

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB-S/019/2008

PERFIL DE AUTO-ANTICORPOS EM PACIENTES COM LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO EM PACIENTES ATENDIDOS NO
AMBULATÓRIO ARAÚJO LIMA.

Bolsista: Fabiano Hiromichi Makimoto, CNPq

Orientador: Domingos Sávio Nunes de Lima (UFAM)

MANAUS

2009

IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO

Título: “Perfil de Auto-Anticorpos Em Pacientes Com Lúpus Eritematoso Sistêmico Atendidos No Ambulatório Araújo Lima”.

Nº do projeto: PIB-S/019/2008

Renovação: Sim

Orientadora: Domingos Sávio Nunes de Lima

Bolsista: Fabiano Hiromichi Makimoto – CNPq

Orientador: Prof. Dr. Domingos Sávio Nunes de Lima

Bolsista: Fabiano Hiromichi Makimoto – CNPq

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto-imune idiopática, caracterizada pela produção de anticorpos voltados para estruturas celulares e nucleares do próprio indivíduo. Tais auto-anticorpos se depositam em forma de imunocomplexos, em tecidos e órgãos produzindo os sintomas clínicos característicos da doença. Dentre os diversos auto-anticorpos presentes no LES destaca-se o Fator Anti-Nuclear (FAN), devido a sua elevada prevalência nos indivíduos lúpicos. Distúrbios em vários órgãos e tecidos estão presentes, promovendo um quadro clínico exuberante, com acometimento renal, hematológico, neurológico. No presente estudo, foi realizada a análise clínica e socioeconômica dos pacientes com LES recente, relacionado à presença do FAN e de complicações da doença. Os pacientes foram submetidos a um questionário que incluiu dados clínicos sobre a doença, bem como dados socioeconômicos e demográficos; as análises laboratoriais e foram realizadas com amostras de sangue do paciente, o FAN foi titulado pelo método de Imunofluorescência indireta. Todos os pacientes foram procedentes do Amazonas, e em sua maioria de Manaus, apresentaram uma média de $5,43 \pm 1,16$ critérios de classificação do ACR. O FAN esteve presente em todos os pacientes com o padrão mais freqüente o nuclear homogêneo e o título de 1:5120. O acometimento renal esteve presente em 37% dos pacientes, sendo que todos estes possuíam o título do FAN maiores que 1:640. O tempo médio de doença foi de $6,63 \pm 3,9$ meses. O autoanticorpo mais freqüente foi o anti-dsDNA, presente em 68,75% dos pacientes, mas não apresentou correlação estatisticamente significativa com as características clínicas do LES. A correlação estatisticamente significativa ocorreu entre o anti-Sm e o acometimento renal da doença ($p=0,006$).

Palavras Chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico, Fator Anti-Nuclear, Auto-anticorpos.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an idiopathic autoimmune disease characterized by the production of antibodies directed to cellular and nuclear structures of the individual. These autoantibodies are deposited in the form of immune complexes in tissues and organs producing the clinical symptoms characteristic of the disease. Among the various autoantibodies present in SLE highlight the Anti-Nuclear Factor (ANF), due to its high prevalence in individuals with lupus. Disorders in various organs and tissues are present, providing a clinically exuberant, with renal involvement, hematologic, neurologic. In the present study, we performed clinical and socioeconomic analysis of patients with SLE recent, related to the presence of ANF and complications of the disease. The patients underwent a questionnaire that included clinical data on the disease, as well as socioeconomic and demographic data, laboratory tests were performed and blood samples of patients, the ANF was titrated by indirect immunofluorescence method. All patients were from Amazon, and the majority of Manaus, showed a mean of 5.43 ± 1.16 ACR classification criteria. The ANF was present in all patients with the most frequent pattern nuclear homogeneous and the title of 1:5120. The renal involvement was present in 37% of patients, all of which had the title of the ANA higher than 1:640. The mean disease duration was 6.63 ± 3.9 months. The most frequent autoantibody anti-dsDNA was present in 68.75% of patients, but showed no statistically significant correlation with the clinical features of SLE. A statistically significant correlation was seen between the anti-Sm and the onset of renal disease ($p = 0.006$).

Keywords: Systemic Lupus Erythematosus, Factor Anti-Nuclear Autoantibodies.

LISTA DE SIGLAS

ACR	American College of Rheumatology
Anti-dsDNA	Anticorpo contra o DNA de dupla hélice
Anti-Sm	Anticorpo contra o componente Smith;
Anti-RNP	Anticorpo contra ribonucleoproteínas;
Anti-Ro/SSA	Anticorpo contra o componente Ro/SSA;
Anti-La/SSB	Anticorpo contra o componente La/SSB;
C3	Componente C3 do sistema complemento
C4	Componente C4 do sistema complemento
FAN	Fator Antinuclear
IFI	Imunofluorescência Indireta
IFN	Interferon
IL	Interleucina
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
PMN	Polimorfonucleares neutrófilos
SLEDAI	Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Quantidade de Critérios de Classificação do ACR em paciente com LES	18
Gráfico 2: Classificação do FAN	19
Gráfico 3: Título Sérico do FAN	19
Gráfico 4: Padrão do FAN.....	20
Gráfico 5: Prevalência dos Critérios de Classificação do ACR	21
Gráfico 6: Procedência	21

SUMÁRIO

1. Introdução	08
2. Revisão de Literatura	10
2.1. Lúpus Eritematoso Sistêmico	10
2.2. Lúpus Eritematoso Sistêmico e Auto-Anticorpos	12
3. Justificativa	15
4. Objetivos	16
4.1. Objetivo Geral	16
4.2. Objetivos Específicos	16
5. Metodologia	17
5.1. Modelo do Estudo	17
5.2. Universo do Estudo	17
5.2.1. População do Estudo	17
5.2.2. Coleta de Dados	17
5.2.2.1. Avaliação Clínica	17
5.2.2.2. Amostras Biológicas	17
5.2.3. Análises Laboratoriais	18
5.2.3.1. Análise de Auto-Anticorpos	18
5.2.3.2. Análises Bioquímicas e Hematológicas	18
5.2.4. Análise dos Resultados	18
6. Resultados	20
7. Conclusão	24
8. Cronograma de Atividades	25
9. Referências Bibliográficas	26
10. Anexo.....	30

1. Introdução

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica, de natureza auto-imune, caracterizada pela presença de diversos auto-anticorpos que atinge predominantemente jovens do sexo feminino, numa proporção de 9 a 10 mulheres para 1 homem (LI & ISENBERG, 2006; GRIMALD, 2006, KASPER et al., 2006), com pico de incidência entre os 15 e 40 anos (SATO, 2004). A taxa anual de prevalência é de aproximadamente 12 a 64 por 100.000 (LI & ISENBERG, 2006) e sua incidência varia de 1,8 a 7,6 casos por 100.000 habitantes/ano (JOHNSON et al., 1995). No Brasil, a incidência de LES foi de 8,7 casos por 100.000 habitantes/ano (VILAR et al., 2003). No Amazonas o LES foi a causa mais comum de glomerulonefrite secundária de um total de 239 biópsias renais, realizadas no serviço de nefrologia do Hospital Universitário Getúlio Vargas (CARDOSO, 2002). O serviço de reumatologia do HUGV é referência na Região para tratamento de LES, com progressiva demanda (LIMA & SANTOS, 2006). A etiologia das doenças auto-imunes permanece obscura e possivelmente representa o resultado de uma interação multifatorial, destacando-se a ação dos fatores ambientais (infecções, exposição solar, trauma emocional, gravidez e medicamentos) em indivíduos geneticamente predispostos (SILBERGELD et al., 2005).

A etiologia do LES ainda é, portanto, obscura, mas provavelmente esta relacionado com interações entre os genes de suscetibilidade e os fatores ambientais, resultando em respostas imunes anormais (HAHN, 2006; LI & ISENBERG, 2006). Estudos realizados com gêmeos monozigóticos demonstraram concordância de 23 a 57% em comparação com concordância de 3 a 5% em gêmeos dizigóticos (LI & ISENBERG, 2006).

Os auto-anticorpos possuem grande importância tanto na apresentação quanto no diagnóstico do LES, dentre os quais encontram-se os anticorpos antinucleares (FAN), anti-dsDNA, anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro/SSA e anti-La/SSB.

Os anticorpos antinucleares (FAN) são imunoglobulinas dirigidas contra proteínas celulares ou ácidos nucleicos (DAMOISEAUX & COHEN

TERVAERT, 2006), sendo que a maior ocorrência encontra-se na reação com complexos DNA-proteína (WATTS, 2006). Durante o curso da doença há positividade para o FAN em mais de 95% dos pacientes (HAHN, 2006).

Anticorpos anti-dsDNA estão presentes em 50 a 70% dos pacientes com LES e possui alta especificidade para esta doença (ISENBERG et al., 1997), pois raramente é encontrada na população saudável, em pacientes com outras doenças ou em alguns pacientes com LES (ISENBERG et al., 1985 *apud* RAHMAN, 2004). Vários estudos demonstram que os níveis deste anticorpo aumentam durante as manifestações agudas do LES em atividade, particularmente na nefrite lúpica (TER BORG et al., 1990 *apud* RAHMAN, 2004).

Outro auto-anticorpo específico de grande importância para o diagnóstico de LES é o anti-Sm (HAHN, 2006). Tais anticorpos respondem a componentes protéicos de pequenas partículas nucleares de ribonucleoproteínas (snRNP) e são encontrados em 30% dos pacientes com LES (ZIEVE & KHUSIAL, 2003).

A classe de auto-anticorpos anti-RNP tem sido encontrada em uma variada quantidade de doenças do tecido conjuntivo, pacientes com LES apresentam predominantemente o isotipo anticorpo IgM anti-U1-RNP (KEITH et al., 2007).

O anticorpo anti-Ro/SSA é inespecífico para LES, esta associado a lúpus subcutâneo subagudo, lúpus neonatal com bloqueio atrioventricular congênito e a síndrome seca, bem como associa-se com um risco diminuído de nefrite; possui prevalência de 30% nos pacientes com LES (HAHN, 2006). Em geral, outro anticorpo associado ao anti-Ro/SSA é o anti-La/SSB que possui prevalência de 10% em pacientes com LES e sua presença indica risco reduzido para nefrite lúpica (HAHN, 2006).

2. Revisão de Literatura

2.1. Lúpus Eritematoso Sistêmico

O Lúpus Eritematoso Sistêmico é uma doença auto-imune, inflamatória e crônica, de etiologia idiopática e que envolve múltiplos órgãos e sistemas (KHALIFA et al., 2007) com envolvimento inflamatório órgão-específico e anormalidades imunológicas (BIGLER et al., 2008), é caracterizado pela produção de auto-anticorpos, principalmente, antinucleares, anti-dsDNA e antifosfolípidos (COOPER et al., 2002). O LES cursa com diversas apresentações clínicas como falência renal, vasculites, poliartrite, complicações neurológicas e aumento do risco de infecções (MILLS, 1994).

A patogenia do LES permanece obscura, no entanto recentes estudos sugerem ativação de células B naïve autorreativas, mutações somáticas (ZHANG et al., 2008), além do reconhecimento de alguns ligantes (RNA ou DNA), como autoanticorpos lúpicos, por receptores tipo toll, principalmente TLR7 e TLR9. As células B e as células dendríticas podem ser ativadas por cromatina/ribonucleoproteínas, produzindo anticorpos via co-estimulação de FcR e TLR9/7, respectivamente (LEADBETTER, 2002). Estudos experimentais em camundongos machos BXSB, demonstram que as manifestações do lúpus são determinadas pela presença de duplicação do gene TLR7 (QING et al., 2008). O papel das células B é importante tanto no desenvolvimento quanto na manutenção crônica da doença (LOONEY, ANOLIK & SANZ, 2004), e apesar de não completamente compreendido, os mecanismos de imuno-intolerância envolvem defeitos em checkpoints de tolerância distintos no desenvolvimento das células B (DRIVER, ISHIMORI & WEISMAN, 2007).

A grande maioria (85%) dos pacientes com LES são do sexo feminino e, nos Estados Unidos da América, a incidência e prevalência são três vezes maiores em afro-americanas que em brancas (COOPER et al., 2002). As doenças auto-imunes, inclusive o LES são as principais causas de morte em mulheres com idade inferior a 65 anos (WALSH & RAU, 2000).

Com o desenvolvimento de estudos clínicos sobre o LES, ocorreu uma melhora na taxa de sobrevivência dos pacientes lúpicos, atribuída ao diagnóstico

precoce, controle da pressão arterial, uso de antibióticos mais eficientes, uso de corticosteróides e de imunossupressores. Todavia, fatores como raça negra (DOLEY et al., 1997; REVEILLE, BARTOLUCCI & ALARCÓN, 1990), acometimento renal (DONADIO et al., 1995) e baixo nível sócio-econômico (STUDENSKY et al., 1987) são considerados como de pior prognóstico.

Segundo Martins e colaboradores (2000), a população de lúpicos com maior risco de desenvolver nefrite lúpica são mulheres com proteinúria de 24 horas entre 2 e 3g, sendo a glomerulonefrite mais encontrada em biópsias é a de classe IV. No mesmo estudo, foi detectado que a infecção é a maior causa de óbito em pacientes lúpicos com acometimento renal, devido ao uso de imunossupressores.

A classificação do LES é realizada através da presença de 4 dos 11 critérios do American College of Rheumatology (ACR) em qualquer fase da doença, estes critérios são: (i) *rash* malar, (ii) fotossensibilidade, (iii) *rash* discóide, (iv) úlcera oral de palato, (v) poliartrite simétrica de pequenas e grandes articulações, (vi) serosite, (vii) nefrite, (viii) acometimento hematológico, (ix) acometimento neurológico, (x) Fator Anti-Nuclear (FAN) positivo e (xi) critério imunológico (TAN et al., 1982).

A análise da atividade do LES é realizada através do índice de atividade da doença, denominado Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index - SLEDAI (BOMBARDIER et al., 1992; HAWKER et al., 1993).

Infecções são comumente encontradas em pacientes lúpicas e são a maior causa de morbi-mortalidade destes pacientes (CERVERA et al., 2003; MOSS et al., 2002). Múltiplos fatores de risco para infecções em pacientes com LES já foram descritas, dentre estes fatores destacam-se as desordens imunológicas associadas à terapêutica para o lúpus, particularmente os medicamentos imunossupressores e citotóxicos (FESSLER, 2002). Esta terapêutica cursa com acréscimo considerável do risco de desenvolver infecções (KANG & PARK, 2003), sendo 80% destas, de etiologia bacteriana e como sítios mais freqüentes, a pele, o trato respiratório e urinário (BISWAS et al., 2008). Esta suscetibilidade também está relacionada com a diminuição da eficiência fagocitária dos Polimorfonucleares neutrófilos (PMNs), que atuam como a primeira linha de defesa imune contra infecções bacterianas, além

disso, os PMNs dos pacientes lúpicos possuem uma capacidade reduzida de produção de interleucinas IL-8 e IL-12 (BISWAS et al., 2008).

A IL-12 é uma importante citocina na resposta imune à infecções e está entre a imunidade inata e a imunidade adaptativa e é produto da estimulação nos PMNs por lipopolissacarídeos e do interferon gama (INF- γ). A principal função da IL-12 é a estimulação de monócitos e conseqüentemente do sistema fagocitário mononuclear, portanto os pacientes com LES perdem ou possuem esta capacidade reduzida (BISWAS et al., 2008).

2.2. Lúpus Eritematoso Sistêmico e Auto-anticorpos

As principais anormalidades imunológicas encontradas no LES são decorrentes do desenvolvimento de uma grande variedade de anticorpos dirigidos contra estruturas nucleares, citoplasmáticas e da superfície celular (BIGLER et al., 2008).

Recentes estudos sugeriram que o antígeno primário no LES são os nucleossomas (o elemento base da cromatina, e uma ubiquitina, produto de apoptose), sendo responsável pela geração de anticorpos antinucleares (BIGLER et al., 2008).

O Fator Anti-Nuclear (FAN) está presente em 95 a 98% de todos os pacientes lúpicos, mas também é possível ser detectado em outras colagenoses (KAYE, 2008), e sua detecção é utilizada para triagem de pacientes.

Anticorpos anti-dsDNA estão presentes em 50 a 70% dos pacientes com LES (ISENBERG et al., 1997). Dois modelos tentam explicar a patogenia deste auto-anticorpo no LES, o primeiro sugere que o aparecimento do anti-dsDNA inicie com devido a ativação policlonal de células B naíves auto-reativas e antígeno-independentes; o modelo alternativo propõe que a produção do auto-anticorpo é iniciado por uma mutação somática, tornando a resposta do anti-dsDNA no LES, dirigida ao antígeno (ZHANG et al., 2008). Em pacientes com altos níveis de anticorpos anti-dsDNA, a flutuação destes valores reflete a atividade global da doença (ALBA et al., 2003), estando relacionado com a nefrite lúpica, o lúpus cerebral e a dermatite lúpica (MORTENSEN, FENTON, REKVIG, 2008).

Na apresentação renal do LES, foi demonstrada a presença de complexos nucleossomas-autoanticorpos na membrana basal glomerular e depósitos eletro-densos de nucleossomas apoptóticos. Estes depósitos glomerulares possuem importante papel fisiopatogênico na nefrite lúpica por serem alvos de auto-anticorpos nefritogênicos, podendo até mesmo ser utilizado como marcador da nefrite no LES (BIGLER et al., 2008). O acometimento renal está presente em 40 a 75% dos pacientes com LES, principalmente aqueles com evolução de até cinco anos e é fortemente associado com mau prognóstico (ALBA et al., 2003). A lesão renal é separada em seis diferentes classes, desde formas subclínicas (classe I) até estágio terminal (classe VI), sendo que o critério central para a classificação é a detecção de imunocomplexos na membrana basal glomerular e na matriz mesangial (MORTENSEN, FENTON, REKVIG, 2008). A severidade do acometimento renal é reflexo dos altos níveis de mortalidade, pois cerca de 10% dos pacientes com nefrite lúpica vão a óbito em 10 anos após a realização do diagnóstico (DRIVER, ISHIMORI & WEISMAN, 2007).

A partícula ribonucleoproteína (RNP) Ro (SSA)/ La (SSB) é um freqüente alvo da autoimunidade humoral no LES, sendo a partícula de 60 kDa Ro/SSA (Ro60) um polipeptídeo complexo com uma pequena região não codificadora de RNA e a proteína de 48 kDa La é uma partícula que se liga a RNAs e potencialmente a o Ro60. A apoptose está sendo proposta como uma influencia para a autoimunidade Ro/La em três níveis: iniciação da autoimunidade, a diversificação do repertório de auto-anticorpos e a injúria tecidual mediada pelos auto-anticorpos. A resposta do anti-Ro e do anti-La é seguida de translocação destes auto-antígenos intracelulares para a superfície celular e posterior apoptose celular (REED, JACKSON & GORDON, 2008).

Anticorpos anti-neutrófilos são encontrados em aproximadamente 50% dos pacientes lúpicos e reconhecem proteínas de 15, 30, 40, 50 e 80kDa quando reagem com neutrófilos lisados. Uma destas proteínas, de 50kDa é o antígeno La/SSB, expresso na superfície dos neutrófilos (BISWAS et al., 2008).

Em geral, a presença de anticorpos anti-Ro/SSA estão associados a manifestações cutâneas, enquanto a presença de anticorpos anti-ds-DNA e anti-Smith (anti-Sm) associam-se com a nefrite lúpica e uma alta atividade da doença (REVEILLE, 2004).

Vilá e colaboradores (2006), estudando a população de Porto Rico, descreveram forte associação do anticorpo anti-ds-DNA com o acometimento renal, vasculite, pericardite, e desordens hematológicas, também associou o anti-Ro a lesões discóides, aumento de enzimas hepáticas, pneumonites e acometimento renal. Assim como o anti-Ro, a presença do anti-Sm aumentou as enzimas hepáticas, relacionou-se ao acometimento renal e a lesões ulcerativas da pele (VILÁ et al., 2006).

3. Justificativa

O LES é uma doença dita auto-imune, caracterizada pela produção inadequada de anticorpos dirigidos contra estruturas celulares do próprio indivíduo, sobretudo estruturas nucleares como o DNA, nucleossomas e proteínas (SATO, 2004). Esses auto-anticorpos depositam-se em diversos tecidos do organismo do paciente lúpico, incluindo pele, rins, vasos capilares, membranas serosas como a pleura, membranas sinoviais, glóbulos sangüíneos e sistema nervoso central, gerando uma doença inflamatória sistêmica grave, clinicamente polimórfica, que determina grande impacto social através de significativos índices de morbidade e mortalidade. A produção de auto-anticorpos no lúpus é comandada por uma série de alterações genéticas, herdadas, com efeito, cumulativo, deflagradas, entretanto, por desencadeadores temporais (SATO, 2004), tais como a ambiência hormonal, a exposição à luz solar e a produtos químicos como medicamentos, xenobióticos e metais pesados como o mercúrio. Os auto-anticorpos serão avaliados em casos de lúpus procedentes da Amazônia visando traçar o perfil destes pacientes.

4. Objetivos

4.1. Geral:

Traçar o perfil de anticorpos de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico em pacientes atendidos no Ambulatório Araújo Lima.

4.2. Específicos:

Verificar a distribuição dos diferentes auto-anticorpos nos pacientes atendidos no Ambulatório Araújo Lima;

Correlacionar o perfil de auto-anticorpos com os achados clínicos.

5. Metodologia

5.1. Modelo de estudo

Este é um estudo de delineamento observacional do tipo transversal em pacientes com LES atendidos no Ambulatório Araújo Lima com diagnóstico recente (até 12 meses).

5.2. Universo de Estudo

5.2.1. População de Estudo

Foram selecionados 32 pacientes atendidos no Ambulatório Araújo Lima da UFAM no período de agosto de 2007 a maio de 2009.

Crítérios de Inclusão: Foram incluídos no trabalho, os pacientes com quatro ou mais dos 11 critérios para classificação de LES do *American College of Rheumatology*: *rash* malar, fotossensibilidade, *rash* discóide, ulcera oral, artrite, serosite, nefrite, acometimento hematológico, acometimento neurológico, FAN positivo e critério imunológico (TAN et al., 1982); que possuíram diagnóstico de LES há no máximo 12 meses e residiam no Estado do Amazonas há pelo menos 24 meses antes do diagnóstico. O participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

5.2.2. Coleta de dados

5.2.2.1. Avaliação clínica

Todos os participantes foram submetidos a um questionário que inclui dados demográficos, procedência, tempo de doença e características do LES.

5.2.2.2. Amostras biológicas

Foram coletados 10 mL de sangue venoso sem anticoagulante, em seguida o soro é separado por centrifugação por 5 minutos a 3000 rpm, para realização as análises laboratoriais.

5.2.3. Análises laboratoriais

5.2.3.1. Análises de auto-anticorpos

Foram determinado o nível ou título sérico do Fator Anti-Nuclear (FAN) por imunofluorescência indireta (IFI), usando células epiteliais humanas (HEp2) como substrato. Inicialmente é feito um teste qualitativo com uma diluição 1:40 e, após a confirmação e a definição do padrão do FAN, realiza-se o teste quantitativo, para determinar a concentração sérica. O teste foi realizado com o kit em que as diluições são colocadas sobre espaços das lâminas do kit contendo células Hep-2 humanas, seguindo os procedimentos do kit (em que se realiza lavagens com tampão Fosfato Salino – PBS, adição de corante azul e fluoresceína). Em seguida é realizada a leitura em microscópio de imunofluorescência.

A determinação do nível sérico de Anti-dsDNA, Anti-Sm e Anti-cardiolipina foram realizados por ELISA, com kits específicos.

5.2.3.2. Análises bioquímicas e hematológicas

Foram realizadas, nos participantes do estudo, análises hematológicas (hemograma completo) e bioquímicas (perfil lipídico, renal e hepático) com fins de definição da severidade da doença nos indivíduos com LES. Estes ensaios serão realizados nos Laboratórios de Análises Clínicas do Hospital Universitário Getulio Vargas e do Departamento de Análises Clínicas do Curso de Farmácia da UFAM.

5.2.4 - Análise dos resultados

As comparações das variáveis, com nível de mensuração intervalar ou ordinal, entre pares de grupos independentes, foram feitas através do teste não-paramétrico de Mann-Whitney ou do teste *t* de Student, Para a comparação de mais de duas médias.. Quanto às variáveis categóricas, as comparações entre pares de grupos serão feitas através dos testes do qui-quadrado ou de Fisher, quando necessário. O nível de significância a ser considerado para os testes será de $p < 0,05$.

6. Resultados e Discussão

Participaram do presente estudo 32 pacientes com diagnóstico recente (média de $6,37 \pm 3,69$ meses) de Lúpus Eritematoso Sistêmico, com pelo menos 4 critérios de classificação do ACR, que variaram de 4 a 9, sendo que os pacientes apresentaram 5 critérios (gráfico 1) com maior frequência e uma média de $5,34 \pm 1,18$.

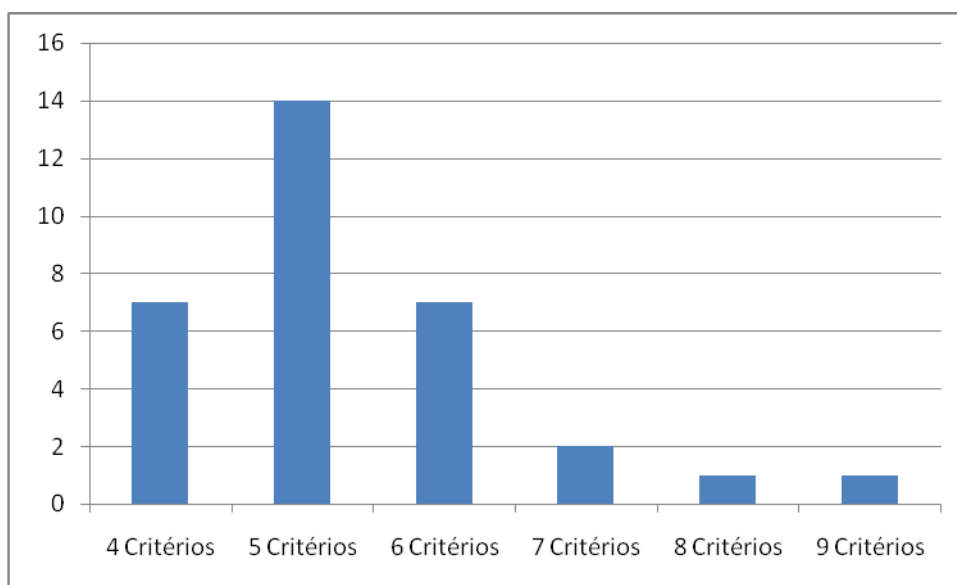


Gráfico1: Quantidade de Critérios de Classificação do ACR em pacientes com LES

Todos os pacientes avaliados apresentaram Fator Anti-Nuclear positivo. O padrão único prevaleceu sobre o padrão misto (gráfico 2) e também se apresentou com maior quantidade de critérios do ACR. Os títulos do FAN variaram de 1:80 a 1:10290 (gráfico 3), o título mais freqüente foi o de 1:5120. O padrão do FAN mais encontrado foi o Nuclear Homogêneo, encontrado em 48,1% dos pacientes, seguido do padrão Nuclear Pontilhado Fino (44,4%) (gráfico 4).

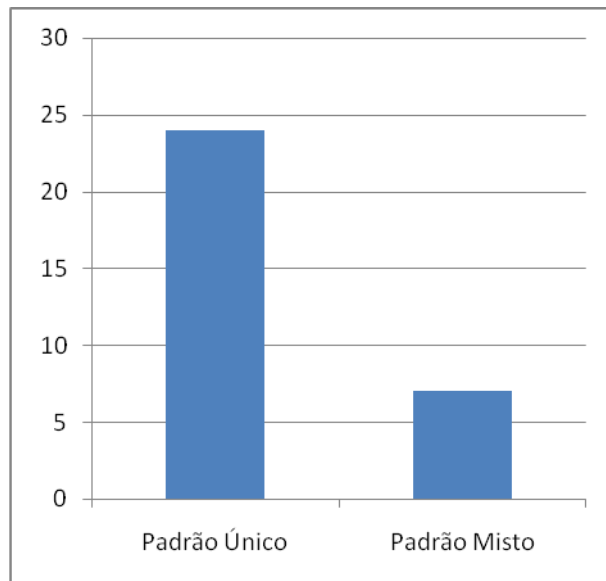


Gráfico2: Classificação do FAN

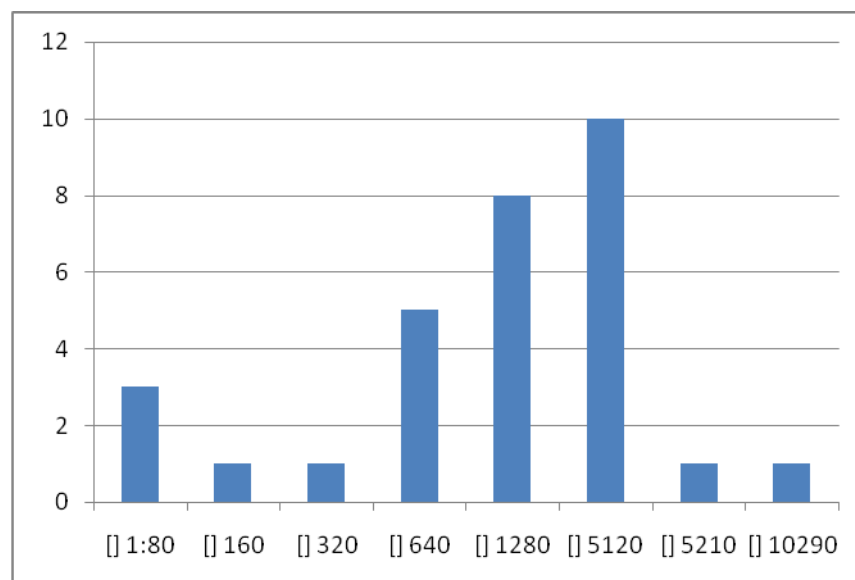


Gráfico3: Título sérico do FAN

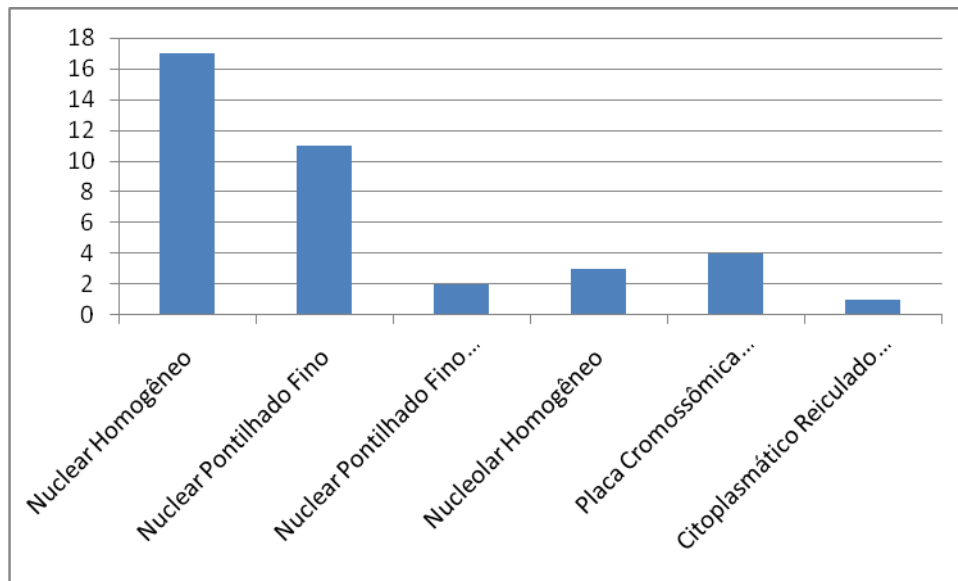


Gráfico4: Padrão do FAN

O acometimento renal esteve presente em 11 (36,7%) dos pacientes, sendo que todos possuíam título sérico de FAN igual ou maior que 1:640. Destes, apenas 1 (0,09%) não procedia de Manaus. 90,1% destes pacientes possuíam renda familiar total de 3 ou menos salários mínimos. As alterações renais não apresentaram correlação significativa com o uso da prednisona ($p=0,30$) ou da azatioprina ($p=0,61$).

O segundo critério de classificação do ACR foi a fotossensibilidade (76,3%). A artrite simétrica de pequenas e grandes articulações esteve presente em 73,3% dos pacientes, sendo o terceiro critério do ACR mais freqüente (gráfico 5). Apesar de não ser um dos critérios de classificação do ACR, a alopecia é uma importante característica no LES e no presente trabalho foi constatado que 19 (63,3%) pacientes possuíam esta característica.

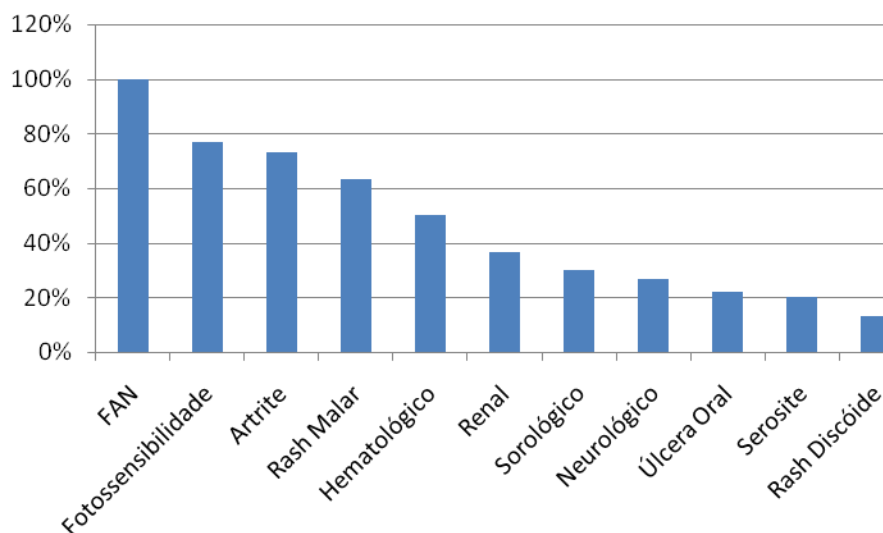


Gráfico5: Prevalência dos Critérios de Classificação do ACR

O local de nascimento mais prevalente dos pacientes foi o estado do Amazonas (93,4%), sendo que 50% foram de Manaus. Em contrapartida, todos os pacientes foram procedentes do Amazonas com 25 pacientes (83,3%) procedentes de Manaus (gráfico 6).

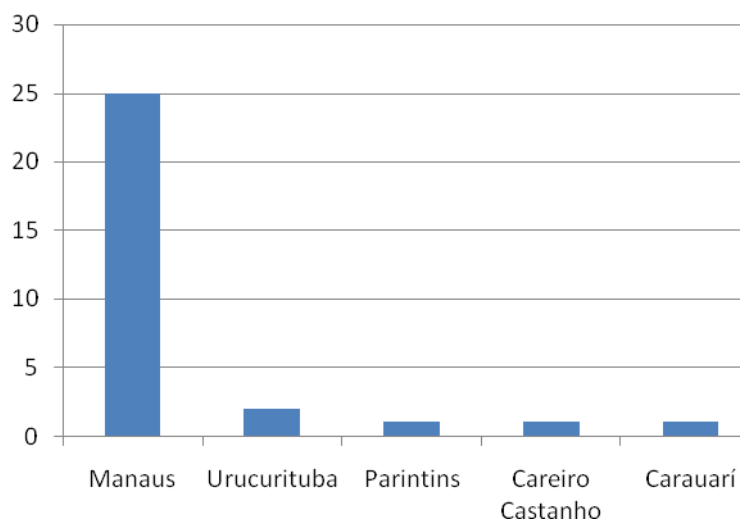


Gráfico6: Procedência

O auto-anticorpo anti-dsDNA esteve presente em 22 pacientes (68,75%), porém não houve associação estatisticamente significativa ($p=0,26$ pelo teste de Fisher) com doença renal ativa, ao contrário do que descrito na literatura. A correlação deste auto-anticorpo com os demais critérios do ACR também foram negativas. O padrão nuclear Homogêneo do FAN esteve presente em pacientes que apresentaram anti-dsDNA negativo ($p=0,006$ pelo teste de Fisher)

Apenas 3 pacientes (9,37%) apresentaram o auto-anticorpo anti-Sm. Houve associação estatisticamente significativa ($p=0,044$ pelo teste de Fisher) deste auto-anticorpo com doença ativa, caracterizada pelo acometimento renal. Os demais critérios do ACR apresentaram correlação negativa para este auto-anticorpo.

O anticorpo anticardiolipina IgM esteve presente em 6 pacientes (18,75%), enquanto a forma IgG em 7 (21,87%). Nenhuma das formas de anticardiolipina esteve associada com acometimento neurológico (IgM, $p=0,652$ e IgG, $p=0,651$, pelo teste de Fisher).

7. Conclusão

Dos auto-anticorpos avaliados, o mais freqüente foi o anti-dsDNA, porém único que apresentou correlação significativa com características clínicas do LES foi o anti-Sm.

8. Cronograma de Atividades

Nº	Descrição	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão bibliográfica	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
2	Coleta de sangue	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R		
3	Aplicação de Questionários	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R		
4	Dosagem de auto-anticorpos		R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
5	Análise parcial dos resultados						R						
6	Elaboração e entrega do relatório parcial					R	R						
7	Análise estatística dos resultados										R	R	
8	Elaboração do resumo e Relatório Final										R	R	
9	Preparação da apresentação final para o congresso											R	NR

9 .Referências Bibliográficas

ALBA, P.; BENTO, L.; CUADRADO, M.J.; KARIM, Y.; TUNGEKAR, M.F.; ABBS, I.; KHAMASHTA, M.A.; D'CRUZ, D.; HUGHES, G.R.V. **Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis.** *Ann Rheum Dis.* Vol. 62, p. 556-560, 2003.

BIGLER, C.; LOPEZ-TRASCASA, M.; POTLUKOVA, E.; MOLL, S.; DANNER, D.; SCHALLER, M.; TRENDELENBURG, M. **Antinucleosome Antibodies as a Marker of Active Proliferative Lupus Nephritis.** *Am. J. of Kidney Dis.* 51(4): 624-629, 2008.

BISWAS, D.; MATHIAS, A.; DAYAL, R.; AGGARWAL, A.; MISRA, R.; NAIK, S. **Presence of antibodies to SSB/La is associated with decreased phagocytic efficiency of neutrophils in patients with systemic lupus erythematosus.** *Clin Rheumatol.* 27:717–722, 2008.

BOMBARDIER, C.; GLADMAN, D.D.; UROWITZ, M.B.; CARON, D.; CHANG, C.H. **The Committee On Prognosis Studies In SLE Derivation of the SLEDAI - A disease activity index for lupus patients.** *Arthritis Rheum.* 35(6): 630-640, 1992.

CARDOSO, A.C.D. - **Padrões histopatológicos em biópsias renais realizadas no Hospital Getúlio Vargas - Amazonas.** São Paulo, 2002, 96p, *Dissertação de Mestrado.* Universidade Federal de São Paulo.

CERVERA, R.; KHAMASHTA, M.A.; FONT, J.; SEBASTIANI, G.D.; GIL, A.; LAVILLA, P.; MEJIA, J.C.; AYDINTUG, A.O.; CHWALINSKA-SADOWSKA, H.; DE RAMON, E.; FERNANDEZ-NEBRO, A.; GALEAZZI, M.; VALEN, M.; MATHIEU, A.; HOUSSIAU, F.; CARO, N.; ALBA, P.; RAMOS-CASALS, M.; INGELMO, M.; HUGHES, G.R.V. **Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1000 patients.** *Medicine.* 82(5): 299–308, 2003.

COOPER, G.S.; DOOLEY, M.A.; TREADWELL, E.L.; ST. CLAIR, E.W.; GILKESON, G.S. **Risk factors for development of systemic lupus erythematosus: Allergies, infections, and family history.** *J. Clin. Epidem.* 55: 982–989, 2002.

DAMOISEAUX, J.G.; COHEN TERVAERT J.W. **From ANA to ENA how to proceed?** *Autoimmun Ver.* 5: 10–17, 2006.

DELLAVANCE, A.; JÚNIOR, A.G.; CINTRA, A.F.U.; XIMENES, A.C.; NUCCITELLI, B.; MÜHLEN, C.A.; BICHARA, C.D.; YANO, C.; CARVALHO, D.G.; BONFÁ, E.S.D.O.; GUIMARÃES, F.N.C.; MUNDIM, H.M.; PFRIMER, I.A.H.; REGO, J.; ANDRADE, L.E.C.; MESQUITA, M.M.; SANTIAGO, M.B.; SILVA, N.A.; MIRANDA, P.J.; LESER, P.; FRANCESCANTONIO, P.L.C.; JARACH, R.; LEVY, R.A.; NEVES, S.P.F.; CRUVINE, W.M.; SANTOS, W.S. I

Consenso Nacional para Padronização dos Laudos de FAN HEp-2. *J. Bras. de Patologia e Medicina Laboratorial.* 38(3): 207-216, 2002.

DOLEY, M.A.; HOGAN, S.; JENNETE, C.; FALK, R. **Cyclophosphamide therapy for lupus nephritis: poor renal survival in black Americans.** *Kidney Int.* 51: 1188-1195, 1997.

DONADIO JR, J.V.; HART, G.M.; BERGSTRALH, E.J.; HOLLEY, K.E. **Prognostic determinants in lupus nephritis: a long-term clinicopathologic study.** *Lupus.* 4: 109-115, 1995.

DRIVER, C.B.; ISHIMORI, M.; WEISMAN, M.H. **The B cell in systemic lupus erythaematosus: a rational target for more effective therapy.** *Ann Rheum Dis.* Vol. 67, p.1374–1381, 2008.

FESSLER, B.J. **Infectious diseases in systemic lupus erythematosus: risk factors, management and prophylaxis.** *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 16(2): 281–91, 2002.

GRIMALDI, M.C. **Sex and systemic lupus erythematosus: the role of the sex hormones estrogen and prolactin on the regulation of autoreactive B cells.** *Curr Opin Rheumatol.* 18: 456–461, 2006

HAHN, B.H. **Lúpus Eritematoso Sistêmico** In KASPER, D.L.; BRAUNWALD, E.; FAUCI, A.S.; HAUSER, S.L.; LONGO, D.L.; JAMESON, J.L. **HARRISON Medicina Interna**, 16 edicao. *Editora McGrawHill*, 2(300): 2056-2064, 2006.

HAWKER, G.; GABRIEL, S.; BOMBARDIER, C.; GOLDSMITH, C.; CARON, D.; GLADMAN, D. **A reliability study of sledai: a disease activity index of systemic lupus erythematosus.** *Rheumatol.* 20: 657-60, 1993.

ISENBERG, D.A.; RAVIRAJAN, C.T.; RAHMAN, A; KALSI, J.K. **The role of antibodies to DNA in systemic lupus erythematosus.** *Lupus.* 6: 290-304, 1997.

JOHNSON, A.E.; GORDON, C.; PALMER, R.G., et al. **The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Birmingham, England: relationship to ethnicity and country of birth.** *Arthritis Rheum.* 38: 551-558, 1995.

KANG, I.; PARK, S.H. **Infectious complications in SLE after immunosuppressive therapies.** *Curr Opin Rheumatol.* 15: 528–534, 2003.

KAYE, B.R. Antinuclear Antibody Tests and SLE. Bay Area Lupus Foundation INC. 13A. Disponível em:
<http://www.balf.org/OnlineLibraryHome/Diagnosis%20and%20Tests/013a.pdf>,
Acesso em 15 de junho de 2008.

KHALIFA, M.; KAABIA, N.; BAHRI, F.; BEN JAZIA, E.; BOUAJINA, E.; OMEZZINE LETAIEF, A. **Infection in systemic lupus erythematosus.** *Médecine et maladies infectieuses*. 37: 792–795, 2007.

KEITH, M.P.; MORATZ, C.; TSOKOS, G.C. **Anti-RNP immunity: Implications for tissue injury and the pathogenesis of connective tissue disease.** *Autoimmunity Reviews*. 6: 232–236, 2007.

LEADBETTER, E.A.; RIFKIN, I.R.; HOHLBAUM, A.M.; BEAUDETTE, B.C.; SHLOMCHIK, M.J.; MARSHAK-ROTHSTEIN A. **Chromatin-IgG complexes activate B cells by dual engagement of IgM and Toll-like receptors.** *Nature*. Vol. 416, p.603–607, 2002.

LI, C.K. & ISENBERG, D.A. **Systemic Lupus Erythematosus.** *Medicine*. 34(11): 445-452, 2006.

LIMA, D.S.; SANTOS, K.S.C. **Perfil clínico e laboratorial de pacientes com LES.** *XV CONIC UFAM*. p. 197, 2006.

LOONEY, R.J.; ANOLIK, J.; SANZ, I. **B lymphocytes in systemic lupus erythematosus: lessons from therapy targeting B cells.** *Lupus*. Vol. 13, p. 381–90, 2004.

MARTINS, R.S.; CARVALHO, M.F.; SOARES, V.A. **Glomerulonefrite lúpica: estudo da evolução a longo prazo.** *Rev Ass Med Brasil*. 46(2): 121-125, 2000.

MILLS, J.A. **Systemic lupus erythematosus.** *N Engl J Med*. 330:1871–9, 1994.

MORTENSEN, E.S.; FENTON, K.A.; REKVIG, O.P. **Lupus Nephritis The Central Role of Nucleosomes Revealed.** *The Am. J. Pathol*. Vol. 172, n. 2, p.275-283, 2008

MOSS, K.E.; IOANNOU, Y.; SULTAN, S.M.; HAQ, I.; ISENBERG, D.A. **Outcome of a cohort of 300 patients with systemic lupus erythematosus attending a dedicated clinic for over two decades.** *Ann Rheum Dis*. 61(5): 409-13, 2002.

QING, X.; PITASHNYA, M.; THOMAS, D.; BARRAT, F.C.; HOGARTHE, M.P.; PUTTERMAN, C. **Pathogenic anti-DNA antibodies modulate gene expression in mesangial cells: Involvement of HMGB1 in anti-DNA antibody-induced renal injury.** *Immunology Letters*. Vol.121, p. 61-73, 2008.

RAHMAN, A. **Autoantibodies in the autoimmune rheumatic diseases.** *Rheumatology*. 43: 1326-1336, 2004.

REED, J.H.; JACKSON, M.W.; GORDON, T.P. **B cell epitopes of the 60-kDa Ro/SSA and La/SSB autoantigens.** *J. Autoimmunity*. Vol. 31, p. 263–267, 2008.

REVEILLE, J.D. **Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus.** *Lupus*. 13: 290–297, 2004.

REVEILLE, J.D.; BARTOLUCCI, A.; ALARCÓN, G.S. **Prognosis in systemic lupus erythematosus. Negative impact of increasing age at onset, black race, and thrombocytopenia, as well as causes of death.** *Arthritis Rheum*. 33: 37-48, 1990.

SATO, E. **Reumatologia. Guias de MeNAUdicina Ambulatorial e Hospitalar. Unifesp/ Escola Paulista de Medicina.** Manole, Barueri, 2004

SILBERGELD, E.K.; SILVA, I.A.; NYLAND, J.F. **Mercury and autoimmunity: Implications for occupational and environmental health.** *Toxicol. Appl. Pharmacol.* v.1, suppl 2, 207 , 2005.

STUDENSKY, S.; ALLEN, N.B.; CALDWELL, D.S.; RICE, J.R.; POLLISON, R.P. **Survival in systemic lupus erythematosus. A multivariate analysis of demographic factors.** *Arthritis Rheum*. 30: 1326-1332, 1987.

TAN, E.M.; COHEN, A.S.; FRIES, J.F.; MASI, A.T.; McSHANE, D.J.; ROTHFIELD, N.F.; SCHALLER, J.G.; TALAL, N.; WINCHESTER, R.J. **The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum*. 25: 1271-1277, 1982.

VILÁ, L.M.; MOLINA, M.J.; MAYOR, A.M.; PEREDO, R.A.; SANTAELLA, M.L.; VILÁ, S. **Clinical and prognostic value of autoantibodies in Puerto Ricans with systemic lupus erythematosus.** *Lupus*. 15: 892, 2006.

VILAR, M.J.P.; RODRIGUES, J.M.; SATO, E.I. **Incidência de lúpus eritematoso sistêmico em Natal, RN, Brasil.** *Rev. Bras. Reumatol.* v. 43 n. 6 p. 347-351, 2003.

WALSH, S.J.; RAU, L.M. **Autoimmune diseases: a leading cause of death among young and middle-aged women in the United States.** *Am. J. Public Health*. 90: 1463–6, 2000.

WATTS, R. **Autoantibodies in the autoimmune rheumatic diseases.** *Medicine*. 34(11): 441-444, 2006.

ZHANG, J.; JACOBI, A.M.; WANG, T.; DIAMOND, B. **Pathogenic Autoantibodies in Systemic Lupus Erythematosus Are Derived from Both Self-Reactive and Non-Self-Reactive B Cells.** *Mol. Méd.* Vol. 14(11 - 12), p. 675 - 681, 2008.

10. Anexo

ANEXO A – CRITÉRIOS DO ACR

Critérios de classificação para LES do Colégio Americano de Reumatologia

Critério	Definição
1. Eritema malar	Eritema fixo, plano e elevado sobre as eminências malares, que tendem a respeitar as pregas nasolabiais.
2. Lesão discóide	Placas eritematosas elevadas com cicatrização queratótica e clavos foliculares com cicatrização atrófica nas lesões velhas.
3. Fotossensibilidade	Exantema cutâneo como resultado de uma reação não usual a luz solar, por relato do paciente e observação do médico.
4. Úlceras orais	Ulceração oral e nasofaríngea, usualmente sem dores, observadas por um médico.
5. Artrite	De tipo não erosiva comprometendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor à pressão, tumefação ou derrame.
6. Serosites	a) Pleurite, história convincente de dor pleural ou atrito auscultado por médico ou evidência de derrame pleural. b) Pericardite documentada por eletrocardiograma (ECG) ou atrito ou evidência de derrame pericárdico.
7. Desordem renal	a) Proteinúria persistente maior que 0,5 g/dia ou mais que +++ (três cruzeiros) no sedimento urinário; b) Cilindros celulares de hemácias, granulares, tubulares ou mistos.
8. Desordem neurológica	a) Convulsões; b) Psicose.
9. Desordens hematológicas	a) Anemia hemolítica com reticulocitose; b) Leucopenia com menos que 4.000/mm ³ em duas ou mais ocasiões; c) Linfopenia menor que 1.500/mm ³ em duas ou mais ocasiões; d) Trombocitopenia com menos que 100.000/mm ³ .
10. Desordens imunológicas	a) Célula LE positiva; b) Anti- DNA positivo; c) Anti Sm positivo; d) Falso teste positivo para Lues por mais de 6 meses com FTA-ABS normal.
11. Anticorpo antinuclear	Em título anormal por imunofluorescência e com um ensaio equivalente em qualquer momento e em ausência de drogas que provoquem síndrome símile-lúpus

TAN et al., 1982.