

SANDRA SANTANA SOARES COSTA

AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO ATEROTROMBÓTICO (HOMOCISTEÍNA,  
PROTEÍNA C, PROTEÍNA S, ANTI-TROMBINA III, LEPTINA) EM PACIENTES  
PORTADORES DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.

Brasília, 2006

SANDRA SANTANA SOARES COSTA

AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO ATEROTROMBÓTICO (HOMOCISTEÍNA, PROTEÍNA C, PROTEÍNA S, ANTI-TROMBINA III, LEPTINA) EM PACIENTES PORTADORES DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Orientador: Dr. Leopoldo Luiz dos Santos Neto

2006

Trabalho realizado no Laboratório Sabin de Análises Clínicas, com colaboração do Serviço de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (FMUnB).

Endereço para correspondência:

Sandra Santana Soares Costa

[sandra@sabinonline.com.br](mailto:sandra@sabinonline.com.br)

Orientador: Dr. Leopoldo Luiz dos Santos Neto

## *DEDICATÓRIA*

---

*Aos meus pais (in memoriam), pelo incentivo e exemplo de força de vontade.*

*Ao Odilon, meu marido, companheiro e amigo, pelo apoio, compreensão constante, e por sempre acreditar em mim. Aos meus filhos, Marcelo, Guilherme e Gabriel, minha nora Fábria e minha neta Beatriz pelo carinho e que dão sentido a tudo na minha vida.*

*A Deus por ter me dado força e perseverança  
para trilhar este caminho que, nas circunstâncias  
que foram , exigiram muito de mim.*

## *Agradecimentos*

*- Ao Prof Dr Leopoldo Luiz dos Santos Neto pela paciência infinita, dedicação e abdicação de seu tempo em prol desse trabalho. Pelo entusiasmo dedicado a área científica e pelos ensinamentos abrangentes para a concretização deste trabalho, pelo profissionalismo e competência, pelos inúmeros conselhos e a revisão exaustiva deste texto. Minha eterna gratidão.*

*- A Prof Dra Luciana Ansaneli Naves, pelo constante incentivo e apoio e otimismo, pelo exemplo de profissional que e , sendo capaz de contagiar os outros com seu entusiasmo pelo ensino e com sua objetividade e seus conhecimentos , meus sinceros agradecimentos.*

*- A Dra. Janete Vaz, minha amiga e sócia que sempre me estimulou, pelo apoio e compreensão diante de minhas ausências, pela amizade e incentivo na elaboração deste trabalho.*

*- Ao Prof. Dr. Florêncio Figueiredo pelo incentivo e estímulo na realização deste trabalho.*

*-Ao Instituto Sabin, através do Núcleo de Apoio a Pesquisa do Laboratório Sabin de Análises Clínicas Ltda., pela viabilização financeira e técnica da minha pesquisa.*

*- A Equipe do Laboratorio Sabin de Análises Clínicas : Antonio Leitão, Edgar Moreira, Eider Gurgel, Elizabeth Lima, Lara Velasco, Lídia Abdalla, Gustavo Ferreira, Juliana Ribeiro, Maria Aparecida Silva, Marly Vidal, Rosa de Oliveira, Sandra Regina Pereira, Vanuza Cristina Sá, Vinicius Nunes, Wanderlina Barroso , pela amizade, pela contribuição valiosa cujo apoio foi muito importante para superar os momentos turbulentos e pela realização e elaboração de toda minhas analises e pesquisas clinicas, pelo espírito de colaboração durante a sua execução.*

*- Ao Instituto Sabin, através da Esmeralda Fernandes, pelo apoio e por viabilizar toda minha pesquisa.*

*- A Adriana Teixeira, cujo apoio foi essencial para viabilização deste manuscrito.*

*- Ao Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário de Brasília pelo apoio na coleta de todos os dados, viabilizando toda a elaboração deste trabalho, nas pessoas do Dr. Francisco Ayres e Dra. Ana Patrícia de Paula.*

*- Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente me ajudaram a concretizar este projeto pessoal, que muito contribuiu para o meu crescimento individual e profissional.*

*Meu respeito ao paciente que me auxiliou  
na elucidação do objetivo desta pesquisa.*

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b>	8
<b>SUMÁRIO</b>	11
<b>RESUMO</b>	13
<b>ABSTRACT</b>	15
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	17
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	18
Auto Imunidade em Geral	23
Causas das Doenças Auto imunes	25
Processo Aterotrombótico em geral	22
Processo Aterotrombótico no Lupus Eritematoso Sistêmico	24
<b>2. OBJETIVOS</b>	33
<b>3. METODOS</b>	34
1. Causuística	34
2. Critérios de Inclusão	34
<b>4. METODOLOGIA DE ANÁLISES CLÍNICAS</b>	35
Colesterol Total	35
Colesterol – HDL	35
Triglicérides	36
PCR Ultra Sensível	36
Leptina	37
Homocisteína	38
Glicose	38
Proteína C	39
Proteína S	39
Antitrombina III	39
<b>5. RESULTADOS</b>	40
5.1. Dados Epidemiológicos e Demográficos	40
5.2. Idade	40
5.3. Índice de Massa Corporal	40
5.4. Duração da Doença	41
5.5. SLEDAI	41
5.6. Duração no tratamento do grupo I	41
<b>6. ANÁLISE DOS PARÂMETROS LABORATORIAIS</b>	42
6.1. Avaliação do Perfil Lipídico e Glicose	42
6.2. Colesterol Total	42
6.3. Colesterol HDL	43
6.4. Colesterol LDL	44
6.5. Triglicérides	45
6.7. Glicose	45
<b>7. FATORES ATEROTROMBÓTICOS</b>	46
7.1. Homocisteína	46

7.2. Proteína C Ultra Sensível.	47
7.3. Leptina	48
7.4. Proteína C	49
7.5. Proteína S	49
7.6. Anticardiolipina M do Tipo IgM (AclgM)	49
7.7. Anticardiolipina G do Tipo IgG (AclgG)	49
7.8. Anti-trombina III	50
<b>8. ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE OS DIVERSOS PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS</b>	51
8.1. Grupo I (Em uso de Quimioterapia)	51
8.2. Grupo II ( Sem Quimioterapia)	51
8.3. Grupo Controle	52
<b>9. ANÁLISE DE VARIÂNCIA</b>	53
<b>10. DISCUSSÃO</b>	54
10.1. Avaliação do Metabolismo Lipídico e dos Carboidratos	54
10.2. Avaliação da Homocisteína e Fatores Tromboembólicos	57
10.3. Avaliação da PCR	59
10.4. Avaliação da Leptina	60
<b>CONCLUSÃO</b>	64
<b>REFERÊNCIAS</b>	67
<b>ANEXOS</b>	75

## RESUMO

Os eventos cardiovasculares ateroscleróticos (ECVA) estão significativamente aumentados no Lupus Eritematosos Sistêmico (LES) e os mecanismos da aterogênese ainda são pouco conhecidos. Fatores tradicionais e não tradicionais vem sendo imputados na fisiopatogenia da doença cardio-vascular. A leptina é um novo fator que pode ser empregado na avaliação dos pacientes com LES. **OBJETIVO:** Avaliar a leptina, proteína C reativa ultra-sensível (PCR-ultra), homocisteína, proteína S, proteína C, anti-trombina III, anticardiolipina, glicemia de jejum, colesterol, triglicérides HDL e LDL em 65 pacientes com LES, em vários estágios de atividade em comparação com 28 voluntários hígidos, e investigar a sua relação com a atividade de doença. **MÉTODOS:** Foram avaliados 103 indivíduos, 65 com LES, sendo 43 do grupo I (em uso de quimioterápicos), 22 do Grupo II (sem quimioterapia) e 28 controles. A atividade da doença foi aferida pelo índice de atividade do LES (SLEDAI) e uma amostra de sangue foi colhida para determinação da leptina e de outros fatores atero-trombóticos. **RESULTADOS:** O valor médio da leptina foi significativamente maior nos pacientes lúpicos do grupo I ( $32,9 \text{ mg/dl} \pm 19,7$ ) do que os do grupo II ( $30,5 \text{ mg/dl} \pm 21,4$ ). No entanto, o valor da PCR-ultra e do colesterol foi maior no grupo II ( $1,5 \pm 2,5 \text{ mg/dl}$ ,  $206,6 \pm 39,9 \text{ mg/dl}$ ) do que no grupo I ( $1,0 \pm 2,5 \text{ mg/dl}$ ,  $161,8 \pm 29,1 \text{ mg/dl}$ ), mas só o valor do colesterol foi significativo. Por outro lado, a leptina, PCR-ultra e LDL foram significativamente menores no grupo controle ( $21,9 \text{ mg/dl} \pm 13,2 \text{ mg/dl}$ ,  $0,1 \pm 0,2 \text{ mg/dl}$ ,  $153,2 \pm 30,7 \text{ mg/dl}$ ). Houve correlação entre Índice de Massa Corporal (IMC), colesterol, PCR-ultra e leptina. Não houve correlação entre os níveis de leptina e o Índice de Atividade de Doença (SLEDAI). Após o ajuste para Índice de Massa Corporal (IMC), colesterol e PCR-ultra a leptina ainda apresentou diferença entre os grupos. A glicemia de jejum, homocisteína, proteína C, proteína S, anti trombina III e anticardiolipina não apresentaram diferença significativa entre os grupos. **Conclusão:** Foi identificado o aumento de leptina, PCR-ultra sensível nos pacientes lúpicos, assim como os fatores tradicionais. Esse aumento permaneceu significativo após ajustado para os fatores confundidores.

Não observamos diferenças dos níveis de homocisteína entre os dois grupos de pacientes estudados e na avaliação de fatores de risco trombogênicos, tais como níveis de Proteína C, Proteína S e Antitrombina III, Anti cardiolipina, os níveis plasmáticos apresentaram-se predominantemente normais nos dois grupos de pacientes. Como esses fatores tem sido identificados como pró-inflamatórios é importante que sejam definidos seus valores preditivos em estudos prospectivos.

Palavras Chaves: doenças autoimunes, lupus eritematoso sistêmico, aterotrombose, leptina, homocisteína.

## ABSTRACT

The atherosclerotic cardiovascular events (ACE) are significantly increased in systemic lupus erythematosus (SLE) and the atherogenesis mechanisms are still little understood. In this process traditional and not traditional factors come being imputed in the physiopathology of cardiovascular disease. The leptin is a new factor that can be used in the evaluation of patients with SLE. **OBJECTIVE:** Evaluate the leptin, high-sensitivity C reactive protein (hs-CRP), homocysteina, protein S, protein C, anti-trombin III, anticardiolipin, fasted glycemia, cholesterol, triglycerides, HDL and LDL levels in 65 patients with SLE in different activity stages in comparison with 28 health volunteers, and investigate their relation with the illness activity. **METHODS:** had been evaluated 103 individuals, 65 with SLE, being 43 of group I (in use of chemotherapy), 22 of the Group II (without chemotherapy) and 28 controls. The illness activity was surveyed by the SLE disease activity index (SLEDAI) and a sample of blood was harvested for determination of leptin and other athero-thrombotics factors levels. **RESULTS:** The average value of leptin was significantly higher in the lupus patients of group I (32,9 mg/dl  $\pm$  19,7) compared to group II (30,5 mg/dl  $\pm$  21,4). However, the levels of hs-CRP and Cholesterol were higher in group II (1,5  $\pm$  2,5 mg/dl, 206,6  $\pm$  39,9 mg/dl) compared to group I (1,0  $\pm$  2,5 mg/dl, 161,8  $\pm$  29.1 mg/dl), but only the cholesterol levels were significant different. On the other hand, the leptin, hs-CRP and LDL levels had been significantly lesser in the control group (21,9 mg/dl  $\pm$  13,2 mg/dl, 0.1  $\pm$  0,2 mg/dl, 153,2  $\pm$  30,7 mg/dl). There were correlation between BMI, cholesterol, hs-CRP and leptin. There were not correlation between leptin and SLEDAI. After the adjustment for BMI, hs-CRP and cholesterol the leptin levels still were different between the groups. The fasted glycemia and homocysteine, protein C, protein S, antitrombin III, anticardiolipin did not show significant difference between the groups. **Conclusion:** Increase of leptin was identified in the lupus patients, as well as the others traditional factors. This increase remained significant after adjustment for confusing factors. We did not observed significant difference in homocysteine levels between the groups, nor in others thrombogenic risk factors as protein C, protein S, antitrombin III, anti cardiolipin that showed predominantly normal levels in the two patient groups. As this

factors has been identified as pro-inflammatory it is important to define its predictive value in prospective studies.

Keywords: autoimmune disease, sistemic lupus erythematosus, atherothrombosis, leptin, homocistein.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACL, Anticorpos Anti-cardiolipina  
ACR, Sociedade Americana de Reumatologia  
APLs, Anticorpos Antifosfolípidos  
AVC, Acidente Vascular Cerebral  
C677T, Gene que codifica enzima Metilenotrehidrofaltoreductase  
CVG, Controle de Variação Geral  
CVI, Controle de Variação Individual  
DAC, Doença Arterial Coronariana  
DNA, Acido Desoxiribonucléico  
EDTA, Ácido Etilenodiaminotetracético  
Genótipo TT, Talassemia major  
HDL, Lipoproteína de alta densidade  
HLA, Antígeno de Histocompatibilidade  
IAM, Infarto Agudo Miocárdio  
IMC, Índice de Massa corporal  
LA, Anticoagulante Lúpico  
LDL, Lipoproteína de baixa densidade  
LES, Lupus Eritrematoso Sistêmico  
MHC, Mayor Histocompatibility Complex  
PCR, Proteína C Reativa  
VLDL, Lipoproteína de muito baixa densidade

## I - INTRODUÇÃO

### - Autoimunidade em Geral

O sistema imunológico é um complexo sistema responsável pela capacidade do indivíduo distinguir o que é próprio do que não é próprio, e desse modo, é capaz de proteger de infecções e substâncias estranhas.

Por estarmos sempre expostos a vários "microorganismos", pode-se avaliar sua virulência e poder causador de doenças pelo grau de patogenicidade e a integridade dos mecanismos de defesa do hospedeiro.

O sistema imune é uma rede interativa entre os órgãos linfóides, células, fatores humorais que incluem os anticorpos e citocinas.

Há dois tipos de respostas contra os microorganismos. As respostas inatas que usam células fagocitárias (neutrófilos, monócitos e macrófagos) que denunciam o processo inflamatório, células mediadoras (basófilos e eosinófilos) e células assassinas naturais, e tem como componente molecular o complemento, proteínas de fase aguda e citocinas (interferons).

As reações inatas têm como característica central recrutamento e ativação dos neutrófilos ao local da infecção para eliminar os patógenos, que ocorrendo inapropriadamente leva a doença inflamatória do tecido conjuntivo, vasculites e síndrome da resposta inflamatória sistêmica (Delves *et al.*, 2000).

Devido aos macrófagos ativados, pode - se notar, nos estágios iniciais das infecções, a presença de citocinas, sendo que dois deles, granulócitos e fatores estimulantes de colônias de macrófagos, estimulam a divisão dos precursores mielóides na medula óssea, lançando os milhões de células na circulação e causando a típica leucocitose neutrofilica.

Apesar da maioria dos eventos ocorrerem inicialmente nos neutrófilos, é evidente que esses mecanismos ocorrem em todos os leucócitos (Parkin *et al.*, 2001).

Os macrófagos possuem receptores para carboidratos que normalmente não são revelados nas células dos vertebrados, tais como a manose podendo, portanto, distinguir o que é próprio e o que é estranho na molécula. Sendo assim macrófagos e neutrófilos possuem receptores para anticorpos e complementos que estimulam a fagocitose (Aderem *et al.*, 1999).

Células de tecidos necróticos liberam substâncias que ativam a resposta inflamatória, enquanto que as células que são mortas devido à apoptose (morte celular programada, resultando na digestão do DNA pelas endonucleases) apresentam moléculas em sua superfície celular, como a fosfatil serina, que as selecionam como candidatas à fagocitose (Savill *et al.*, 1997).

Esses fagócitos produzem reconhecimento padrão dos receptores com atividade semelhante à lecitina, que se adaptam às moléculas modelos presentes associados com os patógenos dos microorganismos que não os hospedam. Enfim, as células para interagirem precisam ser recrutadas dos focos de inflamação e ativadas apropriadamente. A ativação ocorre pela interação com os receptores celulares, sinalizam para o núcleo e fatores externos como as citocinas que são capazes de ligar aos receptores.

A resposta imunológica envolve a presença de um antígeno, a interação entre linfócitos B e T e moléculas mensageiras como as citocinas, quimocinas e seus receptores, além de moléculas co-estimuladoras na superfície celular (Mackay *et al.*, 2000).

O sistema imune, normalmente, não reage a antígenos próprios, pelo mecanismo de tolerância imunológica. Essa tolerância se dá em dois níveis, um central e outro periférico.

A tolerância imunológica central desenvolve-se na vida fetal onde os linfócitos são expostos a sinais antigênicos das moléculas próprias. São desencadeados sinais estimulatórios, também denominados seleção positiva, ou inibitórios, quando a reação

antígeno-anticorpo leva à apoptose celular, desencadeando a seleção negativa (Mackay *et al.*, 2000).

O mecanismo denominado ignorância resulta do seqüestro de autoantígenos em barreiras celulares ou vasculares, pela apoptose celular, que impedem a entrada da molécula antigênica no parênquima tissular. Energia é um mecanismo protetor ou tolerogênico que ocorre após a interação entre o linfócito T e o peptídeo sem que ocorra o sinal co-estimulatório necessário para desencadear o processo auto-imune (Davidson & Diamond ., 2001).

O controle homeostático resulta da expressão de linfócitos T, que podem ser regulados por outras substâncias, tais como citocinas, que podem influenciar as vias de sinalizações pós-receptor.

O processo de autoimunidade compreende interação anormal entre células B e T e autoantígenos, envolvendo a imunidade humoral, com elevados níveis de auto-anticorpos circulantes e imunidade celular, envolvendo respostas de hipersensibilidade tardia. A etiologia dessas doenças é multifatorial, envolvendo fatores genéticos, antígenos leucocitários humanos (HLA), fatores hormonais e fatores ambientais, tais como agentes químicos e infecciosos.

Embora o foco central da imunologia, após vários anos, tenha sido a supressão clonal das células autoreativas que permitem as células T e B reconhecerem os antígenos estranhos, trabalhos recentes demonstram que ocorra também em níveis menores a autoreatividade fisiológica que é crucial para o funcionamento das funções imunológicas.

Os autoantígenos ajudam a formar todo o repertório de linfócitos maduros e a sobrevivência das células T e B no sistema periférico exigindo contínua exposição ao autoantígeno. Desde que não haja diferença entre a estrutura dos antígenos próprios (autoantígenos) e os antígenos estranhos, os linfócitos evoluem indiscriminadamente de

próprio para estranho, mas para responder ao antígeno, somente em alguns microambientes, geralmente na presença de citocinas inflamatórias. (Kushner *et al.*, 1993).

Autoanticorpos são características de várias doenças autoimunes, podendo ser a causa direta de lesões ou apenas um epifenômeno nesses eventos. Na doença de Graves, eles ligam e estimulam o receptor para Tirotopina, e no Penfigus Vulgaris a ruptura da epiderme é causada pela ação dos autoanticorpos contra a molécula de adesão epidermal desmogleína. Por outro lado, autoanticorpos contra antígeno intracelular não são normalmente patogênicas (Naparstek *et al.*, 1993).

Um estudo australiano realizado em 2.830 indivíduos demonstrou que um ou mais tipos de auto-anticorpos podem estar presentes em até 22% de indivíduos saudáveis, sem que a doença autoimune se desenvolva (Hawkins *et al.*, 1979).

A especificidade imunológica do antígeno receptor de células T e B é o resultado do engano feito ao acaso de vários genes que formam o código do DNA para a ligação antigênica dos receptores. Teoricamente esse processo poderá gerar diferentes receptores de célula T, incluindo alguns que pode ligar-se ao autoantígeno (Kamradt *et al.*, 2001).

O processo de neutralizar ou eliminar essas células autoreativas é chamado de Tolerância e a interrupção no trabalho desse sistema pode causar autoimunidade.

O tipo de resposta imunológica observada depende do nível de exposição às moléculas tolerogênicas e a constituição do HLA do indivíduo. A tolerância imunológica periférica compreende as reações que previnem a atuação de linfócitos contra antígenos próprios, envolvendo os mecanismos de ignorância, energia, controle e regulação homeostática (Nepom *et al.*, 1998).

A tolerância imunológica a antígenos próprios do organismo é um estado fisiológico, adquirido ao longo do desenvolvimento, envolvendo vários mecanismos, para preservar os tecidos do indivíduo. Ambos repertórios, de linfócitos T e B, são tolerizados por mecanismos interconectados, que ocorrem em dois níveis, nos órgãos linfóides primários (tolerância central), e nos órgãos linfóides periféricos e sangue circulante (tolerância periférica).

A deleção, por apoptose, de clones T e B imaturos, no timo e medula óssea, respectivamente, constitui o principal mecanismo de tolerância, pela seleção negativa de células com potencial de auto-reatividade. Esse processo é influenciado por diversos fatores: grau de afinidade, pelo ligante, do receptor específico para o antígeno, dos linfócitos T e B; concentração e natureza do antígeno reconhecido; interação de co-receptores e de moléculas de adesão (Marelli-Berg *et al.*, 1999).

A detecção de clones T e B auto-reativos, no repertório periférico normal, confirma a possibilidade de escape à deleção clonal. Por um lado, linfócitos maduros podem ser potencialmente auto-agressivos, e ainda tolerizados, na periferia, por mecanismos descritos principalmente para o compartimento T: deleção clonal, anergia clonal (ocupação do receptor, em ausência de co-estimulação) e imunossupressão (por células ou citocinas). Por outro lado, o conceito de auto-reatividade fisiológica é introduzido, para se diferenciar de doença auto-imune (auto-reatividade patológica) (Volpini, Tambascia *et al.*, 1996).

## - Causas de Doenças Autoimunes

Ainda permanece sem esclarecimentos a fisiopatologia do LES, envolvendo complicada e multifatorial interação entre vários fatores genéticos e ambientais, com múltiplos gens contribuindo para a sustentabilidade da doença (Mok *et al.*, 2003).

A infecção está envolvida por ser responsável pela ruptura da tolerância periférica de forma que da incluem auto-exposição ao sistema imune através do colapso da barreira vascular ou celular. Nessa ocasião há ocorrência de morte celular pela necrose, ao invés de apoptose. Os mecanismos desse fenômeno são:

- Sinais co-estimulantes provenientes da ativação dos macrófagos e linfócitos T.
- Efeitos super antígenos de produtos bacterianos.

Assim como as infecções podem alavancar autoimunidades, outro fator ambiental, como os raios solares, podem causar danos teciduais, dando início ao Lupus Eritematoso ou alterando a molécula receptora o bastante para ela se tornar imunogênica, como nas síndromes induzidas por drogas ou produtos químicos. Novamente é necessário a susceptibilidade da herança genética (Davidson & Diamond., 2001).

Considerando o ambiente interno na associação de paraneoplastia auto-imune com câncer de ovário, pulmão e mama, onde um antígeno associado com tumor provoca excelente resposta auto-imune, danificando estruturas do cerebelo, neurônios motores ou sensoriais, terminais nervosos, como na síndrome miastênica de Lambert -Eaton ou células da retina. Essas síndromes refletem perda das defesas imunológicas contra o câncer, uma vez que elas precedendo ao seu aparecimento, são determinantes para sua disseminação.

Doenças tireoideanas autoimunes e diabetes tipo 1 poderão aparecer no período pós-parto. Os efeitos do estresse metabólico, não estão bem definidos em sua atuação na via neuro-endócrina ( Bynoe *et al.*, 2000) (Maisel *et al.*, 1998).

## Fatores Genéticos

Em doenças autoimunes é provável que tenha algum componente genético. A susceptibilidade dos gens pela autoimunidade atua em duas vias. Uma que determina a especificidade pelo antígeno e tecido na resposta a autoantígenos particulares, por exemplo:

- Gens que codificam moléculas MHC (Major Histocompatibility Complex) podem determinar quais autoantígenos estão presentes no sistema imunológico.
- Gens que codificam a especificidade do antígeno receptor por linfócitos T ou B influenciam quais moléculas são atacadas.
- Gens que influenciam a susceptibilidade de um tecido alvo para o ataque autoimune.

A outra via é a susceptibilidade geral dos gens a autoimunidade que influencia a tolerância, apoptose ou resposta inflamatória. Esses gens explicam a tendência à autoimunidade peculiar de cada família (Todd .,1999).

Dos elementos genéticos, os gens do MHC são os mais estudados pela sua maior contribuição ao LES em populações estudadas, demonstrando que essa susceptibilidade envolve antígenos leucocitários humanos (HLA) da classe II do polimorfismo que estão associados à presença de alguns autoanticorpos (Mok *et al.*, 2003).

Novas investigações foram efetuadas nesse campo. Procedimentos incluindo mapeamento genético em indivíduos de famílias afetadas por doenças autoimunes pela microordenação do DNA para identificar elementos genéticos específicos. Alelos mutantes e seus gens resultantes são identificados pela sua análise de ligação e posição de clonagem.

A comparação de resultados do mapeamento genético da autoimunidade entre humanos e camundongos e usando o banco de dados do projeto Genoma Humano

deverá levar ao projeto, em pouco tempo, de pelo menos 20 determinantes genéticos das doenças autoimunes (Mackay *et al.*, 2000).

## - Processo Aterotrombótico em Geral

As lesões da arteriosclerose representam a resposta com alta especificidade molecular e celular que melhor podem ser descritas como uma doença inflamatória. Elas ocorrem, principalmente, em artérias musculares elásticas de grande e médio calibre, podendo ser conduzida a uma isquemia cardíaca, cerebral ou em membros, levando ao infarto, estando presente em todas as fases da vida (Libby *et al.*, 2002).

A lesão mais precoce é chamada de estrias gordurosas muito comum em crianças e jovens, consistindo apenas de macrófagos derivado de monócitos e linfócitos T na região da íntima do vaso. Em pessoas com hipercolesterolemia, a introdução dessas células é precedida pela deposição extracelular de lipídeos amorfos e membranas (Manzi *et al.*, 2000).

Entre todos estudos sobre o início do processo aterotrombótico o que mais conduz à formulação da hipótese de resposta para o dano é aquele que enfatiza a disfunção endotelial. Cada lesão característica de arteriosclerose representa uma determinada fase no processo inflamatório crônico na artéria que levará evolutivamente a uma lesão mais complexa. Dentre as causas possíveis da disfunção endotelial podemos considerar: excesso de LDL, formação de radicais livres nos fumantes, hipertensão, diabetes Mellitus, hiperhomocisteinemia, infecção crônica por *Clamídia pneumoniae* (Ross *et al.*, 1999).

A disfunção endotelial, resultado do dano, conduz a uma resposta compensatória alterando as propriedades homeostáticas do endotélio. Assim, diferentes formas de danos, aumenta a adesividade e permeabilidade do endotélio no que se refere aos leucócitos ou plaquetas. O dano também induz o endotélio a propriedades pro-coagulantes, em vez de anticoagulantes, formando moléculas vaso-ativos, citocinas e fatores de crescimento celular. Se a resposta inflamatória neutraliza ou remove os

agentes causadores, esse processo poderá continuar indefinidamente, estimulando a migração e proliferação de células do músculo liso interagindo com a área inflamatória, formando uma lesão intermediária. A continuação dessas respostas podem espessar a parede da artéria, que se compensa pela vaso-dilatação (Libby *et al.*, 2002).

Durante qualquer fase aterogênica, os granulócitos estão raramente presentes. A resposta é mediada por monócitos, derivados macrófagos e subtipos específicos de linfócitos T em toda fase da doença. Um processo inflamatório contínuo leva o aumento dos macrófagos e linfócitos que migram do sangue, multiplicando-se dentro da lesão. A ativação dessas células leva a liberação de enzimas hidrolíticas, citocinas, quimocinas e fatores de crescimento que pode induzir um dano adicional levando, eventualmente, a necrose. Assim, ciclos de acumulação de células mononucleares, migração e proliferação de células do músculo liso e formação de tecido fibroso, levando a amplificação e reestruturação da lesão que ficará coberta por capa fibrosa que atingirá o núcleo do lipídio e tecido necrosado e, nessa situação, a artéria não se compensará pela dilatação, a lesão afetará seu lumen alterando o fluxo sanguíneo (Ross *et al.*, 1999).

Estudos recentes mostraram papel fundamental da inflamação em todas as fases da arteriosclerose e eventos trombóticos, bem como a ligação entre alguns fatores de risco e os mecanismos da aterogênese. Um grande impacto na compreensão da aterotrombose, não como doença devido ao acúmulo de lipídios, mas como uma desordem caracterizada pelo baixo grau de inflamação vascular e, sendo assim, pode-se usar esse conceito como preditivo de risco cardiovascular futuro (Manzi *et al.*, 2000).

Este novo esclarecimento do papel da inflamação em todas as fases da aterosclerose e o uso de marcadores inflamatórios, tem levado a novas áreas de direta relevância clínica.

## - Processo Aterotrombótico no Lupus Eritematoso Sistêmico

O conceito de LES tem mudado de doença rara com alta mortalidade para condição de baixa morbi-mortalidade, compatível com expectativa de vida e capacidade de trabalho praticamente normal. O prognóstico tem melhorado nos últimos 30 anos, pela identificação precoce da doença, a terapêutica contra infecções e o tratamento antiinflamatório e imunossupressor mais eficiente. (Urowitz *et al.*, 1976).

Em virtude da redução da mortalidade, aspectos como manifestações cardiovasculares, co-morbidades, complicações terapêuticas e qualidade de vida têm merecido especial atenção. Nesse contexto, o envolvimento cardiovascular no LES despertou a atenção por sua freqüência, gravidade e mortalidade. Embora rara como manifestação inicial da doença, o comprometimento cardíaco tem sido relatado em mais de 50% dos pacientes em vários estudos. LES afeta muitos aspectos da função cardíaca e as manifestações cardiovasculares são freqüentes e diversas. Há limitações do uso de métodos clínicos de rotina ou achados de autópsias para a avaliação do real envolvimento cardiovascular no LES (Abu-Shakra *et al.*, 1995).

O reconhecimento dos fatores de risco para aterosclerose precoce, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica, reforça a necessidade de orientação e tratamento desses fatores, para que possamos reduzir os riscos de doença arterial coronariana em pacientes com LES, (Badui *et al.*, 1997; Farhey *et al.*, 1997) bem como o estudo de novos fatores independente de risco como a homocisteína (Wallace *et al.*, 2001).

Os anticorpos anti-fosfolípidos, incluindo o anticardiolipina (ACL) e o anticoagulante lúpico (LA) ocorrem frequentemente em pacientes com lupus eritematoso sistêmico (LES), sendo esses anticorpos associados às trombozes arteriais e/ou venosas, trombocitopenia e perda fetal (Ginsberg *et al.*, 1995; Khamashta *et al.*, 1995).

As complicações trombóticas e trombocitopenicas em pacientes com LES, podem ser o resultado da ativação plaquetária, aumento da coagulação sanguínea e/ou

debilidade do sistema endotelial, apesar desses mecanismos não estarem ainda muito claros (Machin *et al.*, 1996; Lindsey *et al.*, 1993; Oosting *et al.*, 1993).

A aterosclerose e a trombose vascular são alterações que contribuem para a mortalidade precoce destes pacientes. Os mecanismos envolvidos na ocorrência de trombozes em pacientes portadores de LES não foram totalmente esclarecidos. Alguns estudos sugeriram que altos níveis de títulos de anticorpos antifosfolípides (APLs), parecem estar envolvidos com fenômenos trombóticos, evidenciando a participação de anticorpos anti-cardiolipina (ACL), anti-coagulante lúpico (LA) nos fenômenos trombóticos dos pacientes lúpicos (Harris *et al.*, 1985). O anticorpo anti-coagulante lúpico (LA) atua na superfície fosfolipídica da molécula, sugerindo a sua participação na patogênese da trombose (McNeil *et al.*, 1990).

Estudos confirmaram a associação entre elevados títulos de anticorpos antiprotrombina e elevado risco de desenvolver o infarto do miocárdio, não sendo uma característica típica da síndrome antifosfolipídica. Apesar do comportamento do anticoagulante lúpico na coagulação em testes *in vitro*, anticorpos antiprotrombina aumentou a geração de trombina na superfície da célula endotelial no fluxo sanguíneo. Achados obtidos com número muito limitado de amostras, são prováveis devido ao efeito catalizador da antiprotrombina na ligação da protrombina na superfície do fosfolipídio, sugerindo que antiprotrombina não mostra este comportamento (Schulman *et al.*, 1998).

Doenças tromboembolíticas são resultados de condição de hipercoagulação devido a causas multifatoriais. Fatores de risco trombogênico podem ser adquiridos hereditariamente ou não. Para cada paciente trombofílico, as principais características clínicas são: idade, a história familiar, eventos tromboembolíticos repetitivos; anticorpos antifosfolípidos são considerados fatores de risco trombogênico adquirido, podendo ser detectado em testes de coagulação, sendo que a sua associação com trombozes é definida como Síndrome Antifosfolipídica (Junzo *et al.*, 2001).

Décadas passadas os primeiros fatores de risco genéticos foram identificados: anti-trombina III, e deficiência de Proteína C e Proteína S sendo que essas deficiências estão envolvidas em 10% de pacientes que desenvolveram trombose antes de 50 anos. Em 1993, um novo fator de risco genético adquirido foi descoberto: Resistência a Proteína C ativada, que é devida a mutação Q 506 no fator V. Esse defeito representa a mais prevalente anormalidade em trombofilia hereditária, afetando 20 a 40% de pacientes trombolíticos (Junzo *et al.*, 2001).

É interessante observar que a hiperhomocisteinemia, conhecida como um potente preditivo de doenças arteriais, é considerada como, importante fator de risco para doenças venosas oclusivas. Estudos mostram que a homocisteína estimula a expressão e secreção na célula endotelial aortica de duas quimocinas biologicamente ativas e responsáveis pelo transporte dos leucócitos, nos monócitos, que são a interleucina – (IL8) e monócitos quimio atractante proteína – 1 (MCP - 1) sendo que, um acúmulo dessas quimocinas, promovido pelo aumento da homocisteína na parede da artéria promove o acúmulo dos macrófagos, contribuindo assim na resposta próinflamatória e pro arteriosclerótica (Zeng *et al.*, 2003).

Existem evidências de que a homocisteína é o fator de risco imediato na ocorrência de eventos agudos, interagindo fortemente com fatores de risco tradicionais, podendo ser preditivo de doenças cardiovasculares ou morte em pacientes com doenças renais crônicas. Além disso, nos estudos com C677T polimorfismo, falta poder estatístico e o Genótipo TT pode também regular as doenças cardiovasculares, como fator de risco independentemente da homocisteína. Portanto, somente a intervenção de estudos controlados com placebo, avaliando homocisteína -vitamina B6 pode estipular a validade dos argumentos para esse debate (Folson *et al.*, 1998).

Embora o mecanismo exato de aterotrombose associado com hiperhomocisteinemia não esteja claro, vários estudos tem mostrado sua associação, com atividade trombo reguladora, redução da ativação de Proteína C, aumento da

agregação plaquetária e aumento da predisposição a danos na célula endotelial, promoção da oxidação de lipoproteínas e da síntese do colesterol no fígado (Harker *et al.*, 1976)

O rompimento da placa ateromatosa na artéria coronária é responsável por iniciar o processo trombótico, levando a oclusão total ou parcial nas síndromes coronárias agudas, do infarto do miocárdio e angina pectoris instável. As placas rompidas contém abundante fator tecidual que, quando na corrente sanguínea, forma uma complexo com Fator VII/VIIa, dando início à cascata de coagulação. Fator VII, foi gerado pela clivagem enzimática do Fator VII pelas várias proteases circulantes, resultando numa rápida geração de Fator IX e Fator X (Toshi *et al.*, 1997).

Fryer e colaboradores mostraram que, elevados níveis plasmáticos de homocisteína podem iniciar a coagulação pelo aumento da atividade do fator tecidual das células endoteliais, situação possibilitada pela correlação entre homocisteína e o Fator VIIa. A inibição da ativação da Proteína C e o controle da trombogênese diminuídas são também citadas (Fryer *et al.*, 1993).

Alguns estudos têm demonstrado a associação entre elevados níveis de homocisteína e aumento de mortalidade em pacientes com doença arterial coronariana confirmada pela angiografia revisado por (Nygard *et al.*, 1997). Um trabalho demonstrou associação entre níveis de homocisteína e de fibrinogênio e salientou a importância das propriedades trombogênicas da homocisteína *in vitro*, sugerindo ser essencial a avaliação de fatores de risco hemostáticos na morbidade e mortalidade coronarianas (Von Eckardstein *et al.*, 1994).

Estudo recente mostrou que pacientes com síndrome coronariana aguda possuem elevados níveis de homocisteína plasmática, tem se mostrado estar associado a aumento da ativação da coagulação, definido pelos aumentos nos fragmentos F1+2 da protrombina e níveis de Fator VII. Apesar dessas evidências, é necessário mais estudo para confirmar esses dados (Mohamed *et al.*, 2000).

A detecção da Proteína C Reativa (PCR) é considerada um marcador sensível de inflamação, os níveis elevados podem estar relacionados ao desenvolvimento futuro de infarto do miocárdio. Alguns estudos demonstraram que a dosagem da PCR pode representar um fator positivo de risco aterotrombótico, mais sensível e confiável do que a determinação do perfil lipídico do paciente (Ridker *et al.*, 1997).

A descoberta da leptina tem ajudado a esclarecer o papel dos adipócitos como sistema endócrino e de que modo ocorre a sinalização para a ingestão ou não de alimentos, bem como, a regulação do metabolismo energético. Assim, a coordenação do balanço energético e do peso corporal envolve regulação entre a ingestão de alimentos e gasto de energia.

Os níveis de leptina circulantes parecem estar diretamente relacionados com a quantidade de RNAm para leptina no tecido adiposo. Além disso, vários fatores metabólicos e endócrinos contribuem para regular a transcrição dos genes da leptina em adipócitos. Por exemplo, ocorre diminuição de leptina em resposta a baixos níveis de insulina, havendo relação diretamente proporcional entre as concentrações desses hormônios. Glicocorticóides, infecções agudas e citocinas inflamatórias aumentam os níveis de leptina, mas baixas temperaturas, estimulação adrenérgica, hormônio do crescimento (GH), hormônios tireoidianos, melatonina e tabagismo têm a propriedade de diminuir os níveis de leptina( Zhang *et al.*, 1994; Wauters *et al.*, 1998 ;Lönnqvist *et al.*, 1999).

O reconhecimento de fatores de risco para aterosclerose precoce, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica e duração do uso de corticosteróides, reforça a necessidade de orientação e tratamento desses fatores, para que possamos reduzir os riscos de doença arterial coronariana em pacientes com LES.

Alguns estudos prévios realizados no Brasil, descreveram a prevalência de fatores de risco, como perfil lipídico, glicose e co-morbidades como hipertensão arterial e diabetes mellitus em pacientes lúpicos. (Sella & Sato .,2002 ).

Outro estudo avaliou a prevalência de placas ateroscleróticas nas carótidas em pacientes lúpicos para verificar possível associação com os fatores de risco tradicionais mostrando que, pacientes jovens com lupus apresentam uma maior prevalência de placas ateroscleróticas nas carótidas. (Souza *et al.*, 2005)

Nosso estudo representa o primeiro estudo brasileiro que avaliou os parâmetros clínicos de pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico, considerando aspectos sócio-demográficos, atividade da doença e correlacionou com fatores de risco tradicionais para aterosclerose, comparando-os com os fatores de risco trombogênicos incluindo a leptina, PCR ultra sensível, homocisteína.

## **2. OBJETIVOS**

Principal: Avaliação da presença dos fatores de risco Aterotrombóticos nos pacientes com LES: colesterol, HDL, LDL, triglicerídeos, glicose, proteína C ultra-sensível, homocisteína, proteína C, proteína S, anti-trombina III e leptina.

Secundários: Avaliar parâmetros clínicos de pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico, considerando aspectos sócio-demográficos, atividade da doença e correlacioná-los com os fatores de risco para aterotrombose.

### 3. MÉTODOS

#### 1) Casuística

Foi realizado um estudo seccional, avaliando 65 pacientes portadores de LES que estavam em tratamento clínico, com visitas regulares no ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário de Brasília.

Todos os pacientes foram informados do interesse do estudo e concederam um consentimento por escrito para a realização das dosagens laboratoriais propostas neste trabalho. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário de Brasília. (Anexo 2 )

Os dados dos pacientes foram obtidos utilizando Ficha de Coleta de Dados (Anexo 3) sendo preenchida pelo médico Leopoldo Luiz dos Santos Neto.

O SLEDAI constitui índice de atividade do LES (Bombardier *et al.*, 1992) ao qual os pacientes também foram avaliados. (Anexo 4 )

Foi realizado anamnese e exame físico completo no dia da coleta de sangue. Foi colhido 20 ml de amostras de sangue pela manhã, após um jejum noturno de 8 a 12 horas e, após centrifugação e separação do soro, o mesmo foi estocado a  $-20^{\circ}$  C por um período não superior a 30 dias, antes da realização das dosagens. A coleta foi realizada entre janeiro de 2003 e dezembro de 2004.

#### 2) Critérios de Inclusão

Os pacientes apresentaram idade superior a 15 anos, podendo ser de ambos os sexos. Pacientes que faziam uso de anti-coagulantes também foram incluídas no protocolo. Os pacientes foram distribuídos em 2 grupos:

-Grupo I : Pacientes com LES que fizeram uso de metilprednisolona (1g/iv) e ciclofosfamida (0,5-1g/m<sup>2</sup>/sc), em forma de pulsoterapia.

-Grupo II : Pacientes com LES que não faziam uso de ciclofosfamida.

Todos os pacientes preencheram os critérios classificatórios de LES do Colégio Norte-Americano de Reumatologia (ACR) , conforme TAN *et al.*, 1982.

## **IV. MÉTODOS DE ANÁLISE BIOQUÍMICA**

### **4.1. COLESTEROL TOTAL.**

4.1.1 - PRINCÍPIO: Ésteres de colesterol são hidrolisados por colesterol èster-hidrolase em colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre existe, junto com o produzido por esta reação é oxidado pelo colesterol – oxidase para 4- colestenoma e peróxido de hidrogênio, após o que, na presença de peroxidase, oxida o sistema cromógeno 4- amino fenazona ácido 2-hidrofenil acético a um composto de cor avermelhada.

### **4.2. - COLESTEROL-HDL**

4.2.1.- PRINCÍPIO: O princípio utiliza dois reagentes que possibilitam a dosagem seletiva do colesterol ligado às HDL. O primeiro reagente contém um poliânion que forma complexos estáveis com a superfície das LDL e VLDL e dos quilomícrons. Por outro lado, os complexos formados com as partículas da HDL não permanecem estabilizados e se solubilizam por ação de um detergente, permitindo a reação com as enzimas presentes no segundo reagente. Como somente do colesterol HDL fica sujeito à ação das enzimas, a cor resultante da segunda reação é diretamente proporcional à concentração do colesterol HDL na amostra.

## 4.3 – TRIGLICÉRIDES

4.3.1 - PRINCÍPIO: Os triglicerídeos se convertem em glicerol e ácidos graxos livres pela enzima Lipoproteína Lipase. O glicerol se converte em glicerol-3-fosfato pela enzima glicerolquinase em presença de glicerol-3-fosfato oxidase formando peróxidos de hidrogênio. Por influência catalítica do peroxidase forma um complexo colorido de peróxido de hidrogênio, 4-aminofenazona / 4-clorofenol. A absorvância desse complexo se mede como reação de ponto final.

## 4.4. - PCR ULTRA SENSIVEL

4.4.1. - PRINCÍPIO: Enzima-imunoensaio quimiluminescente de dois sítios.

O PCR ultra sensível IMMULITE é um ensaio imunométrico quimiluminescente marcado por enzima, baseado em anticorpo monoclonal marcado com ligante e na separação pela fase sólida coberta com antiligante.

A amostra do paciente, um anticorpo monoclonal anti-PCR marcado com ligante e um anticorpo policlonal anti-PCR marcado com fosfatase alcalina são introduzidos simultaneamente na Unidade de Teste que contém anti-ligante imobilizado e incubada por aproximadamente 60 minutos a 37 °C com agitação intermitente. Durante esse período o PCR da amostra forma um complexo tipo sanduíche de anticorpo, o qual, por sua vez, liga-se ao anti-ligante na fase sólida. O conjugado não ligado é removido através de lavagem por centrifugação; o substrato é adicionado e a Unidade de Teste é incubada por mais 10 minutos.

O substrato quimiluminescente, um éster de fosfato de adamantil dioxetano, sofre hidrólise na presença de fosfatase alcalina para produzir um intermediário instável. A produção contínua desse intermediário resulta na emissão prolongada de luz aumentando assim a precisão através de uma janela de múltiplas leituras. O complexo ligado – e também a saída de fóton medida pelo luminômetro – é inversamente proporcional à concentração de PCR da amostra.

4.4.2.- CALIBRAÇÃO DO ENSAIO: Utiliza-se uma curva master cujo código de barras deve ser inserido no Immulite através da caneta óptica.

Os ajustadores (baixo e alto) devem ser processados em quadruplicada e identificados na tela com o número de suporte da cubeta antes da entrada da unidade teste nas posições subsequentes. Um dos controles alto, médio ou baixo deve testado para validar a calibração.

4.4.3. - Os estudos realizados com o reagente High Sensitivity PCR e utilizando-se como sistema analítico o Inmulite 2000, as precisões intrainsaio e total (que envolve as precisões intra e interensaio), são demonstradas pela seguinte tabela:

	Interensaio			Total	
	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	0,023	0,002	8,7%	0,002	8,7%
2	0,085	0,004	4,7%	0,006	7,1%
3	0,32	0,009	2,8%	0,010	3,1%
4	1,23	0,035	2,8%	0,040	3,3%
5	2,18	0,074	3,4%	0,082	3,8%
6	9,37	0,48	5,1%	0,49	5,2%

Em relação do coeficiente de variação biológica, coeficientes de variação individual e inter grupo são os seguintes: CVI = 52,6%, CVG = 84,4%. Os valores de CVI e CVG sofrem grandes variações intra e inter individual. (Campbell *et al.*, 2002) e (Ledue *et al.*, 2003).

#### 4.5. - LEPTINA

Em relação aos estudos realizamos com o regente Human Leptina Irma e utilizando-se como sistema analítico o ANJR – Abbott, as precisões interensaio, são demonstradas por intermédio das seguintes tabelas:

A- Precisão Intraensaio:

Média (ng/ml)	Desvio Padrão (ng/ml)	Coefficiente de Variação %
2,75	0,10	3,7
13,50	0,67	4,9
73,60	1,94	2,6

B- Precisão Interensaio:

Média (ng/ml)	Desvio Padrão (ng/ml)	Coefficiente de Variação %
2,83	0,19	6,6
14,35	0,76	5,3
73,87	2,71	3,7

#### 4.6.- HOMOCISTEINA

4.6.1 - PRINCÍPIO: O ensaio IMX homocisteina é baseado na tecnologia de imunoensaio por fluorescência polarizada(FPIA).A homocisteina ligada (forma oxidada) é reduzida a homocisteina livre e esta é convertida enzimaticamente em S- adenosil-L-homocisteina (SAH).

#### 4.7. - GLICOSE

4.7.1. - PRINCÍPIO: A glicose é convertida por glicose oxidase em ácido glicônico e peróxido de hidrogênio, que em presença de peroxidase oxida o cromógeno ( 4-aminofenasona/fenol) a um composto de coloração vermelha .

#### 4.8. - PROTEÍNA C

4.8.1. - PRINCÍPIO: A proteína c ativada inibe os fatores V e VIII, e prolonga o TTPA (tempo de tromboplastina parcial ativada) na presença de um ativador específico quando esses fatores estão presentes.

#### 4.9. - PROTEÍNA S

4.9.1. - PRINCÍPIO: O ensaio é baseado na atividade de cofator da proteína S que exerce ação anticoagulante de ativação da proteína C. Essa reação é revelada pelo prolongamento do tempo de coagulação de um sistema enriquecido com fator Va que está fisiologicamente ativado por um substrato de proteína C.

#### 4.10. - ANTI-TROMBINA III

4.10.1.-PRINCÍPIO: A Antitrombina III é uma glicoproteína de peso molecular aproximadamente de 58.000 daltons, sintetizado no fígado. Como um inibidor de trombina, a atividade da Antitrombina III é drasticamente aumentada pela heparina. Ele também inibe o fator Xa e diminui a extensão dos fatores IXa; Xa; XIIa; da plasmina e calicreína.

- Equipamento: Selectra II

Estatística: Os valores são descritos pela média ( $\pm$ desvio padrão). Foi utilizado o teste de Kolmogorov para estudar a normalidade dos valores. As variáveis contínuas foram avaliadas pelo teste T de Student. As variáveis discretas foram avaliadas pelo Qui-quadrado. A correlação de Spearman foi utilizada nas análises de correlação. O teste de regressão linear e análise de regressão múltipla foi utilizado para avaliar os parâmetros de IMC, valores lipídicos, leptina, homocisteína, proteína C reativa ultrasensível.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Dados epidemiológicos e demográficos

Foram avaliados 65 pacientes lúpicos com idade variando entre 15 e 55 anos (média de  $30,8 \pm 10,1$  anos) . A distribuição por gênero foi de 61 mulheres e de 4 homens. Os pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com a presença ou ausência de glomerulonefrite ou outros órgãos acometidos. Nesse primeiro grupo (Grupo I) os pacientes fizeram uso de metilprednisolona (1g/iv) e ciclofosfamida (0,5-1g/m<sup>2</sup>/sc), em forma de pulsoterapia. O segundo grupo (Grupo II) não fez uso de ciclofosfamida. Os dados clínicos dos pacientes pertencentes aos dois grupos estão apresentados na tabela 1.

Alguns pacientes lúpicos apresentaram co-morbidades tais como distúrbios endócrinos (Tiroidite Hashimoto, Síndrome de Cushing iatrogênica), vasculites, neuropatias e dermatopatias (anexo 5). As medicações utilizadas nos pacientes com lúpicos estão descritas no (anexo 6).

Foi constituído um grupo controle com 28 indivíduos saudáveis, voluntários, recrutados entre os funcionários do Laboratório Sabin e do Instituto Sabin sendo todos do sexo feminino com idade variando de 20 anos a 50 anos.

### 5.2. Idade

A idade média dos pacientes do grupo I foi de  $31,3 \pm 10,1$  anos enquanto que no grupo II foi de  $33,2 \pm 12,9$  anos, e no grupo controle a idade média foi de  $28,0 \pm 6,91$  anos. Não houve diferença significativa entre os grupos. (tabela1)

### 5.3. Índice de Massa Corporal (IMC)

Não houve diferença estatística entre os grupos I e II com relação ao IMC e o grupo controle. O gênero feminino, foi o mais freqüente nos dois grupos estudados correspondendo a 93,8% e também com 100% no grupo controle. (tabela 1)

Tabela 1: Dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes lúpicos do grupo I, II e controle.

	Controle (n=28)	Grupo I (n=43)	Grupo II (n=22)
Idade (anos)	28,0 ± 6,91	31,3 ± 10,1	33,2 ± 12,94
Gênero (M)	0	3	1
(F)	28	40	21
IMC(kg/m <sup>2</sup> )	21,9 ± 3,46	22,1 ± 3,3	23,7 ± 5,1
Duração da doença (meses)	*	51,7 ± 8,6	64,7 ± 12,8
SLEDAI	*	7,8 ± 1,2	6,6 ± 1,1

#### 5.4. Duração da doença

O grupo I apresentou duração média de doença de 51,7 ± 8,6 meses, enquanto que no grupo II foi de 64,7 ± 12,8 meses.

#### 5.5. SLEDAI

Não houve diferença no índice de atividade da doença SLEDAI entre os 2 grupos. No grupo I o índice foi de 7,8 ± 1,2 e no grupo II foi de 6,6 ± 1,1.

#### 5.6. Duração do tratamento no grupo I

Os pacientes do grupo I estavam utilizando ciclofosfamida intravenosa e metilpredisolona IV (100%) em média há 7,1 meses (variação de 1 a 24 meses).

## 6. ANÁLISE DE PARÂMETROS LABORATORIAIS

### 6.1. AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO E GLICOSE

Tabela 2: Avaliação do perfil lipídico e glicose dos pacientes lúpicos e controles.

	Grupo Controle	Grupo I	Grupo II	P
Colesterol	161,8 ± 29,1	206,6 ± 39,9	153,2 ± 30,7	0,0001
HDL	54,1 ± 8,5	58,4 ± 12,7	43,1 ± 7,4	0,0001
LDL	92,8 ± 27,6	117,1 ± 32,4	87,2 ± 24,6	0,0001
Triglicerídeos	73,8 ± 26,1	149,4 ± 76,1	111,8 ± 65,4	0,0001
Glicose	81,5 ± 6,6	85,2 ± 9,2	85,2 ± 13,5	0,0001

### 6.2. COLESTEROL

O valor do colesterol total foi maior no grupo I do que entre os outros grupos (Grupo II e controle). Essa diferença foi estatisticamente significativa, mas não em relação ao grupo II e controle. ( $p < 0,0001$ ) (tabela 2 e figura 2)

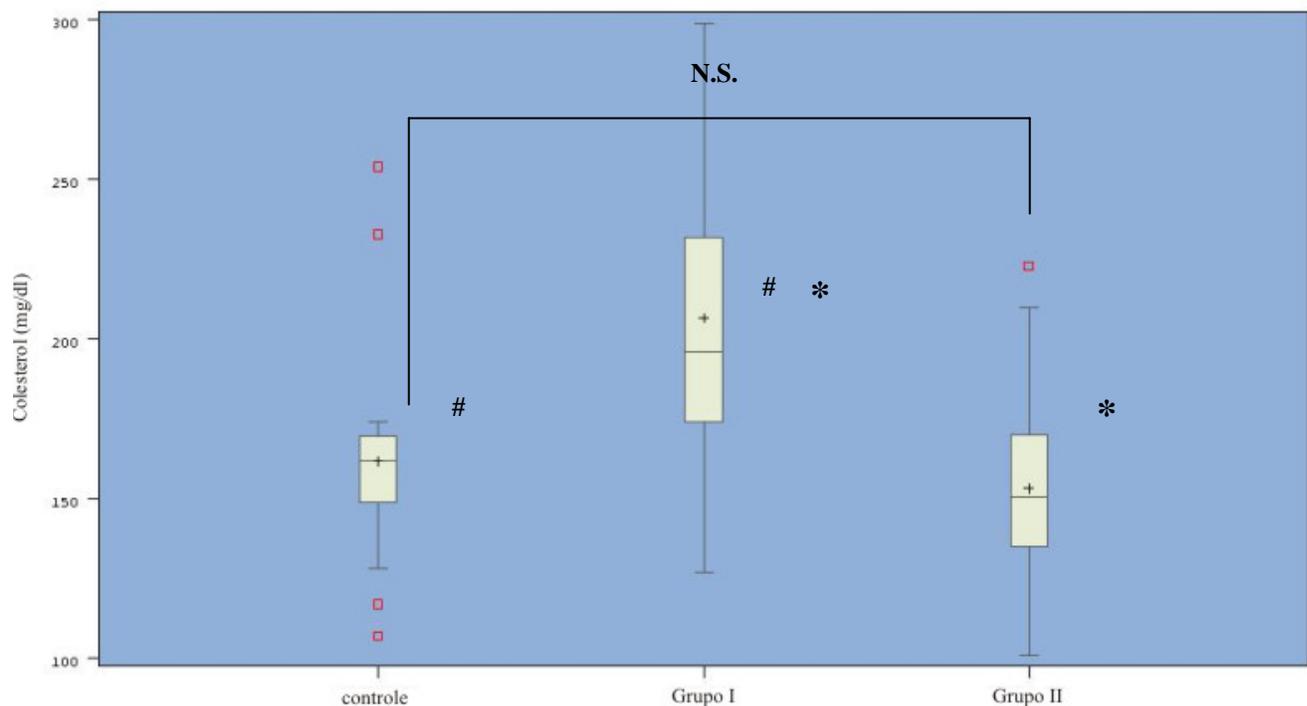


Figura 2. Determinação do nível plasmático de colesterol nos pacientes lúpicos e controle. Teste F; \* #  $p < 0,0001$ ; N.S.= Não significativo.

### 6.3. COLESTEROL HDL

O valor do colesterol HDL foi maior no grupo I do que entre os outros dois grupos, (grupo II e o grupo controle), mas não em relação ao grupo controle e Grupo II. ( $p < 0,0001$ ) (tabela 2 e figura 3)

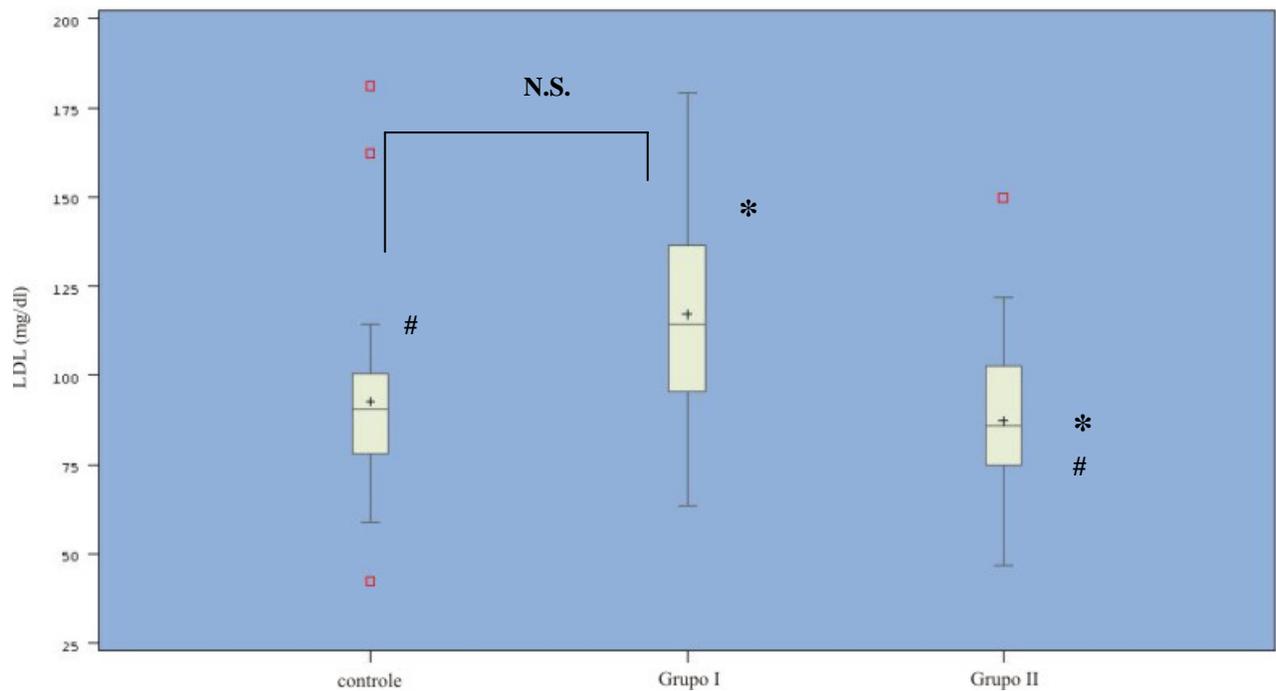


Figura 3. Determinação de nível plasmático do colesterol HDL nos pacientes lúpicos e controle. Teste F; \* #  $p < 0,0001$ ; N.S.= Não significativo

#### 6.4. COLESTEROL LDL

O valor do LDL Colesterol foi maior no grupo I do que entre os outros dois grupos (grupo II e grupo controle), observando-se diferença estatisticamente significativa, mas não em relação ao grupo II e controle. ( $p < 0,0001$ ) (tabela 2 e figura 4)

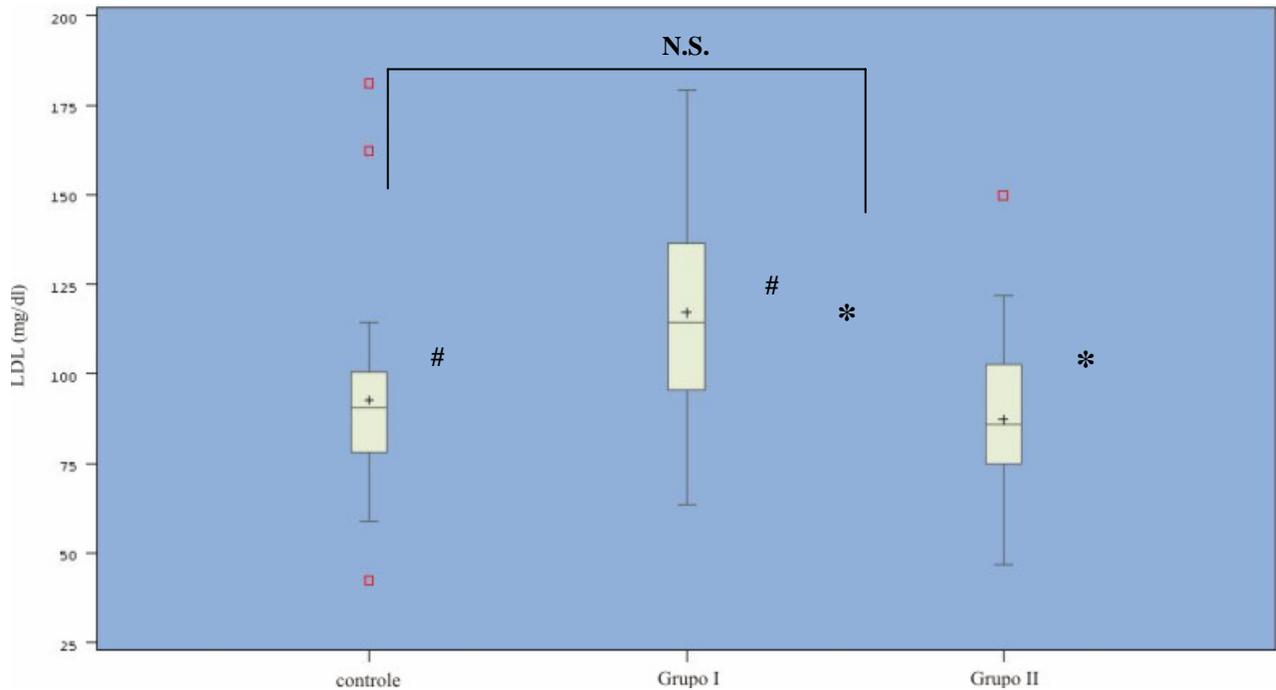


Figura 4. Determinação do nível plasmático do colesterol LDL nos pacientes lúpicos e controle. Teste F; \* #  $p < 0,0001$ ; N.S.= Não significativo

## 6.5. TRIGLICERIDEOS

O valor do triglicerídeos foi maior no grupo I do que entre os outros grupos (grupo II e grupo controle), onde se observou uma diferença significativa, mas não em relação ao grupo II e controle. ( $p < 0,0001$ ) (tabela 2 e figura 5)

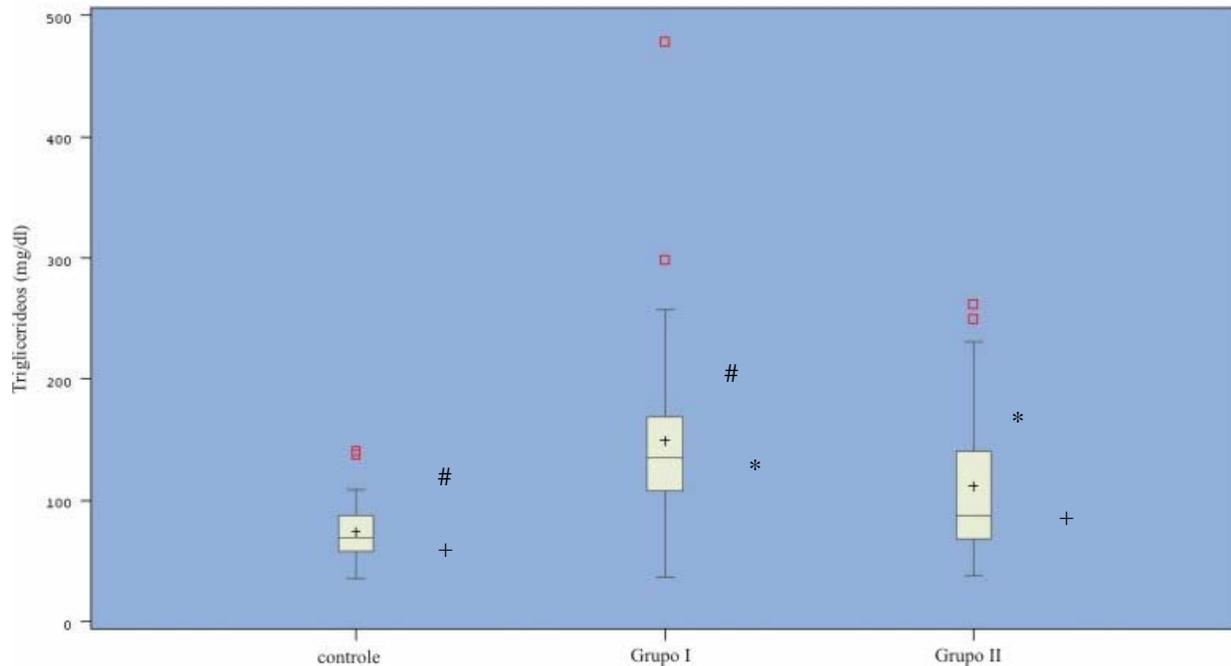


Figura 5. Determinação dos níveis plasmáticos do triglicérideos nos pacientes lúpicos e controle. Teste F; + \* #  $p < 0,0001$ ; N.S.= Não significativo

## 6.6. GLICOSE

Os valores da glicemia de jejum, não houve diferença estatística entre os grupos.

## 7. FATORES ATEROTROMBÓTICOS

### 7.1 HOMOCISTEINA

Os valores da homocisteína no grupo I teve a média  $11,85 \text{ mg/dl} \pm 6,05$ , enquanto que do grupo II teve a média  $10,76 \text{ mg/dl} \pm 4,88$ , e o grupo controle, a média foi de  $8,40 \text{ mg/dl} \pm 2,18$ , não tivera diferença significativa entre os grupos. (tabela 6 e figura 6)

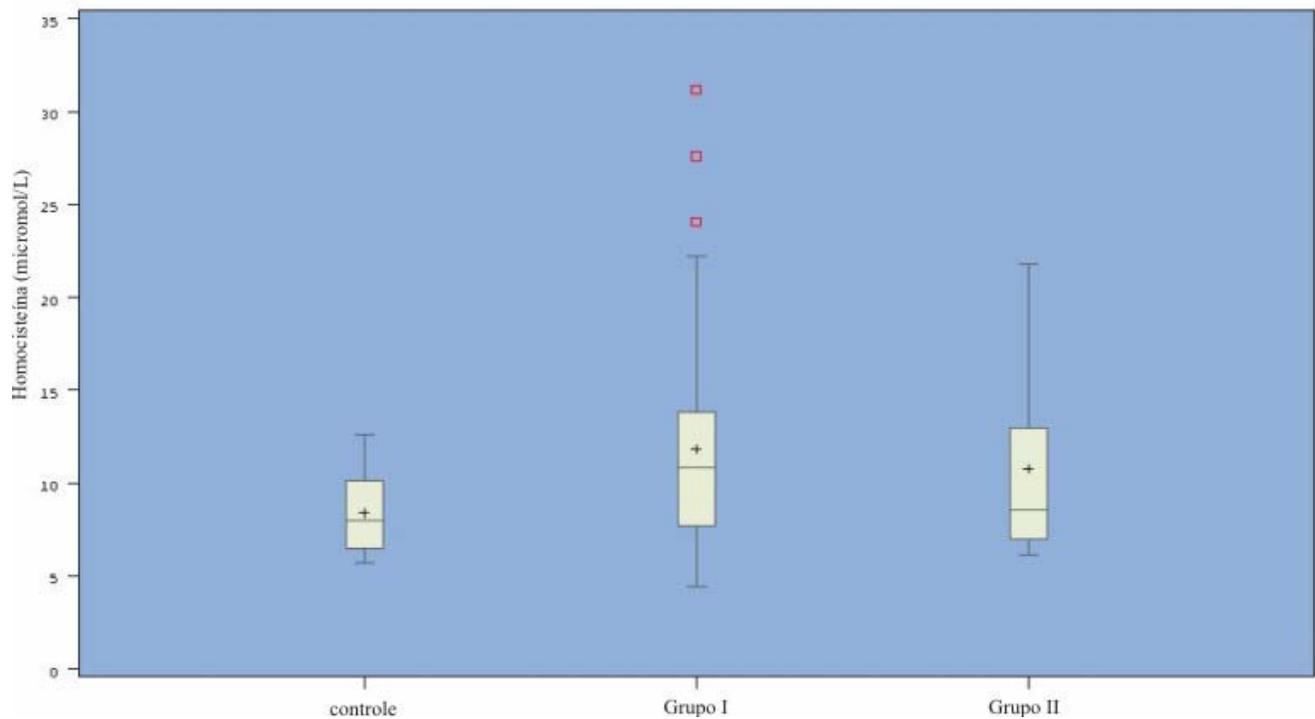


Figura 6. Determinação dos níveis plasmáticos da homocisteína nos pacientes controle e lúpicos.

## 7.2. PROTEINA C ULTRA - SENSÍVEL

O nível plasmático da proteína C ultra Sensível (PCR- ultra) em relação aos controles estava significativamente aumentado nos pacientes lúpicos. Não houve diferença significativa entre os grupos I e II. O PCR – ultra, esteve com níveis elevados em 90,9% dos pacientes do grupo II, em 67,4% dos pacientes do grupo I e em 17,9% do grupo controle. Essa diferença foi significativa em relação aos grupos lúpicos e controle ( teste exato de Fischer) ( $p=0,004$ ) (figura 7).

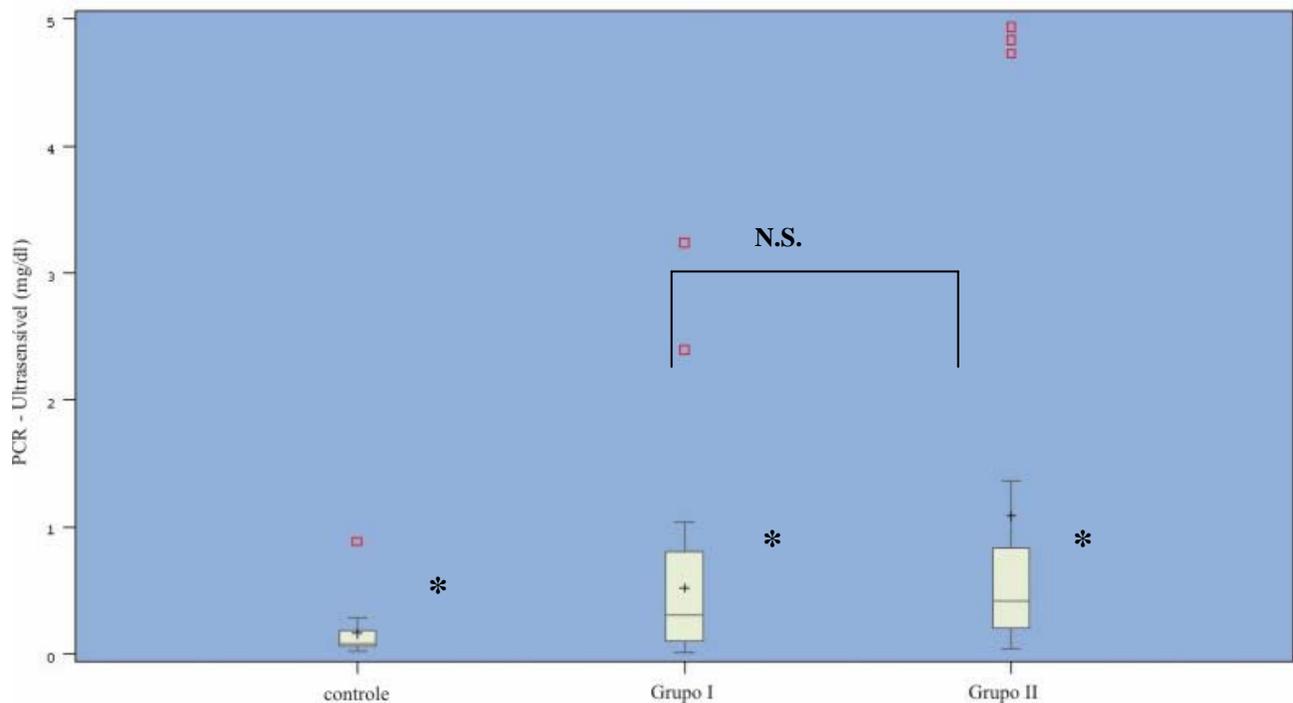


Figura 7. Determinação de nível plasmático da Proteína C Ultra sensível nos pacientes lúpicos e controle. Teste F; \* $p=0,004$ ; N.S.= Não significativo

### 7.3. LEPTINA

Os grupos I e II tiveram níveis significativamente maiores ( $32,9 \pm 19,7$  mg/dl e  $30,5 \pm 21,4$  mg/dl) do que o observado no grupo controle ( $21,9 \pm 13,2$  mg/dl) ( $p=0,004$ ), mas não foram diferentes entre si (figura 8).

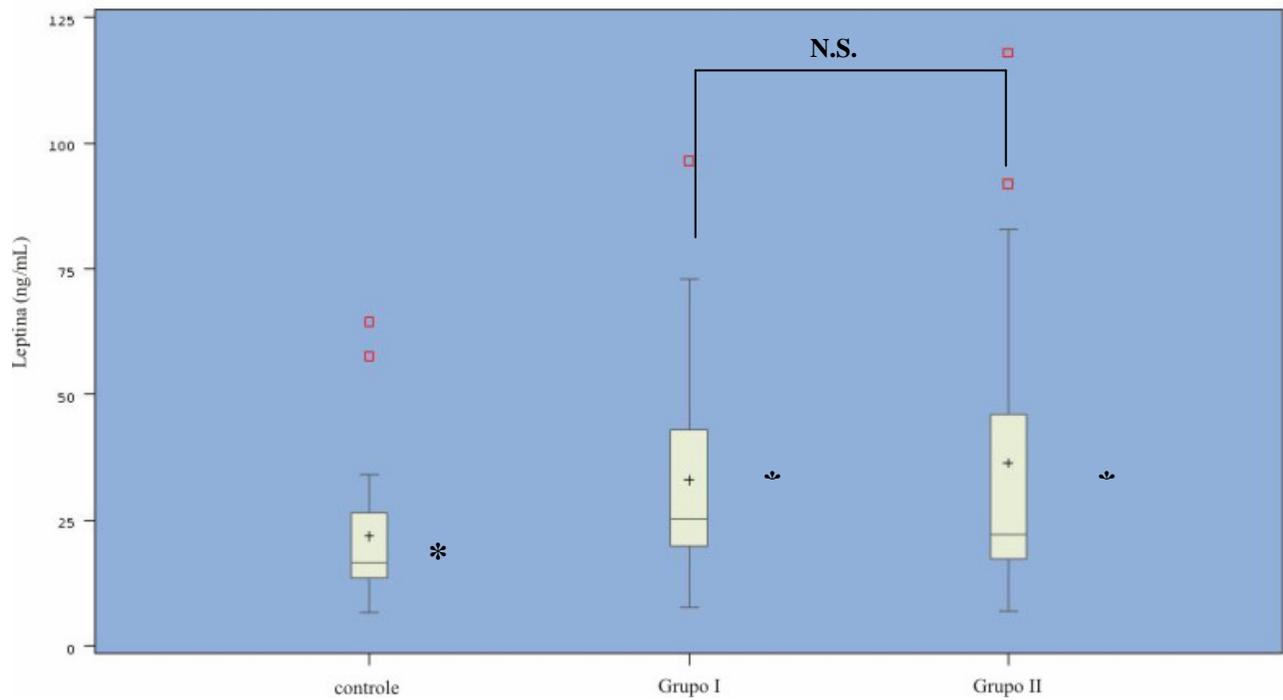


Figura 8. Determinação de nível plasmático da leptina nos pacientes lúpicos e controle. Teste F; \* $p=0,0233$ ; N.S.= Não significativo

#### 7.4. PROTEINA C

Encontramos níveis reduzidos de proteína C em 16,2% do grupo I. Desses pacientes 4 utilizavam anti-vitamina K e portanto foram excluídos permanecendo apenas 3/39 que apresentaram níveis de proteína C reduzidos mas sem diferença estatística em relação ao grupo II ( $p=0,14$ ). No grupo II 22,7% apresentaram níveis reduzidos de proteína C e nenhum paciente fazia uso de anticoagulante.

#### 7.5. PROTEINA S

A Proteína S estava normal em 72% dos pacientes do grupo I, e em 73% daqueles do grupo II. Níveis baixos de proteína S ocorreram em 28% dos pacientes do grupo I. Desses pacientes quatro utilizavam anti-vitamina K e, portanto, após a exclusão desses pacientes, permaneceram apenas 9/39 que apresentaram redução dos níveis de proteína S. 27,5% dos pacientes do grupo II apresentaram níveis baixos de proteína S, mas sem diferença estatística em relação ao grupo I ( $p=0,7$ ).

#### 7.6. ANTICARDIOLIPINA do Tipo IgM (AclgM)

A AclgM apresentou-se em níveis elevados em 3 (6,9%) pacientes do grupo I e em 7 (31,8%) pacientes do grupo II, sendo esta diferença estatisticamente significava ( $p=0,0242$ ).

#### 7.7. ANTICARDIOLIPINA G do Tipo IgG (AclgG)

Os níveis de AclgG apresentaram-se elevados em 5 pacientes do grupo I, enquanto que no grupo II, 6 pacientes apresentaram níveis elevados. Não houve diferença significativa entre esses grupos. ( $p=0,1632$ )

## 7.8. ANTITROMBINA III

A antitrombina III teve níveis elevados em 21% dos pacientes do grupo I e 4,5% do grupo II. Apresentou níveis baixos em 9,3% no grupo I. Desses pacientes, um utilizava anti-vitamina K e, portanto, após a exclusão desse paciente permaneceram apenas 3/42 (9,3%) que apresentaram redução dos níveis de anti-trombina III. 13,6% no grupo II apresentaram níveis baixos de antitrombina III.

Tanto no grupo I quanto no grupo II, a maioria dos pacientes apresentou nível sanguíneo de Antitrombina III dentro da normalidade. ( $p=0,24$ ).

Tabela 3. Fatores pró – coagulantes nos pacientes lúpicos que apresentaram valores alterados.

<i>Fatores de Riscos Cardiovasculares</i>	<i>Grupo I (N=43)</i>				<i>Grupo II (N=22)</i>		<i>P</i>
	<i>% pacientes</i>	<i>C/Ac*</i>	<i>S/Ac</i>	<i>% de Pacientes</i>			
Proteína C <0,70	16	3/39**	4	3	22,7	5	0,14
Proteína S < 0,65	28	9/39**	4	9	27,5	6	0,70
Anti Cardiolipina IgM > 12,5	6,9	3/43	0	3	31,8	7	0,02
Anti cardiolipina IgG > 15	11,6	5/43	2	3	27,2	6	0,16
Antitrombina III < 80	9,3	3/42**	1	3	13,6	3	0,24

\* Ac= Anticoagulante

\*\*Foram excluídos os pacientes que faziam uso de anti-vitamina K

Nenhum paciente do grupo II usava anticoagulante.

## 8. ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE OS DIVERSOS PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS.

### 8. 1. Grupo I (Em uso de ciclofosfamida)

No grupo I, encontramos correlações significativas entre IMC e PCR Ultra sensível ( $r = 0,35$ ,  $p < 0,02$ ), e entre IMC e a Leptina ( $r = 0,5$ ,  $p < 0,001$ ). tabela 4

Tabela 4. Correlação entre leptina, PCR, IMC e SLEDAI nos pacientes lúpicos do grupo I (em uso de ciclofosfamida)

	Leptina	PCR	IMC	SLEDAI
Leptina	1,0			
PCR	-0,05	1,0		
IMC	0,5*	-0,35**	1,0	
SLEDAI	-0,18	-0,06	-0,18	1,0

\*\*p = 0,02

\* p = 0,001

Teste de Correlação de Pearson

### 8.2. Grupo II ( sem ciclofosfamida)

A leptina apresentou forte correlação positiva com o IMC ( $r = 0,54$ ,  $p < 0,01$ ) e o colesterol ( $r = 0,42$ ;  $p = 0,04$ ). Não houve correlação entre os níveis de leptina e o Índice de Atividade de Doença (SLEDAI). (tabela 5)

Tabela 5. Correlação entre leptina, PCR, IMC e SLEDAI nos pacientes lúpicos do Grupo II.

	Leptina	PCR	IMC	SLEDAI
Leptina	1,0			
PCR	-0,28	1,0		
IMC	0,54*	-0,36	1,0	
SLEDAI	-0,04	-0,02	-0,32	1,0

\*p = 0,01

Teste de Correlação de Pearson

### 8.3. Grupo Controle

No grupo Controle houve forte correlação positiva entre a leptina e o IMC, o nível de colesterol e LDL, respectivamente  $r = 0,56$  ( $p < 0,03$ );  $r=0,52$  ( $p=0,004$ ) e  $r=0,57$  ( $p=0,001$ ). (tabela 6)

Tabela 6. Correlação entre leptina, PCR, IMC no grupo controle.

	Leptina	PCR	IMC
Leptina	1,0		
PCR	0,02	1,0	
IMC	0,56*	0,15	1,0

\* $p = 0,03$

Teste de Correlação de Pearson

## 9. ANÁLISE DE VARIÂNCIA

As comparações entre os grupos foram efetuadas através de ajustes de modelos lineares, controlando-se por IMC e Idade. A análise de variância mostrou que o Índice de Massa Corporal (IMC) dos grupos são estatisticamente significantes, os níveis de colesterol dos pacientes do grupo I, que recebeu ciclofosfamida, apresentou diferença significativa maior. Os níveis de HDL ajustado por idade e Índice de massa Corporal (IMC), mostrou que o grupo I tem média de HDL significativamente inferior aos outros grupos. Nos pacientes lúpicos do Grupo I, o nível de LDL apresentou-se significativamente maior do que os outros dois grupos. Com relação aos níveis de triglicérides há diferença significativa entre os três grupos, sendo o grupo I, maior que os outros dois grupos.

As diferenças de glicemia e homocisteína não foram consideradas significativas entre os três grupos. O nível de proteína C Ultra sensível foi significativamente maior nos pacientes lúpicos.

Tabela 7.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados Tipo III	Erro Quadrático Médio	Estatística F	p-valor
<b>Grupo</b>	2	1,28	0,64	2,779	0,068
<b>PCR</b>	1	0,14	0,14	0,59	0,4445
<b>IMC</b>	1	9,60	9,50	41,28	0,0001
<b>LDL</b>	1	0,30	0,30	1,26	0,2647
<b>HDL</b>	1	0,70	0,62	2,67	0,1064
<b>Colesterol</b>	1	0,09	0,09	0,37	0,5430

\* PCR - Proteína C Reativa

\*IMC – Índice de Massa Corporal

A análise de variância mostra que a diferença do IMC foi estatisticamente significativa entre dois grupos. Não há evidência de relação entre os níveis de Leptina e os de Colesterol, HDL, LDL e PCR Ultra sensível. Os níveis de leptina no grupo controle diferem significativamente dos grupos de portadores de LES ( $p < 0,023$ ).

## 10. DISCUSSÃO

Doença Coronariana Aterosclerótica (DAC) tem sido identificada em pacientes com LES e pode evoluir para infarto do miocárdio em mulheres jovens. Após o segundo ano de LES, a primeira causa de mortalidade é a DAC. Os fatores de risco responsáveis pela DAC prematura nos pacientes com LES ainda não são totalmente esclarecidas. Fatores de risco tradicionais como, hiperlipidemia, tabagismo, diabetes, hipertensão arterial e sedentarismo são muito importantes no LES. Outros fatores atribuídos são o uso de corticosteróide (que pode agravar a hiperlipidemia, hipertensão arterial, diabetes e obesidade), coronariopatia prévia, nefrite crônica, redução de C3, níveis elevados de Anti-DNA, anticorpo anti-fosfolípidos e aumento do nível plasmático de anti-homocisteína. No entanto, outros fatores de risco não tradicionais também podem estar associados com aumento de risco para AVC, IAM e angina em pacientes com LES (Esdaile *et al.*, 2001).

O nosso estudo mostrou que 65 pacientes acompanhados no ambulatório de Reumatologia do HUB-UnB apresentam fatores de risco, tradicionais e não tradicionais, para DAC prematura. Esses pacientes apresentaram aumento do colesterol, triglicerídeos e LDL. Além do mais, foi identificada elevação da proteína C reativa e dos níveis de leptina nos indivíduos lúpicos, tanto no grupo I, que apresentavam glomerulonefrite lúpica, quanto no grupo II (grupo em fase inativa do LES).

Um dos principais objetivos da avaliação global de risco para doença cardiovascular é identificar precocemente os indivíduos que vão se beneficiar do tratamento não medicamentoso (dieta prudente, exercício, interrupção do tabagismo, etc) ou medicamentoso (tratamento e controle dislipidemia e hipertensão arterial).

### 10.1. AVALIAÇÃO DO METABOLISMO LIPÍDICO E DOS CARBOIDRATOS

Nós analisamos o papel dos fatores de risco tradicionais e alguns parâmetros imunológicos e inflamatórios que são considerados fatores preditivos de doenças aterotrombóticas em pacientes portadores de LES. A patogênese das doenças coronárias nesta população é multifatorial. Alguns estudos confirmam o envolvimento de fatores de

risco tradicionais, tais como, colesterol, HDL, LDL, triglicérides. tabagismo e presença de diabetes, identificando também a presença de novos fatores de risco tais como homocisteína, PCR ultra sensível e leptina (Nuttall *et al.*, 2003).

Alguns mecanismos são propostos para a lesão vascular autoimune e o aparecimento de placas de ateroma. O depósito de complexo imune na placa estimula o acúmulo de colesterol, seguindo a disfunção do endotélio vascular, hiperatividade das plaquetas, comprometimento da fibrinólise e a produção de anticorpos dirigidos contra o LDL oxidado que facilitariam a concentração dessa partícula aterogênica nos macrófagos da parede do vaso (Vaarala *et al.*, 1997; Jouhikainen *et al.*, 1994; Greisman *et al.*,1991; Petri *et al.*,1994; Kabakov *et al.*,1992).

Em nosso estudo verificamos que os pacientes lúpicos mais graves que utilizavam ciclofosfamida, apresentou níveis significativamente mais elevados de colesterol, triglicérides e LDL colesterol em relação aos pacientes sem quimioterapia e o grupo controle. Esses pacientes apresentavam lesão renal e usavam doses elevadas de corticóides. O papel do colesterol e suas frações nos processos aterogênicos são descritos em diversas situações clínicas e já é bem estabelecido. O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença crônica onde o processo inflamatório e auto-imune provavelmente contribui para acelerar o processo arterosclerótico observado nesses pacientes.

Achados similares foram descritos por Nuttall *et al.*( 2003), onde o nível elevado de LDL indicou a presença de processo acelerado de arterosclerose, devido à presença de pequenas e densas partículas de LDL, possuindo maior probabilidade de serem oxidadas e, portanto, serem fagocitadas pelos macrófagos, pois nesses pacientes existem elevado estado de estresse oxidativo com a capacidade anti-oxidante reduzida (Nuttall *et al.*, 2003). Outros estudos mostram que a retenção e oxidação do LDL no subendotélio têm importante papel no processo arterosclerótico (Thiagarajam *et al.*, 2001).

Svenungsson et al. (2001), investigaram a relevância dos tradicionais fatores de risco para doenças cardiovasculares nos portadores de LES. Foram avaliadas mulheres lúpicas, com e sem doenças cardiovasculares, investigando os fatores de risco tradicionais, tais como espessamento das camadas íntima – média da carótida, dislipidemia, HDL, colesterol baixo, elevados níveis de homocisteína, constatando estreita associação dos auto-anticorpos com o LDL oxidado.

Em nosso estudo constatamos que os níveis de HDL colesterol foram significativamente mais elevados em pacientes lúpicos submetidos à quimioterapia em relação aos pacientes sem quimioterapia e aos controles. Isso evidencia comportamento diferente do HDL colesterol em relação ao LDL colesterol e triglicerídeos. O uso de medicações concomitantes é descrito como importante fator determinante do metabolismo lipídico.

Observamos que 72,7% do grupo de pacientes sem quimioterapia, utilizaram cloroquina. Nesses pacientes, observamos os menores níveis de HDL colesterol. Esses dados estão em desacordo com alguns autores que descreveram um efeito benéfico da cloroquina na dislipidemia em pacientes lúpicos, sugerindo elevação dos níveis de HDL colesterol, pelo aumento da síntese hepática da lipoproteína (Borba e Bonfa *et al.*, 2001). Observamos que 41,8% dos pacientes pertencentes ao grupo com quimioterapia utilizaram cloroquina. Essa medicação é associada à redução do LDL colesterol e triglicerídeos (Nuttal *et al.*, 2003; Wallace et al., 2001; Petri et al., 1994), sugerindo correlação negativa entre o uso da cloroquina e a presença de aterosclerose (Petri *et al.*, 1992).

Todos pacientes de ambos os grupos utilizavam corticóides, sendo que os pacientes do grupo I utilizavam em doses mais elevadas. O grupo I estava mais imunossuprimido do que o grupo II, devido ao uso da ciclofosfamida e metilprednisolona.

Alguns estudos sugeriram que o uso prolongado de corticóides, poderia acelerar a progressão da arterosclerose (Nuttall *et al.*, 2003;). A prednisolona aumentaria o colesterol total, HDL colesterol e LDL colesterol, especialmente quando a dose diária é superior a 30 mg/dia, mas poderia ter papel antiaterogênico em doses baixas (Svennungsson *et al.*, 2001).

Outro estudo observou que o colesterol HDL estava aumentado nos pacientes lúpicos que tomavam prednisona e com a doença inativa comparados com os que não tomavam prednisona e com a doença inativa, sugerindo uma associação entre o tratamento com prednisona e a elevação do HDL colesterol. (Sarkissian *et al.*, 2006)

Recente estudo realizado em coorte de 1060 pacientes portadores de LES demonstrou que elevados níveis de colesterol total associaram-se com sobrevida da função renal e aumento da mortalidade analisados pela curva de Kaplan-Meier (Tisseverasinghe *et al.*, 2006).

## 10.2. AVALIAÇÃO DA HOMOCISTEINA E FATORES TROMBOEMBOLITICOS

Não observamos diferenças dos níveis de homocisteína entre os dois grupos de pacientes estudados e em relação ao grupo controle. Apesar de não ter diferença significativa entre as associações, há tendência nos grupos com LES de apresentar maiores níveis plasmáticos de homocisteína.

Em geral, as associações de colesterol total, HDL, hipertensão arterial sistêmica e medidas da gordura corporal e a concentração de homocisteína não são muito fortes (Nygard *et al.*, 1995; Resfum *et al.*, 1998; De Bree *et al.*, 2002). A concentração de homocisteína é mais um fator trombogênico do que um fator aterogênico. Isso explicaria, em parte, porque existe fraca associação entre concentração de homocisteína e o risco de infarto agudo do miocárdio, já que o infarto agudo do miocárdio é devido a causas trombogênicas e aterogênicas. Tal fato explicaria que o primário efeito trombogênico da

homocisteína está associado com infarto agudo do miocárdio em pacientes com doença coronariana prévia (De Bree *et al.*, 2002).

Um estudo prospectivo demonstrou a associação entre a homocisteína e o risco de eventos trombóticos ao acompanhar por  $4,8 \pm 1,7$  anos, 337 pacientes lúpicos, onde foram dosadas a homocisteína plasmática no início do estudo, e realizadas uma dosagem a cada ano. Durante esse acompanhamento ocorreram 29 casos de AVC e 31 casos de eventos trombóticos, sendo que 15% desses pacientes apresentaram valores sanguíneos elevados de homocisteína com associação significativa com eventos trombóticos arteriais. Após ajustes para estabelecer os fatores de risco, a hiperhomocisteinemia mostrou ser um fator de risco independente para trombozes. O nosso estudo reforça esses dados de literatura, pois os pacientes lúpicos apresentaram maiores níveis de homocisteína, independente do tipo de tratamento instituído (Petri *et al.*, 1996)

Na avaliação dos fatores relacionados à trombogênese, em nosso estudo observamos que 16% dos pacientes do grupo I e 22,7% dos pacientes do grupo II, apresentaram baixos níveis da proteína C. Os níveis plasmáticos de proteína S apresentaram-se baixos em 28% dos pacientes do grupo I e 27% dos pacientes do grupo II. Os níveis plasmáticos de antitrombina III apresentaram-se reduzidos em 14% dos pacientes do grupo I e 13,6% do grupo II. O uso de anticoagulantes foi observado em 9,3% dos pacientes do grupo I e nenhum do grupo II.

Alguns autores examinaram a presença de fatores de risco tromboembólicos em pacientes com lúpus, com ou sem história de trombose, encontrando aumento não só nos níveis sanguíneos de homocisteína, bem como nos níveis dos anticoagulantes protéicos naturais, tais como proteína C e antitrombina III. No entanto, observaram aumento significativo dos níveis plasmáticos de proteína S não excluindo, porém o papel dessas proteínas na patogênese das trombozes (Afeltra *et al.*, 2005).

Nossos dados estão de acordo com um estudo realizado em pacientes lúpicos onde níveis de proteína C, proteína S e antitrombina III estavam predominantemente normais (Tomas *et al.*, 1998), embora outros autores tenham encontrado alterações desses anticoagulantes naturais (Roubey *et al.*,1994;Oosting *et al.*,1993). Um outro estudo sugeriu que o aumento da atividade da antitrombina III em pacientes lúpicos é secundário ao aumento da geração de trombina, podendo proteger esses pacientes de eventos tromboembólicos (Musial *et al.*, 1998).

### 10.3. AVALIAÇÃO DA PCR

Nos indivíduos estudados, observamos que os pacientes lúpicos apresentaram maiores níveis de PCR comparados com o grupo controle. Nos pacientes submetidos à quimioterapia com ciclofosfamida, os níveis de PCR ultrasensível se mostraram elevados e com significância estatística além de se correlacionarem positivamente com o índice de massa corporal. Esse resultado não foi observado nos pacientes sem quimioterapia. Tal achado pode ser explicado pelo fato de que, apesar dos pacientes do grupo I serem mais graves que os do grupo II, os primeiros estavam em tratamento quimioterápico há 7,1 meses, em média.

Alguns estudos sugerem papel da PCR no dano endotelial das placas ateroscleróticas *in vitro*, pelo depósito de citocinas e interleucinas na camada íntima. (Torzenski *et al.*, 1998;Torzenski *et al.*, 2000) Este importante papel na patogênese da arterosclerose é devido a sua propriedade ligante, participando na imunidade inata e na remoção do material das células necróticas. Outros autores sugerem que a PCR possa alterar a função endotelial por interferência com a biodisponibilidade do óxido nítrico e estímulo da endotelina –1 e, juntamente com o complexo complemento, pode induzir a expressão do fator tecidual pelos monócitos, participando da interação monócito-endotélio. (Pasceri *et al.*, 2000; Verma *et al.*, 2002). Outros autores demonstraram que a PCR pode alterar a vasodilatação endotelial, podendo ser preditiva de risco cardiovascular (Blake *et al.*, 2001).

Um estudo longitudinal de cinco anos em pacientes lúpicos, comparou a PCR, mas não observaram diferenças significativas ao longo do tempo ( Doria *et al.*, 2003).

Alguns estudos sugerem que a PCR possui um forte fator preditivo de futuros eventos vasculares, superior ao LDL colesterol. Utilizando análise multivariada, após ajuste dos fatores de risco tradicionais, essa vantagem persiste, estando presente, inclusive, tanto nos pacientes com terapia de reposição estrogênica como naqueles que não a fazem. Embora ocorra pequena correlação entre esses dois fatores , a avaliação de ambos se mostrou ser superior como método de detecção de risco, mais do que outro marcador biológico avaliado isolado (Ridker *et al.*, 2002). Observou-se, também, que a PCR se mantém como forte fator preditivo de risco em eventos cardiovasculares de acordo com o escore risco de Framingham em estimados 10 anos. (Bruce *at al.*, 2000 )

A inclusão da dosagem de PCR ultra sensível, aumenta o valor preditivo da avaliação global de risco em mulheres (Cooke *et al.*, 2006). No entanto, a maioria dos estudos avaliam indivíduos acima de 45 anos. Não existem estudos na faixa etária dos pacientes lúpicos, na terceira e quarta décadas de vida.

#### 10.4. AVALIAÇÃO DA LEPTINA

O nosso estudo mostra que tanto no grupo I, pacientes mais grave e em uso de ciclofosfamida e metilprednisolona, quanto no grupo II, a leptina estava aumentada, independente do valor do IMC, o que indica que o aumento de leptina independente da quantidade de tecido adiposo. Do ponto de vista de atividade inflamatória, o grupo I e II eram equivalentes, não apresentando diferença significativa entre a PCR-ultra e a leptina. O grupo I fazia uso de tratamento imunossupressor (1 a 12 meses, em media 7,2 meses) o que pode explicar esse resultado.

O aumento de leptina nos pacientes com LES foi descrito anteriormente em três estudos. Um estudo seccional demonstrou correlação entre a leptinemia, o SLEDAI e o IMC, porém sem associação com os níveis de PCR ultrasensível ou uso de corticóides (Kawai *et al.*, 1998). Esses achados foram confirmados em outro estudo onde após o

ajuste para o IMC, os níveis de leptina persistiram elevados em relação aos controles (Garcia Gonzáles *et al.*, 2002). Um outro estudo demonstrou maior leptinemia nos pacientes lúpicos em relação aos controles e sugeriu envolvimento da leptina na progressão da lesão renal (La Cava *et al.*, 2000).

Por outro lado, outros autores demonstraram que, em indivíduos hígidos, o nível de leptina apresenta correlação positiva com o nível de PCR ultra sensível, de forma independente de diversos fatores confundidores (Shamsuzzaman *et al.* 2004),. Esse grupo sugere que um dos mecanismos de ação da leptina seria pelo aumento da PCR ultra sensível. Um estudo demonstrou correlação entre PCR ultra sensível e citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-8 e MCP-1) (Asanuma *et al.* 2006). Aparentemente no paciente lúpico outros fatores influenciam nessa relação, tais como o uso de medicações (ciclofosfamida, corticosteróide e cloroquina).

Nesse estudo observamos que os níveis de leptina foram significativamente mais elevados nos pacientes lúpicos submetidos à quimioterapia, apesar dos IMC nos três grupos terem sido comparáveis. Na amostra estudada não constatamos correlação entre o índice de SLEDAI e os níveis de leptina nos grupos de pacientes submetidos ou não a quimioterapia. Tal fato pode ser justificado pelo efeito do tratamento rigoroso os quais esses pacientes foram submetidos. Na nossa amostragem não houve correlação entre o SLEDAI e a concentração de leptina sérica.

Alguns autores demonstraram maiores níveis de leptina em paciente lúpicos em relação aos controles, em associação com o IMC, além da associação entre atividade da doença e leptinemia, entretanto, não houve significado estatístico utilizando o valor do SLEDAI. (Garcia-Gonzalez *et al.*, 2002). Outros autores sugeriram o papel da leptina na patogênese do lupus, associando a leptinemia sérica com a evolução da doença renal (Briley & Szczech., *et al.*, 2006; Mirsra *et al.*, 2004 ).

Constatamos que os níveis de colesterol total, LDL e triglicérides foram mais elevados no grupo I, assim como os níveis de leptina, porém sem correlação estatisticamente significativa. Todavia, nos pacientes sem quimioterapia, constatamos correlação estatisticamente significativa entre leptina e colesterol total. Observamos ainda os menores níveis de LDL nesses pacientes, comparado com os demais grupos.

O estudo WOSCOPS (Wallace *et al.*, 2001) foi o primeiro estudo prospectivo em indivíduos hígidos que demonstrou que a leptina é um fator de risco independente para doença cardiovascular, sugerindo, pela análise multivariada, que esse parâmetro confere risco relativo para doença aterosclerótica semelhante aos fatores de risco clássicos. Contudo esse dado ainda não foi confirmado nos pacientes com LES.

O papel da Leptina na aterogênese talvez seja relacionado ao fato de tratar-se de um hormônio que age em receptores da classe dos JAK-TIROSINA – KINASE, pertencente também às citocinas. A interação entre a leptina e citocinas é desconhecida nos processos inflamatórios em paciente lúpicos. (Garcia Gonzáles *et al*, 2002)

Alguns autores sugerem que a leptina participe da cascata de ativação das citocinas no processo inflamatório (Palmer & Gabay.,2003), todavia a sua importância no desenvolvimento de vasculopatia no lúpus, permanece ainda obscuro. Um outro estudo sugeriu que o tratamento de um modelo animal com leptina, reduzir o grau de inflamação articular em ratos com artrite reumatóide (Palmer *et al.*, 2003).

Existem evidências em estudos de modelos *in vitro* e de animais de que a Leptina possui efeito proinflamatório, protrombótico e próaterosclerótico (Matarese *et al.*,2005; Konstantinides *et al.*, 2001;Bodary *et al.*, 2002; Schafer *et al.*, 2004). Estudos seccionais, correlacionam positivamente a leptina com os marcadores inflamatórios (Shamsuzzaman *et al.*,2004) e está correlacionada independentemente com a calcificação das coronárias (Reilly *et al.*, 2004). Essa associação próinflamatória da leptina foi confirmada em estudos prospectivos (Wannamethe *et al.*, 2006; Wallace *et al.*, 2001). Nos pacientes com LES

essa evidência ainda é mais escassa. Asanuma *et al.*(2006), mostraram haver correlação entre as citocinas próinflamatórias e calcificação coronariana. No entanto, ainda não existem estudos prospectivos para confirmar esse achado.

O nosso estudo sugere que a elevação dos níveis de Leptina em pacientes lúpicos ocorre de forma independente do IMC. Os pacientes pertencentes ao grupo com doença ativa e grave (grupo I) apresentaram maior leptinemia. Esse achado sugere que o processo inflamatório que ocorre no LES pode contribuir para a doença cardiovascular.

Nosso estudo sugere que a inclusão das dosagens de leptina e PCR ultra sensível na avaliação clínica de pacientes lúpicos poderá aumentar o valor preditivo de detecção precoce de Doença Arterial Coronariana. Desse modo, os indivíduos com risco para desenvolverem aterosclerose precoce poderão ser identificados. A inclusão desses dois exames na rotina de acompanhamento de pacientes lúpicos deve ser validada em estudos prospectivos.

## CONCLUSÃO

1- Na avaliação da presença dos fatores de risco aterotrombóticos tradicionais nos pacientes com LES, verificamos que os pacientes lúpicos mais graves submetidos a quimioterapia apresentam níveis significativamente mais elevados de colesterol, triglicérides e LDL colesterol em relação aos pacientes sem quimioterapia e ao grupo controle. Esses pacientes apresentavam lesão renal e faziam uso de doses elevadas de corticóides, demonstrando que o Lúpus Eritematoso Sistêmico é uma doença crônica onde o processo inflamatório e auto imune provavelmente contribuem para acelerar o processo arterosclerótico observado nestes pacientes.

2- Em nosso estudo observamos que os níveis de Leptina foram significativamente mais elevados nos pacientes lúpicos submetidos a quimioterapia, apesar dos IMC nos três grupos terem sido comparáveis. Na amostra estudada não constatamos correlação entre o índice de SLEDAI e os níveis de leptina nos grupos de pacientes submetidos ou não a quimioterapia. Tal fato pode ser justificado pelo efeito do tratamento rigoroso os quais esses pacientes foram submetidos. Na nossa população não houve correlação entre o SLEDAI e a leptina sérica.

3- Nosso estudo demonstrou que o grupo de pacientes lúpicos apresentou maiores níveis de PCR comparados com a população controle. Dentre os lúpicos o grupo em uso de ciclofosfamida apresentou níveis de PCR mais elevados.

4- Não observamos diferenças dos níveis de homocisteína entre os dois grupos de pacientes estudados e em relação ao grupo controle.

5- Na avaliação de fatores de risco trombogênicos, tais como níveis de Proteína C, Proteína S e Antitrombina III, Anti cardiolipina, os níveis plasmáticos apresentaram-se predominantemente normais nos dois grupos de pacientes lúpicos, sendo que os

pacientes do grupo I apresentaram valores alterados (proteína C, 16%, proteína S 28%, anticardiolipina IgM 6,9%, anticardiolipina IgG 11,6%, antitrombina 9,3 %).



## REFERÊNCIAS

- Abu-Shakra M, Urowitz M, Gladman D, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center. I. Causes of death. *J Rheumatol* 1995;22:1259-1264.
- Aderem A, Underhill DM. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:593-623.
- Alfetra A, Vadacca M, Conti L, Galluzzo S, Mitterhofer PA, Ferri MG, Del Porto F, Caccavo D, Gandolfo MG, Amoroso A. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: congenital and acquired risk factors. *Arthritis Rheum*. 2005;53:452-459.
- Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, Shitani A, Stanley E, Raggi P, Stein CM. Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *J Rheumatol* 2006;33:539 - 545.
- Badui E, Garcia-Rubi D, Robles E, Jimenez J, Juan L, Deleze M, Diaz A. Mintz Cardiovascular manifestations in systemic lupus erythematosus. *Angiology*.1985; 7: 431-441.
- Bynoe M, Grimaldi C, Diamond B. Estrogen up-regulates Bcl-2 and blocks tolerance induction of naive B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 ;97:2703-2708.
- Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res*. 2001; 89:763-771.
- Bodary PF, Westrick RJ, Wickenheiser HJ, Shen Y, Eitzan DT. Effect of leptin on arterial thrombosis following vascular injury in mice. *JAMA* 2002;287:1706-1709.
- Bombardier C, Gladman DD, Urowits MB, Caron D, Chang CH. Comittee on prognosis studies in sistemic lupus erythematosus. Derivation of the SLEDAI. *Arthritis Rheum* 1992;35: 630-640.
- Borba e Bonfa E. Longterm beneficial effect of chloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. *J. Reumatol* 2001;28:780-785.
- Briley LP, Szczech LA. Leptin and renal disease. *Semin Dial* 2006;19:54-59.
- Bruce IN, Urowitz MB, Ibanez D, Steiner G, Gladman DD. The prevalence of " Framingham risk factors" for coronary artery disease in women with SLE: a cohort control study. *Arthritis Rheum* 2000;43:246.

Campbell B, Badrick T, Flatman R, Kanowski D. Limited clinical utility of high-sensitivity plasma C-reactive protein assays. *Ann Clin Biochem* 2002;39:85-88.

Cooke PJ, Roberta KO. Does leptin cause vascular disease? *Circulation* 2002; 106:1904-1905.

Davidson A, Diamond B. Autoimmune Diseases, *N Engl J Med* 2001;345:340-350.

De Bree A. Homocysteine determinantes and evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev* 2002;54:599-618.

Delves JP, Roitt MI. The immune system - First of Two Parts. *N Engl J Med*, 2000;343:37-49.

Doria A, Shoenfeld Y, Wu R, Gambari PF, Puato M, Ghirardello A, Gilburd B, Corbanese S, Patnaik M, Zampieri S, Peter JB, Favaretto E, Laccarino L, Sherer Y, Todesco S, Pauletto P, Patnaik M, Zampieri S, Peter JB, Favaretto E, Laccarino L, Sherer Y. Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases*. 2003;11:1071-1077.

Esdaille JM, Abrahamowicz M, Grodzicky T, Li Y. Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2331-2337.

Farhey Y, Hess EV. Accelerated atherosclerosis and coronary disease in systemic lupus erythematosus. *Lupus*:1977;6: 572-577.

Folson AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, Davis C. Propective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation*. 1998; 98: 204-210.

Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *Arteriosclerosis Thromb*. 1993;13:1327-1333.

Garcia-Gonzalez A, Gonzalez-Lopez L, Valera-Gonzalez IC, Cardona-Munoz EG, Salazar-Paramo M, Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E, Gamez-Nava. Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2002;22:138-141.

Ginsberg JS, Wells PS, Brill-Ederards P, Donovan D, Moffatt K, Jonhston M. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood* 1995;86:3685-3691.

Greisman SG, Thayaparon RS, Goodwin TA, Lockshin MD. Occlusive vasculopathy in systemic lupus erythematosus. Association with anticardiolipin antibody. *Arch Intern Med* 1991; 151:389-392.

Harker LA, Ross R, Slitchter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *Clin Invest*. 1976;58:731-741.

Harris EN, Gharavi AE, Hughes GRV; Anti-phospholipid antibodies. *Clin Rheum Dis* 1985. 11;591-609.

Hawkins BR, Dawkins RL, Richmond J, Rigby RJ. Immunogenetic factors in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1979;22:94.

Jouhikainen T, Pohjola-Sintonen S, Stephansson E. Lupus anticoagulant and cardiac manifestations in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 1994;167-172.

Junzo N, Hirohiko K, Etsuji S, Yoshiaki F, Hachiro Y, Takashi M, Yoshinori I, Yuzuru K, Association between the Prevalence of Antibodies to  $\beta$ 2-Glycoprotein I, Prothrombin, Protein C, Protein S, and Annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. *Clin Chem* 2001; 47: 1008-1015.

Kabakov AE, Tertov VV, Saenko VA. The atherogenic effect of lupus sera: Systemic lupus erythematosus-derived immune complexes stimulate the accumulation of cholesterol in cultured smooth muscle cells from human aorta. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 63:214-220.

Kamradt T N, Avrion M. Tolerance and Autoimmunity. *N Engl J Med* 2001;344:655-664.

Kawai S, Kiyako K, Yu A, Kuwana M, Mirakata M, Kaburakj J, Mizushima Y. Elevated serum leptin levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1998; 41:247.

Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hunhes BJ, Hughes GR. The management of thrombosis in the anti phospholipid-antibody syndrome. *N. Engl J Med* 1995;332:993-997.

Konstantinides S, Schafer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptin- dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *J Clin Invest* 2001;108:1533–1540.

Kushner I. Regulation of the acute phase response by cytokines. *Perspect Biol Med* 1993;36;611-622.

La Cava, Fany M, Ebling. Jatinderpal K, Kalsi Bevra H. Serum leptin levels correlate with pathogenic autoimmunity in systemic lupus erythematosus. University of California Los Angeles 2000: <http://www.Abstractsonline.com/viewer/viewAbstractPrintFriendly.asp?>

Ledue T, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. Clin Chem. 2003 ;49:1258-1271.

Libby P, Ridker M, Maseri AP. Inflammation and Atherosclerosis Circulation. 2002; 105:1135-1143.

Lindsey NJ, Dawson RA, Henderson FI, Greaves, M. Hughes P. Stimulation of von Willebrand factor antigen release by immunoglobulin from thrombosis prone patients with systemic lupus erythematosus and the anti-phospholipid syndrome. Br J Rheumatol 1993;32:123-126.

Lonnqvist F, Nordfors L, Schalling M. Leptin and its potential role in human obesity. J Intern Med 1999 ;245:643-652.

Mackay RI. Tolerance and autoimmunity. BMJ 2000;321:93-96.

Machin SJ. Platelets and antiphospholipids antibodies. Lupus 1996;386-387.

Maisel A, Cesario D, Baird S, Rehman J, Haghghi P, Carter S. Experimental autoimmune myocarditis produced by adoptive transfer of splenocytes after myocardial infarction. Circ Res, 1998;82:458-463.

Manzi S, Wasko MC. Inflammation-mediated rheumatic diseases and atherosclerosis. Ann Rheum Dis. 2000;59:321-325.

Marelli-Berg FM, Lechler R. Antigen presentation by parenchymal cells: a route to peripheral tolerance? Immunol Rev. 1999;172:297-314.

Matarese G, Mochos S, Mantzoros CS. Leptin immunology. J Immunol 2005;173-3137-3142.

Mirsra A, Peethambaram A, Garg A. Clinical features and metabolic and autoimmune derangements in acquired partial lipodystrophy: report of 35 cases and review of the literature. Medice 2004;81:18-34.

McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CM, Krilis SA. Anti phospholipid antibodies are direct against a complex antigen that induces a lipid binding inhibitor of coagulation beta2-glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:4120-4124.

Mohamed K, Al-Obadidi, Philipou H, Stubbs J Peter, Adami A, Rajiv A, Noble M Mark. David e Lana. Homocysteine, Factor VIIa, and Thrombin Generation in Acute Coronary syndromes. *Circulation*.2000;101:372-377.

Mok CC, Wong RW, Lai KN. Treatment of severe proliferative lupus nephritis: the current state. *Ann Rheum Dis* 2003;62:799-804.

Musial J, Swadzba J, Szczeklik A. Adaptative mechanisms counterbalancing enhanced thrombinogenesis in antiphospholipid syndrome. *Thromb Res* 1998;90:93–94.

Naparstek Y, Plotz PH. The role of autoantibodies in autoimmune disease. *Ann Rev Immunol* 1993; 11:79-104.

Nepom GT. Major histocompatibility complex-directed susceptibility to rheumatoid arthritis. *Adv Immunol*,1998;68:315-332.

Nygaard O. Total Plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Homocysteine study. *J Am Med Assoc* 1995;274:1526-1533.

Nuttall SL, Heaton S, Piper MK, Martin U, Gordon C. Cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus-evidence of increased oxidative stress and dyslipidemia. *Rheumatology*. 2003;42:758-762.

Oosting JD, Derksen RA, Bobbink IW, Hackeng TM, Bouma BN. de Groot, PG. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism? *Blood* 1993;81:2618-2625.

Palmer G, Gabay C. A role for leptin in rheumatc diseases? *Ann Rheum Dis* 2003;62:913-915.

Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system *Lancet* 2001;357:1777-1789.

Pasceri V, Underhill DM. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev. Immunol*. 1999;17:593-623.

Petri M, Perez-Gutthann S, Spence D, Hochberg MC. Risk factors for coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med*. 1992 ;93:513-519.

Petri M, Lakatta C, Madger L. Goldman D. Effect of prednisone and hydroxychloroquine on coronary artery disease risk factore in systemic lupus erythematosus: a logitudinal data analysis *Am J Med*, 1994; 96:254-259.

Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, Rosenberg IH. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1996;348:1120-1124.

Rahimi N, Saulnier R, Nakamura T, Role of hepatocyte growth factor in breast cancer: a novel mitogenic factor secreted by adipocytes. *DNA Cell Biol* 1994;13:1189-1197.

Reilly MP, Iqbal N, Schutta M, Wolfe ML, Scally M, Localio AR, Rader DJ, Kimmel SE. Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 ;89:3872-3878.

Resfum H. Homocysteine and cardiovascular disease. *Ann Rev Med* 1998;49:31-62.

Ridker M P, Hennekens HC, Jacob S, Joseph P, Miletich PJ, Malinow MR, Stempfer MJ. Interrelation of Hyperhomocysteine, Factor V Leiden, and Risk of Future Venous Thromboembolism *Circulation*, 1997;95:1777-1782.

Roubey RA. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. *Blood* 1994;84:2854 –2867.

Ross R. Artherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340;115-126.

Savill J. Recognition and phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *British medical bulletin*. 1997;53:491-508.

Sarkissian T, Beyenne J, Feldman B, Adeli K, Silverman E. The Complex Nature of the Interacion Between Disease Activity and Therapy on the Lipid Profile in Patients With Pediatric Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 2006;54: 1283-1290.

Sella E, Sato E. Avaliação de fatores de risco coronário e dor torácica em lúpus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol* 2002;42:160-168.

Schafer K, Halle M, Goeschen C. Leptin promotes vascular remodeling and neointimal growth in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:112-117.

Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. Duration of Anticoagulation Study Group. *Am J Med*.1998;104; 4:332-328.

Shamsuzzaman AS, Winnicki M, Wolk R. Independent association between plasma leptin and C reactive protein in healthy humans. *Circulation* 2004; 109:2181-2185.

Souza A, Hatta F, Miranda F, Sato E. Atherosclerotic plaque in carotid arteries in systemic lupus erythematosus: frequency and associated risk factors. *Sao Paulo Med J.* 2005;123:137-142.

Svenungsson E, Jensen-Urstad K, Heimbürger M, Silveira A, Hamsten A, Faire U, Witztum JL, Frostegard J. Risk factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Circulation* 2001;104:1887-1893.

Tan E, Cohen M AS, Fries JF. The 1982 revised criteria for the classification of SLE. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271–1277.

Thiagarajan P. Atherosclerosis, autoimmunity, and systemic lupus erythematosus. *Circulation.* 2001;104 :1876-1877.

Tisseverasinghe A, Lim S, Greenwood C, Urowitz M, Gladman D, Fortin PR. Association between serum total cholesterol level and renal outcome in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006 ;54:2211-2219.

Todd JA. From genome to aetiology in a multifactorial disease, type 1 diabetes. *Bioessays.* 1999;21:164-174.

Tomas JF, Alberca I, Tabernero MD, Cordero M, Del Pino-Montes J, Vicente V. Natural anticoagulant proteins and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.*1998;25:57–62.

Torzewski J, Torzewski N, Bowyer DE, Frohlich M, Koeing W, Waltenberger J, Fitzsimmons C, Hombach V. C- reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18: 1386-1392.

Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, Zwaka TP, Bienek M, Waltenberg J, Koenig W, Schimitz G, Hombach V, Torzewski J. C- reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc /biol.* 2000;20 :2094-2099.

Toshi V, Gallo R, Lettino M, Fallon JT, Gertz SD, Fernandez-Ortiz A, Chesebro JH, Badimon L, Nemerson Y, Fuster V, Badimon JJ. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation.* 1997;95:594-599.

Urowitz M, Bookman A, Koehler B, Gordon D, Smythe H, Ogryzlo M. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med*1976;60:221-225.

Vaarala O. Atherosclerosis in SLE and Hughes syndrome. *Lupus* 1997;6:489-490.

Volpini W, Tambascia A. General mechanisms of immunologic tolerance autoimmunity Arq. Bras. Endocrinol. Metab 1996;40:14-22.

Von Eckardstein A, Malinow MR, Upson B, Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assumann G. Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocyst(e) inemia as a cardiovascular risk factor in men. Artheroscler Thromb. 1994;14:460-464.

Zhang Y, Proença R, Maffei M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature 1994;372:425-432.

Zeng X, Dai J, Remick DG, Wang X. Homocysteine Mediated Expression and Secretion of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Interleukin-8 in Human Monocytes. Circ Res 2003; 93: 311 - 320;

Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). Circulation 2001; 104:3052-3056.

Walters M, Mertens I, Considine R, De Leeuw I, Van Gaal L. Are Leptin levels dependent on body fat distribution in obese men and women? Eat Weight Disord. 1998;3:124-130.

Wannamethee SG, Tchernova J, Whincup P, Lowe GD, Kelly A, Rumley A, Wallace AM, Sattar N. Plasma leptin: associations with metabolic, inflammatory and haemostatic risk factors for cardiovascular disease. Atherosclerosis.2006; (aceito para publicação).

## ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

***Estudo: Avaliação de fatores de risco atero-trombótico em pacientes portadores de Lupus Eritematoso Sistêmico***

*Orientador do projeto: Prof. Dr. Leopoldo Luiz dos Santos Neto*

*Responsável pela execução do projeto: Sandra Santana Soares Costa*

*Local de realização do estudo: Ambulatório de Reumatologia do HUB*

As informações abaixo descreverão o protocolo de estudo para o qual você está convidado a participar. O médico pesquisador poderá esclarecer todas as suas dúvidas que você tiver a respeito do estudo e da carta. Por favor, leia cuidadosamente e não deixe de perguntar qualquer coisa, que você considerar necessária sobre as informações fornecidas a seguir.

O Lupus é uma doença auto-imune que pode apresentar múltiplas manifestações clínicas. O acometimento pode ser restrito à lesões na pele ou pode apresentar comprometimento sistêmico (Lupus Eritematoso Sistêmico). Apesar dos uso de medicamentos controlarem a grande maioria dos casos, tem sido observado aumento significativo dos episódios de doenças cardiovascular (infarto e acidente vascular cerebral) após 2 ou 3 décadas do término do tratamento.

Estudaremos os fatores relacionados ao desenvolvimento da Aterosclerose, um importante fator no desenvolvimento das doenças cardio-vasculares. Para isso será obtido uma única amostra de sangue venoso em jejum.

O resultado desses exames serão apresentados pelo seu médico e anexados ao prontuário.

Apenas os pesquisadores e médicos terão acesso aos seus dados confidenciais. Você não será identificado em nenhum relatório ou publicação resultante deste estudo.

Se em qualquer momento você decidir não participar do protocolo, notifique o médico responsável de imediato. Lembre-se que a participação neste protocolo é voluntária, portanto, você poderá recusar-se a participar, sem penalidades ou perda de benefícios que você tenha direito.

A equipe de Reumatologia do HUB será responsável pelo seu acompanhamento durante todo o período de tratamento da sua doença.

Declaro que li e entendi esta carta e que todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Estando esclarecido sobre os objetivos do estudo e sobre minha colaboração, concordo, de livre e espontânea vontade, em participar do estudo.

Local e data:

Nome:

Assinatura do paciente:

Assinatura do responsável

Assinatura do médico:

## ANEXO 2- ITENS DE IDENTIFICAÇÃO

### ITENS DE IDENTIFICAÇÃO

**Título:** Adequado

**Comentários:**

**Autor(es):** Adequado(s)

**Comentários:**

Trata-se de um projeto de mestrado, a ser realizado pela farmacêutica-bioquímica Sandra Santana Soares Costa, sob a orientação do Prof. Leopoldo Luiz dos Santos Neto.

**Local de origem na instituição:** Adequado  Ausente

**Comentários:**

Os sujeitos serão recrutados dentre os pacientes do Serviço de Reumatologia do HUB e os exames serão feitos no Laboratório Sabin de Análises Clínicas.

**Projeto elaborado pelo patrocinador:** Não  Sim  Não informado

**Comentários:**

A farmacêutica-bioquímica Sandra Santana Soares Costa é Diretora Técnica do Laboratório Sabin de Análises Clínicas.

**Aprovação no local de origem:** Não necessita  Anexo ao projeto

**Comentários:**

A pesquisa foi autorizada pelo Sr. Diretor do HUB. Os exames laboratoriais serão feitos no Laboratório Sabin de Análises Clínicas.

**Local de realização:**

**Outras instituições envolvidas:** Não  Sim  Projeto multicêntrico

**Outros comentários sobre os itens de identificação:**

## ITENS DE IDENTIFICAÇÃO

**Título:** Adequado

**Comentários:**

**Autor(es):** Adequado(s)

**Comentários:**

Trata-se de um projeto de mestrado, a ser realizado pela farmacêutica-bioquímica Sandra Santana Soares Costa, sob a orientação do Prof. Leopoldo Luiz dos Santos Neto.

**Local de origem na instituição:** Adequado  Ausente

**Comentários:**

Os sujeitos serão recrutados dentre os pacientes do Serviço de Reumatologia do HUB e os exames serão feitos no Laboratório Sabin de Análises Clínicas.

**Projeto elaborado pelo patrocinador:** Não  Sim  Não informado

**Comentários:**

A farmacêutica-bioquímica Sandra Santana Soares Costa é Diretora Técnica do Laboratório Sabin de Análises Clínicas.

**Aprovação no local de origem:** Não necessita  Anexo ao projeto

**Comentários:**

A pesquisa foi autorizada pelo Sr. Diretor do HUB. Os exames laboratoriais serão feitos no Laboratório Sabin de Análises Clínicas.

**Local de realização:**

**Outras instituições envolvidas:** Não  Sim  Projeto multicêntrico

**Outros comentários sobre os itens de identificação:**

## PACIENTES E MÉTODOS

**Delineamento:** Adequado  Não adequado

**Comentários:**

Em linhas gerais, o método é bem detalhado. Falta, entretanto, especificar o volume de sangue que será colhido de cada paciente.

**Tamanho da amostra:** Adequada  Não adequada

**Comentários:**

**Participantes pertencentes a grupos especiais:** Não  Embrião/feto

Menores de 18 anos  Portador de deficiência mental  Estudantes

Gestantes  Militares  Religiosos  Presidiários

Funcionários da Instituição  Outros vínculos de dependência

**Critérios de inclusão/exclusão:** Adequados

**Comentários:**

Critérios de inclusão:

1. Pacientes com idade superior a 15 anos, de ambos os sexos.
2. Que preencham os critérios da Sociedade Norte-Americana de Reumatologia. Estes critérios não estão relacionados no projeto.

Não há especificação de critérios de exclusão, presumivelmente serão excluídos os pacientes que não se enquadrarem nos anteriormente citados como de inclusão.

Não há referências a mulheres gestantes.

**Relação risco-benefício:** Adequado  Não apresentada  Não se aplica

**Comentários:**

O reconhecimento dos fatores de risco para aterosclerose precoce, como a hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica e duração do uso de corticóides é importante para que se possa reduzir os riscos de doença arterial coronariana nos pacientes com lupus eritematoso sistêmico. De acordo com os autores, ainda não foi realizado nenhum estudo com leptina, proteína C ultrasensível, homocisteína, proteína C, proteína S e antitrombina III como identificação de fatores de risco no lupus eritematoso sistêmico.

**Uso de placebo:** Não utiliza

**Comentários:**

**Período de suspensão do uso de drogas (*wash out*):** Não utiliza

**Comentários:**

**Monitoramento da segurança e dados:** Adequado  Não se aplica

**Comentários:**

Não há referências a respeito.

**Avaliação dos dados:** Adequados-quantitativamente  Adequados-qualitativamente

**Comentários:**

Não há nenhuma referência à análise estatística dos dados que serão obtidos.

**Privacidade e confidencialidade:** Adequada  Não se aplica

**Comentários:**

Há a garantia de que os dados serão confidenciais e que os sujeitos da pesquisa não serão identificados em nenhum relatório ou publicação que resulte do estudo.

**Termo de consentimento livre e esclarecido:** Adequado  Não se aplica

**Comentários:**

1. De um modo geral está adequado, entretanto, devem ser utilizados termos mais simples; procurar substituir “aterotrombose”, “esquemas terapêuticos”, “doença autoimune”.
2. Tendo em vista que há previsão de pacientes com menos de 18 anos no estudo, deve haver um termo de consentimento livre e esclarecido para ser assinado também pelo responsável pelo(a) menor.
3. Falta explicitar que qualquer complicação advinda do procedimento será atendida pelos pesquisadores.

**Adequação às normas e diretrizes:**

Sim

Não

**Outros comentários sobre pacientes e métodos:**

Não há referências à exclusão ou não de pacientes grávidas.

**Cronograma:**

Adequado

Ausente

**Comentários:**

**Orcamento: :**

Adequado

Não se aplica

**Fonte de financiamento externa:**

Não

Patrocínio privado

Agência de fomento

Outras fontes

Não informado

**Outros comentários sobre cronograma e orçamento:**

Falta o cronograma da pesquisa.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

Adequadas

Ausentes

**Comentários:**

**COMENTÁRIOS FINAIS SOBRE O PROJETO:**

A pesquisa em questão está de acordo com as disposições da R-CNS 196/96 e nosso parecer é favorável à sua aprovação pelo CEP-FM, desde que atendidas as seguintes pendências:

1. Devem ser acrescentadas as informações que faltam sobre os métodos da pesquisa: especificar o volume de sangue que será colhido de cada paciente; explicitar como será feita a análise estatística dos dados obtidos.
2. Detalhar os critérios de inclusão/exclusão e a situação de pacientes grávidas.
3. Adequar o termo de consentimento livre e esclarecido.
4. Acrescentar o cronograma da pesquisa.
5. Dar a garantia de que os resultados da pesquisa serão divulgados publicamente.

**RECOMENDAÇÃO:**

Aprovar

Reencaminhar aos autores

Não aprovar

### ANEXO 3 – FICHA DE COLETA DE DADOS



#### FICHA DE COLETA DE DADOS (LES)

NOME:.....REG.....

SEXO: Masc  Fem  PROFISSÃO:.....IDADE.....

ENDEREÇO:.....FONE:.....

ESCOLARIDADE: Fundamental 4 anos:  Secundário 8 anos :  Superior:

TEMPO DE DOENÇA..... TEMPO DE DIAGNÓSTICO.....

#### 4. SISTEMAS PREVIAMENTE COMPROMETIDOS

Pele:  Articulações:  Mucosa:  Rim:  Pulmão:  Coração:

Hematológico:  SNC:  SNP:  Vasos:  Ap Digestivo:

#### SINTOMAS INICIAIS (HPP):

Febre:  Emagrecimento:  Anorexia:  Edema:

Eritema facial:  Lupus discóide:  Lupus subagudo:

Fotossensibilidade:  Alopecia:  Úlcera oral:  Livedus reticularis:

Poliartrite:  Oligoartrite:  Rigidez matinal : $\geq$ 1 hora

Derrame pleural:  Infiltrado pulmonar:  Derrame pericárdico:

Vasculite:  Raynaud:  PA Diastólica: $\geq$ 90  Diarréia:

Trombocitopenia  Leucócitos  $\leq$ :3000  Anemia hemolítica:

Convulsão:  AVC:  Coreia  Alterações psiquiátricas:  Polineuropatia:

Outros:

#### INÍCIO DA DOENÇA (HPP):

Agudo:  Insidioso:

### EXAMES SUBSIDIÁRIOS INICIAIS :

FAN  $\geq 1/80$ :  Anti-DNA:  Sm  $\geq 200$   RNP  $\geq 200$   Ro  $\geq 200$   La  $\geq 200$   Crio:

Anticardiolipina  $\geq 20$  mg  Coombs direto:  C3  $< 70$  mg/dl  C4  $< 10$  mg/dl

Creatinemia  Clearance de creatinina  ,

#### Urina

proteinúria (mg/24 h)  hematúria  $\geq 5$ /campo  C.hialinos  $\geq 5$ /campo  C.granulosos  $\geq 5$ /campo

### ALTERAÇÕES CLÍNICAS NO CURSO EVOLUTIVO DA DOENÇA:

#### SISTEMAS COMPROMETIDOS::

Pele:   Articulações:   Mucosa:   Rim:   Pulmão:   Coração:

Hematológico:   SNC:   SNP:   Vasos:   Ap digestivo:

#### SINTOMAS E SINAIS

Febre:  Edema:   
Eritema facial:  Lupus discóide:  Lupus subagudo:  Livedus reticularis:   
Fotossensibilidade:  Alopecia:  TGP:  $\geq 150$ :   
Poliartrite:  Oligoartrite:  Rigidez matinal:  $\geq 1$  hora:  Úlcera oral:   
Hematúria:  $\geq 5$   Piúria:  $\geq 5$   Proteinúria:  $\geq 500$  mg  Creatinina:  $\geq 1,2$    
Derrame pleural:  Infiltrado pulmonar:   
Derrame pericárdico:  Vasculite:  Raynaud:  PA Diastólica:  $\geq 90$    
Púrpura:  Leucócitos:  $\leq 3000$   Anemia hemolítica:   
Convulsão:  AVC:  Coreia:  Alterações psiquiátricas:  Polineuropatia:

TGP:  $\geq 15$

Diarréia:

Outros:

**ALTERAÇÕES COMPLEMENTARES EVOLUTIVAS**  
ANO

Atenção: Marcar 1 (SIM) ou 0 (NÃO) nos campos.

DATA																				
FAN+																				
FAN-																				
DNA+																				
DNA-																				
C3<70																				
C4<10																				
CRIO+																				
CRIO-																				
APLS+																				
APLS-																				
Sm																				
RNP																				
Ro																				
La																				
Coombs+																				

DIAGNÓSTICOS SINDRÔMICOS E ACHADOS COMPLEMENTARES ESPECIAIS:

ALTERAÇÃO	INÍCIO	TÉRMINO	INÍCIO	TÉRMINO	INÍCIO	TÉRMINO
Sind Nefrítica						
Sind Nefrótica						
Pleurisia						
Pericardite						
Poliartrite						
Convulsão						
AVC						
Polineuropatia						
Psiquiátrica						
Discóide						
Púrpura						
Anemia Hemolítica						
Vasculite						
Creatinina $>1,2$						
PA diastólica $\geq 90$						
Hematúria $\geq 5$						
Proteinúria $\geq 500$ mg						
Cilindro hialino $\geq 5$						
Cilindro granuloso $\geq 5$						
TGP $\geq 150$						

Diarréia						
----------	--	--	--	--	--	--

HISTOPATOLÓGICO

Data:

Atenção: Marcar 1 (SIM) ou 0 (NÃO) nos campos.

Classe I      Ia      ①  
                 Ib      ②

Classe II     Iia     ③  
                 Iib     ④

Classe III    IIIa.....⑤  
                 IIIb     ⑥  
                 IIIc     ⑦

Classe IV    IVa     ⑧  
                 IVb     ⑨  
                 IVC     ⑩  
                 IVd     ①①

Classe V     Va      ①②  
                 Vb      ①③  
                 Vc      ①④  
                 Vd      ①⑤

Classe:

Índice de atividade     

Índice de cronicidade   

4.6.1. Co-morbidades


--

**Atenção: Marcar 1 (SIM) ou 0 (NÃO) nos campos.**

**TRATAMENTO**

DROGA	CLÍNICA	INÍCIO	TÉRMINO	INÍCIO	TÉRMINO	INÍCIO	TÉRMINO
P 1 mg/kg	Nefrite						
	Pleurite						
	Vasculite						
	SNC						
	PTI						
	SNP						
P 5-10 mg/dia eventual	Pele						
	Poliartrite						
	Outras						
MP 30 mg/m <sup>2</sup>	Nefrite						
	Pleurite						
	Vasculite						
	SNC						
	PTI						
	SNP						
MP 30 mg/m <sup>2</sup> eventual	Pele						
	Poliartrite						
	Outras						
CY 0,5-1g/m <sup>2</sup>	Nefrite						
	Pleurite						
	Vasculite						
	SNC						
	PTI						
	SNP						
CY 0,5-1g/m <sup>2</sup>	Pele						
	Outras						
AZ 2 mg/kg	Nefrite						
	Pleurite						
	Vasculite						
	SNC						
	PTI						
	SNP						
AZ 2 mg/kg	Pele						
	Outras						
MTX 10-20 mg/sem	Poliartrite						
	Pele						
CLQ 4 mg/kg	Pele						
	Poliartrite						
TAL	Pele						
DAPSONA	Pele						
ENALAPRIL	HA						
HCZIDA	HA						
AMILODIP	HA						
NIFEDIPINA	HA						
METDOPA	HA						
CLONIDINA	HA						
CUMA	Trombose						

Atenção: Marcar 1 (SIM) ou 0 (NÃO) nos campos.

## QUADRO CLÍNICO ATUAL

Data da coleta das informações :  /  /

### SISTEMAS COMPROMETIDOS::

Pele:  Articulações:  Mucosa:  Rim:  Pulmão:  Coração:

Hematológico:  SNC:  SNP:  Vasos:  Ap digestivo:

### SINTOMAS E SINAIS

Febre:  Edema:  Rash recente  Raynaud:

Eritema facial:  Lupus discóide:  Lupus subagudo:  Paniculite:

Fotossensibilidade:  Alopecia:  Livedus reticularis:  Úlcera oral:

Poliartrite:  Oligoartrite:  Rigidez matinal  $\geq 1$  hora:  Artralgia:

Hematúria:  $\geq 5$   Piúria:  $\geq 5$   Proteinúria:  $\geq 500$  mg  Creatinina

Cilindros hemáticos ou céreos  Derrame pleural:  Infiltrado pulmonar:

Derrame pericárdico:  Vasculite:  Dor pleurítica  PA diastólica:  $\geq 90$

Plaquetas  $\leq 100.000$ :  Anemia hemolítica:

Leucócitos  $\leq 3000$ : (descartado medicamento  Coreia  Polineuropatia:

TGP  $\geq 150$ :  Diarréia:  Síndrome orgânica cerebral  Distúrbios visuais

Pericardite  Convulsão:  AVC:  Psicose

4.7. Distúrbios dos pares craniais s Cefaléia lúpica  Mieloma e

Peso ,  Altura

### ALTERAÇÕES COMPLEMENTARES

FAN:  Anti-DNA:  Sm:  RNP:  Ro:  La:  Crio:

: Anticardiolipina  Coombs direto:  C3  $< 70$   C4  $< 10$



--

**Atenção: Marcar 1 (SIM) ou 0 (NÃO) nos campos.**

## ANEXO 4 - SLEDAI - Índice de atividade de doença em pacientes com LES.

peso	Intercorrência	Definição
8	<input type="checkbox"/> Convulsão	Início recente, excluindo-se outras causas - (metabólica, infecciosa, uso de drogas, etc..)
8	<input type="checkbox"/> Psicose	Distúrbio grave na percepção da realidade : alucinações, incoerências, pensamento ilógico, bizarro e desorganizado, comportamento catatônico. Excluir uremia e uso de drogas.
8	<input type="checkbox"/> Síndrome orgânica cerebral	Função mental alterada com comprometimento da orientação, memória e outras funções intelectuais, com início rápido e flutuações do quadro clínico. Inclui turvação da consciência com redução da capacidade de concentração, distúrbio da percepção, incoerência na fala, insônia ou hipersonia diurna, com aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou uso de drogas
8	<input type="checkbox"/> Distúrbios visuais	Modificações retinianas do LES: presença de corpos citóides, hemorragias retinianas , exsudatos serosos ou hemorrágicos da coroíde ou neurite óptica. Excluir hipertensão, infecção ou uso de drogas
8	<input type="checkbox"/> Distúrbios dos pares cranianos	Neuropatia sensitiva ou motora envolvendo pares cranianos
8	<input type="checkbox"/> Cefaléia lúpica	Cefaléia intensa persistente Pode ser do tipo vascular mas não responde aos tratamentos habituais.
8	<input type="checkbox"/> A.V.C.	Acidente vascular cerebral (A.V.C.) de acometimento recente. Excluir aterosclerose
8	<input type="checkbox"/> Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos digitais dolorosos, infartos peniungueais, hemorragias subungueais, biópsia sugestiva de vasculite.
4	<input type="checkbox"/> Artrite	Mais de duas articulações acometidas, com dor e sinais flogísticos (calor, rubor e edema).
4	<input type="checkbox"/> Miosite	Mialgia ou fraqueza proximal, associada a elevação da creatinofosfocinase, aldolase, ou eletromiografia ou biópsia muscular sugestivas.
4	<input type="checkbox"/> Cilindrúria	Cilindros hemáticos ou céreos no sedimento urinário.
4	<input type="checkbox"/> Hematúria	Mais de cinco hemácias por campo no sedimento urinário. Excluir litíase, infecção e outras causas.
4	<input type="checkbox"/> Proteinúria	Mais de 0,5g em 24 horas ou aumento de mais de 0,5g/24h em relação a contagens basais.
4	<input type="checkbox"/> Piúria	Mais de cinco leucócitos por campo no sedimento urinário. Excluir infecção.
2	<input type="checkbox"/> Novo "rash" cutâneo	"Rash" do tipo inflamatório de início recente ou recorrente
2	<input type="checkbox"/> Alopecia	Alopecia difusa ou localizada de início recente ou recorrente
2	<input type="checkbox"/> Úlceras mucosas	Úlceras orais ou nasais de início recente ou recorrente
2	<input type="checkbox"/> Pleurite	Dor pleurítica com atrito, derrame ou espessamento pleural
2	<input type="checkbox"/> Pericardite	Dor pericárdica com pelo menos um dos componentes: atrito ou derrame
2	<input type="checkbox"/> Complemento baixo	Diminuição do C3, C4 ou CH50
2	<input type="checkbox"/> Anti-DNA	Aumento de 25% acima dos valores de referência.
1	<input type="checkbox"/> Febre	>37, 7°C. Excluir infecção.
1	<input type="checkbox"/> Trombocitopenia	< 100 000 plaquetas/mm <sup>3</sup>
1	<input type="checkbox"/> Leucopenia	< 3000 leucócitos/mm <sup>3</sup> . Excluir efeito de drogas

### FICHA DE COLETA DE DADOS SLEDAI

NOME ..... DATA.....

Obs : Considerar os dez dias anteriores à avaliação na definição das intercorrências

TOTAL DE PONTOS – SLEDAI:.....

**ANEXO 5 – DISTRIBUIÇÃO DAS CO-MORBIDADES NOS PACIENTES LÚPICOS.**

<b>Co-morbidades</b>	<b>Grupo I (n=43) %</b>	<b>Grupo II (n=22) %</b>
HAS	32,5	4,5
Tabagismo	4,6	4,5
Tireoidite de Hashimoto	6,9	0
Depressão	2,3	0
Síndrome de Cushing iatrogênico	4,6	0
Catarata Sub Cápsular posterior	2,3	0
Mielite Transversa	2,3	0
Paraplegia	2,3	0
Abcesso medular de cauda eqüina	2,3	0
Psicose	2,3	0
Distúrbios Visuais	4,6	0
Síndrome Orgânica Cerebral	4,6	0
Pancreatite	2,3	0
Adenopatia Trombocitopênica	4,6	0
Vasculite Mesentérica	6,9	0
Mononeurapatia múltipla	2,3	0
Liquem Plano	2,3	0
Doença Mista do Tecido Conjutivo	2,3	0
Miosite	2,3	0
Trombose Venose Profunda	2,3	0
Urticária	2,3	0
Síndrome de Sjogren	2,3	4,5
Pneumopatia Intersticial inespecífica	4,6	0
Vasculite SNC	2,3	0
Trombocitopenia	6,9	0
Vasculite leucocitoclastica	0	4,5
Fibromialgia	0	4,5
Taquicardia Nodal	0	4,5

Asma	0	4,5
Nefrolitíase	0	4,5
VDRL	***	4,5
Teníase	0	4,5
Glomerulonefrite	100	4,5
Epilepsia	0	4,5
Anemia Hemolítica	0	4,5
Trombose Parcial da Cava Inferior	0	4,5
Pneumopatia Intersticial	0	4,5

## ANEXO 6: DESCRIÇÃO DE MEDICAÇÕES CONCOMITANTE EM PACIENTES COM LES.

<b>Medicamentos</b>	<b>Grupo I (n=43)%</b>	<b>Grupo II (n=22)%</b>
Ácido Fólico	18,6	4,5
Alprazolam	2,3	0
Amilodipina	11,6	4,5
Amitriptilina	6,9	9
Artrosil /Lisinato de Cetoprofeno	2,3	0
Azatioprina	2,3	4,5
Alendronato	0	4,5
Captopril	20,9	22,7
Carbamazepina	2,3	0)
Carbonato de Cálcio	4,6	13,6
Cefalexina	2,3	9
Cetoconazol	2,3	0
Ciclobenzaprida	0	9
Complexo B	13,9	18,1
Daflezecor	2,3	0
Cloroquina	44,1	72,7
Gestodeno + etinil estradiol	0	4,5
Enalapril	18,6	9
Fenobarbital	2,3	4,5
Furosemida	20,9	13,6
Hidroclorotiazida	6,9	9
Indapamida	2,3	4,5
Levotiroxina	6,9	0
Femprocumona	0	4,5
Warfarina	0	13,6
Metildopa	2,3	0
Metilprednisolona	100	0
Metotrexate	0	(18,1)
Naproxeno	0	(4,5)
Hidróxido de Ferro	0	(4,5)

Natrilix	0	(4,5)
Nifedipina	2,3	(9)
Omeprazol	2,3	(4,5)
Polivitaminas	2,3	(0)
Prednisona	86,0	(63,6)
Propranolol	4,6	(9)
Levotiroxina	6,9	(0)
Ranitidina	16,2	(9)
Sulfato Ferroso	6,9	(9)
Talidomida	2,3	(4,5)
Carbamazepina	2,3	(0)
Amitriptilina	6,9	(0)
Rofecoxib	2,3	(0)