



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Laís Quintiliano Pedroza

**Lúpus eritematoso sistêmico e sua associação com Proteína quimioatraente  
de monócitos 1 (MCP-1) e Interleucina 6**

Maceió  
2021

LAÍS QUINTILIANO PEDROZA

**Lúpus eritematoso sistêmico e sua associação com Proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1) e Interleucina 6**

Dissertação (Mestrado) apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Alagoas-UFAL, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Epidemiologia, fisiopatologia e terapêutica em ciências Médicas

Orientador: Prof. Dr. Thiago Sotero Fragoso

Maceió  
2021

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

P372s Pedroza, Laís Quintiliano.  
Lúpus eritematoso sistêmico e sua associação com proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP1) e interleucina 6 / Laís Quintiliano Pedroza. – 2021.  
80 f. : il.

Orientador: Thiago Sotero Fragoso.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Maceió, 2021.  
Inclui produto educacional.

Bibliografia: f. 59-62.  
Apêndices: f. 63-74.  
Anexos: f. 75-80.

1. Lúpus eritematoso sistêmico. 2. Biomarcadores. 3. Diagnóstico. 4. Prognóstico. I. Título.

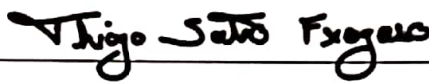
CDU: 616.51

## Folha de Aprovação

Láís Quintiliano Pedroza

Lúpus Eritematoso Sistêmico e sua associação com Proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1) e Interleucina 6

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 21 de setembro de 2021.



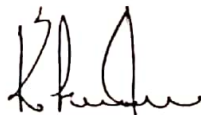
---

**Thiago Sotero Fragoso**

Universidade Federal de Alagoas/ Faculdade de Medicina

Orientador

**Banca Examinadora:**



---

**Roberto Cordeiro de Andrade Teixeira**

Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL)

Examinador externo



---

**Flávio Teles de Farias Filho**

Universidade Federal de Alagoas/Faculdade de Medicina

Examinador interno



---

**Valfrido Leão de Melo Neto**

Universidade Federal de Alagoas/Faculdade de Medicina

Examinador interno

Aos meus amores e maiores apoiadores:

Meus pais, Lauro e Elaine;

Minha filha, e maior inspiração, Maria Clara;

Meu amor e companheiro de caminhada, Jeferson.

## AGRADECIMENTOS

A minha filha amada, Maria Clara, por sempre me fazer ter vontade de crescer e ser melhor, por entender a minha ausência alguns momentos, e acima de tudo, por ser minha maior alegria, e fonte de amor e inspiração.

Ao meu amor, meu marido Jeferson, companheiro de todas as horas, por sempre me incentivar, apoiar e estimular. Por me dar alento nos momentos de “desespero” e equilíbrio para seguir adiante.

Aos meus pais, Lauro e Elaine, por serem o meu primeiro exemplo do caminho certo a seguir. Maiores exemplos de vida, de honestidade, amor incondicional e de nunca desistir dos meus sonhos e objetivos.

Ao meu irmão Renato, minha cunhada Mariana e minha sobrinha Lis, por sempre se fazerem presente, me dando equilíbrio e renovando minhas forças com carinho e atenção.

A minha sogra Lourdes, sempre presente e torcendo pelo sucesso.

Aos meus cunhados, Jackson, Anthony e João Victor, pelos momentos de desabafo, pelo apoio e incentivo contínuo.

Ao meu orientador, Thiago, por desde o início me incentivar a fazer mestrado, me apoiar profissionalmente e por tornar essa caminhada mais leve. Por se tornar um amigo.

A professora Michelle, por também me incentivar na pesquisa acadêmica, e um apoio que vai além da Universidade.

A secretária Roberta e o técnico de enfermagem, Lucielmo, por auxiliar nas coletas.

Aos acadêmicos, Jonatas e Elisa, pelo apoio no laboratório e processamento das amostras.

A professora Fabiana, pelo auxílio com dosagem dos marcadores, e sempre solicita.

Aos pacientes, por confiarem em mim, e pela doação a pesquisa.

Aos amigos de caminhada do mestrado, da primeira turma do Mestrado de Ciências Médicas da UFAL, que tornaram o dia a dia mais leve.

A todos vocês, muito obrigada!!

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa  
ignorância”.

John F. Kennedy

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** O Lúpus eritematoso sistêmico é uma doença autoimune, que tem como característica anormalidades nos linfócitos T e B, que vão levar a perda de tolerância a autoantígenos nucleares e a produção de autoanticorpos que causam inflamação e danos a múltiplos órgãos e sistemas. Uma crescente variedade de anormalidades nas citocinas e quimiocinas tem sido implicada tanto na sua patogênese quanto nos marcadores secundários que refletem a desregulação imune presente. Por sua complexidade imunológica e clínica, com apresentações fenotípicas variadas, muitas vezes o diagnóstico e a avaliação prognóstica não é fácil, porém sempre necessária, para uma abordagem correta e evitar os danos decorrentes da doença. Assim, o presente estudo tem como objetivo associar interleucina 6 (IL-6) sérica (s) e Proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1) sérico e urinário (u) com LES, buscando formas de auxiliar no diagnóstico e avaliação prognóstica. **METODOLOGIA:** Nesse sentido, foi desenvolvido um estudo do tipo caso-controle envolvendo 65 pacientes com LES atendidos no Hospital Universitário prof. Alberto Antunes, e 50 controles pareados por idade e escolaridade. Foram avaliados parâmetros clínicos no grupo de pacientes, e foram dosados IL-6, MCP-1s e MCP-1u de pacientes e controles. **RESULTADOS:** Os pacientes com LES apresentaram maiores valores de todos os biomarcadores, em comparação com o grupo controle, porém não se observou diferenças significativas no grupo de doentes, quanto a associação com atividade de doença (pelo SLEDAI  $\geq 4$ ), consumo de complementos séricos, nefrite em atividade ou proteinúria, correlacionando a importância desses marcadores no diagnóstico, mas talvez sem relação prognóstica ou de avaliação ao tratamento. **CONCLUSÃO:** O MCP-1s pode ser um biomarcador importante para auxiliar no diagnóstico do LES, e sua correlação positiva com a IL-6 traz mais especificidade e importância para seu uso na prática clínica, visto que o aumento da IL-6 já está bem documentado na literatura. Novos estudos combinando biomarcadores são necessários, e de grande utilidade para o diagnóstico e monitoramento do curso do LES.

Palavras-chave: Lúpus eritematoso sistêmico; biomarcadores; diagnóstico; prognóstico



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease, characterized by abnormalities in T and B lymphocytes that will lead to loss of tolerance to nuclear autoantigens and the production of autoantibodies that cause inflammation and damage to multiple organs and systems. An increasing variety of abnormalities in cytokines and chemokines has been implicated both in their pathogenesis and in secondary markers that reflect the present immune dysregulation. Due to its immunological and clinical complexity, with varied phenotypic presentations, diagnosis and prognostic evaluation are often not easy, but always necessary, for a correct approach and to avoid the damage resulting from the disease. Thus, the present study aims to associate serum (s) interleukin 6 (IL-6) and serum and urinary (u) chemoattracting protein of monocytes 1(MCP-1) in SLE, seeking ways to assist in the diagnosis and prognostic evaluation. **METHODS:** In this sense, a case-control study involving 65 SLE patients treated at the University Hospital prof. Alberto Antunes, and 50 controls matched for age and education. Clinical parameters were evaluated in the patient group, and IL-6, sMCP-1 and uMCP-1 were measured for patients and controls. **RESULTS:** SLE patients had higher values for all biomarkers compared to the control group, but there were no significant differences in the group of patients regarding the association with disease activity (by SLEDAI  $\geq$  4), consumption of serum supplements, nephritis in activity or proteinuria, showing the importance of these markers in the diagnosis, but perhaps without a prognostic or evaluation relation to the treatment. **CONCLUSION:** sMCP-1 can be an important biomarker to assist in the diagnosis of SLE, and its positive correlation with IL-6 brings more specificity and importance for its use in clinical practice, since the increase in IL-6 is already well documented in literature. New studies combining biomarkers are necessary, and of great use for the diagnosis and monitoring of the course of SLE.

**Keywords:** Systemic lupus erythematosus; biomarkers; diagnosis; prognosis

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema mostrando os defeitos na tolerância imunológica em pacientes com LES. ....	22
Figura 2 - Algoritmo de tratamento da Nefrite Lúpica.....	32
Figura 3 - Esquema de potenciais biomarcadores no LES.....	33
Figura 4 - Critérios de classificação para os valores dos fatores de Bayes.....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Papel das citocinas na patogênese do LES.....	23
Tabela 2 - Classificação da nefrite lúpica da <i>International Society of Nephrology/Renal Pathology Society</i> 2003.....	27
Tabela 3 - Atualização de 1997 dos Critérios Revisados do <i>American College of Rheumatology</i> de 1982 para a Classificação do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ANA	Anticorpos antinucleares
Anti-dsDNA	Anti DNA de dupla fita
Anti-Sm	Anti-Smith
APC	Células apresentadoras de antígenos
BF10	Fator de Bayes
BLyS	Estimulador de linfócitos B
C3	Componente C3 do complemento
C4	Componente C4 do complemento
CD	Células dendríticas
Células NK	Células natural killer
Células Treg	Células T reguladoras
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
DHEA	Desidroepiandrosterona
DRC	Doença Renal Crônica
EBV	Epstein-Barr vírus
ELISA	Imunoensaio ligado a enzima
EULAR	Liga Européia Contra o Reumatismo
GM-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos macrófagos
GN	Glomerulonefrite
FAN	Fator antinúcleo
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário Humano
HUPAA	Hospital Universitário professor Alberto Antunes
IF	Imunofluorescência
IFN- $\alpha$	Interferon alfa
IFN- $\gamma$	Interferon <i>gamma</i>
IgA	Imunoglobulina A
IGFs	Fatores de crescimento semelhante a insulina
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M

IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-3	Interleucina 3
IL-6	Interleucina 6
IL-6R	Receptor de interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-17	Interleucina 17
IL-21	Interleucina 21
IL-23	Interleucina 23
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LRA	Lesão renal aguda
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos 1
ME	Microscopia eletrônica
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MO	Microscopia ótica
NL	Nefrite Lúpica
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i>
SLICC	<i>Systemic Lupus International Colaborating Clinics</i>
SLICC-ARC	<i>Systemic Lupus International Colaborating Clinics / American College of Rheumatology – Damage Index</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TCR	Receptor de células T
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UV	Ultravioleta

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
1.1 Problematização.....	14
1.2 Justificativa.....	15
2 OBJETIVOS .....	17
2.1 Objetivo Geral .....	17
2.2 Objetivos Específicos .....	17
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	18
3.1 O Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	18
3.2 Epidemiologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	18
3.3 Etiologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	19
3.3.1 Fatores genéticos .....	19
3.3.2 Fatores hormonais.....	20
3.3.3 Fatores ambientais.....	20
3.4 Patogenia do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	21
3.5 Manifestações Clínicas do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	24
3.6 Nefrite Lúpica.....	25
3.6.1 Classificação da Nefrite Lúpica.....	26
3.7 Diagnóstico do Lúpus Eritematoso sistêmico.....	28
3.8 Medidas de Avaliação de atividade de doença.....	29
3.9 Prognóstico do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	30
3.10 Tratamento do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	31
3.11 Biomarcadores no Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	32
3.11.1 Proteína quimioatraente dos monócitos -1.....	33
3.11.2 Interleucina 6 .....	34
4. METODOLOGIA .....	36

4.1 Caracterização do estudo.....	36
4.1.1 Definição da amostra.....	36
4.1.2 Definição dos casos: critérios de inclusão.....	36
4.1.3 Definição dos casos: critérios de exclusão.....	37
4.1.4 Definição dos controles: critérios de inclusão.....	37
4.1.5 Definição dos controles: critérios de exclusão.....	37
4.2 Aspectos éticos .....	38
4.3 Avaliação clínica inicial.....	38
4.4 Coleta de amostras biológicas.....	39
4.4.1 Processamento e armazenamento das amostras biológicas.....	39
4.5 Avaliação laboratorial geral.....	39
4.6 Avaliação da função renal.....	40
4.6.1 Parâmetros de disfunção renal.....	40
4.7 Avaliação dos biomarcadores.....	40
4.8 Tratamento dos dados e análise estatística.....	41
5 PRODUTO.....	43
5.1 Produto 1.....	44
6 CONCLUSÕES .....	57
7 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS.....	58
REFERÊNCIAS .....	59
APÊNDICES .....	66
ANEXOS .....	75

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Problematização

O lupus eritematoso sistêmico (LES) é uma das doenças reumatológicas autoimunes mais prevalentes na população, acometendo especialmente adultos jovens, em idade economicamente ativa (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011).

A doença é caracterizada pela presença de múltiplos autoanticorpos, comprometendo diferentes órgãos e sistemas (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011). Indivíduos de todos os grupos étnicos podem ser acometidos, sendo mais comum na raça negra. Acomete predominantemente o sexo feminino, com uma taxa que varia de 4 a 13 mulheres para cada homem (PETRI, 2002).

As manifestações do LES são heterogêneas, variando de anormalidades laboratoriais detectáveis a inflamação e falência de múltiplos órgãos (ARRIENS et al., 2017). Sintomas constitucionais gerais, como astenia, febre e emagrecimento são comuns no LES (HOCHBERG et al., 2016). As lesões dermatológicas são muito frequentes e polimorfas, envolvendo pele, vasos e mucosas. As vasculites cutâneas ocorrem em cerca de 20-30% dos pacientes e podem causar lesões ungueais, ulcerações e gangrena de extremidades digitais. O envolvimento articular é comum, comprometendo preferencialmente as metacarpo falangeanas, as interfalangeanas proximais, os joelhos e os punhos, geralmente de modo simétrico. O comprometimento cardiovascular é caracterizado principalmente por uma pancardite.

Há evidências de comprometimento renal clínico em 50% dos pacientes, podendo ocorrer em diversos compartimentos incluindo túbulos, interstício, vasos e glomérulos, sendo esses últimos os mais relacionados à sintomatologia em geral apresentada pelos pacientes (MARKOWITZ; D'AGATI, 2009). A doença glomerular pode apresentar classes variáveis de gravidade com risco de óbito em alguns casos. A biópsia renal é o procedimento padrão utilizado para avaliar o grau de atividade e cronicidade relacionado à glomerulopatia. Entretanto, em alguns casos por motivos técnicos e/ou clínicos (por exemplo risco aumentado de sangramento) esta não é realizada utilizando-se nesses casos de tratamento baseado em marcadores clínicos e laboratoriais já bem estabelecidos para avaliação da função renal como a creatinina sérica e o *clearance* de creatinina, além da dosagem de proteína na urina de 24 horas para conduzir a terapêutica (HOCHBERG et al., 2016; KLUMB et al., 2015).

A avaliação de biomarcadores inflamatórios, que possam ajudar ao esclarecimento diagnóstico, ou que possam estar relacionados aos graus de atividade da doença, pode ser de



grande importância no arsenal diagnóstico e terapêutico voltado ao paciente (ARDOIN; JARJOUR, 2016).

## 1.2 Justificativa

O diagnóstico precoce, a avaliação precisa da atividade da doença e o monitoramento dos *flares* da doença em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e nefrite lúpica permanecem com enormes desafios devido à falta de biomarcadores validados com boa sensibilidade e especificidade. Parâmetros clínicos convencionais, como anti-DNA de fita dupla (anti-dsDNA), complemento C3 e C4 e proteinúria, não são sensíveis o suficiente para o diagnóstico precoce e monitoramento da atividade da doença, inflamação renal ou desfechos em longo prazo. (QIN; MOHAN, 2016).

A nefrite lúpica (NL) continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade nesse grupo de pacientes (ARRIENS et al., 2017) e é a causa mais frequente do uso de doses altas de corticosteróides e imunossupressores, a condição que mais requer internação hospitalar (KLUMB *et al*, 2015). Sua avaliação adequada depende de uma análise abrangente de vários parâmetros, em vez de um único (TANG *et al*, 2018). Embora a biópsia renal seja a referência padrão-ouro para avaliação da nefrite lúpica, é um procedimento invasivo, que nem sempre está disponível ao paciente, por impedimentos clínicos, financeiros ou de acessibilidade. Assim, a obtenção de marcadores prognósticos com métodos não invasivos, como alternativa a biópsia, é altamente necessária e é um objetivo muito importante para melhorar o manejo clínico desses pacientes (BARBADO et al., 2010).

Devido à dificuldade do diagnóstico, da avaliação de atividade de doença geral e do acometimento renal nesse grupo de pacientes é muito importante ampliar os estudos acerca das modalidades diagnósticas, principalmente aquelas capazes de estimar o prognóstico da lesão. Faz-se importante, então, avaliar possíveis associações entre marcadores inflamatórios, o diagnóstico desta doença e as lesões renais a fim de melhor entender essa associação e indicar métodos diagnósticos e terapêuticos mais efetivos (ARDOIN; JARJOUR, 2016).

Para melhorar o prognóstico do LES e da NL, é importante desenvolver estratégias menos invasivas, com especificidade e sensibilidades semelhantes a biópsia, para o diagnóstico inicial ou de recidiva da atividade da doença renal, permitindo assim o um manejo individualizado e eficaz. (SOLIMAN; MOHAN, 2017)

Uma combinação de biomarcadores pode ser muito mais útil para o diagnóstico e monitoramento do curso da doença do que um único biomarcador (HRYCEK et al., 2013), acreditamos que uma combinação adequada de quimiocinas e citocinas determinadas

simultaneamente com alguns outros parâmetros laboratoriais pode ser usada para o diagnóstico, e monitorar o curso e a progressão do LES.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

- Determinar a associação dos biomarcadores inflamatórios (MCP-1 sérico e urinário e IL-6) e o Lúpus eritematoso sistêmico.

### 2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil epidemiológico, socioeconômico e laboratorial dos pacientes com LES e do grupo controle
- Apresentar o perfil clínico dos pacientes com LES através dos marcadores de atividade de doença (SLEDAI) e o dano cumulativo (SLICC)
- Avaliar a prevalência da nefrite lúpica em pacientes portadores de LES;
- Comparar os valores de biomarcadores (IL-6, MCP-1s e MCP-1u) em pacientes com LES e o grupo controle
- Associar os valores dos biomarcadores (IL-6, MCP-1s e MCP-1u) com a atividade de doença no LES (SLEDAI) e o dano cumulativo (SLICC)
- Correlacionar os valores dos biomarcadores (IL-6, MCP-1s e MCP-1u) nos pacientes com LES e consumo de complementos (C3 e C4) séricos
- Comparar os valores dos biomarcadores com os marcadores de lesão renal (Taxa de filtração glomerular, proteinúria 24 horas, relação proteína:creatinina urina isolada)

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O Lúpus Eritematoso Sistêmico

O LES é uma doença autoimune inflamatória crônica, de etiologia multifatorial, com envolvimento de diversos órgãos e sistemas, com a presença de autoanticorpos dirigidos, principalmente contra antígenos nucleares e características sorológicas heterogêneas (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011). Os autoanticorpos atuam contra várias proteínas celulares com consequente formação de imunocomplexos que, ao se depositarem em vasos de pequenos calibre, resultam em vasculite e disfunção do local acometido (VASCONCELOS, 2019). Ele tem impacto substancial na saúde pública e individual, e está entre as 20 principais causas de morte em mulheres com idade entre 5 e 64 anos (GERGIANAKI; BORTOLUZZI; BERTSIAS, 2018).

É uma doença com uma ampla variabilidade fenotípica de apresentação, gravidade e curso clínico (KLUMB et al., 2015). Costuma ter períodos de exacerbação de atividade inflamatória, intercalados com remissão parcial ou completa, com curso de tempo em cada fase variável (VASCONCELOS, 2019).

#### 3.2 Epidemiologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico

A prevalência do LES varia de acordo com o gênero, idade, etnia e região geográfica. Estudos realizados globalmente nos últimos 15 anos, a prevalência de LES varia de 9 a 241 por 100.000 pessoas-ano e sua incidência varia de 0,3 a 23,2 por 100.000 pessoas-ano (GERGIANAKI; BORTOLUZZI; BERTSIAS, 2018), e essa variação pode dever-se a diferenças na composição genética e na exposição ambiental da população estudada.

O LES é mais prevalente na população feminina em todas as faixas etárias, embora possa ocorrer em ambos os sexos. A proporção mulher/homem é mais alta na idade reprodutiva, variando entre 8:1 e 15:1, e é mais baixa em crianças pré-púberes com cerca de 4:3 (ALMAANI; MEARA; ROVIN, 2017). Vários estudos relatam que, embora seja mais raro, o lúpus em homens é mais grave (HOCHBERG et al., 2016).

O LES ocorre em todo o mundo, embora ainda seja uma doença subdiagnosticada, principalmente em países em desenvolvimento, o que dificulta estabelecer a prevalência e incidência da doença nesses locais. Vários estudos foram publicados nos últimos anos, mostrando taxas de incidência (por 100.000 pessoas/ano) de 2,35 na Dinamarca, 3,32 na França, 4,9 no Reino Unido e 7,4 em Creta, Grécia, 7,96 na América Central/do Sul (Caribe) e 8,1 na Ásia (Taiwan), atualizando o perfil epidemiológico mundial do LES, e mostrando

uma tendência à frequência mais baixa do LES na Europa do que em outras regiões (GERGIANAKI; BORTOLUZZI; BERTSIAS, 2018). No Brasil estima-se uma incidência aproximada de 4,8 a 8,7 casos por 100.000 habitantes/ano (VASCONCELOS, 2019).

O LES pode ocorrer em qualquer idade, porém seu pico de incidência se dá durante o período reprodutivo (15 a 45 anos) em mulheres (HOCHBERG et al., 2016). Quando acontece em crianças e adolescentes, parece apresentar doença mais graves e com maior prevalência de nefrite lúpica. Já o aparecimento do LES após a menopausa, parece ocasionar uma doença de gravidade ligeiramente menor. (HOCHBERG et al., 2016)

O acometimento renal no LES, ocorre com maior frequência e é associado a manifestações mais graves em asiáticos, em comparação com pacientes de outras raças ou etnias. (YAP; YUNG; CHAN, 2018).

### **3.3 Etiologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico**

A etiologia do LES não é completamente esclarecida e é multifatorial. Muitas observações sugerem um papel para fatores genéticos, hormonais, imunológicos e ambientais. Provavelmente, interações complexas entre genes e exposições ambientais são necessárias para o desenvolvimento do LES. (HOCHBERG et al., 2016)

#### **3.3.1 Fatores Genéticos**

Diversos fatores comprovam um papel genético na patogênese do lúpus. As primeiras evidências em apoio a essa teoria vieram de estudos epidemiológicos de gêmeos afetados - gêmeos monozigóticos têm uma taxa de concordância de cerca de 25%, em comparação com 2% em pares dizigóticos. (CHILDS, 2006)

Um grande estudo de base populacional de Taiwan com mais de 23 milhões de participantes descobriu que parentes de primeiro grau têm um risco 17 vezes maior de LES em comparação com a população em geral. (KUO et al., 2015)

A genética no LES contribui com aproximadamente metade do risco de desenvolvimento da doença, mas até o momento identificou-se apenas um terço da contribuição genética. (HOCHBERG et al., 2016)

Os estudos de associação do genoma identificaram mais de 50 loci gênicos com polimorfismos (ou, raramente, mutações ou números de cópias) que predisõem ao LES. No entanto, essa informação genética é responsável por apenas 18% da suscetibilidade ao LES, sugerindo um grande componente de influências ambientais ou epigenéticas. (GALLAGHER; VISWANATHAN; OKHRAVI, 2015)

Múltiplos genes têm sido associados ao LES, incluindo genes do complexo maior de histocompatibilidade (MHC), componentes do sistema de complemento, além daqueles que codificam proteínas com ação imunomodulatória. Os genes envolvidos são componentes de funções específicas da resposta imune, alguns dos quais se superpõem, incluindo o processamento de imunocomplexos, a ativação do complemento, a ativação de receptores e a transdução de sinais imunes e a ativação do interferon. (HOCHBERG et al., 2016). O MHC contém genes responsáveis pela apresentação de antígenos e genes para alguns dos componentes do sistema de complemento e citocinas, além de modularem a resposta imune. (BARCELLOS et al., 2009)

### 3.3.2 Fatores hormonais

A função imunorregulatória do estradiol, testosterona, progesterona, desidroepiandrosterona (DHEA) e hormônios hipofisários, incluindo a prolactina, tem apoiado a hipótese de que eles modulam a incidência e gravidade do LES. Níveis significativamente mais baixos de androgênios (progesterona e DHEA) e mais altos de estradiol e prolactina foram encontrados em mulheres com LES. (HOCHBERG et al., 2016)

O estudo *Nurse's Health* mostrou que mulheres com menarca precoce ou tratadas com regimes contendo estrogênio, como anticoncepcionais orais ou terapias de reposição hormonal pós-menopausa, têm um risco significativamente aumentado para LES. (HOCHBERG et al., 2016), no entanto outros estudos não comprovaram tais associações.

### 3.3.3 Fatores ambientais

O ambiente provavelmente tem um papel na etiologia do LES por meio de seus efeitos no sistema imunológico e essa exposição a “gatilhos” ambientais em indivíduos geneticamente susceptíveis sejam os principais causadores do início da doença. Os principais agentes descritos como desencadeadores da doença são:

- Vírus: Algumas viroses também vêm sendo investigadas, embora ainda não existam evidências totalmente conclusivas da ligação de um vírus específico. O que mais tem recebido atenção neste sentido é o vírus Epstein-Barr (EBV). Pacientes com LES também têm títulos mais altos de anticorpos para EBV, têm cargas virais circulantes de EBV aumentadas. Mimetismo molecular entre proteínas do EBV e antígenos próprios tem sido postulado como tendo um papel na patogênese do LES. (GUALTIEROTTI et al., 2010; HOCHBERG et al., 2016)

- Luz ultravioleta: A luz ultravioleta (UV) pode estimular os queratinócitos a secretar mais IL-1 (interleucina 1), IL-3 (interleucina 3), IL-6 (interleucina 6), fator estimulador de colônia de granulócitos macrófagos (GM-CSF) e TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa), estimulando assim as células B a produzirem mais anticorpos. (LEHMANN et al., 1990). E a exposição a luz UV pode desencadear exacerbações da doença, incluindo erupções cutâneas fotossensíveis, febres e outros sintomas sistêmicos. (HOCHBERG et al., 2016)
- Tabagismo: Vários estudos epidemiológicos evidenciaram risco significativamente aumentado de LES em fumantes ativas. O tabagismo tanto constitui um fator de risco para doença como também tem sido associado a produção de anticorpos anti-dsDNA (FRAGOSO, 2014).

### 3.4 Patogenia do Lúpus Eritematoso Sistêmico

Como visto anteriormente, a patogênese do lúpus é multifatorial por fatores genéticos e ambientais e por anormalidades do sistema imunológico inato e adaptativo (GUALTIEROTTI et al., 2010), e essa interação está associada à perda do controle imunorregulatório e da tolerância imunológica com desenvolvimento de autoanticorpos, deficiência na remoção de imunocomplexos, ativação do sistema de complemento e de outros processos inflamatórios que levam a lesão celular e/ou tissular (figura 1) (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011); e todos esses fatores contribuem para a indução, manutenção e progressão da doença (ARRIENS et al., 2017; GUALTIEROTTI et al., 2010).

Os linfócitos B de pacientes com LES apresentam uma perda de autotolerância e uma superprodução inadequada de anticorpos e a presença de autoanticorpos antinucleares (ANA) é a marca imunológica do LES. (CHILDS, 2006)

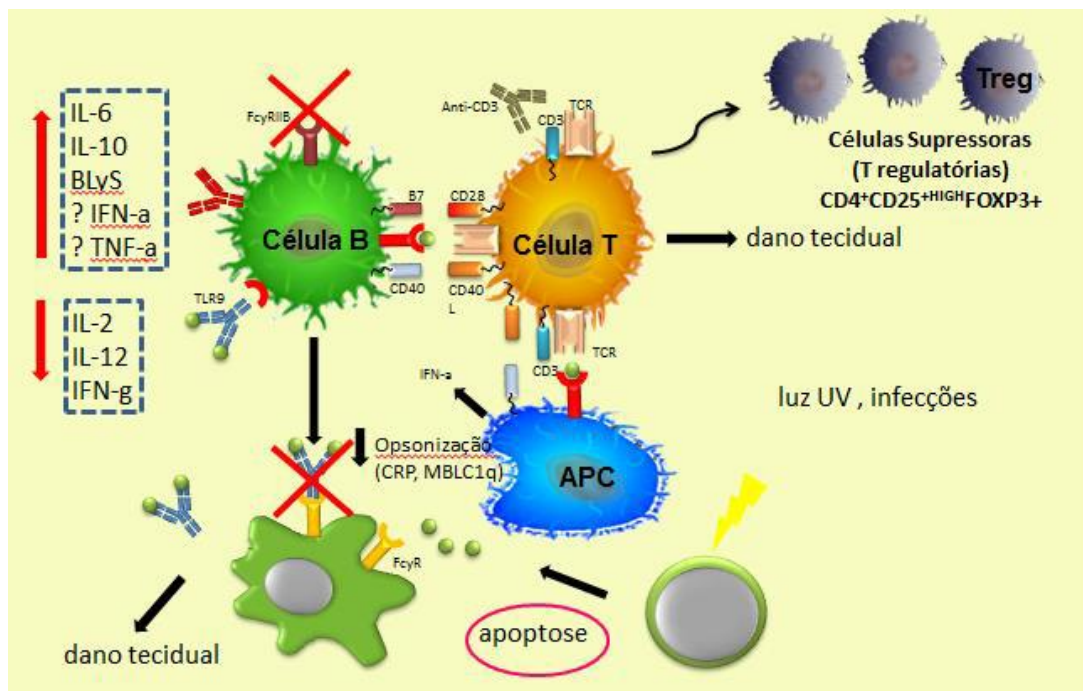
Portadores de LES desenvolvem um processo inflamatório crônico que se manifesta pela presença de uma grande variedade de autoanticorpos e alterações na função de células T e B. As principais “falhas” do sistema imune do paciente com LES estão nessas células, nos mecanismos de apresentação de antígenos e no *clearance* de autoantígenos. (FRAGOSO, 2014)

Ocorrem células B hiperativas, as quais apresentam uma falta de autotolerância, e superprodução de autoanticorpos. O desenvolvimento e sobrevivência destas células dependem da ajuda das células T. A propagação de clones de células B autodirecionados também está relacionada a falta inadequada de supressão de células T. (CHILDS, 2006)

As células apresentadoras de antígenos (APCs) estão envolvidas na patogênese do LES, como mostrado na figura 1, em virtude de sua capacidade de captar e apresentar

antígenos derivados de células apoptóticas e danificadas para células T. A apresentação anormal de autoantígenos por células dendríticas (CDs) intrinsecamente ou mal diferenciadas provavelmente desempenha um papel na iniciação e amplificação da resposta autoimune em pacientes com LES. (HOCHBERG et al., 2016). As células apoptóticas são provavelmente uma importante fonte de antígenos, que são apresentadas por CD e outras células apresentadoras de antígenos (macrófagos e linfócitos B) para as células T conduzindo a sua ativação. No LES há um defeito no *clearance* desses autoantígenos.

FIGURA 1: Esquema mostrando os defeitos na tolerância imunológica em pacientes com LES (Adaptado de GLESSE, 2015).



IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; BlyS: estimulador de linfócitos B; INF- $\alpha$ : interferon  $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; IL-2: interelucina-2; IL-12: interleucina 12; IFN- $\gamma$ : interfeferon- $\gamma$ ; Treg: células T reguladoras; APC: células apresentadoras de antígenos; TCR: receptor de células T; UV: ultravioleta;

Em resumo, pacientes com LES têm uma produção aumentada de autoantígenos, alteração no mecanismo de apresentação deles por células dendríticas e falha no *clearance*, permitindo uma exposição prolongada de autoantígenos a células do sistema imune. (FRAGOSO, 2014)

As células B são atores centrais na resposta autoimune no LES. Elas produzem altos níveis de anticorpos autorreativos que medeiam a lesão do tecido. Além disso, são capazes de



atuar como APCs internalizando antígenos solúveis, apresentando-os às células T e, assim, criando uma alça que amplifica e perpetua a resposta autoimune crônica. (HOCHBERG et al., 2016) As células T ativadas produzem uma variedade de citocinas que possuem diferentes ações, incluindo a ativação de células B. As células B produzem então anticorpos contra constituintes próprios, formando imunocomplexo. Em indivíduos normais, imunocomplexos podem ser depurados pelo sistema de complemento, no entanto em pacientes com LES há também uma falha neste mecanismo levando à deposição destes nos tecidos. O dano tissular, por sua vez, é agravado pelo recrutamento de células inflamatórias, produção de citocinas e ativação da cascata de coagulação (FRAGOSO, 2014)

Cada citocina pode ter efeitos pleiotrópicos, enquanto diferentes citocinas podem compartilhar a mesma ação. Seus efeitos podem ser estimuladores da resposta imune, incluindo proliferação, ativação e quimiotaxia, mas também podem ser supressores, favorecendo a contração de uma resposta imune inadequada ou não mais desejável. Como importantes atores-chave do sistema imunológico, as anormalidades das citocinas têm sido implicadas na patogênese do LES (TABELA 1), seja como parte do processo patogênico central do lúpus, seja como marcadores secundários que indicam desregulação imunológica. (APOSTOLIDIS et al., 2011)

TABELA 1: Papel das citocinas na patogênese do LES (adaptado de HOCHBERG et al., 2016)

Citocina	Defeito	Mecanismo
IL-2	Produção diminuída de células T	Alteração da função efetora das células T Alteração do desenvolvimento de células T reguladoras
IL-6	Produção aumentada de células mononucleares	Estimulação de células B Promoção da diferenciação de IL-17
IL-10	Produção aumentada de células mononucleares	Estimulação das células B
IL-12	Produção diminuída de células mononucleares	Promoção da diferenciação de IL-17
IL-17	Produção aumentada de células T	Promoção de inflamação
IL-21	Produção aumentada de células T	Estimulação de células B
IL-23	Produção aumentada de células mononucleares	Promoção da diferenciação de IL-17
IFN- $\gamma$	Produção de células T defeituosas	Alteração da função das células T efetoras

Há uma correlação importante na patogênese do LES com o interferon  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ), onde cerca de 50% dos pacientes têm expressão exagerada dos genes induzíveis de IFN $\alpha$ , chamado de “sinal do interferon  $\alpha$ ”, e o grau e expressão acima do normal correlaciona-se com atividade e gravidade da doença. (IMBODEN; HELLMANN; STONE, 2014).

### **3.5 Manifestações Clínicas do Lúpus Eritematoso Sistêmico**

As manifestações clínicas do LES são variadas, e podem envolver qualquer órgão ou sistema, isolada ou simultaneamente, em qualquer período da doença (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011).

A doença inicia com uma fase pré-clínica caracterizada pela produção exacerbada de autoanticorpos que precede uma fase clínica órgão-específica. Posteriormente há o início de um processo crônico caracterizada pela presença de comorbidades consequentes a lesões orgânicas ou ao uso de medicamentos para tratamento da doença. (FRAGOSO, 2014)

Queixas constitucionais, tais como mal-estar, fadiga, febre, anorexia, e perda de peso, tanto no início como por complicações da doença (HOCHBERG et al., 2016). Sintomas gerais como anorexia e perda de peso podem ser observadas como quadro inicial da doença, e preceder o aparecimento de outras manifestações em meses (VASCONCELOS, 2019).

O LES acomete diversos órgãos e sistemas, principalmente as articulações, a pele, as células sanguíneas, os vasos sanguíneos, as membranas serosas, os rins e o cérebro (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011).

As manifestações cutâneas são identificadas em 70% dos pacientes no início da doença e em até 80-90% na sua evolução e são extremamente importantes para o diagnóstico. (VASCONCELOS, 2019). A mais facilmente reconhecida é a erupção em “asa de borboleta” ou eritema malar. Já o Lúpus cutâneo subagudo é caracterizado por placas eritematosas descamativas, generalizado, normalmente em áreas expostas e com intensa fotossensibilidade. Outras manifestações incluem lesões discoides, úlceras orais, alopecia, vasculite cutânea e fenômeno de Raynaud. (HOCHBERG et al., 2016; VASCONCELOS, 2019)

O envolvimento articular, por artralgia ou artrite, constitui umas das primeiras e mais comuns manifestações iniciais no LES, podendo estar presente no início da doença em 75 a 85% dos casos e na maioria dos pacientes durante a evolução. A artrite habitualmente é intermitente e não-erosiva, entretanto, cerca de 10% dos casos podem evoluir com poliartrite ou oligoartrite crônica (BORBA et al., 2008).

No acometimento pulmonar, a pleurite é a mais frequente e ocorre em 30 a 60% dos pacientes (VASCONCELOS, 2019), porém outras manifestações pulmonares incluem

pneumonite aguda ou crônica, hemorragia pulmonar, embolia pulmonar, hipertensão de artéria pulmonar, e o envolvimento de via aérea e diafragma (HOCHBERG et al., 2016).

O LES pode afetar qualquer camada do coração e causar endocardite, miocardites e pericardites (HOCHBERG et al., 2016). A pericardite pode ter grau variável, desde quadros assintomáticos, até tamponamento cardíaco (VASCONCELOS, 2019).

Diversas manifestações neuropsiquiátricas podem ocorrer e nem todas são atribuídas diretamente ao LES, mas podem ser associadas, desde que afastadas outras causas, principalmente infecções e distúrbios metabólicos. Dentre as mais frequentes incluem cefaleia, transtorno psiquiátricos e disfunções cognitivas. (HOCHBERG et al., 2016; VASCONCELOS, 2019)

As citopenias (leucopenia, linfopenia e trombocitopenia) são manifestações bastante frequentes no LES, fazendo parte inclusive dos critérios classificação. A anemia ocorre em cerca de 50% dos pacientes, e as causas mais comuns são a anemia de doença crônica, e a anemia ferropriva, seguida de anemia hemolítica autoimune. (HOCHBERG et al., 2016; VASCONCELOS, 2019)

### **3.6 Nefrite Lúpica (NL)**

O acometimento renal no LES ocorre clinicamente em cerca de 60% dos pacientes e pode determinar alterações tubulares, intersticiais, vasculares e glomerulares (KLUMB et al., 2015).

Pacientes negros e hispânicos desenvolvem NL mais cedo e apresentam piores resultados que pacientes brancos, incluindo morte e DRC (doença renal crônica) em estágio dialítico (ALMAANI; MEARA; ROVIN, 2017).

A glomerulonefrite por imunocomplexos é a apresentação mais comum da lesão renal associada ao LES, mas doença tubulointersticial e nefrite vascular também podem ocorrer. (IMBODEN; HELLMANN; STONE, 2014)

A apresentação clínica da nefrite lúpica é bastante variável, desde quadros assintomáticos de hematúria e/ou proteinúria até síndrome nefrótica bem desenvolvida com glomerulonefrite rapidamente progressiva e perda da função renal. (IMBODEN; HELLMANN; STONE, 2014)

As manifestações que mais aparecem no paciente com nefrite lúpica são proteinúria, cilindrúria, hematúria, piúria, creatinina sérica elevada e hipertensão arterial sistêmica (HAS) (HOCHBERG et al., 2016). Redução da filtração glomerular, proteinúria nefrótica e presença de HAS, sugerem maior gravidade e pior prognóstico (VASCONCELOS, 2019).

O rastreamento rotineiro para detectar NL é um dos componentes fundamentais da monitorização e do tratamento contínuo, e deve incluir uma anamnese detalhada, com questionamentos sobre poliúria, noctúria ou espumúria, avaliar no exame físico pressão arterial e edema em membros inferiores, e sempre realizar exame simples de urina com microscopia e medida de proteinúria, seja em 24 horas, ou em amostra aleatória, calculando a razão proteína:creatinina. (IMBODEN; HELLMANN; STONE, 2014)

A biópsia renal é o padrão-ouro para fornecer informações sobre o grau de atividade ou cronicidade na nefrite lúpica, orientando a terapia e predizendo o prognóstico da nefrite lúpica (DING et al., 2018). A sociedade brasileira de reumatologia recomenda a biópsia renal sempre que houver elevação da creatinina sérica sem causa aparente e potencialmente associada ao LES, proteinúria isolada  $\geq 1,0$  g/24 horas (ou relação proteína/creatinina urinária  $\geq 1,0$ ) ou proteinúria  $\geq 0,5$  g/24 horas (ou relação proteína/creatinina urinária  $\geq 0,5$ ) associada a hematuria dismórfica glomerular e/ou cilindros (KLUMB et al., 2015). Porém, na prática clínica, nem sempre é possível ser realizada, e o tratamento não deve ser postergado (VASCONCELOS, 2019). Os principais impedimentos a realização da biópsia são distúrbios da coagulação, hipertensão arterial não controlada, infecção do trato urinário, além de falta de acessibilidade no Sistema Único de Saúde (SUS).

Os marcadores laboratoriais convencionais atuais para detectar e avaliar NL, como proteinúria, proporção de proteína na urina: creatinina, depuração de creatinina, anti-dsDNA e níveis de complemento são insatisfatórios por diversos motivos. Principalmente por não ter a capacidade de diferenciar a atividade renal do dano renal crônico e irreversível na NL; e serem limitados quanto a possibilidade de definir e diferenciar o grau de comprometimento pelo próprio LES e sua interface com síndromes pró-trombóticas associadas a doença, ou mesmo comorbidades como HAS, diabetes mellitus e doença aterosclerótica, as quais, por vezes, têm contribuição significativa para o agravamento do quadro renal. Dessa maneira, nem sempre vão refletir a patologia renal subjacente, o que é fundamental para o planejamento da estratégia de tratamento. (SOLIMAN; MOHAN, 2017)

### 3.6.1 Classificação da Nefrite Lúpica

A classificação da nefrite lúpica por meio da histopatologia está descrita na tabela 2.

TABELA 2. Classificação da nefrite lúpica da *International Society of Nephrology/Renal Pathology Society* 2003 (adaptado de KLUMB et al., 2015)

---

Classe I	<p><b>NL mesangial mínima</b></p> <p>Glomérulos normais à microscopia ótica (MO), mas com depósitos imunes à imunofluorescência (IF).</p>
Classe II	<p><b>NL mesangial proliferativa</b></p> <p>Hiper celularidade mesangial pura em qualquer grau ou expansão da matriz mesangial pela MO com depósitos imunes no mesângio. Pode haver poucos e isolados depósitos subepiteliais ou subendoteliais visíveis à IF ou à microscopia eletrônica (ME), mas não à MO.</p>
Classe III	<p><b>NL focal</b></p> <p>Glomerulonefrite (GN) focal ativa ou inativa, segmentar ou global, endo ou extracapilar envolvendo &lt; 50% de todos os glomérulos, tipicamente com depósitos imunes subendoteliais com ou sem alterações mesangiais. É ainda classificada em: A, ativa; A/C, ativa/crônica; C, crônica inativa.</p>
Classe IV	<p><b>NL difusa</b></p> <p>GN difusa ativa ou inativa, segmentar ou global, endo ou extra capilar envolvendo <math>\geq 50\%</math> de todos os glomérulos, tipicamente com depósitos imunes subendoteliais com ou sem alterações mesangiais. É dividida em difusa segmentar (IV-S) na qual <math>\geq 50\%</math> dos glomérulos envolvidos apresentam lesões segmentares (que envolvem menos da metade do tufo) e difusa global (IV-G) na qual <math>\geq 50\%</math> dos glomérulos envolvidos apresentam lesões globais (que envolve mais que a metade do tufo). Essa classe inclui casos com depósitos difusos em alça de arame com pouca ou nenhuma proliferação glomerular. É ainda classificada em: A, ativa; A/C, ativa/crônica; C, crônica inativa.</p>
Classe V	<p><b>NL membranosa</b></p> <p>Depósitos imunes subepiteliais globais ou segmentares ou suas sequelas morfológicas à MO e IF ou ME, com ou sem alterações mesangiais.</p> <p>Pode ocorrer em combinação com as classes III ou IV.</p>
Classe VI	<p><b>Esclerose avançada</b></p> <p>Esclerose glomerular global em <math>\geq 90\%</math> sem atividade residual.</p>

---

### 3.7 Diagnóstico do Lúpus Eritematoso sistêmico

A confirmação do diagnóstico de LES pode ser difícil em razão da heterogeneidade extrema de apresentações clínicas, e da inexistência de um exame diagnóstico definitivo, dessa forma é procedido levando em consideração combinação de manifestações clínicas e alterações laboratoriais, além da exclusão de outras doenças (VASCONCELOS, 2019).

Os critérios para classificação do LES foram elaborados pelo ACR em 1971, com revisões subsequentes em 1982 e 1997 (tabela 3) (HOCHBERG et al., 2016), e tem como objetivo facilitar uma abordagem sistemática do diagnóstico, enfocando as manifestações clínicas e laboratoriais mais comuns do LES. Quatro dos 11 critérios devem ser atendidos para a classificação do LES. Embora visem auxiliar na classificação, os critérios do ACR oferecem uma ferramenta altamente sensível e específica para o diagnóstico de LES, com base nas manifestações objetivas da doença. (KIRIAKIDOU; CHING, 2020).

TABELA 3. Atualização de 1997 dos Critérios Revisados do *American College of Rheumatology* de 1982 para a Classificação do Lúpus Eritematoso Sistêmico (adaptado de HOCHBERG et al., 2016)

Critério	Definição
Eritema malar	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo.
Erupção discóide	lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia
Fotossensibilidade	Exantema cutâneo como reação não-usual à exposição à luz solar, de acordo com a história do paciente ou observado pelo médico.
Úlceras orais/nasais	Úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico.
Artrite	Não-erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular.
Serosite	Pleurite (caracterizada por história convincente de dor pleurítica, atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentado por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico).

---

Comprometimento renal	Proteinúria persistente (> 0,5 g/dia ou 3+) ou cilindrúria anormal.
Alterações Neurológicas	Convulsões (na ausência de outras causas) Psicose (na ausência de outras causas)
Alterações Hematológicas	Anemia hemolítica ou leucopenia (menor que 4.000/mm <sup>3</sup> em duas ou mais ocasiões) ou linfopenia (menor que 1.500/mm <sup>3</sup> em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que 100.000/mm <sup>3</sup> na ausência de outra causa).
Alterações Imunológicas	Anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm ou presença de anticorpo antifosfolípide com base em: a) níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina; b) teste positivo para anticoagulante lúpico; ou c) teste falso-positivo para sífilis, por, no mínimo, seis meses.
Anticorpo Antinuclear	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta ou método equivalente, em qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas.

---

Em 2012, o grupo do *Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC)* publicou uma proposta de critérios de classificação de pacientes com LES (*SLICC Classification Criteria*), que incluíam algumas manifestações não contempladas nos critérios de 1997 do ACR. Esse critério apresenta especificidade de 92% e sensibilidade de 94%. Em 2019, novos critérios de classificação foram aprovados pelo EULAR (Liga Européia Contra o Reumatismo) e ACR (*2019 EULAR/ACR Classification Criteria*), que apresenta uma sensibilidade de 96,1% e especificidade de 93,4%. Ele exige uma metodologia rigorosa, com a obrigatoriedade de positividade de FAN como critério de entrada. (HOCHBERG et al., 2016)

### **3.8 Medidas de Avaliação de atividade de doença**

A atividade de doença é avaliada por meio da combinação de história clínica, exame físico, testes funcionais específicos e estudos sorológicos, e são imprescindíveis no seguimento dos pacientes e constituem um desafio diário. (VASCONCELOS, 2019)

Para tanto, diversos instrumentos compostos foram desenvolvidos e validados para uma avaliação padronizada da doença, particularmente em estudos observacionais. (GERGIANAKI; BORTOLUZZI; BERTSIAS, 2018)

O SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*) tem sido o mais utilizado para avaliação de atividade de doença em vários centros, com bons resultados quanto à validade e à reprodutibilidade no Brasil (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011). Ao longo do tempo, o SLEDAI foi revisado, dando origem ao SLEDAI-2K, e novos instrumentos foram criados a partir desse como o SLEDAI 2k modificado (apêndice C) (sem os parâmetros sorológicos: anti-dsDNA e complemento sérico). O SLEDAI e suas modificações medem a atividade da doença com base em 24 medidas objetivas de manifestações clínicas e laboratoriais, nos últimos 30 dias. (HOCHBERG et al., 2016). Estudos concluíram que esses instrumentos têm boa correlação entre si, e com a avaliação global pelo médico, e o SLEDAI-2K modificado, teve a melhor validade discriminativa e o menor custo. (FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011)

O *Systemic Lupus International Collaborating Clinics / American College of Rheumatology – Damage Index* (SLICC-ACR) (apêndice D) é um escore utilizado para medir o grau de seqüela pelos danos cumulativos decorrentes do LES e/ou do tratamento (VASCONCELOS, 2019). Ele foi elaborado visando captar danos pela atividade da doença, por medicações e por condições comórbidas que estejam presentes há 6 meses ou mais, a fim de identificar danos irreversíveis. São avaliados 12 órgãos e sistemas, com uma pontuação mínima de zero (quando não tem nenhum órgão acometido) e pontuação máxima de 47 pontos (HOCHBERG et al., 2016).

### **3.9 Prognóstico do Lúpus Eritematoso Sistêmico**

O prognóstico de pacientes do LES melhorou muito nas últimas décadas, uma vez que a sobrevivência de 5 anos que era de 50% na década de 1950 passou para 95% nos dias atuais. (VASCONCELOS, 2019) As razões para tal melhora são multifatoriais, e incluem diagnóstico precoce, tratamentos mais eficazes e controle clínico mais eficaz das complicações como infecções e dano renal. (IMBODEN; HELLMANN; STONE, 2014)

Diversos fatores estão ligados a um pior prognóstico, e inclui LES de início infanto-juvenil, etnia não caucasiana, baixo nível socioeconômico e de educação formal, doença com envolvimento cardiovascular, neurológico, renal e plaquetopenia grave, e maiores índices de SLEDAI e SLICC. (VASCONCELOS, 2019)



Pacientes com LES possui risco 2,98 vezes de óbito quando comparado a população controle. As mortes nos pacientes nos estágios iniciais são causadas pela atividade de doença ou por infecção, e as mortes atribuíveis a doença crônica são devidas a doença coronariana aterosclerótica e neoplasias. (IMBODEN; HELLMANN; STONE, 2014; VASCONCELOS, 2019)

Daí a importância de um diagnóstico precoce e um adequado monitoramento da doença e suas complicações, para melhorar a sobrevida.

### **3.10 Tratamento do Lúpus Eritematoso Sistêmico**

Em decorrência da grande variabilidade fenotípica e das manifestações clínicas, o manejo do LES requer inicialmente a definição da extensão e a gravidade da doença, e o tratamento medicamentoso deve ser individualizado para cada paciente e depende dos órgãos ou dos sistemas acometidos, bem como da sua gravidade. (VASCONCELOS, 2019)

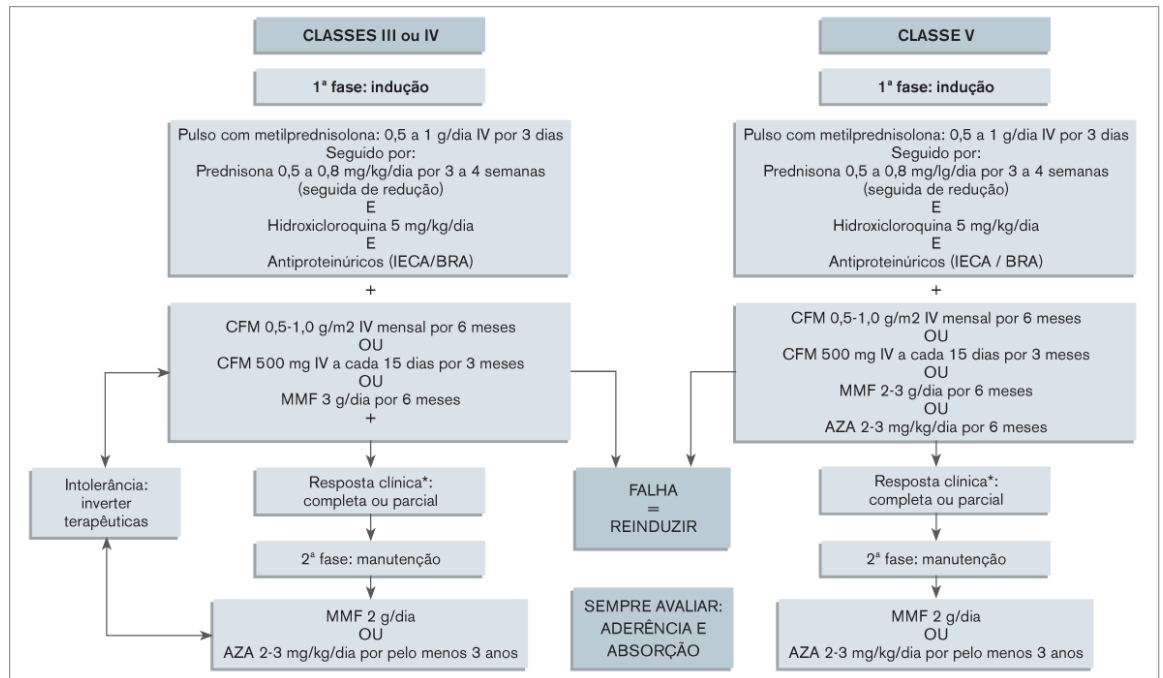
Algumas medidas gerais são recomendadas, como parte importante da abordagem terapêutica inicial: educação do paciente, apoio psicológico, atividade física, dieta, uso de fotoprotetores, evitar tabagismo e controle rigoroso dos fatores de risco cardiovascular. (BORBA et al., 2008)

O tratamento medicamentoso será, preferencialmente, individualizado, e a depender do acometimento orgânico. As medicações para o LES no caso de um acometimento que não coloque em risco o funcionamento de órgãos incluem fármacos anti-inflamatórios tópicos, anti-inflamatórios não esteroidais, imunomoduladores, e doses baixas de corticosteróides. Metotrexato, micofenolato de mofetil, azatioprina e ciclofosfamida compreendem 95% de todas as prescrições de imunossupressores (HOCHBERG et al., 2016).

Independentemente do órgão ou do sistema afetado, o uso contínuo de imunomoduladores, preferencialmente do sulfato de hidroxiquina, é indicado com a finalidade de reduzir a atividade da doença e tentar poupar o uso de corticóides. A manutenção deste medicamento em pacientes controlados reduz a possibilidade de novo surto de atividade, melhora o perfil lipídico e reduz o risco de trombose (BORBA et al., 2008).

O tratamento da NL, deve ser baseado na classe histológica, conforme ilustrado na figura 2.

FIGURA 2: Algoritmo de tratamento da Nefrite Lúpica (adaptado de VASCONCELOS, 2019)



IV: Intravenoso; IECA: Inibidor de enzima conversora de angiotensina; BRA: Bloqueador do receptor de angiotensina; CFM: Ciclofosfamida; MMF: Micofenolato de mofetil; AZA: Azatioprina.

### 3.11 Biomarcadores no Lúpus Eritematoso Sistêmico

Um biomarcador, é uma substância biológica, bioquímica ou molecular que pode ser detectada qualitativamente e quantitativamente por técnicas de laboratório e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica" (ARRIENS et al., 2017; SOLIMAN; MOHAN, 2017).

Os biomarcadores podem ser (ARRIENS et al., 2017):

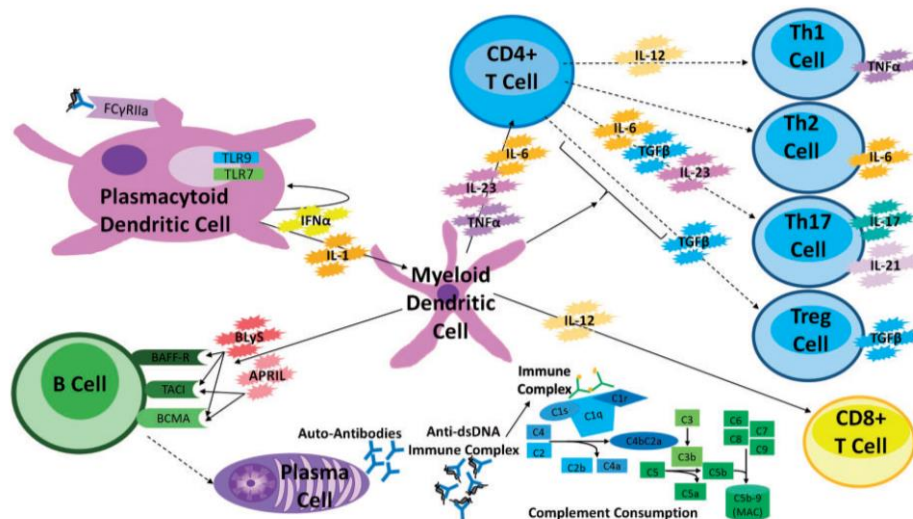
- Prognósticos: identificam uma manifestação específica de uma patologia, indivíduos em risco de desenvolvimento de doença ou aqueles com probabilidade de *flare* da doença.
- Diagnósticos: confirmam a presença ou subtipo da doença
- Preditivos: usam características basais para prever respostas terapêuticas.
- Farmacodinâmicos: auxiliam na determinação das doses terapêuticas ideais
- Substitutos: destinam-se a substituir um desfecho clínico

Um biomarcador ideal deve demonstrar uma boa correlação com a atividade da doença, ter especificidade para a patologia primária de interesse e ser sensível o suficiente

para detectar exacerbações. (MIRIOGLU et al., 2020). Vários marcadores foram avaliados para classificar os indivíduos com lúpus e avaliar a atividade, ou para determinar as respostas ao tratamento e prever estratégias terapêuticas (ARRIENS et al., 2017). Embora proteinúria, sedimento urinário ativo, depuração de creatinina, anti-dsDNA e níveis séricos de proteínas do complemento guiem o diagnóstico e manejo de NL, eles não se encaixam na descrição de um biomarcador ideal. (MIRIOGLU et al., 2020)

A figura 3 esquematiza os principais biomarcadores envolvidos na patogênese do LES, e a relação com as células produtoras e suas consequências.

FIGURA 3: Esquema de potenciais biomarcadores no LES (adaptado de ARRIENS et al., 2017)



APRIL: um ligante indutor de proliferação; BlyS: estimulador de linfócitos B; TGF $\beta$ : Fator de transformação do crescimento beta

Os biomarcadores séricos e urinários que refletem as diferentes características inflamatórias da nefrite lúpica, podem ser testados e uso desses marcadores não só ajuda a distinguir o tipo patológico, mas também pode ser benéfico para reconhecer os diferentes graus de inflamação da nefrite lúpica (LAN et al., 2016).

### 3.11.1 Proteína quimioatraente dos monócitos -1 (MCP-1)

A MCP-1 é uma  $\beta$ -quimiocina composta por 76 aminoácidos e pertence a uma família composta por pelo menos quatro membros (MCP-1, MCP-2, MCP-3 e MCP-4). As quimiocinas são os fatores importantes que regulam o recrutamento de leucócitos no tecido

inflamado; eles participam da quimioatração de numerosas células imunorreativas e desempenham um papel importante no desenvolvimento de condições inflamatórias e progressão de doenças autoimunes, como o LES (HRYCEK et al., 2013).

Ela é produzida por células renais mesangiais, endoteliais, epiteliais tubulares e musculares lisas em resposta a várias citocinas inflamatórias (GÓMEZ-PUERTA et al., 2018), e é responsável pelo recrutamento de monócitos e linfócitos T durante as fases aguda e crônica da inflamação, induzindo a produção de mediadores inflamatórios, como IL-1 e IL-6, e também lesando tecidos por meio da adesão celular monócitos-macrófagos (LAN et al., 2016)

É um potente quimioatraente para monócitos, linfócitos T de memória CD4 e CD8 ativados. Além disso, MCP-1 induz a liberação de grânulos de células natural killer e células T CD8+ (GÓMEZ-PUERTA et al., 2018).

Ela é considerada um marcador de inflamação renal, mas não é exclusiva do lúpus, podendo estar presente em níveis elevados na urina de pacientes com diabetes mellitus, nefrite por IgA (imunoglobulina A) e certos tipos de vasculite, entre outras condições (BARBADO et al., 2010).

A MCP-1 está envolvida na mediação da inflamação e lesão em NL, desempenhando um papel importante no recrutamento de monócitos e linfócitos e no aumento da adesividade endotelial e leucocitária (LEE; SONG, 2017); e aumentos da expressão tubular de MCP-1 foram fortemente associados à infiltração de monócitos e fibrose no interstício de pacientes com nefrite lúpica, sugerindo que ela participa da patogênese do dano tubular-intersticial, pois recruta monócitos e ocorre a fibrose do interstício (BARBADO et al., 2010). Em modelos de murinos com NL, a depleção ou bloqueio genético de MCP-1 melhora inflamação glomerular e intersticial e, portanto, o dano renal (GÓMEZ-PUERTA et al., 2018). Essas pesquisas mostram que MCP-1 pode ser um biomarcador promissor para avaliação da atividade NL, bem como um alvo para sua terapia (DONG et al., 2018).

### **3.11.2 Interleucina 6 (IL-6)**

A IL-6, uma citocina pró-inflamatória produzida por uma ampla gama de tipos de células, principalmente células apresentadoras de antígenos (como macrófagos), mas também pode ser secretada em quantidades menores por muitos outros tipos de células, incluindo linfócitos, células mesangiais e células endoteliais, e facilita as respostas adaptativas do tipo Th2 e Th17 e a ativação, diferenciação e produção de anticorpos de células B (ARRIENS et al., 2017). É induzida por outras citocinas, incluindo IL-1, TNF e produtos

microbianos. Produzida em resposta à infecção, inflamação e trauma, e seus níveis circulantes são detectáveis no soro (HOCHBERG et al., 2016).

Ela tem efeitos pleiotrópicos em uma variedade de tecidos, e como uma das principais citocinas pró-inflamatórias, ela induz respostas febris e de fase aguda e estimula a produção de fibrinogênio, amiloide A sérica, haptoglobina, proteína C reativa e proteínas do complemento; diminui a síntese de albumina e transferrina e induz a produção de hepcidina e, assim, contribui para a patogênese da anemia de doenças crônicas; é um fator de crescimento e diferenciação para células B e induz a produção de imunoglobulinas, incluindo IgA; promove a ativação de macrófagos, bem como células T efectoras (tabela 7) (DAVIS; HUTCHESON; MOHAN, 2011); também promove o catabolismo, induz resistência à insulina e desempenha um papel na osteoporose, aumentando a função dos osteoclastos (HOCHBERG et al., 2016).

O receptor de IL-6 (IL-6R) também é expresso por muitos tipos de células, incluindo leucócitos, megacariócitos e hepatócitos. O IL-6R é composto por 1 componente de ligação de citocina que pode ser ligado ou ligado à membrana e o componente de transdução de sinal gp130 comum, que é compartilhado com outros membros da família, incluindo IL-11, oncostatina e fator inibidor de leucemia. A IL-6 e o fator de crescimento transformador- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) com ou sem IL-1, IL-18 e TNF- $\alpha$  promovem a diferenciação das células Th17 por meio da ativação dos fatores de transcrição STAT3 e ROR $\gamma$ t. Por outro lado, a IL-6 suprime o fator de transcrição forkhead box P3 (FOXP3), o que resulta na diminuição do número de células T reguladoras. As células Th17 foram implicadas como células efectoras patogênicas em uma variedade de doenças autoimunes (DAVIS; HUTCHESON; MOHAN, 2011)..

Esta citocina foi implicada na progressão do LES ao regular o desenvolvimento da linhagem de células T CD4+. Em pacientes com lúpus, monócitos e células B superproduzem IL-6. (MUHAMMAD YUSOFF; WONG; MOHD REDZWAN, 2020)

A IL-6 está elevada no soro e na urina de alguns pacientes com lúpus e foi observada em biópsias renais de paciente do NL, apoiando o papel da IL-6 na nefrite. (DAVIS; HUTCHESON; MOHAN, 2011)

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Caracterização do estudo

O presente estudo caracteriza-se como um estudo caso-controle, tendo sido desenvolvido com pacientes portadores de Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) internados e/ou em acompanhamento ambulatorial no Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes – Universidade Federal de Alagoas (HUPAA-UFAL) na cidade de Maceió (Alagoas) no período compreendido entre junho de 2018 e março de 2020 na cidade de Maceió, Alagoas.

#### 4.1.1 Definição da amostra

As unidades que compõem a amostra do presente estudo foram extraídas de forma não-probabilística da população da cidade de Maceió atendidas no HUPAA-UFAL. As coletas foram realizadas por um único avaliador, com experiência na área. Os indivíduos de pesquisa alocados no estudo foram definidos como “casos” e “controles”, conforme critérios destacados nos parágrafos subsequentes. Para o grupo dos “casos”, foram selecionados pacientes com diagnóstico de LES que estavam internadas ou no momento da consulta ambulatorial de seguimento no ambulatório de Reumatologia do HUPAA-UFAL.

Para o grupo “controle”, foram selecionados indivíduos que estavam em consulta ginecológica de rotina, ou acompanhantes de pacientes em atendimento no HUPAA-UFAL, pareados por idade e escolaridade.

O diagnóstico da doença foi feito através de dados clínicos, epidemiológicos ou exames laboratoriais conforme preconizado pelo ACR, sendo necessários no mínimo quatro dos onze critérios definidos (tabela 1).

#### 4.1.2 Definição dos casos: critérios de inclusão

- Pacientes com idade entre 18 e 65 anos de idade;
- Sexo feminino;
- Diagnóstico confirmado de lupus eritematoso sistêmico pelos critérios ACR 1997;
- Assinatura do TCLE (termo de consentimento livre e esclarecido).

#### **4.1.3 Definição dos casos: critérios de exclusão**

- Pacientes com diagnóstico de diabetes tipo 1 ou 2;
- Pacientes portadores de hipertensão arterial sistêmica não compensada (pressão arterial sistólica  $\geq 160$  mmHg e/ou pressão arterial diastólica  $\geq 110$  mmHg) e/ou insuficiência cardíaca;
- Pacientes em uso de drogas nefrotóxicas (exceto medicamentos padronizados para tratamento da doença como ciclofosfamida);
- Paciente portador de qualquer patologia que possa levar à disfunção renal;
- Pacientes com sorologia positiva para hepatites B, C e HIV;
- Pacientes com déficit cognitivo, que apresente dificuldades de entendimento dos questionários aplicados durante essa entrevista;
- Gestantes.

#### **4.1.4 Definição dos controles: critérios de inclusão**

- Pacientes com idade entre 18 e 65 anos de idade;
- Sexo feminino;
- Assinatura do TCLE.

#### **4.1.5 Definição dos controles: critérios de exclusão**

- Pacientes com diagnóstico de LES ou outra doença reumatológica sistêmica;
- Pacientes com diagnóstico de diabetes tipo 1 ou 2;
- Pacientes portadores de hipertensão arterial sistêmica não compensada (pressão arterial sistólica  $\geq 160$  mmHg e/ou pressão arterial diastólica  $\geq 110$  mmHg) e/ou insuficiência cardíaca;

- Pacientes em uso de drogas nefrotóxicas;
- Paciente portador de qualquer patologia que possa levar à disfunção renal;
- Pacientes com sorologia positiva para hepatites B, C e HIV;
- Pacientes com déficit cognitivo, que apresente dificuldades de entendimento dos questionários aplicados durante essa entrevista;

Gestantes.

## **4.2 Aspectos éticos**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFAL, através da plataforma Brasil (*on line*), sob o número de parecer 2.725.374 (anexo A), estando de acordo com os princípios constantes na Declaração de Helsinki (1964).

Os pacientes receberam informações quanto aos procedimentos metodológicos aplicados no decorrer do estudo, a importância da pesquisa, e assinatura do TCLE (apêndice A) por aqueles que concordaram em participar, conforme resolução nº 196/96 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde.

Os resultados de todos os testes realizados foram fornecidos aos pacientes incluídos na pesquisa e à equipe médica responsável pela assistência aos pacientes. Os pacientes que forem diagnosticados com alterações renais foram encaminhados para acompanhamento especializado nos ambulatórios de Nefrologia das instituições participantes.

## **4.3 Avaliação clínica inicial**

Todos os procedimentos de avaliação clínica foram efetuados no ambulatório de Reumatologia e na enfermaria de clínica médica do HUPAA-UFAL, e consistiram de: anamnese e exame físico executados por um único examinador.

Foi preenchido questionário específico (apêndice B), o SLEDAI 2K modificado (apêndice C) e o SLICC (apêndice D).



Foi considerado o valor de SLEDAI 2k modificado  $\geq 4$  o paciente estando em atividade de doença, e abaixo disso, em remissão clínica.

#### **4.4 Coleta de amostras biológicas**

Para as análises bioquímicas, os pacientes foram submetidos à coleta de duas amostras de sangue venoso realizadas no mesmo dia (por punção periférica da veia intermédica do cotovelo), de aproximadamente 10 mL cada em tubos de EDTA (uma destinada à análise bioquímica geral e outra, à análise dos biomarcadores).

Os pacientes foram ainda submetidos à coleta de duas amostras de urina.

##### **4.4.1 Processamento e armazenamento das amostras biológicas**

Imediatamente após, as amostras destinadas à análise da bioquímica geral e uma das amostras de urina foram tratadas no laboratório de análises clínicas do HUPAA-UFAL, ou laboratório externo particular, conforme protocolos de rotina deste.

Os analitos destinados à avaliação de biomarcadores séricos foram acondicionados rapidamente em banho de gelo (4°C), sendo em seguida centrifugados a 4000 rpm por 10 minutos em centrífuga Fanem<sup>®</sup> (São Paulo, Brasil), para a separação entre o plasma e os elementos figurados. Após, as amostras de plasma foram aliqüotadas e armazenadas no ultrabiofreezer -80°C, onde permaneceram até a efetuação das dosagens bioquímicas.

A outra amostra de urina foi armazenada a -80°C em ultrabiofreezer -80°C, onde permaneceram até a efetuação das dosagens dos biomarcadores urinários.

#### **4.5 Avaliação laboratorial geral:**

Na avaliação laboratorial geral foram colhidos hemograma completo, velocidade de hemossedimentação (mm/h), proteína C reativa (mg/L), ureia (mg/dL), creatinina (mg/dL), Complementos C3 (mg/dL) e C4 (mg/dL), sumário de urina e proteinúria de 24h (mg/24h) ou creatinina e albumina (mg/g) em amostra isolada de urina. Os marcadores imunológicos

(FAN, anti-dsDNA, anti-Sm - Smith e anti- P ribossomais – anti-P) foram avaliados na ocasião do diagnóstico, sendo pegos seus valores no prontuário do paciente.

#### **4.6 Avaliação da função renal:**

A taxa de filtração glomerular foi estimada através da creatinina plasmática ( $P_{Cr}$ ), pela equação do *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI).

##### **4.6.1 Parâmetros de acometimento renal (pelo menos um dos parâmetros presentes)**

- Taxa de filtração glomerular abaixo de  $90\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ , mensurada pelo *clearance* de creatinina, estimada pelo CKD-EPI
- Excreção urinária de proteínas acima de  $500\text{mg}/\text{dia}$  ou relação albumina:creatinina  $>1\text{mg}/\text{G}$
- Hematúria – Número maior que 5 hemácias por campo de grande aumento na sedimentoscopia
- Leucocitúria - Número maior que 5 leucócitos por campo de grande aumento na sedimentoscopia

#### **4.7 Avaliação dos biomarcadores.**

O MCP-1 foi quantificado por meio da técnica do imunoenensaio ligado a enzima (ELISA) sanduíche, utilizando os kits comerciais da PeptoTech® (PeptoTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR. – MCP-1). Foram seguidos os procedimentos de acordo com as normas do fabricante. As leituras da absorvância foram realizadas a  $450\text{ nm}$ , em duplicata, em leitor de placa de ELISA e os resultados foram expressos em  $\text{ng}/\text{mg}$  Creatinina.

A citocina inflamatória dosada foi a Interleucina-6. Os níveis séricos foram determinados por ELISA, utilizando o kit da PeptoTech® (PeptoTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR.), conforme as instruções do fabricante. A leitura da absorvância foi

realizada a 450 nm, em duplicata, em leitor de placa de ELISA e os resultados foram expressos em ng.uL.

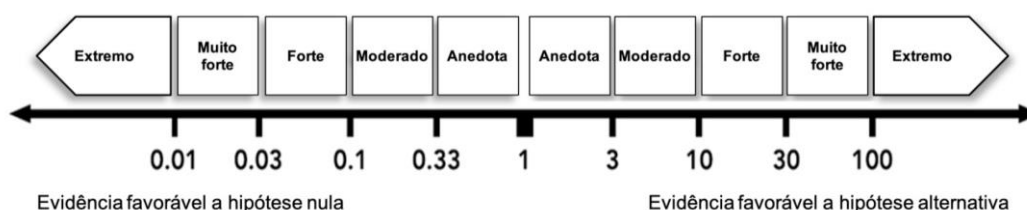
#### 4.8 Tratamento dos dados e análise estatística

Consecutivamente à sua obtenção, os dados foram tabulados em planilhas eletrônicas no programa Excel (Microsoft®, NY, EUA).

Foram realizadas análises Bayesiana e Frequentista.

Para avaliação dos valores dos fatores de Bayes (BF10) adotou-se os critérios de classificação reportados em (QUINTANA; WILLIAMS, 2018): tais valores podem ser considerados “anedóticos”, “moderados”, “fortes”, “muito fortes” ou “extremos” (Figura 4).

FIGURA 4: Critérios de classificação para os valores dos fatores de Bayes (adaptado de (QUINTANA; WILLIAMS, 2018))



A normalidade dos dados foi avaliada através de Shapiro-Wilk – um teste robusto para amostras pequenas como as presentes na análise – e gráficos Q-Q. O teste t-student foi aplicado para comparação de variáveis contínuas, quando o pressuposto de normalidade entre os grupos foi cumprido. No caso de violação da normalidade, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. As correlações foram avaliadas usando o coeficiente de Pearson, quando as variáveis estão normalmente distribuídas, e o coeficiente não paramétrico tau B de Kendall quando não. Todos os testes já citados foram realizados com auxílio do software JASP (JASP TEAM, 2020).

A análise da curva de característica de operação do receptor (ROC) foi usada para obter o valor da área sob a curva (AUC) e para avaliar sensibilidade e especificidade estabelecer o valor diagnóstico potencial de MCP-1 e IL-6.

Foram ainda realizadas análises de variância com o software Jamovi (THE JAMOVI PROJECT, 2021). Nos casos onde os grupos analisados apresentaram distribuição normal, a ANOVA One-Way foi aplicada. Nos restantes, a ANOVA não paramétrica de Kruskal-Wallis. Para análise de dados categóricos, também com o Jamovi, foram utilizadas tabelas de contingência e os testes Chi-quadrado e exato de Fischer.

Para avaliação do tamanho do efeito nas tabelas de contingência, foi reportado o Odds Ratio (OR) - medida da força da associação entre a presença de um fator e a ocorrência de um evento. A classificação adotada para análise do tamanho do efeito foi:  $< 1,5$  = “trivial”,  $1,5$  = “pequeno”,  $3,5$  = “médio” e  $9$  = “grande” (GOSS-SAMPSON, 2020).

O nível de significância estatística foi considerado com valores de  $p < 0,05$ .

## 5 PRODUTO

1. MCP-1 AND IL-6 AS POSSIBLE DIAGNOSIS BIOMARKERS IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS, submetido segundo as normas da LUPUS.

## 5.1 PRODUTO 1

### **MCP-1 and IL-6 as possible diagnosis biomarkers in Systemic lupus erythematosus**

Laís Quintiliano Pedroza<sup>1</sup>; Valfrido Leão de Melo Neto<sup>2</sup>; Michelle Jacintha Cavalcante Oliveira<sup>3</sup>; Amylly Sanuelly da Paz Martins<sup>4</sup>; Fabiana Andréa Moura<sup>5</sup>; Thiago Sotero Fragoso<sup>6</sup>

Corresponding author: Thiago Sotero Fragoso.

E-mail: [thiago.reumato@gmail.com](mailto:thiago.reumato@gmail.com)

#### **Abstract**

**INTRODUCTION:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is a complex disease with high clinical heterogeneity, making its diagnosis frequently difficult. So, the identification of new inflammatory biomarkers may help the diagnosis. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukine-6 (IL-6) are proinflammatory cytokines that have been studied in SLE and are considered potential biomarkers. **METHODS:** The serum levels of IL-6 and MCP-1 in serum (s) and urine (u) of 65 SLE patients and 50 control group individuals were performed, and we evaluated their association with organ damage (SLICC/ACR) and disease activity (SLEDAI-2k). **RESULTS:** The levels of sMCP-1, uMCP-1, and IL-6 were significantly higher in patients with SLE compared to controls group ( $p < 0.001$ ), regardless of disease activity and renal involvement. sMCP-1 and IL-6 Receiver Operating Characteristics (ROC) curves showed elevate sensitivity and specificity for SLE, and the combination of sMCP-1 and IL-6 increase more sensitivity. **CONCLUSION:** We demonstrated that MCP-1 and IL-6 have, singly or together, good sensitivity for SLE identification.

**Keywords:** Systemic lupus erythematosus, IL-6; MCP-1; Biomarkers

---

<sup>1</sup> Master's degree student in Medical Science; Faculty of Medicine, Federal University of Alagoas, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-2355-0799>

<sup>2</sup> PhD; Psychiatric Division; Faculty of Medicine, Federal University of Alagoas, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-5914-0142>

<sup>3</sup> PhD; Nephrology Division; Faculty of Medicine, Federal University of Alagoas, Brazil. <https://orcid.org/0000-0003-4554-467X>

<sup>4</sup> Doctoral students in biotechnology; Northeast biotechnology network, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-3011-1145>

<sup>5</sup> PhD; College of Nutrition, Federal University of Alagoas, Brazil. <https://orcid.org/0000-0003-0625-0193>

<sup>6</sup> PhD; Rheumatology Division; Faculty of Medicine, Federal University of Alagoas, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-0192-0760>

## Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease with multiple organ involvement and diverse clinical manifestations,<sup>1</sup> which affects especially young adults of working age and is characterized by the presence of multiple autoantibodies.<sup>2</sup> The heterogeneity of SLE manifestations arises from the interaction of genetic factors, immunity, and associated environmental factors.<sup>3</sup> In addition to the great heterogeneity and variety of clinical manifestations, SLE presents with alternating periods of exacerbation and quiescence, which makes its diagnosis challenging, even for experienced rheumatologists.<sup>4,5</sup> The disease has no single diagnostic marker; instead, it is identified through a combination of clinical and laboratory criteria.<sup>6</sup>

Early diagnosis, accurate assessment of disease activity, and monitoring of flares in SLE patients remain challenging due to the absence of validated biomarkers with adequate sensitivity and specificity. Conventional clinical parameters and traditional biomarkers such as anti-ds DNA, serum levels of complement proteins and proteinuria, may not be sensitive enough for diagnosis and monitoring of disease activity, renal inflammation, or other long-term outcomes.<sup>7,8</sup>

A biomarker is defined as a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal or pathogenic biological processes, pharmacologic responses to a therapeutic intervention. It can be prognostic, diagnostic, predictive, pharmacodynamic, and surrogate. It is interesting for SLE a specific biomarker that can be predictive, prognosis, and diagnostic with good correlation with disease activity, and sensitive enough to detect flares.<sup>4,8,9</sup>

Many different cytokines have a relation with SLE pathogenesis and have been considered as potential biomarkers for early disease detection and flare monitoring. However, there are no molecules in clinical practice that have high sensitivity and specificity for this proposal.<sup>9</sup> Among the cytokines involved in the etiopathogenesis of SLE, Interleukin 6 (IL-6) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) have been described as potential candidates for biomarkers.<sup>8,10</sup> IL-6 is associated with activation and differentiation of cells involved in the development of systemic autoimmunity, plays a critical role in B cell hyperactivity and in the pathogenesis of SLE, being directly involved in tissue damage.<sup>11</sup> MCP-1 is a leukocyte chemotactic factor involved in the pathogenesis of renal injury in SLE, which induces the release of lysosomal enzymes and generation of superoxide anions from monocytes/macrophages, in addition to being a chemoattractant for monocytes and macrophages.<sup>11,12</sup>

Thus, the assessment of inflammatory biomarkers, which may help in the diagnosis and evaluation of disease activity, could be of great importance in the diagnostic and choice of the therapeutic<sup>9</sup> and a combination of biomarkers can be much more useful for diagnosing and monitoring the course of the disease than a single biomarker.<sup>10</sup> In this way, we evaluated IL-6, sMCP1 e uMOCP-1 in SLE patients and their association to disease activity and organ damage.

## **Materials and methods**

### *Patients*

We performed a cross-sectional study that included patients with SLE who fulfilled the classification criteria for SLE made by the American College of Rheumatology (ACR).<sup>13</sup> Sixty-five patients with SLE aged between 18 and 65 years were recruited from the Lupus Outpatient Clinic at the Professor Alberto Antunes University Hospital, Federal University of Alagoas, Brazil. This SLE outpatient clinic is a reference unit for lupus care in the state of Alagoas, northeast of Brazil. Fifty healthy individuals without any signs of infection, rheumatic or kidney damage comprised the control group. Individuals with diabetes mellitus, non-controlled systemic arterial hypertension, and/or heart failure, using nephrotoxic drugs, with hepatitis B or C or HIV and pregnant women were excluded from both groups.

### *Ethical aspects and procedures*

This study was approved by the local Ethics Committee for Research of the Federal University of Alagoas (No. 2.725.374) and complied with the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from each participant.

### *Data Collection*

Clinical and sociodemographic data were obtained during the interview of the routine medical consultation and completed with a review of patient charts. We used a structured, coded questionnaire, and a sheet for collecting data from the patient chart.

Disease activity was determined using the SLE Disease Activity Index 2k modified (SELENA-SLEDAI 2km), and patients with a SLEDAI  $\geq 4$  were classified as 'active'.<sup>2,14,15</sup> Disease damage was evaluated using systemic lupus international collaborating clinics ACR damage index (SLICC).<sup>16</sup> Active lupus nephritis (LN) was defined by the presence of one or more of the following criteria: proteinuria  $\geq 500$  mg/24h; active urine sediments (more than



five red blood cells); erythrocyte casts and leukocyturia (more than five white blood cells) and altered serum creatinine. Glomerular filtration rate was estimated using plasma creatinine (PCr) using the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation.<sup>17</sup>

#### *Laboratory tests*

Serum and urine samples were collected from each patient and control group at the time of sampling. They were analyzed in the laboratory to measure blood count, biochemistry, a dosage of C3 and C4 complements, simple urine, and proteinuria. The collected blood was stored in a EDTA tube and was centrifuged at 4,000 rpm, for 10 minutes, at 4°C. The supernatant was removed and stored at -80°C, for later biochemical analyzes. ELISA kits were used to measure serum levels of MCP-1 and IL-6 and urine level of MCP-1 according to the manufacturer's instructions (PeproTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR). sMCP-1, uMCP-1 and IL-6 were reported as ng/uL.

#### *Statistical analyses*

Statistical analyses were performed using the software JASP<sup>18</sup>. Bayesian and Frequentist analyzes were performed. To assess the values of the Bayes factors (BF10), the classification criteria reported in Quintana<sup>19</sup> were adopted: such values can be considered "anecdotal", "moderate", "strong", "very strong" or "extremes". Appropriate parametric and non-parametric tests were used accordingly. Comparisons of continuous variables between two groups were assessed using t-tests or the Mann-Whitney U test. Analysis of variance or Kruskal-Wallis tests were used to compare three or more groups. Differences in proportions of different groups of patients were compared using the chi-square test. Correlations were determined by Pearson's correlation coefficient or Kendall's tau B. Analysis of the receiver operating characteristic (ROC) curve was used to obtain the area under the curve (AUC) value and to establish the potential diagnostic value of MCP-1 and IL-6. All analyses were two-sided, and a p-value of  $\leq 0.05$  was considered statistically significant.

## **Results**

A total of 65 SLE patients and 50 healthy volunteers were included. SLE and control groups were comparable in terms of age and average years of schooling. The clinical and demographic characteristics are shown in table 1.

**Table 1** Demographic and clinical characteristics

	<b>SLE patients (N=65)</b>	<b>Control (N=50)</b>	<b>P value</b>
<b>Demographic characteristics</b>			
<b>Mean age (years ± SD)</b>	36,68 ± 10,6	39,96 ± 12,1	NS
<b>Education (years ± SD)</b>	10,91 ± 3,51	11,5 ± 5,01	NS
<b>Clinical characteristics</b>			
<b>Cutaneous involvement (%)</b>	54 (83,1)	-	-
<b>Articular involvement (%)</b>	53 (81,5)	-	-
<b>Serositis (%)</b>	23 (35,4)	-	-
<b>Haematological (%)</b>	46 (70,8)	-	-
<b>Renal involvement (%)</b>	39 (60)	-	-
<b>Neurological (%)</b>	2 (3,1)	-	-
<b>FAN (%)</b>	65 (100)	-	-
<b>Active nephritis (%)</b>	20 (30,8)	-	-
<b>Mean SLEDAI</b>	2,23 ± 3,12	-	-
<b>SLEDAI &lt;4 (%)</b>	42 (64,6)	-	-
<b>SLEDAI ≥4 (%)</b>	23 (35,3)	-	-
<b>Mean SLICC</b>	0,38 ± 0,65	-	-
<b>SLICC =0 (%)</b>	44 (69,2)	-	-
<b>SLICC ≥1 (%)</b>	20 (30,8)	-	-
<b>Mean disease duration (years ± SD)</b>	4,89 ± 4,69	-	-
<b>GFR ± SD (mL/min)</b>	105,44 ± 24,66	116,42 ± 19,32	0,018
<b>BMI median (IQR)</b>	27,87 (32,82 – 24,16)	27,01 (29,54 – 24,20)	NS
<b>Medication use</b>			
<b>Antimalarials (%)</b>	63 (96,9)	-	-
<b>Azathioprine (%)</b>	35 (53,8)	-	-
<b>Cyclophosphamide (%)</b>	7 (10,8)	-	-
<b>Prednisolone (%)</b>	46 (70,8)	-	-
<b>Rituximab (%)</b>	3 (4,6)	-	-
<b>Mycophenolate Mofetil (%)</b>	6 (9,2)	-	-

SD: standard deviation; NS: not significant; SLE: systemic lupus erythematosus; FAN: antinuclear factor; SLEDAI: systemic lupus erythematosus disease activity index; SLICC: systemic lupus international collaborating clinics; GFR: glomerular filtration rate; BMI: body mass index; IQR: interquartile range

According to table 2, IL-6 levels in SLE patients were significantly higher than controls ( $p < 0.001$ ), where extreme evidence is observed ( $BF_{10} = 55081.77$ ), with extreme effect size (Table 2). For the cut-off  $> 4.062$  ng/uL, the sensitivity and specificity of IL-6 for the diagnosis of SLE was 75 and 100%, respectively (95% confidence interval (CI) 0.844 – 0.974), AUC 0.909,  $p < 0.001$  (figure 1).

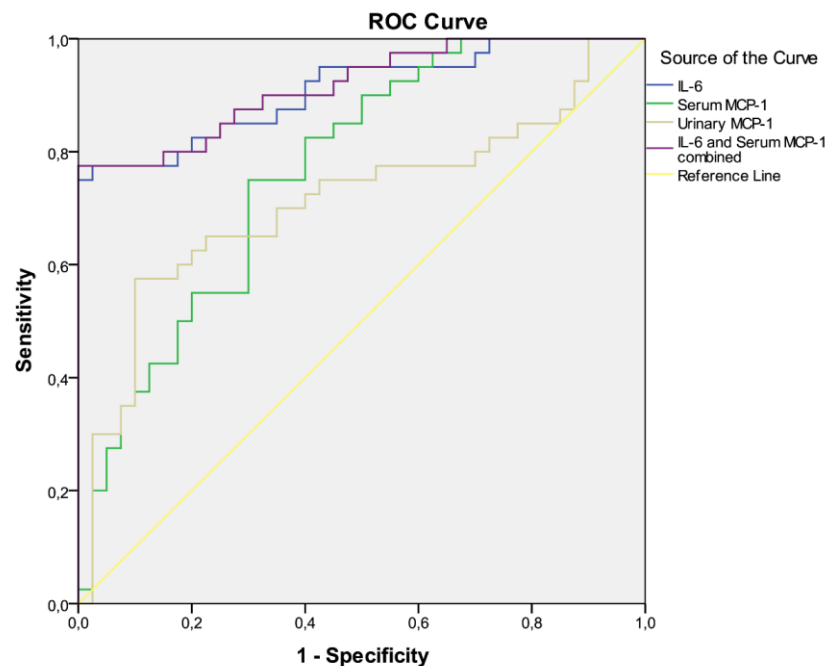
Mean values of serum and urinary MCP-1 in SLE patients were also significantly higher than in controls ( $p < 0.001$ ). Extreme evidence in favor of higher levels for urine and serum MCP-1 ( $BF_{10} = 574.49$  and  $BF_{10} = 225.68$ , respectively) was demonstrated with moderate effect size (0.52 and 0, 49) (table 2). For the cut-off  $> 3.474$  ng/uL, the sensitivity and specificity of sMCP-1 for the diagnosis of SLE was 75 and 71,4%, respectively (95% CI 0.644 – 0.870), AUC 0.767,  $p < 0.001$ ). For the of cut-off  $> 0.730$  ng/uL, the sensitivity and specificity of uMCP-1 was 65 and 70,1%, respectively (95% CI 0.595 – 0.830), AUC 0.712,  $p < 0.001$ ) (figure 1).

**Table 2.** MCP-1 and IL-6 levels in the group of SLE patients and controls

Biomarker	SLE Median (IQR)	Control Median (IQR)	Absolute difference (I.C. 95%)	Estimated effect (I.C. 95%)	p-value	BF <sub>10</sub>
<b>IL-6 ng/uL</b>	5.57 (6.69-1.36)	1.98 (2.78-1.67)	3.25 (2.74 - ∞)	0.82 (0.73 - ∞)	<0.001	55081.77
<b>sMCP-1 ng/uL</b>	4.13 (1.95-3.34)	2.78 (3.96-1.58)	1.44 (0.94 - ∞)	0.52 (0.36 - ∞)	<0.001	574.49
<b>uMCP-1 ng/uL</b>	1.43 (2.45-0.54)	0.48 (0.69-0.48)	0.73 (0.37 - ∞)	0.49 (0.33 - ∞)	<0.001	225.68

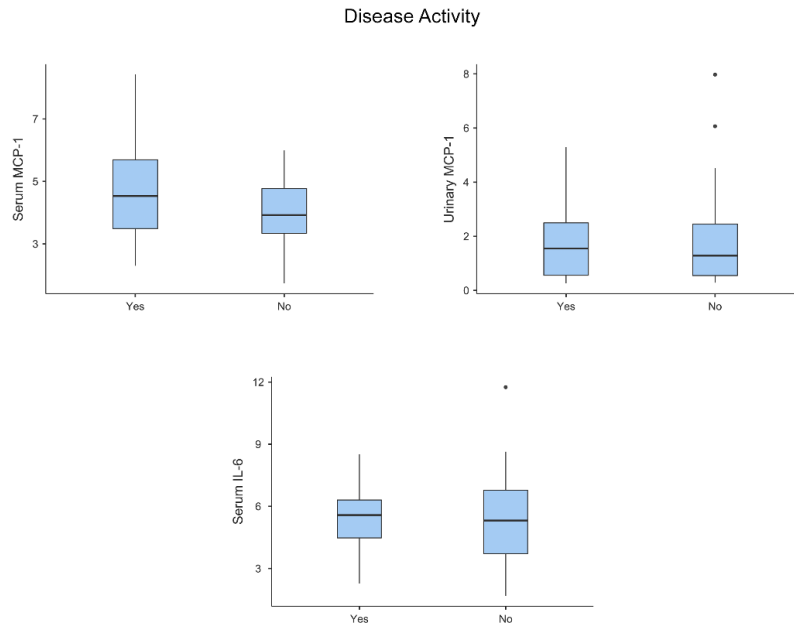
SLE: systemic lupus erythematosus; BF: Bayes factor; IL-6 interleukin 6; sMCP-1: serum Monocyte chemoattractant protein-1; uMCP-1: urinary Monocyte chemoattractant protein-1; I.C.: confidence interval; IQR: interquartile range; H1: case  $>$  control; Note: Effect size estimated by rank biserial correlation; Difference estimated by Hodges-Lehman.

**Figure 1:** ROC curve analyses of MCP-1 and IL-6 in SLE



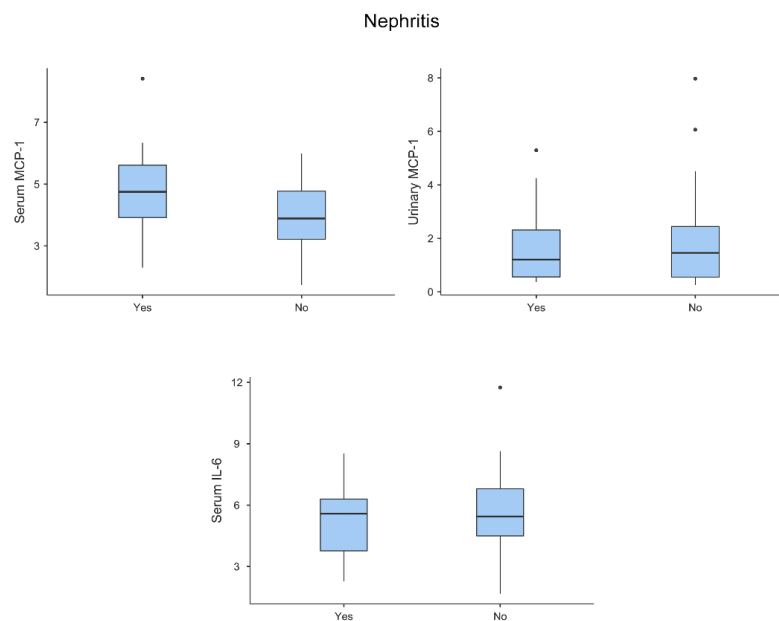
IL-6 and sMCP-1 combination for SLE diagnosis demonstrated optimal AUC values (0.916 (95% CI 0.856 – 0.977),  $p < 0.001$ ), with a sensitivity of 0.79 and a specificity of 0.98. (figure 1) With this combination, there is a cutoff that increases sensitivity by 0.041 but decreases specificity by 0.023, compared to the best cutoff of IL-6 isolated.

**Figure 2:** Distribution of biomarkers according to disease activity



Note:  $p > 0.05$

**Figure 3:** Distribution of biomarkers according to nephritis.



Note:  $p > 0.05$

There were no significant differences between patients with and without disease activity (figure 2) or LN involvement (figure 3) for mean values of sMCP-1, uMCP-1 and IL-6.

We did not find an association of the mean values of the biomarkers with proteinuria, changes in GRF, serum complements (C3 and C4) (suppl. Table I).

**Table 3:** Correlation between biomarkers

Biomarkers		IL-6	sMCP-1	uMCP-1
<b>IL-6</b>	r	-	0.35	0.13
	p	-	<b>&lt; 0.001</b>	0.09
<b>sMCP-1</b>	r	0.35	-	0.25
	p	<b>&lt; 0.001</b>	-	0.28
<b>uMCP-1</b>	r	0.13	0.25	-
	p	0.09	0.28	-

r=correlation coefficient; Statistic significant values ( $p \leq 0.05$ ) are shown in bold

Examining the correlation between the biomarkers, a positive and moderate correlation was found between the levels of IL-6 and sMCP-1 ( $r=0.35$  and  $p<0.001$ ) (Table 3).

## Discussion

Many studies focus on SLE prognostic biomarkers but have failed to assess their role in diagnosis. SLE is a complex disease with high clinical heterogeneity, its diagnosis is usually difficult and it is commonly misdiagnosed, even by experienced rheumatologists.<sup>20</sup> The diagnosis requires interpretation of criteria mainly developed by the American College of Rheumatology, as no single test is sufficiently sensitive and specific to be diagnostic<sup>20</sup>. There are several sets of classification criteria, however, none of them have 100% sensitivity or specificity.<sup>21</sup> The most recent classification criteria for SLE from 2019 European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology (EULAR / ACR) include many items with the necessity to evaluate clinical manifestations, different laboratory tests and sometimes renal biopsy to improve its sensitivity and specificity.<sup>22</sup>

Conventional biomarkers such as ANA, anti-dsDNA, serum levels of complement proteins may not be sensitive enough for diagnosis singly. To fulfilled diagnostic criteria a patient must have at least one positive ANA screen.<sup>22</sup> ANA has high sensitivity, ranging from 90% to 95% in SLE patients, but, unfortunately, they lack specificity as they can occur in 5-20% of the normal population, as well as in other autoimmune systemic conditions. Anti-

dsDNA, Anti-Sm antibodies, C3 and C4 serum complements are the most useful biomarkers in clinical practice, but singly they have low sensitivity for SLE diagnosis.<sup>21</sup> In this context, MCP-1 has been investigated as an important biological marker in SLE, especially in LN.<sup>1,8,12</sup> But, its role on the pathogenesis of the disease and applicability for SLE diagnosis in clinical practice remains not completely understood. IL-6 is an important biomarker already well documented in SLE pathogenesis, however, few studies are accessing the association of MCP-1 and IL-6 on SLE.<sup>11</sup>

We did not find an association between disease activity or LN with levels of uMCP-1, sMCP-1, and IL-6. It is already well established that urinary MCP-1 is markedly elevated in NL and correlated with SLE renal disease activity as well as histological renal disease activity.<sup>9,23,24</sup> Although mean values of serum and urine MCP-1 were higher in the group with disease activity or active LN, compared to the group without LN or disease activity, this difference was not significant. Unlike other studies, we also did not find the correlation of uMCP-1 with proteinuria, serum complements (C3 or C4), or change in GFR. Our research included most patients with inactivity disease (64,6%) and without LN (69,2%), which could turn unfeasible for a better evaluation of these associations. Similar results of MCP-1 were found for IL-6. Monocytes and B cells overproduce IL-6, which has been documented by studies that showed higher levels of IL-6 in SLE patients and its association with disease activity.<sup>4,25</sup> As previously commented, our research included most patients with inactivity disease and without LN, which similarly also could interfere in this finding.

Comparing SLE with controls, this study showed that sMCP-1, uMCP-1, and IL-6 had significantly high levels in the SLE group with extreme evidence in favor. They had high sensitivity and specificity for SLE, regardless of the disease activity and renal involvement. In the optimal cut-off, the sensitivity and specificity were respectively 75 and 100% for IL-6 and 75 and 71% for sMCP-1 and there was an increase in sensitivity for 79% when the two were used together. The high specificity found is only applicable for differentiating patients from those without another autoimmunity rheumatic disease, once we tested MCP-1 or IL-6 in comparison with healthy individuals, which limits extrapolation of the specificity. Our research included most patients with inactivity disease and without LN. This SLE patients profile makes it possible to define that those levels of both biomarkers are patient clinical setting independents, turning them useful for SLE diagnosis with the advantage that they are not influenced by medications or clinical status. Another study concluded that long-term treatment of SLE with standard immunomodulators did not normalize the level of major chemoattractant proteins, including MCP-1, which would suggest the existence of a basal pro-

inflammatory condition in SLE patients, even in the absence of symptoms.<sup>1</sup> Also, maintenance of high levels of IL-6, has been shown even in patients being treated for lupus, showing high levels of maintenance compared to control group.<sup>26</sup> These data corroborate our outcomes, confirming that MCP-1 and IL-6 could be used as diagnosis biomarkers independently of the patient clinical scenario.

The finding of a moderate correlation between the level of sMCP-1 and IL-6 is explained by the immunological role of MCP-1 mainly on monocytes and T lymphocytes, inducing the production of inflammatory mediators, such as IL-1 and IL-6,<sup>27</sup>. The assessment of IL-6 and sMCP-1 together showed an increase in sensitivity, which can be relevant in the diagnostic investigation. The adequate match of chemokines and cytokines determined simultaneously, forming a panel, and their association with some other laboratory parameters could be used for SLE diagnosis, improving the individual performance of each marker isolated.

In consequence of SLE heterogeneity and the absence of a less complex way to diagnosis it, there is the necessity for continuous collaborative efforts to the development and validation of new, reliable, non-invasive, and low-cost diagnosis biomarkers. We demonstrated that MCP-1 and IL-6 have, singly or together, good sensitivity for SLE identification. The validation of our data in larger studies with patients in different clinical scenarios and from different regions of the world is needed to better understand the specificity and clinical applicability of MCP-1 and IL-6.

### **Declaration of conflicting interests**

The authors declared no potential conflicts of interest concerning the research, authorship, and/or publication of this article.

### **Funding**

The authors received financial support from CNPq, National Council for Scientific and Technological Development – Brazil.

### **References**

1. Živković V, Cvetković T, Mitić B, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 as a marker of systemic lupus erythematosus: an observational study. *Rheumatol Int* 2018; 38: 1003–1008.
2. Freire EAM, Souto LM, Ciconelli RM. Medidas de avaliação em lúpus eritematoso

- sistêmico. *Rev Bras Reumatol* 2011; 51: 75–80.
3. Ruchakorn N, Ngamjanyaporn P, Suangtamai T, et al. Performance of cytokine models in predicting SLE activity. *Arthritis Res Ther* 2019; 21: 1–11.
  4. Arriens C, Wren JD, Munroe ME, et al. Systemic lupus erythematosus biomarkers: the challenging quest. *Rheumatology (Oxford)* 2017; 56: i32–i45.
  5. Ugarte-Gil MF, González LA, Alarcón GS. Lupus: the new epidemic. *Lupus* 2019; 28: 1031–1050.
  6. Gill JM, Quisel AM, Rocca P V., et al. Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus. *Am Fam Physician* 2003; 68: 2179–2186.
  7. Qin L, Mohan C. Non-invasive biomarkers for systemic lupus erythematosus: A lookback at 2016. *Int J Rheum Dis* 2016; 19: 1209–1215.
  8. Mirioglu S, Cinar S, Yazici H, et al. Serum and urine TNF-like weak inducer of apoptosis, monocyte chemoattractant protein-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as biomarkers of disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2020; 29: 379–388.
  9. Ardoin SP, Jarjour WN. *Biomarkers in Systemic Lupus Erythematosus*. Elsevier. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1016/B978-0-12-801917-7.00007-3.
  10. Hrycek E, Franek A, Błaszczak E, et al. Serum levels of selected chemokines in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatol Int* 2013; 33: 2423–2427.
  11. Bona N, Pezzarini E, Balbi B, et al. Oxidative stress, inflammation and disease activity biomarkers in lupus nephropathy. *Lupus* 2020; 29: 311–323.
  12. Singh RG, Usha, Rathore SS, et al. Urinary MCP-1 as diagnostic and prognostic marker in patients with lupus nephritis flare. *Lupus* 2012; 21: 1214–1218.
  13. Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, et al. *Reumatology*. 6th editio. 2016.
  14. Liang MH, Socher SA, Larson MG, et al. Reliability and validity of six systems for the clinical assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1107–1118.
  15. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, et al. Derivation of the sledai. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630–640.
  16. Gladman DD, Urowitz MB, Goldsmith CH, et al. The reliability of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 809–813.
  17. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150: 604–612.



18. {{JASP Team}}. JASP. 2020; <https://jasp-stats.org/>.
19. Quintana DS, Williams DR. Bayesian alternatives for common null-hypothesis significance tests in psychiatry: A non-technical guide using JASP. *BMC Psychiatry* 2018; 18: 1–8.
20. Ahearn JM, Manzi S, Liu CC. The lupus biomarker odyssey: One experience. *Methods Mol Biol* 2014; 1134: 17–35.
21. Larosa M, Iaccarino L, Gatto M, et al. Advances in the diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol* 2016; 12: 1309–1320.
22. Harden OC, Hammad SM. Sphingolipids and Diagnosis, Prognosis, and Organ Damage in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol* 2020; 11: 1–14.
23. Soliman S, Mohan C. Lupus nephritis biomarkers. *Clin Immunol* 2017; 185: 10–20.
24. Gupta R, Yadav A, Aggarwal A. Longitudinal assessment of monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis as a biomarker of disease activity. *Clin Rheumatol* 2016; 35: 2707–2714.
25. Muhammad Yusoff F, Wong KK, Mohd Redzwan N. Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2020; 53: 8–20.
26. Timóteo RP, Micheli DC, Teodoro RB, et al. Characterization of inflammatory markers associated with systemic lupus erythematosus patients undergoing treatment. *Rev Bras Reumatol* 2016; 56: 497–503.
27. Lan L, Han F, Lang X, et al. Monocyte chemotactic protein-1, fractalkine, and receptor for advanced glycation end products in different pathological types of lupus nephritis and their value in different treatment prognoses. *PLoS One*; 11. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0159964.

## Supplementary material

Supplementary Table I: Distribution of biomarkers according to Complements C3 e C4, proteinuria and GRF

	C3			C4			Proteinuria			GRF		
	Normal	Low	p value	Normal	Low	p value	Normal	Altered	p value	Normal	Altered	p value
IL-6	5,53	7,22	0,132	5,76	5,55	0,808	5,53	4,79	0,482	2,78	4,49	0,138
median	(2,14)*	(1,12)*		(2,15)*	(2,10)*		(2,23)*	(2,37)*		(5,27 – 1,78)**	(6,61 – 2,53)**	
sMCP-1	4,17	4,65	0,489	4,22	4,26	0,950	4,09	3,89	0,767	3,34	4,01	0,130
median	(1,39)*	(1,76)*		(1,36)*	(1,71)*		(1,53)*	(1,06)*		(1,68)*	(1,11)*	
uMCP-1	1,44	2,44	0,586	1,44	1,62	0,723	1,49	0,60	0,086	0,61	1,92	0,070

median	(2,77 – 0,69)**	(3,73 – 0,60)**	(2,83 – 0,59)**	(2,45 – 0,82)**	(2,75 – 0,80)**	(1,40 – 0,48)**	(1,46 – 0,43)**	(3,08 – 0,43)**
--------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

---

Notes: Student t tests have effect size given by Cohen's d and difference estimated by mean difference. \*S.D.: Standard deviation. Mann Whitney U tests have size effect estimated by rank biserial correlation and difference estimated by Hodges-Lehman; \*\* IQR: Interquartile range

## 6 CONCLUSÕES

Em consequência da heterogeneidade do LES e da complexidade de diagnosticá-lo, há necessidade de esforços contínuos de colaboração para o desenvolvimento e validação de novos biomarcadores diagnósticos confiáveis, não invasivos e de baixo custo.

Os achados do presente estudo mostram uma associação positiva do Lúpus eritematoso sistêmico com os valores de IL-6 e MCP-1 sérico e urinário, porém sem relação com atividade de doença, consumo de complementos séricos, proteinúria ou redução da taxa de filtração glomerular. Demonstramos assim, que MCP-1 e IL-6 apresentam, isoladamente ou em conjunto, boa sensibilidade para identificação do LES.

A validação de nossos dados em estudos maiores com pacientes em diferentes cenários clínicos e de diferentes regiões do mundo são necessários para melhor compreender sua especificidade e aplicabilidade clínica de MCP-1 e IL-6.

## 7 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

O estudo teve algumas limitações, dentre elas o número pequeno de pacientes com LES com nefrite lúpica em atividade, com consumo de complementos séricos, e valores mais elevados de SLEDAI e SLICC. Mostrando que as pacientes participantes na maioria, apresentavam doença branda.

Outra limitação foi a falta de comparação entre os valores encontrados, com o tipo histológico de biopsia renal, e positividade de anti-dsDNA, pela grande limitação do serviço de realizar este procedimento e dosar esse anticorpo.

Como perspectiva, fica a de surgimento de novos estudos utilizando a combinação desses biomarcadores, para auxiliar no diagnóstico clínico, de lesão em órgãos específicos, e de prognóstico no LES; e a necessidade de dosar esses biomarcadores em outras doenças reumáticas imunomediadas, como artrite reumatoide, vasculites sistêmicas, a fim de caracterizar melhor a especificidade deles no LES.

## REFERÊNCIAS

- AHEARN, J. M.; MANZI, S.; LIU, C. C. The lupus biomarker odyssey: One experience. **Methods in Molecular Biology**, v. 1134, p. 17–35, 2014.
- ALMAANI, S.; MEARA, A.; ROVIN, B. H. Update on lupus nephritis. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 12, n. 5, p. 825–835, 2017.
- APOSTOLIDIS, S. A. et al. The dysregulation of cytokine networks in systemic lupus erythematosus. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 31, n. 10, p. 769–779, 2011.
- ARDOIN, S. P.; JARJOUR, W. N. **Biomarkers in Systemic Lupus Erythematosus**. [s.l.] Elsevier, 2016.
- ARRIENS, C. et al. Systemic lupus erythematosus biomarkers: the challenging quest. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 56, n. 1, p. i32–i45, 2017.
- BARBADO, J. et al. MCP-1 in urine as biomarker of renal lupus in absence of cytokines, interferon- $\gamma$  and growth factors. **Reumatología Clínica (English Edition)**, v. 6, n. 6, p. 296–298, 2010.
- BARCELLOS, L. F. et al. High-density SNP screening of the major histocompatibility complex in systemic lupus erythematosus demonstrates strong evidence for independent susceptibility regions. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 10, 2009.
- BOMBARDIER, C. et al. Derivation of the sledai. A disease activity index for lupus patients. **Arthritis & Rheumatism**, v. 35, n. 6, p. 630–640, 1992.
- BONA, N. et al. Oxidative stress, inflammation and disease activity biomarkers in lupus nephropathy. **Lupus**, v. 29, n. 3, p. 311–323, 2020.
- BORBA, E. F. et al. Consenso de lúpus eritematoso sistêmico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, n. 4, p. 196–207, 2008.
- CHILDS, S. G. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Orthopaedic Nursing**, v. 25, n. 2, p. 140–147, 2006.
- DAVIS, L. S.; HUTCHESON, J.; MOHAN, C. The role of cytokines in the pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 31, n. 10, p. 781–789, 2011.
- DING, Y. et al. Composite urinary biomarkers to predict pathological tubulointerstitial lesions in lupus nephritis. **Lupus**, v. 27, n. 11, p. 1778–1789, 2018.
- DONG, X. et al. Combined utilization of untimed single urine of MCP-1 and TWEAK as a potential indicator for proteinuria in lupus nephritis: A case-control study. **Medicine (United**

States), v. 97, n. 16, p. 1–7, 2018.

FRAGOSO, THIAGO SOTERO. **LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM POLIMORFISMOS DOS GENES CODIFICANTES DO RECEPTOR DA VITAMINA D (VDR) E ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO G (HLA-G)**. [s.l.: s.n.].

FREIRE, E. A. M.; SOUTO, L. M.; CICONELLI, R. M. Medidas de avaliação em lúpus eritematoso sistêmico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 1, p. 75–80, 2011.

GALLAGHER, K.; VISWANATHAN, A.; OKHRAVI, N. Association of systemic lupus erythematosus with uveitis. **JAMA Ophthalmology**, v. 133, n. 10, p. 1190–1193, 2015.

GERGIANAKI, I.; BORTOLUZZI, A.; BERTSIAS, G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**, v. 32, n. 2, p. 188–205, 2018.

GILL, J. M. et al. Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus. **American Family Physician**, v. 68, n. 11, p. 2179–2186, 2003.

GLADMAN, D. D. et al. The reliability of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index in patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 40, n. 5, p. 809–813, 1997.

GLESSE, N. **O PAPEL DAS PROTEÍNAS APOPTÓTICAS NA PATOGÊNESE DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: UMA ABORDAGEM IMUNOGENÉTICA**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

GÓMEZ-PUERTA, J. A. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and monocyte chemoattractant protein 1 as biomarkers for lupus nephritis in Colombian SLE patients. **Lupus**, v. 27, n. 4, p. 637–646, 2018.

GUALTIEROTTI, R. et al. Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity Reviews**, v. 10, n. 1, p. 3–7, 2010.

GUPTA, R.; YADAV, A.; AGGARWAL, A. Longitudinal assessment of monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis as a biomarker of disease activity. **Clinical Rheumatology**, v. 35, n. 11, p. 2707–2714, 2016.

HARDEN, O. C.; HAMMAD, S. M. Sphingolipids and Diagnosis, Prognosis, and Organ Damage in Systemic Lupus Erythematosus. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. September, p. 1–14, 2020.

HOCHBERG, M. C. et al. **Reumatology**. 6th editio ed. [s.l.: s.n.].

HRYCEK, E. et al. Serum levels of selected chemokines in systemic lupus erythematosus patients. **Rheumatology International**, v. 33, n. 9, p. 2423–2427, 2013.

- IMBODEN, J. B.; HELLMANN, D. B.; STONE, J. H. **Currente reumatologia: diagnóstico e tratamento**. [s.l.: s.n.].
- JASP TEAM. **JASP**, 2020.
- KIRIAKIDOU, M.; CHING, C. L. Systemic Lupus Erythematosus. **Annals of internal medicine**, v. 172, n. 11, p. ITC81–ITC96, 2020.
- KLUMB, E. M. et al. Consenso da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o diagnóstico, manejo e tratamento da nefrite lúpica. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 55, n. 1, p. 1–21, 2015.
- KUO, C. F. et al. Familial aggregation of systemic lupus erythematosus and coaggregation of autoimmune diseases in affected families. **JAMA Internal Medicine**, v. 175, n. 9, p. 1518–1526, 2015.
- LAN, L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1, fractalkine, and receptor for advanced glycation end products in different pathological types of lupus nephritis and their value in different treatment prognoses. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, 2016.
- LAROSA, M. et al. Advances in the diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 12, n. 12, p. 1309–1320, 2016.
- LEE, Y. H.; SONG, G. G. MCP-1 im Urin als Biomarker bei Lupusnephritis: eine Metaanalyse. **Zeitschrift für Rheumatologie**, v. 76, n. 4, p. 357–363, 2017.
- LEHMANN, P. et al. Experimental reproduction of skin lesions in lupus erythematosus by UVA and UVB radiation. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 22, n. 2, p. 181–187, 1990.
- LEVEY, A. S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of Internal Medicine**, v. 150, n. 9, p. 604–612, 2009.
- LIANG, M. H. et al. Reliability and validity of six systems for the clinical assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 32, n. 9, p. 1107–1118, 1989.
- MARKOWITZ, G. S.; D'AGATI, V. D. Classification of lupus nephritis. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 18, n. 3, p. 220–225, 2009.
- MIRIOGLU, S. et al. Serum and urine TNF-like weak inducer of apoptosis, monocyte chemoattractant protein-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as biomarkers of disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 29, n. 4, p. 379–388, 2020.
- MUHAMMAD YUSOFF, F.; WONG, K. K.; MOHD REDZWAN, N. Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity**, v. 53, n. 1, p. 8–20, 2020.

- PETRI, M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**, v. 16, n. 5, p. 847–858, 2002.
- QIN, L.; MOHAN, C. Non-invasive biomarkers for systemic lupus erythematosus: A lookback at 2016. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 19, n. 12, p. 1209–1215, 2016.
- QUINTANA, D. S.; WILLIAMS, D. R. Bayesian alternatives for common null-hypothesis significance tests in psychiatry: A non-technical guide using JASP. **BMC Psychiatry**, v. 18, n. 1, p. 1–8, 2018.
- RUCHAKORN, N. et al. Performance of cytokine models in predicting SLE activity. **Arthritis Research and Therapy**, v. 21, n. 1, p. 1–11, 2019.
- SINGH, R. G. et al. Urinary MCP-1 as diagnostic and prognostic marker in patients with lupus nephritis flare. **Lupus**, v. 21, n. 11, p. 1214–1218, 2012.
- SOLIMAN, S.; MOHAN, C. Lupus nephritis biomarkers. **Clinical Immunology**, v. 185, p. 10–20, 2017.
- TIMÓTEO, R. P. et al. Characterization of inflammatory markers associated with systemic lupus erythematosus patients undergoing treatment. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 56, n. 6, p. 497–503, 2016.
- UGARTE-GIL, M. F.; GONZÁLEZ, L. A.; ALARCÓN, G. S. Lupus: the new epidemic. **Lupus**, v. 28, n. 9, p. 1031–1050, 2019.
- VASCONCELOS, J. **Livro da Sociedade Brasileira de Reumatologia**. 1.ed ed. Barueri: [s.n.].
- YAP, D. Y. H.; YUNG, S.; CHAN, T. A. K. M. A. O. Lupus nephritis: An update on treatments and pathogenesis. **Nephrology**, v. 23, p. 80–83, 2018.
- ŽIVKOVIĆ, V. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 as a marker of systemic lupus erythematosus: an observational study. **Rheumatology International**, v. 38, n. 6, p. 1003–1008, 2018.



## APÊNDICES

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE MEDICINA**

**TÍTULO DA PESQUISA: “ESTUDO DE NOVOS BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E SUA RELAÇÃO COM ÓRGÃOS-ALVO ACOMETIDOS NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO”**

**PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL:** Profa. Dra. Michelle Jacintha Cavalcante Oliveira

Prezado(a) Colaborador(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa que irá investigar a ocorrência de problemas nos rins e depressão em pessoas com Lupus Eritematoso Sistêmico, para saber se você tem alguma dessas alterações causadas por esta doença.

**1.PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA:** Ao participar desta pesquisa você irá realizar alguns exames laboratoriais, por meio da coleta de sangue e urina, para a pesquisa de alterações no funcionamento de seus rins e também responderá um questionário com perguntas sobre depressão. A coleta de sangue e urina será realizada pelos funcionários do laboratório do hospital no qual você é atendido, da mesma maneira em que são realizados seus exames de rotina.

Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado o(a) os(as) (ENTREVISTA, AVALIAÇÕES, EXAMES ETC.) sem nenhum prejuízo para você.

Serão armazenadas amostras de urina e sangue com a finalidade de estudo de exames de função renal que não puderam ser realizados nesse período inicial da pesquisa.

**2.RISCOS E DESCONFORTOS:** Os procedimentos utilizados (coleta de sangue e urina para exame poderão trazer algum desconforto como dor no local da entrada da agulha para a coleta de sangue e sangramento na hora da coleta de sangue. O tipo de procedimento apresenta um risco mínimo, que será reduzido pelo funcionário do hospital que irá realizar a coleta, uma vez que o mesmo deverá ser um profissional experiente na área e irá minimizar ao máximo o risco destas complicações. A biópsia renal pode trazer algum desconforto também como dor no local da entrada da agulha para coleta do fragmento, além de sangue na urina em pequena quantidade sem consequências graves após o procedimento, entretanto, em raros casos, pode ocorrer sangramento importante na urina, levando a perda renal em casos

extremos.) Pode ocorrer um desconforto relacionado com a avaliação psiquiátrica eliciando emoções negativas ao longo da entrevista.

**3.BENEFÍCIOS:** Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de detectar alguma doença nos rins e/ou a presença de depressão, o que proporcionará um tratamento adequado para estes problemas. Se você for diagnosticado com algum problema nos rins ou com depressão será encaminhado para acompanhamento e tratamento especializado (com médico Nefrologista e Psiquiatra) no mesmo hospital em que faz tratamento para o lúpus eritematoso sistêmico.

**4.FORMAS DE ASSISTÊNCIA:** Se você precisar de algum tratamento, orientação ou encaminhamento por se sentir prejudicado por causa da pesquisa, ou se o pesquisador descobrir que você tem alguma coisa que precise de tratamento, você será encaminhado(a) pela Dra. Michelle Jacintha Cavalcante Oliveira (telefone: (82) 32023801) para o ambulatório de Nefrologia da Universidade Federal de Alagoas Ceará, Universidade de Fortaleza ou Universidade Federal do Ceará.

**5.CONFIDENCIALIDADE:** Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que sejam conseguidas por exames serão utilizadas somente para esta pesquisa. Seus dados ficarão em segredo e o seu nome não aparecerá em lugar nenhum das fichas de avaliação nem quando os resultados forem apresentados.

**6.ESCLARECIMENTOS:** Será informado(a) sobre o resultado final desta pesquisa, e sempre que desejar será fornecido esclarecimentos sobre qualquer etapa da mesma, podendo procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Nome do pesquisador responsável: Michelle Jacintha Cavalcante Oliveira  
Endereço: Av. Lourival de Melo Mota, S/N, Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes – Maceió-AL  
Telefone para contato: (82) 32023800  
Horário de atendimento: horário comercial.

Se desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa poderá consultar o Comitê de Ética da Universidade Federal de Alagoas

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos  
Universidade Federal de Alagoas  
Av. Lourival de Melo Mota S/N – Campus AC Simões – Prédio da Reitoria  
Bairro Tabuleiro dos Martins, CEP 57072-900.  
Telefone (82) 3214-1041 , Maceió-AL.

**7.RESSARCIMENTO DAS DESPESAS:** Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira e também não haverá ressarcimento dos gastos (deslocamento, alimentação).

**8. INDENIZAÇÃO:** Se necessário, será indenizado por qualquer dano que venha a sofrer com a participação na pesquisa, podendo ser encaminhado para o Hospital Universitário Professor Alberto Antunes.

**9. CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO:** Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, e receberá uma cópia assinada deste Termo.

O **sujeito de pesquisa** ou seu representante legal, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O **pesquisador responsável** deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

### CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

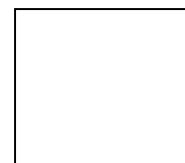
Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) \_\_\_\_\_, portador(a) da cédula de identidade \_\_\_\_\_, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa.

E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Maceió, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

\_\_\_\_\_  
Ou Representante legal



Impressão dactiloscópica

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B – Ficha de avaliação clínica e laboratorial



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE MEDICINA**

**FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL**

Número prontuário \_\_\_\_\_

**1. IDENTIFICAÇÃO:**

Nome (iniciais): \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino

Cor: ( ) Branco ( ) Preto ( ) Pardo ( ) Amarelo

Estado civil: ( ) solteiro ( ) casado/ união estável ( ) viúvo ( ) divorciado ( ) outros

Escolaridade em anos de estudo: \_\_\_\_\_

Situação ocupacional: ( ) ativo com renda ( ) inativo com renda (aposentadoria/ pensão)

( ) ativo sem renda ( ) inativo/ desempregado ( ) dona de casa/ estudante

Grau de Instrução: \_\_\_\_\_

Profissão: \_\_\_\_\_

Pai: \_\_\_\_\_

Mãe: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_ Procedência \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone(s): \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_ CPF: \_\_\_\_\_

**2. HISTÓRIA CLÍNICA – ANTES DO TRATAMENTO:**

Tempo de doença: \_\_\_\_\_ Data do diagnóstico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Critérios Classificatórios (ACR):**

1. Rash malar	2. Rash discóide	3. Fotossensibilidade	4. Artrite	5. Úlceras orais
6. Serosite 6.1 Pleura 6.2 Pericárdio	7. Hematológicas 7.1 Anemia hemolítica 7.2 Leucopenia 7.3 Linfopenia 7.4 Plaquetopenia	8. Renais 8.1 Proteinúria 8.1 Cilindrúria	9. Neurológicas 9.1 Psicose 9.2 Convulsões	
10. FAN	11. Imunológicas 11.1 Anti-DNA 11.2 Anti-Sm 11.3 Antifosfolípides (ACL, LAC, B2GPI)			

**Número de critérios ACR:**

Cirurgias prévias: ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_

Hemotransusão: ( ) sim ( ) não data: \_\_\_\_\_

Tabagismo: ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_; Etilismo: ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_

Alergias: ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_

HAS: ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_; DM ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_

Familiares com história de LES e/ou nefropatia e/ou doenças psiquiátricas

\_\_\_\_\_

**Histórico ginecológico :**

Gesta \_\_\_\_\_ Partos/ tipos \_\_\_\_\_ Abortos \_\_\_\_\_

DUM: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Método anticoncepcional: ( ) sim ( ) não

( ) ACO ( ) ACIM ( ) DIU ( ) Laqueadura ( ) comportamental ( ) preservativo

( ) outro \_\_\_\_\_

**Revisão de sistemas:**

Sistema	Normal	Anormal	Detalhes
Geral			
Cabeça/pescoço			
Respiratório			
Cardiovascular			
Gastrointestinal			
Genitourinário			
SNC			

Pele/fâneros			
Endócrino			
Hemato-linfático			
Ósteo-articular			

### 3. EXAME FÍSICO – início do acompanhamento:

PA \_\_\_\_\_ (mmHg) – deitado após 5 min

Frequência cardíaca \_\_\_\_\_ batimentos/min

Frequência respiratória \_\_\_\_\_ incursões/min

Temperatura axilar \_\_\_\_\_ °C

Altura \_\_\_\_\_ cm

Peso \_\_\_\_\_ Kg

IMC \_\_\_\_\_ Kg/m<sup>2</sup>

#### Exame físico por sistemas:

Sistema	Normal	Anormal	Detalhes
Geral			
Cabeça/pescoço (incluir tireóide)			
Respiratório			
Cardiovascular			
Abdome			

Fígado			
Baço			
Genitourinário			
Condição neurológica			
Pele/fâneros			
Hemato-linfático (gânglios)			
Ósteo-articular			

#### 4. AVALIAÇÃO LABORATORIAL – início do acompanhamento:

Exames laboratoriais relacionados ao LES

Resultado \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Hemograma: data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Parâmetro	valor	correção	Comentarios
Hemoglobina (g/dL)			
Hematócrito (%)			
Eritrócitos ( $10^6/\text{mm}^3$ )			

Leucócitos ( $10^3/\text{mm}^3$ )			
Diferencial (%)			
Bastões			
Segmentados			
Linfócitos			
Monócitos			
Basófilos			
Eosinófilos			
Plaquetas ( $10^3/\text{mm}^3$ )			

Observações: \_\_\_\_\_

Bioquímica Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Parâmetro	valor	Correção	Comentarios
Creatinina (mg/dL)			
Uréia (mg/dL)			
Sódio (mEq/L)			
Potássio (mEq/L)			
Cálcio			
Fósforo			
Magnésio			
Cloro (mEq/L)			
Bicarbonato (mEq/L)			



FA/ G-GT			
AST /ALT			
BT/BD/BI			
PT/Alb/glob			

Sumário de urina Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sumário de urina	valor	Urina de 24h	valor
Densidade		Volume	
pH		Proteinúria	
Proteína			
Glicose			
Corpos cetônicos			
Urobilinogênio			
Bilirrubina			
Nitrito			
Análise micro			
Leuco/piócitos			
Hemácias			
Cilindros			
Céls epiteliais			
Bactérias			

Outros			
--------	--	--	--

Observações: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Marcadores inflamatórios:**

Marcadores	Resultado/data				
MCP-1					
KIM-1					
IGFBP7					
Citocinas inflamatórias					

## APÊNDICE C – SLEDAI 2K modificado

<b>SLEDAI</b>		
Valor	Manifestação	Definição
8	Convulsão	Aparecimento recente*. Exclusão de causas metabólicas, infecciosas ou medicamentosas.
8	Psicose	Alteração severa da atividade normal acompanhada de alteração da percepção da realidade. Compreende: alucinações, incoerência, pensamento ilógico, comportamento bizarro, desorganização ou catatonia. Exclusão de insuficiência renal ou causa medicamentosa.
8	Comprometimento cerebral	Alteração das funções mentais com distúrbios de orientação, da memória ou outra de aparecimento súbito. Exclusão de causas infecciosas, metabólica ou medicamentosas.
8	Distúrbios visuais	Nódulos, hemorragia retiniana exsudato seroso ou hemorragia coroidiana, neurite óptica. Exclusão de causas hipertensivas, medicamentosas ou infecciosas.
8	Nervos cranianos	Neuropatia sensitiva ou motora de aparecimento recente atingindo um nervo craniano
8	Cefaléia	Severa e persistente, podendo ser migranosa, resistente aos analgésicos comuns.
8	AVC	Acidente vascular cerebral recente, excluída arteriosclerose.
8	Vasculite	Ulcerações, gangrena, nódulos digitais dolorosos, infartos peri-ungueais ou prova histológica ou arteriográfica de vasculite.
4	Artrite	Mais de duas articulações dolorosas com sinais inflamatórios locais (dor, edema ou rigidez articular).
4	Miosite	Dor/fraqueza muscular proximal associada à uma elevação de CK ou aldolase ou à modificações eletromiográficas ou à uma biópsia mostrando sinais de miosite.
4	Cilindros urinários	Cilindros de glóbulos vermelhos
4	Hematúria	> 5 hemácias / campo ausência de litíase, infecção ou outra causa.
4	Proteinúria	> 0,5 g/24h. Aparecimento recente ou piora recente de mais de 0,5g/24h
4	Piúria	> 5 leucócitos/ campo na ausência de infecção
2	Rash	Aparecimento recente ou recidiva de uma erupção cutânea inflamatória
2	Alopécia	Aparecimento recente ou recidiva de uma alopecia em placa ou difusa
2	Úlceras mucosas	Aparecimento recente ou recidiva de úlceras orais ou nasais
2	Pleurisia	Dor torácica de origem pleural com atrito, derrame ou espessamento pleural.
2	Pericardite	Dor pericárdica com ao menos uma das manifestações seguintes: atrito, derrame ou confirmação eletrográfica ou ecográfica.
1	Febre	> 38º na ausência de causa infecciosa
1	Leucopenia	< 3000 leucócitos na ausência de causa medicamentosa
1	Plaquetopenia	< 100.000/mm <sup>3</sup>

\*Aparecimento recente é considerado quando o quadro iniciou até 10 dias antes da consulta na qual está sendo feita a avaliação

## APÊNDICE D – SLICC

SLICC	
<b>Comprometimento</b>	<b>Score</b>
<b>Ocular</b>	
Catarata	1
Alterações retinianas ou atrofia óptica	1
<b>Neuropsiquiátrico</b>	
Déficit cognitivo (déficit de memória, dificuldade com cálculos, na linguagem falada ou escrita ou de concentração, comprometimento do nível de desempenho) ou psicose maior	1
Convulsões que requerem tratamento por 6 meses	1
Acidente vascular cerebral (score deve ser 2 se > 1 episódio)	1 (2)
Neuropatia craniana ou periférica (exceto do nervo óptico)	1
Mielite transversa	1
<b>Renal</b>	
Taxa de filtração glomerular estimada ou mensurada < 50%	1
Proteinúria ≥ 3,5g/24h	1
Doença renal estágio final (independente de diálise ou transplante)	3
<b>Pulmonar</b>	
Hipertensão Pulmonar (aumento ventrículo direito ou hiperfonese de P2)	1
Fibrose pulmonar (exame físico e radiográfico)	1
Pulmão retraído (radiográfico)	1
Fibrose pleural (radiográfico)	1
Infarto pulmonar (radiográfico)	1
<b>Cardiovascular</b>	
Angina ou bypass de artéria coronária	1
Infarto do miocárdio score deve ser 2 se > 1 episódio)	1 (2)
Miocardiopatia (disfunção ventricular)	1
Doença valvular (sopro diastólico ou sistólico > 3/6)	1
Pericardite por 6 meses, ou pericardiectomia	1
<b>Doença vascular periférica</b>	
Claudicação por 6 meses	1
Perda menor de tecido (tamanho de uma polpa digital)	1
Perda significativa de tecido (p.ex. perda de dedo ou membro) (score deve ser 2 se > de 1 local)	1 (2)
Trombose venosa com edema, ulceração ou estase venosa	1
<b>Gastrointestinal</b>	
Infarto ou ressecção de intestino abaixo do duodeno, baço, fígado ou bexiga, de qualquer causa (score deve ser 2 se > 1 local)	1 (2)
Insuficiência mesentérica	1
Peritonite crônica	1
Estenose ou cirurgia do trato superior	1
<b>Musculoesquelética</b>	
Atrofia ou fraqueza muscular	1
Deformidade ou artrite erosiva (incluindo deformidades redutíveis, excluindo necrose avascular)	1
Osteoporose com fratura ou colapso vertebral (excluindo necrose avascular)	1
Necrose avascular (score 2 se >1)	1 (2)
Osteomielite	1
<b>Pele</b>	
Alopecia cicatricial crônica	1
Cicatriz extensa ou paniculite (em outros locais que não escalpe ou pulp space)	1
Ulceração pele (excluindo trombose) por > 6 meses	1
<b>Insuficiência gonadal prematura</b>	1
<b>Diabetes (independente do tratamento)</b>	1
<b>Malignidade (excluindo displasia) (score 2 se &gt; 1 local)</b>	1 (2)

\*Dano (alteração irreversível, não relacionada com inflamação) ocorrendo desde o início do LES, identificada por avaliação clínica e presente por pelo menos 6 meses a menos que colocado de outra forma. Episódios repetidos que ocorrem em menos de 6 meses devem receber score 2. A mesma lesão não deve ser pontuada duas vezes.

## ANEXO

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ESTUDO DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E SUA RELAÇÃO COM ÓRGÃOS-ALVO ACOMETIDOS NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

**Pesquisador:** MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 59049916.0.0000.5013

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina da UFAL

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.725.374

**Apresentação do Projeto:**

O lupus eritematoso sistêmico (LES) é uma das doenças reumatológicas auto-imunes mais prevalentes na população, acometendo especialmente adultos jovens, em idade economicamente ativa. A doença é caracterizada pela presença de múltiplos auto-anticorpos, comprometendo diferentes órgãos e sistemas. Indivíduos de todos os grupos étnicos podem ser acometidos, sendo mais comum em indivíduos da raça negra. A doença

acomete predominantemente mulheres, com uma taxa que varia de 4 a 13 mulheres para cada homem. Sintomas constitucionais gerais como astenia, febre e emagrecimento são comuns no LES. As lesões dermatológicas são muito frequentes e polimorfas, envolvendo pele, vasos e mucosas. As vasculites cutâneas ocorrem em cerca de 20-30% dos pacientes e podem causar lesões ungueais, ulcerações e gangrena de extremidades digitais. O envolvimento articular é comum, comprometendo preferencialmente as metacarpofalangeanas, as interfalangeanas proximais, os joelhos e os punhos, geralmente de modo simétrico. O comprometimento cardiovascular é caracterizado principalmente por uma pancardite 2-3. Há evidências de comprometimento renal clínico em 50% dos pacientes e de anormalidades neuropsiquiátricas em mais de 50% dos pacientes, podendo se apresentar sob a forma de diferentes síndromes neurológicas e/ou psiquiátricas, comprometendo o sistema nervoso central ou periférico 2-5. No acometimento renal pelo LES pode ocorrer em diversos compartimentos incluindo túbulos, interstício, vasos e glomérulos, sendo esses últimos os mais

**Endereço:** Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900  
**UF:** AL **Município:** MACEIO  
**Telefone:** (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 2.725.374

relacionados à sintomatologia em geral apresentada pelos pacientes 6. A doença glomerular no LES pode apresentar classes variáveis de gravidade com risco de óbito em alguns casos. A biópsia renal é o procedimento padrão utilizado para avaliar o grau de atividade e cronicidade relacionado à glomerulopatia. Entretanto, em alguns casos por motivos técnicos e/ou clínicos (por exemplo risco aumentado de sangramento) esta não é realizada utilizando-se nesses casos de tratamento baseado em marcadores clínicos e laboratoriais já bem estabelecidos para avaliação da função renal como a creatinina sérica e o clearance de creatinina além da dosagem de proteína na urina de 24

horas para conduzir a terapêutica 7-9. Dessa forma a avaliação de biomarcadores inflamatórios que possam estar relacionados aos graus de atividade da doença podem ser de grande importância no arsenal diagnóstico e terapêutico voltado ao paciente. Nos quadros psiquiátricos, os sintomas depressivos são os mais comuns e atingem cerca de 40% dos pacientes. O Episódio Depressivo Maior (EDM) é uma das comorbidades psiquiátricas observadas com maior frequência em pacientes com LES, sendo a prevalência de 10,8% a 39,6%, que é considerada como sendo muito mais elevada do que na população geral<sup>10</sup>. Evidencia-se que os fatores que contribuem para alta prevalência do EDM, incluem a experiência de elevado estresse em decorrência de ser portador de doença grave e crônica, altas doses de corticosteróides usados no tratamento e alterações que comprometem o SNC 11-14. Esse achado de prevalência do EDM em portadores de LES, justifica e aponta para pertinência de se levar em conta amostras de pacientes com LES em estudos sobre o viés atencional e sua relação com a sintomatologia da depressão. A associação entre processos inflamatórios e depressão segue uma via bidirecional. O mecanismo desse processo ainda está por ser elucidado, mas sabe-se que

mediadores como IL -6, TNF-, IL-1, possuem o potencial de diminuir os níveis de serotonina e aumentar o de Kynurenina e Ácido Kynurênico, ativando o eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenal), aumentando a resistência a glicocorticoides, ativando células da micróglia e acarretando podas sinápticas patológicas, o que ocasiona mudanças cerebrais e funcionais 15-19. Devido a essa alta prevalência de lesões em órgãos-alvo nesse grupo de pacientes é muito importante ampliar os estudos acerca das modalidades diagnósticas, principalmente aquelas capazes de estimar o prognóstico da lesão. Faz-se importante então avaliar possíveis associações entre marcadores inflamatórios e sintomas depressivos além de lesões renais a fim de melhor entender essa associação e indicar melhores métodos terapêuticos.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Investigar biomarcadores inflamatórios no Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) e

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A . C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900

UF: AL Município: MACEIO

Telefone: (82)3214-1041

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 2.725.374

sua associação com disfunção e órgãos-alvo.

Objetivo Secundário:

- Avaliar a prevalência de lesão renal em pacientes portadores de LE;• Avaliar a prevalência de depressão maior em pacientes portadores de LE;•

Correlacionar a presença de biomarcadores inflamatórios com escores de gravidade de depressão, de qualidade de vida e índice de qualidade de sono ;

- Correlacionar a presença de biomarcadores inflamatórios com critérios de disfunção renal (taxa de filtração glomerular, creatinina plasmática, proteinúria, frações de excreção de sódio e potássio, hematúria, leucocitúria e microalbuminúria);

- Correlacionar a presença de biomarcadores inflamatórios com critérios histopatológicos da biópsia renal;

- Avaliar a congruência entre vulnerabilidade cognitiva da atenção seletiva a estímulos negativos/positivos com o estado de humor de pacientes depressivos portadores de LES

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os procedimentos utilizados (coleta de sangue e urina para exame poderão trazer algum desconforto como dor no local da entrada da agulha para a coleta de sangue e sangramento na hora da coleta de sangue. O tipo de procedimento apresenta um risco mínimo, que será reduzido pelo funcionário do hospital que irá realizar a coleta, uma vez que o mesmo deverá ser um profissional experiente na área e irá minimizar ao máximo o risco destas complicações. A biópsia renal pode trazer algum desconforto também como dor no local da entrada da agulha para coleta do fragmento, além de sangue na urina em pequena quantidade sem consequências graves após o procedimento, entretanto, em raros casos, pode ocorrer sangramento importante na urina, levando a perda renal em casos extremos). Pode ocorrer um desconforto relacionado com a avaliação psiquiátrica eliciando emoções negativas ao longo da entrevista.

Benefícios:

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A . C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 57.072-900

UF: AL

Município: MACEIO

Telefone: (82)3214-1041

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 2.725.374

Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de detectar alguma doença nos rins e/ou a presença de depressão, o que proporcionará um tratamento adequado para estes problemas. Se você for diagnosticado com algum problema nos rins ou com depressão será encaminhado para acompanhamento e tratamento especializado (com médico Nefrologista e Psiquiatra) no mesmo hospital em que faz tratamento para o lupus eritematoso sistêmico.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Lembramos que o ato de correlacionar não cabe o pesquisador. Ao pesquisador cabe verificar os níveis de correlações entre as variáveis.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os seguintes documentos foram submetidos à avaliação:

- Projeto detalhado;
- Informação Básica do Projeto;
- TCLE;
- Folha de Rosto;
- Modificações no projeto;
- Carta de Aceite do Centro de Apoio à Pesquisa do HUPAA;
- Termo de anuência do Chefe da reumatologia do HUPAA/EBSERH;
- Lattes da pesquisadora principal;
- Declaração de cumprimento das Normas da Resolução 466/12, publicização dos resultados e destinação do material coletado.

**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O projeto atende à recomendações da Resolução 466/12. Portanto, recomendamos sua aprovação pelo CEP/L.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Protocolo Aprovado

Prezado (a) Pesquisador (a), lembre-se que, segundo a Res. CNS 466/12 e sua complementar 510/2016:

O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900  
UF: AL Município: MACEIO  
Telefone: (82)3214-1041 E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.725.374

consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado e deve receber cópia do TCLE, na íntegra, por ele assinado, a não ser em estudo com autorização de declínio;

V.S<sup>a</sup>. deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade por este CEP, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata;

O CEP deve ser imediatamente informado de todos os fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É responsabilidade do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas a evento adverso ocorrido e enviar notificação a este CEP e, em casos pertinentes, à ANVISA;

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial;

Seus relatórios parciais e final devem ser apresentados a este CEP, inicialmente após o prazo determinado no seu cronograma e ao término do estudo. A falta de envio de, pelo menos, o relatório final da pesquisa implicará em não recebimento de um próximo protocolo de pesquisa de vossa autoria.

O cronograma previsto para a pesquisa será executado caso o projeto seja APROVADO pelo Sistema CEP/CONEP, conforme Carta Circular nº. 061/2012/CONEP/CNS/GB/MS (Brasília-DF, 04 de maio de 2012).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_695829.pdf	08/06/2018 12:42:18		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	23/04/2018 20:39:43	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Outros	ModificacoesProjeto.pdf	23/04/2018 14:35:38	MICHELLE JACINTHA	Aceito

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A . C. Simões,  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900  
UF: AL Município: MACEIO  
Telefone: (82)3214-1041

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 2.725.374

Outros	ModificacoesProjeto.pdf	23/04/2018 14:35:38	CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Outros	AnuenciaFabiana.pdf	23/04/2018 14:35:05	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	23/04/2018 14:33:56	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_De_Rosto.pdf	14/09/2017 23:23:59	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_cumprimento.pdf	17/03/2017 17:35:31	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Lattes_Pesquisadora_Principal.pdf	18/06/2016 15:53:49	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Termo.pdf	18/06/2016 15:41:32	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Carta_de_Aceite.pdf	18/06/2016 15:37:12	MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

MACEIO, 20 de Junho de 2018

Assinado por:  
**Luciana Santana**  
(Coordenador)

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A . C. Simões,  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900  
UF: AL Município: MACEIO  
Telefone: (82)3214-1041 E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com