

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade Farmácia
Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas

Marcos Roberto Resende

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES IMUNOHEMATOLOGICOS EM PACIENTES
COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E OUTRAS DOENÇAS AUTOIMUNES**

Belo Horizonte
2024

Marcos Roberto Resende

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES IMUNOHEMATOLOGICOS EM PACIENTES
COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E OUTRAS DOENÇAS AUTOIMUNES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Prof. Dr. Vicente de Paulo Peixoto de Toledo

Belo Horizonte
2024

R433a Resende, Marcos Roberto.
Avaliação de marcadores imunohematológicos em pacientes com
lúpus eritematoso sistêmico e outras doenças autoimunes [recurso
eletrônico] / Marcos Roberto Resende. – 2024.
1 recurso eletrônico (91 f. : il.) : pdf

Orientador: Vicente de Paulo Coelho Peixoto de Toledo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises
Clínicas e Toxicológicas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Lúpus eritematoso sistêmico – Teses. 2. Doenças autoimunes –
Teses. 3. Biomarcadores – Teses. 4. Testes imunológicos – Teses.
5. Testes hematológicos – Teses. I. Toledo, Vicente de Paulo C.
P. de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Farmácia. III. Título.

CDD:616.079



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

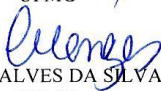
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES BIOQUÍMICOS E
IMUNO-HEMATOLÓGICOS EM PACIENTES PORTADORES DE LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO

MARCOS ROBERTO RESENDE

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, área de concentração ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS.

Aprovada em 05 de julho de 2024, pela banca constituída pelos membros:


Prof. VICENTE TOLEDO - Orientador
UFMG


Profa. CRISTIANE ALVES DA SILVA MENEZES
UFMG


Profa. GISELE DOS SANTOS GONÇALVES
PUC MINAS

Belo Horizonte, 5 de julho de 2024.

Ao Grande Arquiteto Do Universo

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e pela dádiva de conhecer e conviver com pessoas excelentes, pois sozinho, não chegamos à lugar nenhum.

Aos meus pais, em especial a minha mãe, que sempre fez o impossível para que eu alcançasse meus sonhos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Vicente de Paulo Coelho Peixoto de Toledo, por seu companheirismo, por sua compreensão, por me receber de braços abertos nesta etapa, pela sempre e cordial disponibilidade e atenção. Agradeço imensamente do projeto que me propôs. Muito obrigado professor, o senhor fez deste período o melhor possível e terá sempre o meu respeito e admiração.

À Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho pela ajuda, por seu apoio e sempre estar disponível em nos ajudar.

À Prof.a Dra. Hélida Monteiro Andrade, pela ajuda, por seu apoio e por disponibilizar insumos essenciais à realização das etapas experimentais do projeto.

À Prof.a Dra. Gilda Aparecida Ferreira, pois sem seu apoio não seria possível concluir este projeto.

Aos dois Consultores Mateus Aguilar Batista e Pamela Silveira Silva que muito me auxiliaram no desenvolvimento dos dados estatísticos deste trabalho.

Aos colaboradores do HC-UFGM que viabilizaram a realização deste projeto Profa. Dra. Débora Cerqueira Calderaro e Prof. Dr. Adrian Pablo Hinojosa Luna.

Aos funcionários, em especial a secretária Andréia Alcantara por sua disposição, paciência e ajuda.

A todos os professores e funcionários do PPGACT, pelos conhecimentos e apoio durante o mestrado.

Aos colegas do PPGACT pelos ótimos momentos, ajuda, companheirismo e conversas. A todos os que contribuíram de alguma forma para minha formação.

Por fim, agradeço a todos os voluntários, pacientes com LES, com outras doenças autoimunes e controles que se prontificaram em participar deste trabalho.

Nada seria concretizado se não fosse o incentivo financeiro e social realizado pela UFGM. Esse apoio é algo que mudou o rumo da minha vida e boa parte do meu futuro no mercado de trabalho.

“O sucesso é ir de fracasso em fracasso sem perder o entusiasmo.”
Winston Churchill

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune, multissistêmica, que acomete o tecido conjuntivo, com amplo espectro de manifestações clínicas e de etiologia pouco conhecida. A perda da tolerância imunológica leva a produção de autoanticorpos, depósitos teciduais de imuno complexos, ativação do sistema complemento e processos inflamatórios crônicos. O diagnóstico atual estabelecido por meio de complexos critérios desenvolvidos pelo *American College of Rheumatology* aliado ao curso imprevisível do LES, com episódios de atividade e remissão, evidenciam a carência por biomarcadores específicos, menos invasivos que auxiliem no diagnóstico e monitoramento desta patologia. Neste contexto, o presente estudo objetivou identificar marcadores com potencial auxiliar no diagnóstico da doença, em amostras de soro de pacientes portadores de LES comparativamente a pacientes portadores de outras doenças autoimunes (ODA) e a um grupo controle (indivíduos saudáveis), além de subdividirmos o grupo de pacientes com LES de acordo com o estado de atividade da doença (pacientes com a doença inativa ou com baixa atividade – LESBA e pacientes com LES atividade moderada a alta - LESAMA). Participaram deste estudo 132 voluntários, distribuídos no grupo LES, com 44 pacientes (22 pacientes com baixa atividade – SLEDAI $2k \leq 4$; 22 pacientes com atividade moderada/alta – SLEDAI $2k > 4$), 44 pacientes com outras doenças autoimunes (grupo ODA) e 44 voluntários saudáveis (grupo controle). Foram estudados os seguintes marcadores: anti-dsDNA-Nc; anti-DNA SS; Interferon- α ; Interleucinas 8 e 12; Hemograma; Cadeias Leves Lambda e Kappa; Beta-2 Microglobulina; Creatinina e Ureia. Desses analitos avaliados foram identificados resultados promissores para o diagnóstico e/ou prognóstico em quatro deles: Anti-ds DNA-NcX, Anti - DNA SS, IL-12 e Contagem de Linfócitos. Não evidenciamos resultados significativos nas análises de INF- α , IL-8, Global de Leucócitos, Contagem de Plaquetas, Índice Derivado NLR, Índices Derivado PLR, Cadeias Leves LAMBDA e KAPPA, Beta-2 Microglobulina, Creatinina e Ureia entre os grupos avaliados.

Palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico; anti-ds dna-ncx; anti - dna ss; inf- α ; il-8; il-12; plaquetas; linfócitos; cadeia leve lambda; cadeia leve kappa; beta-2 microglobulina; creatinina ureia.

ABSTRACT

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is an autoimmune, multisystemic disease that affects the connective tissue, with a wide spectrum of clinical manifestations and little-known etiology. The loss of immunological tolerance leads to the production of autoantibodies, tissue deposits of immune complexes, activation of the complement system, and chronic inflammatory processes. The current diagnosis established through complex criteria developed by the American College of Rheumatology combined with the unpredictable course of SLE, with episodes of activity and remission, highlights the lack of specific, less invasive biomarkers that help in the diagnosis and monitoring of this pathology. In this context, the present study aimed to identify markers with potential assistance in the diagnosis of the disease, in serum samples from patients with SLE compared to patients with other autoimmune diseases (ODA) and a control group (healthy individuals), in addition to subdividing the group of patients with SLE according to the state of disease activity (patients with inactive disease or low activity – LESBA and patients with moderate to high activity SLE – LESAMA). 132 volunteers participated in this study, distributed in the SLE group, with 44 patients (22 patients with low activity – SLEDAI 2k $\leq$ 4; 22 patients with moderate/high activity – SLEDAI 2k $>$ 4), 44 patients with other autoimmune diseases (ODA group) and 44 healthy volunteers (control group). The following markers were studied: anti-dsDNA-Nc; anti-DNA SS; Interferon- α ; Interleukins 8 and 12; Blood count; Lambda and Kappa Light Chains; Beta-2 Microglobulin; Creatinine and Urea. Of these evaluated analytes, promising results for diagnosis and/or prognosis were identified in four of them: Anti-dsDNA-NcX, Anti-DNA SS, IL-12, and Lymphocyte Count. We did not show significant results in the analyses of INF- α , IL-8, Leukocyte Global, Platelet Count, NLR Derived Index, PLR Derived Index, LAMBDA and KAPPA Light Chains, Beta-2 Microglobulin, Creatinine and Urea between the groups evaluated.

Keywords: systemic lupus erythematosus; anti-ds dna-ncx; anti-dna ss; inf- α ; il-8; il-12; platelets; lymphocytes; lambda light chain; kappa light chain; beta-2 microglobulin; creatinine; bun.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Incidência de LES na população mundial por país	20
Figura 2 - Óbitos por Lúpus no Brasil por regiões de 1996 a 2021	21
Figura 3 - Níveis séricos de IgG anti-ds-DNA NcX em LES/ODA	38
Figura 4 - Níveis séricos de IgG anti-ds-DNA NcX em LES/LESAMA/LESBA	39
Figura 5 - Níveis séricos de Anti DNA SS em LES/ODA	40
Figura 6 - Níveis séricos de Anti-DNA SS em LES/LESAMA/LESBA	41
Figura 7 - Níveis séricos de INF- α em LES/ODA	42
Figura 8 - Níveis séricos de INF- α em LES/LESAMA/LESBA	43
Figura 9 - Níveis séricos de IL-8 em LES/ODA	44
Figura 10 - Níveis séricos de IL-8 em LES/LESAMA/LESBA	45
Figura 11 - Níveis séricos de IL-12 em LES/ODA	46
Figura 12 - Níveis séricos de IL-12 em LES/LESAMA/LESBA	47
Figura 13 - Níveis séricos do NRL em LES/ODA	52
Figura 14 - Níveis séricos do NRL LES/LESAMA/LESBA	52
Figura 15 - Níveis séricos do PLR LES/ODA	53
Figura 16 - Níveis séricos do PLR LES/LESAMA/LESBA	54
Figura 17 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre de KAPPA em LES/ODA	55
Figura 18 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre de KAPPA em LES/LESAMA/LESBA	56
Figura 19 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre LAMBDA em LES/ODA	57
Figura 20 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre LAMBDA em LES/LESAMA/LESBA	57
Figura 21 - Níveis séricos de beta 2-microglobulina em LES/ODA	58
Figura 22 - Níveis séricos de beta 2-microglobulina em LES/LESAMA/LESBA	59
Figura 23 - Níveis séricos de Creatinina em LES/ODA	60
Figura 24 - Níveis séricos de Creatinina em LES/LESAMA/LESBA	60
Figura 25 - Níveis séricos de Ureia em LES/ODA	61
Figura 26 - Níveis séricos de Ureia em LES/LESAMA/LESBA	62
Figura 27 - Alvo ilustrado dos resultados das análises	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios de inclusão de pacientes na pesquisa.....	32
Tabela 2 - Critérios de não inclusão de pacientes na pesquisa	32
Tabela 3 - Resumo dos valores de média e desvio padrão dos dados do hemograma	48
Tabela 4 - Valores de p no exame de Leucócitos	49
Tabela 5 - Valores de p no exame de Plaquetas.....	50
Tabela 6 - Valores de p no exame de Linfócitos.....	50
Tabela 7 - Resumo dos dados estatísticos	63

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Classificação do SLEDAI-2K	20
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcento
>	Maior que
≤	Menor ou igual a
®	Marca comercial registrada
μL	Microlitro
ACR	<i>American College Rheumatology</i>
Anti DNA	Anticorpo anti DNA
Anti dsDNA	Anticorpo anti DNA fita dupla
Anti Anti ssDNA	Anticorpo anti DNA fita simples
Anti Ro/SSA	Anticorpo anti antígeno Ro / <i>single stranded annealing</i>
Anti Sm	Anticorpo anti Smith
APCs	Células apresentadoras de antígenos
b2MG	Beta 2 microglobulina
CDs	Células dendríticas
COEP	Comissão de Ética em Pesquisa
COPCORD	<i>Community Program for Control of Rheumatic Diseases</i>
CLL	cadeias leves livres
dL	Decilitro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ssDNA	DNA fita simples
dsDNA	DNA de fita dupla
DP	Desvio padrão
ELISA	<i>Enzyme Linked ImmunoSobent Array</i>
FAFAR UFMG	Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais
FAN – FAN	Fator antinuclear
FAN Hep2	Fator antinuclear utilizando células Hep2
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FLC	Cadeia Leve Livre Kappa
fL	Fentolitro
g/dL	Gramas por decilitro
GEP	Gerência de Ensino e Pesquisa
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HC UFMG	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ICEx UFMG	Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais
IFN	Interferon
IFN α	Interferon alfa
IFN γ	Interferon gama
IG	Imunoglobulinas humanas
Igκ	(Kappa)
Igλ	(Lambda)
IL 1	Interleucina 1
IL 6	Interleucina 6
IL 8	Interleucina 8
IL 10	Interleucina 10
IL12	Interleucina 12
IP10	Proteína 10 induzida por interferon gama

kDa	Kilodalton
KDE	Elemento de exclusão kappa
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LESAMA	Lúpus Eritematoso Sistêmico de atividade moderada/alta
LESBA	Lúpus Eritematoso Sistêmico de baixa atividade
MG	Minas Gerais
MHC	Complexo Maior de Histocompatibilidade
MHC I	Complexo de histocompatibilidade classe I
MIG	Monocina induzida por interferon gama
mL	Mililitro
mm ³	Milímetro cúbico
NL	Nefrite Lúpica
NLR	Relação neutrófilos por linfócitos
°C	Graus Célsius
ODA	Outras doenças autoimunes
pg	Picograma
pg/mL	Picograma por mililitro
RDW	Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos
RNA	Ácido Ribonucleico
PLR	Relação plaquetas por linfócito
RPM	rotação por minuto
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i>
SLICC	<i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TM	Marca registrada
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCM	Volume Corpuscular Médio
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
VHS	Velocidade de hemossedimentação
WLV	World Lupus Federation

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1	Patogênese do Lúpus Eritematoso Sistêmico	18
2.2	Classificação do Lúpus Eritematoso Sistêmico	19
2.3	Epidemiologia	20
2.4	Diagnóstico.....	22
2.5	Outras perspectivas para o diagnóstico do LES	24
3	JUSTIFICATIVA	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	Objetivo geral	30
4.2	Objetivos específicos.....	30
5	PACIENTES E MÉTODOS	31
5.1	Normas éticas	31
5.2	Seleção dos participantes	31
5.3	Critérios de inclusão: LES, ODA e Controle.....	31
5.4	Critérios de exclusão: LES, ODA e Controle	32
5.5	Tamanho amostral	32
5.6	Obtenção das amostras	33
5.7	Ensaios laboratoriais	33
5.7.1	ANTI-DS DNA-NCX ELISA (IGG) ELISA	33
5.7.2	Anti - DNA SS ELISA	33
5.7.3	INF- α	34
5.7.4	IL-8	34
5.7.5	IL-12	34
5.7.6	Hemograma e novos parâmetros de interpretação.....	35
5.7.7	Cadeias leves e livres LAMBDA E KAPPA.....	35
5.7.8	Beta 2 Microglobulina	35
5.7.9	Creatinina	35
5.7.10	Ureia.....	36
5.7.11	Análises Estatísticas	36
6	RESULTADOS	37
6.1	Anti-dsDNA-NcX ELISA	37
6.2	Anti - DNA SS	39
6.3	Interferon-alfa (INF-α)	41
6.4	Interleucina-8 (IL-8).....	43
6.5	Interleucina-12 (IL-12).....	45
6.6	Hemograma.....	47
6.6.1	Hemograma (global leucócitos)	48
6.6.2	Hemograma (plaquetas)	49
6.6.3	Hemograma (linfócitos)	50
6.6.4	Hemograma (índice derivado NLR).....	51

6.6.5	<i>Hemograma (índice derivado PLR).....</i>	53
6.7	<i>Cadeia Leve Livre Kappa (FLC-K).....</i>	54
6.8	<i>Cadeia Leve Livre Lambda (FLC-L)</i>	56
6.9	<i>Beta-2 Microglobulina</i>	58
6.10	<i>Creatinina.....</i>	59
6.11	<i>Ureia</i>	61
7	<i>DISCUSSÃO.....</i>	65
8	<i>CONCLUSÕES</i>	73
	<i>REFERÊNCIAS.....</i>	74
	<i>APÊNDICES.....</i>	85
	<i>ANEXOS</i>	89

1 INTRODUÇÃO

O termo lúpus (que em latim significa lobo) foi atribuído por Rogerius (Rogerio dei Frugardi, cirurgião da Escola de Salerno) no século XIII para descrever lesões erosivas da face. *É a doença que rói e que come a carne*, Smith *et al.* (1988).

A palavra lúpus passou da linguagem vulgar para a literatura médica, graças às investigações históricas de Virchow (Craveiro, 1890). Em 1846 Ferdinand Von Hebra descreveu dois tipos de lesões no Lúpus Eritematoso: manchas em forma de disco e outras de tamanho menor e confluentes. Introduziu a denominação de asa de borboleta para o eritema malar. O seu discípulo Moritz Kaposi subdividiu o lúpus em formas discoides e formas disseminadas e introduziu o conceito de doença que afeta vários órgãos do organismo humano, sistêmico, com um prognóstico potencialmente fatal, Smith *et al.* (1988).

Moritz Kaposi foi o primeiro médico a reconhecer mais do que doenças de pele em pacientes Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). Em 1872 ele afirmou que “sintomas constitucionais graves e até perigosos podem estar intimamente associados ao processo em questão (Lúpus Eritematoso), e que pode resultar em morte”. No mesmo trabalho ele também descreveu esses sintomas constitucionais como inchaço dos gânglios linfáticos, inchaço doloroso das articulações e dor nos ossos longos. Febre, perda de peso e anemia também foram observadas Dutschmann (2006).

Devido à dificuldade em se diferenciar as classes da doença, no final no século XIX foi atribuído o nome de Lúpus Eritematoso Disseminado. Ao ser observado que a doença compromete vários órgãos e requer o acompanhamento por especialistas de diversas áreas da medicina, a partir da segunda metade do século XX, tal condição clínica passou a ser denominada Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). (Scofield *et al.*, 2009)

Hoje, sabe-se que o LES é uma doença autoimune crônica caracterizada pela presença de autoanticorpos contra antígenos nucleares e citoplasmáticos de diversos órgãos, como pele, coração, pulmões e rins. O envolvimento renal leva ao desenvolvimento de glomerulonefrite, uma complicação que, frequentemente, está associada a um mau prognóstico em longo prazo (Bertsias *et al.*, 2012).

Ademais, o LES é mais comum em mulheres em idade fértil, com uma proporção significativamente maior de mulheres afetadas em comparação com homens. Além disso, a prevalência é maior em grupos étnicos não-caucasianos, embora seja menos comum na África (Sales, 2023).

Pacheco (2023) nos revela que os critérios de classificação do ACR/EULAR 2019 LES, apesar de terem um bom desempenho, não se aplicam a todos os pacientes, pois embora FAN (fator anti nuclear) seja a técnica de escolha, ainda existem certas falhas no processamento de amostras que podem levar a falsos negativos, e isso se deve a fatores próprios dos pacientes como idade, proteinúria, infecções graves, uso de glicocorticoides ou baixa atividade da doença, e pode levar à exclusão do LES em indivíduos que podem ter a doença, causando aumento de morbidade e mortalidade nos pacientes. Desta forma a busca por novos biomarcadores para chegar a um diagnóstico e gerenciamento oportunos que garantam uma melhor evolução e qualidade de vida para os pacientes com LES, reduzindo também os gastos com tratamento destes pacientes.

Fenton *et al.* (2023) demonstrou que o lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune com tendência à inflamação em quase todos os órgãos. A produção de autoanticorpos (especificamente anti-DNA de cadeia dupla (ds)) e a formação de complexos imunes é uma marca registrada do LES e desta forma o exame padrão ouro é justamente ELISA específico para detecção de anti-DNA de cadeia dupla.

Ainda faltam conhecimentos clínicos e moleculares detalhados que possam levar a uma melhor compreensão da patogênese por trás de tal doença, por isso existe a necessidade de se encontrar biomarcadores preditivos adequados que possam identificar pacientes que estão em risco de desenvolver LES (Bieber *et al.* (2023).

Há de se considerar também, o fato de que estes biomarcadores possam igualmente ser utilizados no monitoramento da atividade da doença e dos danos aos órgãos afetados no LES, o que ainda é um grande desafio, Fenton *et al.*(2023).

Muitos gatilhos ambientais foram implicados na causa do Lúpus. Luz ultravioleta (a mais reconhecida), medicamentos/suplementos (equinácea, trimetoprim/sulfametoxazol), tabagismo, infecções (vírus Epstein-Barr em particular), sílica, mercúrio e outros. O estresse psicológico também tem sido associado a um risco aumentado de 50% de desenvolver lúpus (Fava, 2019).

A natureza multifatorial e a patogênese complexa do LES apresentam desafios significativos em sua classificação clínica. Além disso, as respostas imprevisíveis ao tratamento em pacientes enfatizam a necessidade de se conhecer biomarcadores do LES, altamente específicos e sensíveis que possam auxiliar na compreensão da patogênese exata e, assim, levar à identificação de novos alvos terapêuticos (Naithani, 2023).

Neste contexto, nós consideramos estudar a associação entre os biomarcadores imunológicos, bioquímicos e hematológicos convencionais, que estamos propondo neste trabalho, no monitoramento do LES, alguns deles, ainda pouco investigados no geral, e de certa forma, inéditos de acordo com a nossa revisão bibliográfica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Patogênese do Lúpus Eritematoso Sistêmico

O início clínico do LES requer uma interação de predisposição genética, fatores ambientais, imunológicos e hormonais. Um ambiente tão permissivo, juntamente com estímulos pró-inflamatórios, como a produção de interferons tipo 1 e outras citocinas, causa a perda da tolerância imunológica aos autoantígenos (Tsokos, 2016).

Desta forma a fisiopatologia pode ser explicada sobretudo pela geração de autoanticorpos antinucleares (ANAs), formação e deposição de imunocomplexos em diversos órgãos e tecidos. (Enderle, DC *et al*, 2019).

Pacientes com LES apresentam baixa qualidade de vida e alta mortalidade e são mais propensos a desenvolver comorbidades como cardiopatias, doenças vasculares e respiratórias, infecções, câncer e osteoporose (Tsang-a-sjoe, 2021). O trabalho de Yu *et al.* (2021) demonstra claramente que o LES é um problema de saúde significativo, uma vez que, a medicação e a abordagem interdisciplinar utilizadas para tratá-lo só podem controlar os sintomas e retardar a progressão da doença, em vez de eliminá-la totalmente. A capacidade de resposta ao tratamento, a gravidade da doença e a variedade de envolvimento clínico, variam entre os pacientes e levam a problemas significativos na classificação, manejo e tratamento da doença. Além disso, os custos médicos do LES variam dependendo do(s) tipo(s) de órgão(s) afetado(s) e da gravidade da doença. Uma melhor compreensão da patogênese do LES é, portanto, o melhor caminho para uma intervenção precoce e melhorias no tratamento.

A patogênese do LES é complexa, mas há duas características imuno bioquímica definidoras da doença que são a quebra da tolerância aos ácidos nucleicos e a ativação do complexo do interferon. Assim, anticorpos contra ácidos nucleicos, especialmente aqueles contra ácidos expostos e/ou associados a nucleossomos DNA de fita dupla (dsDNA) e proteínas de ligação a RNA, juntamente com uma assinatura do gene estimulado por interferon no sangue e nos tecidos afetados, são marcadores de referência da doença (Båve, 2021).

Um fato descoberto há pouco tempo é que as células B auto reativas são muito frequentes no LES. Não é de se surpreender que estudos genéticos de novos casos de LES, estejam utilizando abordagens genômicas variadas para confirmar que defeitos intrínsecos das células B podem desencadear o LES (Tusseau, 2021).

Há também a alteração da própria imagem corporal dos pacientes, com a presença de edemas, vermelhidões e fadiga, essa última limitando as possibilidades de realizar o cuidado

preconizado, além do agravante da necessidade de espaço para novos leitos referentes à hospitalização (Sodré, 2023).

2.2 Classificação do Lúpus Eritematoso Sistêmico

Ate 2019, havia dois critérios principais de classificação para LES: aqueles postulados pelo *American College of Rheumatology* (ACR) e aqueles do *The Systemic Lupus International Collaborating Clinics* de 2012 (SLICC). A fim de manter a especificidade dos critérios do ACR, mas aumentar a sensibilidade dos critérios SLICC, foram desenvolvidos os critérios de classificação para LES da *European League Against Rheumatism and the American College of Rheumatology* (EULAR/ACR) de 2019. Foi utilizada a ponderação diferencial dos critérios em um sistema de 10 pontos, indicando a classificação do LES. Além disso, foi incluída a advertência de que os critérios só devem ser contabilizados para o LES se não existir outra explicação, ou seja, excluídas todas as outras associações com outras doenças ou causas. Os critérios de 2019 foram validados em populações adultas e pediátricas com sensibilidades de 92% e 89%, respectivamente Aringer, 2019; Sud, 2020; Abdwani 2021.

Para maiores detalhes das metodologias de ACR e SLICC vide ANEXO II e ANEXO III respectivamente na seção APÊNDICES.

No Brasil a metodologia mais usada é o *Systemic Lupus Erythematosus disease activity index (SLEDAI)*, (ANEXO I dos APÊNDICES), desenvolvido no Canadá, que é outro instrumento para a avaliação da atividade de doença, com bons resultados quanto à validade e à reprodutibilidade. Este índice contém 24 itens e produz uma pontuação global que varia de 0 a 105, sendo um instrumento que inclui, em sua avaliação, parâmetros clínicos e laboratoriais, levando-se em conta o órgão acometido. E avalia a atividade da doença nos últimos 10 dias. Escores superiores a 8 indicam doença ativa. A variação de três pontos entre uma visita e outra é aceita como ativação da doença, e variações maiores ou iguais a 12 pontos significam alta atividade da doença, (Yee *et al.* 2008). Posteriormente, observou-se que se concentrava em novas manifestações ou manifestações recorrentes e não conseguia indicar a atividade do LES em curso. Devido a este problema, foi necessário a uma revisão, dando origem ao índice SLEDAI-2000. Este índice produz uma pontuação global que varia de 0 a 105 e a ponderação usada resulta em uma pontuação individual que varia de 1 a 8 (Bombardier, C,1992).

No ano de 2000, o SLEDAI foi revisado, dando origem ao SLEDAI-2K. A modificação proposta incluía a atividade persistente de alguns parâmetros, e não a pontuação destes parâmetros apenas nos casos de início ou recorrência da doença.(Gladman *et al.* 2002).

Quadro 1 - Classificação do SLEDAI-2K

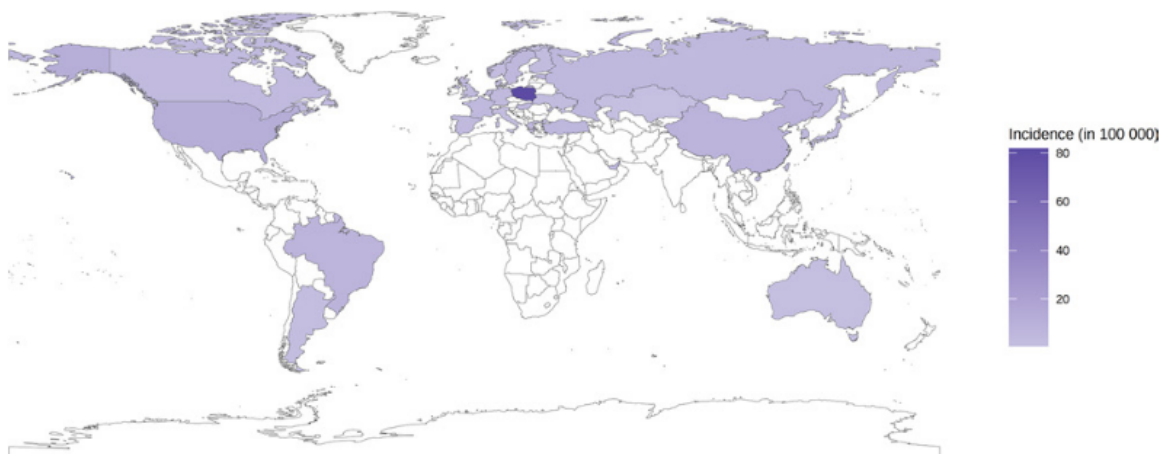
Classificação SLEDAI-2k	
Remissão	SLEDAI= 0
Atividade Leve	SLEDAI= 1-5
Atividade Moderada	SLEDAI= 6-10
Atividade Alta	SLEDAI= 11-19
Atividade Muito Alta	SLEDAI= >20

Fonte: GLADMAN *et al.* 2002

2.3 Epidemiologia

O LES é uma doença que acomete predominantemente o sexo feminino, principalmente mulheres jovens, entre os 15 e 44 anos. A proporção mundial entre mulheres e homens pode chegar até 13:1, e apenas 2:1 para crianças e idosos. Nos últimos anos a incidência de LES vem aumentando, devido principalmente ao diagnóstico dos casos precoces, e varia entre 0,3-31,5 casos a cada 100.000 indivíduos, por ano (Fava, 2018; Petri, 2019; Fanouriakis *et al.*, 2020; Barber *et al.*, 2021). A incidência global de LES está estimada em 5,14 (1,4 a 15,13) por 100.000 habitantes/ano. A nível regional, a incidência de LES na população variou de 1,18 (0,16 a 3,68) por 100.000 habitantes/ano na Ásia Central a 13,74 (3,2 a 31,82) por 100.000 habitantes/ano na Europa Central (figura 1).

Figura 1 - Incidência de LES na população mundial por país



Fonte: Adaptado de TIAN *et al.* (2023)

A incidência do LES difere muito de país para país. Em relação à população em geral, os quatro principais países com as estimativas mais elevadas de incidência de LES foram a Polônia (81,84, 80,33 a 83,51 por 100.000 habitantes/ano), os EUA (12,13, 11,94 a

12,35 por 100.000 habitantes/ano), Barbados (10,37, 2,01 a 36,46 por 100.000 habitantes/ano) e China (8,57, 8,37 a 8,77 por 100.000 habitantes/ano). Em contraste, o Cazaquistão foi o país com a menor incidência a nível mundial (0,57, 0,17 a 1,24 por 100.000 habitantes/ano), (Tian *et al.*, 2023).

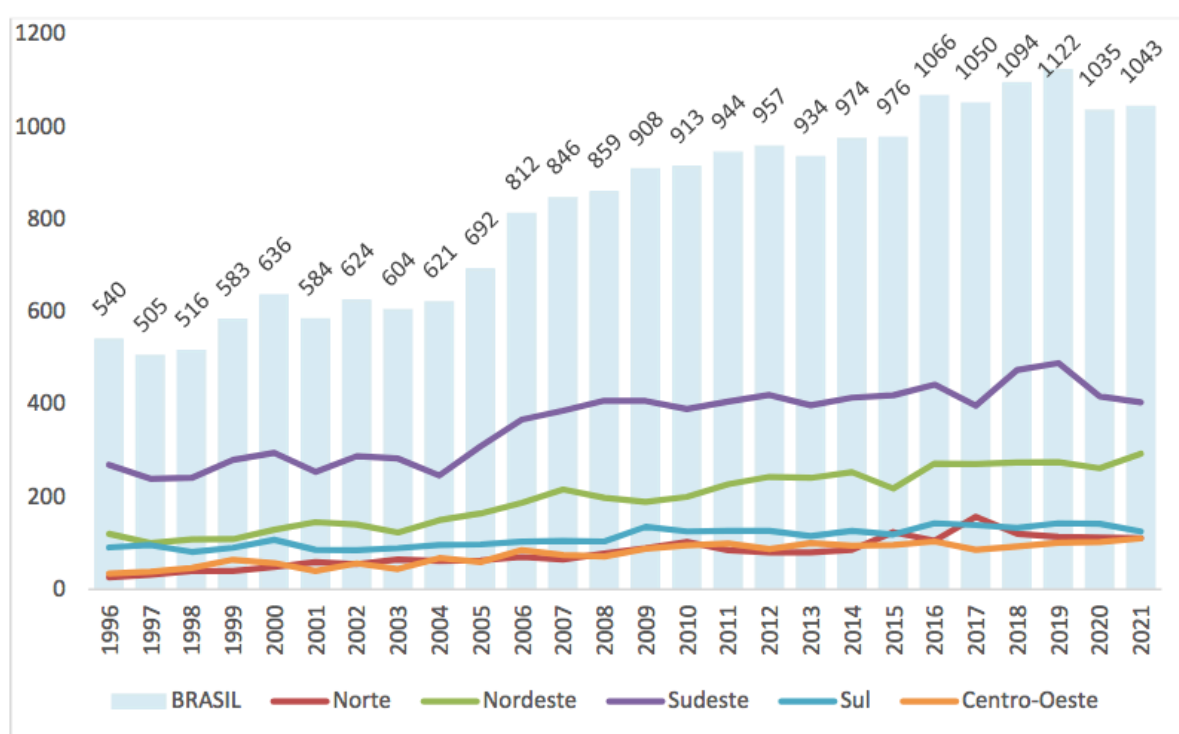
Estima-se que 5 milhões de pessoas em todo o mundo apresentam LES, dentre elas, 90% são mulheres em idade fértil, Carneiro *et al.* (2013).

No Brasil, a estimativa é de 10 novos casos a cada 150.000 pessoas, sendo mais comum em mulheres com idade entre 15 e 50 anos, (Silva *et al.*, 2023)

Segundo a Sociedade Brasileira de Reumatologia (SBR, 2016), estima-se que a doença afete cerca de 65 mil brasileiros, entre 20 e 45 anos de idade, sendo predominante no sexo feminino.

Segundo dados do Ministério da Saúde, no ano de 2021 foram notificados no Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), 1043 casos de óbitos por Lúpus eritematoso (CID-10 L93) e Lúpus eritematoso disseminado com maior incidência ocorrendo na região Sudeste (figura 2)

Figura 2 - Óbitos por Lúpus no Brasil por regiões de 1996 a 2021



Fonte: Ministério da saúde (2023)

2.4 Diagnóstico

De acordo com a *Lupus Foundation of America* diagnosticar o lúpus pode ser um desafio no diagnóstico rápido e eficiente. Não existe um teste único que possibilite aos médicos uma resposta “sim” ou “não”. Às vezes, pode levar meses – ou até anos – para reunir todas as informações corretas. O clínico deverá examinar os sintomas, histórico médico, histórico familiar e exames laboratoriais.

A *World Lupus Federation* (WLV) determina que os sintomas mais comuns do Lúpus (semelhantes tanto para homens quanto para mulheres) são:

- Fadiga extrema (cansaço persistente);
- Dor ou inchaço nas articulações;
- Inchaço nas mãos, pés ou ao redor dos olhos;
- Dores de cabeça;
- Baixas temperaturas;
- Sensibilidade à luz solar ou luz fluorescente;
- Dor no peito ao respirar profundamente.

Muitas pessoas com lúpus também têm sintomas que afetam a sua pele e cabelo, como:

- Vermelhidão em forma de borboleta na pele das bochechas e dorso do nariz;
- Alopecia;
- Feridas na boca ou nariz;

Também a mudança na cor dos dedos que com o frio tornam-se brancos ou azulados, e, quando expostos ao calor, ficam vermelhos e inchados podendo manifestar também dormência. Além disso, o comprometimento articular dos artelhos é muito comum, sendo observado em cerca de 90% dos portadores durante a progressão da doença (Cassione *et al.* 2020).

O quadro clínico, a fadiga é um dos eventos mais frequentes no LES. Também se percebe febre moderada e as reações adversas do uso contínuo de glicocorticoide (Spihlman *et al.*, 2020). A linfadenopatia reacional periférica, perda de peso e mialgias podem igualmente se fazerem presentes (Cassione *et al.*, 2020).

De acordo com a *LUPUS FOUNDATION OF AMERICA*, o diagnóstico laboratorial é ainda muito difícil e limitado, assim como o diagnóstico clínico, baseado exclusivamente

nos sinais e sintomas da doença. Desta forma é preciso associarmos o conjunto de exames laboratoriais com todos os sinais e sintomas em períodos distintos. Assim, quando um teste de anticorpo antinuclear (ANA) positivo é acompanhado por várias outras evidências clínicas, muitas vezes é uma forte indicação para se fechar o diagnóstico de Lúpus.

Maidhof *et al.* (2012) e Kuhn *et al.* (2015) exemplificaram uma série de achados que possibilitam o diagnóstico, que consiste em dados clínicos mediante anamnese, exame físico completo, e testes laboratoriais que incluem hemograma com contagem de plaquetas, contagem de reticulócitos, velocidade de hemossedimentação (VHS), perfil metabólico completo, teste de Coombs direto, transaminases hepáticas, fosfatase alcalina, urina rotina, proteinúria de 24hs, ureia e creatinina séricas, eletrólitos, albumina sérica, dosagem de bilirrubina, complemento (CH50, C3 e C4), proteína C reativa e avaliação de autoanticorpos (FAN, anti-DNA, anti-Sm, anti-cardiolipina, anticoagulante lúpico, anti-La/SSB, anti-Ro/SSA e anti-RNP) por imunofluorescência indireta.

Maidhof *et al.* (2012) e Kuhn *et al.* (2015) tentam a individualização da abordagem, sinais e sintomas que possam afetar diferentemente cada paciente, o uso de outros recursos diagnósticos deve ser levado em consideração, como radiografias para avaliação do envolvimento articular, ósseo, torácico e pulmonar.

O teste sorológico que mais se utiliza é o FAN (fator ou anticorpo antinuclear), mas segundo o Colégio Americano de Reumatologia (CAR) o anti-SSA (ro), anti-SSA (La) e anti-Sm, são classificados como bons marcadores no diagnóstico do LES, uma vez que apresentam especificidade superior a 80%. Alterações laboratoriais tais como anemia hemolítica, linfopenia, leucopenia, trombocitopenia e alterações do sedimento urinário são achados complementares que podem reforçar o diagnóstico para o LES (Lustosa; 2023).

Os parâmetros hematológicos são de grande importância no diagnóstico do LES, principalmente na determinação de sua atividade. As manifestações hematológicas observadas no LES podem ser representadas tanto pela anemia hemolítica autoimune (AHA), leucopenia (LP) e trombocitopenia (TP), quanto por síndromes citopênicas associadas ao uso de com drogas imunossupressoras, Karimdzhannov *et al.* (2022).

Cho *et al.* (2022) em seus estudos demonstram que em diferenciais automatizados de hemogramas, o NLR (Relação Neutrófilos/Linfócitos) serve potencialmente como um possível marcador prospectivo substituto, da atividade da doença e de crises graves em pacientes com LES.

Ma *et al.* (2019) também propõe em seu artigo que incluíram 646 pacientes com LES e 524 controles saudáveis que a PLR (Relação Plaquetas/Linfócitos) foram significativamente maior em pacientes com LES em comparação com controles saudáveis, e foram positivamente correlacionadas com o SLEDAI, sugerindo que a PLR é um biomarcador útil no manejo do LES.

Tanto o NLR como o PLR são marcadores inflamatórios úteis para avaliar a atividade da doença em pacientes com LES. Além disso, o NLR pode refletir os danos renais em pacientes com LES e se associar às diferentes classes de sua classificação histológica, Soliman *et al* (2020).

2.5 Outras perspectivas para o diagnóstico do LES

Embora os critérios diagnósticos pareçam relativamente simples, na prática a simplicidade está longe de ser alcançada, pois, como citado anteriormente, o LES apresenta uma gama de sinais e sintomas semelhantes aos de outras doenças autoimunes, em especial às doenças inflamatórias do tecido conjuntivo como pleurite, serosite, pericardite e vasculite, Goldblatt *et al.* (2013).

Os distúrbios autoimunes do tecido conjuntivo incluem artrite reumatoide, LES, Síndrome de Sjögren primário, esclerose sistêmica, miosite inflamatória idiopática e as vasculites sistêmicas e se caracterizam principalmente, mas não exclusivamente, por acometimentos de articulações e músculos. Uma vez que doenças reumáticas autoimunes compartilham diversas características imunológicas e manifestações clínicas, o diagnóstico diferencial precoce é essencial para se garantir a terapêutica adequada e para melhor definição do prognóstico do LES, Goldblatt *et al.* (2013).

A heterogeneidade da doença e complexidade de seu diagnóstico tem impulsionado pesquisadores a desenvolverem estudos mais abrangentes que permitam definir novas estratégias de diagnóstico, que sejam mais específicos, objetivos e menos invasivos que os métodos atualmente disponíveis, Mosley *et al.* (2006); Ahearn *et al.* (2012).

Nesse cenário, existe uma necessidade urgente de se buscar melhores marcadores diagnósticos para a doença Fenton (2023).

Nos últimos anos, os biomarcadores têm sido amplamente empregados no diagnóstico, previsão e avaliação de doenças imunológicas como LES, Narendra *et al.* (2019).

Os Biomarcadores baseados em fluidos corporais, que são indicadores validados de processos fisiológicos ou patológicos ou de resposta à terapia, constituem modos complementares ou alternativos promissores, menos invasivos, para avaliar o LES, Palazzo *et*

al. (2022).

Um biomarcador é uma biológica que contribui para a patogênese da doença e reflete a atividade da doença. No entanto, existem muitos biomarcadores que podem ser difíceis de medir e, portanto, difíceis de incorporar na prática clínica. Como tal, para que um biomarcador tenha utilidade clínica, ele deve não apenas ser capaz de responder com precisão e sensibilidade às mudanças na atividade da doença, mas também ser simples o suficiente para ser incorporado à prática clínica de rotina, Zhu *et al.* (2021).

As citocinas plasmáticas podem ser consideradas potenciais biomarcadores em pacientes com LES. Estudos multiplex realizados por Idborg *et al.* (2018), mostraram que o TNF- α (que pode ser produzido por macrófagos ativados, linfócitos ou monócitos) revelou um bom potencial na diferenciação de pacientes com LES de indivíduos saudáveis, bem como indicadores de atividade da doença. Além disso, mostraram que para pacientes com LES com envolvimento articular/artrite ativa, IP-10, IL-1a, IL-6, TNF-a e VHS estavam significativamente aumentados em comparação com pacientes sem essas manifestações Bingham (2002). O LES é caracterizado pela regulação positiva de interferons tipo I (IFN α e β , liberados principalmente pelas células dendríticas) e interferon tipo II (IFN γ), secretado principalmente pelas células T. Em pacientes com LES, os níveis de IFN- α aumentam de acordo com a atividade da doença Tanaka (2020). Isso leva à do LES conhecida como “assinatura de IFN”, que envolve níveis elevados de IFN- α e aumento da expressão de genes regulados por IFN tipo I AL Khalili (2020). Em consonância com os dados obtidos no estudo de Dursun *et al.* (2023), o INF- α parece estar mais associado à gravidade da doença no LES.

Ruchakorn *et al.* (2019) demonstrou que os níveis de IL-8 aumentaram significativamente no LES ativo e correlacionaram-se com SLEDAI clínico. O monitoramento de citocinas aumenta a sensibilidade e especificidade para determinar a atividade da doença. IL-6 e IL-8 predizem o risco de LES ativo porém sem manifestação renal. A sensibilidade e especificidade dessas citocinas são superiores às do anti-dsDNA. Desta forma o nível sérico de IL-6 e IL-8 tornam-se interessante futuras abordagem para monitorar a atividade da doença LES na prática clínica. Hussein *et al.* (2023) observaram um aumento na concentração de IL-12 em pacientes com LES em comparação com controles saudáveis, e estaria positivamente associado ao índice de atividade da doença.

Alguns marcadores bioquímicos têm igualmente chamado a atenção de clínicos e estudiosos da doença. O DNA fita dupla ligado aos nucleossomos aparece em vesículas de células apoptóticas que não são imediatamente removidas e, conseqüentemente, são

apresentadas ao sistema imunológico, Baumann *et al.* (2012). Nos últimos anos, tornou-se evidente que os nucleossomos contendo dsDNA são os principais imunógenos para células T e B envolvidas na patogênese do LES; Bruns *et al.* (2000).

Autoanticorpos contra DNA são divididos em dois diferentes tipos: anticorpos contra DNA dupla fita nativo e anticorpos contra DNA fita simples desnaturado (ssDNA). Anticorpos definidos como reativos contra dsDNA reconhecem principalmente epítomos na estrutura desoxirribose-fosfato da dupla hélice e, portanto, são reativos tanto para DNA dupla fita ou fita simples. Por outro lado, anticorpos definidos como reativos contra ssDNA reconhecem polímeros das bases purina que não são acessíveis na forma dupla fita. Anticorpos contra ssDNA não são apenas encontrados em pacientes com LES (70-95%), mas também em associação com outras doenças autoimunes (Lúpus eritematoso induzido por drogas 60%, doenças do tecido conjuntivo 20-50%, polimiosites/dermatomiosites e esclerodermia 14%, Síndrome de Sjögren 13%, artrite reumatoide 8%). Além disso, esses anticorpos anti-ssDNA correlacionam-se com aumento da atividade da doença, especificamente em casos de exacerbações renais, como as glomerulonefrites, CAVALLLO (2019).

Teodorescu (2002) demonstra em seu trabalho que os resultados dos testes anti-ssDNA são úteis no contexto de não conseguir diagnosticar apenas pelos sinais e sintomas, e particularmente para pacientes com suspeita de ter LES. Como quase todos os novos pacientes com LES apresentam anticorpos IgG anti-ssDNA, e, geralmente, em níveis relativamente elevados, esses anticorpos têm sido considerados úteis no diagnóstico diferencial entre AR e LES. Para pacientes que apresentam sinais e sintomas de doenças reumáticas, o teste de autoanticorpos anti-ssDNA tem sensibilidade próxima de 100% e especificidade de 85–90% para LES. Já as anormalidades hematológicas podem ser consideradas indicadores clínicos essenciais de LES. A leucopenia está associada à ocorrência de infecção entre pacientes com LES e um marcador muito importante no acompanhamento da doença, Lu *et al.* (2021). A anemia é uma das manifestações hematológicas mais frequentes, e, sobretudo a anemia leve ou moderada, com valores de hematócrito 30% abaixo do normal, Singh (2013).

Han *et al.* (2023) demonstraram que a contagem de linfócitos encontrada na população de seu estudo fora significativamente mais baixa em pacientes gravemente ativos do que em pacientes levemente ativos e sugeriu que a linfopenia era pronunciada nos pacientes com LES, especialmente naqueles com doença ativa. A presença de alterações

hematológicas, principalmente envolvendo as plaquetas, pode ser observada também no LES. Plaquetopenia é um fenômeno transitório e ocorre em 10% a 20% dos casos de LES, podendo se apresentar clinicamente como petéquias, púrpuras e mais raramente como hemorragia digestiva, Bentlin *et al.* (2022). A proporção de neutrófilos para linfócitos (NLR) foi um método não invasivo e de fácil avaliação a partir do hemograma de rotina. A NLR pode identificar atividade grave da doença no LES, Wu *et al.* (2016), assim como em estudos recentes observou-se que os números e proporções de subgrupos completos de células sanguíneas, particularmente a proporção de neutrófilos para linfócitos (NLR) e a proporção de plaquetas para linfócitos (PLR) tiveram um papel significativo na avaliação da atividade do LES, Ozdemir *et al.* (2023); Haitao *et al.* (2018); Qin *et al.* (2016). Wang *et al.* (2020) revelaram em seus dados de meta-análise que os níveis significativamente aumentados de NLR foram demonstrados no LES comparativamente a população saudável e em pacientes com NL em relação àqueles pacientes sem NL e em pacientes com LES ativo em relação à doença inativa. A NLR poderia assim servir como um novo indicador da atividade da doença no LES.

As imunoglobulinas humanas produzidas pelas células B são compostas por duas cadeias pesadas e duas cadeias leves. Informações clínicas prospectivas relevantes para o cálculo do SLEDAI foram coletadas de prontuários eletrônicos. Existem dois tipos de cadeias leves, KAPPA (κ) e LAMBDA (λ), que estão covalentemente ligados às cadeias pesadas. Podem ocorrer precipitação no soro em condições patológicas em sua forma livre (FLC), podendo nestas situações serem detectadas em diferentes fluidos corporais (líquido cefalorraquidiano ou o líquido sinovial) KAPLAN *et al.* (2011). Cambrón *et al.* (2020) em suas análises percebeu que as FLC apresentam boa capacidade discriminatória para exacerbações em pacientes com LES e principalmente a cadeia leve LAMBDA pode ser um útil biomarcador, pois se apresenta em concentrações mais elevadas nos pacientes com LES ativo, principalmente no início do aparecimento dos sintomas. Jalalonmuhali *et al.* (2019) demonstraram que os níveis séricos de FLC (kappa e lambda) foram numericamente maiores nos pacientes com LES ativo e com comprometimento renal em comparação ao grupo de LES em remissão. Talvez esta possa ser uma boa ferramenta complementar para averiguarmos informações sobre a atividade da doença em pacientes com nefrite lúpica.

A Beta-2-microglobulina (b2MG), uma proteína de peso molecular de 11 kDa, está ligada à cadeia leve dos principais antígenos do complexo de histocompatibilidade classe I (MHC-I). É secretado principalmente pelas células T ativadas, macrófagos e linfócitos B,

MCPHEE *et al.* (2011). Gamal *et al.* (2023) propõem que os níveis séricos de b2MG podem ser utilizados para antecipar a progressão da nefrite lúpica, bem como identificar a gravidade da doença e os danos cumulativos para um manejo adequado com sensibilidade e especificidade significativas.

Rodvalho *et al.* (2023) nos mostra em seu artigo que pode acometer mais de 60% dos pacientes LES apresentarem problemas renais. De acordo com o estudo, três variáveis apresentaram associação significativa com desfechos renais ruins: lesão renal aguda, valor de creatinina sérica elevada por pelo menos seis meses e presença de exacerbações. A ureia é formada no corpo como resultado do metabolismo (quebra) das proteínas. Ela é produzida principalmente no fígado a partir da quebra de aminoácidos. O estudo de Yang *et al.* (2012) indicou que o aumento dos níveis séricos de ureia no LES foi associado positivamente com a duração da doença e trombocitopenia, mas negativamente com artrite e erupção cutânea. A avaliação e dosagem desses dois últimos analitos no LES tem revelado resultados contraditórios e seu emprego questionável na avaliação laboratorial da doença, tornando-se assim um ponto a ser esclarecido nesse estudo.

Devido à escassez de biomarcadores específicos e confiáveis para o diagnóstico do LES, o presente estudo teve por objetivo avaliar marcadores bioquímicos, imunológicos e hematológicos utilizando diferentes técnicas analíticas como ensaios imuno enzimáticos colorimétricos, imunoturbidimétrico, imunofluorescência indireta em células HEp-2, ELISA sanduíche adaptado e imuno ensaio enzimático sanduíche quantitativo, buscando desta forma a identificação de parâmetros auxiliares no diagnóstico e monitoramento da doença.

3 JUSTIFICATIVA

A busca por novas estratégias que auxiliem no desenvolvimento de novos métodos para o diagnóstico e prognóstico faz-se mais necessária, devido ao crescente número de pessoas acometidas por este distúrbio e a gravidade dele e ainda considerando que no Brasil o exame padrão ouro não é utilizado na rotina diagnóstica. Nesse contexto, o desenvolvimento de testes mais específicos, rápidos e, ao mesmo tempo, e de custo acessível em relação às ferramentas atualmente disponíveis, constitui alvo de interesse de numerosos pesquisadores desta área.

Essa necessidade de se avaliar biomarcadores específicos do LES se justifica por várias razões. Primeiro, porque o LES pode ser incorretamente diagnosticado, até mesmo por médicos reumatologistas com muita experiência. O diagnóstico atual exige a interpretação dos complexos critérios desenvolvidos pelo *American College of Rheumatology*. Em segundo lugar, o curso do LES é caracterizado por períodos de ativação e remissão imprevisíveis. Em terceiro lugar, a falta de biomarcadores tem dificultado a avaliação da eficácia de novos fármacos em ensaios clínicos.

Além disso, a falta de dados de biomarcadores específicos e confiáveis no LES afeta diretamente a tomada de decisões clínicas, mesmo por profissionais experientes. O diagnóstico atual é estabelecido por meio de complexos critérios desenvolvidos pelo *American College of Rheumatology*, que reúne uma série de alterações associadas à doença, mas que não possuem sensibilidade e especificidade altas, sendo em alguns casos associados a outras condições clínicas, elevando dessa forma o risco de um diagnóstico incorreto e consequentemente um tratamento também incorreto ou tardio. Dessa forma, a falta de um preditor do real estadiamento da doença pode dificultar o manejo clínico dos pacientes e complicar o desenvolvimento do tratamento. Uma outra limitação consiste no fato de não haver um teste único que defina se a doença está ativa ou não.

Sendo assim, se faz oportuno propor um estudo que contribua para essa área, com dados sobre marcadores que realmente tenham perspectivas de trazer melhoras significativas para o diagnóstico e/ou prognóstico do LES.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar parâmetros sanguíneos, com enfoque para biomarcadores de alterações imunohematológicas em pacientes com LES, visando contribuir para uma melhor caracterização da doença em nosso meio.

4.2 Objetivos específicos

- Realizar a coleta dos dados nos prontuários das dosagens do hemograma e seus índices derivados, em indivíduos diagnosticados com LES, comparativamente a indivíduos normais e afetados por outras doenças autoimunes e ainda realizar também estas dosagens nas amostras do grupo controle.
- Determinar a concentração de citocinas INF- α , IL-8 e IL-12 em todos os grupos;
- Determinar a concentração de Anti-dsDNA-NcX, Anti - DNA SS, ureia, creatinina, LAMBDA E KAPPA, beta 2 microglobulina, em todos os grupos;
- Realizar as estatísticas comparativas para os marcadores estudados e identificar aqueles com potencial de melhor avaliação para o LES comparativamente com os grupos outras doenças autoimunes e grupo controle.

5 PACIENTES E MÉTODOS

5.1 Normas éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP-UFMG) sob número de protocolo CAAE - 01928412.8.0000.5149 (ANEXO V) e pela coordenação de ensino e pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG (HC-UFMG) sob o número 061/16 (ANEXO VI). Os participantes selecionados para o estudo foram esclarecidos sobre os protocolos e objetivos da pesquisa, e aqueles que estavam de acordo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO VII), autorizando a coleta de sangue e o uso de informações constantes do prontuário médico.

5.2 Seleção dos participantes

Os participantes deste estudo foram selecionados no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG) – Ambulatório Bias Fortes sob supervisão médica e na Faculdade de Farmácia da UFMG (FAFAR-UFMG).

Os grupos de participantes foi compostos por mulheres com diagnóstico de LES conforme critérios do *American College of Rheumatology*, em acompanhamento clínico sob tratamento ou não, e sem outra condição autoimune, tendo o score SLEDAI-2k modificado calculado pelo médico no momento da consulta. Participantes com outras doenças autoimunes sistêmicas (ODA), diagnosticadas conforme critérios de cada doença, com características clínicas e laboratoriais semelhantes ao LES, foram também selecionados junto ao Serviço de Reumatologia do HC-UFMG (Ambulatório Bias Fortes).

O grupo de participantes do grupo controles foi composto por voluntárias saudáveis de mesma faixa etária recrutadas no HC-UFMG e na FAFAR-UFMG.

A seleção de todos os participantes ocorreu de 2018 a 2020.

5.3 Critérios de inclusão: LES, ODA e Controle

Na tabela abaixo demostramos os critérios que utilizamos para a criação dos 3 grupos de estudos que foram usados neste trabalho.

Tabela 1 - Critérios de inclusão de pacientes na pesquisa

Critérios de inclusão de cada grupo de estudo		
Grupo LES N=44	Grupo ODA N=44	Grupo CONTROLE N=44
Indivíduos do sexo feminino, com idade superior a 18 anos	Indivíduos do sexo feminino, com idade superior a 18 anos	Indivíduos do sexo feminino, com idade superior a 18 anos
Diagnosticado de LES conforme ACR	Diagnosticado com doença autoimune diferente de LES	Ausência de doenças infecciosas, inflamatórias ou autoimunes no momento da coleta sangue ou com sintomas nos 30 dias precedentes (auto-relato)
Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo paciente	Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo paciente	Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo paciente

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

5.4 Critérios de exclusão: LES, ODA e Controle

Tabela 2 - Critérios de não inclusão de pacientes na pesquisa

Critérios de não inclusão de cada grupo de estudo		
Grupo LES	Grupo ODA	Grupo CONTROLE
Soro positividade para HIV;	Soro positividade para HIV;	Soro positividade para HIV;
Gestantes;	Gestantes;	Gestantes;
Presença de alguma outra condição patológica infecciosa ou inflamatória no momento da coleta de sangue ou nos 30 dias precedentes;	Presença de alguma outra condição patológica infecciosa ou inflamatória no momento da coleta de sangue ou nos 30 dias precedentes;	Presença de alguma outra condição patológica infecciosa ou inflamatória no momento da coleta de sangue ou nos 30 dias precedentes;
Recusa em assinar o TCLE.	Recusa em assinar o TCLE.	Recusa em assinar o TCLE.
		Indivíduos portadores de alguma condição autoimune;

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

5.5 Tamanho amostral

O cálculo do n amostral foi feito considerando-se o objetivo principal do experimento o qual foi detectar possíveis diferenças entre os grupos de participantes, e, entre estes com o grupo controle, para a avaliação preliminar de potenciais biomarcadores para o LES, Miot, (2011). Porém este n não pôde ser alcançado no grupo de controles em razão da homogeneidade dos dados e a limitação imposta pelo kit de testes utilizado no estudo

O total de indivíduos participantes deste estudo submetidos ao experimento foi de 132. O grupo participantes com outras doenças autoimunes foi composto da seguinte forma: Artrite Reumatoide: $n = 11$, Esclerodermia: $n = 11$; Espondilite Anquilosante: $n = 11$ e

Síndrome de Sjögren primário: $n = 11$. Estas doenças foram escolhidas devido a disponibilidade de participantes e suas semelhanças com o LES.

5.6 Obtenção das amostras

Foram utilizadas amostras de soro obtidas a partir de sangue venoso. Estas foram previamente coletadas de participantes recrutados junto ao serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFGM) – Ambulatório Bias Fortes sob supervisão médica, e na Faculdade de Farmácia da UFGM (FAFAR-UFGM). Estas amostras foram imediatamente transportadas para o laboratório de imunologia da Faculdade de Farmácia da UFGM onde foram fracionadas em alíquotas e congeladas em freezer a -70°C , até a dosagem de cada exame e algumas dosagem foram feitas o envio para laboratório de apoio.

As amostras são estáveis para todas as nossas dosagens (inclusive das interleucinas) por um período de 12 meses após a coleta, nas condições citadas acima conforme orientação do laboratório de apoio Hermes Pardini.

5.7 Ensaios laboratoriais

5.7.1 ANTI-DS DNA-NCX ELISA (IGG) ELISA

Foi utilizado o kit da EUROIMMUN Anti-dsDNA-NcX (IgG) ELISA (EA_1572_D_UK_A 03/11/2020), que emprega a técnica manual do ensaio imunoenzimático (ELISA) tipo sanduiche modificado, para a detecção de anticorpos anti-dsDNA, cujo substrato antigênico consiste em dsDNA extraído do timo de cabra, que é complexado com nucleossomos (NcX) e adsorvido à fase sólida. A reação foi desenvolvida conforme instruções do fabricante. O valor de referencia foi caracterizado como negativo se abaixo de (valor de corte): 100 UI/ml e positivo quando os valores forem superiores a 100 UI/ml.

5.7.2 Anti - DNA SS ELISA

Foi utilizado o kit da EUROIMMUN Anti - DNA SS (IgG) ELISA (lote EA_1572_D_UK_A03, 11/2020), que emprega a técnica manual do ensaio imunoenzimático (ELISA) tipo sanduiche modificado, para a detecção de anticorpos anti- DNA SS, cujo substrato antigênico adsorvido à matriz da microplaca consiste em DNA de fita simples (ssDNA) extraído da espécie *Salmo salar* (salmão) altamente purificado. A reação foi

desenvolvida conforme instruções do fabricante. O valor de referencia utilizado conforme o fabricante foi de cut off igual a 20 unidades relativas (UR)/ml, sendo que os resultados negativos foram considerados como inferiores a 20 UR/ml e os resultados considerados positivos foram superiores a 20 UR/ml.

5.7.3 *INF- α*

Foi utilizado o kit da R&D Systems Quantikine®ELISA IFN- α (versão ©2020 R&D Systems®, Inc. 20.06.20 753167.0), que emprega a técnica manual do ensaio imunoenzimático (ELISA) tipo duplo anticorpo sanduiche quantitativo, onde um anticorpo monoclonal específico para IFN- α humano foi pré-adsorvido à matriz da microplaca e a reação desenvolvida conforme o protocolo do fabricante. Valor de referencia conforme o fabricante: resultados inferiores a 15,6 pg/mL foram considerados negativos e valores superiores a 15,6 pg/mL foram considerados positivos.

5.7.4 *IL-8*

Foi adotada a metodologia de ensaio Imunoenzimático sanduíche quantitativo por meio do kit manual da R&D Systems Quantikine®ELISA IL-8 (versão ©2018 R&D Systems®, Inc. 10.04 751333.11), que consiste em um anticorpo monoclonal específico para IL-8 humana (cultura de células humanas) foi pré-adsorvido à matriz da microplaca, conforme o protocolo do fabricante. Valor de referencia conforme o fabricante: resultados inferiores a 31,3 pg/mL foram considerados negativos e valores superiores a 31,3 pg/mL foram considerados positivos.

5.7.5 *IL-12*

Foi utilizado o kit da R&D Systems Quantikine®ELISA IL-12 (versão ©2022 R&D Systems®, Inc. 07.94 750108.19), que emprega a técnica manual do ensaio imunoenzimático (ELISA) tipo duplo anticorpo sanduiche quantitativo, onde um anticorpo monoclonal específico para IL-12 humano foi pré-adsorvido à matriz da microplaca e a reação desenvolvida conforme o protocolo do fabricante. Valor de referencia conforme o fabricante: resultados inferiores a 7,8 pg/mL foram considerados negativos e valores superiores a 7,8 pg/mL foram considerados positivos.

5.7.6 Hemograma e novos parâmetros de interpretação

As amostras dos grupos LES e ODA foram analisados no laboratório do Hospital das Clínicas da UFMG, utilizando o aparelho hematológico Sysmex XE-2100, que utiliza a tecnologia de citometria de fluxo fluorescente com laser semiconductor e foco hidrodinâmico com sensibilidade necessária para quantificar e diferenciar as classes celulares em sangue total (manual versão © 2011 Sysmex America, Inc. Document Number MKT-10-1134 06/2011 1M), conforme o protocolo do fabricante.

As amostras do grupo controle (C) foi analisado usando o aparelho T 890 Coulter, do Laboratório de Hematologia da Faculdade de Farmácia da UFMG, conforme o protocolo pré-estabelecido no Laboratório de hematologia da UFMG.

5.7.7 Cadeias leves e livres LAMBDA E KAPPA

As amostras foram enviadas para laboratório do Instituto Hermes Pardini (SP) e a quantificação das cadeias Lambda e Kappa foi realizada utilizando a metodologia de nefelometria utilizando-se o equipamento Atellica Siemens, conforme o protocolo pré-estabelecido no setor.

5.7.8 Beta 2 Microglobulina

Os dados relativos a este marcador foram obtidos diretamente do prontuário dos pacientes arquivados no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG) – Ambulatório Bias Fortes. As análises foram realizadas no laboratório do Hospital das Clínicas da UFMG utilizando o ensaio de imuno turbidimetria (Atellica Siemens) conforme o protocolo pré-estabelecido no setor.

5.7.9 Creatinina

Foi utilizado o kit enzimático-colorimétrico da marca Bioclin (kit: 10269360370), tendo a reação sido desenvolvida conforme instruções do fabricante e após seu término, quantificadas no aparelho Bioplus modelo BIO-2000, do Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

5.7.10 Ureia

Foi utilizado o kit enzimático-colorimétrico da Bioclin (Urea Enzymatic kit: 10269360101), tendo a reação sido desenvolvida conforme instruções do fabricante e após seu término, quantificada no aparelho Bioplus modelo BIO-2000 do Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

5.7.11 Análises Estatísticas

Para a análise estatística do estudo, recebemos a colaboração do Projeto LabEst: Consultoria em Análise Estatística para Alunos de Graduação do Instituto de Ciências Exatas da UFMG, nas pessoas dos consultores Mateus Aguilar Batista e Pamela Silveira Silva, alunos da Disciplina “Laboratório de Estatística I” e de seu orientador Prof. Dr. Adrian Pablo Hinojosa Luna.

Nosso estudo se configura como um estudo observacional transversal, no qual os pacientes foram selecionados de forma não probabilística e não aleatória, utilizando da técnica de amostragem por conveniência.

As variáveis qualitativas foram descritas pelas frequências absolutas e relativas nas categorias e as variáveis quantitativas foram resumidas pela média e desvio-padrão (DP) e mediana e intervalo interquartilico (Q1-Q3).

Para elaboração dos gráficos utilizamos foram utilizados gráficos de dispersão e *boxplots* para visualização das variáveis quantitativas considerando principalmente a diferença entre os grupos participantes.

6 RESULTADOS

No presente estudo foram avaliados inicialmente 44 participantes portadores de LES, do sexo feminino, destes, 23 caracterizados no momento do diagnóstico com baixa atividade e 21 com moderada/alta atividade, com mediana de idade de 38 anos. A atividade do lúpus eritematoso sistêmico LES é avaliada pelo médico com base nos estágios da presença de manifestações da doença, podendo ser classificada em baixa, moderada e alta atividade.

Com relação ao grupo de indivíduos portadores de outras doenças autoimunes (ODA), participaram do estudo 44 indivíduos inicialmente, sendo todas do sexo feminino. Este grupo foi composto por 11 indivíduos com artrite reumatoide, 11 com esclerose múltipla, 11 com Síndrome de Jhögren e 11 com Espondilite. Com mediana de idade de 53 anos.

O grupo controle foi composto por 44 indivíduos saudáveis, sendo todos do sexo feminino. Com mediana de idade de 45 anos.

Devido a múltiplos fatores relacionados com os medicamentos envolvidos nos grupos de LES e ODA aos quais não conseguimos avaliar devido a diversidade e complexidade, optamos por desconsiderar os mesmos neste estudo.

Convém salientar que tivemos uma diferença considerável de idade nos grupos LES (38) e ODA (53), aos quais infelizmente não dispúnhamos de alterações por serem os dados de pacientes que já se encontravam em tratamento no centro medico e que também não poderíamos selecionar melhor estes dois grupos devido a redução com comprometimento do nosso “n”.

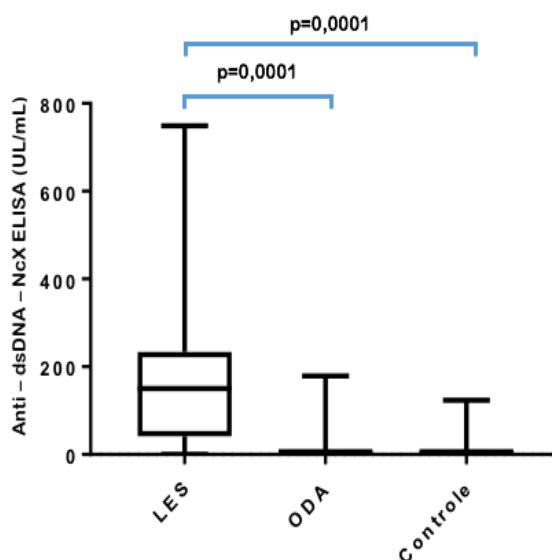
6.1 *Anti-dsDNA-NcX ELISA*

O ensaio imunoenzimático anti-DNA de fita dupla complexo nucleossomo (Anti-dsDNA-NcX ELISA) é relativamente novo e ainda pouco usado na prática diagnóstica e é baseado em nucleossomos carregados com dsDNA como antígenos, para diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e determinação da atividade da doença.

O presente marcador foi avaliado em um total 80 indivíduos, sendo 40 portadores LES, 20 pacientes do grupo ODA e 20 pacientes do grupo controle.

Analisando o gráfico da figura 3, observa-se que os pacientes do grupo LES apresentaram diferenças estatísticas quando comparado com os grupos ODA e controle ($p = 0,0001$).

Figura 3 - Níveis séricos de IgG anti-ds-DNA NcX em pacientes portadores de LES (n = 40), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 153 (Mediana ± 150), o grupo ODA foi de 53 (Mediana ± 13) e o grupo Controle foi de 31 (Mediana ± 16)

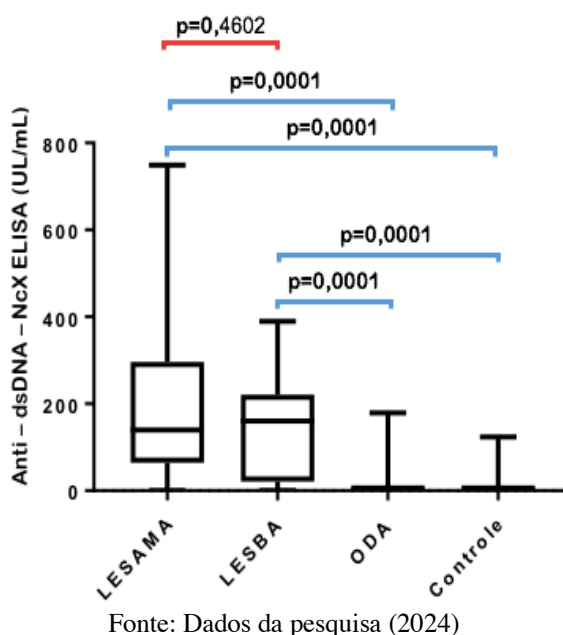


Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Na figura 4 comparou-se os níveis de IgG anti-ds-DNA-NcX em pacientes com as formas clínicas de baixa e moderada/alta atividade do LES entre si e com os níveis do marcador apresentado pelo grupo de pacientes com outras doenças autoimunes e indivíduos saudáveis, com o intuito de se verificar se a diferença constatada na figura 3 foi devido à estratificação dos níveis do marcador nessas formas clínicas. Observou-se que os níveis de IgG anti-ds-DNA-NcX diferia estatisticamente entre quaisquer dos padrões de atividade da doença em relação ao grupo de outras doenças autoimunes e aos grupos controle ($p = 0,0001$ em ambas as comparações), possibilitando diferenciar o LES em sua forma crônica (baixa atividade) e ativa (moderada ou alta atividade) com indivíduos portadores de outras doenças autoimunes.

Por outro lado, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, observou-se que não foi encontrada diferença estatística que possibilite determinar o estadiamento da doença ($p = 0,4602$) (Figura 4).

Figura 4 - Níveis séricos de IgG anti-ds-DNA NcX em pacientes portadores de LES (n = 40) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n = 17) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n = 23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 20). valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 191 (Mediana ± 140), o grupo LESBA foi 115 (Mediana ± 160), o grupo ODA foi de 53 (Mediana ± 13) e o grupo Controle foi de 31 (Mediana ± 16)



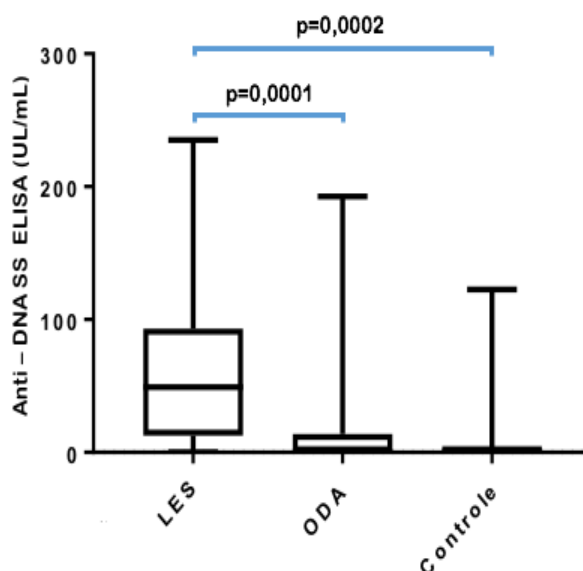
6.2 Anti - DNA SS

O exame de anti-DNA-SS consiste em um ELISA que determina a presença semiquantitativa *in vitro* de anticorpos humanos da classe IgG contra ssDNA (fita simples) em soro ou plasma de pacientes com LES, sendo este, um dos mais utilizados ensaios a nível mundial para o diagnóstico da doença, porém com pouco ou nenhum uso no Brasil até o momento.

Na figura 5 comparou-se os níveis de anticorpos anti-DNA-SS entre pacientes acometidos pelo LES, portadores de outras doenças autoimunes e em indivíduos saudáveis. Constatou-se haver diferença estatística entre o grupo LES e o grupo ODA ($p = 0,0002$).

Os resultados dos pacientes do grupo LES, quando comparados com o grupo controle, demonstram também diferenças estatísticas ($p = 0,0001$), podendo desta forma ser usado como um marcador importante para o diagnóstico da doença.

Figura 5 - Níveis séricos de Anti DNA SS em pacientes portadores de LES (n = 40), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 65 (Mediana ± 49), o grupo ODA foi de 51 (Mediana ± 2) e o grupo Controle foi de 30 (Mediana ± 13)

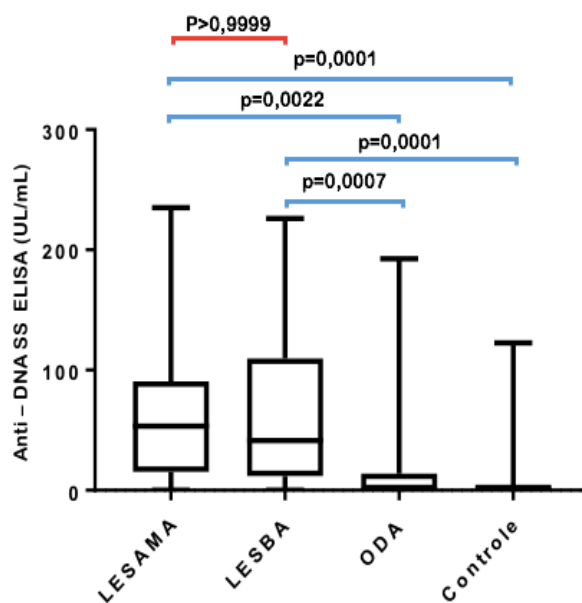


Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Observou-se ainda que os níveis de IgG anti-DNA-SS diferia estatisticamente entre quaisquer dos padrões de atividade da doença em relação ao grupo de outras doenças autoimunes e ao grupo controle.

Por outro lado, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, observou-se que não foi encontrada diferença estatística que possibilite qualificar a fase da patologia ($p > 0,9999$) (Figura 6).

Figura 6 - Níveis séricos de Anti-DNA SS em pacientes portadores de LES (n = 40) subdivididos em dois grupos, atividade moderada/alta - LESAMA (n = 17) e outro com pacientes com baixa atividade - LESBA (n = 23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 65 (Mediana ± 153), o grupo LESBA foi 66 (Mediana ± 41), o grupo ODA foi de 51 (Mediana ± 2) e o grupo Controle foi de 30 (Mediana ± 13)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

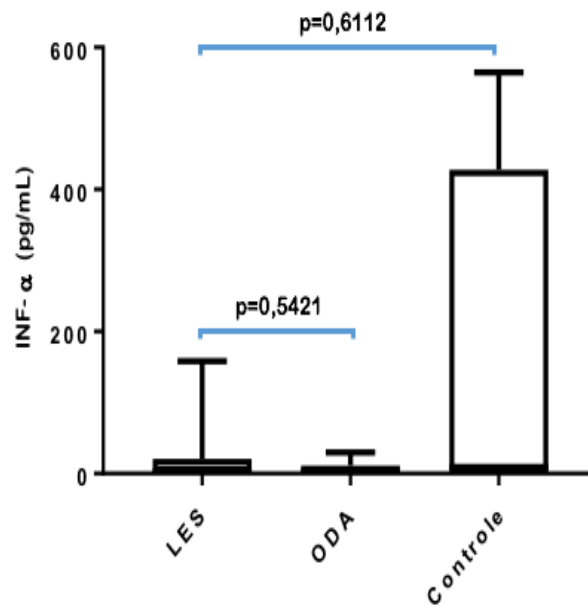
6.3 Interferon-alfa (INF- α)

A citocina Interferon- α , dentre outras propriedades biológicas, aumenta produção de autoanticorpos, regula a transcrição de genes associados com antígenos de MHC classe 1 e induz resposta pró-inflamatória podendo ainda induzir fenômenos autoimunes em indivíduos com pré-disposição para o desenvolvimento desse quadro.

Na figura 7 Não houve diferença estatística quando se comparou pacientes portadores de LES com aqueles que possuíam outras autoimunidades ($p = 0,5421$), o mesmo ocorrendo quando pacientes do primeiro grupo foram comparados a indivíduos saudáveis ($p = 0,6112$). Na figura 8 tampouco evidenciou-se diferenças quando se comparou pacientes com Lúpus de baixa atividade ($p = 0,2230$) ou com atividade moderada alta ($p = 0,7618$) ao grupo de pacientes com outros tipos de autoimunidade. De forma semelhante, também não se constatou haver diferenças quando esses grupos (LESBA e LESAMA) foram comparados ao grupo controle ($p = 0,9495$ e $p = 0,3677$ respectivamente).

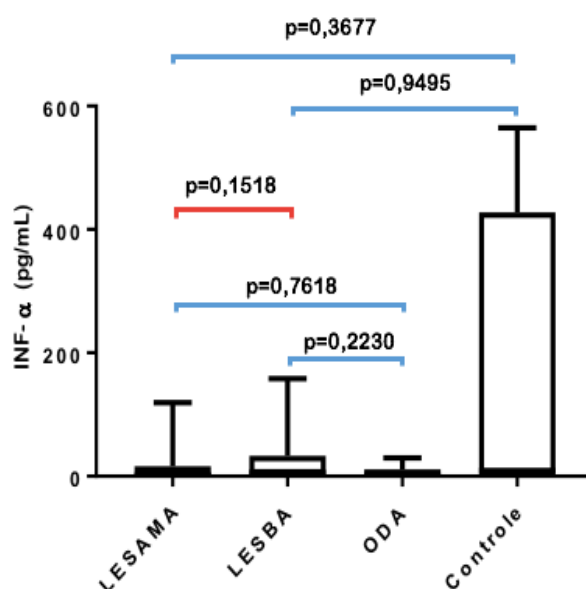
Quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade, observou-se também que não foi encontrada diferença estatística que possibilitasse diferenciar as fases clínicas entre si, $p=0,1518$ (Figura 8).

Figura 7 - Níveis séricos de $\text{INF-}\alpha$ pacientes portadores de LES ($n = 19$), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA ($n = 10$) e ao grupo controle ($n = 04$). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 29 (Mediana ± 3), o grupo ODA foi de 10 (Mediana ± 2) e o grupo Controle foi de 279 (Mediana ± 9)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 8 - Níveis séricos de INF- α em pacientes portadores de LES (n = 40) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n = 08) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n = 11), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 10) e ao grupo Controle (n = 04). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 41 (Mediana $\pm$ 2), o grupo LESBA foi 3 (Mediana $\pm$ 3), o grupo ODA foi de 10 (Mediana $\pm$ 2) e o grupo Controle foi de 279 (Mediana $\pm$ 9)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

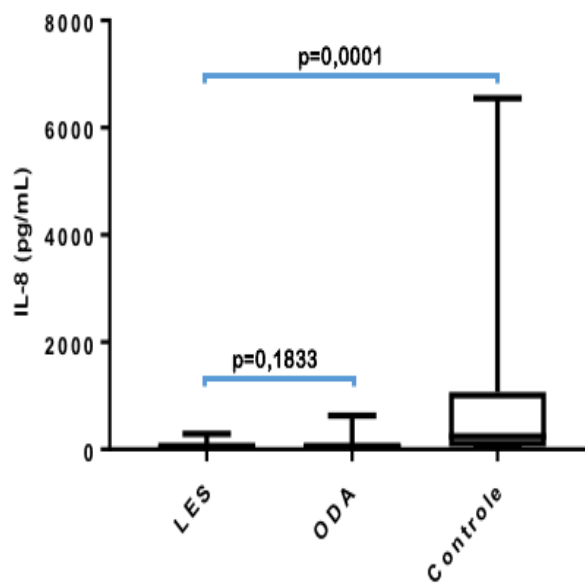
6.4 Interleucina-8 (IL-8)

A crescente variedade de alterações nas citocinas no LES tem sido implicada na sua patogênese. Uma das características da inflamação crônica no LES é a desregulação da rede de quimiocinas, incluindo alterações nos perfis de expressão da IL-8.

Tal expressão não se fez diferente entre pacientes acometidos pelo Lúpus e aqueles com outras doenças autoimunes ($p = 0,1833$). Quando o grupo formado por portadores de LES foi comparado a indivíduos hígidos, mostraram níveis da citocina significativamente maior ($p = 0,0001$) (Figura 9). Resultado semelhante foi observado quando se comparou as concentrações da citocina estratificada nos grupos de pacientes com moderada/alta e baixa atividade da doença com aqueles portadores de outras doenças autoimunes ($p = 0,5711$ e $0,0876$ respectivamente). Por outro lado, indivíduos com as formas clínicas LESBA e LESAMA mostraram níveis dessa quimiocina maiores do que aqueles observados no grupo controle ($p = 0,0002$ e $0,0013$ respectivamente) (Figura 10).

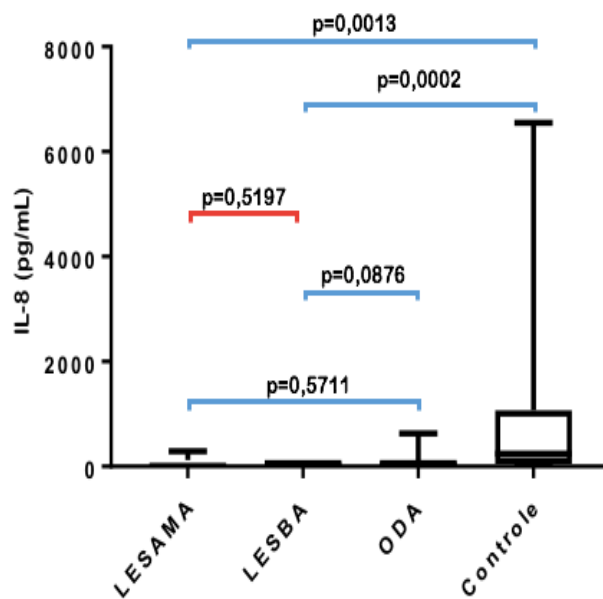
Quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, observou-se que não foi encontrada diferença estatística que possibilite classificar a fase evolutiva da doença ($p=0,5197$) (Figura 10).

Figura 9 - Níveis séricos de IL-8 em pacientes portadores de LES ($n = 21$), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA ($n = 20$) e ao grupo controle ($n = 11$). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 73 (Mediana $\pm$ 13), o grupo ODA foi de 142 (Mediana $\pm$ 35) e o grupo Controle foi de 1469 (Mediana $\pm$ 243)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 10 - Níveis séricos de IL-8 em pacientes portadores de LES (n = 21) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n = 14) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n = 07), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 11). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 93 (Mediana $\pm$ 13), o grupo LESBA foi 13 (Mediana $\pm$ 18), o grupo ODA foi de 142 (Mediana $\pm$ 32) e o grupo Controle foi de 1469 (Mediana $\pm$ 243)



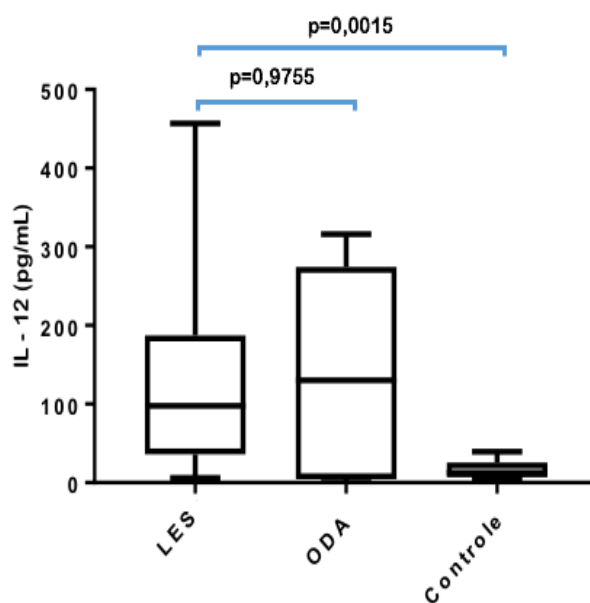
6.5 Interleucina-12 (IL-12)

A ação da IL-12 nas doenças autoimunes humanas ainda não está clara, assim como os níveis dessa citocina no LES ainda não está bem estabelecido. Por se tratar de uma molécula importante na modulação da resposta celular e para melhor conhecermos sua atividade no contexto do LES, incluímos sua avaliação em nossos estudos seus níveis em pacientes.

Esta citocina mostrou-se elevada no LES, não sendo possível a sua diferenciação de outras doenças autoimunes ($p = 0,9755$). Porém, os níveis de IL-12 no LES foram significativamente maiores em relação ao grupo controle ($p = 0,0015$) (Figura 11). De uma forma semelhante, quando se comparou as concentrações da citocina nos grupos de pacientes estratificados entre atividades moderada/alta e baixa da doença, com aqueles portadores de outras doenças autoimunes também não observamos diferença significativa (Figura 12). Por outro lado, estes grupos quando comparados com o controle foram significativamente diferentes ($p = 0,0001$ e $0,0243$ respectivamente).

A comparação entre pacientes com moderada/alta e baixa atividade entre si, mostrou haver diferença significativa ($p < 0,0001$) sugerindo que tal citocina poderia apresentar bom valor preditivo de distinção entre as formas clínicas da doença (Figura 12).

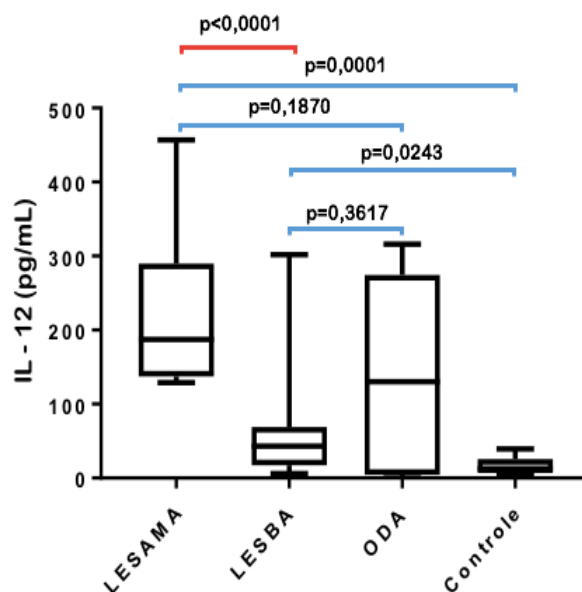
Figura 11 - Níveis séricos de IL-12 em pacientes portadores de LES (n = 29), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 06) e ao grupo controle (n = 06). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 121 (Mediana $\pm$ 98), o grupo ODA foi de 125 (Mediana $\pm$ 79) e o grupo Controle foi de 13 (Mediana $\pm$ 13)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 12 - Níveis séricos de IL-12 em pacientes portadores de LES (n = 29) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n = 12) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n = 17), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 06) e ao grupo Controle (n = 06). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo.

Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 112 (Mediana $\pm$ 187), o grupo LESBA foi 69 (Mediana $\pm$ 43), o grupo ODA foi de 125 (Mediana $\pm$ 79) e o grupo Controle foi de 13 (Mediana $\pm$ 13)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.6 Hemograma

A tabela 3 resume os dados do hemograma realizado nos pacientes e controles participantes do trabalho. Com relação aos grupos ODA e Controle ressaltamos que, por limitação instrumental, o aparelho onde foi processado os exames nos indivíduos participantes do grupo ODA e controle não permitiu a realização do RDW. De acordo com a Portaria Conjunta nº 21, de 01 de novembro de 2022, que define o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Lúpus Eritematoso Sistêmico, os valores do hemograma definidores da doença seriam: a) anemia hemolítica com reticulocitose; ou b) leucopenia de menos de 4.000/mm³; ou c) linfopenia de menos de 1.500/mm³; ou d) trombocitopenia de menos de 100.000/mm³ na ausência de uso de fármacos causadores. Posteriormente, descrevemos alguns dados do hemograma dignos de nota (itens 6.1.5.1 a 6.1.5.5).

Assim, a presença de anemia hemolítica foi constatada no grupo LESAMA. Valores baixos de hemoglobina, em torno de 12,5 g/dL, acometeu 50% do total de indivíduos deste

grupo. Em relação a leucopenia, esta não se destacou na média de nenhum dos nossos grupos analisados.

Mas em contrapartida, a linfopenia foi observada em pacientes com LES, com aproximadamente 53% deles exibindo redução dessa população celular; no subgrupo LESBA, aproximadamente 57% exibiram esse quadro e no grupo LESAMA 60% dos indivíduos apresentaram linfopenia.

Tabela 3 - Resumo dos valores de média e desvio padrão dos dados do hemograma dos pacientes dos grupos LES, LESAMA, LESBA, ODA e Controle

Dados do Hemograma comparativamente entre os grupos e valores de referencia										
	LES (n=47)		LESBA (n=26)		LESAMA (n=20)		ODA (n=41)		Controle (n=36)	
Hemoglobina (g/dL)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	13,1	± 1,9	13,55	± 1,22	12,4	± 2,31	13	± 1,14	13,45	± 1,06
	LES (n=46)		LESBA (n=26)		LESAMA (n=19)		ODA (n=36)		Controle (n=36)	
Hematócrito (%)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	39,3	± 5,65	40	± 3,35	38	± 7,37	40	± 3,05	40,5	± 3,3
	LES (n=45)		LESBA (n=26)		LESAMA (n=18)		ODA (n=37)		Controle (n=36)	
VCM (%)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	88,1	± 8,73	89	± 9,77	87,75	± 7,49	88,4	± 6,26	87,5	± 6,3
	LES (n=41)		LESBA (n=26)		LESAMA (n=15)		ODA (n=22)		Controle (n=36)	
HCM (pg)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	29,6	± 2,32	29,85	± 2,38	29	± 2,16	29,7	± 2,82	29,25	± 2,56
	LES (n=31)		LESBA (n=19)		LESAMA (n=12)		ODA (n=)		Controle (n=)	
RDW (%)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	13,8	± 1,61	13,8	± 1,62	13,7	± 1,66	-	-	-	-
	LES (n= 39)		LESBA (n=23)		LESAMA (n=16)		ODA (n=20)		Controle (n=18)	
Leucócitos (/mm3)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	5000	± 3189	4880	± 3637	5335	± 2452	6055	± 2293	5350	± 1272
	LES (n= 38)		LESBA (n=23)		LESAMA (n=15)		ODA (n=18)		Controle (n=18)	
Linfócitos (/mm3)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	1255	± 763	1351	± 752	1090	± 770	1875	± 817	2228	± 487
	LES (n= 38)		LESBA (n=22)		LESAMA (n=16)		ODA (n=20)		Controle (n=18)	
Plaquetas (/mm3)	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio	Media	Desvio
	209.000	± 74.403	237.000	± 76.251	208.000	± 71.903	265.000	± 84.531	268.500	± 46.319

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.6.1 Hemograma (global leucócitos)

Em relação à contagem global de leucócitos, observa-se pela tabela 4 que não houve diferença estatística quando se comparou pacientes portadores de LES com aqueles que possuíam outras autoimunidades ($p = 0,0859$), o mesmo ocorrendo quando pacientes do primeiro grupo foram comparados a indivíduos saudáveis ($p = 0,7369$). Tampouco

evidenciou-se diferenças quando se comparou pacientes com Lúpus de baixa atividade ($p = 0,1927$) ou com atividade moderada/alta ($p = 0,0902$) ao grupo de pacientes com outros tipos de autoimunidade. De forma semelhante, também não se constatou haver diferenças quando esses grupos (LESBA e LESAMA) foram comparados ao grupo controle ($p = 0,8000$ e $p = 0,7398$ respectivamente). Igualmente, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, observou-se que não foi encontrada diferença estatística que possibilitasse qualificar a evolução da doença ($p=0,9719$) (Tabela 5).

Tabela 4 - Valores de p no exame de Leucócitos nos pacientes portadores de LES ($n = 39$), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA ($n = 20$) e ao grupo controle ($n = 18$) e subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA ($n=16$) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA ($n=23$), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA ($n = 20$) e ao grupo Controle ($n = 18$). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo

Comparação da contagem de leucócitos (/mm ³) entre os grupos de estudo			
	LES	LESAMA	LESBA
ODA	0,0859	0,0902	0,1927
CONTROLE	0,7369	0,7398	0,8000
LESAMA			0,9719

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.6.2 Hemograma (plaquetas)

Pela tabela 5 observa-se que não houve diferença estatística quando se comparou a contagem de plaquetas em pacientes portadores de LES com aqueles que possuíam outras autoimunidades ($p = 0,0792$), o mesmo ocorrendo quando pacientes do primeiro grupo citado foram comparados a indivíduos saudáveis ($p = 0,1180$). Da mesma forma, não evidenciou-se diferenças quando se comparou pacientes com Lúpus de baixa atividade ($p = 0,1945$) ou com atividade moderada/alta ($p = 0,0784$) ao grupo de pacientes com outros tipos de autoimunidade. De forma semelhante, também não se constatou haver diferenças quando esses grupos (LESBA e LESAMA) foram comparados ao grupo controle ($p = 0,2653$ e $p = 0,0999$ respectivamente), assim como, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, não sendo encontrada diferença estatística que nos possibilitasse qualificar o estadiamento da doença ($p=0,5057$) (tabela 6).

Tabela 5 - Valores de p no exame de Plaquetas em pacientes portadores de LES (n = 36), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo controle (n = 18) e subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =15) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =21), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 18). Valor de p < 0,050 definido como significativo

Comparação da contagem de Plaquetas (/mm3) entre os grupos de estudo			
	LES	LESAMA	LESBA
ODA	0,0792	0,0784	0,1945
CONTROLE	0,1180	0,0999	0,2653
LESAMA			0,5057

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.6.3 Hemograma (linfócitos)

Observamos pela Tabela 7 que houve diferença quando se comparou a contagem de linfócitos entre os pacientes portadores de LES com aqueles com ODA e com o grupo controle (p= 0,0246 e 0,0005 respectivamente). Também houve diferença entre pacientes com a doença em diferentes índices de atividade (LESBA e LESAMA) e o grupo controle (p = 0,0032 e 0,0024 respectivamente). Somente pacientes com a doença em atividade moderada/alta puderam ser diferenciados daqueles portadores de outras autoimunidades (p=0,0339).

Finalmente, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade, observou-se que não foi encontrada diferença estatística que nos possibilitasse identificar o estadiamento da doença, (p=0,4921).

Tabela 6 - Valores de p no exame de Linfócitos em pacientes portadores de LES (n = 38), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 15) e ao grupo controle (n = 18) e subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =15) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 15) e ao grupo Controle (n = 18). Valor de p < 0,050 definido como significativo

Comparação da contagem de Linfócitos (/mm3) entre os grupos de estudo			
	LES	LESAMA	LESBA
ODA	0,0246	0,0339	0,0706
CONTROLE	0,0005	0,0024	0,0032
LESAMA			0,4921

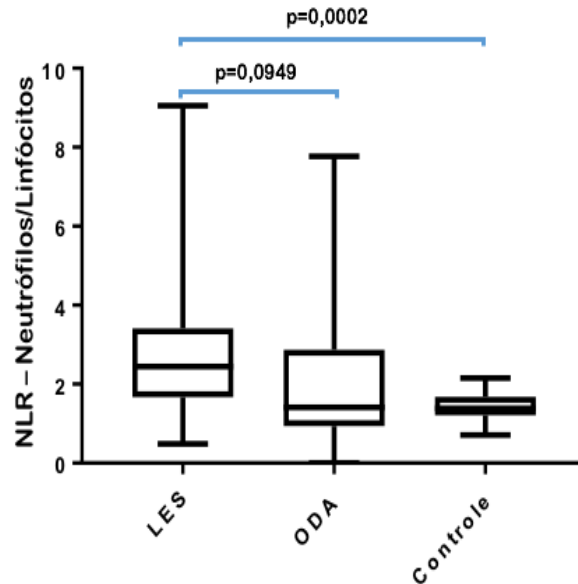
Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.6.4 Hemograma (índice derivado NLR)

Ao trabalharmos com o Índice Derivado do Hemograma, considerando a relação de neutrófilos por linfócitos (NLR), cabe uma ressalva com relação ao grupo controle, onde o valor de neutrófilos foi obtido por cálculo derivado (global de leucócitos subtraído o valor de linfócitos, para obtermos o valor aproximado de neutrófilos) e, desta forma, realizamos o cálculo aproximado para este grupo, uma vez que, a execução dos exames de hemograma do referido grupo foi conduzida em outro aparelho (T 890 Coulter) que só realizava a dosagem dos linfócitos sem os demais dados da contagem diferencial completa.

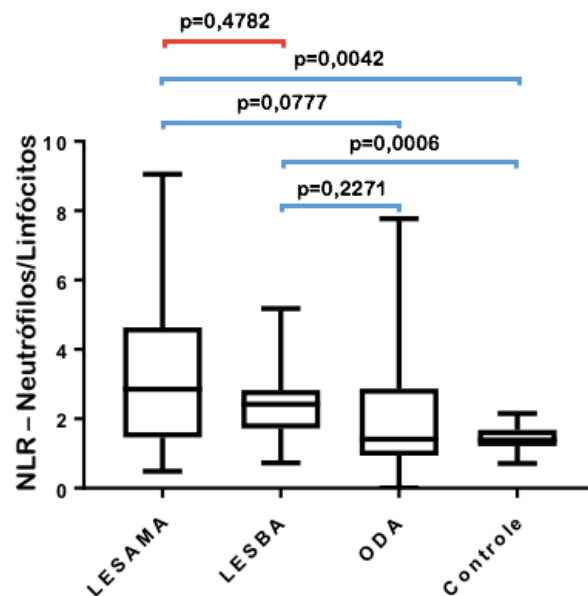
Assim, aplicando-se a NLR aos valores obtidos no hemograma para o grupo dos pacientes portadores de LES, ODA e grupo controle, observamos que este índice foi capaz de diferenciar indivíduos afetados pela doença daqueles saudáveis ($p = 0,0002$), não sendo possível a diferenciação de LES e outras doenças autoimunes ($p = 0,0949$) (Figura 13). Entretanto, quando se comparou pacientes com a doença ativa em seus níveis moderado a alto e aqueles de baixa atividade com o grupo controle, foi possível demonstrar haver diferenças significativas ($p = 0,0042$ e $0,0006$ respectivamente), não tendo sido ainda demonstrado diferenças entre pacientes com LES em suas diferentes formas clínicas com aqueles portadores de outras doenças autoimunes. Quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, observou-se também que não foi encontrada diferença estatística que nos possibilitasse diferenciar o estadiamento da doença ($p = 0,4782$) (Figura 14).

Figura 13 - Níveis séricos do Índice derivados do hemograma NRL em pacientes portadores de LES (n = 38), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 18) e ao grupo controle (n = 18). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 2 (Mediana $\pm$ 2), o grupo ODA foi de 2 (Mediana $\pm$ 1) e o grupo Controle foi de 0,36 (Mediana $\pm$ 1)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 14 - Níveis séricos do Índice derivados do hemograma NRL em pacientes portadores de LES (n = 38) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =15) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 18) e ao grupo Controle (n = 18). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 2 (Mediana $\pm$ 3), o grupo LESBA foi 1 (Mediana $\pm$ 2), o grupo ODA foi de 2 (Mediana $\pm$ 1) e o grupo Controle foi de 0,36 (Mediana $\pm$ 1)



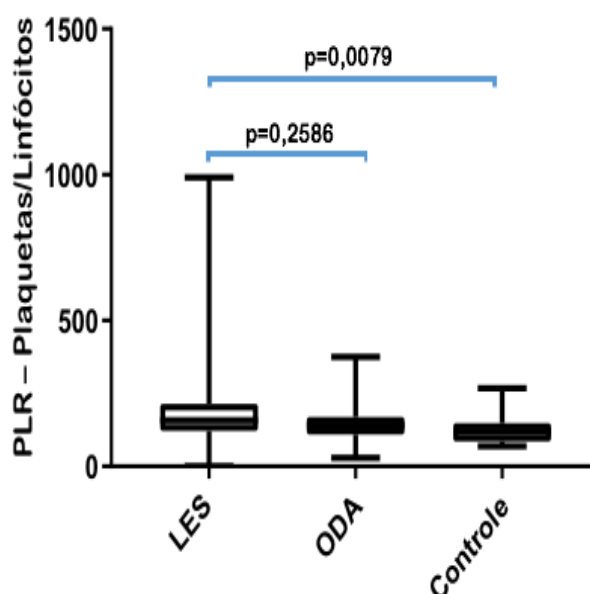
Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.6.5 Hemograma (índice derivado PLR)

A proporção de plaquetas para linfócitos (PLR) elevada é usada como marcador inflamatório para diferentes doenças autoimunes, como a síndrome de Sjögren primária, psoríase e colite ulcerativa. Para essa dosagem foi utilizado o aparelho Sysmex XE-2100 e os cálculos foram feitos utilizando uma planilha do Excel simples.

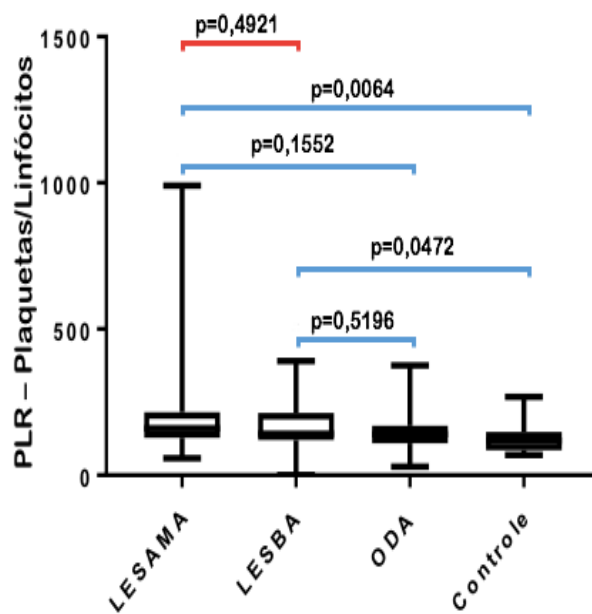
Ao aplicarmos a relação plaqueta/linfócitos (PLR) para o grupo dos pacientes portadores de LES, ODA e grupo controle, observamos que este índice foi capaz de diferenciar indivíduos afetados pela doença daqueles saudáveis ($p = 0,0079$), não sendo possível a diferenciação de LES de outras doenças autoimunes ($p = 0,2589$) (Figura 15). Quando se comparou pacientes com a doença ativa em seus níveis moderado a alto e aqueles de baixa atividade com o grupo controle, foi possível demonstrar diferenças significativas ($p = 0,0064$ e $0,0472$ respectivamente), não tendo sido demonstrado, entretanto, diferenças entre pacientes com LES em suas diferentes formas clínicas com aqueles portadores de outras doenças autoimunes (Figura 16). Quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, não foi encontrada diferença estatística que possibilite distinguir a fase evolutiva do LES ($p = 0,4921$) (Figura 16).

Figura 15 - Níveis séricos do Índice derivados do hemograma PLR em pacientes portadores de LES ($n = 36$), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA ($n = 16$) e ao grupo controle ($n = 16$). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 155 (Mediana $\pm$ 158), o grupo ODA foi de 82 (Mediana $\pm$ 141) e o grupo Controle foi de 47 (Mediana $\pm$ 118)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 16 - Níveis séricos do Índice derivados do hemograma PLR em pacientes portadores de LES (n = 39) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =13) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 16) e ao grupo Controle (n = 16). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 222 (Mediana $\pm$ 161), o grupo LESBA foi 85 (Mediana $\pm$ 142), o grupo ODA foi de 82 (Mediana $\pm$ 141) e o grupo Controle foi de 47 (Mediana $\pm$ 118)

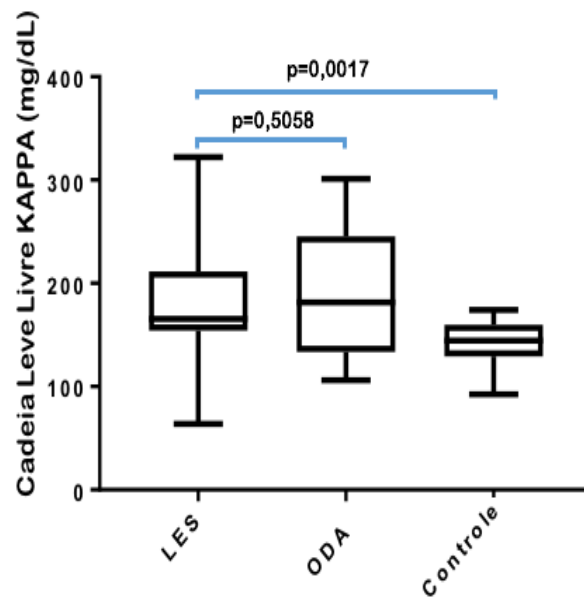


6.7 Cadeia Leve Livre Kappa (FLC-K)

A FLC-K é usualmente encontrada como um dímero de 44kDa presente no soro e associada a doença de depósito de cadeia leve e doenças do tecido conjuntivo, como é o caso do LES. Seus níveis estavam diferencialmente expressos no grupo de pacientes portadores de LES em relação ao grupo controle ($p = 0,0017$), porém sem diferenças em relação ao grupo de indivíduos com outras doenças autoimunes ($p = 0,5058$) (Figura 17). Quando se comparou pacientes com a doença em atividade moderada/alta com o grupo controle, não se evidenciou diferenças significativas ($p = 0,0550$). Pacientes com baixa atividade apresentaram níveis de cadeia Kappa superior ao de indivíduos hígidos ($p = 0,0009$), não tendo sido demonstrado diferenças entre pacientes com LES em suas diferentes formas clínicas LESBA e LESAMA com aqueles portadores de outras doenças autoimunes ($p = 0,7495$ e $0,3771$ respectivamente) (Figura 18). Similarmente, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes

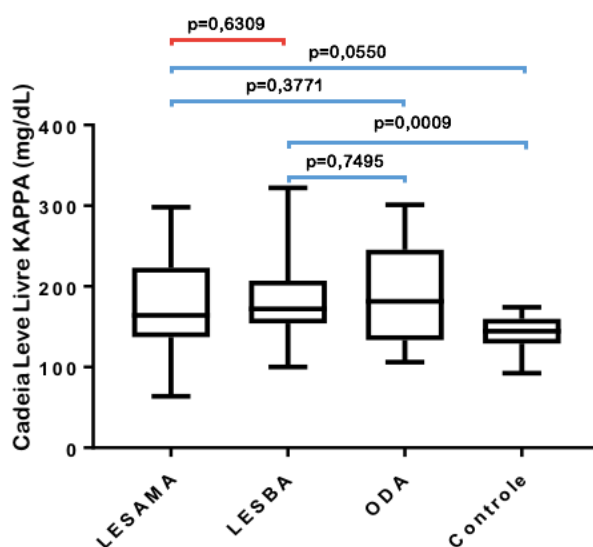
fases de atividade entre si, observou-se também que não foi encontrada diferença estatística que nos possibilitasse distinguir o estadiamento da doença ($p=0,6309$) (Figura 18).

Figura 17 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre de KAPPA em pacientes portadores de LES (n = 40), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n =20) e ao grupo controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 53 (Mediana $\pm$ 166), o grupo ODA foi de 59 (Mediana $\pm$ 182) e o grupo Controle foi de 23 (Mediana $\pm$ 145)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 18 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre de KAPPA em pacientes portadores de LES (n = 40) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =17) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 61 (Mediana $\pm$ 164), o grupo LESBA foi 48 (Mediana $\pm$ 172), o grupo ODA foi de 59 (Mediana $\pm$ 182) e o grupo Controle foi de 23 (Mediana $\pm$ 145)

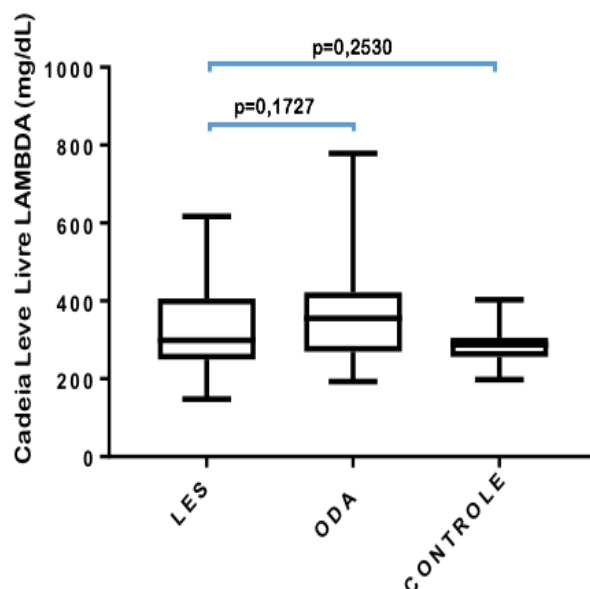


Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.8 Cadeia Leve Livre Lambda (FLC-L)

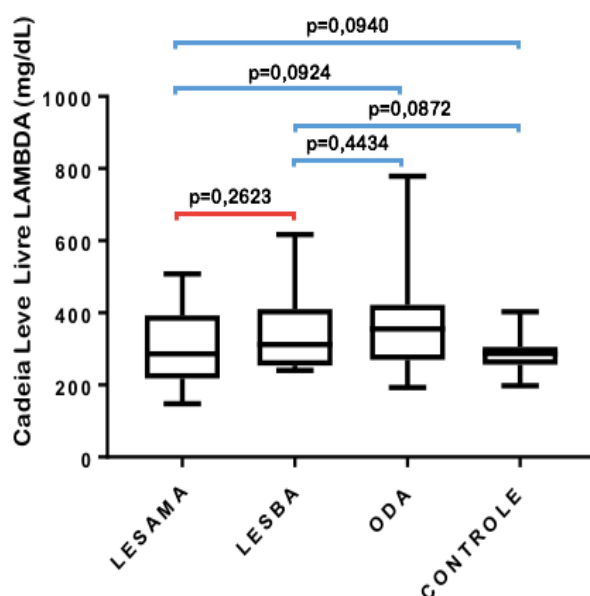
A FLC-L é usualmente um dímero de 44kDa circulante no soro. Níveis elevados de Cadeia Lambda estão associados a desordens das células plasmáticas e a doenças de depósito de cadeia leve e do tecido conjuntivo, como acontece no Lúpus Eritematoso Sistêmico. Este marcador foi avaliado em 40 pacientes com LES, em 20 pacientes portadores de outras desordens autoimunes e em igual número de indivíduos saudáveis. As dosagens da FLC-L não diferiu entre pacientes com LES e com o grupo de indivíduos com outras doenças autoimunes ou ao grupo controle, bem como quando se estratificou o grupo de LES em seus diferentes níveis de atividade entre si e em relação a outras doenças autoimunes ou ao grupo controle. As concentrações do marcador em cada grupo e o valor de p estão apresentados nas figuras 19 e 20.

Figura 19 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre LAMBDA em pacientes portadores de LES (n = 40), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n =20) e ao grupo controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 102 (Mediana $\pm$ 289), o grupo ODA foi de 154 (Mediana $\pm$ 356) e o grupo Controle foi de 48 (Mediana $\pm$ 287)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 20 - Níveis séricos de Cadeia Leve Livre LAMBDA em pacientes portadores de LES (n = 40) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =17) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 109 (Mediana $\pm$ 286), o grupo LESBA foi 96 (Mediana $\pm$ 312), o grupo ODA foi de 154 (Mediana $\pm$ 356) e o grupo Controle foi de 48 (Mediana $\pm$ 287)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

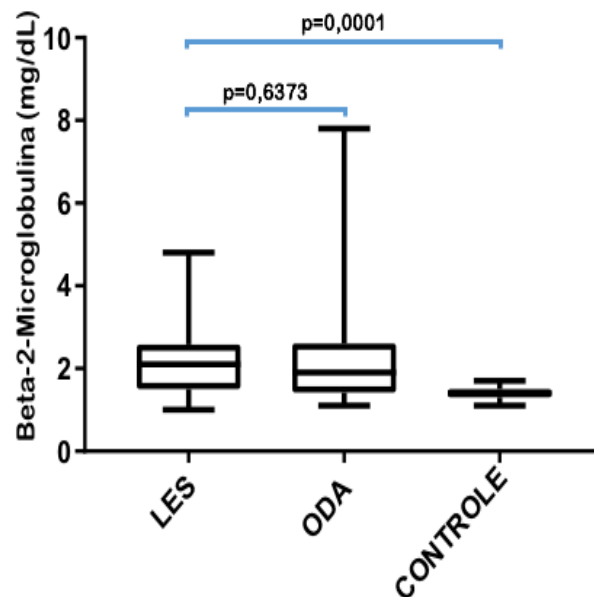
6.9 Beta-2 Microglobulina

Recentemente tem crescido o interesse em se explorar os níveis de Beta 2-microglobulina como um biomarcador para monitoramento da atividade da doença no LES e como um marcador preditivo para a nefrite lúpica. Porém os resultados têm se mostrado conflitantes na literatura.

A análise sérica deste marcador revelou que seus níveis encontraram-se significativamente elevados no LES comparativamente aos seus níveis em indivíduos saudáveis ($p = 0,0001$), sem, contudo, diferenciar o LES de outras autoimunidades (Figura 21). Pacientes em suas diferentes fases de ativação da doença, LESAMA e LESBA também exibiram níveis elevados do marcador em relação ao grupo controle ($p = 0,0001$ e $0,039$ respectivamente), contudo sem exibir diferenças em relação ao grupo de pacientes com outras doenças autoimunes, ($p = 0,0528$ e $0,4274$ respectivamente), (Figura 22).

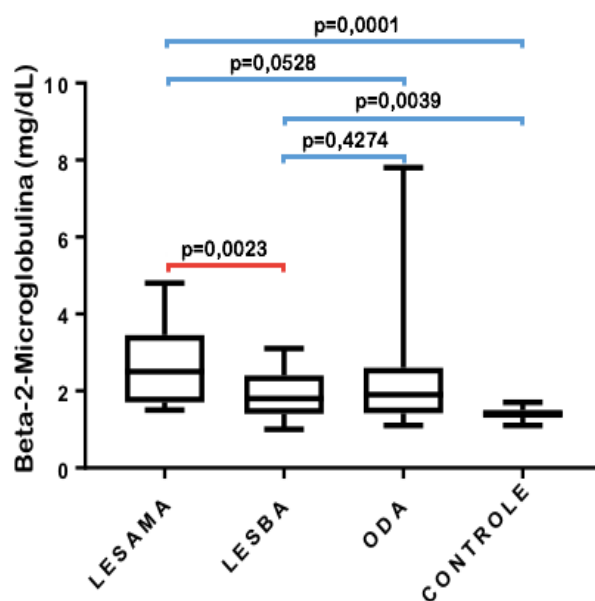
E ainda, quando se comparou pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, observou-se que foi encontrada diferença estatística que nos possibilitasse qualificar a evolução clínica da patologia, $p=0,0026$ (Figura 22).

Figura 21 - Níveis séricos de beta 2-microglobulina em pacientes portadores de LES ($n = 40$), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA ($n = 20$) e ao grupo controle ($n = 20$). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi $0,91$ (Mediana $\pm 2,50$), o grupo ODA foi de $1,48$ (Mediana $\pm 1,90$) e o grupo Controle foi de $0,14$ (Mediana $\pm 1,40$)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 22 - Níveis séricos de beta 2-microglobulina em pacientes portadores de LES (n = 40) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n = 17) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n = 23), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 20) e ao grupo Controle (n = 20). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 1,06 (Mediana $\pm$ 2,50), o grupo LESBA foi 0,58 (Mediana $\pm$ 1,80), o grupo ODA foi de 1,48 (Mediana $\pm$ 1,90) e o grupo Controle foi de 0,14 (Mediana $\pm$ 1,40)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

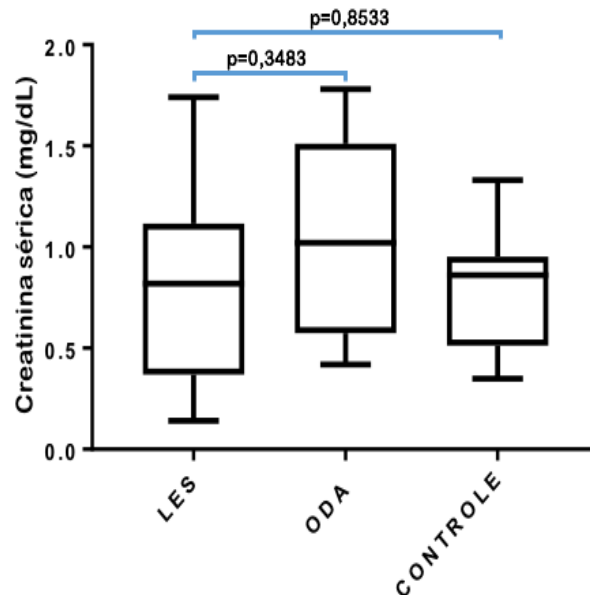
6.10 Creatinina

Os níveis de creatinina presente no organismo podem ser usados clinicamente para avaliar o *status* da função renal. No caso do LES, sobretudo naqueles casos de nefrite, tal marcador pode ser de grande utilidade prática, principalmente no seguimento dos pacientes propensos à evolução para casos de falência do órgão.

A dosagem de creatinina no sangue dos pacientes portadores de LES não diferiu em nenhum momento do grupo controle, inclusive nos casos de pacientes com atividade moderada/alta, quando se esperava nesses casos uma tendência à evolução para a insuficiência renal (figuras 23 e 24).

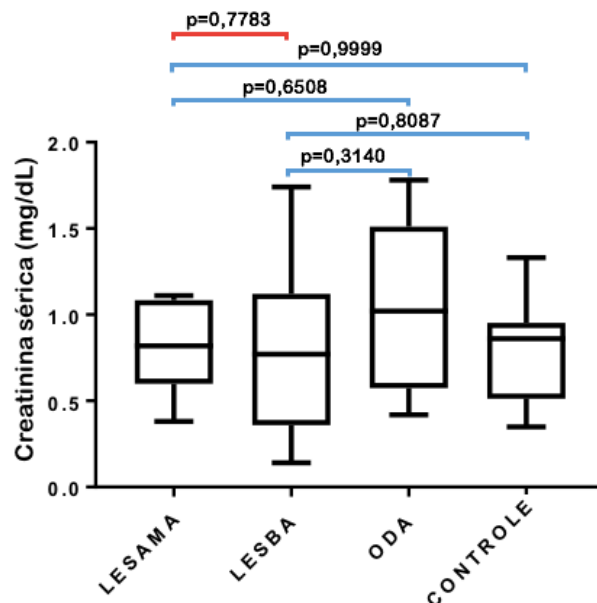
Ao se comparar pacientes com a doença em suas diferentes fases de atividade entre si, também não foi encontrada diferença estatística que nos possibilitasse utilizar esse analito como marcador preditivo do estadiamento da doença ($p=0,7783$) (Figura 24).

Figura 23 - Níveis séricos de Creatinina em pacientes portadores de LES (n = 17), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n =05) e ao grupo controle (n =10). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 0,29 (Mediana $\pm$ 0,82), o grupo ODA foi de 0,51 (Mediana $\pm$ 1,02) e o grupo Controle foi de 0,29 (Mediana $\pm$ 0,86)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 24 - Níveis séricos de Creatinina em pacientes portadores de LES (n = 17) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n =05) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n =12), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 05) e ao grupo Controle (n = 10). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 0,29 (Mediana $\pm$ 0,82), o grupo LESBA foi 0,52 (Mediana $\pm$ 0,77), o grupo ODA foi de 0,51 (Mediana $\pm$ 1,02) e o grupo Controle foi de 0,29 (Mediana $\pm$ 0,86)

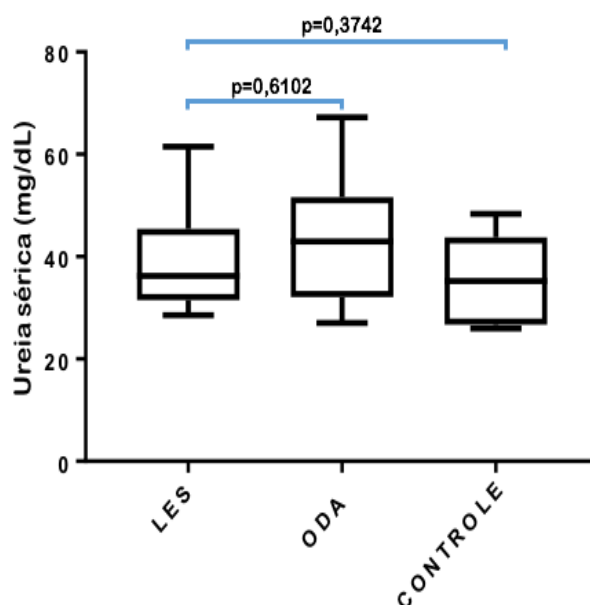


Fonte: Dados da pesquisa (2024)

6.11 Ureia

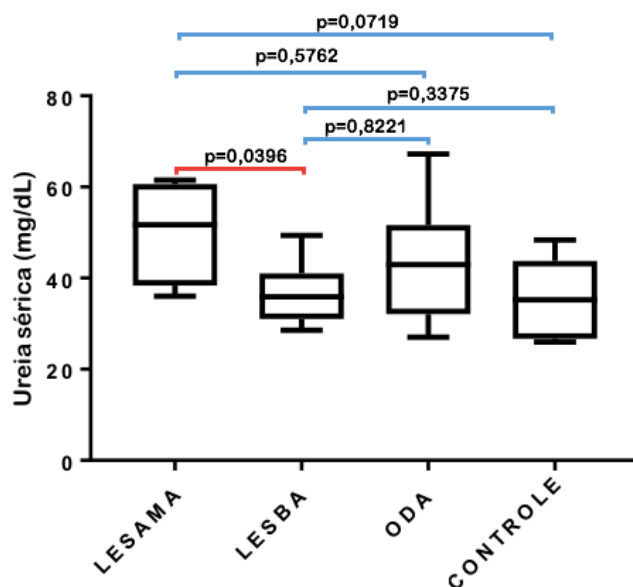
Há várias situações clínicas que podem levar ao aumento da ureia, dentre os quais o LES, principalmente, nos casos de nefrite lúpica, e, comparada com a creatinina, a ureia se eleva mais precocemente na disfunção renal. Neste trabalho avaliamos os níveis desse marcador nos grupos de estudo. Observamos que similarmente ao que aconteceu com a avaliação da creatinina, não se detectou aumento em sua concentração, nem quando se estratificou o grupo de LES em seus diferentes níveis de atividade, comparados entre si ou a outras doenças autoimunes ou mesmo ao grupo controle (Figuras 25 e 26).

Figura 25 - Níveis séricos de Ureia em pacientes portadores de LES (n = 15), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 06) e ao grupo controle (n = 10). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LES foi 10 (Mediana $\pm$ 36), o grupo ODA foi de 14 (Mediana $\pm$ 43) e o grupo Controle foi de 9 (Mediana $\pm$ 35)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

Figura 26 - Níveis séricos de Ureia em pacientes portadores de LES (n = 15) subdivididos em dois grupos, um com média a alta atividade LESAMA (n = 04) e outro com pacientes com baixa atividade LESBA (n = 11), comparativamente àqueles com outras doenças autoimunes ODA (n = 06) e ao grupo Controle (n = 10). Valor de $p < 0,050$ definido como significativo. Os valores do desvio padrão para o grupo LESAMA foi 12 (Mediana $\pm$ 52), o grupo LESBA foi 6 (Mediana $\pm$ 36), o grupo ODA foi de 14 (Mediana $\pm$ 43) e o grupo Controle foi de 9 (Mediana $\pm$ 35)



Fonte: Dados da pesquisa (2024)

A figura 27 a seguir nos mostra o resumo dos dados estatísticos resultantes de nossas análises onde das 15 avaliações realizadas, chegamos a oito possíveis biomarcadores para o LES, sendo que os dois melhores resultados foram dos exames de Anti-dsDNA-NcX e Anti - DNA SS por conseguirem diferenciar a doença dos indivíduos normais e ainda dos pacientes portadores de outras autoimunidades e com sintomas muito parecidos.

Os valores da contagem de linfócitos obtidos do hemograma também se mostraram como um parâmetro interessante para o diagnóstico laboratorial do LES.

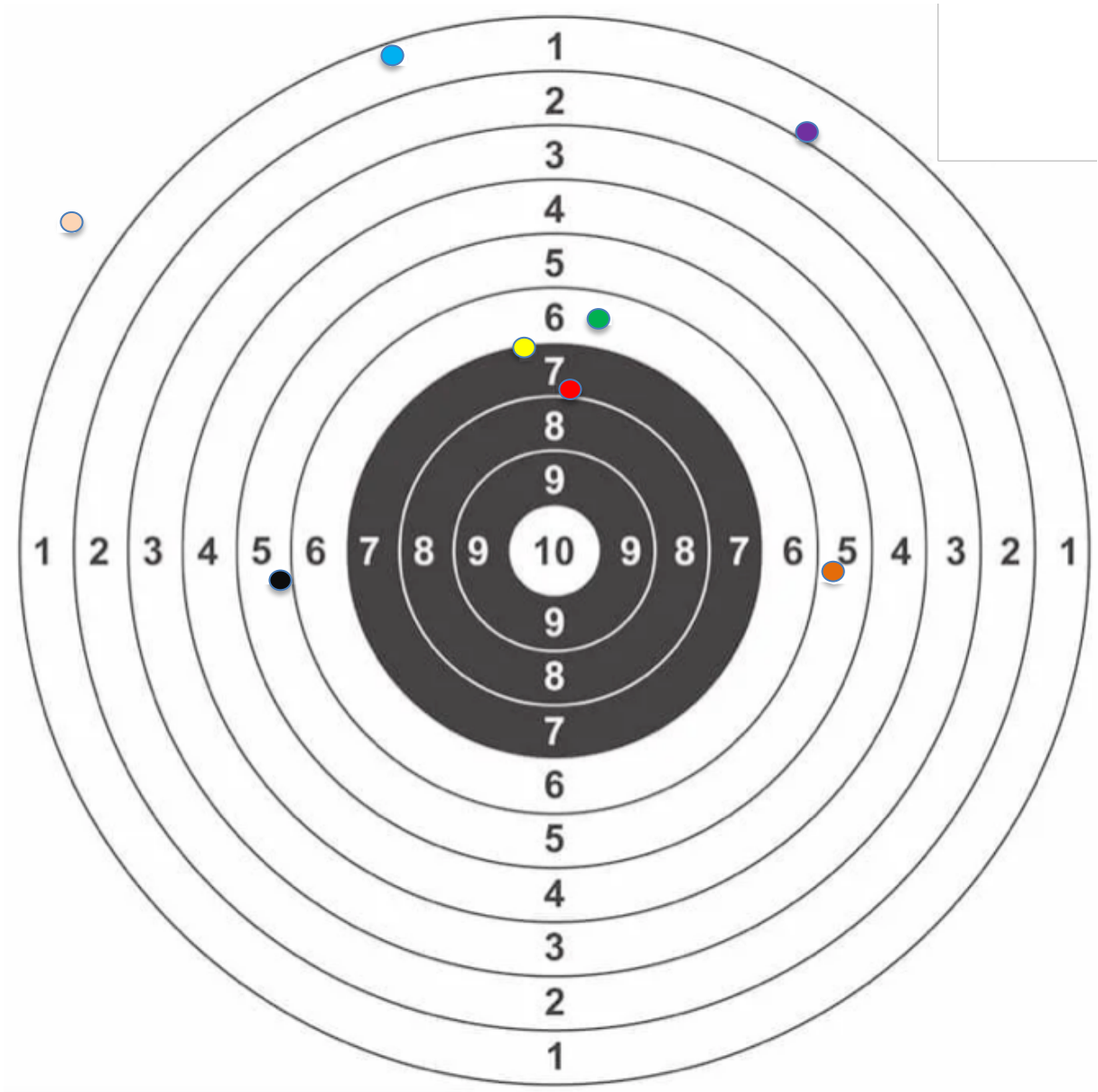
Tabela 7 - Resumo dos dados estatísticos As letras X indicam os exames que apresentam diferenças estatísticas nas comparações e as cores destacam aqueles que apresentaram maior número de diferenças quando comparados entre os demais exames

Nº	Exames	Diferenças estatísticas								Mais indicado para Biomarcador
		Les x ODA	LES x Controle	LESAMA x ODA	LESAMA x Controle	LESBA x ODA	LESBA x Controle	LESBA x LESAMA	Possível biomarcador ?	
1	Anti-dsDNA-NcX ELISA (IgG)	X	X	X	X	X	X		X	X
2	Anti - DNA SS	X	X	X	X	X	X		X	X
3	INF-ALFA									
4	IL-8		X		X		X		X	
5	IL-12		X		X		X	X	X	
6	Hemograma (Global Leucócitos)									
7	Hemograma (Plaquetas)									
8	Hemograma (Linfócitos)	X	X	X	X		X		X	
9	Hemograma (Índices derivado NLR)		X		X		X		X	
10	Hemograma (Índices derivado PLR)		X		X		X		X	
11	LAMBDA		X				X		X	
12	KAPPA									
13	Beta 2 microglobulina							X		
14	Creatinina									
15	Ureia							X		

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

A tabela 7 ilustra a precisão dos nossos marcadores quanto a sua eficiência em diferenciar os diferentes grupos de estudo entre si. Conforme exposto acima o Anti-dsDNA-NcX foi o marcador mais assertivo em nosso estudo.

Figura 27 - Alvo ilustrado dos resultados das análises, referentes aos 8 exames mostrados na tabela 8, aqueles com maior valor assertivo se aproximaram do centro do alvo



Referencia das cores das esferas da Tabela - 10			
Anti-dsDNA-NcX		Linfócitos	
Anti - DNA SS		NLR	
IL-8		PLR	
IL-12		LAMBDA	

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

7 DISCUSSÃO

O LES é uma patologia autoimune crônica não contagiosa, de etiologia desconhecida, podendo estar relacionado com fatores hormonais, genéticos e ambientais, o que torna difícil seu diagnóstico, Anders *et al.* (2020).

Zian *et al.* (2018) já caracterizavam o LES por seu grande polimorfismo clínico e predominância no sexo feminino. O aparecimento e progressão do LES são influenciados por fatores genéticos, imunológicos e ambientais. A etnia também parece contribuir para a expressão e heterogeneidade das características clínicas e imunológicas da doença, que pode envolver múltiplos órgãos, incluindo pele, articulações, sistema hematopoiético, sistema vascular, rins etc., sendo que os mecanismos de estabelecimento dessas lesões ainda não estão muito bem esclarecidos, Yang *et al.* (2012).

Yu *et al.* (2021) em seus estudos nos mostram que a incidência de LES é de 0,3–31,5 em 100.000 por ano. Parece haver uma tendência de aumento da prevalência do LES. Os custos relativos aos cuidados de saúde da doença estão relacionados a sua gravidade e aos tipos de órgãos envolvidos. O custo médio anual com o manejo de pacientes com LES gira na ordem de US\$ 21.000 a US\$ 53.000 nos EUA, Murimi-worstell *et al.* (2021).

Tedde-filho *et al.* (2021), em seu estudo no período de 2009 a 2018, nos mostra que 1,66% dos internados portadores de LES, ao longo dos dez anos, evoluíram para óbito. Entretanto, no ano de 2018 essa taxa de mortalidade aumentou para 1,9%. Seu estudo também mostra que, no período do estudo, foi observado um total de 12.852 internações no Brasil, sendo 88% delas no sexo feminino. A etnia com maior prevalência nas internações foi a parda (40% dos casos). Ainda nesse período houve um predomínio de casos em São Paulo, com cerca de 3443 casos, seguido por Minas Gerais com 1547 casos e Distrito Federal em terceiro lugar com 1296 casos. São Paulo teve o maior número de óbitos (56 óbitos), seguido pelo Rio de Janeiro (22 óbitos) e em terceiro lugar o Pará (20 óbitos). Em relação à mortalidade por etnia, nota-se que os negros ocupam a primeira posição (a cada 100 negros diagnosticados com LES, 2,25 evoluem para óbito). Tendo ainda um crescimento no número de internações de 2009 (522 casos) para 2018 (2312 casos).

Yee *et al.* (2008), demonstraram em seu trabalho que há confiabilidade do índice SLEDAI-2000 na prática clínica de rotina. Porém, a confiabilidade do índice SLEDAI-2000 não foi representativo em 100% dos pacientes, apresentando uma discordância em algumas das pontuações em 46% dos pacientes, demonstrando a necessidade de uma nova forma de diagnóstico. O Índice de Atividade da Doença do Lúpus Eritematoso Sistêmico 2000

(SLEDAI-2K) é mais comumente aplicado para avaliar a atividade do LES. No entanto, este modelo de pontuação incorpora indicadores de testes laboratoriais e parâmetros de avaliação médica, portanto, envolve um certo grau de subjetividade. Além disso, o escore SLEDAI-2K é complexo e caro, sendo inconveniente para uso clínico de rotina Wang *et al.* (2020). Tais considerações nos permite propor o atual estudo que visa a busca por marcadores que nos possibilite um diagnóstico mais simples e rápido para o LES.

As manifestações clínicas e laboratoriais mais observadas entre as pacientes de LES neste estudo, no momento do diagnóstico, foram o *rash malar* (66,7%), distúrbios hematológicos (66,7%), distúrbio renal (60,0%), fotossensibilidade (50,0%), artrite (46,7%) e *FAN-Hep2 positivo* (46,7%). Em um recente estudo realizado em Curitiba-PR, SKARE *et al.* (2015) alcançaram dados semelhantes, com predomínio de distúrbios hematológicos (76,9% no total), fotossensibilidade (76,7%), artrite (61,0%), rash malar (52,1%) e glomerulonefrite (40,0%).

Apesar dos numerosos avanços feitos na compreensão da patogênese do LES, poucos biomarcadores foram validados e amplamente incorporados na prática clínica, devido à complexidade da doença, ZHU *et al.* (2021). Dessa forma, buscamos, com este estudo usando, o painel de marcadores estudados, determinar um ou mais exames que permita, mesmo com a complexidade do LES, realizar o diagnóstico e até um prognóstico da evolução da doença para casos de maior gravidade de uma forma fácil para ser incorporado na prática clínica. Um grande diferencial neste trabalho foi comparar dados obtidos em pacientes com LES com pacientes portadores de outras autoimunidades, assim como analisá-los nas diferentes fases evolutivas do LES (LESBA e LESAMA).

Bauer *et al.* (2023) demonstraram que os níveis elevados de anticorpos anti- DNA de fita dupla (dsDNA) no soro são considerados um marcador específico da doença no LES, correlacionando-se com a atividade da doença e a incidência de nefrite lúpica, podendo ser detectados em até 86% de todos os casos de LES. Bragazzi *et al.* (2019) relataram que os autoanticorpos anti-dsDNA podem ser biomarcadores preditivos promissores, e, isoladamente ou combinados com outros marcadores, podem direcionar com eficiência uma determinada estratégia terapêutica em pacientes com LES. Wongjarit *et al.* (2023), mostraram que o exame de ELISA anti-dsDNA-NcX teve um bom desempenho diagnóstico (especificidade de 96%), sendo superior a outros exames, principalmente com relação a sua sensibilidade. Nossos dados coincidiram com os achados de Bauer *et al.* (2023), Wongjarit *et al.* (2023) e de Bragazzi *et al.* (2019), uma vez que demonstramos também que os resultados das dosagens de

Anti-dsDNA-NcX conseguiram diferenciar os pacientes portadores de LES do grupo controle, e ainda, de pacientes portadores de outras doenças autoimunes, bem como, permitindo-nos diferenciar as formas avançadas do LES comparativamente às aquelas iniciais, em que o diagnóstico é extremamente difícil.

O teste anti-DNA-SS ou anti-ssDNA é muito semelhante em termos de valor preditivo ao anti-ds-DNA-NcX, mas este é o marcador preferencialmente utilizado para o diagnóstico do LES, pois apresenta um resultado rápido e é de fácil realização. Porém, pode gerar uma reação cruzada com outras doenças autoimunes (Lúpus Eritematoso induzido por drogas 60%, doenças do tecido conjuntivo 20-50%, polimiosites/dermatomiosites e esclerodermia 14%, Síndrome de Sjögren 13%, artrite reumatoide 8%) e, inclusive, positivando-se na população saudável, GARCIA *et al.* (2024). Teodorescu (2002) já demonstrava que o anti-ssDNA, quando utilizado para o diagnóstico diferencial de pacientes com suspeita de LES, a sensibilidade clínica é próxima de 100% e a especificidade cerca de 85%. Teodorescu também nos mostra que conseguiu realizar o diagnóstico diferencial entre pacientes que apresentam sintomas semelhantes, tais como aqueles portadores de artrite reumatoide, esclerodermia, síndrome de Sjögren e outras doenças vasculares do colágeno. Semelhante ao ocorrido em nosso estudo, o resultado de seu emprego com objetivo de demonstrar sua eficiência na discriminação de patologias diferentes, observamos que este marcador foi realmente capaz de diferenciar LES de outras autoimunidades. Em nossos estudos, não foi capaz de diferenciar o LES em seus graus de atividade segundo a classificação do SLEDAI-2K.

Tanaka (2020) mostra que pode ocorrer no LES uma ativação desregulada do sistema imune inato com o consequente aumento da produção de interferons tipo alfa e citocinas pró-inflamatórias, levando a danos e inflamação tecidual. Embora a fisiopatologia do LES não seja totalmente compreendida, há muitas evidências indicando que a resposta autoimune desencadeada com a participação de IFN- α (sintetizado principalmente pelas células dendríticas) é de suma importância nesse contexto. CHOI *et al.* (2012) demonstrou que o aumento de IFN- α pode estar correlacionado à atividade e gravidade do LES. Ruchakorn *et al.* (2019) demonstrou que o INF- α está correlacionado não somente com a gravidade do LES, mas também com o índice de atividade da doença (SLEDAI). Similarmente, Richter *et al.*, (2023) demonstraram que em pacientes com LES os níveis de IFN- α aumentam de acordo com a atividade da doença. Gottschalk *et al.* (2015) em seus estudos mostram que o interferon alfa (IFN- α) é uma das citocinas mais fortemente implicadas na patogênese do LES. Desta

forma o IFN- α estava aumentado no soro de pacientes com LES e, desta forma, associado ao aumento da atividade da doença. Båve, *et al.* (2001) demonstraram que, dentre as citocinas estudadas em seu artigo, o IFN- α foi detectado na maioria dos pacientes com LES com doença ativa. Por outro lado, Tanaka (2020); AL Khalili (2020) e Dursun *et al.* (2023), mostraram que a quantificação do IFN- α isoladamente falha em diagnosticar o LES, sobretudo na fase inicial da doença, sendo também difícil a sua utilização para diferenciar o LES de outras doenças imunológicas e para antever o estadiamento da doença. Em nosso estudo vimos que os níveis dessa citocina se mostraram baixos no LES ao tempo em que, igualmente aos autores citados, não nos permitiu a diferenciação de outras doenças de etiologia imunológica e mesmo a distinção entre formas clínicas iniciais e avançadas da doença.

As quimiocinas são um grupo de citocinas com baixo peso molecular que direcionam a quimiotaxia das células-alvo. Elas desempenham um papel na patogênese do LES e nas complicações relacionadas, especialmente na nefrite lúpica (Dammati *et al.* 2023). Ahearn *et al.* (2012) também nos mostram que muitos outros estudos transversais identificaram uma lista crescente de potenciais quimiocinas úteis no monitoramento da atividade da doença lúpica, incluindo a IL-8. Alves (2018) comenta em seu artigo uma correlação positiva entre a concentração sérica de IL-8 e a atividade e agravamento do LES, visto que pacientes com acometimento pulmonar (fibrose pulmonar), renal (nefrite) e neuropsiquiátrico apresentaram níveis elevados em comparação a controles saudáveis, indicando um importante papel modulador da IL-8 na indução de danos teciduais, características da doença. Dursun *et al.* (2023) em seu estudo encontraram uma correlação significativa entre a atividade da doença e o aumento da produção de IL-8. Nosso estudo, de certa forma, divergiu da literatura acima apresentada, uma vez que mostramos que os níveis de IL-8 estavam significativamente reduzidos em pacientes portadores de LES comparativamente a indivíduos normais, não sendo possível também a distinção daqueles acometidos por LES de outras autoimunidades e nem pré-estabelecer o estadiamento da doença.

Gottschalk *et al.* (2015) em seu estudo mostra que as células T auxiliares tipo 1 (Th1) são responsáveis pela produção de muitas citocinas pró-inflamatórias, como o interferon- alfa e gama, que estimulam células dendríticas e mieloides a produzirem IL-12, demonstrando que a elevação da concentração de IL-12 pode inibir a ativação de linfócitos T supressores e, assim, permitir a evolução do LES. Dammati *et al.* (2023) demonstraram que a IL-12 é uma citocina pró-inflamatória que induz a diferenciação de células Th em células

Th1, além de ativar diferentes vias de citotoxicidade e a expressão de mediadores citotóxicos. Em seus dados, a IL-12 foi o único mediador pró-inflamatório de vários estudados que apresentou expressão elevada em pacientes com LES em comparação com controles saudáveis. Vimos em nossos resultados que a IL12 é um importante marcador no LES, pois a mesma o diferenciou dos grupos ODA e controle, sendo ainda estes resultados inovadores e congruentes com os achados de Davies *et al.* (2021) e Idborg *et al.* (2018) que sugerem ser a IL-12 um possível biomarcador para LES. Hussein *et al.* (2023) citam em seu artigo que os níveis de IL-12 foram significativamente maiores nos pacientes com nefrite lúpica do que nos participantes do grupo controle, estando assim, elevada em casos graves da doença, tal como mostramos a sua elevação na estratificação de pacientes com LESAMA em relação LESBA.

Egamova *et al.* (2023) ao estudar aspectos hematológicos da doença, demonstraram que existe menores níveis de hemoglobina, que foi encontrada em 57% dos pacientes, e uma diminuição nos níveis séricos de ferro. Também nos mostra que as alterações no sangue periférico no LES são geralmente polivalentes: anemia, leucopenia, trombocitopenia, podendo, inclusive, ser a causa do desenvolvimento de "máscaras hematológicas" durante o curso da doença. Fanouriakis *et al* (2022) em seu artigo nos mostram que pacientes portadores da doença, via de regra necessitam de tratamento imunossupressor, o que afeta o quadro hematológico, causando trombocitopenia e anemia hemolítica. Garcia *et al.* (2024) observaram em seu artigo que a anemia é detectada em mais de 50% dos indivíduos com LES, podendo ser anemia hemolítica autoimune positiva de Coombs, aplasia eritrocitária, anemia ferropriva e anemia hemolítica micro angiopática. Em nosso trabalho podemos observar uma queda nos valores de hemoglobina, principalmente no grupo LESAMA, assim como constatado por Egamova *et al.* (2023), não sendo, contudo, possível verificar uma anemia presente nos participantes como um todo. Fanouriakis *et al.* (2022) e Garcia *et al.* (2024) e Bashal (2013) expõem que a leucopenia é uma característica típica do LES e que pode ocorrer como resultado de linfopenia, neutropenia ou uma combinação de ambas. A prevalência de linfopenia no LES variou de 20 a 81% e seu grau pode estar correlacionado com a atividade da doença. Em nosso estudo, no que se refere a importância do leucograma na avaliação de pacientes com LES, contrariamente aos dados citados acima, não demonstramos haver diferença entre os grupos de estudo e controle e nem nos grupos de maior gravidade da doença. Bashal (2013) e Bentlin *et al.* (2022) demonstraram em seus artigos que a trombocitopenia (redução do número de plaquetas no sangue periférico) variou de 7 a 30% em pacientes com LES. O aumento da destruição periférica de plaquetas e a presença de

anticorpos antiplaquetários é o mecanismo patogênico mais provável que gera esse resultado. A baixa de plaquetas é um fator de risco independente para aumento da mortalidade no LES. Neste estudo, considerando os valores de trombocitopenia adotados na PORTARIA CONJUNTA Nº 21, de 01 de NOVEMBRO de 2022, Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Lúpus Eritematoso Sistêmico, mostra menos de 10% dessa anormalidade no grupo LESBA, indicando possivelmente casos isolados e não impactando no conjunto de dados dos demais pacientes. Spihlman *et al* (2020), LU, *et al.* (2021) e Garcia *et al.* (2024) observaram que a linfopenia é comum em pacientes com diagnóstico de LES, podendo estar associada com a maior atividade da doença. Por outro lado, Han *et al.* (2023) mostra que a contagem de linfócitos encontrada em seu estudo foi mais baixa em pacientes com atividade SLEDAI-2K alta do que em pacientes com atividade SLEDAI-2K baixa ou LES inativo. Nossos dados concordam com o artigo de Han, haja visto que os valores de linfócitos aparecem reduzidos nos pacientes com LES e estes aumentam com o agravamento da doença (LESAMA), mesmo assim, através dos valores de de linfócitos, foi possível diferenciarmos pacientes com LES daqueles indivíduos normais, mas isso não ocorreu nos portadores de outras doenças autoimunes.

Cho *et al.* (2022) mostram que a NLR e a PLR são índices fáceis de se calcular e refletem a relevância fisiopatológica dos neutrófilos e plaquetas ativadas na perpetuação da autoimunidade e da inflamação no LES. Os autores também demonstram que NLR e PLR elevados se correlacionam com a atividade da doença no LES. No contexto dessa doença, o NLR e/ou PLR são mais informativos do que suas respectivas contagens absolutas isoladas, devido a uma tendência à leucopenia e trombocitopenia em pacientes com LES, particularmente naqueles com doença ativa. Ozdemir *et al.* (2023) nos mostra que a NLR parece ser o indicador mais robusto do LES e pode servir como marcador de envolvimento renal em pacientes com a doença. Han, *et al* (2023) mostra que A NLR foi elevada em pacientes com LES, especialmente em pacientes com envolvimento renal e atividade elevada da doença. A NLR pode ser, segundo Han, correlacionada com parâmetros clínicos e de atividade patológica renal. Soliman, *et al* (2020) apresentaram evidências de que podemos usar PLR e NLR como marcadores inflamatórios para avaliar a atividade da doença em pacientes com LES, pois há uma correlação positiva entre NLR, PLR e SLEDAI. Além disso, a NLR, poderia de fato, refletir o envolvimento renal, pois está correlacionada com as diferentes classes de seu estadiamento histológico. Nosso estudo concorda com Wang *et al.* (2020) no que diz respeito aos valores de NLR estarem elevados nos pacientes com LES,

sobretudo naqueles casos de marcante atividade da doença, e significativamente maior em pacientes com LES em relação a indivíduos saudáveis. Porém, essa mesma relação não nos possibilitou a diferenciação de pacientes portadores de LES e de outras autoimunidades. Ma, *et al.* (2019) em seu artigo de meta-análise nos mostra que os valores de PLR foram significativamente maiores em pacientes com LES e foram positivamente correlacionados com o SLEDAI, o que sugere que PLR poderia ser um biomarcador útil no manejo do LES. Nossos dados confirmaram a relevância deste índice, uma vez que estiveram significativamente aumentados em pacientes com LES (inclusive em seus subgrupos estratificados) em relação ao índice obtido com o grupo controle.

As dosagens das cadeias leve livre LAMBDA, nossos achados concordam com aqueles encontrados por Jalalonmuhamadi *et al.* (2019), em que os valores desse marcador estão aumentados em pacientes com LES, quando comparados aos valores de pacientes normais. Por outro lado, diferiram de Cambrón *et al.* (2020), que propôs que a cadeia leve livre LAMBDA seria um bom biomarcador para LES, porém não tendo sido possível diferenciar pacientes com LES de indivíduos normais e nem determinar os estágios da doença conforme os dados do SLEDAI-2K.

Em relação à Cadeia Leve Kappa, a literatura é bastante conflitante acerca de seus valores no LES. Os dados do nosso trabalho divergem dos dados de Kaplan *et al.* (2011) e Huang *et al.* (2022), que encontraram elevados níveis desse marcador em pacientes com LES, contrariamente aos nossos resultados que não nos permitiram diferenciar o LES de indivíduos do grupo controle e nem de outras doenças autoimunes.

Allam *et al.* (2023) mostraram que a beta 2-Microglobulina sérica estava elevada em pacientes com a doença, principalmente naqueles que evoluíram à nefrite. O autor considera que esse marcador desempenha um papel crucial para monitorar a atividade clínica do LES, em especial, da nefrite lúpica. Nossos resultados para este marcador, coincidem com os seus dados, bem como os de Gamal *et al.* (2023), principalmente em relação a capacidade da beta 2-Microglobulina em individualizar os estágios da doença. O ideal seria realizar outros estudos com um n amostral maior, mas já temos um indicativo muito promissor da capacidade deste exame em caracterizar, de maneira mais simples e mais rápida, o estadiamento da doença.

Yang *et al.* (2012) demonstraram que a creatinina e a ureia sérica apresentam significados clínicos importantes no LES. Por exemplo, o aumento do nível sérico de ureia denota uma associação independente positiva com trombocitopenia e negativa com erupção

cutânea e artrite. Rodvalho *et al.* (2023) também discutem a importância da creatinina na patologia do LES, principalmente em pacientes com nefropatias. Porém, nossos dados, contrariamente a estes autores, não mostraram diferenças entre LES e indivíduos saudáveis e nem a individualização destes de outras doenças autoimunes, sem conseguir também diferenciar os estágios da doença entre si. Yang *et al.* (2012) e Gamal *et al.* (2023) mostraram que a ureia está elevada em pacientes com LES. No nosso caso os dados não demonstraram essa elevação nos pacientes com LES comparativamente a pacientes com outras autoimunidades ou indivíduos saudáveis e nem na subdivisão dos grupos com LES de acordo com a atividade da doença. Um ponto a ser destacado deste marcador foi a sua capacidade de diferenciar estaticamente os grupos LESAMA e LESBA indicativo muito promissor da capacidade deste analito em caracterizar o estadiamento da doença. Uma vez que se consiga diferenciar os grupos de baixa atividade e alta seria possível levar estes dados para a clínica para possibilitar evitar por exemplos que pacientes

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a utilidade prática do emprego destes marcadores como alternativa para a detecção do LES e como instrumento para a sua distinção de outras condições clínicas das quais o diagnóstico diferencial vem se mostrando um grande obstáculo na rotina laboratorial.

Foi encontrado que alguns dos marcadores estudados se mostraram capazes de nos fornecer subsídios para o alcançar nosso objetivo como, por exemplo, o anti-dsDNA e anti-DNASS.

Por fim, como limitações do presente estudo, é preciso salientar o fato de termos nos deparado com alguns dados faltantes no prontuário dos pacientes (como por exemplo exames faltando), a impossibilidade técnica de não termos avaliado alguns dos marcadores no grupo controle e, por isso, não pudemos inclui-los, no estudo, como foi o caso da Proteína C Reativa e, por limitações financeiras, não foi possível estudarmos um número maior de pacientes/controle.

8 CONCLUSÕES

Três dos marcadores utilizados neste estudo (DNA SS NX, DNAss e Linfócitos) permitiriam diagnosticar o LES, apresentando diferenças estatisticamente relevantes que nos permitiram separar o grupo LES dos dois outros grupos (ODA e Controle);

Marcadores tais como IL-12 e Beta 2 Microglobulina permitiram avaliar o estadiamento da doença e assim, projetarmos o prognóstico da mesma, visto que observamos diferenças significativas dentro do grupo LES quando estratificado nas formas LESBA e LESAMA. Isoladamente, a IL-12 demonstrou diagnosticar o LES, apresentando diferenças estatisticamente relevante que nos permitiram separá-lo do grupo Controle.

A principal inovação este trabalho foi demonstrar que a citocina IL-12 pode ser usada como biomarcador no diagnóstico do LES, sendo muito pouco citado na literatura para este fim e com pouco material disponível. Podendo ser usado tanto para diagnóstico quanto para prognóstico. Podendo ser um parâmetro inovador deste estudo foi a comparação entre os grupos LES com ODA (outras doenças autoimunes) abordagem esta pouco difundida, visto que muitos trabalhos realizam somente a comparação com grupo de pacientes normais. E ainda temos também a diversificação do grupo LES em LESBA e LESAMA, permitindo também a análise em vários graus da atividade do LES.

REFERÊNCIAS

ALVES, Luan Carlos Vieira. **Avaliação De Biomarcadores Inflamatórios no Lúpus Eritematoso Sistêmico**. 2018. 112 f. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Toxicologia) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/FARB-BCDHGZ>. Acesso em: 11 nov. 2023.

A Federação Mundial de Lúpus (WLF). **World Lupus Federation c/o Lupus Foundation of America**, 2121 K Street NW Suite 200 Washington, DC 20037: 1-202-349-1155. info@lupus.org. Disponível em: https://worldlupusday-org.translate.google/about/?x_tr_sl=en&x_tr_tl=pt&x_tr_hl=pt-BR&x_tr_pto=wapp. Acesso em 04 dez. 2023.

ABDWANI R, Al MASROORI E, Abdullah E, *et al.* 2021. **Evaluating the performance of ACR, SLICC and EULAR/ACR classification criteria in childhood onset systemic lupus erythematosus**. *Pediatr. Rheumatol.* 19:141. Times. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34503539/>. Acesso em 01 dez. 2023.

AHEARN, Joseph *et al.* **“Biomarkers for systemic lupus erythematosus.”** Translational research : *the journal of laboratory and clinical medicine* vol. 159,4 (2012). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424435/>. Acesso em 21 Dez. 2023.

AL KHALILI, A.; Dutz, J.P. **Janus Kinase Inhibition and SLE: Is This a Plausible Treatment Option for SLE?** *Curr. Treat. Options Rheumatol.* 2020, 6, 406–417. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9569651/>. Acesso em 06 Dez. 2023.

ALLAM, Nashwa T. *et al.* **Serum beta2-microglobulin level in systemic lupus erythematosus patients: Relation to disease activity**. *The Egyptian Rheumatologist*, v. 45, n. 1, p. 55-59, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110116422001181>. Acesso em 31 de Maio de 2024.

AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY. **The 1982 revised criteria for classification of Systemic Lupus Erythematosus**. Disponível em: <http://www.rheumatology.org/practice/clinical/classification/SLE/sle.asp>. Acesso em 30 out. 2023.

ANDERS, Hans-Joachim *et al.* **Lupus nephritis**. *Nature reviews Disease primers*, v. 6, n. 1, p. 1-25, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31974366/>. Acesso em 15 Jan. 2024.

ARINGER M, Costenbader K, DaikhD, *et al.* 2019. **2019 European League Against Rheumatism /American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus**. *Arthritis Rheumatol.* 71:1400–12. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31385462/>. Acesso em 30 nov. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023: informação e documentação – referências – elaboração**. Rio de Janeiro: ABNT, 2018, 74 p.

AYANO, Masahiro; HORIUCHI, Takahiko. **Complement as a Biomarker for Systemic Lupus Erythematosus.** *Biomolecules*, v. 13, n. 2, p. 367, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/13/2/367>. Acesso em 11 Dez. 2023.

BARBER, M. R. W. *et al.* **Global epidemiology of systemic lupus erythematosus.** *Nature Reviews Rheumatology*, v. 17, n. 9, p. 515–532, 1 set. 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41584-021-00668-1>. Acesso em 19 nov. 2023.

BASHAL, F. **Hematological disorders in patients with systemic lupus erythematosus.** *The Open Rheumatology Journal*, v. 7, p. 87–95, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24198852/>. Acesso em 16 nov. 2023.

BAUER, Claus-Juergen *et al.* **Comparative analysis of contemporary anti-double stranded DNA antibody assays for systemic lupus erythematosus.** *Frontiers in Immunology*, v. 14, p. 1305865, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1305865/full>. Acesso em 19 de Maio 2024.

BAUMANN I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaip U, Neuhuber WL, Kirchner T, Kalden JR, Herrmann M: **Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum* 2002, 46:191-201. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11817590/>. Acesso em 05 dez. 2023.

BÅVE, U *et al.* “**Activation of natural interferon-alpha producing cells by apoptotic U937 cells combined with lupus IgG and its regulation by cytokines.**” *Journal of autoimmunity* vol. 17,1 (2001): 71-80. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11488639/>. Acesso em 29 nov. 2023.

BENTLIN, Maria Regina; SOUZA, Nathalye Emanuelle. **Lúpus Eritematoso neonatal e suas manifestações clínicas.** *Residência Pediátrica*. Ahead of 2022. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/residenciapediatria.com.br/pdf/v12n4aop765.pdf>. Acesso em 19 de maio de 2024.

BERTSIAS, G.; Cervera, R.; Boumpas, D.T. **Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features.** In: EULAR Textbook on Rheumatic Diseases. 5.ed. Vol.5. EULAR: Kilchberg, Zurich, 2012. p.476-505. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20458332/>. Acesso em 20 out 2023.

BIEBER K, Hundt JE, Yu X, Ehlers M, Petersen F, Karsten CM, *et al.* **Autoimune pré-doença.** *Autoimune Rev.* (2023) 22:103236. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36436750/>. Acesso em 28 nov. 2023.

BINGHAM CO. **The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation.** *J Reum* 2002;29 supl 65:3-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12236620/>. Acesso em 06 Dez. 2023.

BOMBARDIER, C *et al.* “**Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients.**” *The Committee on Prognosis Studies in SLE.* *Arthritis and rheumatism* vol.

35,6 (1992): 630-40. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1599520/>. Acesso em 01 dez. 2023.

BRAGAZZI, Nicola Luigi *et al.* **Role of anti-DNA auto-antibodies as biomarkers of response to treatment in systemic lupus erythematosus patients: hopes and hopes.** Insights and implications from a comprehensive review of the literature. *Expert review of molecular diagnostics*, v. 19, n. 11, p. 969-978, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14737159.2019.1665511?scroll=top&needAccess=true>. Acesso em 05 Dez. 2023.

BRUNS A, Blass *et al.* **Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum* 2000, 43:2307-2315. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11037891/>. Acesso em 05 dez. 2023.

CAMBRÓN, Ana Belén Rodríguez *et al.* **Determination of serum free light chains as a marker of systemic lupus flare.** *Clinical Rheumatology*, v. 39, p. 449-454, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10067-019-04827-4>. Acesso em 21 Dez. 2023.

CASSIONE, Emanuele Bozzalla *et al.* **COVID-19 infection in a northern-Italian cohort of systemic lupus erythematosus assessed by telemedicine.** *Annals of the rheumatic diseases*, v. 79, n. 10, p. 1382-1383, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32398281/>. Acesso em 04 dez. 2023.

CAVALLO, Michelle Fay. **Anti-DNA antibodies in Systemic Lupus.** 2019. Tese de Doutorado. *Florida Atlantic University*. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/2a0d1b80a23dc5e275cf2ef6d61e91ab/1?pq-origsite=gscholar&cbl=18750&diss=y>. Acesso em 05 dez. 2023.

CARNEIRO, Janaina Zemniczak *et al.* **Lúpus Eritematoso Sistêmico: Um estudo de caso.** *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, v. 5, n. 5, p. 1885-1894, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n5p1885-1894> .Acesso em 05 dez. 2023.

CHO, Jiacai *et al.* **“Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio reflect disease activity and flares in patients with systemic lupus erythematosus - A prospective study.”** *Joint bone spine* vol. 89,4 (2022): 105342. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35032639/>. Acesso em 21 Dez. 2023.

CHOI, J.; KIM, S.T.; CRAFT, J. **The pathogenesis of systemic lupus erythematosus – an update.** *Curr Opin Immunol.* v.24, n.6, p. 651–657, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23131610/>. Acesso em 17 nov. 2023.

CRAVEIRO, Lopes, A.C. **Algumas palavras sobre o lúpus vulgar da face e seu tratamento.** Dissertação inaugural. *Escola Médico cirúrgica de Lisboa*.1890

DA SILVA, Isabela Regina Gomes; DE CARVALHO, Fabiano Lacerda; DE ANDRADE, Leonardo Guimarães. **Tratamento medicamentoso e não medicamentoso do lúpus eritematoso sistêmico.** *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, v. 9, n. 10, p. 1967-1981, 2023. Disponível em: <https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt->

[BR&lr=&as_sdt=0%2C5&as_ylo=2023&q=casos+lupus+no+brasil&btnG=](#). Acesso em 01 dez. 2023.

DAMIATI, Laila A. *et al.* **Immunoprofiling of cytokines, chemokines, and growth factors in female patients with systemic lupus erythematosus—a pilot study.** *BMC immunology*, v. 24, n. 1, p. 13, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12865-023-00551-6>. Acesso em 05 Dez. 2023.

DAVIES, J.C.; Carlsson, E.; Midgley, A.; Smith, E.M.D.; Bruce, I.N.; Beresford, M.W.; Hedrich, C.M. **A panel of urinary proteins predicts active lupus nephritis and response to rituximab treatment.** *Rheumatology* 2021, 60, 3747–3759. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33313921/>. Acesso em 15 jan. 2024.

DURŞUN, Recep *et al.* **Immunohistochemical Evaluation of TNF- α , IL-1, IL-12, IL-17, IL-23 Expression and Investigation of the Effect of Demodex in Patients with Discoid Lupus Erythematosus.** *Turkish Journal of Immunology*, v. 11, n. 1, 2023. Disponível em: https://jag.journalagent.com/tji/pdfs/TJI_11_1_23_28.pdf. Acesso em 21 Dez. 2023.

DUTSCHMANN, L.A. **Systemic Lupus Erythematosus: some historical aspects.** *Points of View Medicina Interna*. v.13, n 2, p.133-140, 2006. Disponível em: <https://repositorio.hff.min-saude.pt/handle/10400.10/108>. Acesso em 04 dez. 2023.

EGAMOVA Sh.; KH, Iskanova G.; KARIMDZHANOV, I. A. **Pathological blood changes in systemic lupus erythematosus.** *World Bulletin of Public Health*, v. 19, p. 221-224, 2023. Disponível em: <https://scholarexpress.net/index.php/wbph/article/view/2210>. Acesso em 04 dez. 2023.

ENDERLE DC, Machado DS, Mendes KN, Costa FM, Carvalho ANG. **Manifestações clínicas do lúpus eritematoso sistêmico (LES).** *Facider Rev Cient Colider*. 2019;(12):1-9. Disponível em: <http://sei-cesucol.edu.br/revista/index.php/facider/article/view/182/210>. Acesso em 17 nov. 2023.

EUROIMMUN Brasil Medicina Diagnostica Ltda. Alameda Terracota, no 215 – CEP 09531 190 – São Caetano do Sul/SP CNPJ 93.741.726/0001-66. kit ELISA ssDNA IgG. Número de cadastro junto à ANVISA: 81148560045. Disponível em: www.euroimmun.com. Acesso em 05 dez. 2023.

EUROIMMUN Medical Laboratory Diagnostics. **Kit Anti-dsDNA-NcX ELISA (IgG) AG Seekamp** 31 23560 Lübeck (Alemanha) Tel +49 451/2032-0 info@euroimmun.de. EA_1572_D_UK_A03, 11/2020. Disponível em: www.euroimmun.com. Acesso em 05 dez. 2023.

FANOURIKIS, A. *et al.* **Update On the Diagnosis and Management of Systemic Lupus Erythematosus.** *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 80, n. 1, p. annrheumdis-2020-218272, 13 out. 2020. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/80/1/14.abstract>. Acesso em 19 nov. 2023.

FAVA, A.; PETRI, M. **Systemic lupus erythematosus: Diagnosis and clinical management.** *Journal of Autoimmunity*, v. 96, n. 1, p. 1–13, jan. 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841118305213>. Acesso em 19 nov. 2023.

FENTON KA, Pedersen HL. **Advanced methods and novel biomarkers in autoimmune diseases - a review of the recent years progress in systemic lupus erythematosus.** *Front Med (Lausanne)*. 2023 Jun 23;10:1183535. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10326284/>. Acesso em 28 nov. 2023.

FERREIRA, Tamara Aparecida Reis. **Identificação de potenciais biomarcadores do Lúpus Eritematoso Sistêmico através de abordagem proteômica.** 2015. 119 f.: il. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Toxicologia) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/BUOS-BATH7P>. Acesso em: 09 nov. 2023.

FRANÇA, Júnia Lessa *et al.* **Manual para normalização de publicações técnico-científicas** 10.ed. comemorativa dos 30 anos. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2019. 250 p.

GAMAL, Dalia Mohamed *et al.* **Serum beta-2 microglobulin as a predictor of nephritis, disease activity, and damage score in systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study.** *Rheumatology International*, v. 43, n. 2, p. 323-333, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00296-022-05221-1>. Acesso em 06 Dez. 2023.

GARCIA, Bryam Esteban Coello *et al.* **Systemic lupus erythematosus: update on the diagnosis, prevalence, clinical management, inflammatory markers, new horizons in the pathogenesis, manifestations and progress in treatment.** *epra International Journal of Multidisciplinary Research (IJMR)*, v. 10, n. 2, p. 317-325, 2024. Disponível em: <https://translate.google.com.br/?hl=pt-BR&sl=en&tl=pt&op=docs>. Acesso em 19 de maio de 2024.

GLADMAN, Dafna D *et al.* **“Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000.”** *The Journal of rheumatology* vol. 29,2 (2002): 288-91. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11838846/>. Acesso em 01 dez. 2023.

GOLDBLATT, Fiona; O'NEILL, Sean G. **Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases.** *The Lancet*, v. 382, n. 9894, p. 797-808, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61499-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61499-3). Acesso em 01 dez. 2023.

GOTTSCHALK, T.A.; TSANTIKOS, E.; HIBBS, M.L. g. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. 28, p. 1–14, 2015. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00550/full>. Acesso em 10 nov. 2023.

HAITAO Y, Lili J, Liqiong Y, Chao G, Xinwen H, Ruiqi L, Na S (2018) **Predictive value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio and hemoglobin in systemic lupus erythematosus.** *Exp Ther Med* 16(2):1547–1553. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6309>. Acesso em 09 Dez. 2023.

HAN, Qianqian *et al.* **The ratio of neutrophil to lymphocyte as a potential marker of clinicopathological activity for lupus nephritis.** *International Urology and Nephrology*, p. 1-8, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11255-023-03704-z>. Acesso em 11 Dez. 2023.

HUANG, Xiaolan *et al.* **Multi-platform omics analysis reveals molecular signatures for pathogenesis and activity of systemic lupus erythematosus.** *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 833699, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35514958/>. Acesso em 11 Dez. 2023.

HUSSEIN, Doaa K.; DARWEESH, Mayyada F. **IL-12 Pathway as Prognostic Factor in Lupus Nephritis Disease.** 2023. *Age*, v. 33, n. 3.14, p. 31.6-3.15. Disponível em: <https://www.multiresearchjournal.com/admin/uploads/archives/archive-1687857393.pdf>. Acesso em 06 Dez. 2023.

IDBORG H, Eketjall S, Pettersson S, Gustafsson JT, Zickert A, Kvarnstrom M, *et al.* **TNF-alpha and plasma albumin as biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus.** *Lupus. Sci Med.* (2018) 5:260. doi: 10.1136/lupus-2018-000260. Disponível em: <https://lupus.bmj.com/content/5/1/e000260.abstract>. Acesso em 05 dez. 2023.

INSTITUTO HERMES PARDINI S/A (IHP MG) © 2019 – 2023, **lambda (cadeia leve) e kappa (cadeia leve).** Disponível em: <https://helpdeexames.com.br/visualizacao/hermes-pardini-mg/lambda-cadeia-leve-e-kappa-cadeia-leve>. Acesso em 06 Dez. 2023.

JALALONMUHALI, M. *et al.* **SUN-024 serum free light chain as surrogate marker for renal activity in lupus nephritis.** *Kidney International Reports*, v. 4, n. 7, p. S162, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2019.05.419>. Acesso em 21 Dez. 2023.

KAPLAN B, Livneh A, Sela B-A (2011) **Immunoglobulin free light chain dimers in human diseases.** *ScientificWorldJournal* 11:726– 735. Disponível em: <https://doi.org/10.1100/tsw.2011.65>. Acesso em 21 Dez. 2023.

KARIMDZHANOV IA, Iskanova GH, Israilova NA, *et al.* **Juvenile Idiopathic Arthritis: Etiopathogenesis.** Therapy And Outcomes. *Journal of Pharmaceutical Negative Results.* 2022,13(8): 498-506. Disponível em: <https://www.pnrjournal.com/index.php/home/article/view/2714>. Acesso em 04 dez. 2023.

KUHN, Annegret *et al.* **Diagnostik und Therapie des systemischen Lupus erythematoses.** *Deutsches Aerteblatt International*, v. 112, n. 25, 2015. Disponível em: [10.3238/arztebl.2015.0423](https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/60423). Acesso em 04 dez. 2023.

LABORATÓRIO LUSTOSA; LUSTOSA, Eliane; **Sintomas do Lúpus, Laboratório Lustosa;** 2023. Disponível em: <https://lustosa.com.br/fevereiro-roxo-e-o-lupus-2023/>. Acesso em 04 dez. 2023.

LU, Wentian *et al.* **The clinical characteristics of leukopenia in patients with systemic lupus erythematosus of han ethnicity in China: A cross-sectional study.**

Rheumatology and therapy, v. 8, p. 1177-1188, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40744-021-00336-6/metrics>. Acesso em 19 de maio de 2024.

LUPUS FOUNDATION OF AMERICA. Disponível em: <https://www-lupus-org.translate.goog/resources/diagnosing-lupus-guide? x tr sl=en& x tr tl=pt& x tr hl=pt-BR& x tr pto=wapp>. Acesso em 04 dez. 2023.

MA, Lisha *et al.* **“Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in patients with systemic lupus erythematosus and their correlation with activity: A meta-analysis.”** *International immunopharmacology* vol. 76 (2019): 105949. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31634817/>. Acesso em 21 Dez. 2023.

MCPHEE CG, Sproule TJ, Shin DM *et al* (2011) **MHC class I family proteins retard systemic lupus erythematosus autoimmunity and B cell lymphomagenesis.** *J Immunol* 187(9):4695–4704. Disponível em: <https://journals.aai.org/jimmunol/article/187/9/4695/39372>. Acesso em 08 Dez. 2023.

MAIDHOF, William; HILAS, Olga. **Lupus: an overview of the disease and management options.** *Pharmacy and Therapeutics*, v. 37, n. 4, p. 240, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3351863/>. Acesso em 08 Dez. 2023.

Ministério da saúde; **Sociedade Brasileira de Reumatologia**; Biblioteca virtual da saúde; Imagens do Lúpus; 2016; Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/lupus/>. Acesso em 01 dez. 2023. Acesso em 01 dez. 2023.

Ministério da Saúde. SECRETARIA DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA À SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E INSUMOS ESTRATÉGICOS EM SAÚDE. **PORTARIA CONJUNTA Nº 21, de 01 de NOVEMBRO de 2022. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas - Lúpus Eritematoso Sistêmico.** *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Nº 210, segunda-feira, 7 de novembro de 2022. ISSN 1677-7042 Seção 1: Pag. 69 a 70. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/portaria/2022/20221109_portaria_conjunta_n21.pdf. Acesso em 04 jun. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; **DOENÇAS AUTOIMUNES**; 2023; Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-z/l/lupus>. Acesso em 01 dez. 2023.

MIOT, Hélio Amante. **Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais.** *Jornal Vascular Brasileiro*, v. 10, p. 275-278, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1677-54492011000400001>. Acesso em 01 dez. 2023.

MOSLEY, K.; *et al.* **Urinary proteomic profiles distinguish between active and inactive Lupus Nephritis.** *Rheumatology*. v.45, p.1497–1504, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kei351>. Acesso em 21 Dez. 2023.

MURIMI-WORSTELL, Irene B. *et al.* **Healthcare utilization and costs of systemic lupus erythematosus by disease severity in the United States.** *The Journal of*

rheumatology, v. 48, n. 3, p. 385-393, 2021. Disponível em: <https://www.jrheum.org/content/48/3/385.abstract>. Acesso em 21 Dez. 2023.

NAITHANI, U., Jain, P., Sachan, A. *et al.* MicroRNA as a potential biomarker for systemic lupus erythematosus: pathogenesis and targeted therapy. *Clin Exp Med* (2023). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10238-023-01234-7>. Acesso em 28 nov. 2023.

NARENDRA, Dharani; BLIXT, John; HANANIA, Nicola A. Immunological biomarkers in severe asthma. In: *Seminars in immunology*. Academic Press, 2019. p. 101332. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31735516/>. Acesso em 04 dez. 2023.

OZDEMIR, A., Baran, E., Kutu, M. *et al.* **Could systemic immune inflammation index be a new parameter for diagnosis and disease activity assessment in systemic lupus erythematosus?** *Int Urol Nephrol* 55, 211–216 (2023). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11255-022-03320-3>. Acesso em 09 Dez. 2023.

PACHECO, Andrea Verónica García *et al.* **Lúpus eritematoso sistêmico com fator antinuclear (FAN) negativo: um desafio no diagnóstico.** *Brazilian Journal of Health Review*, v. 6, n. 1, p. 1150-1164, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n1-089>. Acesso em 11 Dez. 2023.

PALAZZO L, Lindblom J, Mohan C, Parodis I. **Current Insights on Biomarkers in Lupus Nephritis: A Systematic Review of the Literature.** *Journal of Clinical Medicine*. 2022; 11(19):5759. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jcm11195759>. Acesso em 28 nov. 2023.

QIN B, MaN, TangQ, WeiT, YangM, Fu H, Hu Zetal(2016) **Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and platelet to lymphocyte ratio (PLR) were useful markers in assessment of inflammatory response and disease activity in SLE patients.** *Mod Rheumatol* 26(3):372–376. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/14397595.2015.1091136>. Acesso em 09 Dez. 2023.

RICHTER, P.; Macovei, L.A.; Mihai, I.R.; Cardoneanu, A.; Burlui, M.A.; Rezus, E. **Cytokines in Systemic Lupus Erythematosus—Focus on TNF- α and IL-17.** *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 14413. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms241914413>. Acesso em 06 Dez. 2023.

RODOVALHO, H. O. P., Costa, A. J., Lopes, E. F. S., Feitoza, F. T. M., & Monteiro, G. C. F. (2023). **Atualização no manejo da nefrite lúpica: uma revisão integrativa.** *Brazilian Journal of Health Review*, 6(3), 8980–8996. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n3-051>. Acesso em 08 Dez. 2023.

RUCHAKORN, Nopparat *et al.* **Performance of cytokine models in predicting SLE activity.** *Arthritis research & therapy*, v. 21, p. 1-11, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13075-019-2029-1>. Acesso em 21 Dez. 2023.

SALES, I. M.; *et al.* **Lúpus Eritematoso Sistêmico - aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos e manejo terapêutico.** *Brazilian Journal of Health Review*, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 20242–20251, 2023. DOI: 10.34119/bjhrv6n5-070. Disponível em:

<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/62837>. Acesso em: 19 nov. 2023.

SCOFIELD, R.H; Oates, J.C. **The Place of William Osler in the Description of Systemic Lupus Erythematosus.** *Am J Med Sci.* v.338. n.5, p.409–412, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2783313/>. Acesso em 20 out 2023.

SINGH, Abhijai. **“An uncommon cause of anemia in systemic lupus erythematosus.”** *International journal of rheumatic diseases* vol. 16,6 (2013): 783-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24382289/>. Acesso em 11 Dez. 2023.

SKARE, T; DAMIN, R.; HOFIUS, R. **Prevalence of the American College of Rheumatology hematological classification criteria and associations with serological and clinical variables in 460 systemic lúpus erythematosus patients.** *Rev Bras Hematol Hemoter.* v. 2, n.37, p. 115-119 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.01.006>. Acesso em 11 Dez. 2023.

SMITH, C. Douglas; CYR, Margaret. **The history of lupus erythematosus: from Hippocrates to Osler.** *Rheumatic Disease Clinics of North America*, v. 14, n. 1, p. 1-14, 1988. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0889-857X\(21\)00942-X](https://doi.org/10.1016/S0889-857X(21)00942-X). Acesso em 30 nov. 2023.

SODRÉ, Giovanna Gonçalves *et al.* **O olhar da terapia ocupacional acerca das repercussões do lúpus no cotidiano de mulheres hospitalizadas: um relato de experiência.** *Revista Foco*, v. 16, n. 10, p. e3339-e3339, 2023. Disponível em: <https://ojs.focopublicacoes.com.br/foco/article/view/3339/2268>. Acesso em 30 nov. 2023.

SOLIMAN, Wafaa M *et al.* **“Neutrophil to lymphocyte and platelet to lymphocyte ratios in systemic lupus erythematosus: Relation with disease activity and lupus nephritis.”** *Reumatologia clinica* vol. 16,4 (2020). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30166230/>. Acesso em 21 Dez. 2023.

SPIHLMAN, Allison P. *et al.* **COVID-19 and systemic lupus erythematosus: focus on immune response and therapeutics.** *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 589474, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33193418/>. Acesso em 04 dez. 2023.

TANAKA, Y. **State-of-the-Art Treatment of Systemic Lupus Erythematosus.** *Int. J. Rheum. Dis.* 2020, 23, 465–471. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/25785826.2023.2264023>. Acesso em 06 Dez. 2023.

TEDDE-FILHO, Gustavo *et al.* **Internações hospitalares e mortalidade em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico no Brasil Hospital admissions and mortality in patients with systemic lupus erythematosus in Brazil.** *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 6, p. 54091-54100, 2021. Disponível em: [DOI:10.34117/bjdv7n6-011](https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-011). Acesso em 28 de maio de 2024.

TEODORESCU, Marius. **Clinical value of anti-ssDNA (denatured DNA) autoantibody test: beauty is in the eyes of the beholder.** *Clinical and Applied Immunology Reviews*, v. 2,

n. 2, p. 115-128, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1529104901000423>. Acesso em 05 Dez. 2023.

TIAN, Jingru *et al.* **Global epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comprehensive systematic analysis and modelling study.** *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 82, n. 3, p. 351-356, 2023. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/82/3/351.abstract>. Acesso em 01 dez. 2023.

TSANG-A-SJOE, Michel W P, and Irene E M Bultink. **“New developments in systemic lupus erythematosus.”** *Rheumatology (Oxford, England)* vol. 60, Suppl 6 (2021): vi21-vi28. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34951924/>. Acesso em 29 nov. 2023.

TSOKOS, G., Lo, M., Reis, P. *et al.* **New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus.** *Nat Rev Rheumatol* 12, 716–730 (2016). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.186>. Acesso em 29 nov. 2023.

TSOKOS, G.C. **Systemic Lupus Erythematosus.** *N Engl J Med.* v.365, n.22, p.2110–2121, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22129255/>. Acesso em 10 nov. 2023.

TUSSEAU M, Belot A. **"P2RY8-son" break of tolerance promotes SLE.** *J Exp Med.* 2022 Jan 3;219(1): e20211972. Epub 2021 Dec 13. PMID: 34901992; PMCID: PMC8672645. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8672645/>. Acesso em 29 nov. 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS. BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA. **Diretrizes para normalização de trabalhos acadêmicos.** 2. ed. Belo Horizonte: Biblioteca Universitária - Sistema de Bibliotecas da UFMG, 2023.

WANG L, Wang C, Jia X *et al* (2020) **Relationship between neutrophil-to-lymphocyte ratio and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis.** *Clinics (Sao Paulo)* 75:e1450. Disponível em: <https://doi.org/10.6061/clinics/2020/e1450>. Acesso em 11 Dez. 2023.

WONGJARIT, Kanphai *et al.* **Determination of specific autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus by Line immunoassay, ELISA and CLIF.** *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, v. 41, n. 1, p. 73-79, 2023. Disponível em: https://www.apjai-journal.org/wp-content/uploads/2023/04/13_AP-301019-0681.pdf. Acesso em 19 de Maio de 2024.

WU Y, Chen Y, Yang X, Chen L, Yang Y (2016) **Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) were associated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus.** *Int Immunopharmacol* 36:94–99. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.04.006>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.04.006>. Acesso em 09 Dez. 2023.

YANG, Zaixing *et al.* **Associations of serum urea, creatinine and uric acid with clinical and laboratory features in patients with systemic lupus erythematosus.** *Rheumatology international*, v. 32, p. 2715-2723, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00296-011-1987-7>. Acesso em 09 Dez. 2023.

YEE SC, Isenberg Da, Prabu A, *et al.* **BILAG-2004 index captures systemic lupus erythematosus disease activity better than SLEDAI-2000.** *Ann Rheum Dis* 2008; 67:873-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17519277/>. Acesso em 01 dez. 2023.

YU H, Nagafuchi Y, Fujio K. “**Clinical and Immunological Biomarkers for Systemic Lupus Erythematosus.**” *Biomoléculas*. 2021; 11:928. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34206696/>. Acesso em 29 nov. 2023.

ZHU JL, Black SM, Chong BF. **Role of biomarkers in the diagnosis and prognosis of patients with cutaneous lupus erythematosus.** *Ann Transl Med*. 2021 Mar;9(5):429. PMID: 33842650; PMCID: PMC8033322. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8033322/>. Acesso em 05 dez. 2023.

ZIAN, Zeineb *et al.* **Immunological and clinical characteristics of systemic lupus erythematosus: a series from Morocco.** *BioMed research international*, v. 2018, n. 1, p. 3139404, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/3139404>. Acesso em 05 dez. 2023.

APÊNDICES

APÊNDICE A - ÍNDICE DE ATIVIDADE UTILIZADO NO LES, SLEDAI-2K MODIFICADO (SYSTEMIC LÚPUS ERYTHEMATOSUS DISEASE ACTIVITY INDEX)

	Presença	Manifestações clínicas	Descrição
8	☐	Convulsão	Início recente, excluídas causas metabólicas infecciosas e secundárias ao uso de drogas.
8	☐	Psicose	Distúrbio severo da percepção da realidade, excluídas causas metabólicas e drogas. Incluem alucinações, incoerência, perda marcada das associações de ideias, pensamento pobre, ilógico; comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico.
8	☐	Síndrome cerebral orgânica	Alteração abrupta e flutuante das funções mentais, atingindo a orientação, a atenção, a memória e outras funções intelectuais. Inclui a redução da vigília, com diminuição da atenção, acompanhada de pelo menos dois sintomas descritos a seguir – perturbação da percepção, discurso incoerente, insônia ou hipersonia diurna, aumento ou redução da atividade psicomotora. Exclui causas metabólicas, infecciosas ou secundárias ao uso de drogas.
8	☐	Distúrbios visuais	Alteração da retina caracterizada por corpos citoides, hemorragias retinianas, exsudatos serosos ou hemorragias do plexo coroide ou neurite óptica. Excluir hipertensão, infecções e drogas.
8	☐	Comprometimento	Neuropatia sensorial ou motora, de início ou reinício recente.
8	☐	lúpica cranianos	Severa e persistente, do tipo enxaqueca que não responde a analgésicos convencionais.
8	☐	AVC	Presença de AVC. Excluir causa aterosclerótica.
8	☐	Vasculite	Ulcerações, gangrenas, infartos periungueais, nódulos digitais dolorosos, áreas hemorrágicas subungueais, biópsia ou angiografia de qualquer área do corpo apresentando vasculite.
4	☐	Artrites	Envolvimento de duas ou mais articulações com sinais e sintomas de inflamação (palpação dolorosa, tumefação ou derrame articular).
4	☐	Miosites	Dor ou fraqueza muscular proximal acompanhada de aumento de inflamação (palpação dolorosa, tumefação ou derrame articular CPK/aldolase, eletromiografia alterada, biópsia compatível com
4	☐	Cilindros	miosite. Hemáticos, granulosos ou eritrocitários.
4	☐	urinários Hematúria	Mais de 5 eritrócitos/campo. Excluir outras causas tais como litíase renal ou infecções.
4	☐	Proteinúria	Concentração > a 0,5 g/24 horas.
4	☐	Piúria	Mais de 5 leucócitos/campo na ausência de infecção
2	☐	Rash cutâneo	Início recente ou recorrente, caráter inflamatório.
2	☐	Alopecia	Início recente ou recorrente, excessiva, difusa ou localizada de perda de cabelo.
2	☐	Úlcera de	Início recente ou recorrente de úlceras nasais ou orais
2	☐	mucosa Pleurite	Dor pleurítica com atrito, derrame ou espessamento pleural.
2	☐	Pericardite	Dor no peito, com atrito ou derrame pericárdico, confirmado por eletrocardiograma.
1	☐	Febre	Temperatura axilar >38°, na ausência de processo infeccioso.
1	☐	Trombocitopenia	Concentração de plaquetas inferior a 100 000/mm ³ (excluídas causas farmacológicas).
1	☐	Leucopenia	Concentração de leucócitos inferior a 3 000/mm ³ (excluídas causas farmacológicas).

_____ Soma total dos pontos

**APÊNDICE B - CRITÉRIOS DO AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY (ACR)
PARA DIAGNÓSTICO DE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO - 1997**

Critério	Definição
1. Rash malar	Eritema constante, plano ou elevado, sobre as eminências malares, tendendo para os sulcos nasolabiais
2. Rash discóide	Aumento de manchas eritematosas com descamação queratoide e tamponamento folicular; cicatrizes atróficas podem ocorrer em lesões mais antigas
3. Fotossensibilidade	Erupção cutânea por reação anormal à exposição à luz solar, seja por relato do paciente ou observação médica.
4. Úlcera oral	Ulceração oral ou nasofaringe, geralmente indolor, observada por médico.
5. Artrite	Artrite não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, associada à hipersensibilidade, tumefação e derrame.
6. Serosite	a) Pleurite — convincente histórico de dor pleurítica, ou atrito ouvido pelo médico ou evidência de derrame pleural. OU b) Pericardite — documentada por ECG, ou atrito ou evidência de derrame pericárdico.
7. Distúrbio renal	a) Proteinúria persistente maior que 0,5g por dia ou maior que 3+ se não for realizada quantificação. OU b) Cilindros celulares — podendo ser hemático, granular, tubular ou misto.
8. Distúrbio neurológico	a) Convulsões — na ausência de drogas tóxicas ou distúrbios metabólicos conhecidos; ex. uremia, cetoacidose ou desbalanço eletrolítico. OU b) Psicose — na ausência de drogas tóxicas ou distúrbios metabólicos conhecidos; ex. uremia, cetoacidose ou desbalanço eletrolítico.
9. Distúrbio hematológico	a) Anemia hemolítica — com reticulócitos OU b) Leucopenia — total menor que 4.000/mm ³ em duas ou mais ocasiões OU c) Linfopenia menor que 1.500/mm ³ em duas ou mais ocasiões OU d) Trombocitopenia — menor que 100.000/mm ³ na ausência de drogas tóxicas.
10. Distúrbios imunológicos	a) Presença de anticorpos anti-fosfolípides OU b) Anti-DNA: anticorpo anti-DNA nativo em títulos anormais OU c) Anti-Sm: presença de anticorpos anti-Sm OU d) Testes sorológicos falso-positivos para sífilis por pelo menos 6 meses e confirmado por FTA-abs negativo.
11. Anticorpo antinuclear	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência ou teste equivalente em qualquer momento na ausência de drogas que sabidamente estão associadas com o Lúpus induzido

APÊNDICE C - CRITÉRIOS DO SYSTEMIC LÚPUS INTERNATIONAL COLLABORATING CLINICS (SLICC) PARA O DIAGNÓSTICO DE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.

Critérios clínicos do SLICC

Critério	Definição
1. Lúpus cutâneo agudo incluindo erupção malar (não considerar se erupção malar discóide)	Lúpus bolhoso; necrólise epidérmica tóxica variante do lúpus; erupção lúpica maculopapular; erupção lúpica fotossensível (na ausência de dermatomiosite) ou lúpus cutâneo subagudo (lesões psoríaseformes não endurecidas e/ou lesões anulares policíclicas que resolvem sem deixar cicatrizes, embora ocasionalmente com despigmentação pós-inflamatória ou telangiectasias).
2. Lúpus cutâneo crônico incluindo erupção discóide clássica	Lesões localizadas (abaixo do pescoço) e generalizadas (acima e abaixo do pescoço); lúpus hipertrófico (verrucoso); paniculite lúpica (profunda); lúpus mucoso; lúpus eritematoso túmido; frieiras lúpicas; lúpus discoide / líquen plano se sobrepõem.
3. Úlceras orais	Úlceras no palato, boca, língua ou úlcera nasal (na ausência de outras causas como vasculites, infecções (herpes), doença inflamatória do intestino, artrite reativa, e alimentos ácidos).
4. Alopecia não cicatricial	Fragilidade capilar ou queda difusa (na ausência de outras causas, como alopecia areata, drogas, deficiência de ferro e alopecia androgênica alopecia).
5. Sinovite	Envolvendo duas ou mais articulações, caracterizada por edema ou efusão ou sensibilidade em duas ou mais articulações e trinta minutos ou mais de rigidez matinal.
6. Serosite	Pleurisia típica para mais de 1 dia (ou derrames pleurais, ou atrito pleural); dor pericárdica típica (dor com decúbito que melhora ao sentar-se) por mais de um dia (ou derrame pericárdico, ou atrito pericárdico, ou pericardite pelo ECG) na ausência de outras causas, como infecção, uremia.
7. Distúrbio renal	Proteínas urinárias/creatinina (ou proteinúria de 24h) revelando 500 mg de proteínas/24h OU presença de células vermelhas
8. Distúrbio neurológico	Convulsões; psicoses; formas múltiplas de mononeurite (na ausência de outras causas, como vasculite primária); vasculite; mielite; neuropatia craniana ou periférica (na ausência de outras causas, como vasculite primária, infecção e diabetes melito); confusão mental aguda (na ausência de outras causas, incluindo metabólitos tóxicos, uremia e drogas).
9. Distúrbio hematológico	Anemia hemolítica
10. Distúrbio hematológico	Leucopenia ($< 4000/\text{mm}^3$) pelo menos uma vez (na ausência de outras causas conhecidas, como drogas e hipertensão portal) ou Linfopenia ($< 1000/\text{mm}^3$) pelo menos uma vez (na ausência de outras causas conhecidas como corticosteroides, drogas e infecção)

APÊNDICE D - CRITÉRIOS CLÍNICOS DO SLICC

Critério	Definição
1. ANA	Anticorpos antinucleares acima do valor de referência laboratorial.
2. Anti-ds DNA	Anti-dsDNA acima da faixa de referência do laboratório, exceto ELISA: duas vezes acima da faixa de referência de laboratório
3. Anti-Sm	Anti-Sm
4. Anticorpo antifosfolípides	Qualquer um dos seguintes: anticoagulante lúpico; RPR falso- positivo; médios ou altos títulos de anticardiolipina (IgA, IgG ou IgM); anti-β2 glycoproteína I (IgA, IgG or IgM)
5. Sistema do complemento	Baixos níveis de C3, C4, CH50
6. Coombs direto	Teste de Coombs direto na ausência de anemia hemolítica.

ANEXOS**ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFMG – COEP**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

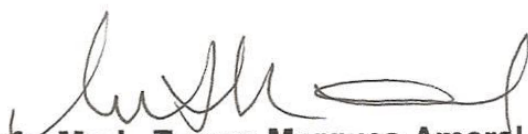
Projeto: CAAE – 01928412.8.0000.5149

**Interessado(a): Profa. Maria das Graças Carvalho
Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas
Faculdade de Farmácia - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 27 de junho de 2012, o projeto de pesquisa intitulado **"Lúpus eritematoso sistêmico: aspectos hematológicos e imunológicos"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

ANEXO B - FOLHA DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG – HC



Universidade Federal de Minas Gerais
Hospital das Clínicas
Gerência de Ensino e Pesquisa



Belo Horizonte, 04 de julho de 2016.

PROJETO DE PESQUISA nº 061/16: "Lúpus eritematoso sistêmico: aspectos hematológicos e imunológicos."

Reportando-nos ao projeto de pesquisa acima referenciado, considerando sua concordância com o parecer da Comissão de Avaliação Econômico-financeira de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas e a aprovação pelo COEP/UFMG em 27/06/12, esta Gerência aprova seu desenvolvimento no âmbito institucional. Solicitamos enviar à GEP **relatório** parcial ou final após um ano.

Atenciosamente,

Prof. Alexandre Rodrigues Ferreira

Gerente de Ensino e Pesquisa do HC-UFMG

Prof. Alexandre Rodrigues Ferreira
Gerente de Ensino e Pesquisa do HC/UFMG
Filial EBSEH
Insc. 181196 - PT: 937 de 17/11/14

Sr^a

Prof^a Maria das Graças Carvalho
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Faculdade de Farmácia - UFMG

Av. Prof. Alfredo Balena, 110 - 1º andar
Bairro Santa Efigênia - Cep: 30130-100 - Belo Horizonte - MG
Telefone: (31) 3409.9379 -
E-mail: depehcuufmg@gmail.com

ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

BANCO DE DADOS E DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS DESTINADO AO ESTUDO DE PARÂMETROS GENÉTICOS, BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS RELACIONADOS A DOENÇAS AUTOIMUNES.

Projeto de pesquisa:

“Lúpus eritematoso sistêmico: aspectos hematológicos e imunológicos”

Prezado(a) Senhor(a),

O Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais está realizando um estudo em amostras de sangue de pacientes com “Lúpus Eritematoso Sistêmico”. Este estudo tem como objetivo a obtenção de conhecimentos importantes sobre esta doença, podendo facilitar, no futuro, o tratamento. Os dados clínicos e laboratoriais que serão obtidos nesta pesquisa poderão ajudar o médico a entender melhor esta doença.

As informações obtidas nesta pesquisa poderão não lhe trazer benefícios imediatos, mas poderão trazer benefícios para outros indivíduos com a mesma doença no futuro. Se você quiser participar desta pesquisa, poderá fazê-lo doando uma amostra de 15mL de sangue para realizarmos exames laboratoriais. A retirada da pequena amostra de sangue poderá lhe causar um leve desconforto proveniente da picada da agulha e o local onde se coletou o sangue pode ficar roxo.

Caso você não queira participar desta pesquisa não haverá qualquer prejuízo no seu tratamento. Toda informação obtida nesta pesquisa será mantida em segredo. Sua amostra de sangue deverá fazer parte de um banco de dados e de amostras biológicas que poderão ser utilizadas no futuro para novas pesquisas. Todas as informações e amostras receberão um código de modo que ninguém saberá que esta amostra é sua, com exceção dos pesquisadores deste projeto. No entanto, qualquer pesquisa futura com o seu sangue deverá ser aprovada por um comitê de ética, sem necessidade de contatar você. Qualquer outra informação sobre esta pesquisa poderá ser obtida com a pesquisadora principal Professora Maria das Graças Carvalho (31-34096881) ou com o médico reumatologia responsável Dr. Paulo Madureira de Pádua (31-32265581).

Desde já, agradecemos a sua colaboração!

Termo de consentimento

Declaro que, após convenientemente esclarecido(a) pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, autorizo a coleta de 5 mL de sangue para ser utilizado na pesquisa acima.

_____ Nome completo

_____ / ____ / ____ Assinatura Data

Para contato:

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa - Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II - 2o andar

Sala 2005

Campus Pampulha

Belo Horizonte, MG - Brasil