



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIANA SOUZA PESSOA DE LUNA

**AVALIAÇÃO DO FATOR ANTINUCLEAR (FAN HEp-2) EM PACIENTES COM
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO COM E SEM ATIVIDADE DA DOENÇA.**

Recife

2019

MARIANA SOUZA PESSOA DE LUNA

**AVALIAÇÃO DO FATOR ANTINUCLEAR (FAN HEp-2) EM PACIENTES COM
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO COM E SEM ATIVIDADE DA DOENÇA.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde

Orientadora: Prof^a Dr^a Claudia Diniz Lopes Marques

Coorientador: Prof^o Dr^o Henrique de Ataíde Mariz

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

L961a Luna, Mariana Souza Pessoa de
Avaliação do fator antinuclear (FAN-HEP2) em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico com e sem atividade da doença / Mariana Souza Pessoa de Luna. - 2019.
81 f.; il.

Orientadora: Claudia Diniz Lopes Marques.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Lúpus Eritematoso Sistêmico. 2. Autoanticorpos. 3. Anticorpos antinucleares. I. Marques, Claudia Diniz Lopes (orientadora). II. Título.

610 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2020-118)

MARIANA SOUZA PESSOA DE LUNA

**AVALIAÇÃO DO FATOR ANTINUCLEAR (FAN HEp-2) EM PACIENTES COM
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO COM E SEM ATIVIDADE DA DOENÇA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em : 28/08/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Claudia Diniz Lopes Marques (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Ângela Luzia Branco Pinto Duarte (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^o. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Andréa Tavares Dantas (Examinadora Externa)

Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por sempre se fazer presente.

À Rodrigo, pelo companheirismo e amor de todos os dias.

Ao meu pai por me inspirar na vida e na Reumatologia.

À minha mãe pelo exemplo de vida acadêmica, pela imensa ajuda na elaboração desse trabalho e por estar sempre ao meu lado, em todos os momentos.

Aos amigos que fazem o serviço de Reumatologia do HC/UFPE por todo aprendizado desde a época da residência médica.

Aos colegas da pós-graduação, pelo crescimento compartilhado.

Aos colegas do LINAT, especialmente Anderson e Andreza, pela ajuda neste trabalho.

Aos pacientes do ambulatório de LES pela oportunidade de aprender com eles e pela participação nesse trabalho.

À minha amiga Carol, por estar ao meu lado desde a residência dividindo todas as alegrias e angústias da vida profissional e acadêmica.

À Dra. Ângela pelo apoio desde a época da residência e para a realização deste trabalho, por todas as oportunidades dentro da Reumatologia e por tanto aprendizado.

À Dr. Henrique, pela atenção, disponibilidade e amizade em todos os momentos dessa jornada.

À Dra. Cláudia, por todos os ensinamentos e pelo exemplo de dedicação à docência e à vida acadêmica.

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune sistêmica que se caracteriza por períodos de atividade e remissão. A pesquisa do FAN HEp-2 é bem estabelecida para o diagnóstico de LES e faz parte dos critérios classificatórios da doença. Apesar disso, não está claro na literatura se existe variação nas características e positividade do FAN HEp-2 nos diferentes estágios de atividade da doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação entre a positividade, os títulos e os padrões da FAN HEp-2 e a atividade da doença em pacientes com LES. Corte transversal, descritivo e analítico. Foram incluídos 56 pacientes adultos com LES que preenchiam os critérios classificatórios ACR 1997 e/ou SLICC 2012. Dividiu-se os pacientes em dois grupos: moderada/alta atividade (SLEDAI 2K \geq 6) e inativo/baixa atividade (SLEDAI 2K 0-5). Foram excluídos pacientes grávidas, com infecção ativa, neoplasia (últimos 5 anos), uso de ciclofosfamida venosa e sobreposição com outras doenças autoimunes reumatológicas. O FAN HEp-2 foi avaliado através da técnica de imunofluorescência indireta. Avaliou-se também sexo, idade, tempo de doença, medicações em uso e outros autoanticorpos. Resultados: 98,21% dos pacientes eram mulheres, a média de idade foi de 38 anos e o tempo de diagnóstico teve mediana de 84 meses. Houve diferença significativa entre a positividade do FAN HEp-2 entre os grupos, com 95,23% de positividade no grupo moderada/alta atividade e 65,71% no grupo inativo/baixa atividade. Houve diferença na distribuição dos padrões entre os grupos e 71,43% dos pacientes com moderada/alta atividade apresentavam os padrões nuclear homogêneo (NHo) e pontilhado grosso (NPG) enquanto 28,27% dos pacientes com doença inativa/baixa atividade tinham esses padrões. Não foi encontrada diferença entre os títulos do FAN HEp-2 nos dois grupos. O FAN HEp-2 teve razão de verossimilhança negativa de 0,14 (acurácia moderada) e razão de verossimilhança negativa de 1,45 (acurácia nula) como teste diagnóstico de atividade. Em pacientes com LES e moderada/alta atividade, o FAN HEp-2 tem maior positividade e apresenta mais frequentemente os padrões NHo e NPG quando comparados aos pacientes com doença inativa/baixa atividade. O FAN HEp-2 negativo é adequado para excluir atividade no LES.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico. Autoanticorpos. Anticorpos antinucleares.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a systemic autoimmune disease, characterized by periods of activity and remission. The ANA HEp-2 assay is well established for the diagnosis of SLE and is included on the classification criteria of the disease. Nevertheless, it is unclear in the literature if the positivity and characteristics of ANA HEp-2 change according to disease activity. The aim of the present study was to evaluate the association of the disease activity and positivity, titers and patterns of ANA HEp-2 in patients with SLE. We perform a cross-sectional, descriptive and analytical study with 56 SLE adult patients who met the ACR 1997 and SLICC 2012 classification criteria. Patients were classified in two groups: inactive/low activity (SLEDAI 0-5) and moderate/high activity (SLEDAI \geq 6). Pregnancy, active infection, neoplasia in the last 5 years, intravenous cyclophosphamide and overlap with other rheumatologic autoimmune diseases were the exclusion criteria. ANA HEp-2 positivity, titers and patterns were evaluated by indirect immunofluorescence technique. Gender, age, disease duration, autoantibodies and medications in use were also evaluated. 98.21% of the patients were female, the average age was 38 years and the disease duration median was 84 months. There was a significant difference between ANA HEp-2 positivity between groups, with 95.23% positivity in the moderate / high activity group and 65.71% in the inactive / low activity group. There was a difference in the distribution of patterns between the groups and 71.43% of the moderate / high activity patients had homogeneous nuclear (NHo) and coarse dotted (NPG) patterns while 28.27% of inactive / low activity patients had those. No difference was found between FAN HEp-2 titles in between groups. The ANA HEp-2 had a negative likelihood ratio of 0.14 (moderate accuracy) and negative likelihood ratio of 1.45 (null accuracy) as a diagnostic activity test. In patients with SLE and moderate / high activity, ANA HEp-2 has higher positivity and more frequently presents NHo and NPG patterns when compared to patients with inactive / low activity disease. The negative HEp-2 FAN is an adequate test to exclude SLE activity.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. Autoantibodies. Antinuclear antibodies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Padrões de imunofluorescência indireta em célula HEp-2 nos diversos compartimentos celulares	28
Figura 2 - Árvore de classificação de padrões de imunofluorescência indireta de acordo com o V Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2	32
Figura 3 - Modelo teórico do estudo	38
Figura 4 - Delineamento da pesquisa	40
Figura 5 - Fluxograma do estudo	45
Figura 6- Gráfico da correlação entre os títulos de FAN HEp-2 e os valores numéricos do SLEDAI 2K em pacientes com LES	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Citocinas pró-inflamatórias relacionadas a atividade da doença no LES e suas associações clínicas de atividade	24
Quadro 2 - Padrões de imunofluorescência indireta do FAN com cortes de roedores ou imprint de fígado de camundongo como substrato e suas associações clínicas e autoanticorpos correspondentes	26
Quadro 3 - Padrões de imunofluorescência indireta na pesquisa do FAN HEp-2 e correlações clínicas e de autoanticorpos	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas, manifestações clínicas e sorológicas prévias dos pacientes com LES de acordo com o grupo de atividade	46
Tabela 2 - Medicções específicas para o LES em pacientes de acordo com o grupo de atividade	47
Tabela 3 - Distribuição de pacientes com LES com atividade alta/moderada e pacientes inativos/baixa atividade de acordo com a positividade do FAN HEp-2	47
Tabela 4 - Padrões de imunofluorescência indireta em pacientes com LES, FAN HEp-2 positivos, de acordo com o grupo de atividade	49
Tabela 5 - Padrões de imunofluorescência indireta em pacientes com LES, FAN HEp-2 positivos, de acordo com o grupo de atividade, agrupando-se os padrões NHo e NPG	49
Tabela 6 - Avaliação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e razão de verossimilhança positiva e negativa do FAN HEp-2 para a avaliação da atividade de doença em pacientes com LES utilizando o SLEDAI 2K ≥ 6 como padrão ouro	50
Tabela 7 - Autoanticorpos e consumo de proteínas do sistema complemento dos pacientes com LES de acordo com o grupo de atividade	50

LISTA DE ABREVIATURAS

AAN	Anticorpos antinucleares
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
Anti-DNAds	Anti-DNA dupla hélice
Anti-DNAss	Anticorpos contra antígenos extraíveis do núcleo
BILAG	<i>British Isles Lupus Assessment Group</i>
CCL	<i>Chemokine (c-c motif) ligand</i>
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
CXCL	Chemokine (c-x-c motif) ligand
DITC	Doença indiferenciada do tecido conjuntivo
DMTC	Doença mista do tecido conjuntivo
DP	desvio padrão
DRAI	Doenças reumatológicas autoimunes
ES	Esclerose sistêmica
EULAR	European League Against Rheumatism
FAN	Fator antinuclear
HAI	Hepatite autoimune
HC	Hospital das Clínicas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
ICAP	<i>International Consensus on ANA patterns</i>

IFI	Imunofluorescência indireta
IFN	interferon
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IIQ	intervalo interquartil
IL	interleucina
IP-10	<i>interferon-inducible protein 10</i>
LCR	líquido cefalorraquidiano
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein 1</i>
MEX-SLEDAI	<i>Mexican Systemic Lupus Erythematosus Activity Index</i>
MIP-3B	<i>Macrophage inflammatory protein 3 beta</i>
MMF	Micofenolato de mofetil
NGAL	gelatinase do neutrófilo associada a lipocaína
NHo	nuclear homogêneo
NPF	nuclear pontilhado fino
NPFD	nuclear pontilhado fino denso
NPG	nuclear pontilhado grosso
PCR	Proteína C reativa
RANTES	<i>Regulated upon Activation normal T cell Expressed</i>
SIGLEC	<i>Sialic Acid-binding Ig-like Lectin</i>
SLAM	<i>Systemic Lupus Activity Measure</i>

SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Activity Index</i>
SLEDAI 2K	<i>Systemic Lupus Erythematosus Activity Index 2000</i>
SLEDAI 2KG	<i>SLEDAI 2K Glucocorticoid Index</i>
SLICC	<i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TLR	<i>Toll Like Receptors</i>
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV	Ultravioleta
VHS	Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Lúpus Eritematoso Sistêmico	17
2.2	Medidas de avaliação de atividade no LES	20
2.3	Características dos anticorpos antinucleares	25
2.4	FAN HEp-2 na avaliação da atividade da doença	33
3	JUSTIFICATIVA	37
4	HIPÓTESE E MODELO TEÓRICO	38
4.1	Hipótese	38
4.2	Modelo teórico	38
5	OBJETIVOS	39
5.1	Objetivo geral	39
5.2	Objetivos específicos	39
6	MÉTODO	40
6.1	Delineamento do estudo	40
6.2	Local de realização do estudo	40
6.3	População do estudo	40
6.4	Definição e categorização das variáveis	41
6.5	Métodos de coleta de dados	43
6.6	Análise estatística	44

6.7	Aspectos éticos	44
7	RESULTADOS	45
8	DISCUSSÃO	51
9	CONCLUSÕES	56
	REFERÊNCIAS	57
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ..	65
	APÊNDICE B - FICHA CLÍNICA PARA COLETA DE DADOS	68
	ANEXO A - CRITÉRIOS CLASSIFICATÓRIOS DE LES - AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY (ACR) , 1997	72
	ANEXO B - CRITÉRIOS CLASSIFICATÓRIOS DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO - SYSTEMIC LUPUS INTERNATIONAL COLLABORATING CLINICS, 2012	73
	ANEXO C - CRITÉRIOS CLASSIFICATÓRIOS DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO - COLÉGIO AMERICANO DE REUMATOLOGIA/LIGA EUROPÉIA CONTRA O REUMATISMO, 2019	75
	ANEXO D - SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS DISEASE ACTIVITY , 2000 (SLEDAI2K)	76
	ANEXO E – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	77

1 INTRODUÇÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença inflamatória autoimune que pode acometer diversos sistemas do corpo (KAUL et al., 2016). As manifestações clínicas do LES são variadas e a doença é caracterizada por períodos de atividade, no qual os sinais e sintomas são manifestos, e períodos de remissão quando não há alterações características da doença (KAUL et al., 2016). Os principais sistemas acometidos são a pele, o articular, o hematopoiético, o renal e o nervoso, mas sabe-se o LES pode atingir qualquer órgão do corpo (KAUL et al., 2016; MOK, LAU, 2003).

Uma vez estabelecido o diagnóstico, o maior desafio no acompanhamento dos pacientes com LES na prática clínica é determinar se há atividade de doença. Os quadros infecciosos e as alterações crônicas decorrentes de sequelas orgânicas podem ser confundidos com as manifestações de atividade de doença, como acontece quando existe proteinúria isolada, por exemplo (KAUL et al., 2016; GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005). Apesar de existirem diversos instrumentos de mensuração de atividade, diversas são as críticas em relação às suas aplicações, especialmente por serem índices extensos e sujeitos a pontuação por fatores que podem não estar relacionados com a atividade da doença no LES (GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005). O *Systemic Lupus Erythematosus Activity Index* atualizado no ano 2000 (SLEDAI 2K) é o índice mais utilizado em estudos clínicos e usualmente se considera atividade de doença valores maior ou igual a 6 no escore (GLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002; COOK et al., 2000).

Em relação aos marcadores laboratoriais, utiliza-se principalmente o anticorpo anti-DNA nativo e o consumo das proteínas do sistema complemento, isoladamente ou incluídos nos índices de atividade da doença como marcadores de atividade no LES (KAVANAUGH, SOLOMON, 2002; GLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002). Mais recentemente, outros autoanticorpos como o anti-nucleossomo e o anti-C1q também foram identificados como marcadores de atividade da doença (PRADHAN, PATWARDHAN, GHOSH, 2010; EGGLETON et al., 2014). Apesar disso, ainda há necessidade de marcadores laboratoriais mais precisos e que se alteram precocemente para melhor definição de doença ativa (LIU et al., 2013).

O fator antinuclear (FAN) realizado pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI) em células HEp-2 (FAN HEp-2) é a representação laboratorial da formação de diversos autoanticorpos contra a célula (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007). O FAN HEp-2 é

amplamente utilizado para definição do diagnóstico do LES sendo encontrado em quase 100% dos pacientes (EGNER, 2000). Apesar disso, sua utilização como marcador de atividade no LES é controversa (EGNER, 2000; DORIA et al, 2014) e frequentemente não considera que exista modificações na positividade, padrões e título do FAN HEp-2 em relação aos períodos de atividade ou remissão (EGNER, 2000; COLGLAZIER, SUTEJ, 2005; BIRTANE, 2012). Por outro lado, sabe-se que existe relação entre determinados padrões de FAN HEp-2 com autoanticorpos específicos, como o anti-DNA nativo, que têm sua positividade e títulos relacionados com a atividade da doença no LES (KAVANAUGH, SOLOMON, 2002; CONTI et al., 2015; PISETSKY, 2015). Até o momento, existem poucos estudos (WEITZMAN, WALKER, 1977; PAZ et al, 2007; PRADO et al., 2016) que avaliaram a associação entre as características do FAN HEp-2 e a atividade da doença no LES e não há consenso na literatura sobre a variação do FAN HEp-2 durante o curso da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O LES é uma doença autoimune sistêmica crônica de etiopatogenia não totalmente esclarecida que acomete principalmente mulheres em idade fértil (KAUL et al., 2016). A incidência da doença nos Estados Unidos é de 2 a 7,6 por 100.000 habitantes por ano e sua prevalência tem grande variabilidade entre os estudos, sendo de 19 a 159 casos por 100.000 pessoas (SOMERS et al., 2014; LIM et al., 2014). No Brasil, foi estimada uma incidência de 4,8 por 100.000 habitantes/ano na região Sul (NAKASHIMA et al., 2011) e 8,7 por 100.000 habitantes/ano no Nordeste do país (VILAR, SATO, 2002), enquanto a prevalência foi estimada em 98 casos por 100.000 pessoas em uma cidade do Sudeste do Brasil (SENNA et al., 2004). A doença é mais comum no sexo feminino, numa proporção de 9 a 15 mulheres para cada homem, e em pessoas da raça negra e índios americanos quando comparados com indivíduos brancos (SOMERS et al., 2014).

A mortalidade relacionada ao LES teve grande declínio nos últimos 30 anos, entretanto, os pacientes com a doença têm um risco três vezes maior de morte quando comparados com a população sem a doença, na mesma área geográfica (YURKOVICH et al., 2014). Em populações com baixas condições socioeconômicas há um maior risco de mortalidade associada à atividade de doença e à nefrite lúpica (MOK, KWOK, YIP, 2013; GONZALEZ, TOLOZA, ALARCON, 2014). No Brasil, a taxa de mortalidade de pacientes com LES é de 4,76 óbitos por 100.000 habitantes e em 77% dos casos a causa da morte é a própria doença (COSTI et al., 2017). Além disso, outras causas como infecções e doenças cardiovasculares estão relacionadas à morte prematura nesses pacientes (YURKOVICH et al., 2014; GUSTAFSSON et al., 2012).

A etiopatogenia do LES não está completamente esclarecida, porém, é sabido que há influência de fatores genéticos e ambientais para desencadear a doença (KAUL et al., 2016). Sabidamente, ocorre uma reação autoimune na qual as imunidades inata e adaptativa respondem de maneira inapropriada ao ácido nucleico celular. Reconhece-se, entretanto, que a produção de anticorpos antinucleares (AAN) é comum na população geral e que outros mecanismos são necessários para desencadear o LES (KAUL et al., 2016).

Foram descritas diversas mutações genéticas associadas ao desenvolvimento do LES e acredita-se que essas alterações aumentam a susceptibilidade à doença por estarem relacionadas à produção de proteínas implicadas em vias de regulação do sistema imune. O haplótipo MHC 8.1, que inclui o *loci* dos alelos HLA-B8 e o HLA-DR3, influencia estágios

precoces de ativação imune à medida que promove a produção de autoanticorpos, como o anti-DNA nativo. Outros polimorfismos relacionados a resposta ao interferon tipo 1 e à deficiência de C4 também estão implicados no desenvolvimento do LES (JAMES, 2014; TRUEDSSON et al., 2007; GRAHAM et al., 2007; PRICE et al., 1999; SANTER et al., 2010).

O predomínio do LES no sexo feminino não está completamente compreendido, mas provavelmente há influência do papel do estrógeno e uma possível participação da prolactina para a ativação do sistema imune nesses pacientes. Além disso, o cromossomo X parece contribuir para a susceptibilidade à doença por promover, no período embrionário, uma fonte de complexos contendo ácidos nucleicos que parecem estimular vias do *toll like receptores* (TLR) com consequente ativação imune (SCOFIELD et al., 2008; COSTENBADER et al., 2007).

Os fatores ambientais que contribuem como gatilho para o aparecimento de manifestações clínicas da doença incluem infecções, drogas e exposição aos raios ultravioleta (UV) (KAUL et al., 2016). A radiação UV e medicações, como procainamida, minociclina e hidralazina, são reconhecidamente gatilhos para a expressão do LES através de alterações no DNA celular (GORELIK et al., 2007). A infecção pelo vírus Epstein-Barr é descrita como um gatilho infeccioso pois pode contribuir para a ativação do sistema imune, diferenciação de células B e produção de autoanticorpos (YADAV et al., 2011). Além disso, há modelos experimentais que sugerem que infecções crônicas, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), podem ativar o sistema imune da mesma forma que o LES, sugerindo uma potencial associação entre essas patologias (CROW, OLFERIEV, KIROU, 2015).

Mais recentemente, foi demonstrado que o microbioma intestinal dos pacientes com LES tem uma menor diversidade quando comparado ao de controles saudáveis. Também foi possível estabelecer um paralelo entre a desbiose intestinal e à atividade da doença em pacientes com LES: a bactéria *Ruminococcus gnavus* (RG) foi mais frequentemente encontrada na fezes dos pacientes com a doença e os anticorpos anti-RG tiveram correlação com o anti-DNA nativo, consumo de complemento e SLEDAI. Ademais, maiores níveis de anti-RG foram encontrados em pacientes com nefrite em atividade, sugerindo que as alterações da flora bacteriana podem ter um papel na patogênese do LES (AZZOUZ et al., 2019).

A associação entre a predisposição genética e os fatores ambientais descritos leva à lesão tecidual e aos sintomas do LES clinicamente detectável. O mecanismo da doença no

LES envolve a formação de imunocomplexos e ativação do complemento acarretando dano nos órgãos alvo. Ocorre deposição dos imunocomplexos nos tecidos e recrutamento de células inflamatórias, espécies reativas de oxigênio, produção de citocinas inflamatórias e modulação da cascata de coagulação (PODOLSKA et al., 2015).

As manifestações clínicas do LES são heterogêneas, podem acometer qualquer sistema do corpo e variam desde sintomas leves até disfunções orgânicas graves. O diagnóstico do LES é baseado nas manifestações clínicas, alterações laboratoriais e de imagem (KAUL et al., 2016). Os critérios classificatórios da doença surgiram para padronizar a inclusão de pacientes em estudo clínicos e não são adequados para definir o diagnóstico de LES visto que seria necessário uma elevada sensibilidade e especificidade para utilizar os critérios para essa finalidade (KAUL et al., 2016; UROWITZ et al., 2014).

O critério classificatório do *American College of Rheumatology* (ACR) atualizado em 1997 (TAN et al., 1982; HOCHBERG, 1997) (Anexo A) é bastante utilizado em estudos de LES e inclui 9 manifestações clínicas, um critério imunológico e um critério que contempla a pesquisa de FAN por IFI. A presença de 04 dos 11 critérios classifica o paciente como LES. Em 2012, o grupo SLICC (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*) propôs um critério classificatório com 17 variáveis sendo 11 manifestações clínicas e 06 manifestações imunológicas. A presença de 04 critérios incluindo ao menos um critério clínico e um imunológico define o LES. Além disso, a confirmação histopatológica de nefrite lúpica associada à positividade do FAN ou anticorpo anti-DNA dupla hélice também é suficiente para a classificação nesse critério (PETRI et al., 2012) (ANEXO B). Em 2019, foi publicado um novo critério do ACR em conjunto com o *European League Against Rheumatism* (EULAR) que definiu como condição de entrada a positividade do FAN HEp-2 em títulos de maiores ou iguais a 1/80 e determinou um peso para cada manifestação clínica com valores de 2 a 10 (sendo o peso 10 para nefrite lúpica classe III/IV comprovada por biópsia renal). Pacientes que preenchem 10 ou mais pontos são classificados como LES (Anexo C) (ARINGER et al., 2019).

O critério ACR de 1997 tem sensibilidade de 86% e especificidade de 93% (HOCHBERG, 1997) e há críticas em relação a ausência de algumas variáveis clínicas que poderiam elevar sua sensibilidade, como as diversas síndromes neurológicas, por exemplo (KAUL et al., 2016). O critério SLICC de 2012 demonstra um aumento de sensibilidade em relação ao ACR (97%) mas há uma queda importante de especificidade (84%) (PETRI et al., 2012). Apesar do ganho de sensibilidade, o critério SLICC é considerado falho na detecção de estágios precoces da doença (KAUL et al., 2016). O critério ACR/EULAR 2019

encontrou uma sensibilidade de 96,1% e especificidade de 93,4% na coorte de validação enquanto o critério ACR teve especificidade de 82,8% e sensibilidade de 94,4% e o critério SLICC sensibilidade de 96,7% e especificidade de 83,7% na mesma coorte (ARINGER et al., 2019). Apesar da demonstração de uma elevada sensibilidade e especificidade no estudo original, outras avaliações mostraram sensibilidade máxima de 89% e especificidade de 90%, comparável aos critérios anteriores (GEGENAVA et al, 2019; PETRI, GOLDMAN, MADGER, 2018). Há necessidade de um maior número de estudos utilizando os novos critérios ACR/EULAR para estabelecer sua real sensibilidade e especificidade nas diferentes populações (GEGENAVA et al, 2019; PETRI, GOLDMAN, MADGER, 2018).

2.2 Medidas de avaliação de atividade no LES

Após o diagnóstico de LES, o principal desafio no manejo da doença é o monitoramento de parâmetros de atividade a fim de se estabelecer precocemente a conduta terapêutica mais adequada para cada manifestação clínica. A atividade de doença no LES pode ser definida como sinais, sintomas ou alterações laboratoriais relacionadas à fisiopatologia da doença e que não sejam secundárias a sequelas irreversíveis ou comorbidades (DORIA et al., 2014).

Não existe um padrão-ouro para a avaliação de atividade da doença no LES e a opinião do médico assistente é subjetiva e está sujeita a vieses pessoais. Existem diversos métodos de avaliação de atividade da doença propostos desde a década de 80 (GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005). A avaliação da atividade da doença pode ser uma análise global do paciente, como no *Systemic Lupus Erythematosos Activity Index* (SLEDAI) (BOMBARDIER et al., 1992), mas também pode acessar um órgão específico, como no índice *British Isles Lupus Assessment Group* (BILAG) (HAY et al., 1993). Os índices mais utilizados em estudos clínicos, nos diversos países são o SLEDAI, o *Systemic Lupus Activity Measure* (SLAM) (LIANG et al., 1989) e o BILAG e foi demonstrada uma boa correlação entre eles. Todos os índices consideram parâmetros que podem ser atribuídos à atividade de doença e não a comorbidades ou a danos crônicos (GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005).

O SLEDAI foi publicado originalmente em 1985 e é um índice global que inclui 24 manifestações clínicas objetivas e laboratoriais com diferentes pesos e avalia a atividade do LES nos últimos 10 dias (BOMBARDIER et al., 1992). No ano 2002, sofreu modificações para que manifestações persistentemente ativas fossem incluídas, o SLEDAI 2K (ANEXO D) (GLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002). No SLEDAI original, alopecia, lesões mucosas,

rash e proteinúria de 24hrs > 0,5g somente eram contabilizados se fossem eventos novos ou recorrentes. No SLEDAI 2K, a presença de qualquer desses sintomas, mesmo que de forma persistente, é pontuada. O SLEDAI 2K apresentou boa correlação com o SLEDAI original e é também um bom preditor de mortalidade, o que o valida para utilização em ensaios clínicos e estudos de prognóstico (GLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002; CECCARELLI, 2015).

Outras modificações do SLEDAI foram propostas para diminuir os custos do instrumento, como o SLEDAI 2K modificado, que exclui a análise imunológica do SLEDAI 2K (URIBE et al., 2004) e a versão mexicana do SLEDAI (MEX-SLEDAI) (GUZMAN et al., 1992) que além de excluir os exames imunológicos modifica as variáveis clínicas objetivas para tornar a aplicação mais prática. Esses dois índices também foram validados e apresentaram boa correlação com o SLEDAI 2K e outros instrumentos de atividade (URIBE et al., 2004; GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005). Mais recentemente, foi validado o tempo de 30 dias anteriores à avaliação para a contabilização dos parâmetros clínicos e laboratoriais do SLEDAI 2K, sendo comparável aos 10 dias propostos no SLEDAI original (TOUMA et al., 2011).

Em 2018, foi validada uma modificação do SLEDAI 2K para incluir a utilização de corticosteroides no índice, o SLEDAI 2K *Glucocorticoid Index* (SLEDAI 2KG). Foi acrescida uma pontuação de até 08 pontos caso o paciente esteja em uso de corticosteroides para tratamento do LES de acordo com a dose equivalente diária de prednisona (0: < 05 mg/dia; 02: 05-7,5 mg/dia; 03: 10 mg/dia; 04: 12,5-15 mg/dia; 05: 17,5-20 mg/dia; 06: 22,5-27,5 mg/dia; 07: 30-35 mg/dia; 08: ≥ 37,5 mg/dia). O acréscimo da pontuação referente à dose da medicação possibilita determinar com mais precisão a gravidade da manifestação pontuada no SLEDAI 2K, visto que manifestações mais graves necessitarão de doses mais elevadas de corticosteroides. Além disso, a modificação torna mais fácil a identificação de pacientes respondedores a terapêutica visto que há diminuição do SLEDAI 2KG à medida que a dose de prednisona é diminuída. Ainda se faz necessária a validação do SLEDAI 2KG em comparação a outros instrumentos de atividade e em estudos internacionais (TOUMA et al., 2018).

O SLEDAI 2K é amplamente utilizado em estudos clínicos, porém não há consenso quanto aos valores de ponto de corte para se considerar atividade de doença no LES. A pontuação do instrumento varia de 0 a 105 o que confere uma ampla margem de possíveis resultados. O SLEDAI inicialmente foi categorizado em: doença inativa (SLEDAI=0), atividade leve (SLEDAI entre 1-5), atividade moderada (SLEDAI entre 6-10), atividade alta

(SLEDAI entre 11-19) e atividade muito alta (SLEDAI maior ou igual a 20) (COOK et al., 2000). Os valores do SLEDAI foram preditores de mortalidade no LES e quanto maior a gravidade da classificação maior risco de mortalidade quando comparado ao risco dos pacientes com doença inativa (COOK et al., 2000). Foi observado também que SLEDAI maior que 5 foi associado à mudança ou início de terapia pelo médico assistente em mais de 50% dos casos (ABRAHAMOWICZ et al., 1998) Baseado nesses estudos, é comum, em ensaios clínicos, se definir doença ativa como SLEDAI maior ou igual a 06 (NAVARRA et al., 2011; FURIE et al., 2015). Em relação à interpretação da mudança no índice, foi sugerido que um aumento do SLEDAI acima de 03 pontos indicaria um *flare* (indicando um aumento ou início de uma terapia para doença ativa), doença persistentemente ativa como variação de até 03 pontos no SLEDAI e remissão como SLEDAI igual a zero (GLADMAN et al., 2000).

Além dos diversos instrumentos validados para avaliação de atividade no LES, existem marcadores laboratoriais que estão associados à atividade da doença. Sabe-se que uma das marcas imunológicas do LES é a perda de tolerância à auto-cromatina, manifestando-se como autoanticorpos circulantes dirigidos contra três de suas maiores subunidades: ácidos desoxirribonucleicos de cadeia dupla (DNAd), histonas e nucleossomos (KOUTOUZOV et al., 2004). O anti-DNA está implicado na fisiopatologia do LES e tem duas formas antigênicas, o anti-DNA_{ss} (hélice simples) e o anti-DNA_d (dupla hélice ou nativo), sendo esse último o mais específico para a doença (KAVANAUGH, SOLOMON, 2002; PISETSKY, 2015).

A presença do anti-DNA está incluída nos critérios classificatórios do LES (PETRI et al., 2012; HOCHBERG, 1997; ARINGER et al., 2019) e em diversos instrumentos de avaliação da atividade da doença, como no SLEDAI 2K (GLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002) e está comprovadamente relacionada à atividade de doença como um todo e também à nefrite lúpica (KAVANAUGH, SOLOMON, 2002; PISETSKY, 2015). A positividade do anti-DNA é descrita em 50-98% dos pacientes e, apesar de alguns pacientes não demonstrarem o anticorpo, está bem estabelecido que os níveis séricos do anti-DNA são úteis para o seguimento dos pacientes com LES (CONTI et al., 2015). Mais recentemente, além do anti-DNA, o anticorpo anti-nucleossomo foi relacionado à imunopatogênese do LES, apesar de não estar contemplado nos critérios classificatórios atuais. Os nucleossomos são componentes básicos da cromatina e são considerados os principais antígenos na fisiopatologia da doença (KOUTOUZOV et al., 2004). O anti-nucleossomo é considerado um anticorpo mais sensível e específico para o diagnóstico de LES quando

comparado ao anti-DNA e parece ter um valor importante em pacientes com anti-DNA negativo (SIMÓN et al., 2004). A presença do anti-nucleossomo também é considerada um marcador de atividade do LES e do acometimento renal da doença, tendo, inclusive, boa correlação com o anti-DNA (NG et al., 2006; PRADHAN, PATWARDHAN, GHOSH, 2010). O anticorpo anti-histona é classicamente relacionado ao lúpus induzido por drogas (FRITZLER, TAN, 1978) porém sua positividade foi também descrita em outras doenças autoimunes, como na esclerose sistêmica (ES) e no LES idiopático (ZIRWAS, KRESS, DENG, 2004). Foi descrita sua associação com as manifestações neuropsiquiátricas do LES e, apesar de controverso, alguns estudos demonstraram relação entre a atividade da doença e a positividade do anti-histona, especialmente da fração H1 do anticorpo (SUN et al., 2008; DIEKER et al., 2016).

Além dos anticorpos contra os componentes da cromatina, existem anticorpos contra proteínas do sistema complemento que parecem estar associados à atividade da doença. O primeiro componente do complemento tem três subcomponentes, C1q, C1r e C1s, com papel essencial na ativação da via clássica do complemento. O C1q é uma proteína multifuncional com papel na solubilização e remoção de imunocomplexos e na eliminação de debris celulares resultantes de apoptose. Os títulos de anti-C1q parecem se correlacionar com a atividade do LES e há uma maior prevalência desse anticorpo em pacientes com nefrite lúpica em atividade (EGGLETON et al., 2014).

Outros biomarcadores estão sendo estudados, nos últimos anos, para a identificação da atividade da doença no LES como citocinas inflamatórias, proteínas urinárias e marcadores epigenéticos (LIU et al., 2013). Alterações na metilação do DNA e modificações nas histonas são as principais alterações epigenéticas estudadas e a compreensão desses fenômenos podem auxiliar no entendimento da fisiopatologia da doença bem como na predição de atividade da doença (HUGHES et. al., 2010; ZHANG et. al., 2010; LUGER et. al., 2012). Em relação aos marcadores de atividade de nefrite lúpica, destacam-se as proteínas urinárias como a hepcidina, transferrinas, α 1 glicoproteína ácida, ceruloplasmina, proteína quimioatraente do monócito (MCP-1) e gelatinase do neutrófilo associada a lipocaína (NGAL), com boa perspectiva de utilidade clínica futura (BOLIGNANO et. al., 2008; KIANI et. al., 2009; GAO et. al., 2009; BRUNNER et. al., 2012; LIU et. al., 2013). Além disso, vários estudos demonstraram que a dosagem sérica de citocinas inflamatórias implicadas na fisiopatologia do LES também podem ter utilidade no acompanhamento da atividade da doença, como as quimiocinas induzidas por interferon (IFN), interleucina (IL)-17

e IL-6 (CRISPIN et. al., 2008; LANDOLT-MARTICORENA et. al., 2009; CRISPIN AND TSOKOS, 2010; ROSE et. al., 2012; ZHANG et. al., 2009) (Quadro 1).

Quadro 1. Citocinas pró-inflamatórias relacionadas a atividade da doença no LES e suas associações clínicas de atividade.

Citocina	Mensuração	Associação clínica
IFN α/β	Soro e LCR	SNC e hematológico; febre
Assinatura IFN α	Expressão superregulada de genes reguladores de IFN α	SNC, hematológico e renal
Quimiocinas induzidas por IFN: - MCP-1 (CCL2) -RANTES (CCL5) -MIP-3B (CCL19) -IP-10 (CXCL10) -SIGLEC-1 -CXCL1 -CXCL16	Soro e urina. Aumento de expressão gênica	Atividade da doença/ <i>Flare</i> Nefrite lupica LES neuropsiquiátrico Consumo de complemento Autoanticorpos (anti-Sm, anti-RO, anti-U1-RNP e anti-dsDNA)
IFN γ	Soro	Atividade de doença?
IL-17	Soro	Atividade de doença?
IL-6	Soro e urina	Atividade de doença; anti-DNAs; consumo C3/C4; Nefrite lupica.

CCL: *Chemokine (c-c motif) ligand* ; CXCL: *Chemokine (c-x-c motif) ligand*; IFN: interferon; IL: interleucina; LCR: líquido cefalorraquidiano; IP-10: *interferon-inducible protein 10*; MCP-1: *Monocyte chemoattractant protein 1*; MIP-3B: *Macrophage inflammatory protein 3 beta*; RANTES: *Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed*; SIGLEC: Sialic Acid-binding Ig-like Lectin; SNC: Sistema nervoso central. (LIU et al., 2013)

Além dos novos marcadores, moléculas inflamatórias clássicas, como proteína c reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS) e ferritina sérica, podem ter papel na identificação de atividade de doença em pacientes com LES. Foi demonstrado recentemente que a razão VHS:PCR elevada, especialmente em valores acima de 15, está associada ao diagnóstico de *flare* no LES e é útil para diferenciar atividade e infecção (LITTLEJOHN et al., 2018). Em relação à ferritina, alguns estudos demonstraram correlação positiva significativa entre os níveis de ferritina e os níveis do SLEDAI e do anti-DNAs e

correlação negativa com os níveis de complemento, sugerindo que a ferritina pode ser um potencial marcador de atividade no LES (LIM et al, 2001; BEYAN et al., 2003; TRIPATHY, PANDA, DAS, 2015).

2.3 Características dos anticorpos antinucleares

O diagnóstico das doenças reumatológicas autoimunes (DRAI) depende de um conjunto de achados clínicos, radiológicos e sorológicos e a presença de anticorpos antinucleares (AAN) é uma importante característica dessas doenças. Os AAN formam um grupo heterogêneo de anticorpos direcionados para antígenos endógenos nucleares, nucleolares, citoplasmáticos e do aparelho mitótico (SAWALHA, HARLEY, 2004). A descrição do fenômeno da célula LE representou um grande marco na descoberta dos AAN, quando Hargraves e colaboradores (1948), estudando vinte e cinco medulas ósseas de pacientes com LES, observaram a presença de um vacúolo eosinofílico em leucócitos polimorfonucleares maduros. Na época, os autores sugeriram que este material poderia ser proveniente da autólise de um dos seus núcleos ou da fagocitose de restos nucleares encontrados no plasma. Em 1949, Hargraves e Haserick e colaboradores em dois trabalhos independentes com medulas ósseas de indivíduos saudáveis, conseguiram reproduzir o fenômeno das células LE quando adicionaram às amostras plasma de pacientes com LES. A pesquisa de células LE foi o primeiro marcador laboratorial do LES e foi historicamente um exame muito importante, tendo sido parte dos critérios classificatório do ACR até 1997. Era, entretanto, um exame complexo, subjetivo na interpretação, com baixa reprodutibilidade e sensibilidade e havia dificuldade em treinamento de profissionais para executar o ensaio, sendo, posteriormente, substituído por exames mais sensíveis e de mais fácil execução (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007).

Na década de 50, a pesquisa de AAN passou a ser realizada pela técnica de imunofluorescência indireta e inicialmente o substrato antigênico para a reação era um esfregaço de leucócitos humanos e posteriormente tecidos de roedores. A técnica possibilitou uma ampliação no espectro de autoanticorpos pesquisados e significou um aumento da sensibilidade do exame, em comparação às células LE, para o diagnóstico de DRAI. Com a técnica de IFI, os AAN, posteriormente denominados de fator antinuclear (FAN) puderam auxiliar no diagnóstico de outras doenças além do LES, como a esclerose sistêmica e a síndrome de Sjögren. Com o aumento de sensibilidade, todavia, houve perda da especificidade do exame em relação ao diagnóstico de LES e passou a ser observada

sua positividade em pacientes saudáveis, o que era raro quando se utilizava as células LE (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007).

A informação fornecida através da IFI se dá quando os antígenos nucleares das células do tecido de roedores entram em contato com o soro do paciente e, quando há presença de autoanticorpos, forma-se um complexo antígeno-anticorpo. Como a gamaglobulina é marcada com fluorcromo, pode-se observar, através da microscopia, os diversos padrões de fluorescência presentes na célula. A distribuição topográfica desses padrões corresponde aos diferentes autoanticorpos específicos. Os cinco padrões básicos descritos na IFI utilizando cortes de roedores ou *imprint* de fígado de camundongo são: periférico e homogêneo, homogêneo, pontilhado fino, pontilhado grosso e nucleolar (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007) (Quadro 2).

Quadro 2. Padrões de imunofluorescência indireta do FAN com cortes de roedores ou *imprint* de fígado de camundongo como substrato e suas associações clínicas e autoanticorpos correspondentes.

Padrão	Autoanticorpo	Associações clínicas
Periférico e homogêneo	DNA native	LES, LES induzido por drogas, AIJ síndrome de Felty, ES, CBP, hepatite autoimune
Homogêneo	DNA native	LES, LES induzido por drogas, AIJ, síndrome de Felty, ES, CBP, hepatite autoimune
Pontilhado fino	SS-A/Ro e/ou SS-B/La	Síndrome de Sjögren, LES, LES neonatal, LES cutâneo, AR, miosite e ES, PM
Pontilhado grosso	Sm e/ou RNP	LES, DMTC, ES
Nucleolar	Antígenos nucleolares	ES, PM/ES, PM/DM

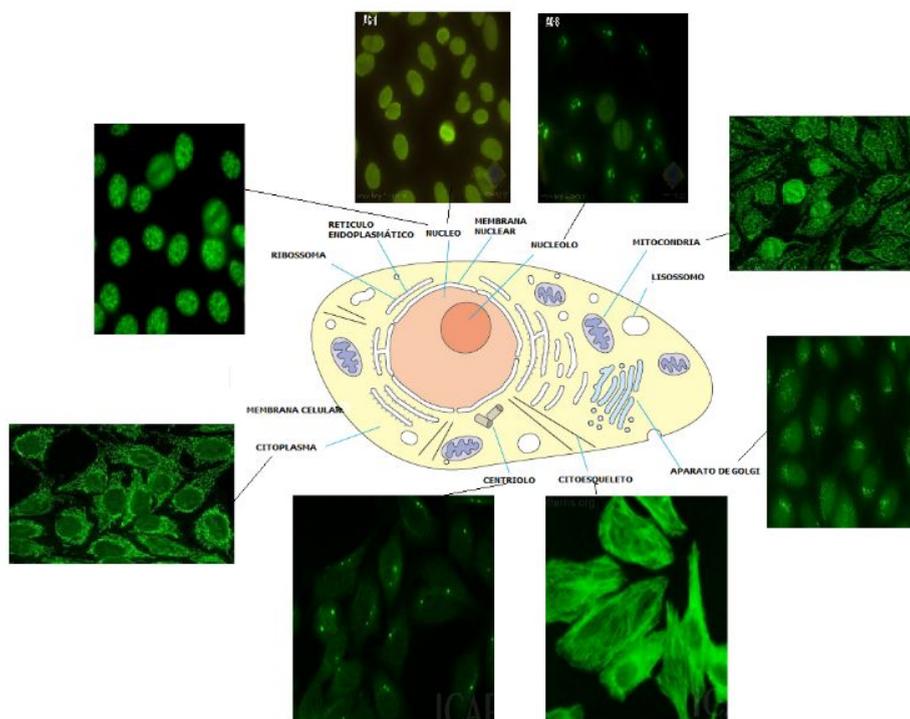
AIJ: Artrite Idiopática Juvenil; AR: Artirte Reumatóide; AIJ: CBP: Cirrose biliar primária; DM: Dermatopolimiosite. DMTC: Doença Mista do Tecido Conjuntivo; ES: Esclerose Sistêmica; FAN: fator antinuclear; LES: Lúpus Eritematoso Sistemico; PM: Polimioste; (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007).

A pesquisa do FAN através da técnica de IFI assume, então, um papel de triagem para DRAI e tem como objetivo auxiliar a decisão clínica sobre a pesquisa de

autoanticorpos específicos para a patologia em suspeição. Atualmente, o substrato utilizado para a pesquisa do FAN é uma linhagem de células tumorais derivadas de carcinoma de laringe humana, a célula HEp-2. Essas células substituíram as células de roedores por apresentarem uma maior gama de antígenos e por possuírem elementos citológicos grandes, mais facilmente visualizados. Além disso, há facilidade no cultivo das células HEp-2 em detrimento à necessidade de se cultivar animais em laboratórios para a obtenção do substrato murino e a possibilidade de padronização universal dos resultados, visto que os diversos laboratórios do mundo passaram a utilizar a mesma técnica para pesquisa de antígenos nucleares (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007).

Com a utilização das células HEp-2 é possível visualizar os diversos compartimentos celulares (núcleo, nucléolo, citoplasma, placa cromossômica metafásica e aparelho mitótico) e reconhecer antígenos ausentes no substrato de tecido de roedor. (Figura 1) O antígeno SS-A/Ro, por exemplo, não é encontrado em células de roedores e sua presença isolada resultava em FAN negativo quando se utilizava a técnica antiga, o que não acontece no substrato de células HEp-2. Além dessas vantagens, as células tumorais apresentam rápida divisão e é possível identificar células em várias fases do ciclo celular, inclusive na mitose, momento em que alguns antígenos específicos do LES se expressam (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007).

Figura 1. Padrões de imunofluorescência indireta em célula HEp-2 nos diversos compartimentos celulares.



Adaptado de DELLAVANCE, ANDRADE, 2007.

O aumento expressivo da sensibilidade do FAN HEp-2 acarretou perda da especificidade do exame para o diagnóstico de DRAI. Os resultados do FAN HEp-2 precisam ser criteriosamente avaliados e é bastante importante considerar a probabilidade pré-teste de existir DRAI antes da solicitação. Na população brasileira, cerca de 12% dos indivíduos saudáveis apresenta FAN HEp-2 positivo, mas em títulos mais baixos e padrões menos característicos de autoimunidade quando comparados aos pacientes com DRAI (MARIZ et al, 2011). A interpretação do FAN HEp-2 por IFI pode ser auxiliada pela pesquisa de autoanticorpos específicos que frequentemente guardam relação com os padrões encontrados na imunofluorescência. Foram descritos mais de 30 padrões de imunofluorescência em células HEp-2 sendo os padrões nucleares os mais frequentemente encontrados em pacientes com LES. Os principais padrões descritos, seus autoanticorpos correspondentes e as principais correlações clínicas estão descritos na Quadro 3 (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007; FRANCESCANTONIO, 2014).

Quadro 3. Padrões de imunofluorescência indireta na pesquisa do FAN HEp-2 e correlações clínicas e de autoanticorpos.

Padrão	Autoanticorpo	Correlação Clínica
Nuclear tipo membrana nuclear	Anticorpo contra proteínas do envelope nuclear	CBP, HAI, LES, Esclerodermia linear, SAF
Nuclear homogêneo	Anti-DNA ds	LES
	Histona (H1, H2A, H2B, H3, H4)	LES, LES induzido por droga, AIJ, AR, Felty, ES, HAI e CBP
	Nucleossomo	LES
Nuclear pontilhado fino	La/SS-B	Sjogren, LES, LES neonatal, LES cutâneo
	Ro/SS-A	LES, LES neonatal, LES cutâneo, AR, miosite e ES, PM
Nuclear pontilhado grosso	SM	LES
	U1-RNP (22,34,70kDa)	DMTC, LES, ES
Nuclear pontilhado grosso reticulado	Ribonucleoproteínas heterogêneas (hnRNP)	LES, DMTC, doenças inflamatórias crônicas e indivíduos hígidos
Nuclear pontilhado fino denso	Anticorpo antiproteína p75/ DFS70	Indivíduos sem DRAI
Nuclear pontilhado quasi-homogêneo	Anti-DNA nativo, histona, nucleossoma / DFS70	LES, indivíduos hígidos
Nuclear pontilhado pontos isolados	Anti-p80 coilina	Sem definição
	Anti-Sp100/anti-p95	CBP
Nuclear pontilhado centromérico	Anticentrômero (proteínas CENPA de 17kDa, CENP-B de 80kDa e CENP-C de 140kDa)	ES forma CREST, CBP e Síndrome de Sjogren
Nuclear pontilhado pleomórfico	Antígenos de célula em proliferação PCNA (34kDa)	LES
Nucleolar homogêneo	Anticorpo anti-To /Th	ES

	Anticorpo antinucleolina	LES, Doença de enxerto X hospedeiro, mononucleose
	Anticorpo anti-B23 (nucleofosmina)	ES, SAF, LES, Doença de enxerto X hospedeiro.
Nucleolar aglomerado	Anticorpo antifibrilarina (U3-nRNP)	ES com HAP
Nucleolar pontilhado	Anticorpo anti-NOR 90	ES
	Anticorpo anti-RNA polimerase I	ES forma difusa
	Anticorpo anti-ASE (anti-sense a ERCC-em associação a anticorpos anti-NOR-90.	LES
Citoplasmático fibrilar linear	Antiactina	HAI; Cirrose Hepatite C;
	Antimiosina	Hepatocarcinoma; Miastenia
Citoplasmático fibrilar filamentary	Anticorpo antivimentina e antiqueratina	Hepatite alcoolica
Citoplasmático fibrilar segmentar	Antialfa-actinina, antivinculina e antitropomiosina	Miastenia, Doença de Crohn, Colite ulcerativa,
Citoplasmático pontilhado polar	Anticorpo antigolginas (cisternas do aparelho de Golgi)	Síndrome de Sjogren, Infecções
Citoplasmático pontilhado pontos isolados	Anticorpo anti-EEA1 e antifosfatidilserina	Sem definição
	Anticorpo anti-GWB.	Síndrome de Sjögren
Citoplasmático pontilhado fino denso	Anticorpo anti-PL7/PL12	PM
	Proteína P ribossomal	LES
Citoplasmático pontilhado reticulado	Antígenos mitocôndriais	CBP, ES
Citoplasmático pontilhado fino	Anticorpo anti-histidil t RNA sintetase (Jo1)	PM; DM

Citoplasmático em anéis e bastões	Inosina monofosfato desidrogenase 2 (IMPDH2) Citidina trifosfato sintase 1 (CTPS1)	Hepatite C
Aparelho mitótico tipo centríolo	Anticorpo antialfa-enolase	ES
Aparelho mitótico tipo ponte intercelular	Anticorpo antibeta-tubulina	LES, DMTC
Aparelho mitótico tipo fuso mitótico (NuMa-2)	Anticorpo anti-HsEg5/NuMA-2	Baixa Especificidade

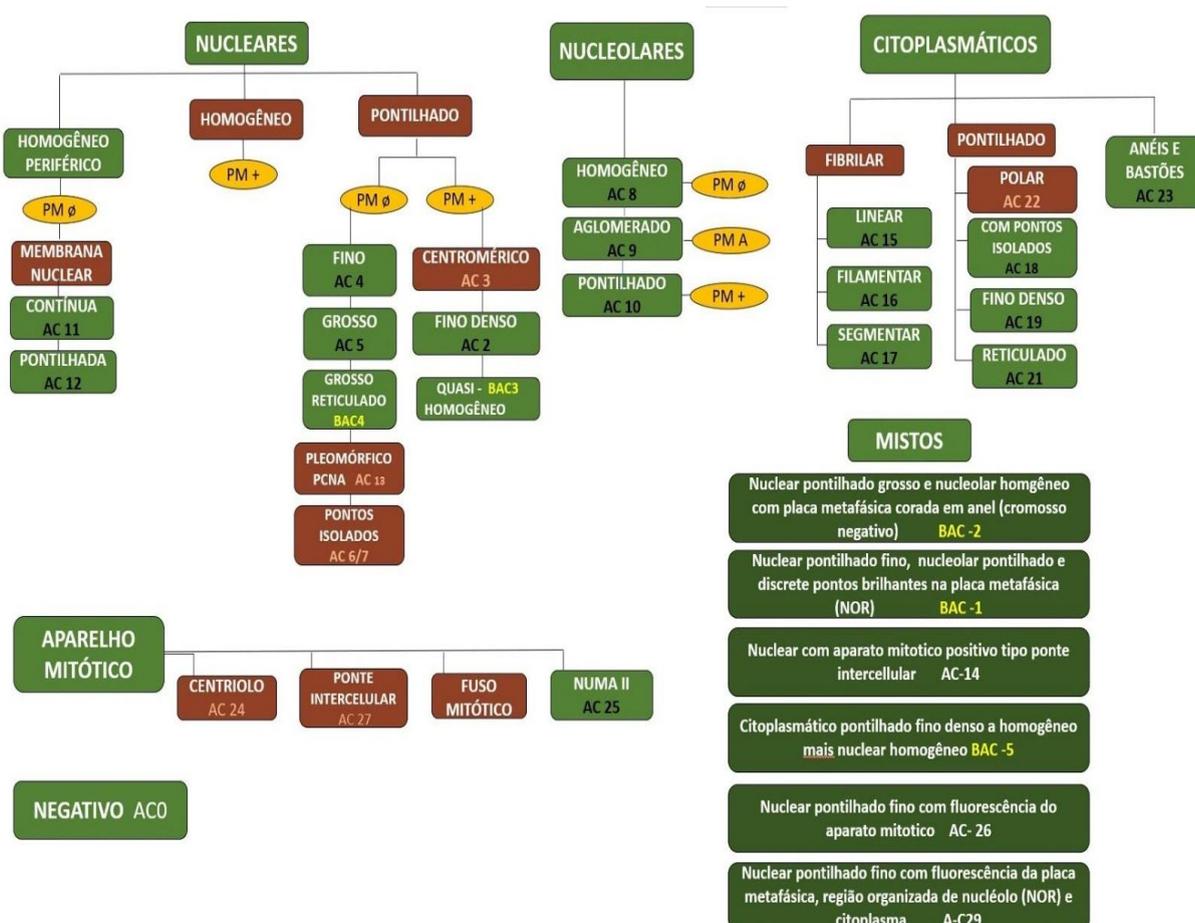
AIJ: Artrite Idiopática Juvenil; AR: Artrite Reumatóide; CBP: Cirrose Biliar Primária; DM: Dermatopolimiosite; DMTC: Doença Mista do Tecido Conjuntivo; ES: Esclerose Sistêmica; FAN: fator antinuclear; HAI: Hepatite Autoimune; LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; PM: Polimiosite; SAF: Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide; (Adaptado de: DELLAVANCE, ANDRADE, 2007; FRANCESCANTONIO, 2014).

Além dos padrões demonstrados no Quadro 3 há padrões mistos, que ocorrem quando há coloração de compartimentos celulares distintos ou mais de um padrão de imunofluorescência em um mesmo compartimento, como o padrão misto do tipo citoplasmático pontilhado fino denso a homogêneo e nucleolar homogêneo, por exemplo, que está relacionado à proteína p ribossomal e pode estar presente na psicose lúpica (DELLAVANCE, ANDRADE , 2007; SILVA et al, 2017).

Para que exista uniformidade entre os laboratórios na técnica de realização dos exames e descrição dos resultados foram estabelecidas recomendações brasileiras e internacionais para a pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2. O IV Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2, publicado em 2014, propõe que alguns padrões mais importantes devam ser obrigatoriamente descritos enquanto outros, mais raros, sejam opcionais (FRANCESCANTONIO, 2014). Mais recentemente, o V Consenso Brasileiro para pesquisa de anticorpos anticélula em células HEp-2 adequou as recomendações brasileiras de nomenclatura e os parâmetros de qualidade às recomendações internacionais do *International Consensus on ANA patterns* (ICAP). Apesar do consenso recomendar o termo anticorpo anticélula, por reconhecer a expressão antigênica em todos os componentes celulares, o acrônimo FAN permaneceu aceito por

questões históricas e regulatórias (CRUVINEL et al., 2019). A árvore de classificação dos padrões está demonstrada na Figura 2.

Figura 2. Árvore de classificação de padrões de imunofluorescência indireta de acordo com o V Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2.



Padrões em verde: laudo obrigatório / Padrões em vinho: laudo opcional / PM +: placa metafásica positiva / PM \emptyset : placa metafásica negativa / PM A: placa metafásica amorfa (CRUVINEL et al., 2019).

Um outro aspecto bastante importante na interpretação do exame, além dos padrões de imunofluorescência, é a titulação da pesquisa do FAN HEp-2. De uma forma geral, pacientes com doenças autoimunes apresentam títulos moderados (1/160 e 1/320) e altos ($\geq 1/640$) enquanto pacientes saudáveis apresentam títulos mais baixos (1/40 e 1/80) de imunofluorescência (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007; MARIZ et al., 2011).

Em relação ao LES, o FAN HEp-2 está presente em 98% dos pacientes e contribui indubitavelmente para o diagnóstico da doença. A performance do teste é variável de

acordo com o título que se utiliza para o ponto de corte diagnóstico e observa-se que títulos de 1/160 apresentam elevada sensibilidade (94,7%) sem perda de especificidade (95%), quando comparados às diluições menores (TAN et al, 1997). A positividade do FAN Hep-2 está contemplada em todos os critérios classificatórios da doença e é critério de entrada para a nova classificação ACR/EULAR em títulos $\geq 1/80$ (ARINGER et al., 2019). Os padrões mais prevalentes nos pacientes com LES são o padrão nuclear homogêneo, nuclear pontilhado grosso e nuclear pontilhado fino, visto que esses padrões correspondem a autoanticorpos comumente encontrados na doença. O padrão homogêneo está relacionado ao anti-DNAs, anti-nucleossomo e anti-histona, os dois primeiros definitivamente relacionados à atividade de doença. Enquanto os padrão pontilhados grosso corresponde aos anticorpos contra antígenos extraíveis do núcleo (anti-ENA) (DELLAVANCE, ANDRADE, 2007) (Quadro 3). O anti-Sm é um anticorpo específico de LES, está contemplado nos critérios classificatórios da doença e sua frequência ocorre em 9 a 49% dos pacientes (ARROYO-ÁVILA, 2015). Apesar de alguns estudos relacionarem o anti-Sm à atividade do LES a maior parte da literatura não considera que esse autoanticorpo é útil na monitorização da doença (ARROYO-ÁVILA, 2015). O anticorpo anti-U1-RNP, por sua vez, é condição *sine qua non* para o diagnóstico da doença mista do tecido conjuntivo (DMTC) mas é encontrado em apenas 13 a 30% dos pacientes com LES. Foi sugerido que a fração IgM desse anticorpo é mais específica de LES, mas usualmente não se faz a distinção dos subtipos de imunoglobulina nas pesquisas laboratoriais. O anti-U1-RNP também não é considerado marcador de atividade da doença, mas pode contribuir para o diagnóstico em algumas situações clínicas (DIMA, JURCUT, BAIACUS, 2018). O anticorpo anti-SSA/Ro, por sua vez, está presente em cerca de 30% dos pacientes e está associado ao LES de início tardio (> 50 anos), lúpus cutâneo subagudo e ao lúpus neonatal. Além disso, é um anticorpo associado à síndrome de Sjogren (50 a 60% dos pacientes) e a doença indiferenciada do tecido conjuntivo (DITC). O anti-SSB/LA é menos prevalente, encontrando-se positivo em 10% dos pacientes, e está relacionado ao lúpus neonatal (PROVOST, 1991). Se demonstrou previamente que esses anticorpos podem variar de acordo com a atividade da doença (WAHREN et al., 1998) atualmente não são anticorpos considerados relevantes no acompanhamento da atividade do LES.

2.4 FAN HEp-2 na avaliação da atividade da doença

O FAN HEp-2 detectado por IFI tem irrefutável valor para o diagnóstico do LES, mas não há consenso na literatura acerca da sua importância no monitoramento de atividade de doença (EGNER, 2000; DORIA et al, 2014; WARD, 1998). O FAN HEp-2 não é amplamente

aceito como parâmetro de doença ativa e não se considera sua positividade e seus títulos nos índices de atividade de doença validados, como o SLEDAI 2K (GRIGLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002; GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005). Alguns autores, entretanto, recomendam a pesquisa do FAN HEp-2 na rotina laboratorial dos pacientes com LES, em conjunto com outros exames e parâmetros clínicos (EGNER, 2000; DORIA et al., 2014) para avaliação de atividade de doença, mas há poucos trabalhos na literatura para suportar ou contestar essa recomendação.

Em 1977 foi realizado um estudo com 48 pacientes com LES para avaliar a relação dos títulos do FAN por IFI, especialmente do padrão periférico, e do anti-DNA com a atividade da doença. Houve associação entre o anti-DNA e a atividade da doença, porém não houve associação entre os títulos de FAN e a atividade da doença ou entre os títulos de FAN e o anti-DNA na ocasião. O substrato utilizado para a detecção do FAN nesse estudo foram os hepatócitos de roedores, menos sensíveis que as células HEp-2 utilizadas atualmente (WEITZMAN, WALKER, 1977). Ademais, não existiam índices de atividade da doença validados na época e a atividade foi definida a partir da presença de 14 variáveis clínicas incluindo o fenômeno de Raynaud e o Venereal Disease Research Laboratory (VDRL), exame para detecção de sífilis, falso-positivo. Sabe-se que esses parâmetros, apesar de fazerem parte do quadro clínico-laboratorial do LES, não fazem parte dos índices de atividade utilizados atualmente (WEITZMAN, WALKER, 1977; GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005).

Posteriormente, Viillard e colaboradores (2001) avaliaram biomarcadores de atividade da doença em 60 pacientes com LES em uma análise longitudinal durante 06 meses. Avaliou-se VSH, títulos de FAN HEp-2 e anti-DNA, CH50 e expressão de HLA-DR em linfócitos T. Todos os pacientes tiveram FAN HEp-2 positivo em todas as visitas com títulos $\geq 1/250$. Os pacientes foram divididos em grupo quiescente, sem atividade e grupo ativo, aqueles que tiveram elevação de pelo 03 pontos no SLEDAI entre duas visitas. A mediana dos títulos de FAN HEp-2 no grupo quiescente foi significativamente menor do que a do grupo ativo, sendo 1/500 e 1/8000, respectivamente. Esse estudo não avaliou padrões de FAN HEp-2, mas os resultados indicam que os títulos de FAN HEp-2 podem ser mais elevados nos pacientes com LES e atividade da doença.

Estudo mais recente, publicado em 2007, avaliou a correlação entre os valores do SLEDAI e do FAN pesquisado através de enzimaímoensaio (FAN-ELISA) em 71 pacientes. Houve correlação positiva entre a atividade da doença através do SLEDAI e o FAN-ELISA. Também foram encontrados maiores valores de FAN-ELISA em pacientes com

FAN HEp-2 positivo quando comparados aos pacientes com FAN HEp-2 negativo. Não foi estudado, porém, a associação entre o SLEDAI-2K e o FAN HEp-2 nesses pacientes (PAZ et al, 2007).

Em 2008, Sjowall e colaboradores analisaram o FAN HEp-2 em 50 pacientes com LES estabelecido assim como em 300 doadores de sangue saudáveis. O ponto de corte de títulos de 1/200 foi estabelecido para definir exame anormal a partir da análise do soro dos doadores de sangue. O FAN HEp-2 foi negativo em 24% dos pacientes, quando se utilizou o ponto de corte de 1/200 para definir positividade, e em 16% quando se utilizou o ponto de corte de 1/50. O objetivo do trabalho não foi estabelecer a relação do exame com a atividade da doença mas foi visto que 87,5% dos pacientes com FAN HEp-2 negativo tinham SLEDAI < 4. Ademais, 100% dos pacientes com FAN HEp-2 positivo tinham SLEDAI > 4. Os pacientes que tiveram FAN HEp-2 negativo tinham tido o diagnóstico de LES nos últimos 20 anos enquanto a maior parte dos pacientes com FAN HEp-2 positivo tinha o diagnóstico há mais de 30 anos, sugerindo que o tempo de doença não teve relação com a positividade do FAN HEp-2. Os resultados desse trabalho indicam, portanto, que o FAN HEp-2 pode ser negativo em pacientes com doença estabelecida, especialmente naqueles sem atividade.

Em 2016, estudo brasileiro avaliou um corte de 269 pacientes com LES para avaliar a associação entre o FAN HEp-2 e a atividade da doença medida através do SLEDAI 2K. Dividiu-se os pacientes em grupos remissão (SLEDAI 2K=0), intermediário (SLEDAI 1-5) e ativo (SLEDAI ≥ 6) e foram avaliadas características do FAN HEp-2 e autoanticorpos. Apenas 3,7% dos pacientes tiveram FAN HEp-2 negativo, sem diferença entre os grupos. O padrão nuclear homogêneo (NHo) foi significativamente mais frequente nos pacientes do grupo ativo quando comparados aos do grupo remissão (51,4% x 23,4%, p=0,003) e o padrão nuclear pontilhado fino (NPF), por outro lado, teve tendência a ser mais frequente no grupo remissão quando comparado com o grupo ativo (40,4% x 22,5%, p=0,09). Além disso, pacientes com padrão NHO tiveram maior SLEDAI 2K do que aqueles com padrão NPF (p=0,008). Nesse estudo, os títulos de FAN HEp-2 foram menores no grupo remissão (mediana 1/640) em comparação com os grupos ativo (mediana 1/2560) e intermediário (mediana 1/1280), (p <0,001) (PRADO et al, 2016). Essa foi a primeira evidência que tinha como objetivo avaliar as diferenças nas características do FAN HEp-2 de acordo com a atividade da doença utilizando como substrato as células HEp-2. Apesar de desenho semelhante ao estudo atual, esse trabalho utilizou o ponto de corte de títulos de 1/80 para detecção do FAN HEp-2 enquanto nosso estudo utilizou títulos a partir de 1/160. Além

disso, esse trabalho dividiu a amostra em três grupos de comparação enquanto o nosso trabalho definiu apenas dois grupos a partir do ponto de corte de SLEDAI ≥ 6 .

Finalmente, em 2018, Pisetsky e colaboradores realizaram a pesquisa do FAN HEp-2 por IFI em 103 pacientes com LES utilizando três *kits* comerciais diferentes. Houve uma grande variabilidade entre os *kits* e o FAN HEp-2 foi negativo em 4,9 a 22,3% dos pacientes. Esse estudo não avaliou o SLEDAI, porém, foi visto que os pacientes que apresentavam o FAN HEp-2 negativo, em algum dos *kits*, tinham menos frequentemente alterações sorológicas de atividade (consumo de complemento e anti-DNA positivo) quando comparados aos pacientes definitivamente positivos. Esses resultados confirmam a possibilidade de uma elevada frequência FAN HEp-2 negativo em pacientes com LES sem atividade porém chamam a atenção para a grande variabilidade entre os *kits* comerciais para pesquisa do FAN HEp-2.

Em nossa revisão apenas um estudo publicado até o momento, utilizando o FAN IFI por imprint de camundongo, não mostrou a associação do teste com a atividade da doença. Por outro lado, existem alguns estudos que demonstraram diferenças na positividade, nos títulos e nos padrões do FAN HEp-2 em pacientes com LES de acordo com a atividade da doença. Esses resultados conflitantes podem ser justificados por diferenças na população do estudo e nas técnicas utilizadas para pesquisa do exame. Apenas um trabalho teve como objetivo principal realizar uma avaliação comparativa do FAN HEp-2 em pacientes com LES de acordo com a atividade da doença. É possível afirmar, portanto, que há uma lacuna na literatura a respeito do comportamento do FAN HEp-2 em pacientes com LES em diferentes estados de atividade da doença considerando o pequeno número de trabalhos disponíveis com uma metodologia adequada para responder essa questão.

3 JUSTIFICATIVA

Na prática clínica, condições como infecções, sequelas de lesões orgânicas e sinais e sintomas decorrentes de comorbidades podem ser confundidas com atividade da doença no LES. A utilização de imunossupressão desnecessária, nesses casos, pode levar a consequências graves à saúde do paciente como o agravamento de um quadro infeccioso e a exposição a possíveis efeitos adversos das drogas. Por outro lado, muitos pacientes podem apresentar atividade da doença, sem manifestações clínicas características. Neste contexto, parâmetros laboratoriais adicionais que se correlacionem com a atividade no LES têm grande importância para contribuir com as decisões terapêuticas.

Na fisiopatologia do LES há exposição de autoantígenos com perda da tolerância imunológica, formação de autoanticorpos e, posteriormente, imunocomplexos. Os imunocomplexos se depositam em células específicas, como o endotélio e as hemácias, e são responsáveis diversas manifestações clínicas do LES (KAUL et al., 2016). O FAN HEp-2 avalia a presença de diversos autoanticorpos contra antígenos celulares através da IFI. Em pacientes que não estão em atividade há uma menor deposição de imunocomplexos (CAIRNS, LONDON, MALLICK, 1980) e é possível que esses pacientes tenham uma menor exposição de autoantígenos e conseqüentemente menor formação de autoanticorpos. Deste modo, existe a possibilidade de pacientes sem atividade apresentem negatividade ou menores níveis do FAN HEp-2 quando comparados a doentes em atividade. O FAN Hep-2 detectado por IFI é um exame amplamente difundido, acessível e de baixo custo, porém, há poucos estudos na literatura que avaliaram se o FAN HEp-2 sofre alteração na atividade do LES.

Ainda não é estabelecido na literatura, portanto, se ocorre mudança na positividade, títulos e padrões do FAN HEp-2 de acordo com a atividade da doença em pacientes com LES. Visto que, especialmente após a utilização das células HEp-2 como substrato, apenas um estudo com esse objetivo foi realizado até o momento.

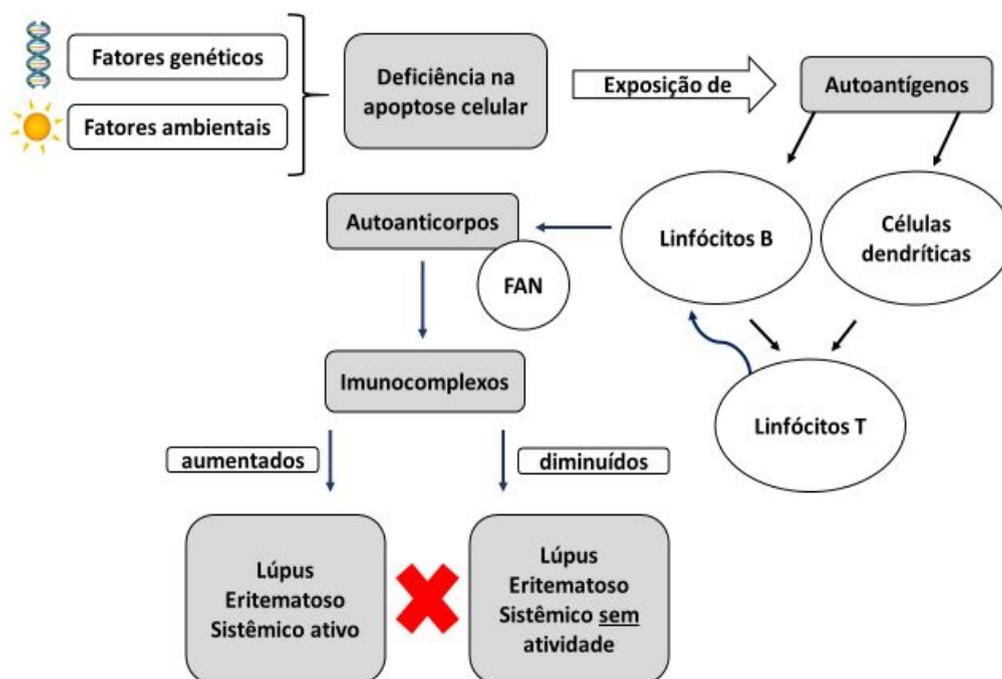
4 HIPÓTESE E MODELO TEÓRICO

4.1 Hipótese

Os pacientes com LES e doença em atividade medida pelo SLEDAI 2K apresentam positividade, títulos e padrões do FAN HEp-2 diferentes daqueles pacientes com LES sem doença ativa.

4.2 Modelo teórico

Figura 3. Modelo teórico do estudo.



5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar se há diferenças nas características (positividade, título, padrão) do FAN HEp-2 em pacientes com LES de acordo com a atividade da doença.

5.2 Objetivos específicos

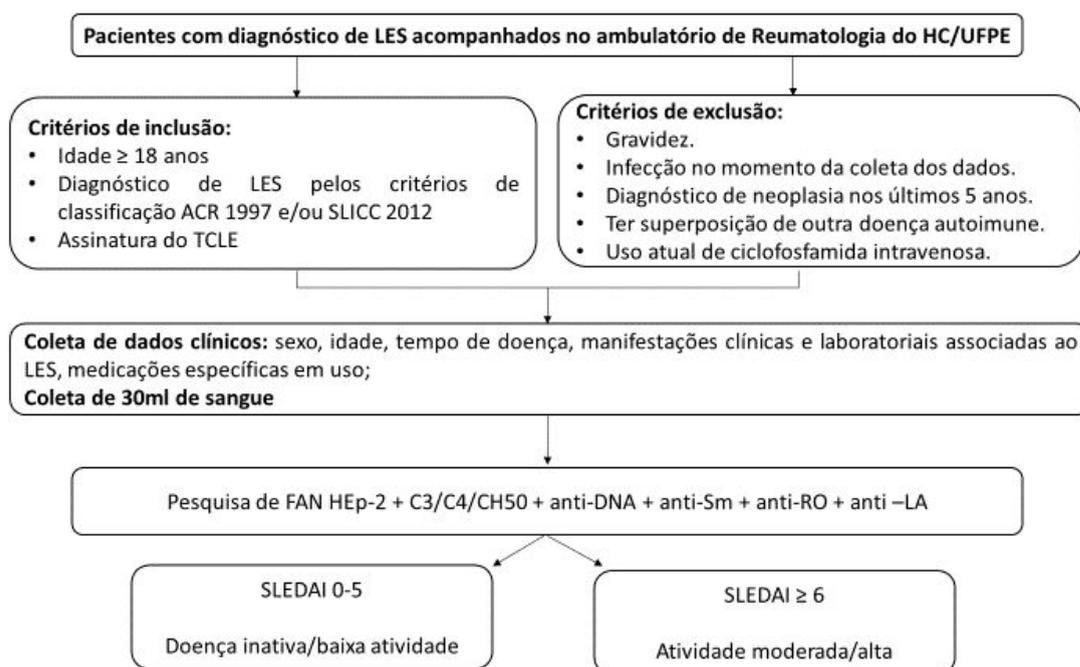
- 1) Descrever a positividade do FAN HEp-2 em pacientes com doença inativa/atividade leve (SLEDAI 2K 0-5) e em pacientes com moderada/alta atividade (SLEDAI 2K \geq 6).
- 2) Descrever os títulos do FAN HEp-2 em pacientes com doença inativa/atividade leve (SLEDAI 2K 0-5) e em pacientes com moderada/alta atividade (SLEDAI 2K \geq 6).
- 3) Descrever os padrões de IFI do FAN HEp-2 em pacientes com doença inativa/atividade leve (SLEDAI 2K 0-5) e em pacientes com moderada/alta atividade (SLEDAI 2K \geq 6).
- 4) Determinar especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia do FAN HEp-2 no diagnóstico de atividade em pacientes com LES.

6 MÉTODO

6.1 Delineamento do estudo

Estudo de corte transversal descritivo e analítico realizado no serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), no período de janeiro de 2018 a dezembro de 2018.

Figura 4. Delineamento da pesquisa.



6.2 Local de realização do estudo

Este projeto de pesquisa foi elaborado no programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e a pesquisa foi desenvolvida no ambulatório de LES do serviço de Reumatologia do HC/UFPE. Cerca de 500 pacientes com diagnóstico de LES são acompanhados no ambulatório com atendimentos semanais de 40 a 50 pacientes.

6.3 População do estudo

A população estudada foi de pacientes acompanhados no ambulatório do HC/UFPE no período de janeiro a dezembro de 2018, com diagnóstico clínico de LES e que preenchiam os critérios de inclusão e exclusão listados abaixo.

a) Critérios de inclusão

- Idade acima de 18 anos.
- Diagnóstico de LES pelos critérios de classificação ACR 1997 e/ou SLICC 2012 (PETRI et al., 2012; HOCHBERG, 1997).
- Assinatura do TCLE.

b) Critérios de exclusão

- Gravidez.
- Infecção no momento da coleta dos dados.
- Diagnóstico de neoplasia nos últimos 5 anos.
- Ter superposição de outra doença autoimune reumatológica.
- Uso atual de ciclofosfamida venosa.

c) Tipo e processo de Amostragem

Para o cálculo da amostra foi utilizado como base o estudo de Paz et al. (2007), que realizou a relação do FAN-ELISA com o SLEDAI em 71 pacientes com LES. Este estudo tinha um desenho semelhante ao do nosso trabalho e estava publicado na ocasião da concepção do nosso trabalho. Foi detectada uma diferença mínima entre os níveis de FAN-ELISA no grupo com atividade e sem atividade de 3,1, com um desvio padrão no grupo atividade de 4,6 ($p=0,004$). Utilizando-se um nível de significância de 95% e um poder do teste de 80%, o tamanho da amostra calculado foi de 28 pacientes em cada grupo.

6.4 Definição e categorização das variáveis

a) Definição dos termos

- Lúpus Eritematoso Sistêmico

Definição teórica	Definição operacional
Doença inflamatória de etiologia multifatorial ocasionada por perda da auto tolerância imunológica com formação de autoanticorpos e imunocomplexos que se depositam em diversos órgãos ocasionando manifestações clínicas em múltiplos sistemas.	Presença de pelo menos 04 (quatro) dos 11 (onze) critérios do ACR 1997, conforme Anexo A, em qualquer momento da doença e/ou a presença de 04 (quatro) dos 17 (dezessete) critérios do SLICC 2012, conforme Anexo B, sendo pelo menos 01 (um) critério clínico e 01

	(um) critério imunológico em qualquer momento durante o curso da doença.
--	--

b) Operacionalização e categorização das variáveis

Variável Dependente	Definição Teórica	Definição Operacional	Categorização
FAN HEp-2	Variável qualitativa categórica e quantitativa discreta.	Obtida através da análise da amostra sanguínea pela técnica de imunofluorescência indireta, cujos resultados foram comparados com os valores de referência.	Foi avaliado de três formas: Quanto a positividade: (1) Positivo (2) Negativo Quanto ao padrão: nuclear homogêneo (1), pontilhado grosso (2), pontilhado fino (3), pontilhado fino denso (4); mistos (5); outros (6). Quanto aos títulos: Foi considerada a diluição máxima sendo iniciado em 1/160 até 1/5120
Variáveis Independentes	Definição Teórica	Definição Operacional	Categorização
Sexo	Variável qualitativa dicotômica	Obtida através da entrevista ou registro de prontuário	(1) Feminino (2) Masculino
Idade	Variável quantitativa contínua	Obtida através da entrevista ou registro de prontuário	Expressa em anos completos
Tempo de diagnóstico	Variável quantitativa contínua	Obtida através da entrevista ou registro de prontuário	Expressa em meses completos
SLEDAI 2K(<i>Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000</i>)	Variável quantitativa contínua e qualitativa categórica.	Obtida através da entrevista e dados laboratoriais	Foi avaliada de duas formas: -Expressa em pontuação de 0-105 como variável contínua -Categorizada de acordo com o valor:

			0 – 5 doença inativa/baixa atividade (1)
			≥6 moderada/ alta atividade de doença (2)
Medicações específicas em uso	Variável qualitativa categorica	Obtida através da entrevista ou registro de prontuário	(1) prednisona (2) hidroxicloroquina (3) metotrexato (4) azatioprina (5) talidomida (6) ciclosporina (7) micofenolato de mofetil (8) belimumabe

6.5 Métodos de coleta de dados

No período de janeiro a dezembro de 2018 os pacientes atendidos no ambulatório de Reumatologia que preenchiam os critérios de inclusão e exclusão foram convidados a participar pesquisa. Os pacientes foram esclarecidos acerca dos objetivos do estudo e das condições necessárias à participação e solicitou-se a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) [APÊNDICE A] àqueles que aceitaram ingressar na pesquisa. No dia da inclusão no estudo, analisou-se o prontuário de cada paciente com os dados clínicos e laboratoriais prévios relacionados ao LES e foi realizada avaliação clínica atual por médico pesquisador para preenchimento dos dados clínicos do SLEDAI 2K. Os dados foram registrados em ficha clínica [APÊNDICE B] elaborada para este fim. No momento da entrevista, foram coletados 30ml de sangue periférico do paciente. As amostras foram centrifugadas para a extração do soro sendo em seguida armazenadas em alíquotas de 3ml e congeladas a -60° C. Posteriormente, todas as amostras foram enviadas a laboratório para pesquisa do FAN HEp-2, proteínas do sistema complemento (C3/C4/CH50) e autoanticorpos (anti-DNA, anti-Sm, anti-Ro e anti-La).

Para pesquisa do FAN HEp-2 foi utilizado o *kit* comercial NOVA Lite® HEp-2 ANA da fabricante INOVA *Diagnostics* (Estados Unidos da América) com ponte de corte de títulos de 1/160 até a diluição máxima. Para mensuração de C3 e C4 foi utilizado o método imunoturbidométrico com valores de referência de normalidade 90 a 180 mg/100ml e 10 a 40 mg/100ml, respectivamente. O CH50 foi dosado pelo método de imunohemólise com níveis de 180 a 360 U 50%H/ml considerados normais. O anti-DNA foi realizado por imunofluorescência (IF) em *Chritidia* e títulos a partir de 1/20 foram considerados positivos.

O anti-Ro, anti-La e anti-Sm foram dosados pelo método de fluorezimaensaio e níveis sérico acima de 10U/mL foram considerados positivos. As técnicas utilizadas para a realização dos exames seguiram as recomendações do fabricantes dos *kits* comerciais utilizados. Todos os exames foram realizados no mesmo laboratório e um único examinador avaliou os resultados da IFI do FAN HEp-2. Os dados clínicos e os resultados laboratoriais foram tabulados em um planilha do programa Microsoft Excel 2016.

6.6 Análise estatística

Foi realizada análise descritiva dos resultados, por grupo (inatividade/baixa atividade e moderada/alta atividade) utilizando-se a frequência absoluta e relativa das variáveis categóricas e a média (com desvio padrão) ou mediana (com intervalo interquartil) para as variáveis contínuas. As associações foram testadas através do teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher a depender do tamanho da amostra; correlações foram verificadas através do teste de Spearman ou Pearson. Foi utilizado o teste de Kruskal Wallis 2 para comparação de grupos. Resultados com $p < 0,05$ foram considerados significativos. Para o cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia, utilizamos o SLEDAI2K ≥ 6 como padrão ouro para definir atividade de doença. Foi utilizado o Software GraphPad Prism para Windows para cálculo dos resultados.

6.7 Aspectos éticos

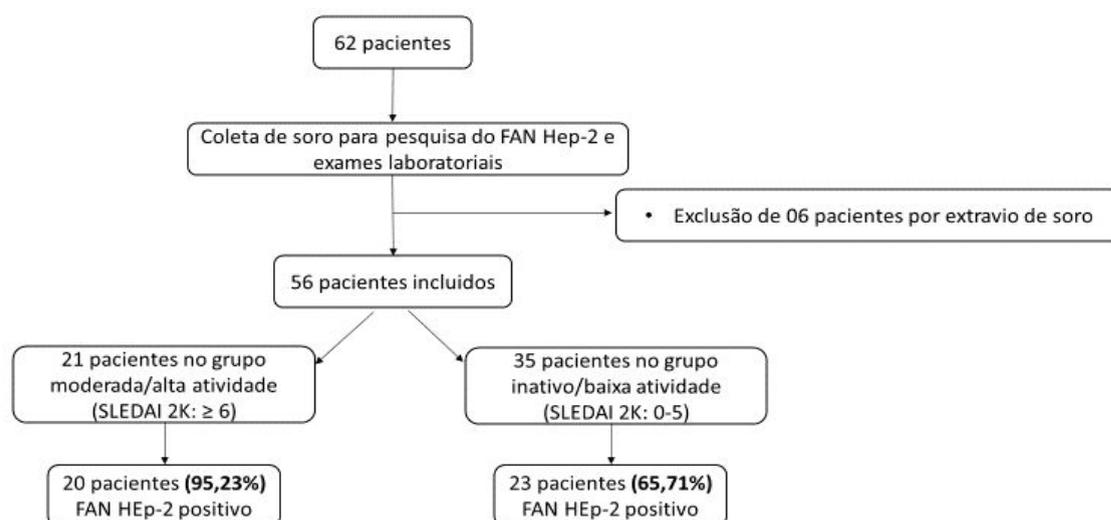
Este estudo observou os princípios norteadores da pesquisa envolvendo seres humanos, conforme a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012). Os pacientes foram informados sobre os objetivos estabelecidos e assinaram o TCLE (APÊNDICE A), concordando em participar voluntariamente do estudo e foi garantido o seu anonimato e o direito às informações sobre a pesquisa, bem como o direito de desistir de participar desta a qualquer momento.

Este projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE), e aprovado sob número 2.264.414 (ANEXO A). Os dados foram armazenados em computador pessoal da pesquisadora principal e se manterão armazenados por um período mínimo de 05 anos. Todos os custos referentes à pesquisa foram de responsabilidade dos pesquisadores.

7 RESULTADOS

Foram avaliados 56 pacientes, sendo 55 (98,21%) do sexo feminino. A média de idade foi de 38 anos ($DP \pm 10,7$) e o tempo de doença teve mediana de 84 meses (IIQ: 36-132). Na avaliação do total dos pacientes o SLEDAI 2K teve mediana de 2 (IIQ: 0-8) e as manifestações de atividade mais prevalentes foram consumo de complemento em 18 pacientes, (32,14%) nefrite em 15 (26,78%), anti-DNA em 15 (26,78%), *rash* em 9 (16,07%) e alopecia em 8 (14,28%). Todos os pacientes tinham história de positividade do FAN mas encontramos, na pesquisa atual, 13 pacientes (23,21%) com FAN HEp-2 negativos. As manifestações prévias mais comuns do LES foram artrite em 43 pacientes (76,8%), *rash* malar em 35 (62,5%) e manifestações hematológicas em 35 (62,5%).

Figura 5. Fluxograma do estudo.



Em relação às características demográficas, os pacientes do grupo moderada/alta atividade eram mais jovens com média de idade de 33 anos ($DP \pm 9,7$) enquanto os pacientes do grupo inativo/baixa atividade tinham média de idade de 41 anos ($DP \pm 10,3$) [$p=0,005$]. Além disso, as pacientes do grupo inativo/baixa atividade tinham significativamente um maior tempo de diagnóstico de LES, com mediana de 112 meses (IIQ: 48-136) enquanto o grupo moderada/alta atividade tinha mediana de 60 meses

(IIQ:24-96) [Tabela 1]. Não houve diferença entre os grupos em termos de manifestações clínicas e autoanticorpos prévios relacionados ao LES (Tabela 1)

Tabela 1. Características demográficas, manifestações clínicas e sorológicas prévias dos pacientes com LES de acordo com o grupo de atividade.

	Atividade						p
	Total (n=56)		Moderada/alta (n=21)		Inativo/baixa (n=35)		
Características demográficas							
Sexo feminino	55 (98,21%)		20 (95,23%)		35 (100%)		0,952
Idade (anos)*	38 (DP±10,7)		33 (DP±9,7)		41 (DP±10,3)		0,005
Tempo de doença (meses)**	84 (IIQ: 36-132)		60 (IIQ: 24-96)		112 (IIQ: 48-136)		0,024
SLEDAI 2K**	2 (IIQ: 0-8)		8 (IIQ: 8-10)		0 (IIQ: 0-2)		<0,001
Manifestações	N	%	N	%	N	%	P
Rash malar	35	62,5	12	57,1	23	65,7	0,521
Rash discóide	6	10,7	2	9,5	4	11,4	0,823
Fotosensibilidade	25	44,6	9	42,8	15	42,8	1,000
Artrite	43	76,8	17	80,9	26	74,3	0,567
Úlceras orais	20	35,7	6	28,6	14	40,0	0,388
Serosite	14	25	5	23,8	9	25,7	0,873
Hematológica	35	62,5	12	57,1	23	65,7	0,521
Renal	29	51,8	12	57,1	17	48,6	0,534
Neurológica	4	7,1	1	4,7	3	8,6	0,592
Anticorpos	N	%	N	%	N	%	P
FAN	56	100	21	100	35	100	1,000
Anti-DNA	20	35,7	9	42,8	11	31,4	0,388
Anti-Sm	6	10,7	4	19,0	2	5,7	0,118
Antifosfolípidios	0	-	0	-	0	-	-

*Valores expressos em média. DP: desvio padrão / **Valores expressos em mediana. IIQ: intervalo interquartil./ FAN: fator antinuclear / LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico / SLEDAI 2K: *Systemic Lupus Erythematosus Activity Index 2000*

Em relação ao tratamento específico para o LES, não houve diferença entre os grupos quanto ao uso de medicações, com exceção da prednisona que era mais utilizada no grupo de pacientes em moderada/alta atividade quando comparados ao grupo inativo/baixa atividade (Tabela 2).

Tabela 2. Medicações específicas para o LES em pacientes de acordo com o grupo de atividade.

Medicações	Atividade						P
	Total		Moderada/alta		Inativo/baixa		
	(n=56)		(n=21)		(n=35)		
	N	%	n	%	N	%	
Prednisona	27	48,21	17	80,95	10	28,57	<0,001
Hidroxicloroquina	45	80,35	16	76,19	29	82,85	0,512
Azatioprina	11	19,64	3	14,28	8	22,85	0,434
MMF	21	37,50	9	42,85	12	34,28	0,521
Metotrexato	10	17,86	4	19,05	6	17,14	0,857
Ciclosporina A	4	7,14	2	9,52	2	5,71	0,592
Talidomida	1	1,78	1	4,76	0	=	0,193

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico / MMF: Micofenolato de mofetil / SLEDAI 2K: *Systemic Lupus Erythematosus Activity Index 2000*

Na avaliação do FAN HEp-2, a frequência de pacientes em moderada/alta atividade no grupo com FAN HEp-2 positivo foi significativamente maior que a dos pacientes inativos/atividade baixa ($p=0,024$).

Tabela 3. Distribuição de pacientes com LES com atividade alta/moderada e pacientes inativos/baixa atividade de acordo com a positividade do FAN HEp-2.

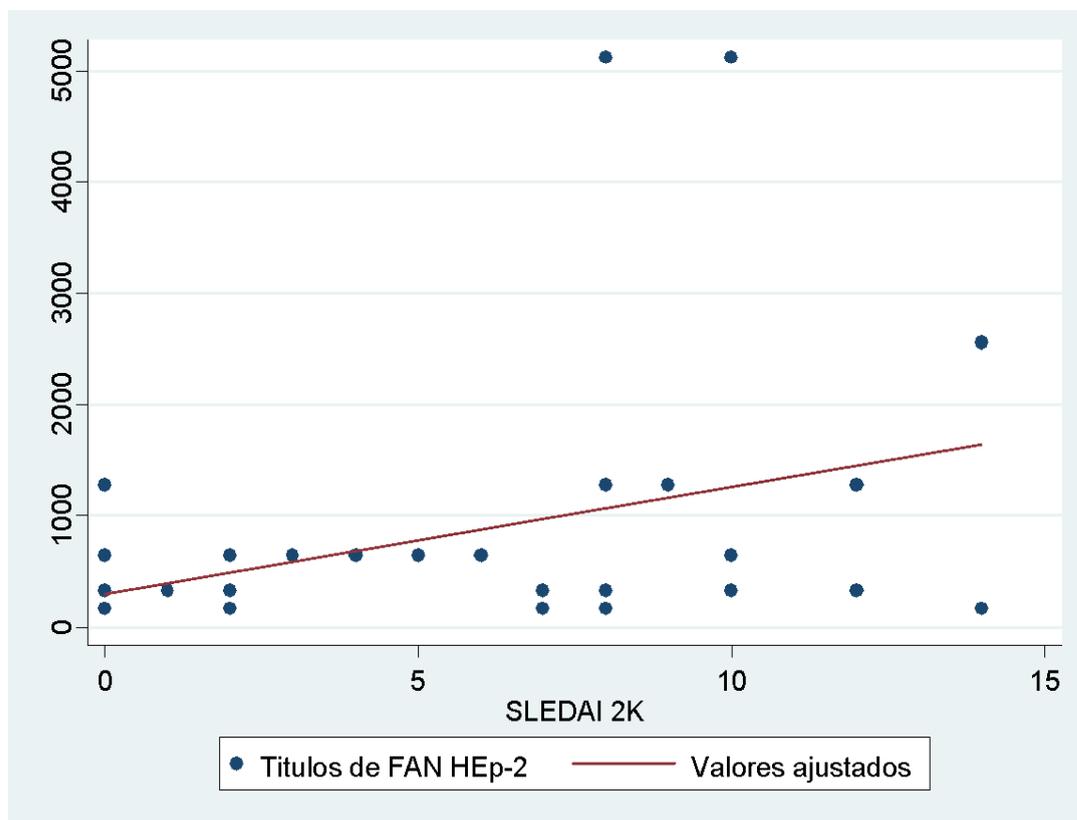
	Atividade	
	Moderada/alta	Inativo/baixa
FAN HEp-2 positivo	20 (95,23%)	23 (65,71%)
FAN Hep-2 negativo	01 (4,76%)	12 (34,28%)
Total	21	35

$p=0.024$ / FAN: fator antinuclear / LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico

Na avaliação dos títulos do FAN HEp-2, naqueles que tiveram o exame positivo, não houve diferença significativa entre os grupos. O grupo atividade moderada/alta teve mediana de títulos de 1/640 (IIQ: 1/320-1/1280) e o grupo inativo/baixa atividade teve

mediana de 1/320 (IIQ: 1/160-1/640) com $p=0,461$. Na análise geral dos pacientes, foi observada uma correlação positiva fraca, porém significativa entre os títulos do FAN HEp-2 e os valores do SLEDAI 2K, ($r: 0,429$ e $p=0,0041$), conforme demonstrado na Figura 6.

Figura 6. Gráfico da correlação entre os títulos de FAN HEp-2 e os valores numéricos do SLEDAI 2K em pacientes com LES.



LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico / SLEDAI 2K: *Systemic Lupus Erythematosus Activity Index 2000*

Quanto aos padrões de IFI do FAN HEp-2, encontrou-se: padrão nuclear pontilhado fino (NPF) em 16 pacientes (37,21%), nuclear pontilhado fino denso (NPFd) em 10 (23,26%), nuclear homogêneo (NHo) em 9 (20,93%), nuclear pontilhado grosso (NPG) em 5 (11,63%) e padrões mistos em 3 (6,98%). Quando foi realizada a avaliação dos padrões de IFI quanto aos grupos de atividade encontramos diferenças significativas na distribuição dos padrões entre os grupos ($p=0,038$). Não houve diferenças entre os grupos de nenhum dos padrões isoladamente (Tabela 4).

Tabela 4. Padrões de imunofluorescência indireta em pacientes com LES, FAN HEp-2 positivos, de acordo com o grupo de atividade.

Padrão	Atividade				n	P
	Moderada/alta		Inativa/baixa			
	(n=20)		(n=23)			
	n	%	n	%		
NPFD	6	60	4	40	10	0,542
NPF	4	25	12	75	16	0,112
NHO	6	66,66	3	33,33	9	0,122
NPG	4	80	1	20	5	0,108
Misto	0	-	3	100	3	0,454

FAN: fator antinuclear, IFI: imunofluorescência indireta; LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; NPFD: nuclear pontilhado fino denso; NPF: nuclear pontilhado fino; NHO: nuclear homogêneo; NPG: nuclear pontilhado grosso; **p=0.038**

Quando agrupamos os padrões nuclear homogêneo e o nuclear pontilhado grosso, persistiu a diferença global entre os padrões, com $p=0,02$ (Tabela 5). Mas houve diferença significativa entre a frequência dos padrões agrupados (NPG + NHO) nos dois grupos (71,43% X 28,57%, $p = 0,011$).

Tabela 5. Padrões de imunofluorescência indireta em pacientes com LES, FAN HEp-2 positivos, de acordo com o grupo de atividade, agrupando-se os padrões NHO e NPG.

Padrão	Atividade				N	P
	Moderada/alta		Inativa/baixa			
	(n=20)		(n=23)			
	n	%	N	%		
NPFD	6	60	4	40	10	0,542
NPF	4	25	12	75	16	0,112
NPG + NHO	10	71,43	4	28,57	5	0,011
Misto	0	-	3	100	3	0,454

FAN: fator antinuclear, IFI: imunofluorescência indireta; LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; NPFD: nuclear pontilhado fino denso; NPF: nuclear pontilhado fino; NHO: nuclear homogêneo; NPG: nuclear pontilhado grosso; **p=0.02**

Em relação a performance da positividade do FAN HEp-2 como teste para diagnosticar atividade no LES, utilizando o SLEDAI 2K ≥ 6 como teste padrão-ouro, encontrou-se uma sensibilidade de 95,23%, valor preditivo negativo de 92,31% com razão de verossimilhança negativa de 0,139 (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e razão de verossimilhança positiva e negativa do FAN HEp-2 para a

avaliação da atividade de doença em pacientes com LES utilizando o SLEDAI 2K \geq 6 como padrão ouro.

Validade	%	IC 95%
Sensibilidade	95,23	76,2-99,9
Especificidade	34,29	19,1-52,2
VPP	46,51	31,2-62,3
VPN	92,31	63,9-99,8
RVP	1,45	1,12-1,87
RVN	0,14	0,02-0,99

FAN: fator antinuclear/ IC: intervalo de confiança/ LES: lúpus eritematoso sistêmico/ RVN: razão de verossimilhança negativa/ RVP: razão de verossimilhança positiva/ SLEDAI: *Systemic Lupus Erythematosus Activity Index 2000*/ VPN: valor preditivo negativo/VPP: valor preditivo positivo.

Foram avaliados os autoanticorpos anti-DNA, anti-Sm, anti-Ro e anti-La no momento da coleta clínica e não houve diferença nas suas frequências entre os grupos de atividade, mas houve uma tendência a maior prevalência do anti-DNA nos pacientes em moderada/alta atividade. O consumo de proteínas do sistema complemento foi associado à atividade de doença, mas não à nefrite ou a outras manifestações de atividade específicas (Tabela 7).

Tabela 7: Autoanticorpos e consumo de proteínas do sistema complemento dos pacientes com LES de acordo com o grupo de atividade.

	Atividade						p
	Total		Moderada/alta		Inativo/baixa		
	(n=56)		(n=21)		(n=35)		
Anticorpos	n	%	n	%	n	%	
Anti-DNA	15	26,78	10	47,62	5	14,28	0,06
Anti-Sm	10	17,85	6	28,57	4	11,42	0,105
Anti-Ro	22	47,62	7	33,33	15	42,86	0,480
Anti-La	7	12,5	2	9,52	5	14,28	0,602
Consumo de complemento	n	%	n	%	n	%	
C4, C3 ou CH50	18	32,14	13	61,90	5	14,28	<0,001
C4	12	21,43	12	57,14	0	==	<0,001
C3	16	28,57	11	52,38	5	14,28	0,002
CH50	14	25	10	47,62	4	11,43	0,002

8 DISCUSSÃO

Nosso estudo encontrou uma maior frequência FAN HEp-2 positivo e padrões NHo e NPG em pacientes com atividade moderada/alta quando comparados aos pacientes com doença inativa/baixa atividade.

Em relação às características do LES, os pacientes dos grupos atividade moderada/alta e doença inativa/baixa atividade não eram diferentes quanto às manifestações clínicas e sorológicas prévias da doença, sendo, portanto, comparáveis. Apesar disso, os pacientes com doença inativa/baixa atividade tinham um maior tempo de doença e idade mais elevada na comparação entre os grupos. Essa diferença provavelmente ocorreu porque o LES tem, mais comumente, manifestações mais graves nos primeiros anos de doença e há tendência a redução do SLEDAI com o tratamento e seguimento da doença (ALJOHANI et al., 2017). No estudo de Sjöwall e colaboradores (2008) os pacientes com FAN HEp-2 negativo tinha o diagnóstico de LES há 20 anos enquanto a maior parte dos pacientes com FAN HEp-2 positivo tinha o diagnóstico há 30 anos. Baseado nesses trabalhos, acreditamos que o tempo de doença não tenha influência na positividade do FAN HEp-2, porém, tenha influência nos valores do SLEDAI 2K. Não há dados até o momento sobre a influência da idade na positividade do FAN HEp-2 ou no SLEDAI 2K nos pacientes com LES.

Não houve diferenças quanto ao uso de hidroxicloroquina e imunossuppressores entre os grupos, mas houve uma maior utilização de prednisona no grupo de moderada/alta atividade. É sabido que a prednisona é um tratamento utilizado em *flares* da doença e é esperado que pacientes em atividade clínica utilizem a droga numa maior frequência do que aqueles com doença inativa/baixa atividade (DURCAN, O'DWYER, PETRI, 2019). Não foi observada relação entre uso de qualquer medicação e a positividade do FAN HEp-2, mas é possível que o maior uso da prednisona no grupo moderada/alta atividade tenha influenciado nos resultados do FAN HEp-2 nesse grupo. A utilização do SLEDAI 2KG, (TOUMA et. Al., 2018) que considera o uso dos corticosteroides para a classificação dos pacientes, poderia ser mais adequado na nossa população. Entretanto, o SLEDAI 2KG ainda não foi validado em relação a outros instrumentos de atividade e em populações internacionais e, por esse motivo, optamos por não usá-lo na nossa avaliação.

Quanto ao FAN HEp-2, encontramos que os pacientes com LES e moderada/alta atividade de doença (SLEDAI 2K \geq 6) têm mais frequentemente o FAN HEp-2 positivo quando comparados aos pacientes com doença inativa/baixa atividade (SLEDAI 2K 0-5).

Houve um frequência de 23,21% do FAN HEp-2 negativo, a maior parte no grupo inativo/baixa atividade.

Estudo americano de 2008 que avaliou pacientes com LES estabelecido, encontrou 24% de FAN HEp-2 negativo, quando título de corte era 1/200 e 16%, quando o título de corte era de 1/50. Houve associação do FAN HEp-2 negativos com SLEDAI <4 e do FAN HEp-2 positivo com SLEDAI >4. (SJÖWALL et al, 2008). A elevada frequência de FAN HEp-2 negativo em pacientes com LES estabelecido também foi demonstrada Pisetsky e colaboradores (2018) que realizaram o exame com 3 *kits* comerciais diferentes. O FAN HEp-2 foi negativo em 4,9 a 22,3% dos pacientes a depender do *kit* utilizado. Nesse estudo, o resultado negativo em algum dos *kits* foi associado a menos alterações sorológicas de atividade (consumo de complemento e positividade do anti-DNA) quando comparados aos pacientes com FAN HEp-2 definitivamente positivo. Os objetivos desses estudos não foram a avaliação da associação do FAN HEp-2 com a atividade da doença, porém, os resultados foram concordantes com aqueles encontrados na nossa casuística.

Por outro lado, estudo brasileiro de 2016, com desenho semelhante ao presente estudo, que avaliou a correlação das características do FAN HEp-2 com a atividade da doença, encontrou uma frequência de apenas 3,7% de exames negativos nos 269 pacientes estudados (PRADO et al., 2016). Esses resultados são diferentes aos encontrados no nosso estudo e podem ter ocorrido pela utilização de *kits* comerciais diferentes como também pelo ponto de corte do título adotado para se estabelecer o FAN HEp-2 como positivo. No nosso estudo, utilizou-se a titulação inicial de 1/160 para a pesquisa do FAN HEp-2 enquanto Prado e colaboradores (2016) utilizaram a titulação inicial de 1/80. Sabe-se que quando se utiliza títulos de 1/80 há perda da especificidade do exame, pois é um título mais frequente em indivíduos sem DRAI (MARIZ et al., 2011), e frequentemente, não se valoriza resultados positivos dessa magnitude na prática clínica. Entretanto, há um pequeno grupo de pacientes com LES e outras DRAI que apresentam apenas títulos mais baixos do FAN HEp-2 e é possível que uma parcela dos pacientes que apresentaram FAN HEp-2 negativo no nosso estudo tivesse resultados positivos se utilizássemos uma titulação inicial de 1/80 ou 1/40.

Apesar disso, acreditamos que os nossos resultados se justificam visto que, em pacientes sem atividade do LES, há menos formação de imunocomplexos e menos autoanticorpos circulantes, como comprovadamente ocorre com o anti-DNA e o anti-nucleossomo. É possível, portanto, que o FAN HEp-2, como representação laboratorial de diversos autoanticorpos, tenha uma menor positividade em pacientes com doença

inativa ou baixa atividade, como foi demonstrado pelo nosso estudo. Acreditamos que a informação de que o FAN HEp-2 pode sofrer variação junto à atividade da doença é relevante em casos de dúvida diagnóstica naqueles pacientes que foram diagnosticados com LES, mas não apresentam manifestações clínicas atuais. É possível que, em uma reavaliação clínica, o FAN HEp-2 esteja negativo e esse achado não implicaria, necessariamente, em um diagnóstico prévio equivocado da doença.

Quando se avaliou os títulos do FAN HEp-2, não se observou diferenças nas medianas entre os grupos de atividade, porém houve correlação positiva fraca entre os títulos e os valores do SLEDAI 2K. Dois estudos prévios (PRADO et. Al., 2016; VIALARD et. al., 2001) encontram associação entre os títulos do FAN HEp-2 a atividade da doença nos pacientes com LES, com títulos mais elevados demonstrados nos grupos ativos. No nosso estudo, tendo em vista a correlação fraca encontrada, consideramos que os títulos foram semelhantes entre os grupos de atividade. É possível que a diferença não tenha sido detectada por conta do tamanho da amostra ou pela elevada frequência de FAN HEp-2 negativos no nosso estudo.

Em relação às demais características do resultado do exame, houve diferença entre os grupos na distribuição dos padrões do FAN HEp-2 e maior prevalência dos padrões homogêneo e pontilhado grosso quando agrupados nos pacientes com moderada/alta atividade. O padrão nuclear homogêneo está relacionado a autoanticorpos que definitivamente se relacionam com a atividade da doença (anti-nucleossomo e anti-DNA) e provavelmente, por esse motivo, os pacientes em atividade da doença tiveram uma tendência a maior prevalência desse padrão. No estudo de Prado e colaboradores (2016), o padrão homogêneo foi significativamente mais prevalente no grupo atividade quando comparado aos pacientes do grupo remissão. Nesse estudo, o padrão nuclear pontilhado fino teve uma tendência a ser mais prevalente no grupo remissão e os pacientes com esse padrão tinham um SLEDAI menor quando comparados aos pacientes que tiveram o padrão homogêneo na pesquisa do FAN HEp-2.

Esses resultados foram semelhantes aos encontrados pelo nosso trabalho que encontrou uma diferença significativa geral entre os padrões e maior prevalência de padrões definitivamente relacionados ao LES (padrão homogêneo e nuclear pontilhado grosso) nos pacientes em moderada/alta atividade. Esses resultados sugerem que, além da positividade, o padrão da IFI no resultado do FAN HEp-2 pode contribuir para definir se há atividade de doença na avaliação do pacientes com LES.

Adicionalmente, destacamos que encontramos uma elevada prevalência do padrão NPFD, usualmente descrito em população sem DRAI (MARIZ et al., 2011), na nossa população. É recomendado que o padrão NPFD exclua o diagnóstico de DRAI em um contexto de positividade do anticorpo correspondente, DFS70, e na ausência de autoanticorpos específicos de DRAI (DAMOISEAUX et. al., 2019). Como não foi realizado um perfil completo de anticorpos na nossa amostra não podemos definir qual o significado da elevada frequência desse padrão na nossa casuística.

Na análise da positividade do FAN HEp-2 como teste diagnóstico utilizando o SLEDAI 2K ≥ 6 como padrão-ouro, encontramos uma elevada sensibilidade (95,23%) e alto valor preditivo negativo (92,31%). A RVN foi de 0,14, o que indica que o teste tem acurácia moderada quando o exame for negativo. A RVP, por sua vez, foi baixa, o que mostra que o FAN HEp-2 positivo não tem uma boa acurácia diagnóstica (FERREIRA; PATINO, 2018). Pode-se afirmar, portanto, que o teste negativo é uma boa ferramenta clínica para descartar atividade em pacientes com LES, mas o teste positivo não deve ser utilizado para definir atividade da doença. Acreditamos que esses resultados são relevantes naquelas situações onde há dúvida se os sintomas clínicos são decorrentes de atividade da doença ou de comorbidades, por exemplo. O achado de FAN HEp-2 negativo nesse contexto poderá contribuir na exclusão do diagnóstico de atividade e evitará imunossupressão desnecessária.

Na avaliação dos autoanticorpos dosados no momento da coleta clínica, anti-DNA, anti-Ro, anti-La e anti-Sm, não houve diferença entre os grupos, mas houve uma tendência a uma maior frequência do anti-DNA no grupo moderada/alta atividade ($p=0,06$). O presença do anti-DNA está reconhecidamente associado à atividade da doença e pode não ter sido possível observar a diferença entre os grupos por conta do pequeno tamanho da amostra. Além disso, é possível que alguns pacientes do grupo inativo/baixa atividade tivessem atividade sorológica, com anti-DNA positivo, apesar de não manifestarem alterações clínicas mais significativas. Era esperado que os grupos apresentassem frequências semelhantes dos demais autoanticorpos, visto que eles, reconhecidamente, não sofrem variação com a atividade da doença (PROVOST, 1991; ARROYO-ÁVILA, M. et al, 2015). O consumo das proteínas do sistema complemento, por outro lado, está comprovadamente relacionado com a atividade da doença e o nosso estudo demonstrou a associação entre o consumo de C4, C3 e CH50 com a atividade do LES, conforme amplamente descrito na literatura (TRUEDSSON et al, 2007; GLADMAN et al., 2000; GRIFFITHS, MOSCA, GORDON, 2005).

A principal limitação do nosso estudo é a avaliação transversal dos pacientes, não sendo possível avaliar o comportamento do FAN HEp-2 de acordo com a atividade em um mesmo paciente. O tamanho da amostra foi uma limitação na avaliação dos títulos e padrões do FAN HEp-2 visto que o cálculo da amostra foi baseado em uma estudo de FAN por ELISA que não tem as mesmas características do FAN HEp-2. Além disso, a adoção do ponto de corte de 1/160 como titulação inicial para definir a positividade do FAN HEp-2 pode ter influenciado na elevada frequência de exames negativos no nosso trabalho. Estudos com uma avaliação longitudinal, maior número de pacientes e uma menor titulação corte podem ser necessários para confirmar os resultados do nosso estudo.

9 CONCLUSÕES

Os pacientes com LES com moderada/alta atividade apresentam mais frequentemente FAN HEp-2 positivo quando comparados aos pacientes com doença inativa/baixa atividade. Os títulos de FAN HEp-2, por sua vez, não foram diferentes entre o grupo moderada/alta atividade quando comparados a grupo com inativo/baixa atividade. A distribuição dos padrões do FAN HEp-2 foi diferente entre os grupos e os pacientes com moderada/alta atividade tiveram mais frequentemente os padrões nuclear homogêneo e nuclear pontilhado grosso.

Como teste diagnóstico de atividade, o FAN HEp-2 tem uma RVN com acurácia moderada e uma RVP com acurácia nula. O FAN HEp-2 quando negativo é, portanto, um bom exame para descartar o diagnóstico de atividade em pacientes com LES mas o exame positivo não deve ser utilizado como teste para definir atividade nesses pacientes.

Conclui-se, portanto, que o FAN HEp-2 tem características diferentes de acordo com a atividade da doença e é possível que ele possa ser utilizado, na prática clínica, como parâmetro de atividade em pacientes com LES.

REFERÊNCIAS

ABRAHAMOWICZ, M. et al. The relationship between disease activity and expert physician's decision to start major treatment in active systemic lupus erythematosus: a decision aid for development of entry criteria for clinical trials. **The Journal of Rheumatology**, v. 25 (2), p. 277-84, 1998.

ALJOHANI, R. et al. Disease evolution in late-onset and early-onset systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 26, p. 1190–1196, 2017.

ARINGER, M. et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 0, p. 1-13, 2019.

ARROYO-ÁVILA, M. et al. Clinical associations of anti-Smith antibodies in PROFILE: a multi-ethnic lupus cohort. **Clinical Rheumatology**, v. 34(7), p. 1217–1223, 2015.

AZZOUZ, D. et al. Lupus nephritis is linked to disease-activity associated expansions and immunity to a gut commensal. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 78, p. 947-956, 2019.

BEYAN, E. et al. The relationship between serum ferritin levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 32(4), p. 225-8, 2003.

BİRTANE, M. Diagnostic Role of Anti-Nuclear Antibodies in Rheumatic Diseases. **Turkish Journal of Rheumatology**, v. 27 (2), p. 78-89, 2012.

BOLIGNANO, D., et. al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 52, p. 595–605, 2008.

BOMBARDIER, C. et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. **Arthritis and Rheumatism**, v. 35(6), p. 630–640, 1992.

BRUNNER, H. et. al. Association of noninvasively measured renal protein biomarkers with histologic features of lupus nephritis. **Arthritis and Rheumatology**, v. 64, p. 2687–2697, 2012.

CAIRNS, S. A.; LONDON, A.; MALLICK, N. P. The value of three immune complex assays in the management of systemic lupus erythematosus: an assessment of immune complex levels, size and immunochemical properties in relation to disease activity and manifestations. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 40(2), p. 273–282, 1980.

CECCARELLI, F. et al. Assessment of disease activity in Systemic Lupus Erythematosus: Lights and shadows. **Autoimmunity Reviews**, v. 14 (7), p. 601-608, 2015.

COLGLAZIER, C.L.; SUTEJ, P.G. Laboratory testing in the rheumatic diseases: a practical review. **The Southern Medical Journal**, v. 98, p 185-91, 2005.

CONTI, F. et al. Systemic Lupus Erythematosus with and without Anti-dsDNA Antibodies: Analysis from a Large Monocentric Cohort. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 6, 2015

COOK, R.J. et al., Prediction of short term mortality in systemic lupus erythematosus with time dependent measures of disease activity. **The Journal of Rheumatology**, v. 27 (8), p. 1892-1895, 2000.

COSTENBADER, K. H., et al. Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. **Arthritis and Rheumatology**, v. 56, p. 1251–1262, 2007.

COSTI, L. R. et al. Mortalidade por lúpus eritematoso sistêmico no Brasil: avaliação das causas de acordo com o banco de dados de saúde do governo. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 57, n. 6, p. 574-582, dez., 2017

CRISPIN, J. et. al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. **Journal of Immunology**, v. 181, p. 8761–8766, 2008.

CRISPIN, J., TSOKOS, G. IL-17 in systemic lupus erythematosus. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2010.

CROW, M. K.; OLFERIEV, M.; KIROU, K. A. Targeting of type I interferon in systemic autoimmune diseases. **Translational Research**, v. 165, p. 296–305, 2015.

CRUVINEL, W. M. et. al. V Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on hep-2 cells. **Advances in Rheumatology**, v. 59, p. 11, 2019.

DAMOISEAUX, J. et. al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. **Annals of Rheumatic Diseases**, v. 78, p.879-889, 2019.

DELLAVANCE, A; ANDRADE, L. E. C. Como interpretar e valorizar adequadamente o teste de anticorpos antinúcleo. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 3, p. 157-168, junho, 2007.

DIEKER, J. et al. Autoantibodies against Modified Histone Peptides in SLE Patients Are Associated with Disease Activity and Lupus Nephritis. **PLoS One**, v. 11 (10), 2016.

DIMA, A.; JURCUT, C; BAICUS. The impact of anti-U1-RNP positivity: systemic lupus erythematosus versus mixed connective tissue disease C. **Rheumatology International**, v. 38, p. 1169, 2018.

DORIA, A. et al. Optimizing outcome in SLE: treating-to-target and definition of treatment goals. **Autoimmunity Reviews**, v. 13(7), p. 770-7, 2014.

DURCAN, L.; O'DWYER, T.; PETRI, M. Management strategies and future directions for systemic lupus erythematosus in adults. **The Lancet**, v. 393, p. 2332-2443, jun., 2019.

EGGLETON, P. et al. Autoantibodies against C1q as a Diagnostic Measure of Lupus Nephritis: Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of Clinical and Cellular Immunology**, v. 5 (2), p. 510, 2014.

EGNER, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. **Journal of Clinical Pathology**, v. 53(6), p. 424-32, 2000.

FERREIRA, J. C.; PATINO, C. M. Entendendo os testes diagnósticos. Parte 3. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, p. 4-4, 2018.

FRANCESANTONIO, P. L. C. et al. IV Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 54, n. 1, p. 44-50, 2014.

FRITZLER, M. J.; Tan, E.M. Antibodies to histone in drug-induced and idiopathic lupus erythematosus. **Journal of Clinical Investigation**, v. 62, p. 560-567, 1978.

FURIE, R. A. et al., A phase 2, randomised, placebo-controlled clinical trial of blisibimod, an inhibitor of B cell activating factor, in patients with moderate-to-severe systemic lupus erythematosus, the PEARL-SC study. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 74, p. 1667-1675, 2015.

GAO, H. et. al. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells. **Cytokine** v. 46, p. 24–35, 2009.

GEGENAVA, M. et al. Performance of the proposed ACR–EULAR classification criteria for systemic lupus erythematosus (SLE) in a cohort of patients with SLE with neuropsychiatric symptoms. **RMD Open**, v. 5, p. e000895, 2019.

GLADMAN, D. D.; IBAÑEZ, D.; UROWITZ, M. B. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. **The Journal of Rheumatology**, v. 29 (2), p. 299-291, fev., 2002.

GLADMAN, D.D. et al. Accurately describing changes in disease activity in systemic lupus erythematosus. **The Journal of Rheumatology**, v. 27(2), p. 377–379, 2000;

GONZALEZ, L. A.; TOLOZA, S. M.; ALARCON, G. S. Impact of race and ethnicity in the course and outcome of systemic lupus erythematosus. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 40, p. 2433–2438, 2014.

GORELIK, G. et al. Impaired T cell protein kinase C δ activation decreases ERK pathway signaling in idiopathic and hydralazine-induced lupus. **The Journal of Immunology**, v. 179, p. 5553–5563, 2007.

GRAHAM, R. R. et al. Specific combinations of HLA-DR2 and DR3 class II haplotypes contribute graded risk for disease susceptibility and autoantibodies in human SLE. **European Journal of Human Genetics**, v. 15, p. 823–830, 2007.

GRIFFITHS, B.; MOSCA, M.; GORDON, C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**, v. 19(5), p. 685-708, 2005.

GUSTAFSSON, J. T. et al. Risk factors for cardiovascular mortality in patients with systemic lupus erythematosus, a prospective cohort study. **Arthritis Research and Therapy**, v. 14, p. 46, 2012.

GUZMÁN, J. et al. Measurement of disease activity in systemic lupus erythematosus. Prospective validation of 3 clinical indices. **The Journal of Rheumatology**, v. 19(10), p.1551-8, 1992.

HARGRAVES, M. M. Production in vitro of the LE cell phenomena induced by lupus erythematosus plasma. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 24 (9), p. 234-7, 1949.

HARGRAVES, M. M.; RICHMOND, H.; MORTON, R. Presentation of two bone marrow elements: The "tart" cell and the "L.E." cell. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 23(2), p. 25-8, 1948.

HASERICK, J. R.; BORTZ, D. W. Normal bone marrow inclusion phenomena induced by lupus erythematosus plasma. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 13(2), p. 47-9, 1949.

HAY, E.M. et al. The BILAG index: a reliable and valid instrument for measuring clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. **Quarterly Journal of Medicine**, v. 86(7), p. 447-58, 1993;

HOCHBERG, M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 40, p. 1725, 1997.

HUGHES, T. et. al. DNA methylome in human CD4+ T cells identifies transcriptionally repressive and non-repressive methylation peaks. **Genes Immunology**, v. 11, p. 554–560, 2010.

JAMES, J. A. Clinical perspectives on lupus genetics: advances and opportunities. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 40, p. 413–432, 2014.

KAUL, A. et al. Systemic lupus erythematosus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 1-21, jun., 2016.

KAVANAUGH, A.F.; SOLOMON, D. H. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing: Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. **Arthritis and Rheumatology**, v. 47(5), p. 546-55, 2002.

KIANI, A. et. al. Urine osteoprotegerin and monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis. **Journal of Rheumatology**, v. 36, p. 2224–2230, 2009.

KOUTOUZOV, S. et al. Nucleosomes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 30, p. 529–58, 2004.

LANDOLT-MARTICORENA, C. et. al. Lack of association between the interferon-alpha signature and longitudinal changes in disease activity in systemic lupus erythematosus. **Annals of Rheumatic Diseases** v. 68, p. 1440–1446, 2009.

LIANG, M. et al. Reliability and validity of six systems for the clinical assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 32, p. 1107-18, 1989.

LIM, M. K. et al. Serum ferritin as a serologic marker of activity in systemic lupus erythematosus. **Rheumatology International**, v. 20 (3), p. 89-93, 2001.

LIM, S. S. et al. The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus, 2002–2004: the Georgia Lupus Registry. **Arthritis and Rheumatology**, v. 66, p. 357–368, 2014.

- LITTLEJOHN, E. et al. The ratio of erythrocyte sedimentation rate to C-reactive protein is useful in distinguishing infection from flare in systemic lupus erythematosus patients presenting with fever. **Lupus**, v. 27 (7), p. 1123-1129, 2018.
- LIU, C.C. et al. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, v. 5(4), p. 210–233, 2013.
- LUGER, K., DECHASSA, M., TREMETHICK, D. New insights into nucleosome and chromatin structure: an ordered state or a disordered affair? **Nature Reviews of Molecular Cellular Biology** v. 13, p. 436–447, 2012.
- MARIZ, H. A. et al. Pattern on the Antinuclear Antibody–HEp-2 Test Is a Critical Parameter for Discriminating Antinuclear Antibody–Positive Healthy Individuals and Patients With Autoimmune Rheumatic Disease. **Arthritis and Rheumatology**, v. 63(1), p. 191-200, 2011.
- MOK, C. C.; KWOK, R. C.; YIP, P. S. Effect of renal disease on the standardized mortality ratio and life expectancy of patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 65, p. 2154–2160, 2013.
- MOK, C.C.; LAU, C. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Journal of Clinical Pathology**, v. 56 (7), p. 481-490, jul., 2003.
- NAKASHIMA, C. A. et al. Incidence and clinical-laboratory aspects of systemic lupus erythematosus in a Southern brazilian city. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, p. 231-239, 2011.
- NAVARRA, S.V. et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. **The Lancet**, v. 377, p. 721-731, 2011.
- NG, K.P. et al. Association of antinucleosome antibodies with disease flare in serologically active clinically quiescent patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 55 (6), p. 900-4, 2006.
- PAZ, E. et al. Antinuclear antibodies measured by enzyme immunoassay in patients with systemic lupus erythematosus: relation to disease activity. **Rheumatology International**, v. 27, p. 941–945, 2007.
- PETRI, M. et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 64, p. 2677–2686, 2012.
- PETRI, M.; GOLDMAN, D.; MAGDER, L.S. Validation of Proposed EULAR/Acr SLE Classification Criteria Versus SLICC SLE Classification Criteria [abstract]. **Arthritis and Rheumatology**, v. 70 (sup. 10), 2018;
- PISETSKY, D. S. Anti-DNA antibodies—quintessential biomarkers of SLE. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 12, p. 102-110, 2015.
- PISETSKY, D. S. et al. Assay variation in the detection of antinuclear antibodies in the sera of patients with established SLE. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 77, p. 911-3, 2018.

- PODOLSKA, M. J. et al. Inflammatory etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus: an update. **Journal of Inflammation Research**, v. 8, p. 1161–1171, 2015.
- PRADHAN, V.D.; PATWARDHAN, M. M.; GHOSH, K. Anti-nucleosome antibodies as a disease marker in systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity and other autoantibodies. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 76(2), p. 145-9, 2010.
- PRADO, M.S. et al. Immunofluorescence Pattern and Titer of the Antinuclear Antibody Test Correlate with Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus [abstract]. **Arthritis and Rheumatology**, v 68 (sup. 10), 2016.
- PRICE, P. et al. The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological diseases. **Immunological Reviews**, v. 167, p. 257–274, 1999.
- PROVOST, T. T. Anti-Ro(SSA) and Anti-La(SSB) Antibodies in Lupus Erythematosus and Sjögren's Syndrome. **The Keio Journal of Medicine**, v. 40 (2), p. 72-7, 1991.
- ROSE, T. et. al. IFN alpha and its response proteins, IP-10 and SIGLEC-1, are biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus. **Annals of Rheumatic Diseases**, 2012.
- SANTER, D. M. et al. C1q deficiency leads to the defective suppression of IFN- α in response to nucleoprotein containing immune complexes. **The Journal of Immunology**, v. 185, p. 4738–4749, 2010.
- SAWALHA, A. H.; HARLEY, J. B. Antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 16 (5), p. 534-40, 2004.
- SCOFIELD, R. H. et al. Klinefelter's syndrome (47,XXY) in male systemic lupus erythematosus patients: support for the notion of a gene-dose effect from the X chromosome. **Arthritis and Rheumatology**, v. 58, p. 2511–2517, 2008.
- SENNA, E.R. et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. **The Journal of Rheumatology**, v. 31, p. 594-597, 2004.
- SILVA, G. G. et al. Implementation of the ANA HEp-2 consensus guidelines in Brazilian clinical laboratories. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 53 (6), p.368-376, 2017.
- SIMÓN, J. A. et al. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. **Rheumatology**, v. 43 (2) p. 220-224, fev., 2004.
- SJÖWALL, C. et al. Abnormal Antinuclear Antibody Titers Are Less Common Than Generally Assumed in Established Cases of Systemic Lupus Erythematosus. **The Journal of Rheumatology**, v. 35 (10), p.1934-2000, 2008.
- SOMERS, E. C. et al. Population-based incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance program. **Arthritis and Rheumatology**, v. 66, p. 369–378, 2014.

SUN, X. Y. et al. Anti-histones antibodies in systemic lupus erythematosus: Prevalence and frequency in neuropsychiatric lupus. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 22, p. 271-7, 2008.

TAN, E. M. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatology**, v. 25, p. 1271–1277, 1982.

TOUMA Z. et. al. A novel lupus activity index accounting for glucocorticoids: SLEDAI-2K glucocorticoid index. **Rheumatology**, v. 57, p. 1370-1376, 2018.

TOUMA, Z. et al. SLEDAI-2K 10 days versus SLEDAI-2K 30 days in a longitudinal evaluation. **Lupus**, v. 20 (1), p. 67-70, 2011.

TRIPATHY, R.; PANDA, A.K.; DAS, B.K. Serum ferritin level correlates with SLEDAI scores and renal involvement in SLE. **Lupus**, v. 24(1), p. 82-9, 2015.

TRUEDSSON, L. et al. Complement deficiencies and systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity**, v. 40, p. 560–566, 2007.

URIBE, A. G. et al., The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. **Journal of Rheumatology**, v. 31 (10), p. 1934-1940, 2004.

UROWITZ, M. B. et al. American College of Rheumatology criteria at inception, and accrual over 5 years in the SLICC inception cohort. **Journal of Rheumatology**, v. 41, p. 875–880, 2014.

VIALARD, J. F. et al. HLA-DR expression on lymphocyte subsets as a marker of disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 125 (3), p. 485-491, 2001.

VILAR, M.J.; SATO, E.I. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). **Lupus**, v.11, p. 528-532, 2002.

WAHREN, M. et al. Ro/SS-A and La/SS-B Antibody Level Variation in Patients with Sjögren's Syndrome and Systemic Lupus Erythematosus. **Journal of Autoimmunity**, v. 11, p. 29–38, 1998.

WARD, M. M. Laboratory testing for systemic rheumatic diseases. **Postgraduate Medicine**, v. 103(2), p. 93-100, 1998.

WEITZMAN R. J.; WALKER S.E. Relation of titred peripheral pattern ANA to anti-DNA and disease activity in systemic lupus erythematosus. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 36, p. 44-49, 1977.

YADAV, P. et al. Antibodies elicited in response to EBNA-1 may cross-react with dsDNA. **PLoS ONE**, v. 6, p. e14488, 2011.

YURKOVICH, M. et al. Overall and cause-specific mortality in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis of observational studies. **Arthritis Care and Research**, v. 66, p. 608–616, 2014.

ZHANG, Z. et. al. Global H4 acetylation analysis by CHIP-chip in systemic lupus erythematosus monocytes. **Genes Immunology**, v. 11, p.124–133, 2010.

ZHANG, Z. et. al. The role of IL-23/IL-17 axis in lupus nephritis. **Journal of Immunology**, v. 183, p. 3160–3169, 2009.

ZIRWAS M.J.; KRESS, D.W.; DENG, J. The Utility of Antihistone Antibody Screening in the Diagnosis of Drug-Induced Lupus Erythematosus. **Archives of Dermatology**, v. 140(4), p. 494–495, 2004.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa (título completo da pesquisa), que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Mariana Souza Pessoa de Luna, Rua Le Parc, n 100, Imbiribeira – Recife/PE CEP: 51160-035, Tel: (81)988096981, Email: marianasouzapl@gmail.com. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Angela Luzia Branco Pinto Duarte (Email: angelabduarte@hotmail.com, Tel: (81) 999288550), Henrique de Ataíde Mariz (E-mail: henriquemariz@yahoo.com.br, Tel: (81)991272300) e está sob a orientação de: Claudia Diniz Lopes Marques (email: claudia.reumatologia@gmail.com, Tel: (81) 992945459).

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde com a realização do estudo pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Você está sendo convidado a participar dessa pesquisa porque tem o diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistêmico e está sendo acompanhado no Hospital da Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE). O título da pesquisa é AVALIAÇÃO DE POSITIVIDADE, TÍTULO E PADRÃO DO FAN HEP-2 EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DE ACORDO COM A AVITIDADE DA DOENÇA e o nosso objetivo é esclarecer se os níveis do FAN podem se alterar quando a doença está ativa. É importante que se estabeleça essa relação para que nós tenhamos mais ferramentas para identificar quando o Lúpus está em atividade e, assim, tratar a doença mais efetivamente.

Essas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste trabalho, no qual o senhor (a) responderá um questionário sobre dados da sua doença, hábitos de vida e medicamentos em uso. Para a avaliação do FAN e de auto-anticorpos

(anti-DNA, complemento (c3,c4,ch50), anti-nucleossoma, anti-RO, anti-LA, anti-SM,anti-RNP) em laboratório, será coletada 20 ml de sangue da veia do antebraço com agulha e seringa estéreis (procedimento igual ao que é realizado para a coleta de exames de rotina). Poderá ocorrer acidente de punção com formação de um hematoma (área arroxeadada na pele) no local, que na maioria dos casos desaparece totalmente após alguns dias sem necessidade de tratamento. Quanto ao estudo no laboratório, poderemos fornecer os resultados, ao final da análise.

Em nenhum momento, a sua identificação será divulgada, sendo as informações obtidas apenas analisadas em conjunto com outros pacientes, permanecendo garantido o direito de confidencialidade. Os resultados deste estudo serão apresentados em congressos, conferências ou em revistas médicas, mas não aparecerá seu nome. Suas informações nunca serão divulgadas, permanecerão confidenciais.

Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em pastas de arquivo na sala 133 do serviço de Reumatologia e em banco de dados no computador do pesquisador, sob a responsabilidade de Mariana Souza Pessoa de Luna, na Av Prof de Moraes Rego 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, setor de Reumatologia, sala 133, por um período mínimo de 05 anos.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

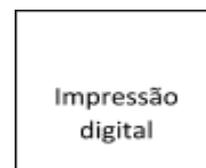
(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo _____ AVALIAÇÃO DE POSITIVIDADE, TÍTULO E PADRÃO DO FAN HEP-2 EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DE ACORDO COM A AVITIDADE DA DOENÇA como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento.

Local e data: _____

Assinatura do participante: _____



Impressão
digital

(opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE B - FICHA CLÍNICA PARA COLETA DE DADOS

 Hospital das Clínicas UFPE	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO HOSPITAL DAS CLÍNICAS SERVIÇO DE REUMATOLOGIA	DATA: __/__/____ Registro: _____
Instrumento de coleta de dados para avaliação do FAN Hep-2 como marcador de atividade no LES		
1. Dados sócio-demográficos		
1.1. Nome:	1.2. DN: __/__/__	
1.3. Telefone:	1.4. Cidade:	1.5. Idade:
1.6. Sexo: 1.F() 2.M()	1.7 Tempo de doença:	
2. Critérios de LES		
2.1 ACR (1997)		
1.Eritema Malar ()	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo	
2.Lesão discoide ()	Lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia	
3.Fotossensibilidade ()	Exantema cutâneo como reação não-usual à exposição à luz solar, de acordo com a história do paciente ou observado pelo médico	
4.Úlceras orais/nasais ()	Úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico	
5.Artrite ()	Não-erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular	
6.Serosite ()	Pleurite (caracterizada por história convincente de dor pleurítica, atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentado por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico)	
7. Comprometimento renal ()	Proteinúria persistente (> 0,5 g/dia ou 3+) ou cilindrúria anormal	
8. Alterações neurológicas ()	Convulsão (na ausência de outra causa) ou psicose (na ausência de outra causa)	
9. Alterações hematológicas ()	Anemia hemolítica ou leucopenia (menor que 4.000/mm ³ em duas ou mais ocasiões) ou linfopenia (menor que 1.500/mm ³ em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que 100.000/mm ³ na ausência de outra causa)	
10. Alterações imunológicas ()	Anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm ou presença de anticorpo antifosfolípide com base em: a) níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina; b) teste positivo para anticoagulante lúpico; ou c) teste falso-positivo para sífilis, por, no mínimo, seis meses	
11. Anticorpos antinucleo ()	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta (IFI) ou método equivalente, em	

	qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas		
2.2 SLICC (2012)			
Critérios clínicos			
1. Lúpus cutâneo agudo ()		Incluindo eritema malar (exceto eritema malar discoide), lúpus bolhoso, necrose epidérmica tóxica variante do LES, eritema maculopapular do lúpus, eritema fotossensível do lúpus (na ausência de dermatomiosite) ou lúpus cutâneo subagudo (lesões psoriasiformes e/ou anulares policíclicas que resolvem sem deixar cicatriz, embora ocasionalmente com despigmentação pós-inflamatória ou telangiectasias)	
2. Lúpus cutâneo crônico ()		Eritema discoide clássico, lúpus hipertrófico (verrucoso), paniculite lúpica, lúpus pernioso, lúpus de mucosa, lúpus tumidus, sobreposição de lúpus discoide / líquen plano	
3. Úlceras orais ()		Palato, boca e língua; ou úlceras nasais (na ausência de outras causas como vasculite, Doença de Behçet, infecção herpética, Doença inflamatória intestinal, artrite reativa)	
4. Alopecia não-cicatricial ()		Na ausência de outras causas como medicações, alopecia areata, deficiência de ferro e alopecia androgênica	
5. Sinovite ()		Envolvendo duas ou mais articulações, com edema ou derrame articular ou artralgia em duas ou mais articulações, e rigidez matinal de pelo menos 30 minutos	
6. Serosite ()		Pleurisia típica por mais de um dia ou derrame pleural ou atrito pleural ou dor pericárdica típica por mais de um dia ou efusão pericárdica ou atrito pericárdico ou ECG com sinais de pericardite (na ausência de outras causas como infecção, uremia e Síndrome de Dressler)	
7. Renal ()		Relação proteína / creatinina urinárias (ou proteinúria de 24h) representando ≥ 500 mg de proteína nas 24h, ou cilindros hemáticos	
8. Neurológico ()		Convulsão, psicose, mielite; mononeurite multiplex / neuropatia cranial ou periférica / estado confusional agudo (na ausência de outras causas conhecidas)	
9. Anemia Hemolítica ()			
10. Leucopenia (<4000) ou linfopenia (<1000) ()		Pelo menos uma vez, na ausência de outra causa conhecida	
11. Trombocitopenia (<100.000) ()		Na ausência de outra causa conhecida	
Critérios imunológicos			
12. FAN positivo ()		Acima dos valores de referência do laboratório	
13. anti-DNA nativo positivo ()		Acima dos valores de referência do laboratório, exceto ELISA: duas vezes acima dos valores de referência do laboratório	
14. anti-SM positivo ()			
15. Anticorpo anti-fosfolipede positivo ()		Anticoagulante lúpico, falso positivo para sífilis, moderados ou altos títulos de anticardiolipina (IgA, IgM ou IgG), anti- β 2 glicoproteína I (IgA, IgM ou IgG)	
16. Complemento consumido ()		Consumo de CH50, C3 ou C4	
17. Teste de Coombs direto positivo ()		Na ausência de anemia hemolítica	
3. Medicações específicas em uso			
3.1. Hidroxicloroquina ()	3.2. Azatioprina ()	3.3. Micofenolato de Mofetil ()	3.4. Ciclofosfamida ()
3.5. Metorexate ()	3.6. Talidomida ()	3.7. Belimumabe ()	3.8. Prednisona ()
3.9. Outros ()			
4. Avaliação de atividade de doença (SLEDAI2K)			
Valor	Manifestação	Definição	

8	Convulsão	Aparecimento recente*. Exclusão de causas metabólicas, infecciosas ou medicamentosas.
8	Psicose	Alteração severa da atividade normal acompanhada de alteração da percepção da realidade. Compreende: alucinações, incoerência, pensamento ilógico, comportamento bizarro, desorganização ou catatonia. Exclusão de insuficiência renal ou causa medicamentosa.
8	Comprometimento cerebral	Alteração das funções mentais com distúrbios de orientação, da memória ou outra de aparecimento súbito. Exclusão de causas infecciosas, metabólica ou medicamentosa.
8	Distúrbios visuais	Nódulos, hemorragia retiniana exsudato seroso ou hemorragia coroidiana, neurite óptica. Exclusão de causas hipertensivas, medicamentosas ou infecciosas.
8	Nervos cranianos	Neuropatia sensitiva ou motora de aparecimento recente atingindo um nervo craniano
8	Cefaléia	Severa e persistente, podendo ser migranosa, resistente aos analgésicos comuns.
8	AVC	Acidente vascular cerebral recente, excluída arteriosclerose.
8	Vasculite	Ulcerações, gangrena, nódulos digitais dolorosos, infartos peri-ungueais ou prova histológica ou arteriográfica de vasculite.
4	Artrite	Mais de duas articulações dolorosas com sinais inflamatórios locais (dor, edema ou rigidez articular).
4	Miosite	Dor/fraqueza muscular proximal associada à uma elevação de CK ou aldolase ou à modificações eletromiográficas ou à uma biópsia mostrando sinais de miosite.
4	Cilindros urinários	Cilindros de glóbulos vermelhos
4	Hematúria	> 5 hemácias / campo ausência de litíase, infecção ou outra causa.
4	Proteinúria	> 0,5 g/24h. Aparecimento recente ou piora recente de mais de 0,5g/24h
4	Piúria	> 5 leucócitos/ campo na ausência de infecção
2	Rash	Aparecimento recente ou recidiva de uma erupção cutânea inflamatória
2	Alopécia	Aparecimento recente ou recidiva de uma alopecia em placa ou difusa
2	Úlceras mucosas	Aparecimento recente ou recidiva de úlceras orais ou nasais
2	Pleurisia	Dor torácica de origem pleural com atrito, derrame ou espessamento pleural.
2	Pericardite	Dor pericárdica com ao menos uma das manifestações seguintes: atrito, derrame ou confirmação eletrográfica ou ecográfica.
2	Complemento	Diminuição do CH50, C3 ou C4
2	Anti-DNA	Positividade superior à taxa normal do laboratório
1	Febre	> 38º na ausência de causa infecciosa
1	Leucopenia	< 3000 leucócitos na ausência de causa medicamentosa
1	Plaquetopenia	< 100.000 plaquetas na ausência de causa medicamentosa
5. Exames imunológicos		
FAN		
Positivo ()	Título:	Padrão:
Negativo ()		

Autoanticorpos:

**ANEXO A - CRITÉRIOS CLASSIFICATÓRIOS DE LES - AMERICAN COLLEGE OF
RHEUMATOLOGY (ACR), 1997**

Critério	Descrição
1. Eritema malar	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo
2. Lesão discoide	Lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia
3. Fotossensibilidade	Exantema cutâneo como reação não-usual à exposição à luz solar, de acordo com a história do paciente ou observado pelo médico
4. Úlceras orais/nasais	Úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico
5. Artrite	Não-erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular
6. Serosite	Pleurite (caracterizada por história convincente de dor pleurítica, atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentado por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico)
7. Comprometimento renal	Proteinúria persistente (> 0,5 g/dia ou 3+) ou cilindrúria anormal
8. Alterações neurológicas	Convulsão (na ausência de outra causa) ou psicose (na ausência de outra causa)
9. Alterações hematológicas	Anemia hemolítica ou leucopenia (menor que 4.000/mm ³ em duas ou mais ocasiões) ou linfopenia (menor que 1.500/mm ³ em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que 100.000/mm ³ na ausência de outra causa)
10. Alterações imunológicas	Anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm ou presença de anticorpo antifosfolípide com base em: a) níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina; b) teste positivo para anticoagulante lúpico; ou c) teste falso-positivo para sífilis, por, no mínimo, seis meses
11. Anticorpos antinúcleo	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta (IFI) ou método equivalente, em qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas

**ANEXO B - CRITÉRIOS CLASSIFICATÓRIOS DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO -
SYSTEMIC LUPUS INTERNATIONAL COLLABORATING CLINICS, 2012**

Critérios Clínicos	Descrição
1. Lúpus cutâneo agudo	Incluindo eritema malar (exceto eritema malar discoide), lúpus bolhoso, necrose epidérmica tóxica variante do LES, eritema maculopapular do lúpus, eritema fotossensível do lúpus (na ausência de dermatomiosite) ou lúpus cutâneo subagudo (lesões psoriasiformes e/ou anulares policíclicas que resolvem sem deixar cicatriz, embora ocasionalmente com despigmentação pós-inflamatória ou telangiectasias)
2. Lúpus cutâneo crônico	Eritema discoide clássico, lúpus hipertrófico (verrucoso), paniculite lúpica, lúpus pernioso, lúpus de mucosa, lúpus tumidus, sobreposição de lúpus discoide / líquen plano
3. Úlceras orais	Palato, boca e língua; ou úlceras nasais (na ausência de outras causas como vasculite, Doença de Behçet, infecção herpética, Doença inflamatória intestinal, artrite reativa)
4. Alopecia não-cicatricial	Na ausência de outras causas como medicações, alopecia areata, deficiência de ferro e alopecia androgênica
5. Sinovite	Envolvendo duas ou mais articulações, com edema ou derrame articular ou artralgia em duas ou mais articulações, e rigidez matinal de pelo menos 30 minutos
6. Serosite	Pleurisia típica por mais de um dia ou derrame pleural ou atrito pleural ou dor pericárdica típica por mais de um dia ou efusão pericárdica ou atrito pericárdico ou ECG com sinais de pericardite (na ausência de outras causas como infecção, uremia e Síndrome de Dressler)
7. Renal	Relação proteína / creatinina urinárias (ou proteinúria de 24h) representando ≥ 500 mg de proteína nas 24h, ou cilindros hemáticos
8. Neurológico	Convulsão, psicose, mielite; mononeurite multiplex / neuropatia cranial ou periférica / estado confusional agudo (na ausência de outras causas conhecidas)
9. Anemia hemolítica	
10. Leucopenia $<4.000/mm^3$ ou linfopenia $<1.000/mm^3$	Pelo menos uma vez, na ausência de outra causa conhecida
11. Trombocitopenia $<100.000/mm^3$	Na ausência de outra causa conhecida
Critérios Imunológicos	Descrição

1. FAN positivo	Acima dos valores de referência do laboratório
2. Anti-DNA nativo positivo	Acima dos valores de referência do laboratório, exceto ELISA*: duas vezes acima dos valores de referência do laboratório
3. Anti-Sm positivo	
4. Anticorpo Antifosfolípide positivo	Anticoagulante lúpico, falso positivo para sífilis, moderados ou altos títulos de anticardiolipina (IgA, IgM ou IgG), anti- β 2 glicoproteína I (IgA, IgM ou IgG)
5. Complemento consumido	Consumo de CH50, C3 ou C4
6. Teste de Coombs direto positivo	Na ausência de anemia hemolítica

ANEXO C - CRITÉRIO DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO - COLÉGIO AMERICANO DE REUMATOLOGIA/LIGA EUROPÉIA CONTRA O REUMATISMO, 2019

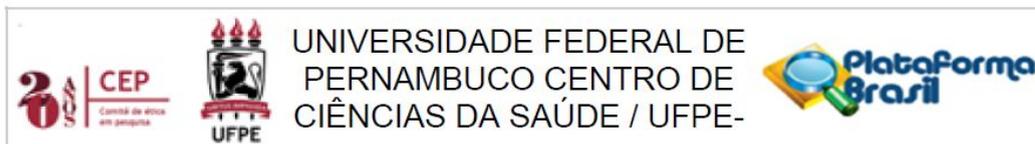
Critério de entrada: História de FAN HEp-2 positivo com IFI \geq 1/80	
Domínio	Pontuação
Domínio constitucional: Febre inexplicada $> 38.3^{\circ}$ C	2
Domínio mucocutâneo: <ul style="list-style-type: none"> • Alopecia não-cicatricial • Úlceras orais • Lúpus cutâneo subagudo ou discóide • Lúpus cutâneo agudo 	2 2 4 6
Domínio articular: Sinovite em ≥ 2 articulações ou artralgia ≥ 2 articulações ou rigidez matinal ≥ 30 minutos.	6
Domínio neurológico: <ul style="list-style-type: none"> • Delirium • Psicose • Convulsão 	2 3 5
Domínio serosite: <ul style="list-style-type: none"> • Derrame pleural ou pericárdico • Pericardite aguda 	5 6
Domínio hematológico: <ul style="list-style-type: none"> • Leucopenia • Plaquetopenia • Anemia hemolítica autoimune 	3 4 4
Domínio renal: <ul style="list-style-type: none"> • Proteinúria $>0.5g/24hrs$ • Biópsia renal com Nefrite classe II ou V • Biópsia renal com Nefrite classe III ou IV 	4 8 10
Domínio antifosfolípide: Presença de anticorpo anticardiolipina em títulos médios a altos ou anticorpo anti-beta2-glicoproteína I ou anticoagulante lúpico	2
Domínio das proteínas do complemento: <ul style="list-style-type: none"> • Consumo de C3 ou C4 • Consumo de C3 e C4 	3 4
Domínio de anticorpo específicos: <ul style="list-style-type: none"> • Anti-DNAs • Anti-Smith 	6 6

**ANEXO D - SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS DISEASE ACTIVITY 2000
(SLEDAI2K)**

Valor	Manifestação	Definição
8	Convulsão	Aparecimento recente*. Exclusão de causas metabólicas, infecciosas ou medicamentosas.
8	Psicose	Alteração severa da atividade normal acompanhada de alteração da percepção da realidade. Compreende: alucinações, incoerência, pensamento ilógico, comportamento bizarro, desorganização ou catatonia. Exclusão de insuficiência renal ou causa medicamentosa.
8	Comprometimento cerebral	Alteração das funções mentais com distúrbios de orientação, da memória ou outra de aparecimento súbito. Exclusão de causas infecciosas, metabólica ou medicamentosa.
8	Distúrbios visuais	Nódulos, hemorragia retiniana exsudato seroso ou hemorragia coroidiana, neurite óptica. Exclusão de causas hipertensivas, medicamentosas ou infecciosas.
8	Nervos cranianos	Neuropatia sensitiva ou motora de aparecimento recente atingindo um nervo craniano
8	Cefaléia	Severa e persistente, podendo ser migranosa, resistente aos analgésicos comuns.
8	AVC	Acidente vascular cerebral recente, excluída arteriosclerose.
8	Vasculite	Ulcerações, gangrena, nódulos digitais dolorosos, infartos peri-ungueais ou prova histológica ou arteriográfica de vasculite.
4	Artrite	Mais de duas articulações dolorosas com sinais inflamatórios locais (dor, edema ou rigidez articular).
4	Miosite	Dor/fraqueza muscular proximal associada à uma elevação de CK ou aldolase ou à modificações eletromiográficas ou à uma biópsia mostrando sinais de miosite.
4	Cilindros urinários	Cilindros de glóbulos vermelhos
4	Hematúria	> 5 hemácias / campo ausência de litíase, infecção ou outra causa.
4	Proteinúria	> 0,5 g/24h. Aparecimento recente ou piora recente de mais de 0,5g/24h
4	Piúria	> 5 leucócitos/ campo na ausência de infecção
2	Rash	Aparecimento recente ou recidiva de uma erupção cutânea inflamatória
2	Alopécia	Aparecimento recente ou recidiva de uma alopecia em placa ou difusa
2	Úlceras mucosas	Aparecimento recente ou recidiva de úlceras orais ou nasais
2	Pleurisia	Dor torácica de origem pleural com atrito, derrame ou espessamento pleural.
2	Pericardite	Dor pericárdica com ao menos uma das manifestações seguintes: atrito, derrame ou confirmação eletrográfica ou ecográfica.
2	Complemento	Diminuição do CH50, C3 ou C4
2	Anti-DNA	Positividade superior à taxa normal do laboratório
1	Febre	> 38° na ausência de causa infecciosa
1	Leucopenia	< 3000 leucócitos na ausência de causa medicamentosa
1	Plaquetopenia	< 100.000 plaquetas na ausência de causa medicamentosa

*Aparecimento nos últimos 10 dias.

ANEXO E - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO FATOR ANTINUCLEAR (FAN HEP-2) COMO MARCADOR DE ATIVIDADE DE DOENÇA EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.

Pesquisador: Mariana Souza Pessoa de Luna

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 71557317.0.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.264.414

Apresentação do Projeto:

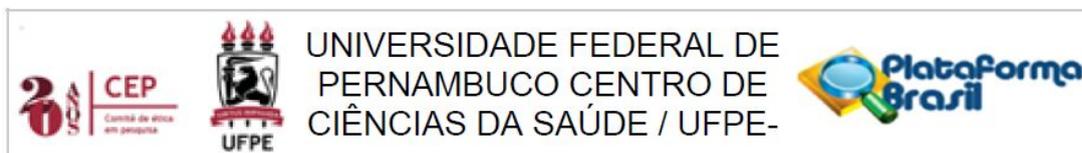
Trata-se de um projeto de pesquisa da mestranda Mariana Souza Pessoa de Luna, orientado pela Dr^a. Claudia Diniz Lopes Marques e co-orientado por Dr. Henrique de Ataíde Mariz e pela Dr^a. Maira Galdino da Rocha Pitta, com a finalidade de obtenção do título de Mestrado em Ciências da Saúde.

A positividade do FAN HEP-2 está incluída entre os critérios de classificação do LES (ACR 1997 e SLICC 2012) e sua importância para o diagnóstico da doença está bem estabelecida, sendo encontrado em até 90-98% dos pacientes.

Após o diagnóstico de LES, o principal desafio no manejo da doença é o monitoramento de parâmetros de atividade afim de se estabelecer precocemente a conduta terapêutica mais adequada para cada manifestação clínica.

Na prática clínica, particularmente na vigência de infecção, dano estrutural e comorbidades, a avaliação da atividade no LES pode se tornar desafiadora. Neste contexto, novos parâmetros laboratoriais que se correlacionem com a atividade no LES

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.264.414

são necessários para contribuir com as decisões terapêuticas.

Esse estudo propõe, portanto, analisar a positividade, os títulos e os padrões do FAN Hep-2 em pacientes com LES em atividade e fora de atividade afim de identificar um possível novo marcador de doença ativa nesses pacientes.

Será realizado um corte transversal descritivo, analítico e observacional no serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas (HC/UFPE), com pacientes acima de 18 anos e com diagnóstico de LES.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Avaliar o desempenho do FAN Hep-2 como marcador de atividade de doença no LES.

Objetivos específicos:

Descrever a positividade do FAN Hep-2, títulos e padrões de IFI em pacientes com LES.

Comparar a positividade, os títulos e padrões de IFI do FAN Hep-2 em pacientes com LES com e sem atividade de doença.

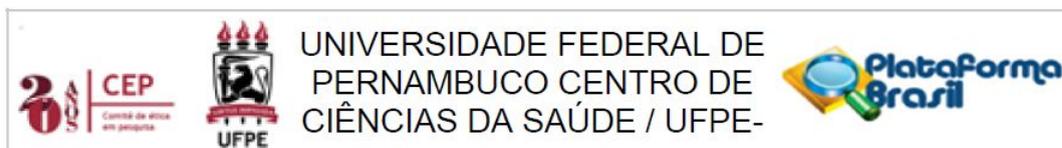
Avaliar a correlação dos padrões de IFI do FAN Hep-2 e a presença de seus autoanticorpos correspondentes.

Determinar especificidade, sensibilidade e razão de probabilidade do FAN Hep-2 na avaliação de atividade, bem como valor preditivo positivo e negativo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Existe o risco de constrangimento, ocasionado pela entrevista ou pela espera para realização dos procedimentos da pesquisa. Para minimizar estes riscos o paciente será atendido em uma sala fechada, com ar-condicionado, com a presença apenas do pesquisador que irá realizar a entrevista, e seu atendimento e coleta de sangue serão

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.264.414

priorizados.

Será coletado 30 ml de sangue da veia do antebraço com agulha e seringa estéreis e há risco de hematoma ou sangramento local inerente à coleta. O procedimento será realizado por profissional treinado para minimizar qualquer complicação. O paciente será orientado sobre como proceder no caso de complicação relacionada ao procedimento. Além disso, existe risco de constrangimento no procedimento de coleta de amostra de urina no momento da inclusão no estudo. Será disponibilizada uma sala fechada, com pia para lavagem das mãos e papel para limpeza, para que se assegure a privacidade e higiene do paciente.

O benefício esperado para os pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico é o da identificação de um novo marcador de atividade de doença que auxilie os profissionais de saúde na tomada de decisão terapêutica.

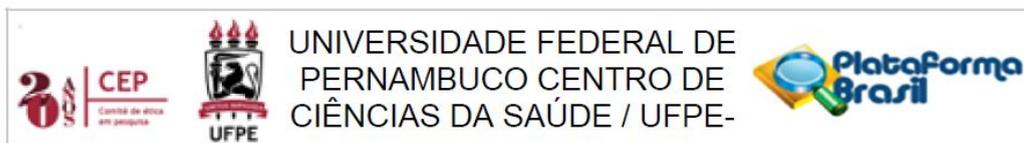
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo relevante, uma vez que se propõe a analisar a positividade, os títulos e os padrões do FAN Hep-2 em pacientes com LES em atividade e fora de atividade afim de identificar um possível novo marcador de doença ativa nesses pacientes. O referido teste é um exame amplamente difundido, acessível e de baixo custo, porém, há poucos estudos na literatura que avaliaram se a positividade, os títulos e os padrões do FAN Hep-2 sofrem alterações na atividade do LES.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de Rosto: OK;
- Carta de Anuência: OK;
- Termo de Compromisso e Confidencialidade: OK;
- Currículuns: OK.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.264.414

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

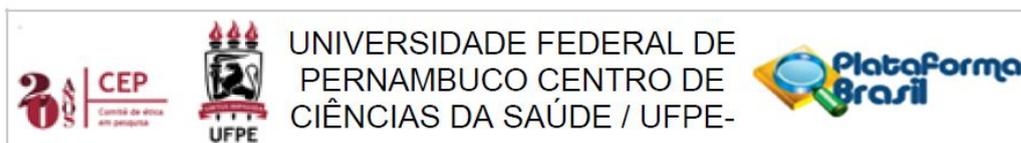
Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética, relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_962538.pdf	20/07/2017 10:39:31		Aceito
Outros	termodecompromisso.jpg	20/07/2017 10:39:05	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.264.414

Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartaanuencia.jpg	19/07/2017 21:46:06	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Outros	mestrado.jpg	19/07/2017 21:45:37	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoMarianaLuna.pdf	19/07/2017 21:44:10	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXOATCLE.docx	19/07/2017 21:43:50	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Folha de Rosto	rostonovamariana.pdf	19/07/2017 09:59:03	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Outros	LattesAngelaLuziaBrancoPintoDuarte.pdf	18/07/2017 14:22:12	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Outros	LattesMairaGaldinodaRochaPitta.pdf	18/07/2017 14:21:32	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Outros	LattesClaudiaDinizLopesMarques.pdf	18/07/2017 14:20:42	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Outros	LattesHenriquedeAtaideMariz.pdf	18/07/2017 14:20:06	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito
Outros	LattesMarianaSouzaPessoadeLuna.pdf	18/07/2017 14:19:38	Mariana Souza Pessoa de Luna	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 08 de Setembro de 2017

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br