando os dois grupos, **Teste Spearman avaliando a correlação entre calprotectina e todas as citocinas.

Fonte: Elaboração da autora (2015).

5 DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que a SSp está associada a aumento na frequência de placa de aterosclerose carotídea independente dos fatores tradicionais de risco cardiovasculares. Em particular, este estudo mostrou que a calprotectina está elevada em pacientes com a SSp e independentemente associada à presença de placa de aterosclerose carotídea, indicando que a calprotectina pode ser utilizada como um biomarcador de aterosclerose subclínica na SSp.

É bem conhecida, a partir de outras populações, que a aterosclerose subclínica, avaliada pela presença de placa de aterosclerose carotídea por ultrassonografia, é preditiva de morte cardiovascular, IAM e acidente vascular cerebral isquêmico, bem como aumenta significativamente a predição de risco cardiovascular⁷². Os resultados deste estudo demonstraram que a presença da SSp está associada com maior risco de aterosclerose subclínica, somando-se a outros estudos que relatam maior IMT por ultrassonografia^{46,94}, maior rigidez aórtica^{63,43} e menor PWV^{62,78} em pacientes com a SSp, comparados com controles saudáveis.

Nota-se, ainda, que a maioria dos fatores tradicionais de risco cardiovascular, incluindo idade, sexo masculino, SM, hipertrigliceridemia, hipertensão, uso de glicocorticoides, e a função renal relacionam-se com placa de aterosclerose carotídea no presente estudo. Nossos achados apontam para a importância da identificação e controle dos fatores tradicionais de risco para prevenir a aterosclerose na SSp.

O fato de os controles apresentarem valores mais elevados de pressão arterial, níveis lipídicos e glicemia de jejum pode indicar que a participação no projeto foi motivada pelo conhecimento do risco cardiovascular aumentado nesse grupo. Apesar desse fator de confusão, placa de aterosclerose carotídea foi mais comum entre os pacientes com a SSp, sugerindo que a própria doença é um risco para a aterosclerose.

Fatores tradicionais de risco, como hipertensão e dislipidemia, são mais prevalentes na SSp, como demonstrado em três grandes grupos da Espanha, Reino Unido e Itália^{39,42,45}. Nosso estudo mostrou alto índice de hipertensão e foi duas vezes mais elevado, tomando-se a população geral brasileira como referência⁵⁵.

A SM é mais frequente e parece ser um importante fator de risco cardiovascular na SSp⁴¹. Foi um fator de risco para a presença de placa de aterosclerose carotídea em nosso estudo e, na mesma linha, outro estudo encontrou maior velocidade da onda de pulso e associou com maior número de critérios na SM⁴³. Augusto e outros encontraram quase 50% dos pacientes com a SM e níveis mais elevados de adiponectina, IL1 β e resistina, sugerindo que o perfil de citocinas na SSp pode favorecer o desenvolvimento da SM⁴¹. Outros estudos^{41,89,97} também concordam com a nossa observação de elevação de adiponectina em pacientes com a SSp.

Diversos estudos de coorte têm demonstrado diferentes perfis lipídicos na SSp, em especial o HDL baixo^{44,54,73} e hipertrigliceridemia^{42,45}, que são mais frequentes do que a hipercolesterolemia³⁹. A presente pesquisa demonstra que a hipertrigliceridemia foi particularmente associada com a placa de aterosclerose carotídea em análise multivariada.

O uso de glicocorticoide foi um fator de risco para placa de aterosclerose carotídea em nosso estudo e foi fator de risco independente para eventos cardiovasculares na SSp numa coorte italiana³⁹. Seus efeitos colaterais metabólicos incluem obesidade abdominal, hipertensão, dislipidemia e diabetes. Mesmo que, potencialmente, agrave os seus parâmetros, em outro estudo a SSp mostrou frequência maior da SM, independente do uso de glicocorticoides, o que indica que a medicação utilizada para o tratamento não é a única razão para o desequilíbrio metabólico na SSp⁴¹. Nosso estudo mostrou que a frequência da SM em pacientes com ou sem uso pregresso e/ou atual de glicocorticoides foi semelhante.

Alguns aspectos da doença podem potencialmente aumentar os fatores tradicionais de risco e também a sua relevância no contexto da doença. Por causa de fadiga, depressão e baixa qualidade de vida, os pacientes com a SSp provavelmente têm um estilo de vida mais sedentário. Não foram investigados sedentarismo e fadiga, mas seria interessante saber o quanto eles contribuem para aumentar os fatores tradicionais de risco.

Menopausa, glicocorticoide, manifestação glandular indicada pelo uso de substituto salivar e manifestação sistêmica constitucional foram associados com a presença de placa de aterosclerose carotídea. O domínio constitucional representa sintomas sistêmicos e condição mais inflamatória. Não se encontrou associação de placa de

aterosclerose carotídea com a atividade da doença avaliada por valor total de ESSDAI. Outro autor constatou que o Índice de dano na Síndrome de Sjögren (SSDI), mas não ESSDAI, foi associado com maior velocidade da onda de pulso⁴³.

A aterosclerose subclínica indica a presença de danos estruturais no vaso, e é mais lógico ter associação com intenso processo inflamatório durante muitos anos, tal como representado pelo índice de dano. Não se avaliou o Índice de dano na Síndrome de Sjögren, mas mesmo pareados por idade, a creatinina foi maior no grupo de pacientes, provavelmente por envolvimento renal crônico.

Parece que a frequência de tabaco é muito baixa na SSp, como foi demonstrado por vários estudos^{39,42,45}. O presente estudo também mostrou baixa frequência de tabaco, que não foi associado com a placa de aterosclerose carotídea. Foi observada anteriormente baixa frequência de pontuação no foco escore nos indivíduos fumantes, levantando a questão se o tabaco poderia diminuir envolvimento glandular salivar na SSp⁷⁴.

Hidroxicloroquina é um fator de proteção no LES⁷⁵. Recente, e talvez único, estudo avaliou os efeitos na dislipidemia de pacientes com a SSp em uso de Hidroxicloroquina e encontrou significativa redução nos níveis de triglicerídeos e aumento no HDL sem correlação com uso de glicocorticoide, idade ou atividade de doença⁷⁶. Por causa do tamanho da amostra, não encontramos associação com imunossupressão ou hidroxicloroquina (resultados não publicados). Acreditamos, que, semelhante ao LES, o uso de Hidroxicloroquina possa reduzir o risco cardiovascular. Estudos futuros devem avaliar tal hipótese.

O perfil clínico, biológico e genético, associado com a aterosclerose, comotambém a interação entre fatores tradicionais de risco cardiovascular e associados à doença não são conhecidos na SSp. Aterosclerose subclínica e disfunção endotelial têm sido relacionadas a PCR^{42,45,46,63}, leucopenia^{44,46,77}, anti-Ro^{46,73,77}, fenômeno de Raynaud⁷⁸, comprometimento articular⁷³ e aumento da parótida⁷³. Além disso, a leucopenia e anti-Ro são um subconjunto de pacientes que mostraram HDL inferior^{44,46,54}. Essas manifestações laboratoriais e clínicas estão relacionadas com um perfil mais sistêmico e inflamatório da doença. Recente pesquisademonstrou que os pacientes com envolvimento visceral e central tinham um risco mais elevado para o evento cardiovascular, e aqueles com mais angina tinham leucopenia³⁹.

Surpreendentemente, dois outros estudos não encontraram associação entre a aterosclerose subclínica ou evento cardiovascular com a presença do anti-Ro e anti-La^{39,43}. Na verdade, os pacientes com anti-La positivo tiveram maior frequência de velocidade da onda de pulso normal⁴³, e os pacientes com anti-Ro apresentaram menor nível de hipertensão e hipertrigliceridemia. São necessárias outras e maiores investigações para confirmar e entender por que os pacientes com anti-Ro ou anti-La têm menos fatores tradicionais de risco cardiovascular, mesmo possuindo a doença sistêmica e mais grave, ou se é apenas um truque estatístico.

Foram encontrados níveis elevados de quatro biomarcadores (calprotectina, TNF-R2, CCL-2, HGF) que são ou podem ser potencialmente envolvidos na aterogênese. Entre eles, os pacientes com a SSp não só apresentaram maiores níveis de calprotectina, mas também essa associou-se à presença de placa de aterosclerose carotídea.

Calprotectina é preditora de eventos cardiovasculares em população saudável e associada com a gravidade e os sintomas na SSp^{52,79}. É uma conexão interessante para explicar a maior prevalência de fatores tradicionais de risco cardiovascular na SSp. Em estudo norueguês, calprotectina foi associada com fadiga⁵² que poderia levar ao sedentarismo, piorando o perfil metabólico nesses pacientes. Dois estudos em AR observaram nível de calprotectina, antes do tratamento com Infliximabe⁵⁹ e Adalimumabe⁹⁸, e seu decréscimo após controle da atividade de doença. Outro, em pacientes com AR, avaliou o tratamento de anti-inflamatório, com o de anti-TNF, que foi associada a uma redução da rigidez da aorta, da placa de aterosclerose carotídea e de calprotectina⁹⁹. Nesta pesquisa, encontrou-se calprotectina associada com a PCR-us elevada e perfil anormal de biomarcadores da aterosclerose (HGF e TNF), sugerindo que a presença de calprotectina indica um grupo de pacientes com maior risco. Neste estudo, a associação encontrada com placa de aterosclerose carotídea na SSp indica que calprotectina é um biomarcador de aterosclerose subclínica nessa população de pacientes.

Os macrófagos são células importantes para iniciar e manter o processo inflamatório na aterosclerose. A CCL-2 é uma quimiocina produzida pelos macrófagos e também está associada com a presença de estruturas CG na SSp^{80,81}, podendo indicar um subconjunto mais grave de pacientes em maior risco. Não se avaliou a presença de CG, mas com certeza seria interessante saber se um subgrupo com acometimento

grave de CG teria mais aterosclerose subclínica. Foram encontrados, também, níveis mais elevados de TNF-R2 nos pacientes com SSp. A presença de mais receptores de TNF- α (1 e 2) tem sido associada a um risco cardiovascular. Encontrou-se o HGF maior na SSp. Paradoxalmente, os controles apresentaram níveis mais elevados de PAI-1, possivelmente por causa de alta frequência da SM e níveis mais elevados de glicemia de jejum nesse grupo.

Tivemos uma limitação para obter pessoas voluntárias dispostas a participar da pesquisa, limitando no N do estudo. Outra limitação foi perfil clínico diferente entre os pacientes procedentes dos hospitais universitários da UFMG e da UFES. Isto se justificou pelo diagnóstico basear-se nos anticorpos na UFMG e na biópsia na UFES. A gravidade dos pacientes procedentes da UFMG foi maior.

6 CONCLUSÃO

Pacientes com a SSp têm maior frequência de placa de aterosclerose carotídea, que é modulada por fatores tradicionais de risco cardiovascular mais elevado, bem como a atividade da própria doença. A SSp é fator de risco para placa de aterosclerose carotídea independente de fatores tradicionais de risco cardiovascular.

Não houve associação com risco cardiovascular na pontuação total do ESSDAI e em qualquer outro domínio de ESSDAI, nem com a presença de auto-anticorpos, nível de leucócitos ou linfócitos.

Idade, sexo masculino, SM, hipertrigliceridemia, hipertensão, uso de glicocorticoides e a função renal relacionam-se com placa de aterosclerose carotídea na SSp no presente estudo.

Placa de aterosclerose carotídea está associada com uso de glicocorticóide, menopausa, ESSDAI no domínio constitucional e uso substituto de saliva.

Calprotectina é um fator de risco independente para a presença de placa de aterosclerose carotídea e pode ser um biomarcador de aterosclerose subclínica SSp.

As citocinas CCL-2 e HGF e, o TNF-R2, foram mais elevados na SSp e poderiam ter algum papel na patogênese da aterosclerose na SSp, embora este estudo não tenha demonstrado associação com placa de aterosclerose carotídea.

REFERÊNCIAS

- 1 DELALEU, N.; JONSSON, R.; KOLLER, M. M. Sjogren's syndrome. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 113, n. 2, p. 101-113, 2005.
- 2 VITALI, C. et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 61, p. 554-558, 2002.
- 3 BOWMAN, S. J. et al. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjögren's Syndrome in two general practices in Birmingham, UK. **Scand. J. Rheumatology**, v. 33, n. 1, p. 39-43, 2004.
- 4 GUERRERO, J. S. et al. Prevalence of Sjogren's syndrome in ambulatory patients according to the American-European Consensus Group criteria. **Rheumatology**, v. 44, p. 235-40, 2005.
- 5 VALIM, V. et al. Prevalência da síndrome de Sjögren primária em importante área metropolitana no Brasil. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 53, n. 1, p. 29-34, 2013.
- 6 GARCÍA-CARRASCO, M. et al. Primary Sjögren syndrome: clinical and immunologic disease patterns in a cohort of 400 patients. **Medicine**, v. 81, n. 4, p. 270-80, 2002.
- 7 KASSAN, S.S.; MOUTSOPOULOS, M.H. Clinical Manifestations and Early Diagnosis of Sjögren Syndrome. **Arch. Intern. Med.**, v. 164, n. 28, 2004.
- 8 CARSON, S. Sjogren's Syndrome. In: HARRIS, E. D. et al. **Kelley's Textbook of Rheumatology**, 7^o ed, v. 2, cap. 69, p. 1105-1118. Philadelphia: Elsevier, 2005.
- 9 AL HASHIMI, L. et al. Frequency and predictive value of clinical manifestations in Sjögren's syndrome. **J. Oral. Pathol. Med.**, v. 30, p. 1-6, 2001.
- 10 ASMUSSEN, K. et al. Quantitative assessment of clinical disease status in primary Sjogren's syndrome: a cross sectional study using a new classification model. **Scand. J. Rheumatol.**, v. 26, n. 3, p. 197-205, 1997.
- 11 RAMOS-CASALS, M.; TZIOUFAS, A. G.; FONT, J. Primary Sjogren's Syndrome: new clinical and therapeutic concepts. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 64, p. 347-354, 2005.
- 12 KASSAN, S.S. et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. **Ann. Intern. Med.**, v. 89, p. 888-892, 1978.
- 13 MANTHORPE, R.; ASMUSSEN, K.; OXHOLM, P. Primary Sjogren's syndrome: diagnostic criteria, clinical features, and disease activity. **J. Rheumatol.**, v. 24, p. 8-11, 1997.
- 14 DELALEU, N. et al. New concepts in the pathogenesis of Sjogren's Syndrome. **Rheum. Dis. Clin. N. Am.**, v. 34, p. 833-845, 2008.

- 15 NIKOLOV, N. P.; ILLEI, G. G. Pathogenesis of Sjögren's syndrome. **Curr. Opin. Rheumatol.**, v. 21, p. 465-470, 2009.
- 16 BARTOLONI, E., SHOENFELD, Y., GERLI, R. Inflammatory and Autoimmune Mechanisms in the Induction of Atherosclerotic Damage in Systemic Rheumatic Diseases: Two Faces of the Same Coin. **Arthrit. Care Res.**, v. 63, n. 2, p. 178–183, 2011.
- 17 VIVINO, F. B. et al. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjogren's Syndrome – a randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. **Arch. Intern. Med.**, v. 159, p. 174-181, 1999.
- 18 KRUIZE, A. A. et al. Hydroxychloroquine treatment for primary Sjogren's syndrome: a two year double blind crossover trial. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 52, p. 360-4, 1993.
- 19 PRICE, E. J. et al. A double blind placebo controlled trial of azathioprine in the treatment of primary Sjogren's syndrome. **J. Rheumatol.**, v. 25, p. 896-899, 1998.
- 20 MARIETE, X. et al. Inefficacy of infliximab in primary Sjögren's syndrome. Results of the randomized, controlled trial of remicade in primary Sjogren's syndrome (TRIPSS). **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 4, p. 1270-1276, 2004.
- 21 SANKAR, V. et al. Etanercept in Sjogren's syndrome. **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 7, p. 2240-2245, 2004.
- 22 PINHEIRO JUNIOR, M. N. et al. Uso oral do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) no tratamento do olho seco de pacientes portadores da Síndrome de Sjögren. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v. 70, n. 4, p. 649-655, 2007.
- 23 RAMOS-CASALS, M. et al. Treatment of Primary Sjögren Syndrome: a Systematic Review. **JAMA**, v. 304, n. 4, p. 452-460, 2010.
- 24 RAMOS-CASALS, M.; BRITO-ZERÓN, P.; SISÓ-ALMIRALL, A.; BOSCH, X.; TZIOUFAS, A.G. Topical and systemic medications for the treatment of primary Sjögren's syndrome. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v. 8, n. 7, p. 399-411, 2012.
- 25 SOLOMAN, N. et al. Identification of predictive biomarkers in SS clinical trials: a meta-analytic approach. **J. Rheumatol.**, v. 32, p. 143-149, 2005.
- 26 SYMMONS, D. P. M. Disease assessment indices: activity, damage and severity. **Baillieres Clin. Rheum.**, v. 9, n. 2, p. 267–285, 1995.
- 27 ROESCHER, N. TAK, P.P., ILLEI, G.G. Cytokines in Sjögren's syndrome: potential therapeutic targets. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 69, p. 945–948, 2010.
- 28 SEROR, R., RAVAUD, P., BOWMAN, S., BARON, G., TZIOUFAS, A; THEANDER, E., GOTTENBERG, J., BOOTSMA, H., MARIETTE, X., VITALI, C. Syndrome disease activity index in primary Sjögren's (ESSDAI): Development of a consensus systemic EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 69, n. 6, p. 1103-9, 2010.

- 29 SERRANO, E.V.; VALIM, V.; MIYAMOTO, S.T.; ALTOE, R.; PAGANOTTI, M.A. Adaptação transcultural do "EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI)" para a língua portuguesa. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 53, n. 6, p. 483-493, 2013.
- 30 SEROR, R. et al. EULAR Sjögren's Syndrome Patient Reported Index (ESSPRI): development of a consensus patient index for primary Sjögren's syndrome. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 70, p. 968–972, 2011.
- 31 PAGANOTTI, M. A.; MIYAMOTO, S. T.; SERRANO, E. V.; ALTOÉ, R.; VALIM, V. Validação e propriedades psicométricas do Eular Sjögren's Syndrome Patient Reported Index (ESSPRI) para a língua portuguesa. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 55, n. 5, p. 493-445, 2015.
- 32 GUZIK, T.J., MANGALAT, D., KORBUT, R. ADIPOCYTOKINES - NOVEL LINK BETWEEN INFLAMMATION AND VASCULAR FUNCTION? **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 57, n. 4, p. 505-28, 2006.
- 33 NICHOLS, M., TOWNSEND, N., SCARBOROUGH, P., RAYNER, M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. **Eur. Heart J.**, v. 35, n. 42, p. 2950-59, 2014.
- 34 SCHOENFELD, S.R., KASTURI S., COSTENBADER K.H. The epidemiology of atherosclerotic cardiovascular disease among patients with SLE: a systematic review. **Semin. Arthritis Rheu.**, v. 43, n. 1, p. 77-95, 2013.
- 35 HOLLAN, I. et al. Cardiovascular disease in autoimmune rheumatic diseases. **Autoimmunity reviews**, v. 12, n. 10, p. 1004-15, 2013.
- 36 ZOLLER, B., LI, X., SUNDQUIST, J., SUNDQUIST, K. Risk of subsequent ischemic and hemorrhagic stroke in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. **BMC neurology**, v. 12, n. 41, p. 1-9, 2012.
- 37 ZOLLER, B., LI, X., SUNDQUIST, J., SUNDQUIST, K. Risk of subsequent coronary heart disease in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. **PloS one**, v. 7, n. 3, p. 1-8, 2012.
- 38 RAMAGOPALAN, S.V., PAKPOOR J., SEMINONG O., GOLDACRE R., GRAHAM L., GOLDACRE M.J. Risk of subarachnoid haemorrhage in people admitted to hospital with selected immune-mediated diseases: record-linkage studies. **BMC neurology**, v. 13, n. 176, p. 1-6, 2013.
- 39 BARTOLONI, E. et al. Cardiovascular disease risk burden in primary Sjogren's syndrome: results of a population-based multicentre cohort study. **J. Intern. Med.**, v. 278, p. 185-192, 2015.
- 40 KEREKES, G. et al. Validated methods for assessment of subclinical atherosclerosis in rheumatology. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v. 8, n. 4, p. 224-34, 2012.

41 AUGUSTO K.L., BONFÁ E., PEREIRA R.M.R., BUENO C., LEON, E.P., VIANA V.S.T., PASOTO S.G. Metabolic syndrome in Sjögren's syndrome patients: a relevant concern for clinical monitoring. **Clin. Rheumatol.** Disponível em: <<http://www.http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10067-015-3072-1>>. Acesso em 30 de setembro de 2015.

42 JUAREZ, M. et al. Cardiovascular risk factors in women with primary Sjogren's syndrome: United Kingdom primary Sjogren's syndrome registry results. **Arthrit. Care Res.**, v. 66,n. 5, p. 75-64, 2014.

43 SABIO, J.M. et al. Prevalence of and Factors Associated With Increased Arterial Stiffness in Patients With Primary Sjogren's Syndrome. **Arthrit. Care Res.**, v. 67, n. 4, p. 554-62, 2015.

44 GERLI, R.; BOCCI, E.B.; VAUDO, G.; MARCHESI, S; VITALI, C.; SHOENFELD, Y. Traditional cardiovascular risk factors in primary Sjögren's syndrome - role of dyslipidemia. **Rheumatology**, v. 45, p. 1580–1581, 2006.

45 PÉREZ-DE-LIS, M. et al. Cardiovascular risk factors in primary Sjögren's syndrome: a case-control study in 624 patients. **Lupus**, v. 19, p. 941-948, 2010.

46 VAUDO, G. et al. Precocious Intima-Media Thickening in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. **Arthrit. Care Res.**, v. 52, n. 12, p. 3890–3897, 2005.

47 RACHAPALLI, S.M.; KIELY, P.D.; BOURKE, B.E. Prevalence of abnormal ankle brachial index in patients with primary Sjogren's syndrome. **Clin. Rheumatol.**, v. 28, p. 587–590, 2009.

48 SIDIROPOULOSI, P. et al. Review: Metabolic syndrome in rheumatic diseases: epidemiology, pathophysiology, and clinical implications. **Arthritis Res. Ther.**, v. 10, n. 3, p. 207, 2008.

49 GOTTENBERG, J.E. et al. Efficacy of rituximab in systemic manifestations of primary Sjogren's syndrome: results in 78 patients of the AutoImmune and Rituximab registry. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 72, n. 6, p. 1026-31, 2013.

50 WEINER, S.D. et al. Systemic inflammation and brachial artery endothelial function in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Heart**, v. 100,n. 11, p. 862-6, 2014.

51 CORTEZ-COOPER, M. et al. Soluble TNF and IL-6 receptors: indicators of vascular health in women without cardiovascular disease. **Vasc. Med.**, v. 18, n. 5, p. 282-9, 2013.

52 NORDAL, H.H; BRUN, J.G.; HALSE; A.K.; MADLAND, T.M., FAGERHOL, M.K., JONSSON, R. Calprotectin (S100A8/A9), S100A12, and EDTA-resistant S100A12 complexes (ERAC) in primary Sjogren's syndrome. **Scand. J. Rheumatol.**, v. 43, n. 1, p. 76-8, 2014.

- 53 SEO, J.; LEE, K.J. Post-translational modifications and their biological functions: proteomic analysis and systematic approaches. **J. Biochem. Mol. Biol.**, v. 37, n. 1, p. 35-44, 2004.
- 54 LODDE, B.M. et al. Serum lipid levels in Sjögren's syndrome. **Rheumatology**, v. 45, p. 481-4, 2006.
- 55 PICON, R.V.; FUCHS, F.D.; MOREIRA, L.B.; RIEGEL, G.; FUCHS, S.C. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: a systematic review with meta-analysis. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. 1-10, 2012.
- 56 TYDEN, H. et al. Increased serum levels of S100A8/A9 and S100A12 are associated with cardiovascular disease in patients with inactive systemic lupus erythematosus. **Rheumatology**, v. 52, n. 11, p. 2048-55, 2013.
- 57 OLIVEIRA, R.T.D. **Expressão de Citocinas, quimiocinas e seus receptores em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com Doença Arterial coronariana.** Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.
- 58 WANG, Z. et al. Protein carbamylation links inflammation, smoking, uremia and atherogenesis. **Nat. Med.**, v.13, n.10, p.1176-84, 2007.
- 59 GARCÍA-ARIAS, M. et al. Calprotectin in rheumatoid arthritis: association with disease activity in a cross-sectional and a longitudinal cohort. **Mol. Diagn. Ther.**, v. 17, n. 1, p. 49-56, fev 2013.
- 60 NAVAB, M.; REDDY, S.T.; VAN LENTEN, B.J.; FOGELMAN, A.M. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. **Nat. Rev. Cardiol.**, v. 8, n. 4, p. 222-32, 2011.
- 61 MCMAHON, M. et al. A panel of biomarkers is associated with increased risk of the presence and progression of atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 66, n. 1, p. 130-9, 2014.
- 62 AKYEL, A. et al. Endothelial dysfunction in primary Sjogren syndrome. **W. Indian Med. J.**, v. 61, n. 9, p. 870-2, 2012.
- 63 ATZENI, F. et al. New parameters for identifying subclinical atherosclerosis in patients with primary Sjogren's syndrome: a pilot study. **Clin. Exp. Rheumatol.**, v. 32, n. 3, p. 361-8, 2014.
- 64 XAVIER, H.T.; IZAR, M.C.; FARIA NETO, J.R.; ASSAD, M.H.; ROCHA, V.Z. et al. [V Consenso Brasileiro de Dislipidemias e da Prevenção de Aterosclerose]. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.
- 65 SOCIEDADE Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de H, Sociedade Brasileira de N. [VI Consenso Brasileiro de Hipertensão]. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 95, n. 1, p. 1-50, 2010.

66 ALBERTI, K.G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-5, 2009.

67 OLIVEIRA, G.M.M. Estimar ou Não o Risco Cardiovascular? Eis a Questão. **Int. J. Cardiovasc. Sci.**, v. 28, n. 1, p. 1-3, 2015.

68 D'AGOSTINO, R.B.; VASAN, R.S.; PENCINA, V.M.; WOLF, P.A.; COBAIN, J.M.M.; KANNEL, W.B. General Cardiovascular Risk Profile for Use in Primary Care: The Framingham Heart. **Circulation**, v. 117, p. 743-753, 2008.

69 TOUBOUL, P.J. et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. **Cerebrovasc. Dis.**, v. 34, n. 4, p. 290-6, 2012.

70 STEIN, J.H. et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 21, n. 2, p. 93-111, 2008.

71 BARBOSA, V.S., FRANCESCANTÔNIO, P.L., SILVA, N.A. Leptina e adiponectina no lúpus eritematoso sistêmico: correlações clínicas e laboratoriais. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 55, n. 2, p. 140-45, 2015.

72 BABER, U. et al. Prevalence, Impact, and Predictive Value of Detecting Subclinical Coronary and Carotid Atherosclerosis in Asymptomatic Adults: The BiImage Study. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 65, n. 11, p. 1065-74, 2015.

73 GERLI, R.; VAUDO, G.; BOCCI, E.B.; SCHILLACI, G.; ALUNNO, A.; LUCCIOLI, F. et al. Functional impairment of the arterial wall in primary Sjogren's syndrome: combined action of immunologic and inflammatory factors. **Arthrit. Care Res.**, v. 62, n. 5, p. 712-8, 2010.

74 MANTHORPE, R. et al. Lower frequency of focal lip sialadenitis (focus score) in smoking patients. Can tobacco diminish the salivary gland involvement as judged by histological examination and anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies in Sjogren's syndrome? **Ann. Rheum. Dis.**, v.59, n. 1, p. 54-60, 2000.

75 BORBA, E. F.; BONFÁ, E. Longterm beneficial effect of cloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. **J. Rheumatol.**, v. 28, n. 4, p. 780-785, 2001.

76 MIGKOS, M.P.; MARKATSELI, T. E.; ILIOU, C.; VOULGARI, P.V.; DROSOS, A. Effect of hydroxicloroquine on the lipid profile of patients with Sjögren Syndrome. **J. Rheumatol.**, v. 41, n. 5, p. 902-908, 2014.

- 77 GERLI, R.; BOCCI, E.B.; SHOENFELD, Y. Association of subclinical atherosclerosis and leukopenia in systemic autoimmune diseases: comment on the article by Huang et al. **Arthritis Rheum.**, v. 62, n. 9, p. 2823-4, 2010.
- 78 PIRILDAR, T. et al. Endothelial dysfunction in patients with primary Sjogren's syndrome. **Rheumatol. Int.**, v. 25, n. 7, p. 536-9, 2005.
- 79 MORI, Y. et al. Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in hemodialysis patients with atherosclerosis. **Am. J. Nephrol.**, v. 29, n. 1, p. 18-24, 2009.
- 80 REKSTEN, T.R.; JONSSON, M.V.; SZYSZKO, E.A.; BRUN, J.G.; JONSSON, R.; BROKSTAD, K.A. Cytokine and autoantibody profiling related to histopathological features in primary Sjogren's syndrome. **Rheumatology**, v. 48, n. 9, p. 1102-6, 2009.
- 81 HANSSON, G.K.; HERMANSSON, A. The immune system in atherosclerosis. **Nat. Immunol.**, v. 12, n. 3, p. 204-12, 2011.
- 82 HEESCHEN, C.; DIMMELER, S.; HAMM, C.W.; BOERSMA, E.; ZEIHNER, A.M.; SIMOONS, M.L. Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 107, n. 4, p. 524-30, 2003.
- 83 KOHLER H.P., GRANT P.J. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 342, n. 24, p. 1792-801, 2000.
- 84 DANDONA, P.; ALJADA, A.; CHAUDHURI, A.; MOHANTY, P.; GARG, R. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**, v.111, n.11, p.1448-54,2005.
- 85 SCHELLEKENS, G.A. et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. **Arthritis Rheum.**, v. 43, n. 1, p. 155-63, 2000.
- 86 SHIBOSKI, S.C. et al. American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: A Data-Driven, Expert Consensus Approach in the SICCA Cohort. **Arthrit. Care Res.**, v. 64, n. 4, p. 475–487, 2012.
- 87 CICEK, O.F. et al. Assessment of the relationship between aortic stiffness and left ventricular functions with echocardiography in patients with Sjogren's syndrome. **Inter. J. Rheum. Dis.**, v. 17, n. 6, p. 658-63, 2013.
- 88 VASSILIOU, V.A.; MOYSSAKIS, I.; BOKI, K.A.; MOUTSOPOULOS, H.M. Is the heart affected in primary Sjögren's syndrome? An echocardiographic study. **Clin. Exp. Rheumatol.**, v. 26, n. 1, p. 109-12, 2008.
- 89 KATSIIOUGIANNIS, S. et al. Salivary gland epithelial cells: a new source of the immunoregulatory hormone adiponectin. **Arthritis Rheum.**, v. 54, n. 7, p. 2295-99, 2006.

- 90 HANSSON, G.K.; HERMANSSON, A. The immune system in atherosclerosis. **Nat. Immunol.**, v. 12, n. 3, p. 204-12, 2011.
- 91 MOORE, K.J.; TABAS, I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. **Cell**, v. 145, n. 3, p. 341-55, 2011.
- 92 ZERNECKE, A.; WEBER, C. Chemokines in atherosclerosis: proceedings resumed. **Arterioscler.Thromb. Vasc. Biol.**, v. 34, n. 4, p. 742-50, 2014.
- 93 ALVES, M.B.; MOTTA, A.C.; MESSINA, W.C.; MIGLIARI, D.A. Saliva substitute in xerostomic patients with primary Sjogren's syndrome: a single-blind trial. **Quintessence Int.**, v. 35, n. 5, p. 392-6, 2004.
- 94 GRAVANI, F. et al. Subclinical atherosclerosis and impaired bone health in patients with primary Sjogren's syndrome: prevalence, clinical and laboratory associations. **Arthritis Res. Ther.**, v. 17, n. 99, p. 1-13, 2015.
- 95 VALIM, V. et al. Recomendações para o tratamento da Síndrome de Sjögren. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 55, n. 5, p. 446-457, set/out. 2015.
- 96 ZARDI et al. Subclinical carotid atherosclerosis in elderly patients with primary Sjögren syndrome: a duplex doppler sonographic study. **Int. J. Immunopathol. Pharmacol.**, v. 27, n. 4, p. 645-51, 2014.
- 97 ABELLA, V. Adipokines, Metabolic Syndrome and Rheumatic Diseases. **J. Immunol. Res.**, v. 2014, p. 1-14, 2014.
- 98 HARMMER, H.B. et al. The soluble biomarker calprotectin (a S100 protein) is associated to ultrasonographic synovitis scores and is sensitive to change in patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab. **Arthritis Res. Ther**, v. 13, n. 5, p. 1-7, 2011.
- 99 ANGEL, K. et al. Effect of 1-Year Anti-TNF- α Therapy on Aortic Stiffness, Carotid Atherosclerosis, and Calprotectin in Inflammatory Arthropathies: A Controlled Study. **Am. J. Hypert.**, v. 25, n. 6, p. 644-50, 2012.
- 100 EBRAHIMI-MAMAEGHANI M. et al. Adiponectin as a potential biomarker of vascular disease. **Vasc. Health Risk Manag.**, v. 11, p. 55-70, jan. 2015.

**ANEXO A – CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DO AMERICAN-
EUROPEAN CONSENSUS GROUP (AECG) PARA O DIAGNÓSTICO DA
SÍNDROME DE SJÖGREN**

Classificação internacional revisada

- Sintomas oculares: uma resposta positiva em uma das seguintes perguntas:
 1. Você tem sensação de olho seco diariamente por mais de três meses?
 2. Você tem sensação de areia nos olhos?
 3. Você usa lubrificante ocular mais de três vezes por dia?
- Sintomas orais: uma resposta positiva em uma das seguintes perguntas:
 1. Você tem sentido boca seca diariamente por mais de três meses?
 2. Você tem inchaço de glândulas salivares recorrentes ou persistentes na idade adulta?
 3. Você usa com frequência líquidos para ajudar a engolir alimentos secos?
- Sinais oculares: evidência de envolvimento ocular definido como um teste positivo em um dos seguintes:
 1. Teste de Schirmer tipo I, sem anestesia (<5mm em 5 minutos);
 2. Escore de Rosa Bengala ou outro teste de olho seco (escore >4 de van Bijsterveld).
- Histopatologia: presença de sialoadenite focal linfocítica em glândula salivar menor (obtida de mucosa de aparência normal), lida por patologista experiente, com um escore de foco >1, definida como o número de foco linfocítico (que são adjacentes aos ácinos de aparência normais e contendo mais de 50 linfócitos) por 4mm² de tecido glandular.
- Envolvimento de glândula salivar: envolvimento objetivo definido por um teste positivo em um dos seguintes:
 1. Fluxo salivar total não estimulado (<1,5ml em 15 minutos);
 2. Sialografia de parótidas mostrando a presença de sialectasias difusas (padrão puntata, cavitário ou destrutivo), sem evidência de obstrução em ductos maiores;
 3. Cintilografia salivar mostrando redução da captação, da concentração e/ou excreção reduzida do traçador.
- Presença de autoanticorpos: anti-SSA(RO), anti-SSB(LA) ou ambos

Critérios revisados de classificação

Sjögren primário:

-
- a) a presença de 4 itens, desde que o item IV ou VI seja positivo.
 - b) a presença de 3 dos 4 critérios objetivos (itens III, IV, V ou VI).

Sjögren secundário:

Pacientes com doença potencialmente associada (por exemplo outra doença do tecido conjuntivo bem definida), a presença dos itens I ou II e mais dois dos itens III, IV ou V.

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

TÍTULO DA PESQUISA: Avaliação de fatores de risco cardiovascular tradicionais e não tradicionais na Síndrome de Sjögren

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Valéria Valim

JUSTIFICATIVA, OBJETIVOS E PROCEDIMENTOS DA PESQUISA: A Síndrome de Sjögren Primária (SSP) é uma doença reumática que provoca principalmente secura na boca e nos olhos, fadiga e dor articular, mas também pode afetar qualquer órgão. Várias doenças reumáticas provocam maior risco cardiovascular devido a vários fatores de risco. Acredita-se que na Síndrome de Sjögren isso também aconteça. Se esta hipótese se confirmar, o tratamento destes fatores deve fazer parte do tratamento da doença. Esta pesquisa tem o objetivo de estudar a formação da aterosclerose (placas nas artérias) precoce e alterações das artérias por meio de ultrassonografia, bem como correlacionar com a presença de fatores de risco tradicionais (hipertensão, obesidade, dislipidemia, idade, história familiar) e fatores de risco relacionados à doença como marcadores de inflamação, citocinas e atividade de doença por meio de exames de sangue e de urina. Além dos exames, você também preencherá um questionário sobre secura, dor e fadiga.

DESCONFORTO E POSSÍVEIS RISCOS ASSOCIADOS À PESQUISA: Além da avaliação clínica para preenchimento do ESSDAI, os pacientes serão submetidos aos seguintes procedimentos: análise sanguínea, análise imunológica, análise urinária e ultrassonografia de carótidas, membros inferiores e superiores. Estes são exames de baixo risco e utilizados rotineiramente na avaliação clínica destes pacientes.

O preenchimento do questionário não oferece qualquer risco ao paciente.

BENEFÍCIOS DA PESQUISA: Os pacientes serão beneficiados pela avaliação criteriosa e acompanhamento de todos os sistemas que podem ser envolvidos pela Síndrome de Sjögren para adequada intervenção terapêutica. Pacientes com aterosclerose e elevado risco cardiovascular poderão ser beneficiar de medidas de prevenção para complicações cardiovasculares.

MÉTODOS ALTERNATIVOS EXISTENTES: O único método alternativo existente é a experiência clínica do médico no momento da avaliação do paciente.

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA: Quando necessário, o voluntário receberá toda a assistência médica aos agravos decorrentes das atividades da pesquisa. Para os moradores do Espírito Santo, basta procurar o(a) pesquisador (a) Valéria Valim Cristo, pelo telefone 3325-7325, e também no endereço **HUCAM** - Hospital Cassiano Antônio Moraes/ Serviço de Reumatologia (casa 06) – Av. Marechal Campos s/nº - Maruípe – Vitória/ES.

ESCLARECIMENTOS E DIREITOS

Em qualquer momento, o voluntário poderá obter esclarecimentos sobre todos os procedimentos utilizados na pesquisa e nas formas de divulgação dos resultados. Tem também a liberdade e o direito de recusar sua participação ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem prejuízo do atendimento usual fornecido pelos pesquisadores.

CONFIDENCIALIDADE E AVALIAÇÃO DOS REGISTROS

As identidades dos voluntários serão mantidas em total sigilo por tempo indeterminado, tanto pelo pesquisador como pela universidade onde será realizado. Os resultados dos procedimentos executados na pesquisa serão analisados e divulgados em palestras, conferências, periódico científico ou outra forma de divulgação que propicie o repasse dos conhecimentos para a sociedade e para autoridades normativas em saúde nacionais ou internacionais, de acordo com as normas legais regulatórias de proteção nacional ou internacional.

RESSARCIMENTO DE DESPESAS E INDENIZAÇÕES:

Os pacientes não terão qualquer despesa com os procedimentos clínicos e laboratoriais da pesquisa.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu, _____, portador da Carteira de identidade nº _____ expedida pelo Órgão _____, por me considerar devidamente informado (a) e esclarecido(a) sobre o conteúdo deste termo e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente expresse meu consentimento para inclusão, como sujeito da pesquisa. Fui informado que meu número de registro na pesquisa é _____ e recebi cópia desse documento por mim assinado.

Assinatura do Participante Voluntário

DATA

Impressão Dactiloscópica

(p/ analfabeto)

Assinatura do Responsável pelo Estudo

Data

Caso você tenha dificuldade em entrar em contato com o pesquisador responsável, comunique o fato à Comissão de Ética em Pesquisa do pelo telefone 33357504 ou pelo e-mail cep@ccs.ufes.br.”

ANEXO C –ESSDAI

ESSDAI- EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index

<u>Domínio constitucional (3*)</u>		
<i>Por favor, atenção para não avaliar sintomas constitucionais não relacionados à doença (como febre de origem infecciosa, perda voluntária de peso).</i>		
Nenhuma atividade	ausência dos sintomas a seguir	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	febre moderada ou intermitente (37,5°-38,5°C) / suores noturnos ou perda de peso involuntária de 5% a 10% do peso corporal	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	febre alta (>38,5°C) / suores noturnos ou perda de peso involuntária de > 10% do peso corporal	<input type="checkbox"/> 2

*peso de cada domínio

<u>Domínio de linfadenopatia (4)</u>		
Nenhuma atividade	ausência das características a seguir	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	linfadenomegalia \geq 1 cm em qualquer região ou \geq 2 cm na região inguinal	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	linfadenomegalia \geq 2 cm em qualquer região ou \geq 3 cm em região inguinal ou esplenomegalia (cl clinicamente palpável ou avaliada por exame de imagem)	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	doença proliferativa maligna das células B recente	<input type="checkbox"/> 3

<u>Domínio glandular (2)</u>		
<i>Por favor, atenção para não avaliar aumento do volume glandular não relacionado à doença (como litíase ou infecção).</i>		
Nenhuma atividade	ausência de aumento glandular	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	pequeno aumento glandular com: <ul style="list-style-type: none"> • parótida aumentada (\leq 3cm) ou aumento discreto submandibular ou lacrimal¹ 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	aumento glandular maior com: <ul style="list-style-type: none"> • parótida aumentada (>3cm) ou aumento importante submandibular ou lacrimal¹ 	<input type="checkbox"/> 2

¹ A distinção entre aumento discreto ou importante do volume glandular submandibular ou lacrimal fica a critério médico

<u>Domínio articular (2)</u>		
<i>Por favor, atenção para não avaliar envolvimento articular não relacionado à doença, como a osteoartrite.</i>		
Nenhuma atividade	ausência de envolvimento articular ativo no momento	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	artralgia nas mãos, punhos, tornozelos e pés acompanhados por rigidez matinal (>30 min)	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	1 a 5 artrites dentre as 28 ²	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	\geq 6 artrites dentre as 28 ²	<input type="checkbox"/> 3

² As 28 articulações incluídas no cálculo do DAS28 (Disease Activity Score 28) são ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalângicas, interfalângicas proximais e joelhos.

Domínio cutâneo (3)

Por favor, atenção em avaliar como "Nenhuma atividade" lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (seqüela) do que à atividade da doença ou envolvimento cutâneo não relacionado à doença.

Nenhuma atividade	ausência de envolvimento cutâneo ativo no momento	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	eritema multiforme	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	vasculite cutânea limitada, incluindo vasculite urticariforme ³ ou púrpura limitada aos pés e tornozelos ou lúpus cutâneo subagudo	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	vasculite cutânea difusa, incluindo vasculite urticariforme ³ ou púrpura difusa ou úlceras relacionadas à vasculite	<input type="checkbox"/> 3

3 Vasculite cutânea limitada envolve <18% da área de superfície corporal; Vasculite cutânea difusa envolve >18% da área de superfície corporal. Área de superfície corporal (ASC) é definida utilizando a regra dos nove (usado para avaliar a extensão de queimaduras) como vem a seguir: Palma (excluindo os dedos)= 1% ASC; cada membro inferior = 18% ASC; cada membro superior = 9% ; tronco (frontal) = 18% ASC; tronco (dorsal) = 18% ASC; face e pescoço=9% ASC.

Domínio respiratório (5)

Por favor, atenção em avaliar como "Nenhuma atividade" lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (seqüela) do que à atividade da doença ou envolvimento respiratório não relacionado à doença (ex.cigarro).

Nenhuma atividade	ausência de envolvimento pulmonar ativo no momento	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	tosse persistente ou envolvimento brônquico sem nenhuma alteração radiológica no raio X simples ou evidência de doença pulmonar intersticial ao Rx simples ou TCAR, com: <ul style="list-style-type: none"> • nenhuma dispnéia e • prova de função pulmonar normal 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	envolvimento pulmonar moderadamente ativo, tal como doença pulmonar intersticial diagnosticada pela TCAR com: <ul style="list-style-type: none"> • dispnéia aos grandes esforços (NYHA⁴ II) ou prova de função pulmonar alterada dentro dos seguintes parâmetros: 70% >DLCO⁵ ≥ 40% e/ou 80% > CVF⁶ ≥ 60% 	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	envolvimento pulmonar altamente ativo como doença pulmonar intersticial diagnosticada pela TCAR com: <ul style="list-style-type: none"> • dispnéia aos pequenos esforços ou ao repouso (NYHA⁴ III, IV) ou prova de função pulmonar alterada: DLCO⁵< 40% e/ou CVF⁶< 60% 	<input type="checkbox"/> 3

Para o diagnóstico da doença pulmonar intersticial a TCAR (Tomografia computadorizada de alta resolução) ou radiografia simples são necessárias e devem ter sido realizadas nos últimos dois anos. 4 NYHA (classificação funcional da New York Heart Association). 5 DLCO (Prova de difusão de dióxido de carbono); 6 CVF (Capacidade vital forçada).

Domínio renal (5)

Por favor, atenção em avaliar como "Nenhuma atividade" lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (seqüela) do que à atividade da doença e envolvimento renal não relacionado à doença.

Se a biópsia for feita, favor classificar a atividade baseada, primeiramente, nas características histológicas.

Nenhuma atividade	ausência de envolvimento renal ativo no momento: <ul style="list-style-type: none"> • proteinúria < 0,5g/d, nenhuma hematúria, nenhuma leucocitúria, nenhuma acidose ou • proteinúria estável de longa duração devido ao dano/seqüela 	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	evidência de envolvimento específico da atividade renal, limitada a: <ul style="list-style-type: none"> • acidose tubular sem insuficiência renal ou • envolvimento glomerular: <ul style="list-style-type: none"> - com proteinúria (entre 0,5 e 1 g/dl) e - sem hematúria ou insuficiência renal (TGF⁷ ≥ 60ml/min) 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	atividade renal moderada: <ul style="list-style-type: none"> • acidose tubular com insuficiência renal (TGF⁷ < 60 ml/min) ou • envolvimento glomerular: <ul style="list-style-type: none"> - com proteinúria entre um e 1,5g/dl e - sem hematúria ou insuficiência renal (TGF⁷ ≥ 60ml/min) ou • evidência histológica: <ul style="list-style-type: none"> - glomerulonefrite e/ou - infiltração intersticial linfóide importante 	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	atividade renal alta: <ul style="list-style-type: none"> • envolvimento glomerular: <ul style="list-style-type: none"> - proteinúria > 1,5 g/dl e/ou - hematúria e/ou - insuficiência renal (TGF⁷ < 60 ml/min) ou • evidência histológica de: <ul style="list-style-type: none"> - glomerulonefrite proliferativa ou - crioglobulinemia relacionada ao envolvimento renal 	<input type="checkbox"/> 3

7 TGF (Taxa de filtração glomerular) calculada com a fórmula MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)

Domínio muscular (6)

Por favor, atenção para não avaliar envolvimento muscular não relacionado à doença, como fraqueza devido a corticosteróides.

Nenhuma atividade	ausência de envolvimento muscular ativo no momento	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	miosite levemente ativa diagnosticada pela EMG ou biópsia com: <ul style="list-style-type: none"> • ausência de fraqueza e creatinaquinase alterada (N* < CK ≤ 2N) 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	miosite moderadamente ativa diagnosticada pela EMG ou biópsia com: <ul style="list-style-type: none"> • fraqueza (déficit máximo de 4/5) ou creatinaquinase elevada (2N < CK ≤ 4N) 	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	miosite altamente ativa diagnosticada pela EMG ou biópsia com: <ul style="list-style-type: none"> • fraqueza (déficit ≤ 3/5) ou creatinaquinase elevada (> 4N) 	<input type="checkbox"/> 3

*N=normal (valor de referência). EMG= eletromiografia

Domínio do sistema nervoso periférico (5)		
<i>Por favor, atenção em avaliar como "Nenhuma atividade" lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (seqüela) do que à atividade ou envolvimento do sistema nervoso periférico não relacionado à doença.</i>		
Nenhuma atividade	ausência de envolvimento ativo do sistema nervoso periférico, no momento	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	evidência de envolvimento ativo do sistema nervoso periférico, como: <ul style="list-style-type: none"> • polineuropatia periférica axonal diagnosticada pelo ECN/ENMG ou • neuralgia do nervo trigêmio (V nervo craniano) 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	evidência de envolvimento moderadamente ativo, do sistema nervoso periférico, como: <ul style="list-style-type: none"> • neuropatia axonal motora e sensorial diagnosticada pelo ECN/ENMG, sem déficit motor ou • neuropatia sensorial pura com a presença de vasculite crioglobulinêmica ou • gangliopatia⁸ com sintomas restritos à ataxia moderada ou • polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (CIDP)⁹ com deficiência funcional moderada (sem déficit motor ou ataxia moderada) ou • envolvimento do nervo craniano de origem periférica - exceto nervo do Trigêmio (V) 	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	evidência de envolvimento altamente ativo do sistema nervoso periférico, como: <ul style="list-style-type: none"> • neuropatia axonal motora e sensorial diagnosticada pela ECN/ENMG com déficit motor $\leq 3/5$ ou • envolvimento do nervo periférico atribuído à vasculite (mononeurite múltipla) ou • ataxia severa atribuída à ganglionopatia⁸ ou • polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (CIDP)⁹ com deficiência funcional severa: déficit motor $\leq 3/5$ ou ataxia grave 	<input type="checkbox"/> 3

8 Deficiência sensorial pura com ataxia e deficiência difusa ou abolição do potencial sensitivo no ECN (estudo da condução nervosa)

9 Poliradiculoneuropatia com sintomas clínicos sugestivos (déficit sensoriomotor dos 4 membros, déficit motor proximal, arreflexia generalizada, sintomas sensoriais iniciais afetando membros superiores, e/ou associado a envolvimento do nervo craniano), nível de proteína aumentado e/ou ECN anormal (latência distal motora prolongada, velocidade da condução nervosa reduzida, latência prolongada da onda F, bloqueio da condução e/ou dispersão temporal).

Domínio do sistema nervoso central (5)		
<i>Por favor, atenção em avaliar como "Nenhuma atividade" lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (seqüela) do que à atividade da doença ou envolvimento do sistema nervoso central não relacionado à doença.</i>		
Nenhuma atividade	ausência de envolvimento ativo do SNC no momento	<input type="checkbox"/> 0
Atividade moderada	manifestações clínicas moderadamente ativas do SNC, como: <ul style="list-style-type: none"> • envolvimento de nervo craniano de origem central ou • neurite óptica ou • síndrome semelhante à esclerose múltipla com sintomas restritos à deficiência sensorial pura ou deficiência cognitiva comprovada 	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	manifestações clínicas altamente ativas do SNC, como: <ul style="list-style-type: none"> • vasculite cerebral com acidente vascular cerebral ou ataque isquêmico transitório • convulsões ou • mielite transversa ou • meningite linfocítica ou • síndrome semelhante à esclerose múltipla com déficit motor 	<input type="checkbox"/> 3

Domínio hematológico (2)

Por favor, atenção: levando em conta anemia, neutropenia e trombocitopenia, somente a citopenia auto-imune deve ser considerada; não avaliar citopenia que não esteja relacionada à doença (como deficiência de vitamina ou de ferro, citopenia induzida por droga, como por exemplo, linfocitopenia associada à ciclofosfamida).

Nenhuma atividade	ausência de citopenia auto-imune	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	citopenia de origem auto-imune com: <ul style="list-style-type: none"> neutropenia¹⁰ ($1000 < \text{neutrófilos} < 1500/\text{mm}^3$) ou anemia¹¹ ($10 < \text{Hb} < 12\text{g/dl}$) ou trombocitopenia¹² ($100.000 < \text{plaquetas} < 150.000/\text{mm}^3$) ou linfopenia ($500 < \text{linfócitos} < 1000/\text{mm}^3$) 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	citopenia de origem auto-imune com: <ul style="list-style-type: none"> neutropenia¹⁰ ($500 \leq \text{neutrófilos} \leq 1000/\text{mm}^3$) ou anemia¹¹ ($8 \leq \text{Hb} \leq 10\text{g/dl}$) ou trombocitopenia¹² ($50.000 \leq \text{plaquetas} \leq 100.000/\text{mm}^3$) ou linfopenia ($\leq 500/\text{mm}^3$) 	<input type="checkbox"/> 2
Atividade alta	citopenia de origem auto-imune com: <ul style="list-style-type: none"> neutropenia¹⁰ ($\text{neutrófilos} < 500/\text{mm}^3$) ou anemia¹¹ ($\text{Hb} < 8 \text{ g/dl}$) ou trombocitopenia¹² ($\text{plaquetas} < 50.000/\text{mm}^3$) 	<input type="checkbox"/> 3

¹⁰Neutropenia sem nenhuma etiologia conhecida.

¹¹Anemia com o teste de Coombs positivo e aumento na contagem de reticulócitos

¹² Trombocitopenia de origem periférica com nenhuma outra etiologia encontrada, ou em caso de dificuldades para realização de identificação de auto-anticorpos anti-plaquetas e/ou a presença de megacariócitos de aspirado de medula óssea e/ou anemia auto-imune associada.

Domínio biológico (1)

Nenhuma atividade	ausência de qualquer uma das seguintes alterações	<input type="checkbox"/> 0
Atividade baixa	<ul style="list-style-type: none"> pico clonal ou hipocomplementemia (C4 ou C3 ou CH50 baixos) ou hipergamaglobulinemia ou nível de IgG entre 1600 e 2000mg/dL 	<input type="checkbox"/> 1
Atividade moderada	<ul style="list-style-type: none"> presença de crioglobulinemia ou hipergamaglobulinemia ou nível alto de IgG > 2000mg/dL ou início recente de¹³ hipogamaglobulinemia ou diminuição recente de nível de IgG (<500mg/dL) 	<input type="checkbox"/> 2

¹³ Nos últimos 6 meses

ANEXO D – ESSPRI

ESSPRI

EULAR Sjögren's Syndrome Patients Reported Index

Seu médico pediu que você respondesse algumas perguntas relacionadas com a sua doença. Para responder as perguntas, favor levar em consideração a gravidade de seus sintomas nas piores fases apenas durante as **duas últimas semanas**.

Por favor, assinale a alternativa que melhor descreve sua resposta.

Por favor, responda todas as perguntas com atenção.

Exemplo:

Nenhuma dor	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Máximo de dor imaginável
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

1) O quanto a sua **secura** tem sido grave durante as duas últimas semanas?

Nenhuma secura	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Máximo de ressecamento imaginável
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

2) O quanto a sua **fadiga** tem sido grave durante as duas últimas semanas?

Nenhuma fadiga	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Máximo de fadiga imaginável
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

3) O quanto a sua **dor**(dores nas juntas ou músculos, nos seus braços ou pernas) tem sido grave durante as duas últimas semanas?

Nenhuma dor	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Máximo de dor imaginável
	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

**ANEXO E – FATORES DE RISCO PARA DOENÇA ARTERIAL CRÔNICA
ATEROSCLERÓTICA E DE EVENTOS CARDIOVASCULARES
ATEROSCLERÓTICOS**

Quadro1: Definição de fatores de risco para doença arterial crônica aterosclerótica e de eventos cardiovasculares ateroscleróticos

Fatores de risco	Definições
Evento coronariano prévio	Relato de história de IAM, angioplastia ou CRVM
AVCI	História de AVC com déficit focal com duração maior do que 24 horas ou seqüela ao exame físico
História familiar positiva para DAC	História de IAM, angioplastia, CRVM ou morte súbita cardíaca em parentes de primeiro grau (idade inferior a 55 anos em homens e 65 anos em mulheres)
Hipertensão sistêmica	arterial PAS \geq 140 mmHg ou PAD \geq 90 mmHg em pelo menos duas ocasiões ou uso de anti-hipertensivo
Tabagismo	Auto referido
Obesidade	Índice de massa corporal acima de 30 kg/m ²
Obesidade abdominal	Circunferência abdominal, medida com fita métrica traçando uma linha imaginária num ponto equidistante entre a borda inferior da 12 ^a costela e a crista ilíaca superior altura da cicatriz umbilical, acima de 80 cm em mulheres e 94 cm em homens é considerada alterada
Diabetes melitus	Glicemia de jejum \geq 126 mg/dl em, pelo menos, duas ocasiões, ou uso de hipoglicemiantes orais ou insulina
Dislipidemia	Colesterol total \geq 200 mg/dl ou c-HDL $<$ 40 mg/dl ou c-LDL \geq 130 mg/dl ou uso de hipolipemiantes orais
Hipertrigliceridemia	Triglicerídeos \geq 150 mg/dl
Menopausa	Última menstruação espontânea há mais de um ano; ou uso de TRH; ou irregularidade menstrual ou amenorréia há menos de um ano

DAC = doença arterial coronariana; IAM = infarto agudo do miocárdio; CRVM = cirurgia de revascularização miocárdica; AVCI = acidente vascular cerebral isquêmico; PAS = pressão arterial sistêmica; PAD = pressão arterial diastólica; CoIT = colesterol total; c-HDL = colesterol de alta densidade; c-LDL = colesterol de baixa densidade; TGLs = triglicerídeos; TRH = terapia de reposição hormonal.

ANEXO F – ESCORE DE RISCO GLOBAL

MULHER							
Pontos	Idade	HDL	Colesterol total	PAS não tratada	PAS tratada	Tabagismo	diabetes
-3				<120			
-2		60					
-1		50-59			<120		
0	30-34	45-49	<160	120-129		NÃO	NÃO
1		35-44	160-199	130-139			
2	35-39	<35		140-149	120-129		
3			200-239		130-139	SIM	
4	40-44		240-279	150-159			SIM
5	45-49		280+	160	140-149		
6					150-159		
7	50-54				160+		
8	55-59						
9	60-64						
10	65-69						
11	70-74						
12	75+						

XAVIER, H.T.; IZAR, M.C.; FARIA NETO, J.R.; ASSAD, M.H.; ROCHA, V.Z. et al. [V Consenso Brasileiro de Dislipidemias e da Prevenção de Aterosclerose]. Arq. Bras. Cardiol., v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

HOMEM							
Pontos	Idade	HDL	Colesterol total	PAS não tratada	PAS tratada	Tabagismo	Diabetes
-3				<120			
-2		60					
-1		50-59					
0	30-34	45-49	<160	120-129	<120	NÃO	NÃO
1		35-44	160-199	130-139			
2	35-39	<35	200-239	140-159	120-129		
3			240-279	160	130-139		SIM
4			280+		140-159	SIM	
5	40-44				160+		
6	45-49						
7							
8	50-54						
9							
10	55-59						
11	60-64						
12	65-69						
13							
14	70-74						
15	75+						

XAVIER, H.T.; IZAR, M.C.; FARIA NETO, J.R.; ASSAD, M.H.; ROCHA, V.Z. et al. [V Consenso Brasileiro de Dislipidemias e da Prevenção de Aterosclerose]. Arq. Bras. Cardiol., v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

PONTUAÇÃO DO RISCO DO HOMENS	
PONTO	RISCO (%)
≤-3	<1
-2	1.1
-1	1.4
0	1.6
1	1.9
2	2.3
3	2.8
4	3.3
5	3.9
6	4.7
7	5.6
8	6.7
9	7.9
10	9.4
11	11.2
12	13.2
13	15.6
14	18.4
15	21.6
16	25.3
17	29.4
18+	>30

PONTUAÇÃO DO RISCO MULHERES	
PONTO	RISCO (%)
≤-2	<1
-1	1.0
0	1.2
1	1.5
2	1.7
3	2.0
4	2.4
5	2.8
6	3.3
7	3.9
8	4.5
9	5.3
10	6.3
11	7.3
12	8.6
13	10.0
14	11.7
15	13.7
16	15.9
17	18.5
18	21.5
19	24.8
20	28.5
21+	>30

XAVIER, H.T.; IZAR, M.C.; FARIA NETO, J.R.; ASSAD, M.H.; ROCHA, V.Z. et al. [V Consenso Brasileiro de Dislipidemias e da Prevenção de Aterosclerose]. Arq. Bras. Cardiol., v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

ANEXO G – PROTOCOLO DE APROVAÇÃO CEP

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CASSIANO ANTÔNIO DE
MORAES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do Risco Cardiovascular na Síndrome de Sjögren

Pesquisador: valéria valim

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 20976613.4.0000.5071

Instituição Proponente: Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 407.199

Data da Relatoria: 28/08/2013

Apresentação do Projeto:

A Síndrome de Sjögren é a segunda doença autoimune mais prevalente, e sua associação com doença cardiovascular ainda não foi bem esclarecida como já o foi em outras doenças reumáticas. É provável que a SS incorra em maior risco cardiovascular por maior frequência considerando mecanismos comuns em sua patogênese e na patogênese da doença cardiovascular aterosclerótica

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral deste estudo é avaliar aterosclerose sub-clínica e estabelecida e fatores associados em pacientes com Síndrome de Sjögren primária. Tal avaliação dar-se-á por meio de ultrassonografia de artéria braquial e ultrassonografia de carótida (para determinar a frequência de placa e espessura do complexo médio-intimal, índice tornozelo-braquial e fatores de risco tradicionais e não tradicionais (PCR, gamaglobulinas, imunoglobulinas), citocinas (interleucina-6, sistema TNF - TNF-alfa, receptor 1 e 2 do TNF, quimiocinas (MIG e MCP-1), adipocinas e fator de ativação de célula B (BAFF) - Correlacionar disfunção endotelial e aterosclerose com atividade de doença, marcadores biológicos (PCR, gamaglobulinas, imunoglobulinas), citocinas (interleucina -6, sistema TNF - TNF-alfa, receptor 1 e 2 do TNF, quimiocinas (MIG eMCP-1), adipocinas e fator de ativação de célula B (BAFF)

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1355

Bairro: Santos Dumont

CEP: 29.040-001

UF: ES

Município:

Telefone: (273)335-7130

Fax: (273)335-7130

E-mail: cephucam@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CASSIANO ANTÔNIO DE
MORAES



Continuação do Parecer: 407.199

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O presente estudo não acarreta risco ao paciente e traz como benefício direto um análise minuciosa do seu perfil de risco cardiovascular.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo observacional de avaliação de risco cardiovascular e da presença de doença aterosclerótica em um grupo de pacientes com Síndrome de Sjogren.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Estudo aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado aprova o parecer do relator.

26 de Setembro de 2013

Assinador por:
Fausto Edmundo Lima Pereira
(Coordenador)

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1355

Bairro: Santos Dumont

CEP: 29.040-001

UF: ES **Município:**

Telefone: (273)335 -7130

Fax: (273)335 -7130

E-mail: cephucam@gmail.com

ANEXO H – FICHA CADASTRAL PARA COLETA DE DADOS

DADOS PESSOAIS

PRONTUÁRIO HUCAM: _____

NOME: _____

SEXO: FEMININO () MASCULINO () COR: _____

ENDEREÇO: _____ Nº: _____

COMPLEMENTO: _____ BAIRRO: _____

CIDADE: _____ ESTADO: _____ CEP: _____

TELEFONE FIXO: _____ CELULAR: _____

DATA DE NASCIMENTO: _____ IDADE: _____

NATURALIDADE: _____ NACIONALIDADE: _____

Data dos primeiros sintomas da Síndrome de Sjögren: _____ / _____ / _____

Data de diagnóstico da Síndrome de Sjögren: _____ / _____ / _____

1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO (VITALI,2002)

I. Sintomas oculares		Sim	Não	
Resposta positiva a pelo menos 1 das questões abaixo:				
	Você tem tido secreta nos olhos que incomodam diariamente e persistente por mais de 3 meses?			
	Você tem uma sensação recorrente de areia ou cascalho nos olhos?			
	Você usa colírio por mais de 3 vezes por dia?			
II. Sintomas orais		Sim	Não	
Resposta positiva a pelo menos 1 das questões abaixo:				
	Você tem tido sensação de boca seca por mais de 3 meses?			
	Você tem tido inchaço recorrente e persistente de parótidas?			
	Você costuma beber líquidos para ajudar a engolir alimentos secos?			
III. Sinais oculares		Sim	Não	Não realizado
Há evidência objetiva de envolvimento ocular com resultado positivo em pelo menos um dos dois seguintes testes.				
	Teste de Schirmer sem anestesia (≤ 5 mm em 5 minutos)			

Pontuação do Rosa bengala ou outra pontuação de olho seco (>4 de acordo com o sistema de pontuação de van Bijsterveld)			
IV. Histopatologia:	Sim	Não	Não realizado
Nas glândulas salivares menores, sialoadenite linfocítica focal, avaliada por um perito histopatologista, com uma pontuação foco > 1, definida como um número de focos linfocitários (que é adjacente ao normal-aparecem ácinos mucosos e contêm mais de 50 linfócitos) por 4 mm ² de tecido glandular			
V. Envolvimento da glândula salivar:	Sim	Não	Não realizado
Evidência objetiva de envolvimento da glândula salivar definida por um resultado positivo em pelo menos um dos seguintes testes diagnósticos:			
Fluxo salivar não estimulado (≤ 1.5 ml em 15 minutos)			
Sialografia da parótida mostrando a presença de sialectasias difusas (padrão puntiforme, cavitário ou destrutivo), sem evidência de obstrução na maioria dos ductos			
Cintilografia salivar mostrando captação retardada, concentração reduzida e/ou excreção retardada de contraste			
VI. Auto-anticorpos:	Sim	Não	Não realizado
Presença de auto-anticorpos a antígenos Ro(SSA) no soro			
Presença de auto-anticorpos a antígenos La(SSB) no soro			

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

O paciente possui	Sim	Não
Artrite reumatoide		
Lúpus eritematoso sistêmico		
Esclerose sistêmica		
Doença Mista do Tecido Conjuntivo		
Menor de 18 anos		
Hepatite C		
SIDA		
Radioterapia de cabeça e pescoço no passado		
Linfoma		
Doença enxerto-hospedeiro		
Sarcoidose		
Síndrome de HiperIgG4		

O paciente pode ser incluído no estudo?

Sim **Não**

ATIVIDADE DE DOENÇA

1. ESSDAI: _____ (DATA: ___/___/____)
 2. ESSPRI: _____ (DATA: ___/___/____)
 (DOR:SECURA:FADIGA: / TOTAL: MÉDIA FINAL:)

Medicamento de uso atual (dose): _____

Medicamento de uso prévio (dose/tempo de uso): _____

AVALIAÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR

FATORES TRADICIONAIS

O paciente possui	Sim	Não
Hipertensão arterial sistêmica		
Diabetes mellitus		
Obesidade (IMC≥30Kg/m ²) ALTURA= PESO=		

Escore de Risco Global

Dado	RESPOSTA/ VALOR	PONTUAÇÃO TOTAL
IDADE		
COLESTEROL TOTAL		
HDL		
TABAGISMO		
DM		
PAS		
PAD		
TOTAL	-	

- () alto risco: > 10% para mulheres e >20% para homens
- () risco intermediário: entre 5-10% mulheres entre 5-20% para homens
- () risco baixo: <5%

SÍNDROME METABÓLICA:

- () obesidade abdominal : homem >94 cm e mulher >80 cm
- () hipertrigliceridemia : ≥ 150 mg/dl
- () baixos níveis de HDL :< 40 mg/dl para homens e < 50 mg/dl para mulheres
- () pressão arterial sistólica : ≥ 135 mmHg ou pressão arterial diastólica ≥ 85 mmHg
- () resistência à insulina: glicemia de jejum ≥ 110 mg/dl ou diagnóstico de diabetes

Devem estar presentes pelo menos três dos cinco itens. Preenche critérios para SM?
 sim não

FATORES NÃO TRADICIONAIS

- **USG doppler de carótidas (IMT):**

DIREITA: _____

ESQUERDA: _____

- **Presença de placa:** sim não.

HISTÓRIA FAMILIAR DE DOENÇA CARDIOVASCULAR:

1-ALGUÉM DA SUA FAMÍLIA TEVE INFARTO/ AVE/ AVC/ MORTE SÚBITA/ HAS/ DM?

NÃO

SIM. Quem? Mãe Pai Irmão Avôs (Materno/ Paterno)

QUAL EVENTO? _____

SE INFARTO OU MORTE SÚBITA, QUAL A IDADE NO EVENTO? _____

HISTÓRIA PESSOAL:

1. VOCÊ JÁ INFARTOU (IAM)? SIM NÃO

QUAL SUA IDADE NO EVENTO? _____

2. VOCÊ JÁ TEVE DERRAME (AVC OU AVE)? SIM NÃO

3. VOCÊ JÁ FEZ ANGIOPLASTIA? SIM NÃO

4. VOCÊ TEM DOENÇA RENAL CRÔNICA? SIM NÃO

*PARA MULHERES:

5-VOCÊ ESTÁ NA MENOPAUSA? SIM NÃO

6-VOCÊ FAZ REPOSIÇÃO HORMONAL? SIM NÃO

ANEXO I –ARTIGO SUBMETIDO

Title: Serum calprotectin as a biomarker of carotid atherosclerosis in patients with primary Sjögren's syndrome

Running title: Promotors of carotid atherosclerosis plaque in pSS

Gabriela Moreira Balarini, MD¹

Eliana Zandonade, PhD²

Leandro Tanure, MD³

Gilda Aparecida Ferreira³, MD, PhD

Wildner Mardegan Sardenberg, MD¹

Érica Vieira Serrano, MD, Master¹

Cléia C. Dias, MD, Master¹

Túlio Pinho Navarro, MD, PhD³

João Felipe Tonini, MD¹

Hilde Haugedal Nordal⁵, MD

Piotr Mateusz Mydel^{4,5}, MD, PhD

Johan G. Brun^{4,5}, MD, PhD

Karl Albert Brokstad⁵, PhD

Eva Gerds⁴, MD, PhD

Roland Jonsson^{4,5}, MD, PhD

Valéria Valim^{1,5}, MD, PhD

Institutions

1 The Center of Health Science, Federal University of Espírito Santo (UFES), Brazil

2 The Department of Statistics, Federal University of Espírito Santo (UFES), Brazil

3 The Department of Locomotor System, Federal University of Minas Gerais, Brazil

4 The Department of Clinical Science, University of Bergen, Norway

5 Broegelmann Research Laboratory, University of Bergen, Norway

Corresponding authors

Valéria Valim, MD, PhD, Professor

val.valim@gmail.com

Phone/Fax: + 55 (27) 40092222

Mobile: + 55 (27) 99987 4665

Broegelmann Research Laboratory

The Department of Clinical Science

University of Bergen

Laboratory Bldg, 5th floor, Room 5380

N-5021 Bergen, Norway

Center of Health Science

Federal University of Espírito Santo

Avenida Marechal Campos, 1468, Maruípe

Zip Code: 29043-900 Vitória - ES, Brazil.

Financial support

Valéria Valim is sponsored by the Broegelmann Research Laboratory and by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) of the National Research Funding of Brazil.

All authors have contributed equally to the drafting and critical review of the manuscript.

Authors declare no conflict of interest.

Abstract

Objective: We aimed to identify the association of carotid atherosclerosis with the traditional risk factors, disease features, cytokine profile, and calprotectin in patients with primary Sjögren's syndrome (pSS). **Methods:** 63 primary pSS patients and 63 age-sex matched healthy controls underwent carotid ultrasound, clinical, and laboratory evaluations. The presence of carotid plaques was taken as carotid atherosclerosis. The covariates of carotid atherosclerosis were identified in univariate and multivariate regressions. **Results:** Patients with pSS had higher prevalence of carotid atherosclerosis (13% vs. 2%, $p < 0.05$), calprotectin, tumoral necrosis factor receptor 2 (TNF-R2), hepatocyte growth factor (HGF), and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) than controls. Mean while, sex, menopause, and the prevalence of traditional cardiovascular did not differ (all, $p > 0.05$). In univariate analyses, serum calprotectin, the most traditional cardiovascular (age, male sex, MetS, hypertension, hypertriglyceridemia, and serum creatinine), and some disease-associated risk factors (glucocorticoid or saliva substitute use, ESSDAI) were associated with a higher risk for plaque. In a multivariate analysis, a higher serum calprotectin was associated with carotid atherosclerosis independent of creatinine and systolic blood pressure (OR=1.001[95% CI 1.0001-1.001], $p = 0.023$). **Conclusion:** In patients with pSS, calprotectin is a biomarker of carotid atherosclerosis, is modulated by traditional cardiovascular risk factors, as well as the disease itself.

Key words: Sjögren's syndrome, subclinical cardiovascular disease, atherosclerosis, risk factors, biomarkers, calprotectin

Introduction

Cardiovascular disease is a frequent and potentially severe complication of the autoimmune rheumatic disease, well described in systemic lupus erythematosus (1) and rheumatoid arthritis (RA) (2-4) while the literature about primary Sjögren's syndrome (pSS) is scarce. But recent studies from different countries showed that the risk for a cardiovascular event is also higher in pSS as well (5-9).

Atherosclerosis is accelerated in autoimmune diseases, such as SLE and RA, and has been associated with a higher burden of traditional risk factors, production of atherogenic pro-inflammatory cytokines, imbalance between damage and endothelium repair, disease activity (10), and treatment-associated vascular damage (2). Previous research has demonstrated that traditional risk factors like hypertension, hypertriglyceridemia, and low-HDL are also more prevalent in pSS (11-13), but the relationship between atherosclerosis, traditional risk factors, and disease activity is not well explored (7, 14).

A few circulating biomarkers of atherosclerosis have been evaluated in pSS (15-17). Calprotectin may be of potential interest as a biomarker of atherosclerosis. It binds receptors of advanced glycation end products (RAGE), thereby activating the innate system and stimulating pro-inflammatory cytokine production by macrophages in the atherosclerotic plaque (18, 19).

So far, only a few studies evaluating the relation between inflammatory biomarkers, traditional cardiovascular risk factors, and carotid atherosclerosis have been published from pSS patients and with conflicting results (15, 20-22). Thus, the objectives of this study were to evaluate if carotid atherosclerotic plaque prevalence was higher in pSS compared to healthy controls and to identify the association of carotid atherosclerosis with traditional risk factors, disease features, cytokine profile, and with calprotectin.

Patients and Methods

Design and study population

In this case-control study, 63 pSS patients classified according to the American-European Consensus Group(23) and 63 age-sex matched controls were included. The patients and controls were recruited from 2 Brazilian university hospitals (The Federal University of Espírito Santo and Federal University of Minas Gerais). The controls were volunteers, mainly workers at the university and were recruited through posters distributed in the hospital. The exclusion criteria for both groups were any other autoimmune inflammatory disease, chronic infection, previous cardiovascular event, and cardiac, renal, respiratory, and/or liver disease or insufficiency, and age ≤ 18 or ≥ 70 years. The study was approved by the Ethics Committee of the University, Hospital Cassiano Antônio de Moraes (protocol number 407.199/2013), and all participants gave written informed consent.

Clinical parameters

Self-reported information on age, sex, ethnicity, family history of premature cardiovascular disease, history of cardiovascular risk-factors, and use of medication was collected using a structured interview facilitated by the same physician (24). Blood pressure measurement was performed in accordance with the guidelines of the Brazilian Society of Hypertension (25), which was considered present if the clinical systolic blood pressure (SBP) ≥ 140 mmHg, diastolic blood pressure (DBP) ≥ 90 mmHg, or when using antihypertensive drug treatment.

Body height and weight were measured, and body mass index (BMI) was calculated. Obesity was considered present if the BMI ≥ 30 kg/m². Waist circumference (WC) was measured at the level midway between the 12th costal arch and the anterior superior iliac crest

and considered increased (abdominal obesity) if WC \geq 80cm for women and \geq 94cm for men, in accordance with the Brazilian Guidelines (26). Diabetes was considered present if fasting glucose \geq 126 mg/dl or use of hypoglycemic drug treatment.

Dyslipidemia was considered present when total cholesterol \geq 200 mg/dl or high-density lipoprotein (HDL) cholesterol $<$ 40 mg/dl or low density lipoprotein (LDL) cholesterol \geq 130 mg/dl or statin treatment or triglycerides \geq 150 mg/dl (26).

Metabolic syndrome (MetS) was identified if \geq 3 of the following 5 criteria were present (27): WC (\geq 94 cm for men and \geq 80 cm for women), HDL-cholesterol ($<$ 40 mg/dl for men, and $<$ 50 mg/dl for women), hypertension (SBP \geq 130 mmHg or DBP \geq 85 mmHg or antihypertensive drug treatment), hypertriglyceridemia (\geq 150 mg/dl) or fasting glucose \geq 100 mg/dl. We calculated the Global risk score taking sex, age, total and HDL-cholesterol, SBP, smoking and diabetes into account (26, 28, 29).

Carotid Ultrasound

All individuals underwent carotid ultrasound examination performed by the same experienced radiologist (CCD), using B-mode ultrasound (My Lab 70 Xvision, Esaote) and a 6-18 MHz linear transducer (LA435). The common, external and internal carotid arteries were evaluated on both sides, following a standardized protocol (30, 31). Carotid atherosclerosis was defined as presence of atherosclerotic plaque, i.e. identification of either a protrusion into the lumen $>$ 0.5 mm, or a protrusion into the lumen $>$ 50% of intima-media thickness (IMT) at adjacent area, or IMT \geq 1.5mm.

Blood collection and serum storing

Serum samples were obtained by peripheral blood collection in BD Vacutainer® SST™ II Advanced plus blood collection tubes. To allow clotting, the tubes were incubated at room

temperature for 30-60 min. Following centrifugation at 1800 x g for 10 min, the serum layer was extracted, aliquoted and stored at -70°C until analysis.

High-sensitive C-Reactive protein and cytokines analyses

Some biomarkers associated with inflammation and cardiovascular disease were analysed. High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), and interleukins (IL) were analysed by Multiplex system, using commercial kits Milliplex Map®. Beyond hs-CRP, it was included IL-1 β , IL-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), hepatocyte growth factor (HGF), TNF- α and receptors I/II, leptin, resistin, and adiponectin.

Calprotectin

Calprotectin was investigated by commercial kits (CALPROLAB™, Lysaker, Norway).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS version 21 program (IBM, Almond, United States of America). The Kolmogorov-Smirnov test was used to identify Gaussian distribution. Mann-Whitney and t-test were used to compare quantitative variables, as appropriate, and Chi-square test to qualitative parameters. Univariate and multivariate logistic regression analyses were used to identify factors associated with carotid atherosclerosis (plaque). Criteria for including variables in the multivariate models was reaching p value < 0.1 in univariate analysis. For all analysis, p < 0.05 was statistically significant.

Results

Traditional cardiovascular risk factors like hypertension, diabetes, smoking, hypertriglyceridemia, BMI, WC, and MetS did not differ between patients and controls (Table 1). However, the control group showed higher blood pressure, fasting glucose, and cholesterol levels, indicating that knowledge of elevated traditional cardiovascular risk factors may have been a driving force for participation in the project (Table 1). Despite of that, pSS patients had higher prevalence of carotid atherosclerosis (13% vs. 2%, $p=0.015$) (Table 2). In univariate analyses, most traditional cardiovascular risk factors were associated with higher risk for presence of carotid atherosclerosis in the total study population (Table 2). In multivariate analysis, having pSS predicted higher risk for presence of carotid atherosclerosis independent of traditional cardiovascular risk factors (Table 3)

Among pSS patients, disease-associated risk factors including glucocorticoid use, constitutional ESSDAI-domain and use of saliva substitute were associated with carotid atherosclerosis plaque (all $p<0.05$) (Table 4). In contrast, presence of carotid atherosclerosis was not associated with ESSDAI total score or any other domain of ESSDAI, or with presence of auto-antibodies or leucocyte or lymphocyte count (Table 1). Furthermore, TNF-R2 and some cytokines (MCP-1 and HGF) potentially important in the pathogenesis of atherosclerosis were higher in pSS (Table 5). Interesting, among all measured circulating biomarkers, only calprotectin was independently associated with presence of carotid atherosclerosis in the patient group (Table 3). Of note, this association was independent of serum creatinine and presence of hypertension (Table 3). Calprotectin was also associated with inflammation (CRP) and with cytokines involved with metabolic syndrome (resistin and adiponectin) and with atherogenesis (HGF and TNF receptors) (Table 5).

Discussion

The present study demonstrates that having pSS is associated with increased prevalence of carotid atherosclerosis independent of traditional cardiovascular risk factors. In particular calprotectin was higher in pSS patients and independently associated with presence of carotid plaque, indicating that calprotectin may be used as a biomarker of subclinical atherosclerosis in pSS.

It is well known from other populations that subclinical atherosclerosis evaluated by presence of carotid atherosclerotic plaque by ultrasound is predictive of cardiovascular death, myocardial infarction and ischemic stroke, and significantly improves risk prediction beyond that of clinical risk factor assessment (32). The present results demonstrate that presence of pSS is associated with increased risk for subclinical atherosclerosis, adding to smaller previous studies reporting higher carotid intima-media thickness by ultrasound and higher aortic stiffness measured by pulse wave velocity in pSS patients compared to healthy controls (21, 22, 32). Of note, although most traditional cardiovascular risk factors including age, male gender, MetS, hypertriglyceridemia, hypertension, use of glucocorticoids, and renal function correlated with carotid atherosclerosis in the present study, having pSS predicted presence of carotid atherosclerosis independent of presence of these risk factors. However, our findings also point to the importance of identification and control of traditional risk factors to prevent subclinical atherosclerosis in pSS.

Traditional risk factors like hypertension and dyslipidemia are more prevalent in pSS as demonstrated in three large cohorts from Spain, United Kingdom and Italy (7, 12, 13). Our study found the same high prevalence of hypertension as demonstrated by these studies, 2-fold higher than in Brazilian general population(33). Almost 50% of patients in the present population had MetS, pointing to clustering of cardiovascular risk factors in pSS. The finding that controls had higher blood pressure and higher levels of serum lipids and fasting glucose indicate that participation in the project was motivated by knowledge of increased

cardiovascular risk among the controls. In spite of this confounding factor, carotid atherosclerosis was more common among pSS patients, confirming that disease itself is a risk for atherosclerosis.

Different studies have shown different lipid profile in pSS. In particular lower HDL (11, 16, 34) and hypertriglyceridemia(12, 13), more than hypercholesterolemia(7) have been reported from different pSS cohort studies. The present study demonstrates that hypertriglyceridemia was particularly associated with carotid atherosclerosis in multivariate analysis.

As demonstrated, we found that postmenopausal status, use of glucocorticoid, renal dysfunction, constitutional systemic manifestation, and glandular manifestation indicated by use of saliva substitutes, were associated with presence of carotid atherosclerosis plaque. Constitutional domain represents systemic constitutional symptoms and more inflammation. Recently, Bartolini et al. demonstrated that pSS patients with visceral and central involvement had higher risk for cardiovascular events in a retrospective cohort study, and those with leukopenia had more angina pectoris(7). In the present study, we did not find an association of disease activity evaluated by total ESSDAI and presence of carotid atherosclerosis. Others have reported that Sjögren's syndrome damage index (SSDI) but not ESSDAI was associated with higher aortic stiffness measured by pulse wave velocity (14). Subclinical atherosclerosis indicates the presence of structural damage in the vessel, and it is more logical to have association with an intense inflammatory process for many years, as represented by SSDI. We did not evaluate SSDI, but even matched for aging, creatinine was higher in the patients group and the renal involvement with chronic renal disease was associated with plaque.

Glucocorticoid is a known disease-risk factor that leads to abdominal obesity, hypertension, dyslipidemia and diabetes, all factors predisposing for subclinical atherosclerosis. In pSS, glucocorticoids therapy was associated with higher cardiovascular event rate in an Italian cohort (7). In the present population, use of glucocorticoids was

independently associated with presence of carotid atherosclerosis in multivariate analysis, after adjusting for hypertension and dyslipidemia (data not shown). It points that glucocorticoid should use as less as possible in pSS to avoid cardiovascular risk increase.

As demonstrated, serum levels of calprotectin, TNF-R2, MCP-1, and HGF were higher in pSS than controls, and could potentially contribute to the higher prevalence of carotid atherosclerosis. However, in multivariate analysis, only calprotectin was associated with presence of carotid atherosclerosis, while no independent association was found with serum levels of pro-inflammatory cytokines despite the higher levels in pSS patients compared to controls. Calprotectin is a protein complex compounded by the S100A8 and S100A9 proteins, also referred to as myeloid-related proteins (MRP)-8 and MRP-14, which is secreted by activated neutrophils and monocytes and binds to receptors on advanced glycation end-products and has been associated with enhanced atherosclerosis in animal studies (35). In pSS patients, higher serum calprotectin has been associated with fatigue, potentially leading to sedentary lifestyle and worsening of metabolic risk profile (35). Calprotectin is therefore an interesting biomarker of integrated arterial inflammation and cardiovascular risk factor burden. The present study adds to this knowledge by demonstrating that serum calprotectin is associated with subclinical atherosclerosis in pSS. As proof of concept, anti-inflammatory treatment with tumor necrosis factor alpha (TNF α) inhibitor in rheumatoid arthritis was associated with reduction in aortic stiffness, carotid atherosclerosis and circulating calprotectin. Calprotectin is a biomarker of inflammation and it was associated with CRP in our studied population. Interestingly it was associated with abnormal profile of adipocytokines and with biomarkers of atherosclerosis such as HGF and TNF receptors, suggesting that the presence of calprotectin indicates a cluster of patients with higher risk.

In conclusion, the study demonstrates that patients with pSS have a higher prevalence of carotid atherosclerosis, which is associated with higher serum calprotectin level independent of traditional cardiovascular risk factors. Our findings suggest calprotectin as a biomarker of subclinical atherosclerosis in pSS.

References

1. Bakchine S, Duyckaerts C, Hassine L, Chaunu MP, Turell E, Wechsler B, et al. [Central and peripheral neurologic lesions in primary Gougerot-Sjogren syndrome. Clinicopathological study of a case]. *Revue neurologique*. 1991;147(5):368-75.
2. Hollan I, Meroni PL, Ahearn JM, Cohen Tervaert JW, Curran S, Goodyear CS, et al. Cardiovascular disease in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmunity reviews*. 2013;12(10):1004-15.
3. Schoenfeld SR, Kasturi S, Costenbader KH. The epidemiology of atherosclerotic cardiovascular disease among patients with SLE: a systematic review. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2013;43(1):77-95.
4. Stojan G, Petri M. Atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2013;62(3):255-62.
5. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of subsequent ischemic and hemorrhagic stroke in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. *BMC neurology*. 2012;12:41.
6. Zoller B, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Risk of subsequent coronary heart disease in patients hospitalized for immune-mediated diseases: a nationwide follow-up study from Sweden. *PloS one*. 2012;7(3):e33442.
7. Bartoloni E, Baldini C, Schillaci G, Quartuccio L, Priori R, Carubbi F, et al. Cardiovascular disease risk burden in primary Sjogren's syndrome: results of a population-based multicentre cohort study. *Journal of internal medicine*. 2015.
8. Ramagopalan SV, Pakpoor J, Seminog O, Goldacre R, Graham L, Goldacre MJ. Risk of subarachnoid haemorrhage in people admitted to hospital with selected immune-mediated diseases: record-linkage studies. *BMC neurology*. 2013;13:176.
9. Chiang CH, Liu CJ, Chen PJ, Huang CC, Hsu CY, Chan WL, et al. Primary Sjogren's syndrome and risk of ischemic stroke: a nationwide study. *Clinical rheumatology*. 2014;33(7):931-7.
10. Midtbo H, Gerdtts E, Kvien TK, Olsen IC, Hirth A, Davidsen ES, et al. Disease activity and left ventricular structure in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2015;54(3):511-9.
11. Gerli R, Bartoloni Bocci E, Vaudo G, Marchesi S, Vitali C, Shoenfeld Y. Traditional cardiovascular risk factors in primary Sjogren's syndrome--role of dyslipidaemia. *Rheumatology*. 2006;45(12):1580-1; author reply 1-2.
12. Perez-De-Lis M, Akasbi M, Siso A, Diez-Cascon P, Brito-Zeron P, Diaz-Lagares C, et al. Cardiovascular risk factors in primary Sjogren's syndrome: a case-control study in 624 patients. *Lupus*. 2010;19(8):941-8.
13. Juarez M, Toms TE, de Pablo P, Mitchell S, Bowman S, Nightingale P, et al. Cardiovascular risk factors in women with primary Sjogren's syndrome: United Kingdom primary Sjogren's syndrome registry results. *Arthritis care & research*. 2014;66(5):757-64.
14. Sabio JM, Sanchez-Berna I, Martinez-Bordonado J, Vargas-Hitos JA, Navarrete-Navarrete N, Exposito Ruiz M, et al. Prevalence of and Factors Associated With Increased Arterial Stiffness in Patients With Primary Sjogren's Syndrome. *Arthritis care & research*. 2015;67(4):554-62.
15. Vaudo G, Bocci EB, Shoenfeld Y, Schillaci G, Wu R, Del Papa N, et al. Precocious intima-media thickening in patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52(12):3890-7.

16. Gerli R, Vaudo G, Bocci EB, Schillaci G, Alunno A, Luccioli F, et al. Functional impairment of the arterial wall in primary Sjogren's syndrome: combined action of immunologic and inflammatory factors. *Arthritis care & research*. 2010;62(5):712-8.
17. Gerli R, Bocci EB, Shoenfeld Y. Association of subclinical atherosclerosis and leukopenia in systemic autoimmune diseases: comment on the article by Huang et al. *Arthritis and rheumatism*. 2010;62(9):2823-4; author reply 4.
18. Zernecke A, Weber C. Chemokines in atherosclerosis: proceedings resumed. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2014;34(4):742-50.
19. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature immunology*. 2011;12(3):204-12.
20. Akyel A, Tavit Y, Yayla C, Tufan A, Kaya A, Tezcan ME, et al. Endothelial dysfunction in primary Sjogren syndrome. *The West Indian medical journal*. 2012;61(9):870-2.
21. Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Signorello MC, Gianturco L, Stella D, Boccassini L, et al. New parameters for identifying subclinical atherosclerosis in patients with primary Sjogren's syndrome: a pilot study. *Clinical and experimental rheumatology*. 2014;32(3):361-8.
22. Gravani F, Papadaki I, Antypa E, Nezos A, Masselou K, Ioakeimidis D, et al. Subclinical atherosclerosis and impaired bone health in patients with primary Sjogren's syndrome: prevalence, clinical and laboratory associations. *Arthritis research & therapy*. 2015;17(1):99.
23. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the rheumatic diseases*. 2002;61(6):554-8.
24. Price EJ, Rigby SP, Clancy U, Venables PJ. A double blind placebo controlled trial of azathioprine in the treatment of primary Sjogren's syndrome. *The Journal of rheumatology*. 1998;25(5):896-9.
25. Sociedade Brasileira de C, Sociedade Brasileira de H, Sociedade Brasileira de N. [VI Brazilian Guidelines on Hypertension]. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2010;95(1 Suppl):1-51.
26. Sociedade Brasileira de C, Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, et al. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2013;101(4 Suppl 1):1-20.
27. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640-5.
28. Oliveira GMM. To Estimate or Not to Estimate Cardiovascular Risk? That is the Question. *Internacional Journal of Cardiovascular Sciences*. 2015;28(1):1-3.
29. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-53.
30. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim,

Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. Cerebrovascular diseases. 2012;34(4):290-6.

31. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography. 2008;21(2):93-111; quiz 89-90.
32. Baber U, Mehran R, Sartori S, Schoos MM, Sillesen H, Muntendam P, et al. Prevalence, Impact, and Predictive Value of Detecting Subclinical Coronary and Carotid Atherosclerosis in Asymptomatic Adults: The BioImage Study. Journal of the American College of Cardiology. 2015;65(11):1065-74.
33. Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: a systematic review with meta-analysis. PloS one. 2012;7(10):e48255.
34. Lodde BM, Sankar V, Kok MR, Leakan RA, Tak PP, Pillemer SR. Serum lipid levels in Sjogren's syndrome. Rheumatology. 2006;45(4):481-4.
35. Nordal HH, Brun JG, Halse AK, Madland TM, Fagerhol MK, Jonsson R. Calprotectin (S100A8/A9), S100A12, and EDTA-resistant S100A12 complexes (ERAC) in primary Sjogren's syndrome. Scandinavian journal of rheumatology. 2014;43(1):76-8.
36. Mansour K, Leonhardt CJ, Kalk WW, Bootsma H, Bruin KJ, Blanksma LJ, et al. Lacrimal punctum occlusion in the treatment of severe keratoconjunctivitis Sicca caused by Sjogren syndrome: a uniocular evaluation. Cornea. 2007;26(2):147-50.

Table 1. Baseline characteristics of study population

	pSS (N=63)	Controls (N=63)	p- value
Age (years)	50 ± 11	50 ± 10	0.930
Female (%)	93.7	95.2	0.687
Ethnicity			0.053
Caucasian (%)	19	33.3	
Mixed ethnicity (%)	74.6	54	
Black (%)	6.3	12.7	
Weight (36)	67.42 ± 12.93	70.13 ± 12.25	0.231
BMI (kg/m ²)	26.52 ± 4.43	28.03± 5.04	0.072
Abdominal circumference (cm)	88.8 ±30	90.9 ± 12.3	0.355
Metabolic syndrome (%)	44	49	0.581
Hypertension (%)	40	43	0.717
Diabetes (%)	10	10	0.991
SBP (mmHg)	129 ± 19	137 ± 22	0.021
DBP (mmHg)	81 ±11	90 ± 10	<0.001
Total Cholesterol (mg/dl)	181 ±30	244 ± 267	<0.001
LDL cholesterol (mg/dl)	101.77 ± 26	134.63± 30.98	<0.001
HDL cholesterol (mg/dl)	51 ± 11	51 ± 10	0.988
Triglycerides (mg/dl)	135±77	149 ± 207	0.752
Tobacco (%)	3	3	0.894
Menopause (%)	55	45	0.180
Global risk score	8 ± 6	11 ± 6	0.04
Global risk rate (%)	7.24 ±6.72	9.12 ± 7.45	0.074
Fasting glucose (mg/dL)	91 ± 16	99 ± 29	0.013
Hemoglobin (g/dL)	13.1 ± 1.2	13.3 ± 0.9	0.136
Leucocyte	5869 ± 2287	6092 ±1625	0.530
Lymphocyte	1598 ± 828	2008 ± 473	0.001

(cont.)

Platelets (Units/1,000)	254.5 ±73.9	248.9 ±61.9	0.646
ESR (mm/1h)	31 ± 18	23 ± 18	0.219
Urea (mg/dl)	29.18 ± 8.85	24 ±8	0.001
Serum creatinine (mg/dl)	0.71± 0.13	0.61 ± 0.12	<0.001
ESSPRI	5.53 ± 2.78		
ESSDAI	5.16 ± 5.96		
Disease duration (months)	111 ± 76		
Current systemic manifestation (%)	71.4		
Anti-Ro-SSA (U/ml) (%)	69.8		
Anti-La-SSB (U/ml) (%)	30.2		
ANA (%)	90.3		
RF (UI/ml) (%)	19.1		
Gamma globulins (g/dl)	1.47 ± 0.54		
IgG (mg/dl)	1475.96 ± 593.42		
IgM (mg/dl)	154.99 ± 141.71		
IgA (mg/dl)	317.87 ± 144.66		
C3 (mg/dl)	152.90 ± 33.34		
C4 (mg/dl)	32.80 ± 11.77		
hsCRP (mg/dl)	4.09 ± 8.67		
Glucocorticoid (%)	32		
Hydroxychloroquine (%)	40		

pSS= primary Sjögren's syndrome; BMC= body mass index; LDL= low density lipoprotein; HDL= high density lipoprotein; SBP= systolic blood pressure; DBP= diastolic blood pressure; ERS= erythrocyte rate sedimentation; t-test, Mann-Whitney and chi-square tests were used. ESSDAI= EULAR SS Disease Activity; ESSPRI=EULAR SS Patient Report Index; IgG= Immunoglobulin G; IgM= Immunoglobulin M; IgA= Immunoglobulin A; C3= Complement 3 ; C4= Complement 4 ; hsCRP= high sensitive C-

Reactive Protein; Anti-Ro-SSA= anti-Ro-SSA antibodies; Anti-La-SSB= anti-La-SSB antibodies; RF= Rheumatoid Factor; ANA= anti-nuclear autoantibody.

Table 2. Cardiovascular risk factors for carotid atherosclerosis in pSS and controls.

Risk Factor	Group	Plaque		OR	OR 95%CI	p-value
		Yes (N=9)	No (N=117)			
pSS disease	pSS	8 (88%)	55 (47%)	9.02	1.09-94.41	0.040
	Controls	1 (11%)	62 (53%)			
Gender	male	2 (22%)	5 (4%)	6.4	1.05-39.86	0.040
	female	7 (78%)	112 (96%)			
MetS	Yes	7 (88%)	51 (44%)	8.92	1.06-74.86	0.040
	No	1 (13%)	65 (56%)			
Hypertension	Yes	7 (78%)	45 (38%)	5.6	1.11-28.16	0.044
	No	2 (22%)	72 (62%)			
Hypertriglyceridemia	Yes	6 (67%)	30 (26%)	5.8	1.37-24.64	0.017
	No	3 (33%)	87 (74%)			
Familiar history of myocardial infarct	Yes	7 (88%)	45 (41%)	10.27	1.22-86.33	0.002
	No	1 (13%)	66 (59%)			
Glucocorticoid use	Yes	5 (63%)	15 (27%)	11.76	2.68-51.59	0.001
	No	3 (38%)	40 (73%)			
Global risk score	Yes	15 ± 2.92	9 ± 6.21	0.84	0.73-0.93	0.009
	No					
Serum creatinine (mg/dL)		0.89 ± 0.25	0.67 ± 0.18	0.04	0.01-0.55	0.016
Age (years)		61.22 ± 5.19	48.72 ± 10.85	0.86	0.78-0.95	0.002

CI= confidence interval. OR= odds ratio. pSS= primary Sjögren's syndrome, MetS= Metabolic Syndrome.

Table 3. Sjögren's syndrome disease-risk for carotid atherosclerosis after adjusting for age, hypertriglyceridemia, hypertension and creatinin level.

Risk factor	Model 1				Model 2			
	OR	95% CI Lower Limit	95% CI Upper Limit	p- value	OR	95% CI Lower Limit	95% CI Upper Limit	p- value
Sjögren's syndrome	28.76	1.69	490.19	0.020	-	-	-	-
Age	0.82	0.72	0.94	0.004	-	-	-	-
Hypertension	1.89	0.27	13.05	0.519	1.04	0.99	1.09	0.004
Hypertriglyceridemia	10.07	1.16	87.33	0.036	-	-	-	-
Serum creatinine	1.07	0.01	23.06	0.965	10.20	0.60	166.67	0.055
Calprotectin	-	-	-	-	1.001	1.000	1.001	0.023

CI= confidence interval, OR= odds ratio.

Table 4. Disease-factors associated with carotid atherosclerosis plaque in pSS.

Risk Factor	Group	Plaque		p-value
		Yes (N=8)	No (N=55)	
Glucocorticoid use	yes	6 (75%)	17 (31%)	0.016
	no	2 (25%)	38 (69%)	
Saliva substitute	yes	3 (38%)	6 (11%)	0.045
	no	5 (63%)	49 (89%)	
Menopause	yes	6 (100%)	29 (55%)	0.032
	no	0 (0%)	24 (45%)	
Anti-Ro-SSA	yes	7 (88%)	37 (69%)	0.270
	no	1 (13%)	17 (31%)	
ESSDAI constitutional	yes	1 (13%)	0 (0%)	0.046
	No	7 (88%)	55 (100%)	
ESSDAI		5.38 ±5.88	5.13 ± 6.03	0.967
Lag time		88 ± 71.47	57.84 ±63.93	0.265
Disease duration		138 ±96.55	107.16 ±72.18	0.451
Calprotectin (ng/mL)		3035 ± 2825.40	1681.89 ± 1341.55	0.025

pSS= primary Sjögren's syndrome; ESSDAI= EULAR SS Disease Activity; Anti-Ro-SSA= anti-Ro-SSA antibodies.

Table 5. Comparison of inflammation and cytokines between patients and controls and its correlation with calprotectin

Biomarker	pSS (N=63)	Controls (N=63)	Spearman	p-value
Calprotectina	1878.8 ± 1501.1	1215 ± 520	-	-
IL-1B (pg/ml)	1.9 ± 5.45	0.49 ± 0.65	0.46	0.622
IL-6 (pg/ml)	11.65 ± 23.38	5.21 ± 9.23	0.019	0.839
TNF-a (pg/ml)	4.7 ± 5.0	3.6 ± 3.4	-0.138	0.136
TNF-R1 (pg/ml)	1113.65 ± 691.39	919.01 ± 408.53	0.277	0.002
TNF-R2 (pg/ml)	8144.32 ± 4106.39	5914.74 ± 2458.23*	0.269	0.003
MCP-1 (pg/ml)	251.8 ± 139.5	208.3 ± 83.8*	0.081	0.382
Leptin (pg/ml)	3056.8 ± 2295.3	2786.6 ± 1881.1	-0.83	0.373
Resistin (pg/ml)	12031.8 ± 4923.6	12902.2 ± 4226	0.379	0.000
Adiponectin (pg/ml)	152558.2 ± 28456.5	40875.65 ± 38121.54*	0.100	0.280
HGF (pg/ml)	266.1 ± 189.5	206.6 ± 150.7*	0.182	0.049
CRP (mg/dL)	4.09 ± 8.67	3.36 ± 7.09	0.391	0.000

pSS= primary Sjögren's syndrome. IL=interleukin, TNF= tumoral necrosis fator, TNF-RI= tumoral necrosis fator receptor 1, TNF-RII= tumoral necrosis fator receptor II, MCP-1= monocyte chemoattractant protein 1, HGF= hepatocyte growth fator, CRP= C-reactive protein. * Comparison between controls and patients, p-value≤0,05.

Legends

Table 1. Baseline characteristics of study population

pSS= primary Sjögren's syndrome; BMC= body mass index; LDL= low density lipoprotein; HDL= high density lipoprotein; SBP= systolic blood pressure; DBP= diastolic blood pressure; ERS= erythrocyte rate sedimentation. t-test, Mann-Whitney and chi-square tests were used. ESSDAI= EULAR SS Disease Activity; ESSPRI=EULAR SS Patient Report Index; IgG= Immunoglobulin G ; IgM= Immunoglobulin M; IgA= Immunoglobulin A ; C3= Complement 3 ; C4= Complement 4 ; hsCRP= high sensitive C-Reactive Protein; Anti-Ro-SSA= anti-Ro-SSA antibodies; Anti-La-SSB= anti-La-SSB antibodies; RF= Rheumatoid Factor; ANA= anti-nuclear autoantibody.

Table 2. Cardiovascular risk factors for carotid atherosclerosis in pSS and controls.

CI= confidence interval. OR= odds ratio. pSS= primary Sjögren's syndrome, MetS= Metabolic Syndrome.

Table 3. Sjögren's syndrome disease-risk for carotid atherosclerosis after adjusting for age, hypertriglyceridemia, hypertension and creatinin level.

Table 4. Disease-factors associated with carotid atherosclerosis plaque in pSS.

pSS= primary Sjögren's syndrome; ESSDAI= EULAR SS Disease Activity; Anti-Ro-SSA= anti-Ro-SSA antibodies.

Table 5. Comparison of inflammation and cytokines between patients and controls and its correlation with calprotectin

pSS= primary Sjögren's syndrome. IL=interleukin, TNF= tumoral necrosis fator, TNF-RI= tumoral necrosis fator receptor 1, TNF-RII= tumoral necrosis fator

receptor II, MCP-1= monocyte chemoattractant protein 1, HGF= hepatocyte growth factor, CRP= C-reactive protein. * Comparison between controls and patients, p-value \leq 0,05.