

# 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS

## Introdução

Os componentes do sistema imunitário são dinâmicos quanto ao fenótipo e genótipo. Linfócitos são gerados aos milhões e fadados a rigoroso processo de seleção, ao qual apenas uma exígua minoria sobrevive, ainda assim como células intermediárias que sofrem amplo processo de transformação fenotípica (ex. diferenciação em Th1, Th2, Th17, T<sub>REG</sub>) e genotípica (ex. mutação somática de linfócitos B na maturação da resposta humoral) (1).

O primeiro conjunto de estratégias desenvolvido pelo sistema imunitário, ao longo da evolução filogenética, foi a resposta imune não específica, ou natural, mediada por fagócitos, lisozima, sistema do complemento, *toll-like receptors* (TLR), proteínas de fase aguda, PAMPs (*Pathogen-associated molecular patterns*) e DAMPs (*Damage-associated molecular patterns*). Embora extremamente eficazes e essenciais, esses mecanismos têm limitações, principalmente por não apresentarem um potencial adaptável a repetidos estímulos (2).

O desenvolvimento do sistema imunitário adaptativo foi uma aquisição dos animais vertebrados, sendo mediado por linfócitos e seus produtos solúveis: anticorpos e citocinas. Essa nova estratégia permite respostas amplificadas, extremamente potentes e dirigidas especificamente contra alvos determinados. Ademais, é capaz de reter a informação de um estímulo prévio, processo denominado memória imunológica, resultando em resposta ainda mais eficaz quando de uma reexposição. Há ampla integração entre as vertentes inata e adaptativa do sistema imunitário e eventuais alterações no sistema inato podem ser responsáveis por

distúrbios do sistema adaptativo compatíveis com algumas das enfermidades denominadas autoimunes (1, 3).

Uma importante contribuição para elucidação do elo entre imunidade inata e adquirida foi a descoberta dos *toll-like receptors* (TLR), que são receptores específicos para sequências moleculares típicas de microorganismos. Esses receptores possibilitam ativação da imunidade inata após contato com agentes exógenos e viabilizam a integração de linfócitos T e B à resposta imunitária. Vários TLR têm especificidade para ácidos nucleicos, incluindo autoantígenos como DNA e snRNAs (4).

### **Lúpus Eritematoso Sistêmico**

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória autoimune em que vários órgãos e tecidos podem ser acometidos. A forma de apresentação clínica é bastante heterogênea e caracteriza-se por períodos de exacerbação e remissão. A gravidade da doença é variável: desde formas leves e intermitentes até quadros graves e fulminantes (5).

O termo lúpus (do latim, lobo) foi usado por Rogerius (Roggerio dei Frugardi, cirurgião da Escola de Salerno), no século XIII, para descrever lesões erosivas da face. A palavra lúpus passou da linguagem vulgar para a literatura médica, graças às investigações históricas de Virchow. Em 1846, Ferdinand Von Hebra descreveu dois tipos de lesões no lúpus eritematoso: manchas em forma de disco e outras menores e confluentes e introduziu a denominação de borboleta para o eritema malar. O seu discípulo Moritz Kaposi (1837-1902) subdividiu o lúpus em formas discoides e formas disseminadas e introduziu o conceito de doença sistêmica com prognóstico potencialmente fatal (6, 7).

A prevalência é estimada em 40 a 50 casos por 100 000 habitantes, e a incidência quase que triplicou nos últimos 40 anos devido ao diagnóstico das formas mais leves da doença. As taxas de incidência na América do Norte, América do Sul e na Europa são estimadas em 2 a 8 por 100 000 habitantes por ano (8). Na cidade de Natal-RN a incidência de LES foi de 8,7 casos novos por 100 000 habitantes por ano, em estudo realizado em 2000 (9).

Embora a causa não seja conhecida, admite-se que a interação de fatores genéticos, hormonais e ambientais participe do desencadeamento desta doença (10). Evidências sugerem a importância do papel da genética na patogênese : 5 a 12% dos parentes de pacientes com LES desenvolvem a doença, e há uma maior frequência de anticorpos anti-C1q e anti-cardiolipina, além de anormalidades de C3 e C4 nos familiares destes pacientes. Os gêmeos monozigóticos apresentam maior concordância da frequência de LES que os dizigóticos. Uma combinação de genes de susceptibilidade ou a presença de genes de susceptibilidade associado com a ausência de genes protetores são necessários para "atingir" susceptibilidade genética suficiente para permitir o desenvolvimento da doença (11).

O meio ambiente provavelmente tem um papel na etiologia do LES, por meio dos seus efeitos sobre o sistema imunológico. As infecções podem intensificar respostas imunológicas indesejáveis. Os vírus, por exemplo, podem estimular células específicas do sistema imunológico. Pacientes com LES apresentam frequentemente altos títulos dos anticorpos antivírus Epstein-Barr, possuem carga viral circulante deste vírus aumentada e produzem anticorpos anti-retrovírus. Infecções por micobactérias e tripanossoma podem induzir a formação de anticorpos anti-DNA ou mesmo sintomas lúpus-símile, e infecções bacterianas podem induzir ativação do LES (12). Cerca de 70% dos pacientes com LES apresentam ativação da doença após exposição à luz ultravioleta. Esta pode estimular queratinócitos a expressar mais RNP (ribonucleoproteína) em suas células de superfície e a secretar mais IL-1, IL-3, IL-6,

GM-CSF (fator estimulador de granulócitos e macrófagos) e TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumor alfa), que estimulam as células B a produzir mais anticorpos. A exposição à luz ultravioleta também induz apoptose dos queratinócitos, o que possibilita exposição de automoléculas no sistema imunológico (13).

Os hormônios possivelmente interferem na incidência e na gravidade do LES. Essa hipótese é baseada nas fortes evidências demonstradas na literatura de que o estradiol, a testosterona, a progesterona, a deidroepiandrosterona (DHEA) e a prolactina apresentam importantes funções imunorregulatórias (14).

O estrógeno estimula timócitos, células T CD4+ e CD8+, células B, macrófagos, a liberação de certas citocinas e a expressão do HLA e moléculas de adesão (VCAM e ICAM). Ao contrário, andrógenos tendem a ser imunossupressores. A progesterona suprime a proliferação de células T e aumenta o número de células CD8, enquanto a hiperprolactinemia está associada à ativação do LES. Apesar dos possíveis efeitos dos hormônios sexuais no LES, a expressão clínica da doença é a mesma no homem e na mulher (15).

O lúpus é primariamente uma doença com deficiências na regulação do sistema imunológico. Essas anormalidades são secundárias a perda do mecanismo de auto tolerância, incluindo ativação desregulada de linfócitos B e T. Esta ativação desencadeia subsequente ativação policlonal de linfócitos circulantes com produção de grande quantidade de autoanticorpos reativos e formação de imunocomplexos que causam dano tecidual e orgânico. Este é um processo complexo que envolve interação de citocinas, quimiocinas, moléculas de sinalização e receptores de reconhecimento padrão (PRRs do inglês *pattern recognition receptors*) (16).

### **Perfil de citocinas do lúpus eritematoso sistêmico**

As citocinas são moléculas proteicas pequenas solúveis que participam da cascata inflamatória. São produzidas principalmente por células autoimunes e apresentam papel crucial na diferenciação, maturação e ativação de várias células do sistema imunológico. Podem exercer funções pro-inflamatórias, anti-inflamatórias ou ambas dependendo de fatores específicos e do microambiente local. Anormalidades na função e liberação de diversas citocinas têm sido identificadas em pacientes com LES (17).

Sabe-se que a ativação do sistema imunológico em indivíduos com lúpus, inicia-se com a presença de autoantígenos resultantes, em parte, da perda da auto tolerância e de defeitos da apoptose. Estes antígenos, por meio das células apresentadoras (macrófagos, monócitos e células dentríticas), entram em contato com os linfócitos T auxiliares CD4 + chamados de Th0, principalmente pelo estímulo do interferon alfa (IFN $\alpha$ ). Os linfócitos Th0 diferenciam-se em Th1, Th2, Th17 e outros fenótipos e produzem interleucinas com respostas funcionais diferentes (18).

As principais respostas funcionais conhecidas no LES são: Th1 (IL2, IL12, TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$ ), Th2 (IL4, IL5, IL25, IL10 e IL13), Th17 (IL17, IL21, IL22, IL24, IL26) e a T reguladora (linfócito Treg) que libera mediadores inibitórios como o fator de crescimento  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) e a IL10. Os linfócitos T, por sua vez, liberam determinadas citocinas e quimiocinas que vão interferir no processo inflamatório local. Ao mesmo tempo as células apresentadoras de antígenos também estimulam os linfócitos B, por meio do fator ativador de linfócitos (BAFF), a produzir autoanticorpos que diretamente ou após a formação de imunocomplexos vão iniciar e/ou perpetuar o dano tecidual (17-19). O advento de novas e avançadas técnicas que permitem a análise intracelular e extracelular de citocinas, permitiu o melhor entendimento do perfil e dos mecanismos celulares das citocinas em pacientes com

LES. Diante disso, acredita-se que haja aumento das respostas Th1, Th2 e Th17 e redução funcional dos linfócitos reguladores como ilustrado na figura 1 (19).

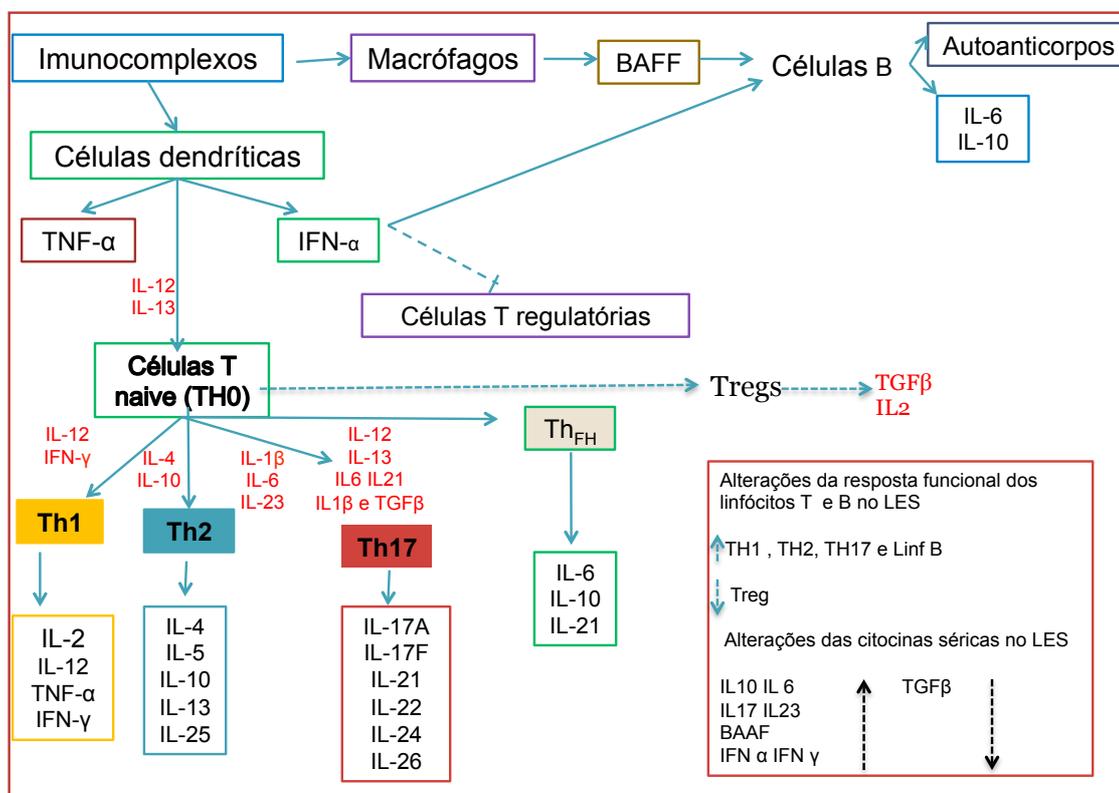


Figura 1: Citocinas interligando o sistema imunológico no LES. TGF  $\beta$  e IL10 exibem principalmente efeitos anti-inflamatórios e IL6, BAAF (fator ativador de linfócitos), IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL17 e IL23 efeitos inflamatórios.

Serão descritas a seguir as citocinas IL17, IL10, IL6, TNF $\alpha$  e os receptores solúveis 1 (sTNFR1) e 2 (sTNFR2) que fazem parte das respostas funcionais dos linfócitos Th17, Th2 e Th1, respectivamente.

Os linfócitos Th17 produzem várias citocinas como a IL17 e IL8, quimiocinas e metaloproteínas. A IL17 estimula o recrutamento de monócitos, neutrófilos e linfócitos para os tecidos inflamados, a expressão de moléculas de adesão, as interleucinas IL6, IL1 $\beta$  e IL21 e a diferenciação de células B. Por estar envolvida na diferenciação de linfócitos B e T e por estimular a produção de autoanticorpos Nalandian e colaboradores sugeriram que esta citocina poderia participar da patogênese do lúpus eritematoso sistêmico (20-23).

Vários estudos descreveram concentrações elevadas de IL17 em pacientes com LES quando comparadas às concentrações dos indivíduos sem a doença (24-28). Alguns autores também registraram correlação desta citocina com a atividade da doença e associação da IL17 ao acometimento renal de pacientes lúpicos (29-31). Tanasescu e colaboradores observaram a presença de IL17 em lesões cutâneas discoides e subagudas de pacientes que não preencheram os quatro critérios de classificação do LES, bem como em pele de indivíduos com diagnóstico de LES sem lesões cutâneas. Todos estes grupos de pacientes apresentaram maiores níveis séricos desta citocina quando comparados aos indivíduos controles, sugerindo que ela poderia estar envolvida na patogênese das lesões cutâneas do lúpus (32).

A interleucina 6 é produzida primariamente por macrófagos e em menor quantidade por outros tipos celulares como linfócitos, células mesangiais e endoteliais. É capaz de ativar macrófagos e linfócitos B, estimular a secreção de imunoglobulinas e autoanticorpos e está envolvida na diferenciação de linfócitos T para resposta Th17 (18). Promove também a maturação de células mieloides, estimulando a produção de plaquetas e diferenciação de osteoclastos, além de estimular os hepatócitos a produzir proteínas de fase aguda (33, 34).

Estudos em indivíduos com LES identificaram níveis séricos elevados da IL6 tanto em crianças (35) quanto em adultos (31, 34, 35, 36, 37). Pacientes adultos com doença ativa apresentaram níveis séricos de IL6 elevados e se correlacionaram com atividade da doença (34) e com presença de anticorpos anti-DNA nativo (33, 36, 37). A IL6 está associada à nefrite lúpica e, nestes pacientes, evidenciam-se também elevados níveis urinários desta citocina (38). Está aumentada em pacientes com complicações cardiopulmonares (39) e articulares (40), assim como está elevada no líquido de pacientes com manifestações neuropsiquiátricas (41).

A interleucina 10 (IL10), produzida principalmente pelas células T, monócitos, macrófagos e linfócitos B, tem importante função imunorreguladora. Aumenta a sobrevivência e estimula a diferenciação e proliferação de linfócitos B com consequente produção de autoanticorpos. A desregulação da IL10 e de seus receptores é associada a maior susceptibilidade a infecções e a doenças autoimunes incluindo o LES (20, 42).

Alguns autores, ao analisar as dosagens séricas de IL10 em pacientes com LES, observaram elevados níveis séricos desta citocina e correlação com atividade da doença (43) e com a produção do anticorpo anti-DNA nativo (44). Zhi-Chun e colaboradores descreveram elevadas concentrações de IL10 em pacientes com nefrite lúpica (45) e Llorente e colaboradores evidenciaram que ao inibir a IL10, as lesões cutâneas e os sintomas articulares melhoraram (46).

O fator de necrose tumoral  $\alpha$  é uma citocina que produz estímulos diferentes em várias condições fisiológicas e patológicas. Participa da ativação e desenvolvimento de células dendríticas, e de linfócitos T e B, além de ser um mediador inflamatório e indutor de apoptose (47). O estímulo para produção de receptores de membrana de TNF é feito pelo próprio TNF $\alpha$  (48). Os receptores então são clivados da membrana e tornam-se receptores solúveis com propriedade de se ligar ao TNF $\alpha$  sérico podendo assim protegê-lo da inativação realizada por outras citocinas inibitórias (49). Concomitantemente a esta função estimulatória os receptores solúveis podem reduzir a produção de TNF $\alpha$  pelos monócitos e macrófagos e participar na regulação funcional desta citocina (50).

O TNF $\alpha$  está envolvido na patogênese do LES com ações tanto inflamatórias quanto de regulação imunológica (51). Não está claro, até o momento, se o fator de necrose tumoral é benéfico ou deletério para estes pacientes. Estudos

evidenciam que esta citocina e respectivos receptores estão elevados em soro de pacientes com LES, e podem estar associados com maior atividade da doença (48) e ao acometimento renal (52, 53). Munroe e colaboradores mostraram que vários mediadores inflamatórios, entre os quais o TNF $\alpha$  e seus receptores solúveis, estão elevados no soro de pacientes mesmo antes da reativação da doença (54).

### **Tecido adiposo e adipocinas no lúpus sistêmico**

O perfil de reposta dos linfócitos T característico do lúpus, conjuntamente com os autoanticorpos e imunocomplexos podem determinar características clínicas diferentes da doença. Além do perfil inflamatório próprio da doença, os pacientes podem apresentar outras enfermidades ou outras condições que poderiam modificar a resposta inflamatória individual (55).

Dentre estas comorbidades destaca-se a obesidade. Esta é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como o acúmulo excessivo ou anormal de gordura (56) e sua prevalência vem crescendo entre a população geral. Segundo a OMS aproximadamente 35% da população mundial tem sobrepeso ou é obesa (56). Em 2011, existiam 500 milhões de obesos no mundo com perspectiva de dobrar este número para um bilhão em 2030. No Brasil, o último registro publicado em 2013, referente ao estudo nacional de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), publicou que, aproximadamente, 49% das mulheres têm excesso de peso (57).

A obesidade é um dos fatores de risco tradicionais para doença cardiovascular (DCV) e está associada com maiores níveis glicêmicos, maior frequência de hipertensão arterial sistêmica, elevação sérica dos marcadores

inflamatórios, maior incidência de tumores sólidos e pior capacidade funcional, contribuindo para o aumento da morbidade e da mortalidade em pacientes com LES (55, 58)

O tecido adiposo tem sido recentemente reconhecido como um órgão endócrino ativo que integra as funções endócrinas, metabólicas e imunológicas (59). Em condições fisiológicas mantém a integridade estrutural e funcional proporcionando equilíbrio entre as funções metabólicas e imunológicas. O aumento do tecido adiposo caracterizado pelo maior número e tamanho dos adipócitos e do tecido extracelular, leva a necrose celular e hipóxia tecidual. Esta conjuntamente com a endotoxemia tecidual e o estresse do retículo endoplasmático dos adipócitos estimula a migração e ativação de células imunológicas para o tecido adiposo, principalmente de macrófagos, células dendríticas, mastócitos, neutrófilos e linfócitos B e T. Estas células, além de estarem em número aumentado no tecido adiposo, também sofrem modificação na sua distribuição e função (60, 61).

Os macrófagos, os quais exemplificam bem esta mudança de função, são as células imunológicas em maior número no tecido adiposo e, caracteristicamente, após estímulo do interferon  $\gamma$ , se diferenciam em um subtipo inflamatório nomeado de M1. Ou seja, produzem citocinas inflamatórias, principalmente, TNF  $\alpha$ , IL 6 e IL1  $\beta$  (61-63). Os linfócitos T helper passam a modular a sua resposta funcional em Th1 e Th17 ocorrendo redução na população de linfócitos reguladores (64, 65). Estas modificações estruturais e funcionais caracterizam o estado inflamatório de baixo grau também chamado de metainflamação, encontrado em indivíduos obesos. Esta inflamação desencadeia alterações metabólicas conhecidas como a resistência insulínica, disfunção endotelial e aterosclerose (63, 66).

Versini e colaboradores destacaram, em revisão recente, que a obesidade pode estar associada ao aumento da prevalência e pior prognóstico de doenças imunomediadas (67). Mecanismos que conectam o tecido adiposo ao sistema imunológico ainda estão sendo estudados. Um mecanismo descrito é a participação do fator inibidor de apoptose de macrófagos na produção de imunocomplexos. Este fator é uma proteína produzida pelos macrófagos que aumenta a sobrevivência destas células e induz a lipólise. Por meio da lipólise ocorre a liberação de ácidos graxos saturados que estimulam a produção de quimiocinas pelos adipócitos favorecendo ativação de macrófagos M1. Além disso, o inibidor de apoptose de macrófagos forma imunocomplexos com a imunoglobulina IgM. Estes imunocomplexos são então apresentados pelas células dendríticas foliculares aos linfócitos B, estimulando assim a produção de autoanticorpos (68).

As adipocinas são proteínas produzidas principalmente por células adiposas que participam da regulação imunológica e dos processos inflamatórios sistêmicos (21, 67). Em indivíduos sem doenças autoimunes, as adipocinas leptina e resistina apresentam geralmente função inflamatória e a adiponectina função anti-inflamatória (20, 69). Em doenças inflamatórias crônicas como o LES as concentrações séricas das adipocinas, principalmente leptina e adiponectina, estão geralmente elevadas quando comparadas aos indivíduos controles (70-72).

Leptina é um hormônio peptídico não glicosilado produzido principalmente pelo tecido adiposo e por células inflamatórias. Estruturalmente pertence a superfamília das citocinas tipo 1 que incluem IL3, IL6 e IL12 (73, 74). Este hormônio modula, via hipotálamo, a fome, o peso corporal e as reservas de gordura. Os níveis circulantes são diretamente correlacionados com a massa de tecido adiposo tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes com LES (70-72).

A expressão da leptina é regulada, principalmente, pela ingestão alimentar, hormônios e por mediadores inflamatórios (69). Participa na regulação imunológica tanto na imunidade inata quanto na imunidade adaptativa. Na primeira, estimula os macrófagos e os monócitos, a função fagocítica, a indução de ecosanoides e de óxido nítrico, além de estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF $\alpha$ , IL6 e IL12 (75, 76). Induz, ainda, a quimiotaxia de neutrófilos e interfere na proliferação, diferenciação, ativação e citotoxicidade das células *natural killer* (76, 77). Na resposta imunológica adaptativa, a leptina induz a ativação de células T e modifica o padrão de resposta de citocinas das células T para Th1, além de inibir as células T regulatórias (Tregs) (78, 79). Yu e colaboradores descreveram, em camundongos com LES, que a leptina também pode induzir a resposta Th17 (25). Amarilyo e colaboradores observaram que a leptina tem efeitos anti-apoptóticos em timócitos de camundongos com LES, sugerindo que esta poderia estar envolvida na autorreatividade de células T (80). Interessante observar que citocinas inflamatórias também podem estimular a liberação de leptina no tecido adiposo e, esta, por sua vez, pode ampliar o processo inflamatório o que pode justificar, em parte, os níveis aumentados de leptina em pacientes com LES (71).

Estudos que avaliaram a concentração plasmática de leptina em pacientes com LES são consistentes e indicam níveis elevados de leptina quando comparado aos indivíduos controles, mesmo após ajuste estatístico para o índice de massa corporal (IMC), hipertensão, hiperlipidemia e diabetes (81-84).

A maioria dos autores não relatou correlação entre a atividade da doença e maiores níveis séricos de leptina (72, 85). Chung e colaboradores demonstraram correlação entre proteína C reativa (PCR) e elevados níveis de leptina, porém sem associação com atividade da doença (85). Poucos estudos analisaram a

associação com as manifestações clínicas do lúpus. Apenas Wislowska e colaboradores, ao estudar 30 pacientes com LES, observaram que pacientes com artrite e envolvimento do sistema nervoso central apresentaram menores níveis de leptina quando comparados aos pacientes sem estas manifestações clínicas (72).

Outra proteína produzida pelo tecido adiposo – adiponectina, apresenta-se em formas monoméricas (tecido adiposo), globulares ou oligoméricas (plasma), de baixo, médio ou alto peso molecular. A adiponectina usualmente está diminuída em indivíduos obesos sem doenças autoimunes (86, 87).

O fator de necrose tumoral alfa e a IL6 inibem, geralmente, a produção de adiponectina pelo tecido adiposo. Esta, por sua vez, também suprime a produção de citocinas inflamatórias, o que sugere regulação negativa entre a adiponectina e as citocinas inflamatórias (20). Em contrapartida, estudos apontam para a elevação desta adipocina em pacientes com doenças inflamatórias como artrite reumatoide e LES (20, 88).

O efeitos anti-inflamatórios e pró-inflamatórios da adiponectina podem se dever, em parte, às diferentes conformações moleculares desta adipocina. Adiponectina de baixo peso molecular, por exemplo, bloqueia a indução da secreção de endoxina pela IL6 e estimula a produção de IL10. A adiponectina pode inibir a proliferação e atividade fagocítica dos monócitos e macrófagos e estimular o antagonista do receptor de IL1. Já as adiponectinas de médio e alto peso molecular estimulam a proteína I quimioatrativa de monócito (MCP I) e a síntese de IL8 (89, 90). A adiponectina, portanto, pode atuar inibindo a ativação e a proliferação dos linfócitos T e a linfopoiese dos linfócitos B. O efeito na produção das citocinas parece depender da isoforma, do tipo e da ativação da célula-alvo, bem como da presença de citocinas pró-inflamatórias que possam modificar a expressão dessa adipocina (91).

Em pacientes com lúpus, maiores concentrações de adiponectina são observadas em pacientes do que em indivíduos controles (85). Elevações dos níveis séricos e urinários de adiponectina foram demonstrados nos pacientes com nefrite quando comparados com pacientes sem acometimento renal. Alguns autores sugerem ainda que a adiponectina urinária poderia ser um marcador de atividade renal (92-94).

Resistina é uma proteína de baixo peso molecular secretada, em camundongos, principalmente pelo tecido adiposo, no entanto em humanos a maior reserva desta adipocina está em células mononucleares (95). Além da sua função metabólica, a resistina participa da resposta inflamatória, Kaser e colaboradores demonstraram que a expressão do RNA mensageiro da resistina, em células mononucleares é regulada por citocinas inflamatórias como  $TNF\alpha$ , IL6 e IL1(96). Stejskal e colaboradores, em humanos, demonstraram elevação da resistina em doenças inflamatórias agudas (97). Resistina está presente em articulações inflamadas de pacientes com artrite reumatoide (98). No LES, esta adipocina está elevada no plasma quando comparada à indivíduos sem LES e está associada a marcadores de inflamação (PCR e VHS) e disfunção renal (99). Recentemente, Hutcheson e colaboradores evidenciaram que as concentrações séricas e urinárias de resistina correlacionaram com a presença de nefrite lúpica, sugerindo que esta adipocina possa ser um marcador de nefrite em pacientes com LES (100) .

### **Obesidade e as citocinas no lúpus sistêmico**

A integração entre estado nutricional e imunidade, que sob condições fisiológicas é benéfica para a saúde, pode passar a ser prejudicial em certas situações. A desnutrição, causando imunossupressão, e a obesidade, que desencadeia inflamação sistêmica, são condições que podem modificar a resposta do indivíduo a determinada doença (101, 102).

Em estudo prévio, realizado no Serviço de Reumatologia HC/UFMG, em que o estado nutricional de 170 pacientes com LES foi avaliado, observou-se frequência de 64,2% de excesso de peso e 28,3% de pacientes obesas (103). Taxas elevadas, semelhantes a descrita neste estudo anterior, foram observadas também por outros autores (55, 104).

Como o tecido adiposo pode se comportar como tecido inflamatório tanto em indivíduos saudáveis como em pacientes com doenças autoimunes, mudança da composição corporal poderia promover alterações no perfil de citocinas dos pacientes. Todavia, poucos estudos descrevem estas modificações na população lúpica.(55, 105).

A obesidade é associada à maior expressão da IL17 e à maior inflamação mediada pela resposta Th17 (59). Descreve-se que mulheres obesas ( $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ ) apresentam maiores níveis séricos desta citocina do que mulheres eutróficas ( $IMC = 18-25 \text{ Kg/m}^2$ ) (106). No LES a associação entre IMC e resposta Th17 ainda é pouco estudada.

Em indivíduos obesos, sem doenças autoimunes, são observados níveis mais elevados de IL6 do que em indivíduos eutróficos (107). Em pacientes com LES, dois estudos descreveram esta correlação entre IMC e concentrações séricas de IL6. O primeiro, descrito por Oeser e colaboradores, avaliou 100 pacientes com LES e demonstrou que aqueles que apresentaram maior IMC apresentaram maiores

concentrações séricas de IL6. Esta associação permaneceu estatisticamente significativa mesmo após ajuste para a idade, sexo, atividade da doença (SLEDAI) e dano orgânico (SLICC) (55). O segundo identificou que em 52 pacientes com LES juvenil a IL6 não foi associada ao índice de massa corporal (IMC) elevado (35).

Estudo italiano evidenciou que mulheres obesas apresentaram maiores níveis séricos da IL10 quando comparados com mulheres eutróficas (108). Sinicato e colaboradores observaram que as crianças com lúpus e obesas apresentaram maiores concentrações de IL10 do que aquelas não obesas ( $IMC \leq 30 \text{ Kg/m}^2$ ), no entanto, não houve significância estatística (35).

Elevadas concentrações de fator de necrose tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ) são produzidas pelo tecido adiposo de indivíduos saudáveis com sobrepeso ( $IMC > 25 \text{ Kg/m}^2$ ) e obesos ( $IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$ ) quando comparado com indivíduos eutróficos (107, 109, 110). Sinicato e colaboradores evidenciaram que, em pacientes com LES juvenil, aqueles com maior concentração sérica de  $TNF\alpha$  eram os que apresentavam maior IMC e maior gordura corporal total mensurada pela densitometria (35).

As adipocinas, leptina e adiponectina se correlacionam com IMC, a primeira leva suas concentrações em pacientes com maior IMC e segunda apresenta uma correlação inversa com o índice de massa corporal (81, 86, 92, 111). No entanto a associação da resistina com obesidade em pacientes com LES ainda não está bem definida.

Observa-se que há mudanças no perfil de citocinas e adipocinas nos pacientes com LES assim como em indivíduos com excesso de gordura corporal.

**Como seria o perfil destas citocinas em pacientes com LES e obesidade?**

Este projeto é parte da linha de pesquisa “Nutrição e Lúpus Eritematoso Sistêmico” iniciada em 2008. É uma parceria do Serviço de Reumatologia e o Grupo de Nutrição do Instituto Alfa de Gastroenterologia, Hospital das Clínicas/UFMG. Como parte desta linha de pesquisa foram concluídas duas Dissertações de Mestrado e uma Tese de Doutorado. A primeira defendida pela autora do presente estudo (FMMS) e intitulada *Lúpus eritematoso sistêmico: avaliação do estado nutricional, da atividade física e dos fatores associados ao excesso de peso*. A segunda, defendida por uma nutricionista (MCB) intitulada: *Avaliação do estado nutricional e da ingestão alimentar de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, atendidas no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas/UFMG*, e a tese de doutorado desta mesma autora (MCB) defendida em 2014, “*Ácidos graxos ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: influência no perfil inflamatório, na atividade da doença e nos exames bioquímicos*”.

As dissertações deram origem a três artigos: “*Avaliação do estado nutricional e da atividade física em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico*” (ANEXO A), “*Nutritional status and food intake in patients with systemic lupus erythematosus*” (ANEXO B) e “*Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus*” (ANEXO C). E a tese de doutorado, até o momento, originou o seguinte artigo: “*Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?*”(ANEXO D).

## Referências Bibliográficas

1. Andrade LEC, Perazzio SF, Castro CHM, Ferrari AJL. Etiopatologia das doenças reumáticas. Quarta edição ed. Rio de Janeiro 2014.
2. Abbas AK, AH Litchman, Phillai S. Celular and molecular imunology. fifth ed. Londres: Souders WB; 2007.
3. O'Shea JJ, Ma A, Lipsky P. Cytokines and autoimmunity. Nat Rev Immunol. 2002;2(1):37-45.
4. Papadimitraki ED, Bertias GK, Boumpas DT. Toll like receptors and autoimmunity: a critical appraisal. J Autoimmun. 2007;29(4):310-8.
5. Hocheberg MC, Silman AJ, Weinblatt ME. Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: Elsevier M, editor. Rheumatology. Systemic lupus erythematosus. 1. fifth ed. British: Mosby; 2011. p. 1229.
6. Dutschmann LA. Systemic Erythematosus Lupus: some historical aspects. Lupus Eritematosos Sistêmico: alguns aspectos históricos. 2006;13(2):7.
7. Cohen-Solal JF, Jeganathan V, Grimaldi CM, Peeva E, Diamond B. Sex hormones and SLE: influencing the fate of autoreactive B cells. Curr Top Microbiol Immunol. 2006;305:67-88.
8. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, R WM. Epidemiology and classification of systemic lupus erythematosus. In: Elsevier M, editor. Rheumatology. 2. 1. fifth ed. British: Mosby; 2011. p. 1223.
9. Vilar MJP, Rodrigues JM, Sato EI. Incidência de lúpus eritematoso sistêmico em Natal, RN, Brasil. Revista brasileira de reumatologia. 2003;43(6):4.
10. Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St Clair EW, Gilkeson GS. Risk factors for development of systemic lupus erythematosus: allergies, infections, and family history. J Clin Epidemiol. 2002;55(10):982-9.
11. Lanna CCD, Ferreira GA, Telles RW. Lupus Eritematoso sistêmico. In: GEN, editor. Reumatologia - Diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro 2014. p. 378-410.
12. Steinberg AD. Insights into the basis of systemic lupus. J Autoimmun. 1995;8(6):771-75.
13. Lehmann P, Holzle E, Kind P, Goerz G, Plewig G. Experimental reproduction of skin lesion in lupus erythematosus by UVA and UVB radiation. J Am Acad Dermatol [Internet]. 1990; 22:[181 p.].

14. McMurray RW, May W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: review and meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(8):2100-10.
15. Heinlen LD, McClain MT, Merrill J, Akbarali YW, Edgerton CC, Harley JB, et al. Clinical criteria for systemic lupus erythematosus precede diagnosis, and associated autoantibodies are present before clinical symptoms. *Arthritis Rheum.* 2007;56(7):2344-51.
16. Yu SL, Kuan WP, Wong CK, Li EK, Tam LS. Immunopathological roles of cytokines, chemokines, signaling molecules, and pattern-recognition receptors in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:715190.
17. Su DL, Lu ZM, Shen MN, Li X, Sun LY. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:347141.
18. Davis LS, Hutcheson J, Mohan C. The role of cytokines in the pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31(10):781-9.
19. Adrian T, Gregor E, Leal J. Citocinas y lupus eritematoso sistémico. *Gac Med Caracas.* 2009;117(3):15.
20. Ohl K, Tenbrock K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:432595.
21. Yap DY, Lai KN. The role of cytokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus - from bench to bedside. *Nephrology (Carlton).* 2013;18(4):243-55.
22. Shin MS, Lee N, Kang I. Effector T-cell subsets in systemic lupus erythematosus: update focusing on Th17 cells. *Curr Opin Rheumatol.* 2011;23(5):444-8.
23. Nalbandian A, Crispin JC, Tsokos GC. Interleukin-17 and systemic lupus erythematosus: current concepts. *Clin Exp Immunol.* 2009;157(2):209-15.
24. Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Wong PT, Lam CW. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol.* 2008;127(3):385-93.
25. Chen XQ, Yu YC, Deng HH, Sun JZ, Dai Z, Wu YW, et al. Plasma IL-17A is increased in new-onset SLE patients and associated with disease activity. *J Clin Immunol.* 2010;30(2):221-5.
26. Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2000;9(8):589-93.

27. Doreau A, Belot A, Bastid J, Riche B, Trescol-Biemont MC, Ranchin B, et al. Interleukin 17 acts in synergy with B cell-activating factor to influence B cell biology and the pathophysiology of systemic lupus erythematosus. *Nat Immunol.* 2009;10(7):778-85.
28. Zhao XF, Pan HF, Yuan H, Zhang WH, Li XP, Wang GH, et al. Increased serum interleukin 17 in patients with systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep.* 2010;37(1):81-5.
29. Cheng F, Guo Z, Xu H, Yan D, Li Q. Decreased plasma IL22 levels, but not increased IL17 and IL23 levels, correlate with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 68. England 2009. p. 604-6.
30. Xing Q, Wang B, Su H, Cui J, Li J. Elevated Th17 cells are accompanied by FoxP3+ Treg cells decrease in patients with lupus nephritis. *Rheumatol Int.* 2012;32(4):949-58.
31. Crispin JC, Oukka M, Bayliss G, Cohen RA, Van Beek CA, Stillman IE, et al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *J Immunol.* 2008;181(12):8761-6.
32. Tanasescu C, Balanescu E, Balanescu P, Olteanu R, Badea C, Grancea C, et al. IL-17 in cutaneous lupus erythematosus. *Eur J Intern Med.* 2010;21(3):202-7.
33. Tackey E, Lipsky PE, Illei GG. Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13(5):339-43.
34. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* 1990;265(3):621-36.
35. Sinicato NA, Postal M, Peres FA, Pelicari Kde O, Marini R, dos Santos Ade O, et al. Obesity and cytokines in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *J Immunol Res.* 2014:162047.
36. Linker-Israeli M, Deans RJ, Wallace DJ, Prehn J, Ozeri-Chen T, Klinenberg JR. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J Immunol.* 1991;147(1):117-23.
37. Grondal G, Gunnarsson I, Ronnelid J, Rogberg S, Klareskog L, Lundberg I. Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 2000;18(5):565-70.
38. Iwano M, Dohi K, Hirata E, Kurumatani N, Horii Y, Shiiki H, et al. Urinary levels of IL-6 in patients with active lupus nephritis. *Clin Nephrol.* 1993;40(1):16-21.

39. Yoshio T, Masuyama JI, Kohda N, Hirata D, Sato H, Iwamoto M, et al. Association of interleukin 6 release from endothelial cells and pulmonary hypertension in SLE. *J Rheumatol*. 1997;24(3):489-95.
40. Eilertsen GO, Nikolaisen C, Becker-Merok A, Nossent JC. Interleukin-6 promotes arthritis and joint deformation in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011;20(6):607-13.
41. Hirohata S, Kanai Y, Mitsuo A, Tokano Y, Hashimoto H. Accuracy of cerebrospinal fluid IL-6 testing for diagnosis of lupus psychosis. A multicenter retrospective study. *Clin Rheumatol*. 2009;28(11):1319-23.
42. Peng H, Wang W, Zhou M, Li R, Pan HF, Ye DQ. Role of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2013;32(9):1255-66.
43. Park YB, Lee SK, Kim DS, Lee J, Lee CH, Song CH. Elevated interleukin-10 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 1998;16(3):283-8.
44. Houssiau FA, Lefebvre C, Vanden Berghe M, Lambert M, Devogelaer JP, Renaud JC. Serum interleukin 10 titers in systemic lupus erythematosus reflect disease activity. *Lupus*. 1995;4(5):393-5.
45. Zhi-Chun L, Qiao-Ling Z, Zhi-Qin L, Xiao-Zhao L, Xiao-xia Z, Rong T. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) mediates p38 mitogen-activated protein kinase activation and signal transduction in peripheral blood mononuclear cells from patients with lupus nephritis. *Inflammation*. 2012;35(3):935-43.
46. Llorente L, Richaud-Patin Y, Garcia-Padilla C, Claret E, Jakez-Ocampo J, Cardiel MH, et al. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2000;43(8):1790-800.
47. Postal M, Appenzeller S. The role of Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-alpha) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine*. 2011;56(3):537-43.
48. Aderka D, Wysenbeek A, Engelmann H, Cope AP, Brennan F, Molad Y, et al. Correlation between serum levels of soluble tumor necrosis factor receptor and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1993;36(8):1111-20.

49. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med.* 1992;175(2):323-9.
50. Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, Wallach D. A tumor necrosis factor-binding protein purified to homogeneity from human urine protects cells from tumor necrosis factor toxicity. *J Biol Chem.* 1989;264(20):11974-80.
51. Heilig B, Fiehn C, Brockhaus M, Gallati H, Pezzutto A, Hunstein W. Evaluation of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors and TNF receptor antibodies in patients with systemic lupus erythematoses, progressive systemic sclerosis, and mixed connective tissue disease. *J Clin Immunol.* 1993;13(5):321-8.
52. Davas EM, Tsirogianni A, Kappou I, Karamitsos D, Economidou I, Dantis PC. Serum IL-6, TNFalpha, p55 srTNFalpha, p75srTNFalpha, srIL-2alpha levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 1999;18(1):17-22.
53. Zhu L, Yang X, Ji Y, Chen W, Guan W, Zhou SF, et al. Up-regulated renal expression of TNF-alpha signalling adapter proteins in lupus glomerulonephritis. *Lupus.* 2009;18(2):116-27.
54. Munroe ME, Vista ES, Guthridge JM, Thompson LF, Merrill JT, James JA. Proinflammatory adaptive cytokine and shed tumor necrosis factor receptor levels are elevated preceding systemic lupus erythematosus disease flare. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(7):1888-99.
55. Oeser A, Chung CP, Asanuma Y, Avalos I, Stein CM. Obesity is an independent contributor to functional capacity and inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3651-9.
56. Overweight/obesity: overweight by country. Global Health Observatory [Internet]. World Health Organization. 2013.
57. IBGE. Vigilância de doenças crônicas por inquérito telefônico - VIGITEL. In: IBGE, editor. Portal saúde.saúde.gov.br: IBGE; 2013.
58. Skamra C, Ramsey-Goldman R. Management of cardiovascular complications in systemic lupus erythematosus. *Int J Clin Rheumatol.* 2010;5(1):75-100.
59. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol.* 2014;222(3):R113-27.
60. Cildir G, Akincilar SC, Tergaonkar V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. *Trends Mol Med.* 2013;19(8):487-500.

61. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;314(1):1-16.
62. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117(1):175-84.
63. Fortis A, Garcia-Macedo R, Maldonado-Bernal C, Alarcon-Aguilar F, Cruz M. [The role of innate immunity in obesity]. *Salud Publica Mex*. 2012;54(2):171-7.
64. Pacifico L, Di Renzo L, Anania C, Osborn JF, Ippoliti F, Schiavo E, et al. Increased T-helper interferon-gamma-secreting cells in obese children. *Eur J Endocrinol*. 2006;154(5):691-7.
65. Zuniga LA, Shen WJ, Joyce-Shaikh B, Pyatnova EA, Richards AG, Thom C, et al. IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity. *J Immunol*. 2010;185(11):6947-59.
66. Beleigoli A, Diniz Mde F. Two (or more) sides of a coin. *Heart*. 100. England 2014. p. 1399-401.
67. Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: Not a passive bystander. *Autoimmun Rev*. 2014;13(9):981-1000.
68. Arai S, Miyazaki T. Impacts of the apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) on obesity-associated inflammatory diseases. *Semin Immunopathol*. 2014;36(1):3-12.
69. Otero M, Lago R, Lago F, Casanueva FF, Dieguez C, Gomez-Reino JJ, et al. Leptin, from fat to inflammation: old questions and new insights. *FEBS Lett*. 2005;579(2):295-301.
70. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-2.
71. Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gomez-Reino J, et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(8):944-50.
72. Wislowska M, Rok M, Stepien K, Kuklo-Kowalska A. Serum leptin in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2008;28(5):467-73.
73. Trayhurn P. The biology of obesity. *Proc Nutr Soc*. 64. England 2005. p. 31-8.
74. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK, et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature*. 1997;387(6629):206-9.
75. La Cava A, Matarese G. The weight of leptin in immunity. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(5):371-9.

76. Caldefie-Chezet F, Poulin A, Vasson MP. Leptin regulates functional capacities of polymorphonuclear neutrophils. *Free Radic Res.* 2003;37(8):809-14.
77. Tian Z, Sun R, Wei H, Gao B. Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice: leptin as a critical regulator in NK cell development and activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;298(3):297-302.
78. Caza TN, Talaber G, Perl A. Metabolic regulation of organelle homeostasis in lupus T cells. *Clin Immunol.* 2012;144(3):200-13.
79. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998;394(6696):897-901.
80. Amarilyo G, Iikuni N, Shi FD, Liu A, Matarese G, La Cava A. Leptin promotes lupus T-cell autoimmunity. *Clin Immunol.* 2013;149(3):530-3.
81. Garcia-Gonzalez A, Gonzalez-Lopez L, Valera-Gonzalez IC, Cardona-Munoz EG, Salazar-Paramo M, Gonzalez-Ortiz M, et al. Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int.* 2002;22(4):138-41.
82. Sada KE, Yamasaki Y, Maruyama M, Sugiyama H, Yamamura M, Maeshima Y, et al. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2006;33(8):1545-52.
83. Axelsson J, Bergsten A, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Lonnqvist F, et al. Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance. *Kidney Int.* 2006;69(3):596-604.
84. Kim HA, Choi GS, Jeon JY, Yoon JM, Sung JM, Suh CH. Leptin and ghrelin in Korean systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2010;19(2):170-4.
85. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, Raggi P, et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus.* 2009;18(9):799-806.
86. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(5):911-9; quiz 20.
87. Chow WS, Cheung BM, Tso AW, Xu A, Wat NM, Fong CH, et al. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. *Hypertension.* 2007;49(6):1455-61.
88. Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(2):326-30.

89. Song H, Chan J, Rovin BH. Induction of chemokine expression by adiponectin in vitro is isoform dependent. *Transl Res.* 2009;154(1):18-26.
90. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;323(2):630-5.
91. Barbosa Vde S, Rego J, Antonio da Silva N. Possible role of adipokines in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol.* 2012;52(2):278-87.
92. De Sanctis JB, Zabaleta M, Bianco NE, Garmendia JV, Rivas L. Serum adipokine levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity.* 2009;42(4):272-4.
93. Rovin BH, Song H, Hebert LA, Nadasdy T, Nadasdy G, Birmingham DJ, et al. Plasma, urine, and renal expression of adiponectin in human systemic lupus erythematosus. *Kidney Int.* 2005;68(4):1825-33.
94. Loghman M, Haghighi A, Broumand B, Ataipour Y, Tohidi M, Marzbani C, et al. Association between urinary adiponectin level and renal involvement in systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis.* 2014.
95. Almehed K, d'Elia HF, Bokarewa M, Carlsten H. Role of resistin as a marker of inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(1):R15.
96. Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;309(2):286-90.
97. Stejskal D, Adamovska S, Bartek J, Jurakova R, Proskova J. Resistin - concentrations in persons with type 2 diabetes mellitus and in individuals with acute inflammatory disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2003;147(1):63-9.
98. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol.* 2005;174(9):5789-95.
99. Baker JF, Morales M, Qatanani M, Cucchiara A, Nackos E, Lazar MA, et al. Resistin levels in lupus and associations with disease-specific measures, insulin resistance, and coronary calcification. *J Rheumatol.* 2011;38(11):2369-75.
100. Hutcheson J, Ye Y, Han J, Arriens C, Saxena R, Li QZ, et al. Resistin as a potential marker of renal disease in lupus nephritis. *Clin Exp Immunol.* 2014.

101. Waitzberg DL, Correia MI. Nutritional assessment in the hospitalized patient. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003;6(5):531-8.
102. Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J*. 2008;29(24):2959-71.
103. Santos FMM, Borges MC, Correia MI, Telles RW, Lanna CC. Assessment of nutritional status and physical activity in systemic lupus erythematosus patients. *Rev Bras Reumatol*. 2010;50(6):631-8.
104. Chaiamnuay S, Bertoli AM, Fernandez M, Apte M, Vila LM, Reveille JD, et al. The impact of increased body mass index on systemic lupus erythematosus: data from LUMINA, a multiethnic cohort (LUMINA XLVI) [corrected]. *J Clin Rheumatol*. 2007;13(3):128-33.
105. Cardoso CR, Signorelli FV, Papi JA, Salles GF. Prevalence and factors associated with dyslipoproteinemias in Brazilian systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatol Int*. 2008;28(4):323-7.
106. Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(1):151-6.
107. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci*. 2013;9(2):191-200.
108. Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G, et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(3):1055-8.
109. Tsigos C, Kyrou I, Chala E, Tsapogas P, Stavridis JC, Raptis SA, et al. Circulating tumor necrosis factor alpha concentrations are higher in abdominal versus peripheral obesity. *Metabolism*. 1999;48(10):1332-5.
110. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 2006;17(1):4-12.
111. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta*. 2007;380(1-2):24-30.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVOS DO ARTIGO I**

#### **Objetivos gerais:**

1- Estudar a associação entre o TNF $\alpha$  e seus receptores (sistema TNF) e as manifestações clínicas, laboratoriais, tratamento e atividade da doença e o índice de dano em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico atendidos no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG).

2- Estudar a associação entre as adipocinas - leptina, resistina e adiponectina - e as manifestações clínicas, laboratoriais, tratamento e atividade da doença em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico.

#### **Objetivo específico:**

1- Correlacionar as adipocinas - leptina, resistina e adiponectina - e o sistema TNF em pacientes com LES.

### **2.2 OBJETIVOS DO ARTIGO II**

#### **Objetivo geral:**

1-Estudar o perfil inflamatório de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico atendidos no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG).

#### **Objetivo específico:**

Analisar se a obesidade modifica o perfil inflamatório de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico.

### 3 ARTIGOS

#### 3.1 ARTIGO I: Adipocinas, fator de necrose tumoral e seus receptores no lúpus eritematoso sistêmico

##### 3.1.1 Resumo

**Introdução:** As adipocinas e o fator de necrose tumoral (TNF) e seus receptores podem participar da regulação imunológica e dos processos inflamatórios de doenças autoimunes. No lúpus eritematoso sistêmico (LES) sabe-se que o fator de necrose tumoral participa da patogênese da doença, no entanto o papel das adipocinas ainda não está bem definido. Não sabemos também como o sistema TNF se correlaciona com as adipocinas no LES. **Objetivos:** Em mulheres com LES: **1-** analisar a associação do TNF $\alpha$  e seus receptores com as manifestações clínicas, laboratoriais, o tratamento e com a atividade da doença; **2-** estudar a associação entre as adipocinas e as manifestações clínicas, laboratoriais, o tratamento e a atividade da doença; **3-** correlacionar as adipocinas e o sistema TNF. **Métodos:** Estudo transversal realizado no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Foram incluídas 136 pacientes com diagnóstico de LES (ACR, 1997), do sexo feminino e maiores de 18 anos. Foram coletados dados referentes às características sócio-demográficas, manifestações clínico-laboratoriais e uso de medicamentos. A atividade da doença foi mensurada pelo SLEDAI-2K modificado e o dano cumulativo irreversível pelo SLICC-ACR/DI. As concentrações séricas do TNF $\alpha$ , receptor 1 solúvel do TNF $\alpha$  (sTNFR1) e receptor 2 solúvel do TNF $\alpha$  (sTNFR2) e as adipocinas (leptina, resistina e adiponectina) foram analisados por kits de ensaio imunoenzimático ELISA. **Resultados:** As medianas (IIq) da idade e do tempo de doença das 136 mulheres

avaliadas foram de 41,5 (33,0 – 49,7) anos e 11,3 (7,8 – 15,8) anos, respectivamente, 105 (77,2%) foram classificados como não brancas e 67 (49,3%) pacientes estavam na pós menopausa. A mediana da dose acumulada de prednisona foi 36,5 (22,9 – 51,1) g e da dose diária de prednisona no início do estudo foi 5,0 (0,0 – 10,0) mg/dia. A mediana (IIq) da atividade da doença e do índice de dano foi 0 (0 – 4) e 2 (1 – 3). Maiores concentrações do sTNFR1 ( $p < 0,001$ ) e do sTNFR2 ( $p < 0,001$ ) foram associadas à nefrite e do sTNFR1 ( $p = 0,025$ ) e do TNF $\alpha$  ( $p = 0,014$ ) à artrite. Quanto ao uso de medicamentos, maiores níveis de sTNFR1 foram encontrados nas pacientes que não usavam antimaláricos ( $p=0,040$ ). Observou-se correlação positiva independente entre as concentrações séricas de sTNFR1 ( $\beta= 0,253$ ;  $p= 0,003$ ) e do sTNFR2 ( $\beta= 0,297$ ;  $p < 0,001$ ) com a atividade da doença, e com o índice de dano (sTNFR1:  $\beta= 0,367$ ;  $p < 0,001$ ) e o (sTNFR2:  $\beta= 0,335$ ;  $p < 0,001$ ). Houve correlação entre o clearance de creatinina e a resistina ( $r_s = - 0,219$ ;  $p= 0,011$ ) e a leptina associou-se apenas ao uso de azatioprina ( $p= 0,013$ ). A adiponectina foi associada de forma independente com nefrite ( $p=0,009$ ) e com uso de antimaláricos ( $p = 0,015$ ). Ao correlacionar o sistema TNF e as adipocinas observou-se correlação positiva entre leptina e sTNFR2 ( $r_s = 0,414$ ,  $p=0,002$ ), e entre resistina e sTNFR1 ( $r_s = 0,489$ ,  $p < 0,001$ ) e sTNFR2 ( $r_s = 0,298$ ,  $p < 0,001$ ). **Conclusão:** O TNF $\alpha$ , seus receptores e as adipocinas estavam associados com artrite e nefrite. O sTNFR1 correlacionou-se com a atividade global e com a injúria orgânica do lúpus, sugerindo que este poderia ser utilizado como marcador de atividade da doença. Resistina e leptina foram associadas às maiores concentrações dos receptores de TNF $\alpha$ . Esta correlação entre estes dois sistemas (adipocinas e sistema TNF) permite o melhor entendimento do papel das adipocinas na resposta inflamatória de pacientes com LES.

### 3.1.2 Abstract

**Introduction:** Adipokines, tumor necrosis factor (TNF) and its receptors, participate in the regulation of the immune system and inflammation in immune disease. TNF is known to be involved in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE); however, the role of adipokines in this disease is poorly understood. It is not yet known how TNF correlates with adipokines in SLE.

**Objectives:** To analyze the association of TNF $\alpha$  and its receptors with clinical, laboratory and treatment-related manifestations of SLE; to study the association of adipokines with disease parameters in women with SLE; and to investigate the correlation between adipokines – leptin, resistin and adiponectin – and the TNF system in these patients.

**Methods:** Cross-sectional study conducted at the Rheumatology Department of *Medical School and Hospital das Clinicas, Universidade Federal of Minas Gerais*. A total of 136 women diagnosed with SLE (American College of Rheumatology – ACR), aged  $\geq 18$  years old were included in the study. Data related to socio-demographic characteristics, clinical and laboratory manifestations and medication use were assessed. Disease activity was measured by modified SLEDAI-2K and irreversible cumulative damage by SLICC-ACR damage index. Serum concentrations of TNF $\alpha$ , soluble TNF $\alpha$  receptors 1 (sTNFR1) and 2 (sTNFR2) and adipokines were analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits.

**Results:** The median (IQR) of age was 41.5 (33.0-49.7) years old and of disease duration was 11.3 (7.8-15.8) years. 105 (77.2%) participants were nonwhite and 67 (49.3%) were postmenopausal. The median (IQR) of cumulative dose of prednisone was 36.5 (22.9-51.1) g, and of daily dose of prednisone was 5.0 (0.0-10.0) mg/day. The median (IQR) of disease activity and of damage index scores were 0 (0-4) and 2 (1-3), respectively. Higher levels of sTNFR1 and sTNFR2 were associated with nephritis ( $p <$

0.001 for both), and concentrations of sTNFR1 and TNF $\alpha$  were positively associated with arthritis ( $p=0.025$  and  $p=0.014$ , respectively). Higher sTNFR1 levels were found in participants that were not using antimalarial drugs ( $p=0.04$ ). Independent correlation was found between sTNFR1 and sTNFR2 levels and disease activity (sTNFR1:  $\beta=0.253$ ;  $p=0.003$ ; sTNFR2:  $\beta=0.297$ ;  $p<0.001$ ) and damage index (sTNFR1:  $\beta=0.367$ ;  $p<0.001$ ; sTNFR2:  $\beta=0.335$ ;  $p<0.001$ ). Regarding serum concentrations of adipokines, creatinine clearance was inversely correlated with resistin levels ( $r_s = -0.219$ ;  $p=0.011$ ) and higher leptin concentrations were associated with azathioprine use ( $p=0.013$ ). Higher adiponectin levels were independent associated with nephritis ( $p=0.009$ ) and use of antimalarial drugs ( $p=0.015$ ). There was a positive correlation between leptin and sTNFR2 levels ( $r_s=0.414$ ;  $p=0.002$ ) and between resistin levels and sTNFR1 ( $r_s=0.489$ ;  $p<0.001$ ) and sTNFR2 ( $r_s= 0.298$ ;  $p< 0.001$ ). In conclusion, TNF, its receptors and adipokines were associated with arthritis and nephritis. The sTNFR1 correlated with global activity and the organic injury of lupus, suggesting that this could be used as a marker of disease activity. The resistin and leptin were associated with higher concentrations of TNF receptors. This correlation between the two systems (adipokines and TNF system) allows a better understanding of the role of adipokines in the inflammatory response in SLE patients.

**Palavras – chave**

Lúpus eritematoso sistêmico; adipocinas; sistema TNF e seus receptores

**Key words**

Adypokines; tumor necrosis factor and its receptors; systemic lupus erythematosus

**Título resumido**

Adipocinas e o sistema TNF no LES

**Título em inglês**

Adypokines and TNF system in systemic lupus erythematosus

### 3.1.3 Introdução

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune cuja patogênese é complexa e ainda pouco conhecida. A estimulação do sistema imune no LES provoca produção de autoanticorpos, deposição de imunocomplexos e liberação de citocinas inflamatórias. Estas citocinas são fatores solúveis que podem participar da diferenciação, maturação e ativação do sistema imune (1).

O fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) é uma citocina pleiotrópica que produz estímulos diferentes em várias condições fisiológicas e patológicas. Participa na ativação e desenvolvimento de linfócitos B e T e é um indutor de apoptose (2). Está envolvido na patogênese do LES com ações tanto inflamatórias quanto de regulação imunológica (3). O estímulo para produção de receptores de membrana de TNF é feito pelo próprio TNF $\alpha$  (4). Os receptores então são clivados da membrana e tornam-se receptores solúveis com propriedade de se ligar ao TNF $\alpha$  sérico podendo assim protegê-lo da inativação realizada por outras citocinas inibitórias (5). Estudos evidenciam que esta citocina e seus respectivos receptores podem estar elevados em soro de pacientes com LES (6, 7). Além disso, estão associados à maior atividade da doença e também ao acometimento renal (4, 8).

As adipocinas são proteínas produzidas pelo tecido adiposo e por células inflamatórias, participam da regulação imunológica e dos processos inflamatórios sistêmicos (9). Leptina e resistina apresentam, geralmente, função inflamatória e a adiponectina função anti-inflamatória em indivíduos sem doenças autoimunes (10). Em doenças inflamatórias crônicas como o LES as dosagens das adipocinas, principalmente leptina e adiponectina, estão geralmente elevadas quando comparadas aos indivíduos controles (11-13). Em indivíduos saudáveis, as adipocinas,

principalmente a leptina, podem estimular a produção de TNF $\alpha$  pelos macrófagos e consequentemente modificar o perfil de citocinas dos indivíduos (13).

Em pacientes com LES, poucos estudos descrevem a associação entre as adipocinas - leptina, adiponectina e resistina - e as citocinas inflamatórias bem como a associação entre as adipocinas e as manifestações clínicas, laboratoriais e o tratamento (14, 15). Além disso, não se sabe se o sistema TNF, composto pelo TNF $\alpha$  e os seus receptores solúveis 1 (sTNFR1) e 2 (sTNFR2), seria mediador da ação inflamatória das adipocinas no LES como é observado em indivíduos sem doenças autoimunes (16, 17). Este trabalho, portanto, se propõe a estudar, em pacientes com LES, a associação entre as adipocinas, o sistema TNF e as manifestações clínico-laboratoriais e de tratamento, além de investigar a correlação entre as adipocinas e o sistema TNF.

### **3.1.4 Pacientes e métodos**

#### ***Pacientes***

Trata-se de um estudo clínico transversal realizado no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), no período de outubro de 2008 a julho de 2009 (T<sub>0</sub>). Foram incluídos pacientes com diagnóstico de LES segundo os critérios de classificação de 1982 (revisados em 1997) do Colégio Americano de Reumatologia (*ACR 82/97*) (18, 19) (ANEXO I), do sexo feminino, maiores de 18 anos e que concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido após informação (APÊNDICE A e B). Estas pacientes fazem parte de uma coorte para avaliação de doença cardiovascular (DCV) no LES acompanhadas desde maio de 2005 (20, 21). A coorte foi constituída por 181 pacientes selecionados consecutivamente por conveniência, dos quais 136 mulheres

foram incluídas no estudo atual. Nenhuma paciente apresentava infecção aguda ou crônica, neoplasia ou insuficiência renal ou hepática.

### ***Métodos***

Foram coletados dados referentes as características sócio-demográficas, manifestações clínico-laboratoriais e uso de medicamentos (APÊNDICE C).

A atividade da doença foi mensurada pelo escore *Systemic Lupus Erythematosus Disease Index 2000* modificado (SLEDAI-2K $m$ ), sem as variáveis sorológicas (anti-dsDNA e complemento) (22, 23), e o dano cumulativo irreversível pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ ACR Damage Index* (SLICC-ACR/DI) (24) (ANEXO J e K) .

As pacientes foram divididas em 2 grupos de atividade da doença, a saber: aquelas com SLEDAI-2K $m$  < 4 (baixa atividade) e as com SLEDAI-2K $m$   $\geq$  4 (moderada ou alta atividade) (25).

O estado nutricional foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (peso/altura<sup>2</sup>) e os resultados encontrados foram comparados aos valores propostos pela Organização Mundial de Saúde (26) (ANEXO R).

### ***Amostra de soro***

As amostras de soro foram coletadas no mesmo momento da avaliação clínica do paciente em tubos estéreis, centrifugadas por 20 minutos e posteriormente congeladas e estocadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ . O soro do paciente foi diluído 10 vezes antes da dosagem das citocinas com exceção da dosagem do TNF $\alpha$ . Adiponectina, leptina e resistina, TNF $\alpha$ , sTNF $\alpha$ -R1 e sTNF $\alpha$ -R2 foram analisados por kits de ensaio

imunoenzimático ELISA (Duoset, R&D Systems, Minneapolis, MN) seguindo as orientações do fabricante.

O limite inferior de detecção para o TNF $\alpha$  foi 2,5 pg/ml e para as demais moléculas foi de 5,0 pg/ml.

### **Análise estatística**

O banco de dados foi elaborado no programa EpiData<sup>®</sup> versão 3.1 (*EpiData Association, Odense, Denmark*). O software *Statistical Package for Social Sciences (SPSS<sup>®</sup>)* versão 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL USA.) foi utilizado para as análises estatísticas. Para elaboração da figura 1 foi utilizado o pacote ggplot2 do software R.

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis contínuas. As variáveis categóricas foram descritas como proporção, e as variáveis contínuas por média e desvio-padrão (DP) quando a distribuição foi normal ou mediana e intervalo interquartil (IIq) quando distribuição foi não normal.

Para avaliar a associação entre as características clínicas e o sistema TNF e entre as características clínicas e as adipocinas foi utilizado o teste não paramétrico de U-Mann-Whitney para análise das variáveis contínuas. O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher foram usados, quando apropriados, para testar as variáveis categóricas. O teste de correlação de Spearman foi realizado para a análise entre sistema TNF e as adipocinas. .

Na análise multivariada utilizamos o teste de regressão linear múltipla. Realizou-se a transformação logarítmica para normalização das variáveis contínuas (receptor 1 solúvel de TNF e adiponectina). As variáveis definidas nos modelos foram escolhidas com base na significância estatística na análise univariada e pela provável

associação biológica. Para ajuste foram excluídas quatro pacientes, cujos valores extremos do sTNFR1 impossibilitavam a correção desta variável.

Com o objetivo de avaliar se o sTNFR1 associava-se independentemente à atividade da doença e ao índice de dano utilizou-se o sTNFR1 como variável dependente, e a idade, o clearance de creatinina, o uso de antimaláricos e a presença de menopausa, como variáveis independentes.

Com o objetivo de avaliar se adiponectina associava-se independentemente às manifestações clínicas e ao uso de medicamentos a adiponectina foi definida a como variável dependente, e como variáveis independentes a idade, índice de massa corporal, presença de menopausa, presença de plaquetopenia, presença de nefrite, clearance de creatinina e uso de antimaláricos.

Para todas as análises foi considerado nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG e pela Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do HC/UFMG. (Parecer n°. ETIC 272/08 (ANEXO E e F).

### **3.1.5 Resultados**

#### ***Características das pacientes***

A mediana (IIq) da idade e do tempo de doença das 136 mulheres avaliadas foram de 41,5 (33,0 – 49,7) anos e 11,3 (7,8 – 15,8) anos, respectivamente, 105 (77,2%) foram classificadas como não brancas e 67 (49,3%) pacientes estavam na pós menopausa.

As características clínicas, laboratoriais e do tratamento das pacientes durante o segmento e no início do estudo ( $T_0$ ) estão descritas na tabela 1. Durante o seguimento da doença, o número (%) de pacientes que apresentou anti-Sm, anti-DNA e VDRL falso positivo foi 39 (28,7%), 65 (47,8%) e 13 (9,6%), respectivamente. Trinta e cinco (25,7%) pacientes apresentaram positividade para anticardiolipina IgM ou IgG e 17 (12,5%) para anticoagulante lúpico. A mediana da dose acumulada de prednisona foi 36,5 (22,9 – 51,1) g, da dose diária de prednisona no  $T_0$  foi 5,0 (0,0 – 10,0) mg/dia, do SLEDAI-2K $m$  foi 0 (0 – 4) e do índice de dano (SLICC/ACR/DI) 2 (1 – 3).

Tabela 1: Características das manifestações clínicas, laboratoriais e medicamentos das 136 pacientes durante o seguimento e no início do estudo (T<sub>0</sub>)

Varáveis	(N= 136)	
	Acumuladas N (%)	T <sub>0</sub> N (%)
<b>Manifestações clínicas</b>		
Mucocutâneas	69 (50,7)	26 (19,1)
Artrite	29 (21,4)	9 (6,6)
Serosite (pleurite)	5 (3,7)	1 (0,7)
Hematológicas	105 (77,2)	48 (35,3)
Anemia hemolítica	6 (4,4)	1 (0,75)
Leucopenia	53 (39,0)	21 (15,4)
Linfopenia	103 (75,5)	44 (32,4)
Plaquetopenia	11 (8,1)	4 (2,9)
Neuropsiquiátricas	1 (0,7)	0
Nefrite	48 (35,3)	22 (16,2)
Síndrome nefrótica	10 (7,4)	2 (1,5)
Vasculite	21 (15,4)	4 (2,9)
<b>Medicamentos</b>		
Uso de prednisona	122 (89,7)	94 (69,1)
Antimalárico	105 (72,2)	88 (64,7)
Imunossupressor	94 (69,1)	67 (44,3)
Azatioprina	62 (45,6)	38 (28,0)
Metotrexato	32 (23,5)	22 (16,2)
Ciclosporina	1 (0,7)	0
Ciclofosfamida	32 (23,5)	7 (5,1)
Micofenolato Mofetil	1 (0,7)	0

### *Concentrações séricas das citocinas*

Os níveis séricos das adipocinas e do sistema TNF $\alpha$  das 136 pacientes avaliadas, segundo a atividade da doença, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2: Comparação dos níveis séricos de adipocinas, TNF $\alpha$ , sTNFR1 e sTNFR2 em 136 pacientes com LES, segundo o índice de atividade (SLEDAI -2Km)

Citocinas – T <sub>0</sub> Mediana (Iq)	Total (N = 136)	SLEDAI- 2Km < 4 (N=101)	SLEDAI- 2Km $\geq$ 4 (N=35)	p <sup>#</sup>
Leptina (ng/ml)	1,75 (1,52 – 1,98)	1,75 (1,55 – 1,99)	1,75 (1,49 – 1,92)	0,743
Resistina (ng/ml)	2,07 (1,65 – 2,56)	2,05 (1,64 – 2,59)	2,09 (1,60 – 2,46)	0,917
Adiponectina <sup>@</sup> (ng/ml)	11,30 (7,07 -18,03)	10,76 (7,07 – 16,56)	14,64 (6,37 – 19,20)	0,176
TNF $\alpha$ (pg/ml)	0,04 (0,00 – 0,25)	0,03 (0,03 – 0,25)	0,04 (0,08 – 0,14)	0,502
sTNFR1 (ng/ml)	1,42 (1,12 – 1,87)	1,38 (1,07 – 1,74)	1,81 (1,34 – 2,32)	0,001
sTNFR2 (ng/ml)	4,58 (3,62 – 5,86)	4,32 (3,56 – 5,52)	5,74 (4,06 -7,56)	0,001

<sup>@</sup> = N= 135 ;TNF $\alpha$  = fator de necrose tumoral alfa, sTNFR1 = receptor solúvel 1 do TNF $\alpha$ , sTNFR2 receptor solúvel 2 TNF  $\alpha$  e <sup>#</sup>Mann-Whitney SLEDAI- 2Km < 4 versus SLEDAI- 2Km  $\geq$  4

### ***Análise do sistema TNF e da associação deste sistema com as manifestações clínicas***

Observou-se correlação positiva entre as concentrações dos receptores sTNFR1 e do sTNFR2 (rs: 0,745; p<0,001), e ausência de correlação entre o TNF $\alpha$  e o sTNFR1 (rs: 0,960; p = 0,680) e o sTNFR2 (rs: 0,106; p = 0,221).

Em relação à presença das manifestações clínicas, laboratoriais e de tratamento, observou-se associação entre maiores concentrações do sTNFR1 e a presença de nefrite (ausência de nefrite = 1,38ng/ml *versus* presença de nefrite = 1,89ng/ml ; p < 0,001) e artrite (ausência de artrite = 1,38ng/ml *versus* presença de artrite = 1,91ng/ml; p = 0,025). Houve correlação positiva entre sTNFR1 e a idade (rs = 0,178; p = 0,039), correlação inversa entre este receptor e o clearance de creatinina (rs = - 0,299; p < 0,001) e associação com menopausa (ausência de menopausa = 1,34ng/ml *versus* presença de menopausa = 1,65 ng/ml ; p < 0,001). Quanto ao uso de medicamentos,

maiores níveis de sTNFR1 foram encontrados nas pacientes que não usavam antimaláricos (sem antimaláricos = 1,62ng/ml *versus* com antimaláricos = 1,38ng/ml ;  $p = 0,040$ ) (ANEXO L).

Maiores níveis séricos de sTNFR2 foram associados apenas à presença de nefrite (ausência de nefrite = 4,35ng/ml *versus* presença de nefrite = 6,43ng/ml;  $p < 0,001$ ) e maiores concentrações séricas de TNF $\alpha$  foram associadas à artrite (ausência de artrite = 0,03ng/ml *versus* presença de artrite = 0,24 ng/ml;  $p = 0,014$ ) (ANEXO M e N).

Identificou-se correlação positiva entre as concentrações séricas de sTNFR1 ( $r_s = 0,219$ ,  $p = 0,011$ ) e do sTNFR2 ( $r_s = 0,292$ ;  $p = 0,003$ ) com o índice de atividade da doença. As pacientes que apresentavam doença ativa (SLEDAI-2km  $\geq 4$ ) tinham maiores níveis séricos do sTNFR1 ( $p = 0,001$ ) e do sTNFR2 ( $p = 0,001$ ) quando comparadas com as pacientes com doença inativa (SLEDAI-2km  $< 4$ ) (Tabela 2). Da mesma forma, houve correlação positiva entre o sTNFR1 ( $r_s = 0,427$ ,  $p < 0,001$ ) e o sTNFR2 ( $r_s = 0,245$ ;  $p = 0,005$ ) com o índice de dano, como ilustra a figura 1. No entanto, não foi evidenciada correlação entre as concentrações de TNF $\alpha$  e a atividade da doença ou com o índice de dano.

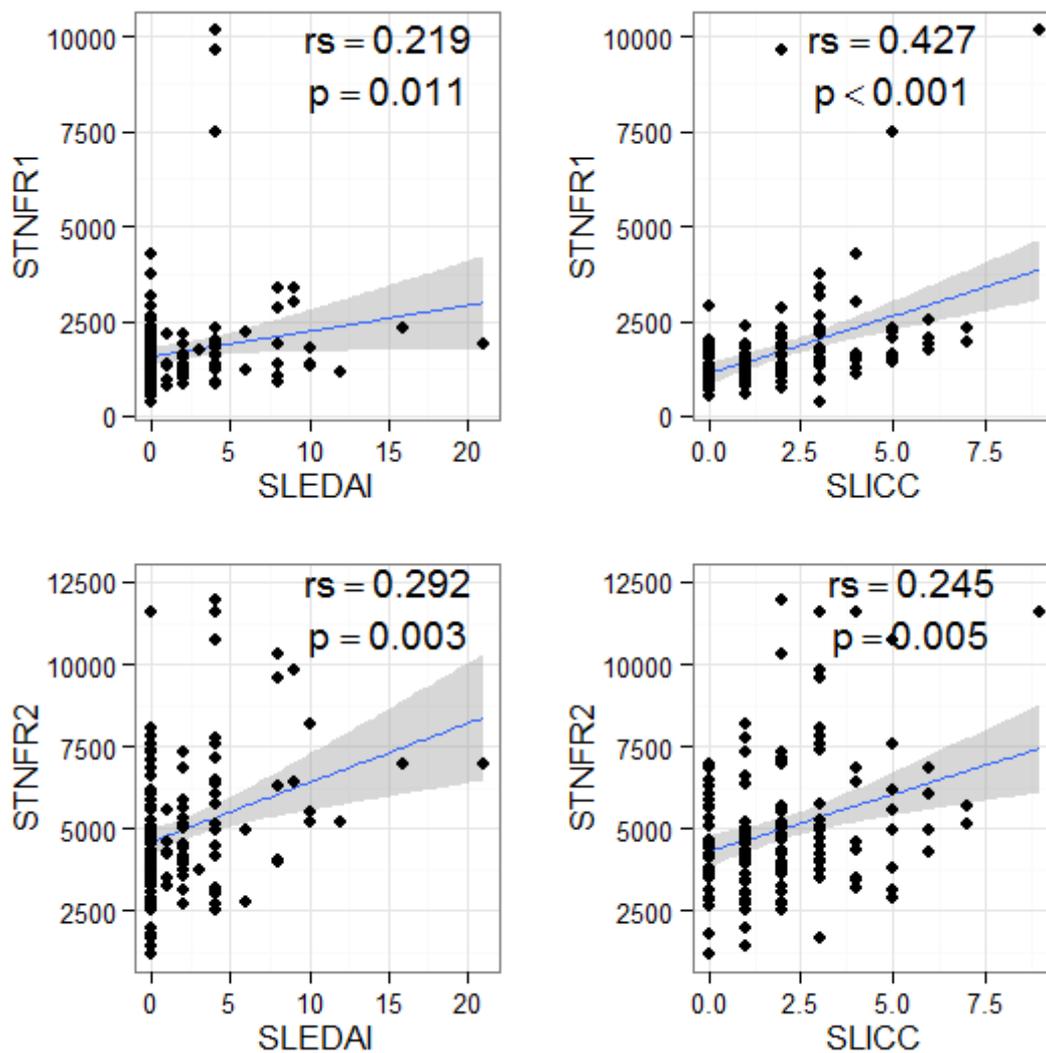


FIG 1: Correlação entre os sTNFR1 e sTNFR2 e a atividade da doença (SLEDAI-2K $m$ ) e o índice de dano (SLICC) em 136 pacientes com LES

Ao realizar a análise multivariada observou-se associação independente entre o sTNFR1 e atividade da doença bem como entre o sTNFR1 e o índice de dano (tabela 3).

Tabela 3 Análise multivariada da associação entre atividade da doença e índice de dano e o sTNFR1 e sTNFR2 de 132 pacientes com LES

Variáveis	Log sTNFR1	Log sTNFR2
	B (IC 95%); p	B (IC 95%); p
SLEDAI <i>m</i>	0.01 (0.03 - 0.02) p = 0.003	0.01 (0.06-0.22) p <0.001
SLICC	0.04 (0.02 - 0.05) p < 0.001	0.03 (0.02-0,05) p < 0.001

Log = logaritmo; SLEDAI-2km = índice de atividade; SLICC = índice de dano; \* = Ajustado para idade, menopausa, clearance de creatinina e uso de antimaláricos

### **Análise das adipocinas**

A mediana do índice de massa corporal (IMC) nas 136 mulheres avaliadas foi 26,4 (23,6 – 30,6) Kg/m<sup>2</sup>. Trinta e oito por cento eram eutróficas, 30,6 % tinham sobrepeso e 31,4 % eram obesas. Observou-se correlação positiva fraca entre os níveis séricos de leptina e o IMC (rs = 0,168; p = 0,051) e correlação inversa entre os níveis séricos de adiponectina e o IMC (rs = -0,287; p = 0,001). Não se observou correlação entre o índice de massa corporal e os níveis de resistina (rs= 0,058 ; p = 0,501).

Não se observou correlação entre as concentrações séricas de leptina (rs = - 0,055; p = 0,528), resistina (rs = 0,101; p = 0,243) e adiponectina (rs = - 0,062; p = 0,479) com o dano orgânico (SLICC), nem entre estas adipocinas com o índice de atividade da doença (tabela 2).

Na análise univariada, houve associação entre maiores níveis séricos de adiponectina com: plaquetopenia (ausência de plaquetopenia = 11,11 ng/ml *versus* presença de plaquetopenia = 19,72 ng/ml; p= 0,022), nefrite (ausência de nefrite =10,63ng/ml *versus* presença de nefrite 16,01ng/ml; p=0,013) e uso de antimaláricos (ausência de antimaláricos = 9,13ng/ml *versus* presença de antimaláricos = 12,35ng/ml ; p = 0,008). Houve correlação inversa entre o clearance de creatinina e a adiponectina (rs = -0,178; p=0,039) e também entre o clearance e a resistina (rs = - 0,219; p= 0,011)

(ANEXO O e P). A leptina associou-se positivamente apenas ao uso de azatioprina (ausência de azatioprina = 1,71ng/ml *versus* presença de azatioprina = 1,93ng/ml; p= 0,013) (ANEXO Q).

A análise multivariada entre a adiponectina e as manifestações clínicas e tratamento está representada na tabela 4.

Tabela 4 Análise multivariada da associação entre log da adiponectina e as manifestações clínicas e tratamento de 136 pacientes

Variáveis	$\beta$	Valor de p
Plaquetopenia	0,146	0,065
Nefrite	0,212	0,009
Antimaláricos	0,196	0,015

\*Ajustado para idade, índice de massa corporal e clearance de creatinina

### ***Análise do TNF $\alpha$ e seus receptores e as adipocinas***

Ao correlacionar o sistema TNF e as adipocinas observou-se correlação positiva entre leptina e sTNFR2 (rs = 0,414, p = 0,002) e entre resistina e sTNFR1 (rs = 0,489, p < 0,001) e sTNFR2 (rs =0,298 , p < 0,001).

### **3.1.6 Discussão**

Neste grupo de 136 mulheres com LES e baixa atividade de doença e índice de dano, identificamos associação entre os receptores de TNF $\alpha$  e presença de nefrite, de artrite, maior atividade da doença, e maior índice de dano. A adiponectina foi associada à nefrite e também ao uso de antimaláricos. Dado original deste estudo é a identificação da correlação das adipocinas (leptina e resistina) com os receptores de TNF $\alpha$ , associação até então não demonstrada em pacientes com LES.

Outros autores, estudando pacientes com LES, demonstraram a associação entre os receptores do TNF $\alpha$ , atividade de doença (4), manifestações renais (8, 27) e cutâneas (28). Takemura e colaboradores demonstraram depósito de TNF $\alpha$  em glomérulos de 45 pacientes lúpicos com diferentes classes de nefrite (29). Mahmoud e colaboradores estudaram 44 pacientes e descreveram que aqueles com nefrite proliferativa difusa foram os que apresentaram maiores concentrações séricas de TNF $\alpha$  e de sTNFR2 (30). Zhu e colaboradores também evidenciaram maior expressão gênica de TNF $\alpha$  em pacientes com nefrite classe III e IV (8). Entretanto, vale ressaltar que o TNF $\alpha$  e seus receptores são depurados pelos rins o que pode levar ao aumento das citocinas em pacientes com nefrite e disfunção renal.

A associação entre artrite e sTNFR1 evidenciada na presente pesquisa, não foi ainda demonstrada em outros estudos. A literatura apenas descreve a importante melhora da inflamação articular após o uso de inibidores de TNF (31). Também observamos redução das concentrações do sTNFR1 em pacientes em uso de antimaláricos. Sabe-se que o tratamento com antimaláricos desencadeia redução de vários parâmetros clínicos e laboratoriais de atividade da doença em pacientes com LES (32). Além disso, autores identificaram redução dos níveis séricos de TNF $\alpha$  após o uso de antimaláricos (32-35). Sacre e colaboradores demonstraram que um dos mecanismos possíveis de modulação imunológica dos antimaláricos é a inibição dos *toll-like receptors* (TLR), principalmente TLR7 e 9 de células dendríticas, que poderia interferir na produção de interferon  $\gamma$  e conseqüentemente do TNF $\alpha$  (36). Apesar dos inibidores de TNF $\alpha$  serem efetivos em controlar manifestações articulares e renais de pacientes com lúpus, não são indicados para tratamento a longo prazo devido ao risco dos pacientes apresentarem eventos adversos graves (37).

Contudo, a identificação de correlação dos sTNFR1 e sTNFR2 com dano orgânico é um dado interessante, corroborando com a associação já descrita entre os elevados níveis de TNF $\alpha$  e o maior dano orgânico após cinco anos de seguimento (38). O dano acumulado está associado significativamente à morbidade e mortalidade dos pacientes e, assim, concentrações dos receptores de TNF $\alpha$  poderiam ser considerados marcadores de pior prognóstico em pacientes com LES (20).

No presente estudo não houve associação entre as adipocinas e a atividade da doença e o dano orgânico. Outros autores também não demonstraram aumento nas concentrações séricas das adipocinas em pacientes com maior atividade de doença (11, 39-43). Apesar de Almehed e colaboradores ao analisarem 163 mulheres com LES, identificaram associação entre resistina e menores níveis de complemento, e os autores sugeriram uma associação entre a atividade da doença e esta adipocina (14). Em relação ao índice de dano, concentrações elevadas de resistina e leptina foram observadas em indivíduos maior índice de dano (15, 40, 43).

Em relação às manifestações clínicas e as adipocinas, neste estudo, foi observada associação entre adiponectina e a presença de nefrite e ao uso de antimaláricos. Este achado condiz com o estudo de Rovin e colaboradores que observaram maiores níveis urinários e séricos de adiponectina em pacientes lúpicos com nefrite quando comparados com aqueles sem nefrite e com indivíduos saudáveis. Neste estudo o nível urinário desta adipocina aumentou significativamente nos pacientes com atividade renal (44). Estes e outros autores sugerem que esta adipocina poderia ser considerada um marcador de atividade renal (43, 45). Por outro lado a adiponectina também pode se comportar como uma adipocina anti-inflamatória (10, 39). O efeitos anti-inflamatórios e pró-inflamatórios da adiponectina podem se dever, em parte, às diferentes conformações moleculares desta adipocina (46). Ainda não

conhecemos se este seria um dos mecanismos possíveis que levariam ao aumento da adiponectina em pacientes com LES em uso de antimaláricos.

Em relação a leptina, estudos descrevem que seus níveis circulantes são diretamente correlacionados ao índice de massa corporal em indivíduos saudáveis e em pacientes com LES (11-13, 42). Entretanto, a associação entre esta adipocina e as manifestações clínicas e o uso de medicamentos no LES é pouco estudada. Wislowska e colaboradores observaram, em 30 pacientes, menores níveis de leptina naqueles com artrite ou com envolvimento do sistema nervoso central (33). No presente estudo não observamos associação estatística com qualquer manifestação clínica, no entanto houve associação entre uso de azatioprina e maiores níveis de leptina. Em contraste, De Sanctis e colaboradores observaram, ao analisar 60 pacientes com LES, que aqueles que faziam uso de corticosteroides associado à drogas imunomoduladoras e imunossupressoras apresentaram menores concentrações de leptina do que aqueles pacientes sem tratamento (41). Estudos com maior casuística poderão melhor analisar a interferência dos imunossupressores nas concentrações séricas da leptina.

A associação entre as manifestações clínicas do LES e a resistina é pouco descrita na literatura. Observou-se no presente estudo que maiores concentrações de resistina foram correlacionadas ao menor clearance de creatinina, semelhante ao descrito por Baker e colaboradores (40). Estes autores evidenciaram ainda que os pacientes com maiores níveis de resistina sérica tinham história de proteinúria (40). Estudos em pacientes sem doenças autoimunes registram esta mesma correlação entre disfunção renal e elevadas concentrações de resistina, o que poderia ser explicado pelo fato da depuração da resistina ser feita, principalmente, por via renal (47-49).

Ainda assim, na análise univariada, foi encontrada associação da adiponectina com a presença de plaquetopenia, que permaneceu no limiar da significância estatística

( $p=0,065$ ) no modelo multivariado. Ressaltamos que não há descrição na literatura consultada desta associação e que estudos com maior casuística são necessários para análise deste dado.

A correlação positiva entre leptina e o sTNFR2 e também entre resistina e os sTNFR1 e o sTNFR2 é uma contribuição importante do nosso estudo. Alguns autores têm estudado a relação entre adipocinas e o sistema TNF. Sabe-se que leptina pode induzir a ativação de células T e modificar o padrão de resposta de citocinas para Th1, além de inibir células T regulatórias (Tregs) (10, 50, 51). O  $TNF\alpha$  pode estimular a liberação de leptina pelo tecido adiposo e esta, por sua vez, pode aumentar a expressão de mediadores inflamatórios como  $TNF\alpha$  (13). Chung e colaboradores estudaram as adipocinas e as citocinas ( $TNF\alpha$ , IL6 e IL1) em 109 pacientes com LES e não evidenciaram associação entre as adipocinas (leptina, resistina e adiponectina) e o  $TNF\alpha$  (39). Todavia, esta correlação entre leptina e o  $TNF\alpha$  já foi observada na AR (52). A associação entre leptina e o sTNFR2 demonstrada em nosso estudo sugere que poderia haver uma correlação entre o sistema TNF e a leptina em pacientes com LES, como já foi descrito na literatura em indivíduos sem LES (16, 17, 53).

No presente estudo a correlação positiva entre os receptores de TNF e a resistina sugere que o sistema TNF e a resistina poderiam estar interligados na cascata inflamatória em pacientes com LES. De forma semelhante, Almedhed e colaboradores observaram correlação positiva entre a resistina e a IL6, o receptor de IL6 e o  $TNF\alpha$  quando analisaram 163 mulheres com LES (14). Sabe-se que esta adipocina pode induzir a produção de IL6, IL1 $\beta$  e  $TNF\alpha$  (54), e pode estar elevada em doenças inflamatórias, como na artrite reumatoide (55), na síndrome de Sjogren primária (56) e na doença inflamatória intestinal (53).

Como limitação deste estudo, citamos o seu desenho transversal que não permite analisar variações dos níveis de citocinas e adipocinas em relação às flutuações da atividade da doença. Estudos prospectivos são mais adequados para avaliar estas correlações. Ressaltamos que este foi o primeiro estudo em pacientes com LES que evidenciou correlação da leptina e resistina e os receptores de TNF. Este é um dado importante visto que permite o melhor entendimento das adipocinas e do sistema TNF em pacientes com LES.

### **3.1.7. Conclusão**

Neste estudo, o TNF $\alpha$ , seus receptores e as adipocinas estavam associados com artrite e nefrite. O sTNFR1 correlacionou-se com a atividade global e com a injúria orgânica do lúpus, sugerindo que este poderia ser utilizado como marcador de atividade da doença. A resistina e a leptina foram associadas às maiores concentrações dos receptores de TNF $\alpha$ . Esta correlação entre estes dois sistemas (adipocinas e sistema TNF) permite o melhor entendimento do papel das adipocinas na resposta inflamatória de pacientes com LES.

### 3.1.8 Referências bibliográficas

1. Su DL, Lu ZM, Shen MN, Li X, Sun LY. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:347141.
2. Postal M, Appenzeller S. The role of Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-alpha) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine.* 2011;56(3):537-43.
3. Heilig B, Fiehn C, Brockhaus M, Gallati H, Pezzutto A, Hunstein W. Evaluation of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors and TNF receptor antibodies in patients with systemic lupus erythematoses, progressive systemic sclerosis, and mixed connective tissue disease. *J Clin Immunol.* 1993;13(5):321-8.
4. Aderka D, Wysenbeek A, Engelmann H, Cope AP, Brennan F, Molad Y, et al. Correlation between serum levels of soluble tumor necrosis factor receptor and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1993;36(8):1111-20.
5. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med.* 1992;175(2):323-9.
6. Davas EM, Tsirogianni A, Kappou I, Karamitsos D, Economidou I, Dantis PC. Serum IL-6, TNFalpha, p55 srTNFalpha, p75srTNFalpha, srIL-2alpha levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 1999;18(1):17-22.
7. Gabay C, Cakir N, Moral F, Roux-Lombard P, Meyer O, Dayer JM, et al. Circulating levels of tumor necrosis factor soluble receptors in systemic lupus erythematosus are significantly higher than in other rheumatic diseases and correlate with disease activity. *J Rheumatol.* 1997;24(2):303-8.
8. Zhu L, Yang X, Ji Y, Chen W, Guan W, Zhou SF, et al. Up-regulated renal expression of TNF-alpha signalling adapter proteins in lupus glomerulonephritis. *Lupus.* 2009;18(2):116-27.
9. Toussiroot E, Streit G, Wendling D. The contribution of adipose tissue and adipokines to inflammation in joint diseases. *Curr Med Chem.* 2007;14(10):1095-100.
10. Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. The role of adipokines in connective tissue diseases. *Eur J Nutr.* 2012;51(5):513-28.
11. Wislowska M, Rok M, Stepień K, Kukło-Kowalska A. Serum leptin in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int.* 2008;28(5):467-73.

12. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-2.
13. Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gomez-Reino J, et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(8):944-50.
14. Almeshed K, d'Elia HF, Bokarewa M, Carlsten H. Role of resistin as a marker of inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(1):R15.
15. Vadacca M, Zardi EM, Margiotta D, Rigon A, Cacciapaglia F, Arcarese L, et al. Leptin, adiponectin and vascular stiffness parameters in women with systemic lupus erythematosus. *Intern Emerg Med*. 2013;8(8):705-12.
16. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol*. 2014;222(3):R113-27.
17. Vielma SA, Klein RL, Levingston CA, Young MR. Adipocytes as immune regulatory cells. *Int Immunopharmacol*. 2013;16(2):224-31.
18. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25(11):1271-7.
19. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40(9):1725.
20. Telles RW, Lanna CC, Souza FL, Rodrigues LA, Reis RC, Ribeiro AL. Causes and predictors of death in Brazilian lupus patients. *Rheumatol Int*. 2013;33(2):467-73.
21. Telles RW, Lanna CC, Sousa AJ, Navarro TP, Souza FL, Rodrigues LA, et al. Progression of carotid atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2013;32(9):1293-300.
22. Uribe AG, Vila LM, McGwin G, Jr., Sanchez ML, Reveille JD, Alarcon GS. The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2004;31(10):1934-40.
23. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29(2):288-91.

24. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996;39(3):363-9.
25. Petri M, Buyon J, Kim M. Classification and definition of major flares in SLE clinical trials. *Lupus.* 1999;8(8):685-91.
26. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of WHO consultation, Geneva: Geneva; 1997. p. 276.
27. Aringer M, Smolen JS. SLE - Complex cytokine effects in a complex autoimmune disease: tumor necrosis factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(4):172-7.
28. Zampieri S, Alaibac M, Iaccarino L, Rondinone R, Ghirardello A, Sarzi-Puttini P, et al. Tumour necrosis factor alpha is expressed in refractory skin lesions from patients with subacute cutaneous lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(4):545-8.
29. Takemura T, Yoshioka K, Murakami K, Akano N, Okada M, Aya N, et al. Cellular localization of inflammatory cytokines in human glomerulonephritis. *Virchows Arch.* 1994;424(5):459-64.
30. Mahmoud RA, El-Gendi HI, Ahmed HH. Serum neopterin, tumor necrosis factor-alpha and soluble tumor necrosis factor receptor II (p75) levels and disease activity in Egyptian female patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Biochem.* 2005;38(2):134-41.
31. Mosca M, Tani C, Filice ME, Carli L, Delle Sedie A, Vagnani S, et al. TNF-alpha inhibitors in Systemic Lupus Erythematosus. A case report and a systematic literature review. *Mod Rheumatol.* 2013.
32. Van den Borne BE, Dijkmans BA, de Rooij HH, le Cessie S, Verweij CL. Chloroquine and hydroxychloroquine equally affect tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells. *J Rheumatol.* 1997;24(1):55-60.
33. Wozniacka A, Lesiak A, Narbutt J, McCauliffe DP, Sysa-Jedrzejowska A. Chloroquine treatment influences proinflammatory cytokine levels in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* 2006;15(5):268-75.

34. Picot S, Peyron F, Donadille A, Vuillez JP, Barbe G, Ambroise-Thomas P. Chloroquine-induced inhibition of the production of TNF, but not of IL-6, is affected by disruption of iron metabolism. *Immunology*. 1993;80(1):127-33.
35. Zhu X, Ertel W, Ayala A, Morrison MH, Perrin MM, Chaudry IH. Chloroquine inhibits macrophage tumour necrosis factor- $\alpha$  mRNA transcription. *Immunology*. 1993;80(1):122-6.
36. Sacre K, Criswell LA, McCune JM. Hydroxychloroquine is associated with impaired interferon- $\alpha$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  production by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(3):R155.
37. Aringer M, Smolen JS. Therapeutic blockade of TNF in patients with SLE-promising or crazy? *Autoimmun Rev*. 2012;11(5):321-5.
38. McCarthy EM, Smith S, Lee RZ, Cunnane G, Doran MF, Donnelly S, et al. The association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(9):1586-94.
39. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, Raggi P, et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus*. 2009;18(9):799-806.
40. Baker JF, Morales M, Qatanani M, Cucchiara A, Nackos E, Lazar MA, et al. Resistin levels in lupus and associations with disease-specific measures, insulin resistance, and coronary calcification. *J Rheumatol*. 2011;38(11):2369-75.
41. De Sanctis JB, Zabaleta M, Bianco NE, Garmendia JV, Rivas L. Serum adipokine levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2009;42(4):272-4.
42. Garcia-Gonzalez A, Gonzalez-Lopez L, Valera-Gonzalez IC, Cardona-Munoz EG, Salazar-Paramo M, Gonzalez-Ortiz M, et al. Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2002;22(4):138-41.
43. McMahon M, Skaggs BJ, Sahakian L, Grossman J, FitzGerald J, Ragavendra N, et al. High plasma leptin levels confer increased risk of atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus, and are associated with inflammatory oxidised lipids. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(9):1619-24.
44. Rovin BH, Song H, Hebert LA, Nadasdy T, Nadasdy G, Birmingham DJ, et al. Plasma, urine, and renal expression of adiponectin in human systemic lupus erythematosus. *Kidney Int*. 2005;68(4):1825-33.

45. Loghman M, Haghghi A, Broumand B, Ataipour Y, Tohidi M, Marzbani C, et al. Association between urinary adiponectin level and renal involvement in systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis*. 2014.
46. Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(2):326-30.
47. Mills KT, Hamm LL, Alper AB, Miller C, Hudaihed A, Balamuthusamy S, et al. Circulating adipocytokines and chronic kidney disease. *PLoS One*. 2013;8(10):e76902.
48. Kawamura R, Doi Y, Osawa H, Ninomiya T, Hata J, Yonemoto K, et al. Circulating resistin is increased with decreasing renal function in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(10):3236-40.
49. Axelsson J, Bergsten A, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Lonnqvist F, et al. Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance. *Kidney Int*. 2006;69(3):596-604.
50. Caza TN, Talaber G, Perl A. Metabolic regulation of organelle homeostasis in lupus T cells. *Clin Immunol*. 2012;144(3):200-13.
51. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*. 1998;394(6696):897-901.
52. Kang Y, Park HJ, Kang MI, Lee HS, Lee SW, Lee SK, et al. Adipokines, inflammation, insulin resistance, and carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(6):R194.
53. Karmiris K, Koutroubakis IE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis EA. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(2):100-5.
54. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol*. 2005;174(9):5789-95.
55. Senolt L, Housa D, Vernerova Z, Jirasek T, Svobodova R, Veigl D, et al. Resistin in rheumatoid arthritis synovial tissue, synovial fluid and serum. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(4):458-63.
56. Bostrom EA, d'Elia HF, Dahlgren U, Simark-Mattsson C, Hasseus B, Carlsten H, et al. Salivary resistin reflects local inflammation in Sjogren's syndrome. *J Rheumatol*. 2008;35(10):2005-11.

## 3.2 ARTIGO II : Influência da obesidade no perfil inflamatório de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico

### 3.2.1 Resumo

**Introdução:** O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória autoimune, cuja etiologia é pouco conhecida. A resposta funcional dos linfócitos T é modificada com aumento das respostas Th1, Th2 e Th17, redução da resposta funcional dos linfócitos reguladores e consequente modificação do perfil de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias. Estudos registram elevada frequência de obesidade entre as pacientes com LES, no entanto é desconhecido se a presença desta comorbidade pode modificar o perfil inflamatório característico destas pacientes.

**Objetivos:** Analisar o perfil de citocinas de pacientes com LES e avaliar se a obesidade interfere no perfil inflamatório destes pacientes. **Métodos:** Estudo transversal realizado no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Foram incluídas 189 pacientes com diagnóstico de LES (ACR, 1997), e 70 indivíduos controles, do sexo feminino e maiores de 18 anos. Foram coletados dados referentes às características sócio - demográficas, manifestações clínico-laboratoriais e uso de medicamentos. A atividade da doença foi mensurada pelo SLEDAI-2K e o dano cumulativo irreversível pelo SLICC-ACR/DI. O estado nutricional foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) e pela bioimpedância e as citocinas, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- $\alpha$  e seus receptores - sTNFR1 e sTNFR2 foram mensuradas por citometria de fluxo (*Cytometric Bead Array*) ultra sensível e adipocinas – leptina e adiponectina por kits de ensaio imunoenzimático ELISA. **Resultados:** A média (DP) de idade, do tempo de doença e da idade ao diagnóstico das 189 mulheres avaliadas foi 37,5 (10,0), 9,1 (6,3) e 28,2 (9,7) anos, respectivamente. A mediana (IIq) da renda familiar foi 2 (2-

2) salários mínimos e de escolaridade foi 10 (5-12) anos. Segundo a classificação do IMC, 72 (38,1%) pacientes eram eutróficas, 64 (33,9%) tinham sobrepeso e 53 (28,0%) eram obesas. Em relação à composição corporal, 122 (70,9%) pacientes foram classificadas com porcentagem de gordura corporal dentro do recomendado (não obesos) e 50 (29,1%) pacientes como porcentagem de gordura corporal acima do recomendado (obesos). Cento e quarenta e seis (77,2%) pacientes estavam em uso de prednisona, 118 (62,4%) usavam antimaláricos e 121 (64,0%) imunossuppressores. A média (DP) da dose de corticosteroide no momento do estudo foi 10,4 (12,9) mg e da dose acumulada de 32,9 (26,1)g. A mediana (IIq) da atividade da doença (SLEDAI-2K) foi 2 (0-6) e do índice de dano (SLICC) 0 (0-1). Os níveis séricos das citocinas IL6 ( $p < 0,001$ ), sTNFR1 ( $p = 0,028$ ), sTNFR2 ( $p = 0,003$ ), IL10 ( $p < 0,001$ ) e adipocinas - leptina ( $p = 0,044$ ) e adiponectina ( $p < 0,001$ ) estavam mais elevados nos pacientes com LES do que nos indivíduos do grupo controle. Apenas a dosagem sérica da citocina IL17 ( $p = 0,518$ ) não diferiu estatisticamente entre os dois grupos. Maior índice de massa corporal correlacionou-se com a idade ( $r_s = 0,335$ ;  $p = < 0,001$ ), idade ao diagnóstico ( $r_s = 0,319$ ;  $p = < 0,001$ ) e menor escolaridade ( $r_s = - 0,204$ ;  $p = 0,005$ ). A menor dose atual de prednisona correlacionou-se com maior IMC ( $r_s = - 0,160$ ;  $p = 0,028$ ). Não houve correlação entre o IMC e a dose acumulada de corticosteroides ( $r_s = 0,132$ ;  $p = 0,074$ ), a razão da dose acumulada pelo tempo de doença ( $r_s = 0,085$ ;  $p = 0,255$ ) e a dose média diária de corticosteroides dos últimos 6 meses ( $r_s = - 0,012$ ;  $p = 0,872$ ). Não se evidenciou correlação entre o IMC e a atividade da doença ( $r_s = 0,116$ ;  $p = 0,113$ ) e o índice de dano ( $r_s = - 0,080$ ;  $p = 0,309$ ). Maiores concentrações das citocinas IL6 ( $r_s = 0,246$ ;  $p = 0,002$ ), IL17 ( $r_s = 0,195$ ;  $p = 0,014$ ) e da leptina ( $r_s = 0,430$ ;  $p < 0,001$ ) foram correlacionadas positivamente e de forma independente com IMC. **Conclusão:** Este estudo mostrou maiores concentrações de citocinas e adipocinas

em pacientes lúpicos do que em indivíduos sem LES e evidenciou que o maior IMC foi correlacionado às maiores concentrações das IL6, IL17 e leptina. Este achado sugere que o maior IMC encontrado nas pacientes, possa interferir, independentemente da atividade da doença, no perfil inflamatório das mulheres com LES.

### 3.2.2 Abstract

**Introduction:** Systemic lupus erythematosus is a chronic inflammatory disease with complex pathogenesis that is not well known. The functional response of T lymphocytes is changed with an increase in Th1, Th2 and Th17, reduced functional response of regulatory lymphocytes and subsequent modification of the profile of inflammatory and anti-inflammatory cytokines. Studies record high frequency of obesity among SLE patients, however it is unknown whether the presence of this comorbidity can modify the characteristic inflammatory status of these patients.

**Objectives:** To analyze the profile of cytokines of patients with SLE and evaluate whether obesity interferes with the inflammatory status of these patients. **Methods:** Cross-sectional study conducted at the Rheumatology Unit, at Hospital das Clínicas, Universidade Federal of Minas Gerais. A total of 189 women diagnosed with SLE (American College of Rheumatology – ACR) and 70 controls, older than 18 years of age were included in the study. Data related to socio-demographic characteristics, clinical and laboratory manifestations and medication use were assessed. Disease activity was measured by SLEDAI-2K index and irreversible cumulative damage by Systemic Lupus International Collaborating Clinics /American College of Rheumatology Damage Index (SLICC-ACR/DI). Nutritional status was assessed by body mass index (BMI) and by bioimpedence. Serum concentrations of IL6, IL10, IL17, TNF $\alpha$ , soluble TNF $\alpha$  receptors 1 (sTNFR1) and 2 (sTNFR2) were analyzed using high sensitivity cytometric bead array and adipokines (leptin and adiponectin) by enzyme-linked immunosorbent assay kits. **Results:** The mean (SD) of age patients, disease duration and age at diagnosis were 37,5 (10,0), 9,1 (6,3) and 28,2 (9,7) years respectively. The median (IQR) of monthly income familiar was 2 (2-2) minimum wage and education was 10 (5-12) years. According to BMI, 72 (38,1%) patients were

classified as eutrophic, 64 (33,9%) as overweight and 53 (28,0%) as obese. In relation to body composition, 122 (70,9%) were classified as no obese and 50 (29,1%) as obese. Most patients (77,2%) were taking corticosteroids, antimalarials (62,4%), and some type of immunosuppressant (64,0%). The mean (SD) cumulative dose of prednisone was 32,9 (26,1) g, and the current daily dose of prednisone was 10,4 (12,9) mg. The median disease activity and damage index scores were 2 (0-6) and 0 (0-1), respectively. Higher serum levels of IL6 ( $p < 0,001$ ), sTNFR1 ( $p = 0,028$ ), sTNFR2 ( $p = 0,003$ ), IL10 ( $p < 0,001$ ) and adipokines - leptin ( $p = 0,044$ ) e adiponectin ( $p < 0,001$ ) were observed in lupus patients than controls. Only IL17 levels ( $p = 0.518$ ) did not differ statistically between the two groups. Higher BMI correlated with age ( $r_s = 0,335$ ;  $p = < 0,001$ ), age at diagnosis ( $r_s = 0,319$ ;  $p < 0,001$ ) and less education ( $r_s = -0,204$ ;  $p = 0,005$ ). No correlation was observed between BMI and disease activity ( $r_s = 0,116$   $p = 0,113$ ) and the damage index ( $r_s = -0,080$   $p = 0,309$ ). Higher concentrations of IL6 cytokines ( $r_s = 0.246$ ,  $p = 0.002$ ), IL17 ( $r_s = 0.195$ ,  $p = 0.014$ ) and leptin ( $r = 0.430$ ;  $p < 0.001$ ) were correlated positively and independently with BMI. **Conclusion:** This study showed higher concentrations of cytokines and adipokines in SLE patients than in subjects without SLE and showed that higher BMI was correlated with higher concentrations of IL6, IL17 and leptin. This finding suggests that the BMI found in the patients, interfere, regardless of disease activity in inflammatory profile of women with SLE.

**Palavras – chave**

Lúpus eritematoso sistêmico; obesidade; citocinas

**Key words**

Systemic lupus erythematosus; obesity; cytokines

**Título resumido**

Perfil de citocinas em pacientes obesas com LES

**Título em inglês**

Cytokines in obese patients with SLE

### 3.2.3 Introdução

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória autoimune, cuja etiologia é pouco conhecida, em que vários órgãos e tecidos podem ser acometidos. É, primariamente, uma doença com deficiências na regulação do sistema imunológico, secundária à perda do mecanismo de auto tolerância e à ativação desregulada dos linfócitos B e T. Esta ativação desencadeia subsequente ativação policlonal de linfócitos circulantes com produção de grande quantidade de autoanticorpos reativos e formação de imunocomplexos que causam dano tecidual e orgânico (1).

Este processo complexo envolve interação de várias citocinas, quimiocinas, moléculas de sinalização e outras proteínas (2). As citocinas são produzidas por células inflamatórias como os linfócitos e macrófagos. Os linfócitos T produzem determinadas citocinas dependendo do estímulo que recebem. No LES, a resposta funcional dos linfócitos T é modificada, havendo aumento das respostas Th1, Th2 e Th17, além de redução da resposta funcional dos linfócitos reguladores, com consequente modificação do perfil de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias (3).

O perfil de resposta dos linfócitos T característico do lúpus conjuntamente com os autoanticorpos e imunocomplexos podem determinar características clínicas diferentes da doença. Além disso, os pacientes podem apresentar outras enfermidades ou condições que poderiam modificar a resposta imunológica individual. Dentre as comorbidades que frequentemente acompanham os pacientes com LES, destaca-se a obesidade, cuja prevalência vem crescendo na população geral (4). Em estudo prévio, realizado no Serviço de Reumatologia HC/UFMG, em que o estado nutricional de 170 pacientes com LES foi avaliado

observou-se frequência de 28% de obesidade avaliada pelo índice de massa corporal (5).

O tecido adiposo foi, recentemente, reconhecido como um órgão endócrino muito ativo que integra funções endócrinas, metabólicas e imunológicas (6). Na obesidade, ocorrem mudanças estruturais e funcionais do tecido adiposo, a saber: aumento do número e do tamanho dos adipócitos, expansão do tecido extracelular, e estímulo para a infiltração de células inflamatórias como macrófagos e linfócitos por meio de citocinas, adipocinas e quimiocinas. O tecido adiposo, então, adquire características de tecido inflamatório. Estudos em indivíduos sem doenças inflamatórias crônicas, identificaram modificações dos níveis séricos de determinadas citocinas (IL10, IL6, TNF $\alpha$  e IL7) e adipocinas (leptina e adiponectina) em obesos quando comparados com indivíduos eutróficos (7-10). No LES, pouco se conhece da influência do tecido adiposo nos níveis séricos de adipocinas e citocinas. Apenas Oeser e colaboradores descreveram, em adultos, a correlação positiva entre o índice massa corporal (IMC) e a IL6 (11), e no LES juvenil, Sinicato e colaboradores evidenciaram associação entre TNF $\alpha$  e IMC (12).

Os objetivos do presente estudo foram analisar o perfil de citocinas de pacientes com LES e, avaliar se a obesidade interfere no perfil inflamatório destes pacientes.

### **3.2.4 Pacientes e Métodos**

#### ***Participantes do estudo***

Trata-se de estudo transversal, realizado no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas, UFMG, de janeiro de 2008 a outubro de 2013, e que teve como

base amostra de conveniência. As pacientes foram informadas da realização da pesquisa e convidadas a participar no momento da consulta. As que assim concordaram, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE C e D). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais e pela Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas/UFGM (Parecer nº.ETIC 17087313.2.0000.5149) (ANEXO G e H).

Foram incluídas 189 pacientes do sexo feminino, entre 18 e 60 anos, com diagnóstico de LES segundo os critérios de classificação de 1982 (revisados em 1997) do *American College of Rheumatology* (ACR) (13, 14) (ANEXO I).

O grupo controle foi constituído por 70 mulheres, com idade entre 18 e 60 anos, sem diagnóstico conhecido de doença autoimune e selecionadas, por conveniência, dentre as acompanhantes de pacientes e funcionárias do anexo Bias Fortes da faculdade de medicina/ UFGM.

Foram excluídas, em ambos os grupos, as gestantes, as que apresentavam qualquer outra doença crônica avançada conhecida tais como diabetes mellitus, neoplasias benignas ou malignas, e aquelas com suspeita de qualquer processo infeccioso agudo ou crônico no momento da coleta de dados do estudo. Ademais, pacientes com LES cujas provas funcionais estivessem alteradas por mais de seis meses (o que caracterizava descompensação do órgão acometido) e, no grupo controle as mulheres com diagnóstico de doença autoimune.

As características sócio-demográficas, manifestações clínico-laboratoriais e uso de medicamentos foram coletadas e registradas em banco de dados (APÊNDICE F). A atividade da doença foi mensurada pelo escore *Systemic Lupus Erythematosus Disease Index* (SLEDAI-2K)(15) e o dano cumulativo irreversível pelo

*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ ACR Damage Index (SLICC-ACR/DI)(16) (ANEXO J e K).*

### ***Avaliação nutricional***

O estado nutricional foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (peso/altura<sup>2</sup>) e pela composição corporal por bioimpedância elétrica seguindo protocolos pré-estabelecidos (17) e, utilizando-se balança modelo plataforma mecânica da marca Welmy<sup>®</sup> (modelo: R-110, ano de fabricação: 2005) e o aparelho Bodystat<sup>®</sup> modelo 310. Os dados do IMC foram comparados aos valores propostos pela Organização Mundial de Saúde (18) (ANEXO R e S). Todas as análises foram realizadas comparando-se as pacientes eutróficas e obesas. Foi excluída uma paciente e uma participante controle com magreza grau I. O percentual de gordura corporal foi avaliado segundo os valores de referência de Gallagher e as pacientes com 18 e 19 anos foram colocadas no grupo de 20 a 39 (ANEXO T) (19). Pacientes com valores de porcentagem de gordura corporal abaixo do recomendado foram excluídas da análise.

### ***Dosagem das citocinas e adipocinas***

A dosagem das citocinas foi feita a partir de sangue coletado em tubo BD Vacutainer<sup>®</sup> SST II Advance, centrifugado a 3000rpm por 10 minutos à temperatura ambiente e, o soro aliqotado armazenado a -80 °C, no laboratório Lineu Freire-Maia, UFMG. As amostras de soro foram posteriormente descongeladas à temperatura ambiente, analisadas quanto à presença das citocinas, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- $\alpha$  e os receptores - sTNFR1 e sTNFR2, por citometria de fluxo (*Cytometric Bead Array*) ultra sensível. O limiar de detecção das interleucinas 6, 10, 17A e TNF- $\alpha$  foi de 0,3 pg/mL e o limiar de detecção do sTNFR1 e sTNFR2 foi 5,2pg/mL e

1,4pg/mL, respectivamente. Para tal, foram utilizados os kits *CBA Enhanced Sensitivity Flex Sets* (BD®). As adipocinas - leptina e adiponectina - foram dosadas pelo método ELISA de captura utilizando-se os kits *Human Leptin Quantikine ELISA* (limiar de detecção-15,6pg/mL) e *Human Total Adiponectin/Acrp30 Quantikine ELISA* (limiar de detecção-3,9ng/mL) Kit (R&D Systems®, Mineapolis), respectivamente. O TNF- $\alpha$  não foi detectado na maioria das amostras analisadas e, por isso foi excluído da análise. Os resultados da IL17 serão representados em MFI (intensidade de imunofluorescência) devido aos baixos valores detectados.

### ***Análise Estatística***

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software *Statistical Package for Social Sciences (SPSS®)* versão 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL USA.) e o software R. O valor de corte para classificação de obesidade de acordo com IMC foi definido pela análise da curva *ROC (Receiver Operating Characteristic)* tendo a bioimpedância como padrão de referência (20). O nível de corte escolhido para classificar obesidade segundo IMC, foi  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$  (sensibilidade:0,78 e especificidade:0,88). (ANEXO U). Foi encontrada boa concordância (*Kappa de Cohen* = 0,64;  $p < 0,001$ ) entre a classificação de obesidade segundo IMC e bioimpedância (percentual de gordura corporal) para as pacientes com LES (21).

As variáveis categóricas foram descritas como proporção. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis contínuas, que foram descritas por média e desvio-padrão (DP) ou mediana e intervalo interquartil (IIq) dependendo da distribuição. A comparação da idade, frequência de menopausa e obesidade, além das concentrações séricas de citocinas entre as pacientes com LES e o

grupo controle foi realizada utilizando-se os testes qui-quadrado, exato de Fisher, T Student e U-Mann-Whitney. No grupo de pacientes, as correlações e as associações entre IMC ou obesidade e as características clínicas e sócio-demográficas foram analisadas utilizando-se a correlação de Pearson ou Spearman, teste T-Student ou de U-Mann-Whitney, qui-quadrado ou exato de Fisher, quando adequado.

Para análise multivariada foi utilizado o método de regressão linear múltipla tendo como variável explicativa o IMC e como variáveis resposta a IL 6, IL17A e a leptina. Para ajuste dos modelos multivariados foram incluídas as seguintes variáveis: idade, menopausa, atividade de doença, uso de antimaláricos, uso de imunossupressores e dose atual de corticosteroide. Para o modelo com a variável resposta IL6 foram utilizados splines cúbicos restritos para capturar uma relação não linear com a variável IMC (22).

Para todas as análises foi considerado nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### **3.2.5 Resultados**

#### ***Características sócio demográficas***

A média (DP) de idade, do tempo de doença e da idade ao diagnóstico das 189 mulheres avaliadas foi 37,5 (10,0), 9,1 (6,3) e 28,2 (9,7) anos, respectivamente. A mediana (IIq) da renda familiar foi 2 (2-2) salários mínimos e de escolaridade foi 10 (5-12) anos. Segundo a classificação do IMC, 72 (38,1%) pacientes eram eutróficas, 64 (33,9%) tinham sobrepeso e 53 (28,0%) eram obesas. Em relação à composição corporal, 122 (70,9%) pacientes foram classificadas com porcentagem de gordura corporal dentro do recomendado (não obesos) e 50 (29,1%) pacientes como porcentagem de gordura corporal acima do recomendado (obesos). As demais

características sócio-demográficas das pacientes do grupo de estudo e das 70 mulheres do grupo controle estão descritas na tabela 1 (ANEXO V).

A média da idade e do IMC e o percentual de mulheres que estavam na menopausa foram semelhantes nos dois grupos estudados. No entanto, observou-se que as mulheres do grupo controle apresentaram maior percentual de gordura corporal do que as do grupo de pacientes com LES.

Tabela 1. Características sócio demográficas de pacientes com LES e mulheres controles, Belo Horizonte, 2014

Variáveis	Pacientes N =189	Controles N = 70	P
Idade (anos)*	37,5 (10,0)	39,6(10,7)	0,131
Menopausa <sup>1**</sup>	53 (27,9)	14 (20,0)	0,092
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )*	27,4 (6,0)	27,8 (6,1)	0,545
Gordura corporal <sup>2</sup> (%)*	30,5 (6,4)	32,7 (7,8)	0,023
Obesidade (Bioimpedância) <sup>2**</sup>	50 (29,1)	28 (43,1)	0,045
Obesidade (IMC)**	54 (28,7)	24 (34,3)	0,360

media (DP), \*\* N(%), IMC = índice de massa corporal, <sup>1</sup> N=182, <sup>2</sup> N = 172

### *Características clínicas e uso de medicamentos das pacientes com LES*

A frequência das manifestações clínicas e laboratoriais no momento da avaliação e ao longo do seguimento da doença, das 189 mulheres estão descritas na tabela 2. Cento e quarenta e seis (77,2%) pacientes estavam em uso de prednisona, 118 (62,4%) usavam antimaláricos e 121 (64,0%) imunossupressores. Entre estes a azatioprina e a ciclofosfamida foram os mais utilizados em 59 (31,2%) e 31 (16,4%) respectivamente. Vinte e uma (11,1%) pacientes estavam em uso de metotrexato, seis (3,2%) de micofenolato mofetil e apenas uma (0,5%) de ciclosporina. A média (DP) da

dose de corticosteroide no momento do estudo foi 10,4 (12,9)mg e da dose acumulada foi de 32,9 (26,1)g. A mediana (IIq) da atividade da doença (SLEDAI-2K) foi 2 (0-6) e do índice de dano (SLICC) de 0 (0-1).

Tabela 2: Frequência das manifestações clínicas, laboratoriais das 189 pacientes, ao longo da evolução do lúpus e no momento do estudo, Belo Horizonte, 2014

<b>Manifestações clínicas e laboratoriais</b>	Acumuladas (N %)	Atuais (N %)
Mucocutâneas	162 (85,7)	62 (32,8)
Artrite	145 (76,8)	21 (11,1)
Serosite (pleurite)	49 (25,9)	4 (2,1)
Hematológicas	168 (88,9)	100 (52,9)
Neuropsiquiátricas	38 (20,1)	4 (2,1)
Nefrite	116 (61,4)	47 (24,9)

***Descrição das concentrações séricas das citocinas e das adipocinas das mulheres com LES e do grupo controle***

Os níveis séricos das citocinas e adipocinas foram mais elevados nos pacientes com LES do que nas mulheres do grupo controle (Tabela 3). Apenas a dosagem sérica da citocina IL17A não diferiu estatisticamente entre os dois grupos.

Tabela 3. Comparação das concentrações séricas das citocinas e adipocinas de pacientes com LES e indivíduos do grupo controle, Belo Horizonte, 2014

Variáveis	N	LES (mediana/ IIq)	Controles* (mediana / IIq)	P
IL 6 (pg/mL)	160	0,86 (0,14 – 2,08)	0,36 (0,00 – 1,18)	0,001
sTNFR1 (ng/mL)	168	0,49 (0,26 – 0,73)	0,39 (0,28 – 0,52)	0,028
sTNFR2 (ng/mL)	168	2,27 (1,99 – 2,63)	2,05 (1,89 – 2,38)	0,003
IL10 (pg/mL)	161	0,23 (0,01– 0,77)	0,00 (0,00 – 0,08)	0,001
IL 17 A MFI	160	8,41 (7,30 – 9,22)	7,84 (7,30 – 9,18)	0,518
Leptina (ng/mL)	172	33,78 (16,06 – 31,49)	24,98 (13,18 – 42,00)	0,044
Adiponectina(µg/mL)	172	17,72 (11,32 – 31,49)	9,89 (6,78 – 15,19)	0,001

\*N= 70 MFI= intensidade de imunofluorescência, sTNFR1 = receptor solúvel 1 do fator de necrose tumoral  $\alpha$  , sTNFR2= receptor solúvel 2 do fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

***Índice de massa corporal, características clínicas e concentrações séricas de citocinas e adipocinas dos pacientes com LES***

Maior índice de massa corporal correlacionou-se com a idade ( $r_s = 0,335$ ;  $p < 0,001$ ), idade ao diagnóstico ( $r_s = 0,319$ ;  $p < 0,001$ ) e menor escolaridade ( $r_s = - 0,204$ ;  $p = 0,005$ ). A menor dose atual de prednisona correlacionou-se com maior IMC ( $r_s = - 0,160$ ;  $p = 0,028$ ). Não houve correlação entre o IMC e a dose acumulada de corticosteroides ( $r_s = 0,132$  ;  $p = 0,074$ ), a razão da dose acumulada pelo tempo de doença ( $r_s = 0,085$ ;  $p = 0,255$ ) e a média da dose diária de corticosteroides dos últimos 6 meses ( $r_s = - 0,012$  ;  $p = 0,872$ ). Não se evidenciou correlação entre o IMC e a atividade da doença ( $r_s = 0,116$   $p = 0,113$ ) e o índice de dano ( $r_s = - 0,080$  ;  $p = 0,309$ ).

Maiores concentrações das citocinas IL6 ( $r_s = 0,246$ ;  $p = 0,002$ ), IL17 ( $r_s = 0,195$ ;  $p = 0,014$ ) e da leptina ( $r_s = 0,430$ ;  $p < 0,001$ ) foram correlacionadas positivamente com IMC.

Ao analisar as pacientes de acordo com a classificação de obesidade, observou-se que as pacientes obesas tinham maior idade no momento da inclusão do estudo e do diagnóstico do lúpus, além de apresentarem maiores concentrações de IL6 e leptina do que as eutróficas. Nenhuma outra variável analisada mostrou diferença estatisticamente significativa quando comparadas as pacientes obesas e não obesas (tabela 4).

Tabela 4. Comparação das características clínicas, uso de medicamentos e concentrações séricas das citocinas e adipocinas segundo o IMC, em 189 pacientes com LES, Belo Horizonte, 2014

Variáveis	IMC < 30	IMC ≥ 30	Valor de P
	N = 136	N = 53	
Idade*	36,3 (10,1)	40,6 (9,0)	<b>0,006</b>
Idade diagnóstico*	26,7 (9,3)	32,0 (9,8)	<b>0,001</b>
Tempo de doença**	8,0 (3,0 – 13,2)	9,0 (4,0 – 11,5)	0,513
SLEDAI-2K**	2 (0 – 5)	4 (0 – 6)	0,339
SLICC**	0 (0 – 1)	1 (0 – 1)	0,375
Antimalárico***	88 (64,7)	30 (56,6)	0,320
Imunossupressor***	88 (64,7)	33 (62,3)	0,656
Dose atual CE(mg)**	5,0 (2,5 – 15,0)	5,0 (5,0 – 10,0)	0,214
Dose CE (mg) <sup>1</sup> **	30,0 (18,1 – 66,3)	33,8 (19,2 - 82,9)	0,562
Dose acumulada CE(g)**	27,7 (13,2 - 45,0)	25,9 (11,8 – 51,1)	0,897
sTNFR1 (ng/mL)**	0,5 (0,2 – 0,7)	0,5 (0,3 – 0,7)	0,879
sTNFR2 (ng/ml)**	2,2 (2,0 – 2,5)	2,3 (1,9 – 2,7)	0,622
IL6 (pg/mL)**	0,7 (0,0 – 2,0)	1,5 (0,6 – 2,6)	<b>0,007</b>
IL10 (pg/mL)**	0,2 (0 – 0,9)	0,2 (0,0 – 0,6)	0,818
IL17 (MFI)**	8,2 (7,3 – 9,1)	9,0 (7,3 -9,4)	0,075
Leptina (ng/mL)**	27,4 (12,7 – 45,5)	64,2 (27,3 – 106,7)	<b>&lt;0,001</b>
Adiponectina (µg/mL)**	17,5 (11,5 – 31,0)	19,36 (9,7 – 33,6)	0,964

SLEDAI = Systemic Lupus Erythematosus Disease Index, SLICC = *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*, CE=corticosteroide, MFI=intensidade de imunofluorescência, sTNFR1 = receptor solúvel 1 do fator de necrose tumoral  $\alpha$ , sTNFR2 = receptor solúvel 2 do fator de necrose tumoral  $\alpha$  \* média (DP), \*\* mediana (IIq), \*\*\* N(%), <sup>1</sup>= média em 6 meses

De forma semelhante, a análise utilizando-se o percentual de gordura corporal para classificação de obesidade teve associação apenas com a IL6 (rs: 0,240 p=0,002), IL17 (rs: 0,241 p=0,002) e leptina (rs: 0,356 p<0,001).

Após ajuste para idade, menopausa, atividade da doença, uso de antimaláricos, imunossupressores e dose atual de corticosteroide, permaneceram associadas ao IMC a IL6, IL17 e leptina (tabela 5).

Tabela 5: Análise multivariada por regressão linear múltipla entre as IL6, IL17 e a leptina e o IMC, Belo Horizonte, 2014

Variáveis	Modelo 1	Modelo 2
IL6	$\beta = 3,07, p = 0,002$	$\beta = 2,16, p = 0,033$
IL17	$\beta = 2,13, p = 0,035$	$\beta = 2,38, p = 0,019$
Leptina	$\beta = 3,38, p < 0,001$	$\beta = 2,52, p = 0,013$

Modelo 1 = IMC, Modelo 2 = IMC, idade, menopausa, SLEDAI-2K, uso de corticosteroides, uso de antimaláricos e de imunossupressores

### 3.2.6 Discussão

Neste estudo as concentrações séricas de citocinas e adipocinas apresentaram-se mais elevadas nas mulheres com LES do que em mulheres do grupo controle. Ademais, pacientes com maior IMC apresentaram níveis séricos de IL6, IL17 e leptina mais elevados.

A frequência de obesidade encontrada em nosso estudo (28,0%) é superior à taxa registrada na população geral (14,7%) (23). Outros autores que avaliaram a obesidade segundo o IMC registraram índices de obesidade similares à descrita na presente pesquisa: 29 % (24) e 28% (25). No entanto, Katz e colaboradores ao pesquisarem a frequência de obesidade em 145 mulheres lúpicas utilizando a DEXA (Dual-energy x-ray absorptiometry) para medida da gordura corporal total e o IMC,

identificaram 50% de obesidade, índice mais elevado do que é frequentemente descrito em estudos que utilizam o IMC isoladamente. Esse foi o primeiro estudo em pacientes com LES que comparou os dois métodos (IMC e DEXA) para diagnóstico de obesidade, e sugeriu que a DEXA poderia ser um método mais acurado do que o IMC para avaliação da gordura corporal (24). O diagnóstico de obesidade em pacientes com LES é importante, pois é um dos fatores de risco tradicionais para doença cardiovascular (DCV), está associada à maiores níveis glicêmicos, maior frequência de hipertensão arterial sistêmica, elevação sérica dos marcadores inflamatórios, maior incidência de tumores sólidos e pior capacidade funcional, contribuindo para o aumento da morbidade e da mortalidade (11, 26).

No presente estudo, as pacientes com maior idade ao diagnóstico, como também aquelas com menor escolaridade apresentaram maior IMC, dados semelhantes aos de outros trabalhos tanto em pacientes com LES (27) bem como na população geral (4). Sabe-se que fatores hormonais e redução do gasto energético podem contribuir para o ganho de peso em indivíduos com maior idade, seja na população geral (28) seja em pacientes lúpicos (29). Outro fator que poderia interferir no IMC destes últimos é o uso de corticosteroides. Contudo, no presente estudo, não houve correlação entre a dose acumulada de corticosteroide e o IMC ( $p = 0,074$ ). Outros estudos transversais também não observaram tal associação (11, 25, 30, 31). No entanto, Manaboriboon e colaboradores, em estudo retrospectivo com 236 pacientes, idade entre 11 e 18 anos, média do tempo de uso de corticosteroide de dois anos e média da dose acumulada de 34g evidenciaram aumento do IMC com uso de corticosteroides (32). Vale ressaltar que, apesar da dose acumulada de corticosteroides ser semelhante a dose da presente pesquisa, o tempo de uso da medicação (9 anos versus 2 anos) e da dose diária (10mg versus 25mg) foram diferentes. Portanto, a

associação entre o IMC e o uso de corticosteroide pode depender da média da dose diária utilizada, da dose acumulada, bem como do tempo de uso de doses elevadas desta medicação .

Nesta pesquisa, os níveis séricos das citocinas IL6, sTNFR1, sTNFR2, IL10 e das adipocinas leptina e adiponectina, foram mais elevados nos pacientes com LES do que no grupo controle. Outros autores observaram resultados semelhantes o que demonstra a ativação do sistema imunológico e a característica produção de citocinas dos pacientes com LES (12, 33-37).

Na literatura, maiores concentrações séricas de IL6 foram observadas em adultos com lúpus ativo e correlacionadas com presença do anti-DNA nativo (38-40), nefrite (41), manifestações cardiopulmonares (42), articulares (43) e neuropsiquiátricas (44). Dados interessantes e semelhantes aos nossos resultados foram publicados em relação aos maiores níveis de IL10 em pacientes com LES quando comparados a indivíduos sem LES. Autores observaram elevados níveis séricos desta citocina e correlação com atividade da doença (45) e com a produção do anticorpo anti-DNA nativo (46). Zhi-Chun e colaboradores descreveram maiores concentrações de IL10 em pacientes com nefrite lúpica (47) e Llorente e colaboradores evidenciaram que ao inibir a IL10, as lesões cutâneas e os sintomas articulares melhoraram (48).

Sabe-se que o TNF $\alpha$  está envolvido na patogênese do LES com ações tanto inflamatórias quanto de regulação imunológica (49), no entanto, não está claro, até o momento, se ele é benéfico ou deletério para estes pacientes. Nossos resultados demonstraram que os receptores 1 e 2 do TNF $\alpha$  estavam elevados no soro de pacientes com LES quando comparados com os controles, semelhante ao descrito por outros autores (50-52). Nestes estudos ficou demonstrado que os receptores podem estar

associados com maior atividade da doença (50), acometimento renal (51, 52), e que estão elevados no soro de pacientes mesmo antes da reativação da doença (34).

Diferentemente de resultados descritos na literatura, não encontramos maiores concentrações de IL17 em pacientes com LES comparando-os ao grupo controle (33, 53, 54). Esta citocina foi associada à atividade global da doença e às manifestações renais (55, 56) e cutâneas (57). Vale destacar que na maioria dos estudos que registraram concentrações elevadas desta interleucina em pacientes com LES foram analisados o sobrenadante após culturas de células (58, 59) ou o plasma (60), diferente deste estudo que analisou o soro dos pacientes, o que pode justificar as baixas concentrações encontradas de IL17 nos pacientes e controles .

Em doenças inflamatórias crônicas como o LES as concentrações séricas das adipocinas, principalmente leptina e adiponectina, estão geralmente elevadas quando comparadas aos indivíduos controles (36, 61, 62). Interessante observar que citocinas inflamatórias podem estimular a liberação de leptina no tecido adiposo e, esta, por sua vez, pode ampliar o processo inflamatório o que poderia justificar, em parte, os níveis aumentados de leptina em pacientes com LES (36). Como o tecido adiposo pode se comportar como tecido inflamatório tanto em indivíduos saudáveis como em pacientes com doenças autoimunes, mudança da composição corporal poderia promover alterações no perfil de citocinas dos pacientes. Todavia, poucos estudos descrevem estas modificações na população lúpica (11, 12). Dois estudos avaliaram a correlação entre as concentrações de citocinas e o IMC: No primeiro houve correlação positiva do IMC com a IL6 (11) e no segundo estudo evidenciou correlação com o TNF  $\alpha$  (12).

Ao analisar o comportamento das citocinas e adipocinas em relação ao IMC, identificamos que a IL6, IL17 e a leptina foram associadas ao maior IMC nos

pacientes com LES aqui estudados. Sabe-se que a IL6 pode estar elevada em indivíduos obesos, com lúpus (11) e sem lúpus (63). De forma semelhante, níveis séricos elevados da IL17 já foram descritos em indivíduos obesos sem LES (10). No entanto, a evidência do aumento desta citocina em pacientes lúpicos não tinha até então sido descrita. Quanto ao papel da obesidade no processo inflamatório, Versini e colaboradores destacaram, em revisão recente, que a obesidade pode estar associada ao aumento da prevalência e pior prognóstico de doenças imunomediadas (64). Mecanismos que conectam o tecido adiposo ao sistema imunológico ainda estão sendo estudados. Um deles indica a participação do fator inibidor de apoptose de macrófagos na produção de imunocomplexos. Este fator é uma proteína produzida pelos macrófagos que aumenta a sobrevivência destas células e induz a lipólise, que promove a liberação de ácidos graxos saturados que estimulam a produção de quimiocinas pelos adipócitos favorecendo ativação de macrófagos (65).

Os níveis circulantes da leptina estão diretamente correlacionados com a massa de tecido adiposo em indivíduos saudáveis (36, 61) e em pacientes com LES (62, 66), como observado nesta pesquisa. É um hormônio peptídico não glicosilado produzido principalmente pelo tecido adiposo e por células inflamatórias. Esta adipocina estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF $\alpha$ , IL6 e IL12, além de induzir a ativação de células T e inibir as T regulatórias (Tregs) (67, 68). Segundo Yu e colaboradores a leptina pode induzir também a resposta Th17 em camundongos com LES (69). A leptina, portanto, é uma adipocina que participa da modificação celular e molecular do tecido adiposo, e por isso é uma das adipocinas responsáveis pela inflamação de baixo grau presente em indivíduos obesos.

Na presente pesquisa não observamos correlação da IL10 ou dos receptores 1 e 2 do TNF $\alpha$  com IMC. Sinicato e colaboradores descreveram em lúpus

juvenil, que aqueles com maior concentração de TNF eram os que apresentavam maior IMC e maior gordura corporal total mensurada pela densitometria, entretanto a IL10 não estava aumentada nos pacientes com maior IMC (12). A concentração sérica dos receptores do TNF  $\alpha$  não foi analisada neste grupo de pacientes, bem como na literatura consultada, associação do IMC com estes receptores não foi investigada. Em indivíduos sem LES, um estudo italiano descreveu que mulheres obesas (n= 50) apresentaram maiores níveis séricos da IL10 quando comparadas com mulheres eutróficas (n= 50) (7). Outros estudos em pacientes com LES serão necessários para avaliar se a IL10 se modifica em pacientes com maior IMC.

### **3.2.7 Conclusão**

Este estudo mostrou maiores concentrações de citocinas e adipocinas em pacientes lúpicos do que em indivíduos sem LES e evidenciou frequência elevada de obesidade. Foi observado que o maior IMC poderia interferir nos níveis séricos de citocinas e adipocinas em pacientes com LES, todavia não sabemos se estas modificações podem interferir nas manifestações clínicas, atividade da doença, resposta ao tratamento ou mesmo evolução da doença. Estudos prospectivos serão necessários para maiores esclarecimentos.

### 3.2.8 Referências Bibliográficas:

1. Heinlen LD, McClain MT, Merrill J, Akbarali YW, Edgerton CC, Harley JB, et al. Clinical criteria for systemic lupus erythematosus precede diagnosis, and associated autoantibodies are present before clinical symptoms. *Arthritis Rheum.* 2007;56(7):2344-51.
2. Yu SL, Kuan WP, Wong CK, Li EK, Tam LS. Immunopathological roles of cytokines, chemokines, signaling molecules, and pattern-recognition receptors in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:715190.
3. Ohl K, Tenbrock K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:432595.
4. IBGE. Vigilância de doenças crônicas por inquérito telefônico - VIGITEL. In: IBGE, editor. Portal saúde.saúde.gov.br: IBGE; 2013.
5. Santos FMM, Borges MC, Correia MI, Telles RW, Lanna CC. Assessment of nutritional status and physical activity in systemic lupus erythematosus patients. *Rev Bras Reumatol.* 2010;50(6):631-8.
6. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol.* 2014;222(3):R113-27.
7. Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G, et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(3):1055-8.
8. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci.* 2013;9(2):191-200.
9. Tsigos C, Kyrou I, Chala E, Tsapogas P, Stavridis JC, Raptis SA, et al. Circulating tumor necrosis factor alpha concentrations are higher in abdominal versus peripheral obesity. *Metabolism.* 1999;48(10):1332-5.
10. Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes (Lond).* 2009;33(1):151-6.
11. Oeser A, Chung CP, Asanuma Y, Avalos I, Stein CM. Obesity is an independent contributor to functional capacity and inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3651-9.

12. Sinicato NA, Postal M, Peres FA, Pelicari Kde O, Marini R, dos Santos Ade O, et al. Obesity and cytokines in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *J Immunol Res.* 2014;2014:162047.
13. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1982;25(11):1271-7.
14. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40(9):1725.
15. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol.* 2002;29(2):288-91.
16. Uribe AG, Vila LM, McGwin G, Jr., Sanchez ML, Reveille JD, Alarcon GS. The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2004;31(10):1934-40.
17. Heyward VH, Stolarczyk LM. Avaliação da composição corporal aplicada. Primeira edição 2000.
18. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of WHO consultation, Geneva: Geneva; 1997. p. 276.
19. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(3):694-701.
20. Hainer V, Kunesova M, Parizkova J, Stich V, Horejs J, Muller L. Body fat assessment by a new bipedal bioimpedance instrument in normal weight and obese women. *Sb Lek.* 1995;96(3):249-56.
21. Altman DG. Practical statistics for medical research. London: Charman an Hall; 1991. 610 p.
22. Harrell FE. Regression modeling strategies. science S, editor. New York 2001.
23. Velasquez-Melendez G, Pimenta AM, Kac G. [Epidemiology of overweight and obesity and its determinants in Belo Horizonte (MG), Brazil: a cross-sectional population-based study]. *Rev Panam Salud Publica.* 2004;16(5):308-14.

24. Katz P, Gregorich S, Yazdany J, Trupin L, Julian L, Yelin E, et al. Obesity and its measurement in a community-based sample of women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(2):261-8.
25. Chaiamnuay S, Bertoli AM, Fernandez M, Apte M, Vila LM, Reveille JD, et al. The impact of increased body mass index on systemic lupus erythematosus: data from LUMINA, a multiethnic cohort (LUMINA XLVI) [corrected]. *J Clin Rheumatol*. 2007;13(3):128-33.
26. Skamra C, Ramsey-Goldman R. Management of cardiovascular complications in systemic lupus erythematosus. *Int J Clin Rheumatol*. 2010;5(1):75-100.
27. Cardoso CR, Signorelli FV, Papi JA, Salles GF. Prevalence and factors associated with dyslipoproteinemias in Brazilian systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatol Int*. 2008;28(4):323-7.
28. Haas E, Bhattacharya I, Brailoiu E, Damjanovic M, Brailoiu GC, Gao X, et al. Regulatory role of G protein-coupled estrogen receptor for vascular function and obesity. *Circ Res*. 2009;104(3):288-91.
29. Kipen Y, Strauss BJ, Morand EF. Body composition in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol*. 1998;37(5):514-9.
30. Mok CC, Ying SK, To CH, Ma KM. Bone mineral density and body composition in men with systemic lupus erythematosus: a case control study. *Bone*. 2008;43(2):327-31.
31. Kipen Y, Briganti EM, Strauss BJ, Littlejohn GO, Morand EF. Three year follow-up of body composition changes in pre-menopausal women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 1999;38(1):59-65.
32. Manaboriboon B, Silverman ED, Homsanit M, Chui H, Kaufman M. Weight change associated with corticosteroid therapy in adolescents with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2013;22(2):164-70.
33. Zhao XF, Pan HF, Yuan H, Zhang WH, Li XP, Wang GH, et al. Increased serum interleukin 17 in patients with systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep*. 2010;37(1):81-5.
34. Munroe ME, Vista ES, Guthridge JM, Thompson LF, Merrill JT, James JA. Proinflammatory adaptive cytokine and shed tumor necrosis factor receptor levels are elevated preceding systemic lupus erythematosus disease flare. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(7):1888-99.

35. Chun HY, Chung JW, Kim HA, Yun JM, Jeon JY, Ye YM, et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol*. 2007;27(5):461-6.
36. Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gomez-Reino J, et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(8):944-50.
37. De Sanctis JB, Zabaleta M, Bianco NE, Garmendia JV, Rivas L. Serum adipokine levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2009;42(4):272-4.
38. Tackey E, Lipsky PE, Illei GG. Rationale for interleukin-6 blockade in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2004;13(5):339-43.
39. Grondal G, Gunnarsson I, Ronnelid J, Rogberg S, Klareskog L, Lundberg I. Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2000;18(5):565-70.
40. Linker-Israeli M, Deans RJ, Wallace DJ, Prehn J, Ozeri-Chen T, Klinenberg JR. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J Immunol*. 1991;147(1):117-23.
41. Iwano M, Dohi K, Hirata E, Kurumatani N, Horii Y, Shiiki H, et al. Urinary levels of IL-6 in patients with active lupus nephritis. *Clin Nephrol*. 1993;40(1):16-21.
42. Yoshio T, Masuyama JI, Kohda N, Hirata D, Sato H, Iwamoto M, et al. Association of interleukin 6 release from endothelial cells and pulmonary hypertension in SLE. *J Rheumatol*. 1997;24(3):489-95.
43. Eilertsen GO, Nikolaisen C, Becker-Merok A, Nossent JC. Interleukin-6 promotes arthritis and joint deformation in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011;20(6):607-13.
44. Hirohata S, Kanai Y, Mitsuo A, Tokano Y, Hashimoto H. Accuracy of cerebrospinal fluid IL-6 testing for diagnosis of lupus psychosis. A multicenter retrospective study. *Clin Rheumatol*. 2009;28(11):1319-23.
45. Park YB, Lee SK, Kim DS, Lee J, Lee CH, Song CH. Elevated interleukin-10 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 1998;16(3):283-8.

46. Houssiau FA, Lefebvre C, Vanden Berghe M, Lambert M, Devogelaer JP, Renauld JC. Serum interleukin 10 titers in systemic lupus erythematosus reflect disease activity. *Lupus*. 1995;4(5):393-5.
47. Zhi-Chun L, Qiao-Ling Z, Zhi-Qin L, Xiao-Zhao L, Xiao-xia Z, Rong T. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) mediates p38 mitogen-activated protein kinase activation and signal transduction in peripheral blood mononuclear cells from patients with lupus nephritis. *Inflammation*. 2012;35(3):935-43.
48. Llorente L, Richaud-Patin Y, Garcia-Padilla C, Claret E, Jakez-Ocampo J, Cardiel MH, et al. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2000;43(8):1790-800.
49. Heilig B, Fiehn C, Brockhaus M, Gallati H, Pezzutto A, Hunstein W. Evaluation of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors and TNF receptor antibodies in patients with systemic lupus erythematoses, progressive systemic sclerosis, and mixed connective tissue disease. *J Clin Immunol*. 1993;13(5):321-8.
50. Aderka D, Wysenbeek A, Engelmann H, Cope AP, Brennan F, Molad Y, et al. Correlation between serum levels of soluble tumor necrosis factor receptor and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1993;36(8):1111-20.
51. Davas EM, Tsirogianni A, Kappou I, Karamitsos D, Economidou I, Dantis PC. Serum IL-6, TNFalpha, p55 srTNFalpha, p75srTNFalpha, srIL-2alpha levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 1999;18(1):17-22.
52. Zhu L, Yang X, Ji Y, Chen W, Guan W, Zhou SF, et al. Up-regulated renal expression of TNF-alpha signalling adapter proteins in lupus glomerulonephritis. *Lupus*. 2009;18(2):116-27.
53. Chen XQ, Yu YC, Deng HH, Sun JZ, Dai Z, Wu YW, et al. Plasma IL-17A is increased in new-onset SLE patients and associated with disease activity. *J Clin Immunol*. 2010;30(2):221-5.
54. Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2000;9(8):589-93.

55. Xing Q, Wang B, Su H, Cui J, Li J. Elevated Th17 cells are accompanied by FoxP3<sup>+</sup> Treg cells decrease in patients with lupus nephritis. *Rheumatol Int.* 2012;32(4):949-58.
56. Crispin JC, Oukka M, Bayliss G, Cohen RA, Van Beek CA, Stillman IE, et al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *J Immunol.* 2008;181(12):8761-6.
57. Tanasescu C, Balanescu E, Balanescu P, Olteanu R, Badea C, Grancea C, et al. IL-17 in cutaneous lupus erythematosus. *Eur J Intern Med.* 2010;21(3):202-7.
58. Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Wong PT, Lam CW. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol.* 2008;127(3):385-93.
59. Shah K, Lee WW, Lee SH, Kim SH, Kang SW, Craft J, et al. Dysregulated balance of Th17 and Th1 cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(2):R53.
60. Schmitt V, Rink L, Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp Gerontol.* 2013;48(12):1379-86.
61. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature.* 1996;382(6588):250-2.
62. Wislowska M, Rok M, Stepien K, Kuklo-Kowalska A. Serum leptin in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int.* 2008;28(5):467-73.
63. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(5):911-9; quiz 20.
64. Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: Not a passive bystander. *Autoimmun Rev.* 2014;13(9):981-1000.
65. Arai S, Miyazaki T. Impacts of the apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) on obesity-associated inflammatory diseases. *Semin Immunopathol.* 2014;36(1):3-12.
66. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK, et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature.* 1997;387(6629):206-9.

67. Caza TN, Talaber G, Perl A. Metabolic regulation of organelle homeostasis in lupus T cells. *Clin Immunol.* 2012;144(3):200-13.
68. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998;394(6696):897-901.
69. Yu Y, Liu Y, Shi FD, Zou H, Matarese G, La Cava A. Cutting edge: Leptin-induced ROR $\gamma$  expression in CD4<sup>+</sup> T cells promotes Th17 responses in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2013;190(7):3054-8.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, estudamos as citocinas e as adipocinas em pacientes com LES atendidos em um Hospital Universitário. Observamos que o sistema TNF (TNF $\alpha$  e seus receptores 1 e 2) se associou às manifestações clínicas do LES, à atividade global da doença e ao índice de dano. Interessantemente as adipocinas, resistina e leptina, se associaram aos receptores de TNF. Esta correlação entre as adipocinas (tecido adiposo) e o sistema TNF ainda não tinha sido demonstrado em pacientes com LES, e é, portanto, uma contribuição original do nosso estudo. Surgiu então um questionamento: o tecido adiposo, produtor de adipocinas, poderia interferir no perfil de citocinas de pacientes com LES?

No segundo artigo deste trabalho estudamos se os pacientes com LES obesos teriam um perfil de citocinas diferente daqueles pacientes não obesos. Encontramos, neste estudo, que as citocinas IL6 e IL17 e a leptina se modificaram de acordo com o IMC. No entanto, não sabemos se estas modificações moleculares podem interferir nas manifestações clínicas, atividade da doença, resposta ao tratamento ou mesmo na evolução da doença. Estudos prospectivos que avaliem a associação entre as flutuações do IMC e das citocinas e as manifestações clínicas e a atividade da doença poderiam nos informar se a obesidade em pacientes com LES interfere na evolução da doença.

Os resultados destes estudos são muito importantes, pois a frequência de obesidade e de excesso de peso em pacientes com LES é muito elevada. Em torno de 30% das nossas pacientes são obesas e apresentam um tecido adiposo hipertrofiado e inflamado.

O conhecimento de que a obesidade no LES interfere na resposta metabólica já está bem estabelecido. A obesidade contribui para aumento da morbidade e mortalidade de pacientes com LES, pois é um dos fatores de risco para doença cardiovascular, está associada à maiores níveis glicêmicos, maior frequência de hipertensão arterial sistêmica, maior incidência de tumores sólidos e pior capacidade funcional, no entanto o estudo da obesidade como modificador do perfil inflamatório das pacientes com LES está começando. Este segundo artigo foi primeiro estudo em mulheres adultas que avaliou a correlação entre as citocinas com resposta Th1, Th2 e Th17 e o IMC.

Diante dos achados deste estudo, cabe aos reumatologistas ficarem atentos às modificações da composição corporal de seus pacientes. Identificar precocemente aqueles pacientes com excesso de gordura corporal e propor mudanças na terapêutica, instituir programas de educação com equipes multidisciplinares principalmente com nutricionistas, psicólogos e educadores físicos. Propor formas específicas de abordagem para estimular a cada consulta a consciência corporal, a importância de uma alimentação saudável e da atividade física. Assim teremos pacientes mais saudáveis, com menor risco de complicações e maior qualidade de vida.

## APÊNDICE A – ARTIGO I - Carta de Esclarecimento

### **CARTA DE ESCLARECIMENTO AOS PACIENTES** UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – HOSPITAL DAS CLÍNICAS

Sabemos que pacientes com lúpus têm uma chance maior de ter aterosclerose que a população sem lúpus. A aterosclerose provoca doenças como o “infarto do coração”, “angina”, o acidente vascular cerebral (“derrame”) e a insuficiência vascular periférica (“gangrena”), conjuntamente denominadas de Doença Cardiovascular Aterosclerótica.

Existem, já bem definidos, alguns fatores de risco para o aparecimento de aterosclerose na população geral. Fatores de risco representam algumas doenças ou costumes como pressão alta, diabetes, hábito de fumar, que aumentam a chance do paciente desenvolver doença cardiovascular. Alguns destes fatores de risco estão também presentes nos pacientes com lúpus. Além disto, algumas características do próprio lúpus podem aumentar o risco de aterosclerose.

Apesar de conhecermos quais são os fatores de risco para aterosclerose na população geral ainda não estão estabelecidos quais desses fatores e quais características do lúpus aumentam a chance de aparecimento e progressão da aterosclerose nas pessoas com lúpus.

O nosso objetivo nessa pesquisa é avaliar a progressão das alterações ateroscleróticas nas carótidas (uma artéria localizada no pescoço) dos pacientes com lúpus do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas – UFMG em um período de três anos. Iremos também estudar quais os fatores de risco tradicionais e relacionados ao lúpus e seu tratamento que aumentam a chance da progressão da aterosclerose.

Você está sendo convidado (a) a participar desse estudo por ter participado da pesquisa realizada entre 2005-2006 no Serviço. Os resultados do estudo atual serão comparados ao do estudo anterior. O benefício individual para o paciente é o de descobrir se possui fatores de risco para aterosclerose e se já apresenta aterosclerose nas artérias do pescoço. Poderemos estudar como os fatores de risco e a aterosclerose estão se comportando nesse período de três anos. Com essas informações será possível tomar medidas para diminuir o risco de angina, infarto, derrame ou gangrena novos ou

recorrentes. O benefício para outros pacientes com lúpus é definir os fatores de risco que estão presentes e o risco de aterosclerose, para podermos prevenir a doença.

Se você concordar em participar do estudo, deverá ser entrevistada pela Dra. Rosa Weiss Telles no mesmo dia de sua consulta. Durante o exame físico será mensurado altura, peso, cintura e serão palpados os pulsos dos pés. O seu prontuário será revisado para procurarmos manifestações da aterosclerose e os fatores de risco. A ultrassonografia da carótida será realizada em outro dia que será agendado com o seu conhecimento e consentimento.

Durante qualquer etapa do estudo você poderá tirar qualquer dúvida sobre as doenças e os fatores de risco que estaremos procurando. Você terá acesso aos resultados do estudo se assim desejar.

Em qualquer momento você poderá decidir não participar mais do estudo, sem qualquer prejuízo quanto à continuidade do seu tratamento.

Os dados encontrados no estudo poderão ser publicados e divulgados nos meios de comunicação médica como congressos e revistas.

*COEP/UFMG: Av. Antonio Carlos, 6627; Unidade Administrativa II – 2º andar  
– sala 2005; Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG, Brasil. CEP: 31270-901.*

*Telefax: 31 3409-4592. E-mail: coep@prpq.ufmg.br*

## APÊNDICE B – ARTIGO I : Termo de consentimento livre e esclarecido

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Universidade Federal de Minas Gerais

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo sobre “ATEROSCLEROSE NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: PROGRESSÃO DE ALTERAÇÕES ATEROSCLERÓTICAS EM CARÓTIDAS, ANÁLISE EM TRÊS ANOS”.

Eu discuti com a Dra. Rosa Weiss Telles sobre minha decisão em participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que tenho garantia do acesso ao meu tratamento. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou do meu atendimento neste serviço.

Eu \_\_\_\_\_,  
abaixo assinado, RG-HC/UFGM \_\_\_\_\_, após ler, ter entendido e não tendo nenhuma dúvida a respeito da carta de informação, dou meu consentimento em participar do estudo sobre a “ATEROSCLEROSE NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: PROGRESSÃO DE ALTERAÇÕES ATEROSCLERÓTICAS EM CARÓTIDAS, ANÁLISE EM TRÊS ANOS”.

---

Paciente

---

Testemunha

---

Pesquisador

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_\_.

## APÊNDICE C - ARTIGO II

Carta de esclarecimento e Termo de Consentimento  
para participação em pesquisa- PACIENTE

**Título da Pesquisa:** QUALIDADE DE VIDA E PERFIL INFLAMATÓRIO DE PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E EXCESSO DE GORDURA CORPORAL

**Investigadores principais:** Prof. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna, Prof. Dra. Maria Isabel Correia, Médica Fabiana de Miranda Moura (Telefone de contato: 9365-3534) e Nutricionista Juliana de Castro Lino. Telefone de contato: 84673643 (Juliana) e 9365-3534 (Fabiana). Endereço: Al. Álvaro Celso, 175 - Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas - 2º andar - Ambulatório Bias Fortes - Santa Efigênia.

Lúpus Eritematoso Sistêmico é uma doença reumática que acomete vários órgãos como a pele, os rins, as articulações, o coração, o pulmão, os vasos sanguíneos e ocorre um desequilíbrio do sistema imune. Acomete principalmente mulheres jovens e, geralmente, os pacientes apresentam períodos de melhora e piora.

Observamos, em estudo anterior que a maioria das pacientes avaliadas apresentavam sobrepeso ou obesidade, e esse excesso de gordura pode piorar a resposta ao tratamento e piorar o estado de doença das pacientes lúpicas.

A inflamação causada pelo lúpus, terapia com corticosteróides, redução da atividade física e alimentação inadequada levam a alterações do estado nutricional destes indivíduos que, por sua vez, interfere no curso da doença.

O objetivo deste estudo é avaliar se a inflamação sistêmica própria do excesso de gordura corporal em pacientes que já apresentam uma inflamação do lúpus poderá interferir no curso da doença.

Você precisará responder dois questionários e serão mensurados seu peso, altura e percentual de gordura corporal. A quantidade de gordura e água do seu corpo será medida com um aparelho especial de bioimpedância. Para uso deste aparelho você precisará ficar deitada por 10 minutos, serão colocadas quatro fitas adesivas, 2 nas mãos e 2 nos pés (semelhante ao eletrocardiograma do coração). Este exame não dói e não apresenta nenhum risco. Será coletada uma amostra do seu sangue (picada em veia); SE PERMITIR da mesma forma que é coletada para fazer exame de rotina, que será armazenada para dosar algumas substâncias. Mesmo que você não queira colher o sangue poderá continuar na pesquisa;

Com os resultados e informações os pesquisadores poderão conhecer o seu estado nutricional, perfil inflamatório, a qualidade de vida e alimentação, e se sua atividade física está adequada ou não. Com isso, poderão propor melhorias no tratamento dos pacientes com Lúpus e na qualidade de vida.

A pesquisa não acarretará nenhum risco para o participante. Ao final da pesquisa você saberá todos os resultados dos seus exames e avaliações.

Se você recusar participar da pesquisa o seu atendimento no ambulatório não será prejudicado. Você continuará o seu acompanhamento normalmente sem nenhuma restrição. Mesmo que tenha aceitado participar do estudo poderá, durante o mesmo, voltar atrás e pedir para ser retirado, sem qualquer penalização.

Se concordar em participar do estudo, os dados obtidos durante as consultas e preenchimento de questionários no ambulatório do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), serão passados para um protocolo próprio, assim como os exames feitos rotineiramente durante o acompanhamento. Os exames e consultas serão gratuitos.

As informações obtidas nesse estudo serão mantidas em sigilo, servirão apenas para a pesquisa e para o seu tratamento. Todos os participantes da pesquisa serão identificados por códigos acessados somente pelos pesquisadores.

Os dados encontrados no estudo poderão ser publicados e divulgados nos meios de comunicação médica como congressos e revistas.

**Consentimento:** Concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia do presente termo de consentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer dúvidas.

**Não haverá qualquer ressarcimento de despesas, em nenhuma hipótese.**

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/20\_\_\_\_.

**Assinaturas:**

**Assinatura do paciente**

**Assinatura do Médico ou Nutricionista**

**Assinatura da testemunha**

**Assinatura da testemunha**

**Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – 34094592**

**Comitê de Ética em Pesquisa - UFMG**

**Av. Pres. Antonio Carlos, 6627 - Campus Pampulha**

**Unidade Administrativa II - 2o. Andar -**

**Belo Horizonte-MG - Cep: 31270-901**

## APÊNDICE D – ARTIGO II



Termo de Consentimento para



## Participação em Pesquisa - CONTROLE

**Título da Pesquisa:** QUALIDADE DE VIDA E PERFIL INFLAMATÓRIO DE PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E EXCESSO DE GORDURA CORPORAL

**Investigadores principais:** Prof. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna, Prof. Dra. Maria Isabel Correia, Médica Fabiana de Miranda Moura (Telefone de contato: 9365-3534) e Nutricionista Juliana de Castro Lino. Telefone de contato: 84673643 (Juliana) e 9365-3534 (Fabiana). Endereço: Al. Álvaro Celso, 175 - Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas - 2º andar - Ambulatório Bias Fortes - Santa Efigênia.

**Objetivos:** Avaliar o perfil inflamatório de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico e excesso de gordura corporal e correlacionar com a qualidade de vida destas pacientes atendidas no serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Neste estudo haverá um grupo controle, constituído por voluntários saudáveis, cujo objetivo é comparar os dados desses indivíduos sadios com os dados de pacientes com Lúpus.

Eu estou sendo convidado a participar do grupo controle, constituído por voluntários saudáveis, porque sou uma pessoa saudável.

**Procedimentos:** Se eu concordar em participar do estudo, acontecerá o seguinte:

Responderei algumas questões sobre minha alimentação, atividade física e qualidade de vida;

Passarei por avaliação na qual serão aferidos meu peso, altura, e circunferência da cintura. A quantidade de gordura do meu corpo será medida com um aparelho especial de bioimpedância (não acarreta nenhuma invasão ao seu corpo). Para uso deste aparelho eu ficarei deitado por 10 minutos, serão colocadas quatro fitas adesivas, 2 nas mãos e 2 nos pés (semelhante ao eletrocardiograma do coração). Este exame não dói e não apresenta nenhum risco;

Será coletada uma amostra do meu sangue (picada em veia); SE EU PERMITIR da mesma forma que é coletada para fazer exame de rotina, que será armazenada para dosar algumas substâncias. Mesmo que eu não queira colher o sangue posso continuar na pesquisa;

**Benefícios:** Com os resultados e informações os pesquisadores poderão conhecer o meu estado nutricional, estado de inflamação, a qualidade de vida e alimentação, e se a minha atividade física está adequada ou não. Desta forma poderão comparar os meus resultados com os resultados dos pacientes com Lúpus. Além disso, poderão propor melhorias na minha qualidade de vida e também no tratamento das pacientes com Lúpus.

**Riscos:** Não existem riscos inerentes à participação na pesquisa.

**Confidencialidade:** As informações obtidas nesse estudo serão mantidas em sigilo, servirão apenas para a pesquisa e para o seu tratamento. Todos os participantes da pesquisa serão identificados por códigos acessados somente pelos pesquisadores. Os pesquisadores assumem o compromisso de utilizar o material biológico coletado apenas com a autorização dos sujeitos da pesquisa. Os dados encontrados no estudo poderão ser publicados e divulgados nos meios de comunicação médica como congressos e revistas.

**Direito de recusa:** Minha participação neste estudo é totalmente voluntária, sendo eu livre para recusar e tomar parte da pesquisa, sem afetar o tratamento do paciente que eu estou

acompanhando. Mesmo que tenha aceitado participar do estudo poderei, durante o mesmo, voltar atrás e pedir para ser retirado, sem qualquer penalização.

**Consentimento:** Concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia do presente termo de consentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer dúvidas.

**Não haverá qualquer ressarcimento de despesas, em nenhuma hipótese.**

**Data:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/20\_\_\_\_.

**Assinatura:**

**Assinatura do voluntário**

**Assinatura do Médico ou Nutricionista**

**Assinatura da testemunha**

**Assinatura da testemunha**

**Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – 34094592  
Comitê de Ética em Pesquisa - UFMG**

**Av. Pres. Antonio Carlos, 6627 - Campus Pampulha**

**Unidade Administrativa II - 2o. Andar -**

**Belo Horizonte-MG - Cep: 31270-901**

## APÊNDICE E- ARTIGO I: Protocolo de Pesquisa

### ATEROSCLEROSE NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: PROGRESSÃO DE ALTERAÇÕES ATEROSCLERÓTICAS EM CARÓTIDAS

Nome: \_\_\_\_\_

SAME: \_\_\_\_\_

Sexo (0. fem. 1. masc.): \_\_\_\_

Protocolo LES: \_\_\_\_\_

Protocolo DCV: \_\_\_\_\_

Data nasc: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_

Data 1º protocolo: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data 2º protocolo: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data 1º U-S: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data 2º U-S: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Legenda do protocolo, a não ser quando indicado:

0.Não

1.Sim

9.Não se aplica/Não realizado

T1 = estudo 2005-2006

I = intervalo entre estudos T2 = estudo atual

#### DOENÇA CARDIOVASCULAR manifesta

	<b>1</b>	<b>Data</b>	<b>T2</b>	<b>Data</b>
Eco	_____	____/____/____	____	____/____/____
DAP	_____	____/____/____	____	____/____/____
AVCi	_____	____/____/____	____	____/____/____
DCV manifesta	_____	____/____/____	____	____/____/____

**FATORES DE RISCO TRADICIONAIS:****História familiar:** \_\_\_\_**HAS:**

PA Sistólica (T1): \_\_\_\_ mmHg PA Sistólica (T2): \_\_\_\_ mmHg

PA Diastólica (T1): \_\_\_\_ mmHg PA Diastólica (T2): \_\_\_\_ mmHg

**Tabagismo:** \_\_\_\_ cigarros/dia**Obesidade:**

Altura (T1): \_\_\_\_ m

Altura (T2): \_\_\_\_ m

Peso (T1): \_\_\_\_ Kg

Peso (T2): \_\_\_\_ Kg

IMC (T1): \_\_\_\_ Kg/m<sup>2</sup>IMC (T2): \_\_\_\_ Kg/m<sup>2</sup>**Obesidade abdominal:**

Circunferência abdom.(T1): \_\_\_\_ cm

Circunferência abdom.(T2): \_\_\_\_ cm

**Menopausa:**

Idade Men: \_\_\_\_ anos

Tempo Men: \_\_\_\_ meses

Ausência de fluxo menstrual espontâneo há &gt;12 meses \_\_\_\_

TRH: \_\_\_\_ Irregularidade menstrual/amenorréia e FSH &gt; 20: \_\_\_\_

Fator de Risco	1		2	Data Início	Data Término
HAS				___/___/___	___/___/___
Tabagismo				___/___/___	___/___/___
Obesidade				___/___/___	___/___/___
Obesidade Abdominal				___/___/___	___/___/___
Diabetes Mellitus				___/___/___	___/___/___
Dislipidemia				___/___/___	___/___/___
HDL<40				___/___/___	___/___/___
LDL≥130				___/___/___	___/___/___
Col Total≥200				___/___/___	___/___/___
LDL>100				___/___/___	___/___/___
TGLs≥150				___/___/___	___/___/___
Menopausa				___/___/___	___/___/___

<b>Tratamento Medicamentoso</b>	<b>1</b>		<b>2</b>	<b>Data Início</b>	<b>Data Término</b>
<b>Anti-hipertensivo</b>				__/__/__	__/__/__
<b>Hipoglicemiante oral</b>				__/__/__	__/__/__
<b>Insulina</b>				__/__/__	__/__/__
<b>Estatina</b>				__/__/__	__/__/__
<b>Fibratos</b>				__/__/__	__/__/__

**RISCO ESTIMADO 10 ANOS (Escore de Framingham):**

**T1:** Valor: \_\_ \_\_ %      **T2:** Valor: \_\_ \_\_ %

**LES****Data da primeira consulta:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_**Data de diagnóstico:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_**Idade ao diagnóstico:** \_\_\_anos**Número de consultas (T1-T2):** \_\_\_**SLICC:** T1:\_\_\_ T2:\_\_\_**SLEDAI-2km:** T1:\_\_\_/101 T2:\_\_\_/101 Média:\_\_\_/101

<b>Manifestações LES</b>	<b>Doença</b>	<b>T1</b>	<b>I</b>	<b>T2</b>
<b>Mucocutâneas</b>	___	___	___	___
<b>Fotossensibilidade</b>	___	___	___	___
<b>LED</b>	___	___	___	___
<b>Rash Malar</b>	___	___	___	___
<b>Úlcera</b>	___	___	___	___
<b>Lúpus subagudo</b>	___	___	___	___
<b>Artrite</b>	___	___	___	___
<b>Serosite</b>	___	___	___	___
<b>Pleurite</b>	___	___	___	___
<b>Pericardite</b>	___	___	___	___
<b>Hematológica</b>	___	___	___	___
<b>Anemia Hemolítica</b>	___	___	___	___
<b>Plaquetopenia</b>	___	___	___	___
<b>Linfopenia</b>	___	___	___	___
<b>Leucopenia</b>	___	___	___	___
<b>Neuropsiquiátrica</b>	___	___	___	___
<b>Psicose</b>	___	___	___	___
<b>Convulsão</b>	___	___	___	___
<b>Par craniano</b>	___	___	___	___
<b>Neuropatia periférica</b>	___	___	___	___
<b>Mielite transversa</b>	___	___	___	___
<b>Nefrite</b>	___	___	___	___
<b>Proteinúria &gt;3,5g/24hs</b>	___	___	___	___
<b>DRC</b>	___	___	___	___
<b>Vasculite</b>	___	___	___	___

**Anticorpos (em qualquer momento):**

FAN: \_\_\_ Anti-Sm: \_\_\_ Anti-DNA: \_\_\_

VDRL: \_\_\_ LA: \_\_\_ aCL: \_\_\_

**MEDICAÇÕES:**

Medicamentos LES	1		2	Data Início	Data Término
Corticóide VO				___/___/___	___/___/___
Metilprednisolona EV				___/___/___	___/___/___
Antimalárico				___/___/___	___/___/___
Ciclofosfamida EV				___/___/___	___/___/___
Ciclofosfamida VO				___/___/___	___/___/___
Azatioprina				___/___/___	___/___/___
Ciclosporina				___/___/___	___/___/___
Metotrexato				___/___/___	___/___/___
Micofenolato mofetil				___/___/___	___/___/___
Imunossuppressores				___/___/___	___/___/___

**Corticoide:**

Dose T1: \_\_\_\_, \_\_ mg/dia

Dose atual (T2): \_\_\_\_, \_\_ mg/dia

Dose T1-T2: \_\_\_\_, \_\_ g

Dose máxima: \_\_\_\_, \_\_ mg/dia

Dose acumulada total: \_\_\_\_, \_\_ g

**Antimaláricos:**

Qual (1.DFC 2.HCQ): T1: \_\_

T2: \_\_

APENDICE F- ARTIGO II: Protocolo de pesquisa



**Protocolo**



Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Tel.: ( ) \_\_\_\_\_

SAME: \_\_\_\_\_

Protocolo w3: \_\_\_\_\_

Data nasc: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_

Data M<sub>0</sub>: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data do diagnóstico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade ao diagnóstico: \_\_\_\_

Tempo de doença: \_\_\_\_

Data da primeira consulta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Tempo de acompanhamento: \_\_\_\_

Escolaridade: \_\_\_\_ anos estudados

Grau de escolaridade: \_\_\_\_ (0-não se aplica; 1-ensino fundamental completo; 2-ensino médio completo; 3-ensino superior completo)

**Manifestações LES**

(0- não 1- sim 9- não se aplica)

**Acumulada**

**M<sub>0</sub>**

**Mucocutâneas**

Fotossensibilidade

LED

Rash Malar

Úlcera

Lúpus subagudo

**Artrite**

**Serosite**

Pleurite

Pericardite

**Hematológica**

Anemia hemolítica com reticulocitose

Plaquetopenia (<100.000)

Linfopenia (<1500; duas ocasiões)

Leucopenia (<4000; duas ocasiões)

### **Neuropsiquiátrica**

Psicose

Convulsão

Par craniano

Neuropatia periférica

Mielite transversa

### **Nefrite**

Proteinúria >0,5g/24hs ou cilindros celulares

DRC

### **Vasculite**

**Imunológica** (anti DNA, anti SM, ACL, LA, VDRL)

### **COMORBIDADES (0-não; 1-sim)**

**M<sub>0</sub>**

HAS

\_\_\_\_\_/ PA: \_\_\_\_ x \_\_\_\_

Obesidade

Dislipidemia

HDL<40

LDL $\geq$ 130

LDL $\geq$ 100

CT $\geq$ 200

TGLs $\geq$ 150

Menopausa

\_\_\_\_\_

FSH: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_

<b>Medicamentos (0-não; 1-sim)</b>	<b>M<sub>0</sub></b>
<b>Corticoide VO</b>	Dose:
<b>Dose acumulada corticoide</b>	Dose:
<b>Metilprednisolona EV</b>	Dose:
<b>Antimalárico</b>	Dose:
<b>Ciclofosfamida EV</b>	Dose:
<b>Ciclofosfamida VO</b>	Dose:
<b>Azatioprina</b>	Dose:
<b>Ciclosporina</b>	Dose:
<b>Metotrexato</b>	Dose:
<b>Micofenolato mofetil</b>	Dose:
<b>Imunossuppressores</b>	Dose:
<b>Carbonato de cálcio</b>	Dose:
<b>Vitamina D</b>	Dose:

Dose acumulada corticoide : \_\_\_\_ \_\_\_\_, \_\_\_\_ g

Antimaláricos: Qual (1.DFC 2.HCQ) M<sub>0</sub>: \_\_\_\_

## Exames laboratoriais

**Nome:**

---

**Prontuário:** \_\_\_\_\_

**Protocolo:** \_\_\_\_\_

Exame	Resultado	M <sub>0</sub>	Data
Hb			
Ht			
VCM			
HCM			
Plaquetas			
Leucócitos			
Neutrófilos			
Linfócitos			
Uréia			
Creatinina			
Glicemia de jejum			
TGO			
TGP			
Colesterol total			
LDL colesterol			
HDL colesterol			
Triglicerídeos			
Vitamina D			
Cálcio			
VHS			

PCR

C3

C4

CH50

Anti DNA

**Atividade física:** (0- sedentário; 1- insuficientemente ativo; 2-ativo)  $M_0$ : \_\_\_\_\_

**Qualidade de vida**

**$M_0$**

Capacidade funcional

Dor

Vitalidade

Aspectos emocionais

Aspectos físicos

Estado geral de saúde

Aspectos sociais

Saúde mental

Total

## APENDICE G – ARTIGO II Avaliação Nutricional

**Nome:**

---

**Prontuário:** \_\_\_\_\_

**Protocolo:** \_\_\_\_\_

**M<sub>0</sub>**

**Peso**

**Altura**

**IMC**

1-Magreza III; 2-Magreza II; 3-Magreza I; 4-Eutrofia; 5-Pré-obeso; 6-Obeso I; 7-Obeso II; 8-Obeso III

**Bioimpedância**

**M<sub>0</sub>**

GORDURA (%)

GORDURA (Kg)

MASSA MAGRA (%)

MASSA MAGRA (Kg)

TAXA METABÓLICA BASAL (Kcal/dia)

AGUA CORPORAL (litros)

AGUA CORPORAL (% peso corporal)

AGUA CORPORAL (% massa magra)

BIORESITÊNCIA (ohms)

REACTÂNCIA (ohms)

**Bioimpedância RJL**

**M<sub>0</sub>**

GORDURA (%)

GORDURA (Kg)

MASSA MAGRA (%)

MASSA MAGRA (Kg)

TAXA METABÓLICA BASAL (Kcal/dia)

AGUA CORPORAL TOTAL (%)

AGUA CORPORAL INTRACELULAR (%)

AGUA CORPORAL EXTRACELULAR (%)

BIORESITÊNCIA (ohms)

REACTÂNCIA (ohms)

**CRITÉRIOS PARA SÍNDROME METABÓLICA**  
(0 - fora do recomendado, 1 - normal)

**M<sub>0</sub>**

**CC (cm)**

Classificação

**TG (mg/dl)**

Classificação

**HDL - col (mg/dl)**

Classificação

**PRESSAO ARTERIAL (mmHg)**

PA \_\_\_\_ X \_\_\_\_

Uso de medicamento (0-não; 1-sim)

Classificação

**GLICEMIA (mg/dl)**

Classificação

**SÍNDROME METABÓLICA? (0-não; 1-sim)**

## ANEXO A

# *Assessment of nutritional status and physical activity in systemic lupus erythematosus patients*

Fabiana de Miranda Moura dos Santos, Mariane Curado Borges, Maria Isabel Toulson Davisson Correia, Rosa Weiss Telles, Cristina Costa Duarte Lanna

## ABSTRACT

**Introduction:** Patients with systemic lupus erythematosus (SLE) may present nutritional changes triggered by disease or treatment, and these conditions may interfere with prognosis. **Objective:** Assess the nutritional status, physical activity and associated factors in patients with SLE under treatment at the Service of Rheumatology of Hospital das Clínicas/Universidade Federal de Minas Gerais. **Methods:** A cross-sectional study evaluating the nutritional status, clinical laboratory findings, sociodemographic, and treatment characteristics of 170 SLE female patients. **Results:** Patients aged between 18 and 60 years were included. The mean (SD) age of patients and duration of SLE was 39.1 (10.0) and 9.9 (6.2) years, respectively. Two (1.2%) patients were classified as grade I underweight, 59 (34.7%) eutrophic, 61 (35.9%) as overweight, 37 (21.8%) as grade I obesity, seven (4.1%) as grade II obesity, and four (2.4%) as grade III obesity. Overweight and obesity were significantly associated with older age, lower education, higher SLE damage index, higher serum concentration of complement, higher incidence of hypertension and *diabetes mellitus*, presence of ovarian failure, and less frequent use of antimalarials. Regarding physical activity, 39 patients (22.9%) were classified as inactive, 100 (58.8%) insufficiently active, and 31 (18.2%) active. Of the latter, 13 (43.3%) were in the eutrophic group. **Conclusion:** Excess weight was high in this population and associated with some traditional risk factors for cardiovascular disease and SLE poor prognosis. Therefore, encouraging weight control must be part of the main goals in treating SLE patients.

## ANEXO B

*Nutritional status and food intake in  
patients with systemic lupus  
erythematosus*

Mariane Curado Borges, Fabiana de Miranda Moura dos Santos, Rosa Weiss Telles,  
Cristina Costa Duarte Lanna, Maria Isabel T.D. Correia

## ABSTRACT

**Objective:** Systemic inflammation, therapy with corticosteroids, and reduced physical activity may increase the predisposition to accumulate body fat in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). The aim of this study was to assess the nutritional status and food intake of patients with SLE.

**Methods:** One hundred seventy women with SLE were evaluated consecutively in a cross-sectional study. Nutritional status was assessed by subjective global assessment and body mass index. Food intake was assessed by a 24-h recall and semiquantitative food frequency questionnaire. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), considering  $P < 0.05$  as significant.

**Results:** The mean  $\pm$  SD age of the patients was  $39.14 \pm 9.98$  y, and the duration of the disease was  $9.94 \pm 6.18$  y. Approximately 91.8% patients were classified as being well nourished; 6.5% were classified as suspected or moderately malnourished, and 1.8% were classified as severely malnourished. In terms of body mass index, malnutrition was found in 1.2% of the patients, normal weight in 35.9%, overweight in 35.3%, and obesity in 27.7%. Most patients reported food consumption below the estimated needs for energy. Calcium was the nutrient with the most inadequate intake. Low consumption of fruits, vegetables, and dairy products and a high consumption of oils and fats were reported.

**Conclusion:** The results showed that patients with SLE have inadequate nutritional status and food intake.

## ANEXO C

*Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus*

Fabiana de Miranda Moura dos Santos, Mariane Curado Borges, Rosa Weiss Telles, Maria Isabel T. D. Correia, Cristina Costa Duarte Lanna

## ABSTRACT

The objective of this study is to determine the socio-demographic, clinical and laboratory characteristics of outpatients with SLE who present with excess weight as well as to assess the immunosuppressive therapy used. One hundred and seventy women with SLE were evaluated consecutively in a transversal study. The relationship between excess weight and the patients' characteristics was evaluated using univariate and multivariate Poisson regression analysis. Of the 170 patients evaluated, 109 presented with excess weight, two were malnourished and 59 were classified as eutrophic. Age and disease duration of those with excess weight were  $42.4 \pm 8.7$  and  $10.4 \pm 6.2$  years, respectively. Risk factors associated with excess weight were the following: age  $\geq 40$  years,  $< 8$  years of education, lack of occupation, damage index  $\geq 1$ , systemic high blood pressure, diabetes mellitus and triglycerides  $\geq 150$  mg/dL levels. The use of antimalarial therapy and steroids was associated with a lower frequency of excess weight. Age  $\geq 40$  years and the non-usage of methotrexate were the variables independently associated with excess weight in the multivariate analysis. Patients with SLE who have excess weight present distinct clinical-laboratory findings, socio-demographic characteristics and treatment options when compared to normal weight patients. Prospective studies should assess whether these characteristics will interfere with the outcome or prognosis of lupus.

## ANEXO D

*Polyunsaturated omega-3 fatty acids  
and systemic lupus erythematosus: what  
do we know?*

Mariane Curado Borgesa, Fabiana de Miranda Moura Santos, Rosa Weiss Telles, Maria Isabel Toulson Davisson Correia e Cristina Costa Duarte Lanna

## ABSTRACT

Various studies have demonstrated the impact of omega-3 fatty acids on concentration of C reactive protein (CRP), pro-inflammatory eicosanoids, cytokines, chemokines and other inflammatory mediators. Therefore, the supplementation of these types of lipids may represent an additional treatment option for chronic systemic disease, such as systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. The role of these lipids has not been well established yet. However, it seems there is a direct relationship between its intake and the decrease of disease clinical manifestations as well as of inflammatory status of the patients. Thus the aim of this manuscript is to present a thorough review on the effects of omega-3 fatty acids in patients with SLE. Bibliographic data set as the medical literature analysis and retrieval system online (medline) and literature latino-americana e do Caribe em ciências da saúde (LILACS) were searched using as key words: systemic lupus erythematosus (SLE), polyunsaturated fatty acids omega-3, eicosapentanoic acid (EPA), docosahexanoic acid (DHA), antioxidants in diet. Manuscripts published up to September 2013 were included. There were 43 articles related to the topic, however only 15 pertained human studies, with three review articles and 12 clinical studies.

ANEXO E - **ARTIGO I** Carta do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos/UFMG



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

**Parecer nº. ETIC 274/08**

**Interessado(a): Prof. Antonio Luiz Pinho Ribeiro  
Departamento de Aparelho Locomotor  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 18 de agosto de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Aterosclerose no Lúpus Eritematoso Sistêmico: progressão de alterações ateroscleróticas em carótidas, análise em três anos**" 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.



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

ANEXO F- **ARTIGO I** Carta da Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão  
do Hospital das Clínicas/UFMG



**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Hospital das Clínicas**  
Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão - DEPE

**UFMG**

Belo Horizonte, 28 de agosto de 2008.

**PROCESSO Nº 042/08**

**TÍTULO: “ATEROSCLEROSE NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO:  
PROGRESSÃO DE ALTERAÇÕES ATROSCLERÓTICAS EM CARÓTIDA,  
ANÁLISE EM TRÊS ANOS”**

**SR(A) PESQUISADOR(A):**

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 HC e a aprovação pelo COEP/UFMG em 18/08/2008, esta Diretoria aprova seu desenvolvimento no âmbito institucional. Solicitamos enviar à DEPE **relatório** parcial ou final, após um ano.

Atenciosamente,

  
**PROF. HENRIQUE VITOR LEITE**  
Diretor da DEPE/HC-UFMG

À Sr<sup>a</sup>.  
Rosa Weiss Telles  
Dpto. Reumatologia  
Faculdade de Farmácia da UFMG

ANEXO G- **ARTIGO II** – Carta do Comitê de Ética em Pesquisa em  
Seres Humanos/UFMG



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

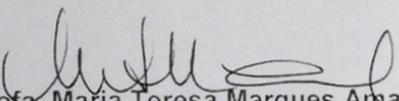
Projeto: CAAE –17087313.2.0000.5149

Interessado(a): Profa. Cristina Costa Duarte Lanna  
Departamento de Aparelho Locomotor  
Faculdade de Medicina- UFMG

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 05 de agosto de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Qualidade de vida e perfil inflamatório de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico e excesso de gordura corporal**" 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 H- **ARTIGO II** Carta da Diretoria de Ensino, Pesquisa e  
Extensão do Hospital das Clínicas/UFMG



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

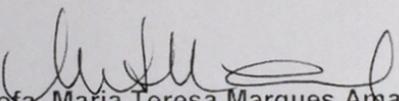
Projeto: CAAE -17087313.2.0000.5149

Interessado(a): Profa. Cristina Costa Duarte Lanna  
Departamento de Aparelho Locomotor  
Faculdade de Medicina- UFMG

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 05 de agosto de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Qualidade de vida e perfil inflamatório de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico e excesso de gordura corporal**" 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 I– Critério de Classificação para Lúpus Eritematoso Sistêmico do  
Colégio Americano de Reumatologia

<b>Critério</b>	<b>Definição</b>
<b>Eritema malar</b>	Eritema fixo, plano ou elevado, sobre as eminências malares e que tende a respeitar as pregas nasolabiais.
<b>Lesão Discoide</b>	Placas eritematosas sobrelevadas, com descamação queratótica e obstrução folicular; cicatrização atrófica pode ocorrer em lesões antigas.
<b>Fotossensibilidade</b>	Exantema cutâneo, resultado de reação anormal da pele à luz solar, relatado por paciente ou observado por médico.
<b>Úlceração mucosa</b>	Úlceração oral ou nasofaríngea, geralmente indolor, observada por médico.
<b>Artrite não erosiva</b>	Artrite envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor à palpação, edema ou derrame articulares.
<b>Serosite</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Pleurite: história convincente de dor pleurítica ou atrito pleural auscultado por médico ou evidência de derrame pleural OU</li> <li>b) Pericardite: documentada por ECG, presença de atrito pericárdico ou evidência de derrame pericárdico.</li> </ul>
<b>Nefrite</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Proteinúria persistente &gt;0,5g/d ou &gt;3+ OU</li> <li>b) Cilindros celulares: granulosos, hemáticos ou mistos.</li> </ul>
<b>Alteração neurológica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Convulsões: na ausência de uma causa, como drogas ou distúrbios metabólicos OU</li> <li>b) Psicose: na ausência de uma causa, como drogas ou distúrbio metabólico.</li> </ul>
<b>Alterações</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Anemia hemolítica: com reticulocitose OU</li> </ul>

- hematológicas**
- b) Leucopenia:  $<4.000/\text{mm}^3$  em duas ou mais ocasiões OU
  - c) Linfopenia:  $<1.500/\text{mm}^3$  em duas ou mais ocasiões OU
  - d) Plaquetopenia:  $<1150.000/\text{mm}^3$ ; na ausência de drogas como causa.
- Alterações imunológicas**
- a) Anticorpos anti-DNA nativo em títulos anormais OU
  - b) Anticorpos anti-Sm positivo OU
  - c) Anticorpos antifosfolípidos baseados em: nível sérico anormal de anticorpos anticardiolipina, frações IgM ou IgG, ou teste positivo para anticoagulante lúpico, utilizando método padrão, ou prova sorológica falsamente positiva para sífilis por pelo menos 6 meses e confirmada pela reação com o antígeno treponêmico ou hemaglutinação passiva, utilizando hemácias recobertas com antígenos treponêmicos.
- Anticorpo antinuclear**
- Título anormal de anticorpo antinúcleo por imunofluorescência ou por teste equivalente, em qualquer fase e na ausência de drogas que causam síndrome de “lúpus induzido por drogas”.

**A propósito de se identificar pacientes com LES para estudos clínicos, deve-se ter 4 ou mais dos 11 critérios, de forma seriada ou simultânea, durante qualquer intervalo da observação.**

ANEXO J – Formulário para cálculo do índice de atividade do lúpus eritematoso sistêmico, SLEDAI-2k

PESO	DESCRIÇÃO	DEFINIÇÃO
8	<b>Convulsão</b>	Início recente. Excluído causas metabólicas, infecciosas ou por drogas
8	<b>Psicose</b>	Habilidade alterada de realizar atividades normais devido à grave distúrbio na percepção da realidade. Inclui alucinações, incoerência, perda significativa de associações, conteúdo inadequado do pensamento, pensamento ilógico, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Exclui uremia e drogas.
8	<b>Síndrome cerebral orgânica</b>	Função mental alterada com prejuízo da orientação, memória ou outra função intelectual, com início e flutuações súbitas. Inclui alteração do nível de consciência com diminuição da capacidade de concentração e incapacidade de sustentar atenção no meio-ambiente associado a 2 dos seguintes: distúrbios persecutórios, discurso incoerente, insônia ou sonolência diurna, atividade psicomotora aumentada ou diminuída. Excluir causas infecciosas, metabólicas ou drogas.
8	<b>Distúrbio visual</b>	Alterações retinianas do LES. Inclui corpos citóides, hemorragia retiniana, exsudado seroso ou hemorragia na coróide, neurite ótica. Excluir hipertensão, infecção e

		drogas.
8	<b>Par craniano</b>	Início de neuropatia sensorial ou motora.
8	<b>Cefaléia lúpica</b>	Cefaléia intensa e persistente podendo ser tipo enxaqueca, mas tem que ser resistente ao uso de narcóticos.
8	<b>AVC</b>	AVC novo. Exclui aterosclerose.
8	<b>Vasculite</b>	Ulceração, gangrena, nódulos em dedos, infartos periungueais, hemorragias pontuais, biópsia ou arteriografia comprovando vasculite.
4	<b>Artrite</b>	Mais de 2 articulações com dor e flogose
4	<b>Miosite</b>	Fraqueza/dor muscular proximal associado a aumento de CK-T/aldolase ou ENMG ou biópsia muscular.
4	<b>Cilindrúria</b>	Granular hemático ou celular de hemácias
4	<b>Hematúria</b>	> 5 hemácias/cp. Excluir infecção, nefrolitíase ou outra causa.
4	<b>Piúria</b>	>5 leucócitos/cp. Excluir infecção.
4	<b>Proteinúria</b>	>0,5 mg/24hs
2	<b>Erupção cutânea</b>	Erupção cutânea com sinais de inflamação.
2	<b>Alopécia</b>	Queda de cabelo anormal difusa ou localizada.
2	<b>Úlcera mucosa</b>	Úlceras orais ou nasais.
2	<b>Pleurite</b>	Dor torácica pleurítica com atrito ou derrame pleural ou espessamento pleural.
2	<b>Pericardite</b>	Dor pericárdica com mais um dos seguintes: derrame, atrito ou ECG, ou ECO.
2	<b>Complemento</b>	Diminuição de CH50, C3, C4 abaixo do limite normal do

		laboratório.
<b>2</b>	<b>Aumento de anti-DNA</b>	>25% do título de anti-DNA ou valor acima do normal para referência do laboratório
<b>1</b>	<b>Febre</b>	>38°C. Excluir infecção.
<b>1</b>	<b>Trombocitopenia</b>	< 100.000 plaquetas/mm <sup>3</sup>
<b>1</b>	<b>Leucopenia</b>	< 3.000 leucócitos/ mm <sup>3</sup> . Excluir drogas.

ANEXO K – Questionário para cálculo do índice de dano segundo proposto pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics / American College of Rheumatology (SLICC/ACR)*

ITEM	ESCORE
<b>1. Alteração Ocular – qualquer olho, avaliação clínica</b>	
a) Catarata	1
b) Lesão retiniana <i>ou</i> atrofia ótica	1
<b>2. Alteração Neuropsiquiátrica</b>	
a) Alteração cognitiva (ex. déficit de memória, dificuldade de cálculo, baixa concentração, dificuldade de falar ou escrever) <i>ou</i> psicose	1
b) Convulsão necessitando de terapia por 6 meses	1
c) Acidente vascular cerebral em qualquer momento (escore 2 se >1)	1 (2)
d) Neuropatia periférica ou craniana (excluir ótica)	1
e) Mielite transversa	1
<b>3. Alteração Renal</b>	
a) Ritmo de filtração glomerular estimado ou medido <50%	1
b) Proteinúria $\geq 3,5$ mg/24hs <i>ou</i>	1
c) Insuficiência renal crônica terminal (diálise ou transplante)	3
<b>4. Alteração Pulmonar</b>	
a) Hipertensão pulmonar (proeminência de ventrículo direito <i>ou</i> hiperfonese de segunda bulha)	1
b) Fibrose pulmonar (exame físico <i>ou</i> radiografia)	1
c) Pulmão retraído (radiografia)	1

d) Fibrose pleural (radiografia)	1
e) Infarto pulmonar (radiografia)	1
<b>5. Alteração Cardiovascular</b>	
a) Angina <i>ou</i> <i>bypass</i> coronariano	1
b) Infarto do miocárdio (escore 2 se >1)	1 (2)
c) Miocardiopatia (disfunção ventricular)	1
d) Doença valvular (sopro diastólico ou sistólico >3/6)	1
e) Pericardite por 6 meses <i>ou</i> pericardiectomia	1
<b>6. Doença Vascular Periférica</b>	
a) Claudicação por 6 meses	1
b) Perda tecidual pequena (polpa)	1
c) Perda tecidual significativa (ex. perda digital ou membro) (escore 2 se >1 local)	1 (2)
d) Trombose venosa com edema, ulceração ou estase venosa	1
<b>7. Alteração Gastrointestinal</b>	
a) Infarto ou ressecção intestinal abaixo do duodeno, baço, fígado ou vesícula biliar, por qualquer causa (escore 2 se >1 local)	1 (2)
b) Insuficiência mesentérica	1
c) Peritonite crônica	1
d) Estenose <i>ou</i> cirurgia do trato gastrointestinal superior em qualquer momento	1
<b>8. Lesão Musculoesquelética</b>	
a) Atrofia ou fraqueza muscular	1
b) Artrite erosiva ou deformante (inclusive deformidades redutíveis, excluindo necrose avascular)	1

c) Osteoporose com fratura ou colapso vertebral (excluindo necrose avascular)	1
d) Necrose avascular (escore 2 se >1)	1 (2)
e) Osteomielite	1
<b>9. Lesão de Pele</b>	
a) Alopecia crônica cicatricial	1
b) Cicatriz extensa em outro local além de couro cabeludo e polpa digital	1
c) Ulceração cutânea (excluindo trombose) por >6 meses	1
<b>10. Falência Gonadal Prematura</b> (antes dos 40 anos de idade)	1
<b>11. Diabetes Melito</b> (independente de tratamento)	1
<b>12. Malignidade</b> (excluindo displasia) (escore 2 se >1 local)	1 (2)

**\* Dano, segundo proposição do SLICC (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*), definido como alterações irreversíveis não relacionada à inflamação ativa, ocorrendo a partir do início do LES, avaliada por abordagem clínica e presente por, pelo menos, 6 meses. Episódios repetidos devem ocorrer após no mínimo 6 meses para escore 2. A mesma lesão não pode ser considerada 2 vezes.**

ANEXO L - Associação entre sTNFR1 e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Tabela : Associação entre sTNFR1 e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Variáveis	Presente (ug/ml) Mediana (IIQ)	Ausente (ug/ml) Mediana (IIQ)	Valor de p
Mucocutânea	1,37 (1,14 – 1,67)	1,44 (1,10 – 1,91)	0,574
Fotossensibilidade	1,16 (0,96 – 6,79)	1,44 (1,13 – 1,88)	0,160
Lesão discóide	1,36 (1,21- 1,71)	1,41 (1,10 – 1,89)	0,928
Rash malar	1,37 (1,06 – 1,68)	1,44 (1,14 – 1,88)	0,470
Lesão subaguda	1,30 (0,83 – 1,78)	1,41 (1,12 – 1,87)	0,588
Artrite	1,91 (1,70 – 2,31)	1,38 (1,10 – 1,84)	<b>0,025</b>
Disordens hematológicas	1,40 (0,93 – 2,07)	1,42 (1,08 – 1,86)	0,660
Plaquetopenia	1,60 (0,93 – 2,07)	1,41 (1,11 – 1,86)	0,923
Linfopenia	1,47 (1,18 – 1,96)	1,38 (1,08 – 1,84)	0,331
Leucopenia	1,39 (1,23 – 2,09)	1,41 (1,09 – 1,86)	0,459
Nefrite	1,89 (1,38 – 3,07)	1,38 (1,07 – 1,77)	<b>&lt;0,001</b>
Síndrome nefrótica	1,73 (1,59 – 1,88)	1,40 (1,11 – 1,86)	0,406
Vasculite	1,35 (1,01 – 1,75)	1,42 (1,11 – 1,87)	0,606
Prednisona	1,44 (1,34 – 1,88)	1,38 (1,10 – 1,85)	0,777
Prednisona >20 mg	1,46 (1,04 – 2,06)	1,41 (1,12 – 1,86)	0,884
Antimalárico	1,38 (1,04 – 1,78)	1,62 (1,11 – 1,92)	<b>0,040</b>
Imunossupressor	1,39 (1,06 – 1,87)	1,47 (1,15 – 1,87)	0,615
Azatioprina	1,40 (1,10 – 1,94)	1,42 (1,12 – 1,86)	0,680
Metotrexato	1,26 (0,95 – 1,78)	1,46 (1,14 – 1,91)	0,126
Ciclofosfamida	1,54 (1,12 – 1,80)	1,41 (1,08 – 1,87)	0,941

ANEXO M - Associação entre sTNFR2 e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Tabela : Associação entre sTNFR2 e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Variáveis	Presente (ug/ml) Mediana (IIQ)	Ausente (ug/ml) Median(IIQ)	Valor de p
Mucocutânea	4,46 (3,75 – 5,51)	4,06 (3,55 – 6,04)	0,903
Fotossensibilidade	4,21 (3,03 – 4,90)	4,57 (3,65 -4,99)	0,767
Lesão discoide	4,99 (4,00 – 5,15)	4,50 (3,53 – 5,93)	0,447
Rash malar	4,05 (3,46 – 5,15)	4,60 (3,63 – 6,09)	0,208
Lesão subaguda	6,17 (4,15 – 8,19)	4,57 (3,60 – 5,84)	0,406
Artrite	4,94 (3,77 - 6,66)	4,50 (3,61 – 5,84)	0,526
Hematológicas	4,55 (3,76 – 5,81)	4,57 (3,58 – 5,98)	0,870
Plaquetopenia	4,93 (3,69 – 6,60)	4,57 (3,61 – 5,85)	0,728
Linfopenia	4,61 (3,81 – 6,21)	4,36 (3,52 – 5,73)	0,293
Leucopenia	4,60 (3,39 – 5,72)	4,55 (3,69 – 6,02)	0,676
Nefrite	6,43 (4,94 – 9,63)	4,35 (3,50 – 5,26)	<b>&lt;0,001</b>
Síndrome nefrótica	7,25 (6,95 – 7,56)	4,52 (3,60 -5,74)	<b>0,063</b>
Vasculite	5,74 (4,28 – 6,77)	4,52 (3,58 – 5,82)	0,262
Prednisona	4,60 (3,60 -6,28)	4,26 (3,60 – 5,09)	0,363
Pred > 20 mg	4,45 (3,22 – 6,64)	4,60 (3,69 – 5,84)	0,966
Antimalárico	4,32 (3,58 – 5,61)	4,93 (3,78 – 6,71)	0,363
Imunossupressor	4,50 (3,56 – 5,69)	4,61 (3,65 – 6,04)	0,629
Azatioprina	4,66 (3,60 – 5,59)	4,47 (3,60 – 5,89)	0,696
Metotrexato	4,14 (3,54 – 5,13)	4,62 (3,62 – 6,03)	0,202
Ciclofosfamida	4,97 (2,70 – 6,96)	4,55 (3,62 – 5,85)	0,941

ANEXO N - Associação entre TNF $\alpha$  e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Tabela: Associação entre TNF $\alpha$  e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Variáveis	Presente (ug/ml) Mediana (IIQ)	Ausente (ug/ml) Mediana (IIQ)	Valor de p
Mucocutânea	1,348 (0,24 – 15,19)	4,14 (0,55 – 27,92)	0,216
Fotossensibilidade	11,11 (1,70 – 133,40)	3,60 (0,4 – 24,80)	0,327
Lesão discóide	0,9 (0,2 – 11,8)	4,00 (5,00 – 28,50)	0,214
Rash malar	1,30 (2,00 – 16,60)	4,10 (5,00 – 25,00)	0,284
Lesão subaguda	5,00 (0,00 – 10,00)	3,90 (5,00 – 25,00)	0,155
Artrite	24,20 (54,00 – 148,0)	3,10 (0,40 – 20,4)	<b>0,014</b>
Desordens hematológicas	4,10 (0,80 -28,6)	3,30 (0,20 – 23,9)	0,507
Plaquetopenia	1,50 (0,60 – 5,00)	3,90 (0,4 – 25,7)	0,478
Linfopenia	3,00 (0,70 – 17,80)	3,9 (0,20 – 26,80)	0,926
Leucopenia	6,40 (0,80 – 95,20)	3,20 (0,40 – 20,40)	0,160
Nefrite	1,20 (0,10 – 10,10)	4,20 (0,50 – 27,90)	0,180
Síndrome nefrótica	2,90 (0,00 – 0,50)	3,90 (0,5 – 25,00)	0,105
Vasculite	5,00 ( 1,70 – 7,70)	3,30 (0,40 – 25,70)	0,928
Prednisona	3,70 (0,50 – 23,20)	3,60 (0,20 – 38,90)	0,994
Prednisona > 20	4,00 (0,50 – 19,1)	3,3 (0,4 – 27,3)	0,942
Antimalárico	4,00 ( 0,40 – 23,90)	2,7 (0,50 – 65,20)	0,816
Imunossupressor	3,00 (0,60 -20,40)	4,10 (0,20 – 26,60)	0,998
Azatioprina	3,60 (0,50 – 56,90)	3,70 (0,50 – 24,40)	0,959
Metotrexato	2,60 (0,60 – 25,30)	3,90 (0,40 – 23,90)	0,920
Ciclofosfamida	7,20 (1,00 – 25,0)	3,30 (0,40 – 25,10)	0,551

ANEXO O - Associação entre adiponectina e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 135 com LES

Tabela : Associação entre adiponectina e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 135 com LES

Variáveis	Presente* Mediana (IIQ)	Ausente* Mediana (IIQ)	Valor de p
Mucocutânea	10,52 (4,93 – 13,96)	17,97 (7,19 – 19,09)	0,198
Fotossensibilidade	14,08 (6,48 – 36,34)	11,30 (7,07 -17,64)	0,604
Lesão discoide	10,09 (4,08 – 14,64)	11,58 (7,13 - 18,60)	0,261
Rash malar	9,66 (94,93 –14,80)	11,53 (7,18 –18,40)	0,271
Lesão subaguda	14,45 (13,05 – 15,39)	11,26 (7,06 – 18,02)	0,512
Artrite	10,90 (5,60 – 14,01)	11,33 (7,06 – 18,02)	0,522
Hematológicas	12,49 (7,93 – 18,86)	10,70 (6,72 – 18,02)	0,185
Plaquetopenia	19,72 (17,34 – 25,50)	11,11 (7,06 – 17,23)	<b>0,022</b>
Linfopenia	13,42 (7,50 – 19,55)	10,62 (7,06 – 17,14)	0,073
Leucopenia	12,64 (8,78 – 19,48)	11,20 (6,70 – 17,74)	0,244
Nefrite	16,01 (11,62 – 21,95)	10,63 (6,79 – 16,52)	<b>0,013</b>
Síndrome nefrótica	19,24 (11,11 – 27,37)	11,30 (7,06 – 1,76)	0,299
Vasculite	1,69 (6,20 – 25,33)	1,12 (7,07 – 17,64)	0,452
Prednisona	11,97 (7,41 – 18,80)	9,61 (5,63 – 16,17)	0,120
Pred > 20mg	14,64 (9,28 – 19,08)	10,78 (6,82 – 17,49)	<b>0,094</b>
Antimalárico	12,35 (8,63 – 19,35)	9,13 (5,42 – 14,27)	<b>0,008</b>
Imunossupressor	11,96 (6,69 – 18,71)	10,43 (7,13 – 17,52)	0,642
Azatioprina	11,58 (6,61 – 16,15)	11,90 (7,18 - 19,08)	0,385
Metotrexato	13,45 (8,61 – 19,93)	10,84 (7,01 – 16,87)	0,172
Ciclofosfamida	15,39 (11,04 – 24,61)	11,20 (7,06 – 17,54)	0,137

ANEXO P - Associação entre resistina e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Tabela : Associação entre resistina e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Variáveis	Presente* Mediana (IIQ)	Ausente* Mediana (IIQ)	Valor de P
Mucocutânea	1,848 (1,49 – 2,56)	2,10 (1,74 – 2,57)	0,273
Fotossensibilidade	1,48 (1,20 – 1,68)	2,10 (1,70 – 2,57)	<b>0,014</b>
Lesão discoide	1,84 (1,52 – 3,03)	2,09 (1,71 – 2,56)	0,562
Rash malar	1,97 (1,34 – 3,25)	2,09 (1,64 – 2,54)	0,880
Lesão subaguda	1,79 (1,61 – 1,96)	2,08 (1,64 – 2,56)	0,416
Artrite	1,97 (1,66 – 2,58)	2,07 (1,64 – 2,56)	0,858
Hematológicas	1,92 (1,64 – 2,43)	2,12 (1,63 – 2,67)	0,360
Plaquetopenia	2,65 (1,81 – 3,02)	2,05 (1,64 – 2,55)	0,252
Linfopenia	1,95 (1,71 – 2,43)	2,10 (1,60 – 2,67)	0,563
Leucopenia	1,77 (1,57 – 2,32)	2,13 (1,73 – 2,59)	0,108
Nefrite	2,24 (1,78 – 2,88)	2,02 (1,64 – 2,56)	0,185
Síndrome nefrótica	2,27 (2,19 – 2,35)	2,05 (1,64 – 2,56)	0,504
Vasculite	2,03 (1,28 – 2,40)	2,07 (1,64 – 2,57)	0,580
Prednisona	2,13 (1,68 – 2,60)	1,99 (1,63 – 2,48)	0,526
Pred >20mg	2,10 (1,35 – 2,33)	2,60 (1,71 – 2,67)	0,199
Antimalárico	2,00 (1,64 – 2,48)	2,15 (1,64 – 2,66)	0,511
Imunossupressor	1,95 (1,63 – 2,48)	2,10 (1,64 – 2,63)	0,438
Azatioprina	1,96 (1,53 – 2,48)	2,08 (1,74 – 2,68)	0,210
Metotrexato	1,94 (1,78 – 2,79)	2,08 (1,61 – 2,56)	0,603
Ciclofosfamida	1,84 (1,60 – 2,28)	2,09 (1,64 – 2,58)	0,272

ANEXO Q - Associação entre leptina e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

Tabela : Associação entre leptina e manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES

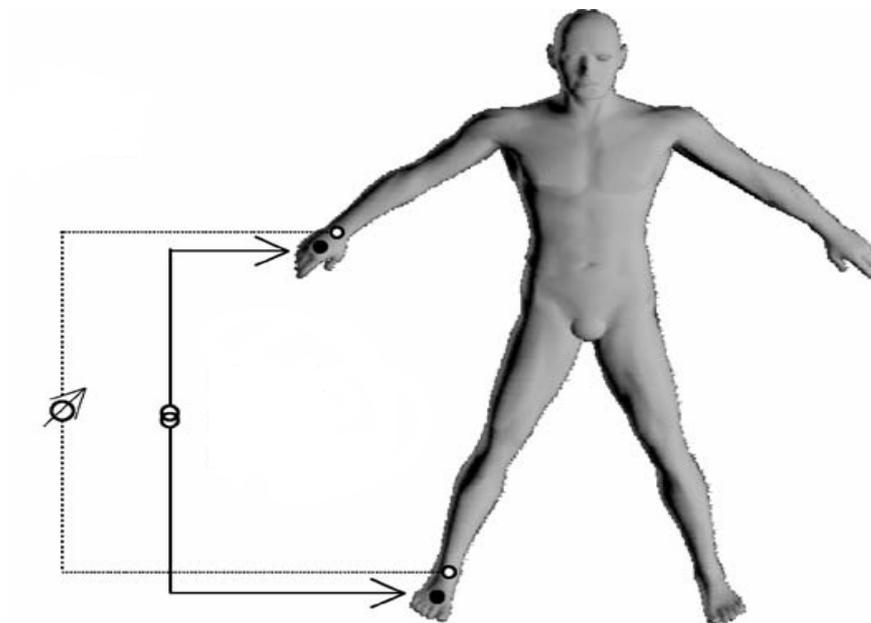
Variáveis	Presente* Mediana (IIQ)	Ausente* Mediana (IIQ)	Valor de p
Mucocutânea	1,99 (1,36 - 1,89)	1,77 (1,55 - 1,99)	0,157
Fotossensibilidade	1,50 (1,24 - 1,97)	1,75 (1,54 - 1,98)	0,341
Lesão discoide	1,71 (1,52 - 1,84)	1,76 (1,53 - 1,99)	0,315
Rash malar	1,68 (1,33 - 1,96)	1,76 (1,55 - 1,98)	0,243
Lesão subaguda	1,58 (1,32 - 1,85)	1,75 (1,54 - 1,98)	0,515
Artrite	1,71 (1,42 - 1,82)	1,75 (1,52 - 1,99)	0,160
Hematológicas	1,68 (1,47 - 1,98)	1,78 (1,55 - 1,98)	0,361
Plaquetopenia	1,75 (1,56 - 2,09)	1,75 (1,51 - 1,98)	0,882
Linfopenia	1,69 (1,50 - 1,97)	1,77 (1,52 - 1,99)	0,457
Leucopenia	1,63 (1,43 - 1,95)	1,77 (1,56 - 1,99)	0,125
Nefrite	1,88 (1,66 - 2,06)	1,76 (1,51 - 1,97)	0,182
Síndrome nefrótica	1,86 (1,81 - 1,91)	1,74 (1,51 - 1,98)	0,575
Vasculite	1,87 (1,59 - 2,06)	1,74 (1,54 - 1,98)	0,495
Prednisona	1,78 (1,55 - 1,98)	1,68 (1,45 - 1,98)	0,239
Pred >20 mg	1,81 (1,51 - 1,98)	1,72 (1,54 - 1,98)	0,768
Antimalárico	1,72 (1,51 - 1,96)	1,78 (1,55 - 2,05)	0,594
Imunossupressor	1,84 (1,56 - 2,04)	1,71 (1,49 - 1,92)	<b>0,053</b>
Azatioprina	1,93 (1,64 - 2,08)	1,71 (1,51 - 1,93)	<b>0,013</b>
Metotrexato	1,75 (1,54 - 1,97)	1,75 (1,51 - 1,99)	0,885
Ciclofosfamida	1,68 (1,49 - 1,85)	1,75 (1,53 - 1,98)	0,373

**ANEXO R - Classificação nutricional de acordo com o índice de massa corporal (IMC).**

Tabela 1: Classificação nutricional de acordo com o índice de massa corporal (IMC).

<b><i>Classificação</i></b>	<b><i>IMC</i></b>
Magreza grau III	< 16,00 kg/m <sup>2</sup>
Magreza grau II	16,00 a 16,99 kg/m <sup>2</sup>
Magreza grau I	17,00 a 18,49 kg/m <sup>2</sup>
Eutrofia	18,50 a 24,99 kg/m <sup>2</sup>
Pré-obeso	25,00 a 29,99 kg/m <sup>2</sup>
Obesidade Classe I	30,00 a 34,99 kg/m <sup>2</sup>
Obesidade Classe II	35,00 a 39,99 kg/m <sup>2</sup>
Obesidade Classe III	≥ 40,00 kg/m <sup>2</sup>

## ANEXO S: Locais de colocação dos eletrodos da bioimpedância.



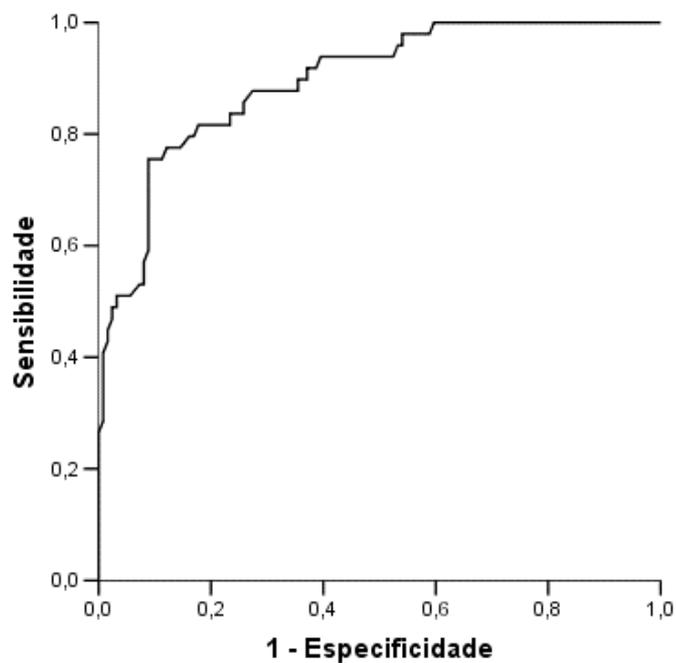
Fonte: KYLE et al., 2004.

ANEXO T :Valores de referência para percentuais de gordura em mulheres

Valores de referência para percentuais de gordura em mulheres

<b>Idade</b>	<b>Baixo</b>	<b>Recomendado</b>	<b>Alto</b>	<b>Muito alto</b>
20-39	5-20	21-33	34-38	>38
40-59	5-22	23-34	35-40	>40
60-79	5-23	24-36	37-41	>41

## ANEXO U: Curva ROC



Medida	Área curva ROC	IC 95%	Valor p
IMC	0,895	0,844 ; 0,945	<0,0001
CC	0,877	0,814 ; 0,941	<0,0001

IMC: índice de massa corporal, CC: circunferência da cintura

## ANEXO V : Características sócio demográficas e composição corporal dos pacientes e controles

Características sócio demográficas e composição corporal em 190 pacientes e 70 indivíduos do grupo controle

Variáveis	Pacientes LES (N=190)/ N(%)	Controles (N=70)/N(%)	p
Idade*	37,51 (9,97)	39,6 (10,68)	0,131
Escolaridade**	10 (5-12)	11 ( 3,75-12)	0,817
Ocupação (180/70)**	88 (48,9)	56 (80,0)	<0,001
RFM (178/67)**	2 (2-2)	2 (2- 2)	0,411
Menopausa	53 (27,9)	14 (20)	0,092
IMC*	27,44 (6,00)	27,97( 6,09)	0,045
GC (%) (172/65)	30,54 (6,39)	32,73 (7,82)	0,058
GC (Kg)**(172/65)	20,2 (15,0 -26,10)	23,2 (15,4 – 30,32)	0,052

= media (DP), \* = mediana (IIQ), RFM = renda familiar mensal, GC = gordura corporal

## ANEXO X – Submissão do artigo : **Adipokines, tumor necrosis factor and its receptors in systemic lupus erythematosus**

### Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *The Journal of Rheumatology*.

Manuscript ID:	2015-0431
Title:	Adipokines, tumor necrosis factor and its receptors in systemic lupus erythematosus
Authors:	Santos, Fabiana Telles, Rosa Rocha, Natalia Miranda, Aline Júnior, Antônio Lúcio Ribeiro, Antonio Lanna, Cristina
Date Submitted:	07-Apr-2015

[Print](#) [Return to Dashboard](#)

## Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease, which pathogenesis is complex and still not completely understood. In SLE, stimulation of the immune system results in autoantibody production, immune complex deposition and inflammatory cytokine release. Cytokines are soluble factors that can participate in the differentiation, maturation and activation of the immune system (1).

Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) is a pleiotropic cytokine that elicits different reactions under various physiological and pathological conditions. TNF $\alpha$  participates in the activation and development of B and T lymphocytes and can induce apoptosis (2). It also contributes to the pathogenesis of SLE through inflammatory actions and through the regulation of immune function (3). TNF $\alpha$  can stimulate the production of membrane receptors (4), which become soluble and bind to serum TNF $\alpha$ , avoiding its inactivation by other inhibitory cytokines (5). Some studies have shown that TNF $\alpha$  and its receptors might be elevated in the serum of patients with SLE (6, 7). TNF $\alpha$  and its receptors are associated with higher disease activity and kidney involvement (4, 8).

Adipokines also participate in the regulation of the immune system and systemic inflammation (9). Leptin and resistin usually have pro-inflammatory effects, and adiponectin has an anti-inflammatory action in individuals without autoimmune disorders (10). In chronic inflammatory diseases such as SLE, adipokines, leptin and adiponectin levels in particular, are usually elevated, compared with healthy individuals (11-13). In these, adipokines, particularly leptin, might stimulate the production of TNF $\alpha$  by macrophages, thus modifying the cytokine profile (13).

Few studies have addressed the associations between adipokines (leptin, adiponectin and resistin) and inflammatory cytokines or between the former and

clinical, laboratory and treatment-related manifestations in individuals with SLE (14, 15). It is also not yet known whether the TNF system, composed of TNF $\alpha$  and its soluble receptors 1 (sTNFR1) and 2 (sTNFR2), mediate the inflammatory action of adipokines in SLE (16, 17). In this context, the aim of the present study was to assess how adipokines and the TNF system are associated with each other, as well as the clinical, laboratory and treatment-related characteristics of SLE.

## **Patients and methods**

### ***Patients***

This cross-sectional study approved by The Research Ethics Committee of UFMG and the Teaching, Research and Extension Board, HC/UFMG (ETIC no. 272/08) and conducted at the Rheumatology Unit, at Hospital das Clínicas, Universidade Federal of Minas Gerais.

Participants were female individuals diagnosed with SLE (according to the 1997 update of the 1982 American College of Rheumatology revised criteria (ACR 82/97)(18, 19), who were older than 18 years of age and who signed an informed consent form. None of the patients had acute or chronic infection, cancer, and severe renal or hepatic impairment.

### ***Methods***

Data on sociodemographic characteristics, clinical and laboratory manifestations according to the ACR 82/97 lupus criteria (18, 19) and use of medication were collected via forms and interviews. Disease activity was measured using the modified *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*, without the serologic variables anti-dsDNA and complement (SLEDAI-2K $m$ ) (20, 21).

Irreversible cumulative damage was measured by means of the *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index (SLICC/SDI)* (22).

The patients were divided into two groups according to disease activity: SLEDAI-2K $m < 4$  (low disease activity) and SLEDAI-2K $m \geq 4$  (moderate and high disease activity) at study inclusion ( $T_0$ ) (23).

According to BMI, patients were classified as normal weight (BMI = 18.6-24.9 kg/m<sup>2</sup>), overweight (BMI = 25-29.9 kg/m<sup>2</sup>) and obese (BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) based on the criteria of the World Health Organization (24).

At the time of clinical assessment ( $T_0$ ), serum samples were collected in sterile tubes, centrifuged for 20 minutes, frozen and stored at -70 °C. The serum was diluted 10-fold prior to measuring cytokine levels, except for TNF $\alpha$ . Adiponectin, leptin, resistin, TNF $\alpha$ , sTNFR1 and sTNFR2 were analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (Duoset, R&D Systems, Minneapolis, MN) according to the manufacturer's instructions.

The test sensitivity was 2.5 pg/ml for TNF $\alpha$  and 5.0 pg/ml for the remainder of the assessed molecules.

### **Statistical analysis**

A database was created using the software EpiData<sup>®</sup> version 3.1 (EpiData Association, Odense, Denmark). The software Statistical Package for Social Sciences (SPSS<sup>®</sup>) version 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA.) was used for the statistical analysis.

In order to assess potential associations between clinical characteristics and the TNF system or adipokines, the non-parametric U-Mann-Whitney, Chi-square or Fisher's exact tests were used when appropriate. Associations between the TNF system and adipokines were investigated by means of Spearman's correlation test.

Multiple linear regression was used for multivariate analysis after logarithmic transformation of the dependent variables included in the models. The independent variables to be included in the model were selected based on their statistical significance in the univariate analysis and their likely biological association. To fit the model, four patients with outliers of sTNFR1 levels were excluded.

The significance level was set to 5% ( $p < 0.05$ ) in all analyses.

## **Results**

### ***Patients' characteristics***

The median and interquartile range (IQR) age and disease duration of the 136 assessed women were 41.5 (33.0-49.7) years old and 11.3 (7.8-15.8) years; 105 (77.2%) participants were classified as nonwhite, and 67 (49.3%) were postmenopausal. Cumulative revised ACR classification indicated mucocutaneous manifestations in 50.7% of the patients, hematological disorders in 77.2%, arthritis in 21.3%, nephritis in 35.3%, serositis in 3.7%, and neuropsychiatric disorders in 0.7%. Considering immunological criteria, 28.7% of patients were positive for anti-Sm, 47.8% for double stranded anti-DNA, 9.6% false-positive VDRL, 25.7% for anti-cardiolipin IgM or IgG, and 12.5% for lupus anticoagulant. The median cumulative prednisone dose was 36.5g (22.9-51.1), and the current daily prednisone dose was 5.0 mg/day (0.0-10.0).

The disease and treatment characteristics of patients at the study inclusion ( $T_0$ )

are described in Table 1. The median (IQR) SLEDAI-2K $m$  was 0 (0-4) and the median (IQR) SLICC/S/DI was 2 (1-3). The Number (%) of patients with SLEDAI 2k-m  $\geq$  4 was [35 (25,7%)] and  $<$  4 [101(74,3%)].

### ***Serum cytokine concentrations***

Table 2 presents the serum adipokines levels and the TNF $\alpha$  system components in the 136 participants as well as the serum levels of these factors according to disease activity as assessed by the SLEDAI-2K $m$ .

### ***TNF $\alpha$ system and clinical manifestations analysis***

Positive correlation between sTNFR1 and sTNFR2 levels (rs: 0.745;  $p <$  0.001) was observed. However, no correlation was identified between TNF $\alpha$  and sTNFR1 (rs: 0.960;  $p =$  0.680) or sTNFR2 (rs: 0.106;  $p =$  0.221).

Higher sTNFR1 levels were associated with nephritis [no nephritis: 1.38 (1.08-1.80) ng/ml *versus* nephritis: 1.89 (1.38-3.07) ng/ml;  $p <$  0.001] and arthritis [no arthritis: 1.38 (1.10-1.84) ng/ml *versus* arthritis: 1.91 (1.70-2.31) ng/ml;  $p =$  0.025]. Higher levels of sTNFR1 were correlated with age (rs = 0.178;  $p =$  0.039) and the presence of menopause (no menopause: 1.34 ng/ml *versus* menopause: 1.65 ng/ml;  $p <$  0.001) and inversely correlated with creatinine clearance (rs = - 0.299;  $p <$  0.001). Higher sTNFR1 levels were found among those participants who were not using antimalarial drugs [not using: 1.62 (1.11-1.93) ng/ml *versus* using: 1.38 (1.04-1.78) ng/ml;  $p =$  0.04).

Higher sTNFR2 levels were associated with the presence of nephritis [no nephritis: 4.35 (3.50-5.26) ng/ml *versus* nephritis: 6.43 (4.94-9.63) ng/ml;  $p <$  0.001], and higher serum TNF $\alpha$  levels were associated with arthritis [no arthritis: 0.03 (0.00 - 0.20) ng/ml *versus* arthritis: 0.242 (0.05-1.48) ng/ml;  $p =$  0.014].

Positive correlations were found between disease activity and serum sTNFR1 ( $r_s = 0.219$ ,  $p = 0.011$ ) and sTNFR2 ( $r_s = 0.292$ ;  $p = 0.003$ ) concentrations (Figure 1). Serum sTNFR1 ( $p = 0.001$ ) and sTNFR2 ( $p = 0.001$ ) levels were higher among the participants with moderate/high active disease *versus* those with inactive/low disease (Table 2). Similarly, positive correlations were found between the damage index and sTNFR1 ( $r_s = 0.427$ ,  $p < 0.001$ ) and sTNFR2 ( $r_s = 0.245$ ;  $p = 0.005$ ) levels (Figure 1). However, no correlation was found between TNF $\alpha$  levels and disease activity or SLICC-ACR/DI score.

In the multivariate analysis, independent associations were found between sTNFR1 and sTNFR2 and disease activity and damage indexes (Table 3).

#### ***Adipokines and clinical manifestations***

The body mass index median (BMI) of the 136 participants was 26.4 (23.6-30.6) kg/m<sup>2</sup>; 38% were of normal weight, 30.6% were overweight and 31.4% were obese. A weak positive correlation was found between serum leptin levels and BMI ( $r_s = 0.168$ ;  $p = 0.051$ ), and an inverse correlation was found between serum adiponectin levels and BMI ( $r_s = - 0.287$ ;  $p = 0.001$ ). No correlation was found between BMI and resistin levels ( $r_s = 0.058$ ;  $p = 0.501$ ).

Regarding organ damage, there was no correlation between SLICC/SDI and serum leptin levels ( $r_s = - 0,055$ ;  $p = 0,528$ ), resistin ( $r_s = 0,101$ ;  $p = 0,243$ ) or adiponectin ( $r_s = - 0,062$ ;  $p = 0,479$ ). Similarly, there was no association between the serum adipokines levels and disease activity (Table 2).

Higher serum adiponectin levels were correlated with thrombocytopenia (no thrombocytopenia: 11.11 ng/ml *versus* thrombocytopenia: 19.72 mg/ml;  $p = 0.022$ ), nephritis (no nephritis: 10.63 ng/ml *versus* nephritis: 16.01 ng/ml;  $p = 0.013$ ) and use of

antimalarial drugs (not using: 9.13 ng/ml *versus* using: 12.35 ng/ml;  $p= 0.008$ ). Creatinine clearance was inversely correlated with resistin ( $rs= -0.219$ ;  $p= 0.011$ ) and adiponectin ( $rs= -0.178$ ;  $p= 0.039$ ) levels. Higher leptin concentrations were associated with azathioprine use (not using: 1.71 ng/ml *versus* using: 1.93 mg/ml;  $p= 0.013$ ).

In the multivariate analysis, higher serum adiponectin levels were independently associated with the presence of thrombocytopenia, presence of nephritis and use of antimalarial drugs (Table 4).

#### ***TNF $\alpha$ , its receptors and adypokines***

Leptin serum levels were correlated with sTNFR2 ( $rs= 0.414$ ;  $p= 0.002$ ) concentrations and resistin with sTNFR1 ( $rs= 0.489$ ;  $p< 0.001$ ) and sTNFR2 ( $rs= 0.298$ ;  $p< 0.001$ ) concentrations.

#### **Discussion**

In the present study of 136 SLE female patients a positive association was observed between TNF $\alpha$  receptors levels and nephritis, arthritis, disease activity and damage index. Adiponectin levels were associated with nephritis and antimalarial drugs use.

Other authors have found similar association between TNF $\alpha$  receptors and disease activity (4), renal (8, 25) and cutaneous involvement (26). Mahmoud et al. analyzed 44 patients and found that those with diffuse proliferative lupus nephritis exhibited the highest serum TNF $\alpha$  and sTNFR2 concentrations (27). The evidence suggesting the role of TNF in the pathogenesis of nephritis were published by Takemura et al., who demonstrated TNF $\alpha$  deposition in the glomeruli of patients with SLE and different types of nephritis (28), and by Zhu et al., who detected greater TNF $\alpha$

gene expression in patients with class III and IV nephritis (8).

In the present study we found an association, so far unpublished, between arthritis and the sTNFR1. This is a very interest data considering the observation of arthritis improvement during treatment of lupus patients with TNF $\alpha$  inhibitors (29). We also describe a reduction in sTNFR1 levels in the patients using antimalarial drugs. Treatment with such drugs is known to reduce several clinical and laboratory parameters of active disease in patients with SLE (30). Sacre et al. demonstrated that the inhibition of the toll-like receptors (TLRs) TLR7 and 9, in dendritic cells in particular, by antimalarial drugs, could interfere with interferon  $\gamma$  production and consequently in TNF $\alpha$  releasing (31). Although effective in reducing TNF $\alpha$  concentrations, clinical experience with TNF blockade in SLE patients is limited. There are data suggesting efficacy of an induction regimen of TNF blockers for lupus nephritis, hemophagocytic syndrome, and interstitial lung disease. Nonetheless, it may increase the level of autoantibodies and the risk of life-threatening adverse events in long-term use (32).

The systemic immune deregulation observed in SLE, involve in the local inflammatory response that ultimately leads to tissue injury and end organ damage (33). Interesting correlation of sTNFR1 and sTNFR2 with organ damage as assessed by SLICC/SDI, was showed in this study. The association of high TNF $\alpha$  serum levels and the accrued organ damage after five-years follow up has been previously described (33), thus the highest levels of TNF receptors could be considered worse prognosis markers and indicate the persistence of inflammation in those patients with lupus who have permanent damage.

In the present study, we did not find an association between adipokines and disease activity similar to other studies (11, 35-39). Although, Almedhed et al.

studied 163 women with SLE and found an association between resistin and lower complement levels (14). Regarding the damage index, contrasting with our results greater damage index has been reported in individuals with higher resistin and leptin levels (15, 36, 39).

With regard to adipokines and the clinical manifestations and treatment of the disease, higher levels of adiponectin were associated with the presence of nephritis and antimalarial drugs use. These findings were similar to Rovin et al. results, which detected higher serum and urinary adiponectin levels in individuals with SLE and nephritis compared to patients without nephritis, and to healthy individuals (40). This and others studies suggested that adiponectin might be considered a marker of renal disease activity (41, 42). Considering that this adipokine usually behaves as an anti-inflammatory cytokine; the results presented here indicate a possible counter-regulation of the immune system that would stimulate adiponectin production in response to inflammatory stimuli associated to nephritis. Furthermore, adiponectin can behave as pro-inflammatory adipokine in SLE, depending upon the isoform. Song et al postulated that the high-molecular weight isoforms, but not the low-molecular weight, induce the expression of the pro-inflammatory chemokines MCP-1 and IL-8 (41).

According to several studies, circulating leptin levels are directly correlated with body mass index (BMI) in both healthy individuals and SLE patients (11-13, 38). By contrast, the association of leptin with the clinical manifestations and pharmacological treatment of SLE remains poorly understood. Wislowska et al. studied 30 individuals with SLE and found lower leptin levels among those with arthritis or with involvement of the central nervous system (11). In the present study, no association between leptin levels and any clinical manifestation was observed, however a positive association was established between leptin levels and azathioprine

use. De Sanctis et al. reported the opposite trend upon assessing 60 SLE patients: subjects taking a combination of corticosteroids with immunomodulators and immunosuppressive drugs exhibited lower leptin concentrations compared to non treated patients (37).

The association between clinical manifestations of SLE and resistin has been seldom described in the literature. In the present study, we found that higher resistin concentrations were correlated with lower creatinine clearance. Similarly, Baker et al. reported that patients with SLE and higher serum resistin levels exhibited lower creatinine clearance. These authors also showed that patients with higher levels of serum resistin had proteinuria history (36). Studies conducted with individuals without autoimmune diseases found the same correlation between elevated resistin levels and kidney dysfunction, which might be explained by the fact that resistin is mainly excreted in the urine (43-45).

An original contribution of our study is the identification, in SLE patients, of a correlation between the adipokines (leptin and resistin) levels and TNF $\alpha$  receptors. We found correlations between leptin and sTNFR2, and between resistin and both sTNFR1 and sTNFR2. The correlation of leptin and TNF system has been described in individuals without lupus (16, 17, 46). Leptin can induce T cell activation and modification of T cell response to Th1 pattern, in addition to inhibiting regulatory T cells (Tregs) (10, 47, 48). TNF $\alpha$  can stimulate leptin release by adipose tissue, while leptin can increase the expression of inflammatory mediators such as TNF $\alpha$  (13). It is known that resistin can induce the production of IL6, IL1 $\beta$  and TNF $\alpha$  (49) and is also elevated in inflammatory diseases like rheumatoid arthritis (50) and inflammatory bowel disease (46). Almehed et al. found a positive correlation between resistin and IL6, IL6 receptor and TNF $\alpha$  when they analyzed 163 SLE women (14).

As a limitation, we quote the cross-sectional design of the present study, which does not allow the assessment of changes in the levels of adipokines and TNF system with fluctuations of disease activity. Prospective studies are more suitable to address the relation between these two classes of molecules. I find that, despite you found significant statistical correlations, there is too much data dispersion to consider it as a potential marker and, as you acknowledged, the number of patients with high activity is small and it weakens the results. We also hypothesized that the low SLEDAI of patients in the present study may have affected the identification of correlation between disease activity and serum levels of adipokines.

In conclusion, TNF $\alpha$ , its receptors and adipokines were associated with arthritis and nephritis. The sTNFR1 correlated with global activity and the organic injury of lupus, suggesting that this could be used as a marker of disease activity. Resistin and leptin were associated with higher concentrations of TNF receptors. This correlation between the two systems (adipokines and TNF system) allows a better understanding of the role of adipokines in the inflammatory response in SLE patients.

Acknowledgments: This work was funded by CNPq, Fapemig and NEBiD/UFGM

TABLE 1

Table 1: Characteristics of patients at study inclusion (T<sub>0</sub>)

Variable	T <sub>0</sub> N (%)
<b>Clinical manifestations</b>	
Mucocutaneous	26 (19.1)
Arthritis	9 (6.6)
Serositis (pleurisy)	1 (0.7)
Hematological	48 (35.3)
Hemolytic anemia	1 (0.75)
Leukopenia	21 (15.4)
Lymphopenia	44 (32.4)
Thrombocytopenia	4 (2.9)
Neuropsychiatric	0
Nephritis	22 (16.2)
Nephrotic syndrome	2 (1.5)
Vasculitis	4 (2.9)
<b>Medication</b>	
Corticosteroids	94 (69.1)
Antimalarial	88 (64.7)
Immunosuppressors	67 (44.3)
Azathioprine	38 (28.0)
Methotrexate	22 (16.2)
Cyclosporine	0
Cyclophosphamide	7 (5.1)
Mycophenolate Mofetil	0

TABLE 2

Table 2: Comparison of adipokines and TNF $\alpha$ , sTNFR1 and sTNFR2 in 136 patients, according to activity index

Cytokines	Total	SLEDAI- 2Km < 4	SLEDAI- 2Km $\geq$ 4	p <sup>#</sup>
Median (IRQ)	(N = 136)	(N=101)	(N=35)	
Leptin (ng/ml)	1.75 1.52 – 1.98)	1.75 (1.55 – 1.99)	1.75 (1.49 – 1.92)	0.743
Resistin (ng/ml)	2.07 1.65 – 2.56)	2.05 (1.64 – 2.59)	2.09 (1.60 – 2.46)	0.917
Adiponectin <sup>a</sup> (ng/ml)	11.30 7.07-18.03)	10.76 (7.07 – 16.56)	14.64 (6.37 – 19.20)	0.176
TNF $\alpha$ (pg/ml)	0.04 0.00 – 0.25)	0.03 (0.03 – 0.25)	0.04 (0.08 – 0.14)	0.502
sTNFR1 (ng/ml)	1.42 1.12 – 1.87)	1.38 (1.07 – 1.74)	1.81 (1.34 – 2.32)	0.001
sTNFR2 (ng/ml)	4.58 (3.62 – 5.86)	4.32 (3.56 – 5.52)	5.74 (4.06 -7.56)	0.001

a - N= 135 ; TNF $\alpha$  = tumor necrosis factor-alpha, sTNFR1 = soluble TNF receptor 1, sTNFR2 soluble TNF receptor 2

TABLE 3

Table 3 Logistic regression of activity and damage index with sTNFR1 and sTNFR2 of patients

Variable	Log sTNFR1	Log sTNFR2
	B (IC95%);p	B (IC95%); p
SLED AI m	0.01 (0.03 - 0.02) p = 0.003	0.01 (0.06-0.22) p <0.001
SLIC C	0.04 (0.02 - 0.05) p < 0.001	0.03 (0.02-0,05) p < 0.001

Log = logarithmic; SLEDAI m = activity index; SLIC C = damage index; a - Results are adjusted for age, menopause, creatinine clearance and antimalarial use

TABLE 4

Table 4 - Logistic regression of adiponectin log with clinical characteristics and medication of 136 patients

Variable	$\beta$	Valor de p
Thrombocytopenia	0.146	0.065
Nephritis	0.212	0.009
Antimalaria	0.196	0.015

1

a - Adjusted for age, BMI (body mass index) and creatinine clearance

### **Bibliography references**

1. Su DL, Lu ZM, Shen MN, Li X, Sun LY. Roles of pro - and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *J Biomed Biotechnol.* 2012;1:1-15.
2. Postal M, Appenzeller S. The role of Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-alpha) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine.* 2011;56:537-43.
3. Heilig B, Fiehn C, Brockhaus M, Gallati H, Pezzutto A, Hunstein W. Evaluation of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors and TNF receptor antibodies in patients with systemic lupus erythematoses, progressive systemic sclerosis, and mixed connective tissue disease. *J Clin Immunol.* 1993;13:321-8.
4. Aderka D, Wysenbeek A, Engelmann H, Cope AP, Brennan F, Molad Y, et al. Correlation between serum levels of soluble tumor necrosis factor receptor and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1993;36:1111-20.
5. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med.* 1992;175:323-9.
6. Davas EM, Tsirogianni A, Kappou I, Karamitsos D, Economidou I, Dantis PC. Serum IL-6, TNFalpha, p55 srTNFalpha, p75srTNFalpha, srIL-2alpha levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 1999;18:17-22.
7. Gabay C, Cakir N, Moral F, Roux-Lombard P, Meyer O, Dayer JM, et al. Circulating levels of tumor necrosis factor soluble receptors in systemic lupus erythematosus are significantly higher than in other rheumatic diseases and correlate with disease activity. *J Rheumatol.* 1997;24:303-8.

8. Zhu L, Yang X, Ji Y, Chen W, Guan W, Zhou SF, et al. Up-regulated renal expression of TNF-alpha signalling adapter proteins in lupus glomerulonephritis. *Lupus*. 2009;18:116-27.
9. Toussiroot E, Streit G, Wendling D. The contribution of adipose tissue and adipokines to inflammation in joint diseases. *Curr Med Chem*. 2007;14:1095-100.
10. Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. The role of adipokines in connective tissue diseases. *Eur J Nutr*. 2012;51:513-28.
11. Wislowska M, Rok M, Stepien K, Kuklo-Kowalska A. Serum leptin in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2008;28:467-73.
12. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382:250-2.
13. Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gomez-Reino J, et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology*. 2006;45:944-50.
14. Almehed K, d'Elia HF, Bokarewa M, Carlsten H. Role of resistin as a marker of inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2008;10:1-9.
15. Vadacca M, Zardi EM, Margiotta D, Rigon A, Cacciapaglia F, Arcarese L, et al. Leptin, adiponectin and vascular stiffness parameters in women with systemic lupus erythematosus. *Intern Emerg Med*. 2013;8:705-12.
16. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol*. 2014;222:113-27.
17. Vielma SA, Klein RL, Levingston CA, Young MR. Adipocytes as immune regulatory cells. *Int Immunopharmacol*. 2013;16:224-31.

18. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1982;25:1271-7.
19. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus . *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725.
20. Uribe AG, Vila LM, McGwin G, Jr., Sanchez ML, Reveille JD, Alarcon GS. The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2004;31:1934-40.
21. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol.* 2002;29:288-91.
22. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996;39:363-9.
23. Petri M, Buyon J, Kim M. Classification and definition of major flares in SLE clinical trials. *Lupus.* 1999;8:685-91.
24. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of WHO consultation, Geneva. 1997: 276.
25. Aringer M, Smolen JS. SLE - Complex cytokine effects in a complex autoimmune disease: tumor necrosis factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2003;5:172-7.

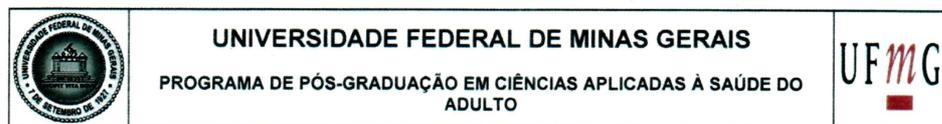
26. Zampieri S, Alaibac M, Iaccarino L, Rondinone R, Ghirardello A, Sarzi-Puttini P, et al. Tumour necrosis factor alpha is expressed in refractory skin lesions from patients with subacute cutaneous lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:545-8.
27. Mahmoud RA, El-Gendi HI, Ahmed HH. Serum neopterin, tumor necrosis factor-alpha and soluble tumor necrosis factor receptor II (p75) levels and disease activity in Egyptian female patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Biochem.* 2005;38:134-41.
28. Takemura T, Yoshioka K, Murakami K, Akano N, Okada M, Aya N, et al. Cellular localization of inflammatory cytokines in human glomerulonephritis. *Virchows Arch.* 1994;424:459-64.
29. Mosca M, Tani C, Filice ME, Carli L, Delle Sedie A, Vagnani S, et al. TNF-alpha inhibitors in Systemic Lupus Erythematosus. A case report and a systematic literature review. *Mod Rheumatol.* 2013;4:1-12
30. Van den Borne BE, Dijkmans BA, De Rooij HH, Le Cessie S, Verweij CL. Chloroquine and hydroxychloroquine equally affect tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, and interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells. *J Rheumatol.* 1997;24:55-60.
31. Sacre K, Criswell LA, McCune JM. Hydroxychloroquine is associated with impaired interferon-alpha and tumor necrosis factor-alpha production by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2012;14:1-10.
32. Aringer M, Smolen JS. Therapeutic blockade of TNF in patients with SLE-promising or crazy? *Autoimmun Rev.* 2012;11:321-5.

33. McCarthy EM, Smith S, Lee RZ, Cunnane G, Doran MF, Donnelly S, et al. The association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology*. 2014;53:1586-94.
34. Telles RW, Lanna CC, Souza FL, Rodrigues LA, Reis RC, Ribeiro AL. Causes and predictors of death in Brazilian lupus patients. *Rheumatol Int*. 2013;33:467-73.
35. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, Raggi P, et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus*. 2009;18:799-806.
36. Baker JF, Morales M, Qatanani M, Cucchiara A, Nackos E, Lazar MA, et al. Resistin levels in lupus and associations with disease-specific measures, insulin resistance, and coronary calcification. *J Rheumatol*. 2011;38:2369-75.
37. De Sanctis JB, Zabaleta M, Bianco NE, Garmendia JV, Rivas L. Serum adipokine levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2009;42:272-4.
38. Garcia-Gonzalez A, Gonzalez-Lopez L, Valera-Gonzalez IC, Cardona-Munoz EG, Salazar-Paramo M, Gonzalez-Ortiz M, et al. Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2002;22:138-41.
39. McMahon M, Skaggs BJ, Sahakian L, Grossman J, FitzGerald J, Ragavendra N, et al. High plasma leptin levels confer increased risk of atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus, and are associated with inflammatory oxidised lipids. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1619-24.
40. Rovin BH, Song H, Hebert LA, Nadasdy T, Nadasdy G, Birmingham DJ, et al. Plasma, urine, and renal expression of adiponectin in human systemic lupus erythematosus. *Kidney Int*. 2005;68:1825-33.

41. Song H, Chan J, Rovin BH. Induction of chemokine expression by adiponectin in vitro is isoform dependent. *Transl Res.* 2009;154:18-26.
42. Loghman M, Haghighi A, Broumand B, Ataipour Y, Tohidi M, Marzbani C, et al. Association between urinary adiponectin level and renal involvement in systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis.* 2014;1:1-7
43. Mills KT, Hamm LL, Alper AB, Miller C, Hudaihed A, Balamuthusamy S, et al. Circulating adipocytokines and chronic kidney disease. *PLoS One.* 2013;8:1-4.
44. Kawamura R, Doi Y, Osawa H, Ninomiya T, Hata J, Yonemoto K, et al. Circulating resistin is increased with decreasing renal function in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:3236-40.
45. Axelsson J, Bergsten A, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Lonnqvist F, et al. Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance. *Kidney Int.* 2006;69:596-604.
46. Karmiris K, Koutroubakis IE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis EA. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12:100-5.
47. Caza TN, Talaber G, Perl A. Metabolic regulation of organelle homeostasis in lupus T cells. *Clin Immunol.* 2012;144:200-13.
48. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998;394:897-901.
49. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol.* 2005;174:5789-95.

50. Senolt L, Housa D, Vernerova Z, Jirasek T, Svobodova R, Veigl D, et al. Resistin in rheumatoid arthritis synovial tissue, synovial fluid and serum. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:458-63.

## ANEXO Z - Cópia da ata da defesa



**ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA**  
**FABIANA DE MIRANDA MOURA DOS SANTOS**

Realizou-se, no dia 24 de março de 2015, às 08:00 horas, Sala 062, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada **ESTUDO DAS CITOCINAS E ADIPOCINAS DE PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ATENDIDOS NO SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG**, apresentada por **FABIANA DE MIRANDA MOURA DOS SANTOS**, número de registro 2013654418, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof<sup>ª</sup>. Cristina Costa Duarte Lanna - Orientadora (UFMG), Prof<sup>ª</sup>. Maria Isabel Toulson Davisson Correia - Coorientadora (UFMG), Prof<sup>ª</sup>. Rosa Weiss Telles - Coorientadora (UFMG), Prof<sup>ª</sup>. Gilda Aparecida Ferreira (UFMG), Prof<sup>ª</sup>. Alline Maria Rezende Beleigoli (UFMG), Prof. Odirlei André Monticielo (UFRGS), Prof<sup>ª</sup>. Josefina Bressan (UFV).

A Comissão considerou a tese:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 24 de março de 2015.

*Cristina Costa Duarte Lanna*

Prof<sup>ª</sup>. Cristina Costa Duarte Lanna ( Doutora )

*Maria Isabel Toulson Davisson Correia*

Prof<sup>ª</sup>. Maria Isabel Toulson Davisson Correia ( Doutora )

*Rosa Weiss Telles*

Prof<sup>ª</sup>. Rosa Weiss Telles ( Doutora )

*Gilda Aparecida Ferreira*

Prof<sup>ª</sup>. Gilda Aparecida Ferreira ( Doutora )

*Alline Maria Rezende Beleigoli*

Prof<sup>ª</sup>. Alline Maria Rezende Beleigoli ( Doutora )

*Odirlei André Monticielo*

Prof. Odirlei André Monticielo ( Doutora )

*Josefina Bressan*

Prof<sup>ª</sup>. Josefina Bressan ( Doutora )

  
**CONFERE COM ORIGINAL**  
**Centro de Pós-Graduação**  
**Faculdade de Medicina - UFMG**

ANEXO- W Folha de aprovação da defesa da tese

<u>Via da aluna</u>	<b>UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS</b>	<b>UFMG</b>
	PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO	

## FOLHA DE APROVAÇÃO

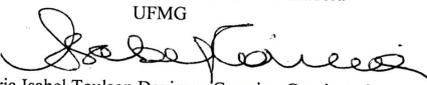
**ESTUDO DAS CITOCINAS E ADIPOCINAS DE PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ATENDIDOS NO SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG**

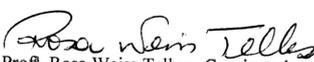
**FABIANA DE MIRANDA MOURA DOS SANTOS**

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS CLÍNICAS.

Aprovada em 24 de março de 2015, pela banca constituída pelos membros:

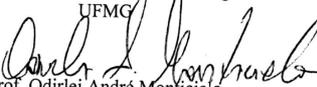
  
Prof. Cristina Costa Duarte Lanna - Orientadora  
UFMG

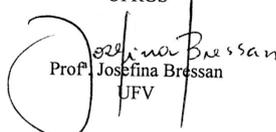
  
Prof. Maria Isabel Toulson Davison Correia - Coorientadora  
UFMG

  
Prof. Rosa Weiss Telles - Coorientadora  
UFMG

  
Prof. Gilda Aparecida Ferreira  
UFMG

  
Prof. Alline Maria Rezende Beleigoli  
UFMG

  
Prof. Odirlei André Monticielo  
UFRGS

  
Prof. Josefina Bressan  
UFV

Belo Horizonte, 24 de março de 2015.