

Asociación entre la endotelina 1 y la velocidad de onda de pulso en mujeres con esclerosis sistémica

Association of endothelin 1 with pulse wave velocity in women with systemic sclerosis.

Antonio Álvarez-Cienfuegos,¹ Lucía Cantero-Nieto,² José Alberto García-Gómez,³ Javier Martín,⁴ Norberto Ortego-Centeno^{5,6,7}

Resumen

OBJETIVOS: Evaluar las concentraciones séricas de endotelina 1 (ET-1) en mujeres con esclerosis sistémica en comparación con controles sanos y examinar posibles asociaciones entre ET-1 y marcadores de rigidez arterial.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio transversal realizado en el Hospital Clínico San Cecilio de Granada, España, de noviembre de 2017 a mayo de 2019. Se incluyeron mujeres con esclerosis sistémica y controles sanos emparejados por edad y sexo. La velocidad de onda de pulso se midió de manera no invasiva a lo largo del segmento arterial carótido-femoral. La ET-1 se determinó mediante la técnica de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA).

RESULTADOS: Se incluyeron en el estudio 62 mujeres con esclerosis sistémica y 62 controles sanas. Hubo una diferencia significativa en las concentraciones séricas de ET-1 entre las pacientes con esclerosis sistémica y las controles sanas ($p = 0.001$). Las concentraciones séricas de ET-1 se asociaron positivamente con la velocidad de onda de pulso ($r = 0.26$, $p < 0.05$), en el grupo de pacientes.

CONCLUSIONES: Las concentraciones séricas de ET-1 se asocian con la velocidad de onda de pulso en mujeres con esclerosis sistémica. Por tanto, los medicamentos que bloquean la ET-1 podrían ser efectivos para reducir la rigidez de las grandes arterias en mujeres con esclerosis sistémica y, por ende, el riesgo cardiovascular.

PALABRAS CLAVE: Endotelina 1; esclerosis sistémica; velocidad de onda de pulso; rigidez arterial.

Abstract

OBJECTIVES: To evaluate endothelin 1 (ET-1) serum levels in women with systemic sclerosis compared with healthy controls and to examine possible associations between ET-1 and markers of arterial stiffness.

MATERIALS AND METHODS: A cross-sectional study was performed in San Cecilio Hospital, Granada, Spain, from November 2017 to May 2019. Women with systemic sclerosis and age and sex matched healthy controls were enrolled in this study. Pulse wave velocity was measured non-invasively along the carotid-femoral arterial segment. Serum ET-1 was analysed using indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: Sixty-two women with systemic sclerosis and 62 healthy controls were included. There was a significant difference in ET-1 serum levels between systemic sclerosis women patients and healthy controls ($p = 0.001$). Serum levels of ET-1 were positively associated with pulse wave velocity ($r = 0.26$, $p < 0.05$), within the study group.

CONCLUSIONS: ET-1 serum levels are associated with pulse wave velocity in women with systemic sclerosis. Therefore, drugs that block ET-1 may be effective in reducing large artery stiffness in women with systemic sclerosis, and thus cardiovascular risk.

KEYWORDS: Endothelin 1; Systemic sclerosis; Pulse wave velocity; Arterial stiffness.

¹ Sección de Reumatología, Hospital Vega-Baja, Alicante, España.

² Servicio de Emergencias, Hospital Santa Ana, Granada, España.

³ Sección de enfermedades infecciosas, Hospital General de Elche, Alicante, España.

⁴ Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, IPBLN-CSIC, Granada, España.

⁵ Sección de enfermedades autoinmunes sistémicas, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España.

⁶ Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España.

⁷ Instituto de Investigación Biosanitaria, IBS, Granada, España.

Recibido: 3 de septiembre 2020

Aceptado: 1 de marzo 2021

Correspondencia

Antonio Álvarez Cienfuegos
antonioalvarezdc@gmail.com

Este artículo debe citarse como: Álvarez-Cienfuegos A, Cantero-Nieto L, García-Gómez JA, Martín J, Ortego-Centeno N. Asociación entre la endotelina 1 y la velocidad de onda de pulso en mujeres con esclerosis sistémica. Med Int Méx 2022; 38 (1): 22-29.

ANTECEDENTES

La esclerosis sistémica es una enfermedad autoinmunitaria de causa desconocida, caracterizada por fibrosis de la piel, las paredes vasculares y algunos órganos internos, como el tubo digestivo, el pulmón, el corazón o el riñón.¹ La aparición de disfunción endotelial junto con fibrosis indica que los factores derivados de las células endoteliales, como la endotelina-1 (ET-1), pueden tener un papel importante en la patogénesis de la esclerosis sistémica.² La ET-1 es un vasoconstrictor endógeno, producido por las células endoteliales vasculares, que interviene en la proliferación, fibrosis e inflamación de las células vasculares.³ También se ha descrito que la ET-1 puede favorecer la diferenciación de las células vasculares del músculo liso, los pericitos microvasculares y los fibroblastos hacia células profibrogénicas.⁴ Se han encontrado concentraciones altas de ET-1 en las células endoteliales y en los fibroblastos de pacientes con esclerosis sistémica, que se correlacionaron con la existencia de úlceras digitales y con la gravedad del fenotipo fibrótico.⁵ Además, se encontró que las concentraciones plasmáticas de ET-1 estaban elevadas en pacientes con esclerosis sistémica y esto se correlacionó con la gravedad de la enfermedad, así como con el número de úlceras digitales.⁶⁻¹⁰ La ET-1 también se asoció positivamente con la rigidez de las grandes arterias en pacientes con enfermedad coronaria.^{11,12} La sobreexpresión de la ET-1 conlleva la activación de las células inflamatorias y conduce a la inhibición de la enzima, óxido nítrico sintetasa, asociada con la rigidez arterial.¹³⁻¹⁷ La rigidez arterial puede reflejar la elasticidad arterial y la carga de la arteriosclerosis.¹⁸ La velocidad de onda de pulso se considera la medida patrón de referencia de la rigidez de las grandes arterias y es uno de los marcadores de daño orgánico mediado por la hipertensión y debe evaluarse entre los pacientes con hipertensión de acuerdo con las directrices de la Sociedad Europea de Hipertensión y la

Sociedad Europea de Cardiología.¹⁹ Metanálisis anteriores han revelado que la velocidad de onda de pulso es un predictor independiente de la aparición de enfermedad cardiovascular (ECV), eventos cardiovasculares adversos y mortalidad de origen cardiovascular.^{20,21,22} En la actualidad, la velocidad de onda de pulso es ampliamente utilizada, tanto en la práctica clínica como en los estudios epidemiológicos, debido a su factibilidad y significación clínica.

El objetivo de este estudio fue analizar las concentraciones de ET-1 en una cohorte de mujeres con esclerosis sistémica e investigar posibles asociaciones entre las concentraciones séricas de ET-1 con marcadores de rigidez arterial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio transversal realizado en el Hospital Clínico San Cecilio de Granada, España, entre noviembre de 2017 y mayo de 2019. Se incluyeron mujeres con esclerosis sistémica mediante muestreo aleatorio simple y mujeres sanas como controles. Todas las pacientes incluidas en este estudio tenían concentraciones normales de creatinina sérica y cumplían con los criterios del Colegio Americano de Reumatología/Liga Europea contra el Reumatismo (ACR/EULAR) 2013 para esclerosis sistémica.²³ Se excluyeron las pacientes con antecedentes de ECV (infarto agudo de miocardio, angina de pecho, accidente cerebrovascular y enfermedad arterial periférica).

En la visita clínica, los participantes en el estudio completaron cuestionarios sobre las características de su estilo de vida, historial médico y la medicación actual. Se obtuvo el consentimiento informado de todas las participantes y el estudio fue aprobado por el Comité de Ética y de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada, España, y se realizó de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki.

Valoración cardiovascular

Las fumadoras actuales se definieron como las mujeres que informaron haber fumado uno o más cigarrillos por día regularmente durante el año anterior al examen. Se midió el perímetro abdominal, el peso y la altura y se calculó el índice de masa corporal (IMC) mediante la siguiente fórmula: peso (kg)/altura (m²). Se obtuvieron dos registros de la presión arterial del brazo derecho, con las pacientes sentadas, las mediciones se tomaron en intervalos de 5 minutos, calculándose los valores medios. La existencia de hipertensión se definió como la media de la presión arterial $\geq 140/90$ mmHg o la administración actual de medicamentos antihipertensivos. La diabetes mellitus tipo 2 se definió por la administración de insulina o medicamentos hipoglucemiantes orales, o una concentración de glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL. La función renal se evaluó utilizando la tasa de filtración glomerular estimada (TFGe), calculada por la ecuación del estudio CKD-EP.²⁴

En nuestro estudio, evaluamos la rigidez arterial determinando la velocidad de onda de pulso carótido-femoral (CFVOP), como se describe a continuación: para la medición deben colocarse, con el paciente en decúbito supino, dos tonómetros que registran el paso de la onda de pulso a nivel de la arteria femoral común y de la arteria carótida homolateral. Una vez obtenida la distancia entre ambos puntos, el dispositivo calcula el tiempo en milisegundos que separan los dos pies de onda (carotídea y femoral) e informa la velocidad de onda de pulso por aplicación de fórmulas específicas.²⁵ Valores más altos de CFVOP indican mayor grado de rigidez arterial.

Mediciones de laboratorio

En todos los casos, se tomó una muestra de sangre en ayunas por la mañana y se almacenó a -70°C hasta que se realizaron los análisis. Se

determinaron las concentraciones de creatinina, proteína C-reactiva (PCR), péptido natriurético cerebral (BNP) y ET-1. La creatinina se determinó por el método de Jaffe (Siemens Healthcare Diagnostic Inc. NY, Estados Unidos). La PCR se midió por inmunoensayo turbidimétrico (Siemens Healthcare Diagnostic Inc. NY, Estados Unidos). El BNP se cuantificó en plasma heparinizado usando un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida (Biomérieux, Francia). Las concentraciones de ET-1 se midieron mediante ELISA de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (Elabscience, Estados Unidos). Los anticuerpos antinucleares se midieron mediante Kits de ELISA (Generic Assay Dahlewitz, Alemania). La glucosa plasmática se midió en ayunas mediante el kit (Siemens Healthcare Diagnostic Inc. NY, Estados Unidos). Las concentraciones de colesterol total y triglicéridos se determinaron mediante técnicas enzimáticas. La lipoproteína de alta densidad (HDL) se determinó después de la precipitación de las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B (apoB) con sulfato de magnesio y sulfato de dextrano. La lipoproteína de baja densidad (LDL) se calculó utilizando la fórmula de Friedewald. Todos los demás parámetros bioquímicos séricos de rutina se midieron en el departamento de bioquímica del Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el programa estadístico SPSS 21 (Chicago, IL, Estados Unidos), utilizando las pruebas de t de Student, U de Mann-Whitney y χ^2 , según corresponda. Para determinar la asociación entre los parámetros bioquímicos se utilizaron las pruebas de correlación de Spearman y de Pearson. Los valores de p inferiores a 0.05 se consideraron estadísticamente significativos. Los datos cuantitativos se mostraron como media \pm desviación estándar (DE) y mediana (Q1-Q3), según corresponda. Para probar si podemos admitir que

la distribución es normal, usamos la prueba de Shapiro-Wilk. La regresión lineal se utilizó para examinar la asociación de las concentraciones séricas de ET-1 con la velocidad de onda de pulso.

RESULTADOS

Características de los sujetos a estudio

Se incluyeron 62 mujeres con esclerosis sistémica y 62 controles sanos. Sus características principales se muestran en el **Cuadro 1**. La edad media (DE) de las pacientes fue de 53 ± 10 años. La mayoría eran de raza caucásica (56/62). La duración media de la enfermedad fue de 8.8 ± 6.9 años. Cuarenta y cuatro de 62 pacientes tenían una forma limitada de la enfermedad y 18 una forma difusa. Doce pacientes tenían calcinosis y las 62 tenían fenómeno de Raynaud. Nueve pacientes estaban en tratamiento con bosentán (antagonista del receptor de la endotelina).

La edad media (DE) de las 62 mujeres sanas incluidas en el estudio como controles fue de 52 ± 9 años. La mayoría de ellas eran de raza caucásica (61/62).

Resultados de laboratorio

Las pruebas de laboratorio de las pacientes y controles sanas incluidas en el estudio se muestran en el **Cuadro 2**. Como era de esperar, los reactantes de fase aguda encontrados en el momento del estudio fueron más altos en las mujeres con esclerosis sistémica que en las controles. En este sentido, la PCR media en los pacientes con esclerosis sistémica fue de 0.4 ± 0.4 mg/dL vs 0.2 ± 0.1 mg/dL en las controles ($p = 0.007$). Asimismo, la VSG media en el grupo de pacientes con esclerosis sistémica fue de 21.1 ± 16 mm/1^a hora vs 11.3 ± 10.2 mm/1^a hora en las controles ($p = 0.001$). las concentraciones de BNP fueron mayores en las pacientes con esclerosis sistémica (41.2 ± 27.5 vs 28.3 ± 19.9 pg/mL en las controles, $p = 0.003$).

Cuadro 1. Características de las mujeres con esclerosis sistémica y controles sanas

	Esclerosis sistémica, media \pm DE	Controles sanas, media \pm DE	Valor p
Edad, años	53.2 ± 10.1	52.7 ± 9.7	0.71
Altura, cm	159.5 ± 5.6	160.9 ± 7.1	0.23
Peso, kg	66.8 ± 12	67.2 ± 12	0.90
IMC, kg/m ²	26.3 ± 4.9	25.9 ± 4.3	0.90
Perímetro abdominal, cm	83.5 ± 11	83.1 ± 13.4	0.64
Velocidad de onda de pulso, m/s	7.5 ± 1.2	7.3 ± 1.4	0.53
Fumadoras, n (%)	11 (17.7)	15 (24.2)	0.04
Hipertensión, n (%)	8 (12.9)	11 (17.7)	0.87
Diabetes mellitus, n (%)	2 (3.2)	2 (3.2)	0.62
Dislipidemia, n (%)	21 (33.8)	14 (22.5)	0.17
Prednisona, mg/día	6.5 ± 3.5	-	-
Bosentán, n (%)	9 (14.5)	-	-
Duración de la enfermedad, años	8.8 ± 6.9	-	-
ESl, n (%)	28 (45)	-	-
ESd, n (%)	34 (55)	-	-

DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; ESl: esclerosis sistémica limitada; ESd: esclerosis sistémica difusa.

Cuadro 2. ET-1 sérica y bioquímica de las pacientes y controles sanas

	Esclerosis sistémica, media ± DE	Controles sanas, media ± DE	Valor p
ET-1, pg/mL	28.4 ± 10.6	21.1 ± 11.7	0.001
Fósforo sérico, mg/dL	3.6 ± 0.5	3.4 ± 0.5	0.04
Calcio sérico, mg/dL	9.5 ± 0.3	9.4 ± 0.4	0.05
Glucosa, mg/dL	88.4 ± 9.4	92.1 ± 13.0	0.07
Colesterol, mg/dL	199.8 ± 34.9	211.8 ± 37.3	0.06
LDL-C, mg/dL	122.1 ± 32.0	129.7 ± 30.7	0.17
HDL-C, mg/dL	57.8 ± 15.5	63.3 ± 13.1	0.03
Triglicéridos, mg/dL	105.2 ± 54.1	107.7 ± 53.9	0.79
Ácido úrico, mg/dL	4.6 ± 1.1	4.6 ± 1.3	0.91
BNP, pg/mL	41.2 ± 27.5	28.3 ± 19.9	0.003
Creatinina sérica, mg/dL	0.7 ± 0.8	0.7 ± 0.2	0.12
TFGe, mL/min	93 ± 17.2	97 ± 13.2	0.19
PCR, mg/dL	0.4 ± 0.4	0.2 ± 0.1	0.007
VSG, mm/h	21.1 ± 16	11.3 ± 10.2	0.001
ANAs, n (%)	53 (85.4)	-	-
Anti-centrómero, n (%)	32 (51.6)	-	-
Anti-Scl70, n (%)	15 (24.1)	-	-

DE: desviación estándar; ET-1: endotelina-1; BNP: péptido natriurético cerebral; VSG: velocidad de sedimentación globular; PCR: proteína C reactiva; TFGe: tasa de filtración glomerular estimada; ANA: anticuerpos antinucleares.

Se detectaron anticuerpos antinucleares (ANA) en 53 de 62 pacientes, anticuerpos anti-centrómero en 32/62 pacientes y anticuerpos anti-Scl-70 en 15/62 pacientes.

Hubo diferencias significativas en las concentraciones de ET-1 entre las pacientes y las controles (28.4 ± 10.6 *versus* 21.1 ± 11.7 pg/mL; p = 0.001).

Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular

Como se muestra en el **Cuadro 1**, las pacientes tenían un IMC medio de 26.3 ± 4.9 kg/m², perímetro abdominal de 83.5 ± 11 cm y velocidad de onda de pulso de 7.5 ± 1.2 m/s; 11/62 eran fumadoras y 2/62 tenían diabetes mellitus.

Las controles sanas tenían un IMC medio de 25.9 ± 4.3 kg/m², perímetro abdominal de 83.1 ± 13.4 cm y velocidad de onda de pulso de 7.3 ± 1.4 m/s; 15/62 eran fumadoras y 2/62 controles tenían diabetes mellitus.

Asociación entre las concentraciones de ET-1 y los factores de riesgo cardiovascular en pacientes con esclerosis sistémica

En el **Cuadro 3** se muestran los coeficientes de correlación entre ET-1 y otros marcadores en pacientes con esclerosis sistémica. Las concentraciones séricas de ET-1 mostraron una correlación positiva estadísticamente significativa con la velocidad de onda de pulso (r = 0.26, p = 0.04). Sin embargo, no hubo correlación

Cuadro 3. Correlaciones entre ET-1 y los parámetros de estudio en pacientes con esclerosis sistémica

	Coefficiente de correlación	Valor p
Edad	-0.23	0.079
Altura	0.22	0.088
Peso	-0.01	0.927
Índice de masa corporal	-0.11	0.413
Perímetro abdominal	-0.18	0.175
Hipertensión	-0.18	0.177
Fumadora	0.01	0.983
Duración de la enfermedad	-0.20	0.138
Velocidad de onda de pulso	0.26	0.047
Prednisona	-0.03	0.690
Bosentán	-0.12	0.173
Proteína C reactiva	-0.01	0.969
Velocidad de sedimentación globular	-0.15	0.260
Creatinina sérica	0.11	0.426
Urea sérica	0.03	0.825
TFGe	-0.03	0.802
Colesterol	-0.09	0.497
LDL-C	-0.08	0.542
HDL-C	-0.09	0.502
Triglicéridos	-0.20	0.129
Ácido úrico	-0.09	0.481
BNP	0.05	0.724

ET-1: endotelina 1; TFGe: tasa de filtración glomerular estimada; LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad; BNP: péptido natriurético cerebral.

de las concentraciones de ET-1 con la edad, el IMC, el perímetro abdominal, la duración de la enfermedad o el consumo de tabaco.

En el modelo de regresión lineal, las concentraciones más altas de ET-1 se asociaron con mayor velocidad de onda de pulso [$\beta = 0.03$, IC95% (0.001, 0.060); $p = 0.04$].

DISCUSIÓN

La esclerosis sistémica es una enfermedad multisistémica mediada por el sistema inmunitario que produce fibrosis tisular.²⁶ De hecho, el equilibrio alterado de las actividades proangiogénicas y antiangiogénicas en la esclerosis sistémica provoca un crecimiento anormal de vasos nuevos (angiogénesis) o procesos de reparación defectuosos con la consiguiente isquemia y fibrosis tisular.²⁷ Las endotelinas son una familia de péptidos de 21 aminoácidos, producidos por las células endoteliales vasculares y tienen un papel clave en la vasoconstricción y la proliferación de las células del músculo liso.^{28,29} La ET-1 es un potente vasoconstrictor endógeno, que media la proliferación de las células de la pared vascular, la fibrosis y la inflamación a través de dos tipos de receptores ET-1 (ET-A y ET-B). En nuestro estudio, hubo una diferencia significativa en las concentraciones séricas de ET-1 entre las pacientes con esclerosis sistémica y las controles sanas, que están en línea con varios estudios.^{30,31}

Las complicaciones cardiovasculares en la esclerosis sistémica incluyen: enfermedad vascular periférica, enfermedad cerebrovascular, enfermedad coronaria y enfermedad miocárdica primaria.³² La evaluación de la concentración de BNP se ha convertido en un indicador fuerte y bien reconocido del riesgo cardiovascular en la esclerosis sistémica.³³ En este sentido, hemos encontrado concentraciones más altas de BNP en pacientes del sexo femenino con esclerosis sistémica en comparación con controles sanos. Elshamy y su grupo³⁴ informaron un aumento significativo en los valores medios de las concentraciones séricas de la porción N-terminal del péptido natriurético tipo B (NT-proBNP) en pacientes con esclerosis sistémica en comparación con los controles.

La velocidad de onda de pulso es un índice bien validado de distensibilidad arterial, la rigidez de

las grandes arterias es un predictor poderoso e independiente del riesgo cardiovascular.^{35,36} El tono del músculo liso influye en la rigidez de las arterias elásticas y musculares, y la eliminación del endotelio vascular modifica la mecánica de las grandes arterias *in vivo*, lo que sugiere un grado de regulación funcional de la rigidez de las grandes arterias por mediadores vasoactivos derivados del endotelio.^{37,38} Curiosamente, observamos una correlación positiva significativa entre las concentraciones séricas de ET-1 y la velocidad de onda de pulso en nuestras pacientes con esclerosis sistémica, independientemente de la edad. McEniery y su grupo¹² demostraron que la infusión de ET-1 exógena aumenta la velocidad de onda de pulso en la arteria iliaca ovina y que la infusión de un antagonista del receptor de la ET-A atenúa significativamente este efecto. Juntos, estos datos sugieren que la ET-1 endógena, que actúa a través del receptor ET-A, regula la distensibilidad arterial *in vivo*. La ET-1 también se asoció positivamente con rigidez de grandes arterias en pacientes con enfermedad de las arterias coronarias.¹¹ La regulación positiva de ET-1 activa las células inflamatorias y conduce a la inhibición de la sintetasa de óxido nítrico asociada con la rigidez arterial.¹³⁻¹⁷

Hay varias limitaciones en nuestro estudio que deben considerarse. Primero, este estudio fue un análisis transversal que reflejó el estado de una población en un periodo particular. El diseño transversal de este estudio no permite hacer inferencias causales. Este estudio se centró solo en mujeres con esclerosis sistémica; por tanto, los hallazgos de este estudio no pueden generalizarse a los hombres con esclerosis sistémica.

CONCLUSIONES

Nuestro estudio muestra que las concentraciones de ET-1 se asocian con la velocidad de onda de pulso en mujeres con esclerosis sistémica. Por tanto, los fármacos que bloquean la ET-1 podrían

ser eficaces para reducir la rigidez de las grandes arterias en mujeres con esclerosis sistémica y, por tanto, el riesgo cardiovascular.

REFERENCIAS

1. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15 (2): 202-205.
2. Shi-Wen X, Denton CP, Dashwood MR, Holmes AM, Bou-Gharios G, Pearson JD, et al. Fibroblast matrix gene expression and connective tissue remodeling: role of endothelin-1. *J Invest Dermatol* 2001; 116 (3): 417-425. doi: 10.1046/j.1523-1747.2001.01256.x.
3. Goldie RG, Knott PG, Carr MJ, Hay DW, Henry PJ. The endothelins in the pulmonary system. *Pulm Pharmacol* 1996; 9 (2): 69-93. doi: 10.1006/pulp.1996.0010.
4. Shiwen X, Leask A, Abraham DJ, Fonseca C. Endothelin receptor selectivity: evidence from in vitro and pre-clinical models of scleroderma. *Eur J Clin Invest* 2009; 39 (Suppl 2): 19-26. doi: 10.1111/j.1365-2362.2009.02117.x.
5. Morris E, Chrobak I, Bujor A, Hant F, Mummery C, Ten Dijke P, Trojanowska M. Endoglin promotes TGFbeta/Smad1 signaling in scleroderma fibroblasts. *J Cell Physiol* 2011; 226 (12): 3340-3348. doi: 10.1002/jcp.22690.
6. Yamane K, Kashiwagi H, Suzuki N, Miyauchi T, Yanagisawa M, Goto K, Masaki T. Elevated plasma levels of endothelin-1 in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1991; 34 (2): 243-244. doi: 10.1002/art.1780340220.
7. Kahaleh MB. Endothelin, an endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. Enhanced production and profibrotic action. *Arthritis Rheum* 1991; 34 (8): 978-983. doi: 10.1002/art.1780340807.
8. Cozzani E, Javor S, Laborai E, Drosera M, Parodi A. Endothelin-1 levels in scleroderma patients: a pilot study. *ISRN Dermatol* 2013; 2013: 125632. doi: 10.1155/2013/125632.
9. Kim HS, Park MK, Kim HY, Park SH. Capillary dimension measured by computer-based digitalized image correlated with plasma endothelin-1 levels in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 2010; 29 (3): 247-254. doi: 10.1007/s10067-009-1288-7.
10. Sulli A, Soldano S, Pizzorni C, Montagna P, Secchi ME, Villaggio B, et al. Raynaud's phenomenon and plasma endothelin: correlations with capillaroscopic patterns in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2009; 36 (6): 1235-1239. doi: 10.3899/jrheum.081030.
11. Heintz B, Dörr R, Gillessen T, Walkenhorst F, Krebs W, Hanrath P, Sieberth HG. Do arterial endothelin 1 levels affect local arterial stiffness? *Am Heart J* 1993; 126 (4): 987-989. doi: 10.1016/0002-8703(93)90717-n.
12. McEniery CM, Qasem A, Schmitt M, Avolio AP, Cockcroft JR, Wilkinson IB. Endothelin-1 regulates arterial pulse wave

- velocity in vivo. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42 (11): 1975-1981. doi: 10.1016/j.jacc.2003.06.016.
13. Böhm F, Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 2007; 76 (1): 8-18. doi: 10.1016/j.cardiores.2007.06.004.
 14. Anderson TJ. Arterial stiffness or endothelial dysfunction as a surrogate marker of vascular risk. *Can J Cardiol* 2006; 22: 72B-80B. doi: 10.1016/s0828-282x(06)70990-4.
 15. Browatzki M, Schmidt J, Kübler W, Kranzhöfer R. Endothelin-1 induces interleukin-6 release via activation of the transcription factor NF-kappaB in human vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2000; 95 (2): 98-105. doi: 10.1007/s003950050170.
 16. Iwasa S, Fan J, Shimokama T, Nagata M, Watanabe T. Increased immunoreactivity of endothelin-1 and endothelin-B receptor in human atherosclerotic lesions. A possible role in atherogenesis. *Atherosclerosis* 1999; 146 (1): 93-100. doi: 10.1016/s0021-9150(99)00134-3.
 17. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105 (9): 1135-1143. doi: 10.1161/hc0902.104353.
 18. Tomiyama H. Arterial stiffness: is this a marker for the current status or future? *J Atheroscler Thromb* 2016; 23 (9): 1026-1027. doi: 10.5551/jat.ED042.
 19. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti RE, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J* 2018; 39 (33): 3021-3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339.
 20. Ben-Shlomo Y, Spears M, Boustred C, May M, Anderson SG, Benjamin EJ, et al. Aortic pulse wave velocity improves cardiovascular event prediction: an individual participant meta-analysis of prospective observational data from 17,635 subjects. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63 (7): 636-646. doi: 10.1016/j.jacc.2013.09.063.
 21. Ohkuma T, Ninomiya T, Tomiyama H, Kario K, Hoshida S, Kita Y, et al. Brachial-Ankle pulse wave velocity and the risk prediction of cardiovascular disease: an individual participant data meta-analysis. *Hypertension* 2017; 69 (6): 1045-1052. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09097.
 22. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Terentes-Printzios D, Ioakeimidis N, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with brachial-ankle elasticity index: a systematic review and meta-analysis. *Hypertension* 2012; 60 (2): 556-562. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.194779.
 23. Van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2013; 72 (11): 1747-1755. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204424.
 24. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: S1-266.
 25. Mitchell GF, van Buchem MA, Sigurdsson S, Gotal JD, Jonsdottir MK, Kjartansson O, et al. Arterial stiffness, pressure and flow pulsatility and brain structure and function: the Age, Gene/Environment Susceptibility-Reykjavik study. *Brain* 2011; 134: 3398-3407. doi: 10.1093/brain/awr253.
 26. Mulligan-Kehoe MJ, Simons M. Vascular disease in scleroderma: angiogenesis and vascular repair. *Rheum Dis Clin North Am* 2008; 34(1): 73-79. doi: 10.1016/j.rdc.2007.12.006.
 27. Bassyouni IH, Gheita TA, Talaat RM. Clinical significance of serum levels of sCD36 in patients with systemic sclerosis: preliminary data. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50 (11): 2108-2112. doi: 10.1093/rheumatology/ker297.
 28. Scardina GA, Mazzullo M, Messina P. Early diagnosis of progressive systemic sclerosis: the role of oro-facia phenomena. *Minerva Stomatol* 2002; 51 (7-8): 311-317.
 29. Abraham DJ, Vancheeswaran R, Dashwood MR, Rajkumar VS, Pantelides P, Shi-wen X, et al. Increased levels of endothelin-1 and differential endothelin type A and B receptor expression in scleroderma-associated fibrotic lung disease. *Am J Pathol* 1997; 151 (3): 831-41.
 30. Hajjalilo M, Noorabadi P, Tekantapeh ST, Mahdavi AM. Endothelin-1, α -Klotho, 25(OH) Vit D levels and severity of disease in scleroderma patients. *Rheumatol Int* 2017; 37 (10): 1651-1657. doi: 10.1007/s00296-017-3797-z.
 31. Secchi ME, Sulli A, Pizzorni C, Cutolo M. Endothelin-1 in systemic sclerosis. *Reumatismo* 2007; 59 (2): 129-134. doi: 10.4081/reumatismo.2007.129.
 32. Ngian GS, Sahhar J, Wicks IP, van Dornum S. Cardiovascular disease in systemic sclerosis—an emerging association? *Arthritis Res Ther* 2011; 13 (4): 237. doi: 10.1186/ar3445.
 33. Allanore Y, Meune C. N-terminal pro brain natriuretic peptide: the new cornerstone of cardiovascular assessment in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 59-63.
 34. Elshamy HA, Ibrahim SE, Farouk HM, Moustafa AA, Aly IM, Osman WM. N-terminal pro-brain natriuretic peptide in systemic sclerosis: new insights. *Eur J Dermatol* 2011; 21 (5): 686-690. doi: 10.1684/ejd.2011.1423.
 35. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension* 1999; 33 (5): 1111-1117. doi: 10.1161/01.hyp.33.5.1111.
 36. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001; 38 (4): 938-942. doi: 10.1161/hy1001.096358.
 37. Levy BI, Benessiano J, Poitevin P, Safar ME. Endothelium-dependent mechanical properties of the carotid artery in WKY and SHR. Role of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Circ Res* 1990; 66 (2): 321-328. doi: 10.1161/01.res.66.2.321.
 38. Boutouyrie P, Bezie Y, Lacolley P, Challande P, Chamiot-Clerc P, et al. In vivo/in vitro comparison of rat abdominal aorta wall viscosity. Influence of endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17 (7): 1346-1355. doi: 10.1161/01.atv.17.7.1346.