

SAMUEL KOSMINSKY



**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO VIRAL POR EPSTEIN-
BARR NA ATIVIDADE DO LÚPUS ERITEMATOSO
SISTÊMICO, AVALIADA PELO TESTE DE
ENZIMAIMUNOENSAIO PARA AVIDEZ**

**RECIFE
2004**



Universidade
Federal
de Pernambuco

Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação –
PROPESQ
Centro de Ciências da Saúde
Doutorado em Medicina Tropical

SAMUEL KOSMINSKY

**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO VIRAL POR EPSTEIN-
BARR NA ATIVIDADE DO LÚPUS ERITEMATOSO
SISTÊMICO, AVALIADA PELO TESTE DE
ENZIMAIMUNOENSAIO PARA AVIDEZ**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade Federal de
Pernambuco para obtenção do título de
Doutor em Medicina Tropical

**RECIFE
2004**

Kosminsky, Samuel

Influência da infecção viral por Epstein-Barr na atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico, avaliada pelo teste de Enzimaimunoensaio para avidéz / Samuel Kosminsky. – Recife: O Autor, 2004.

150 folhas : il., fig., tab., gráf., quadros.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2004.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Medicina Tropical – Virologia. 2. Lúpus Eritematoso Sistêmico – Atividade da doença – Auto anticorpos. 3. Epstein-Barr – Técnica de ELISA (Enzimaimunoensaio) - Avidéz. I. Título.

**616: 578.825
616.071**

**CDU (2.ed.)
CDD (21.ed.)**

**UFPE
BC2004-514**



Universidade
Federal
de Pernambuco

Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação –
PROPESQ
Centro de Ciências da Saúde
Doutorado em Medicina Tropical

SAMUEL KOSMINSKY

**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO VIRAL POR EPSTEIN-
BARR NA ATIVIDADE DO LÚPUS ERITEMATOSO
SISTÊMICO, AVALIADA PELO TESTE DE
ENZIMAIMUNOENSAIO PARA AVIDEZ**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade Federal de
Pernambuco para obtenção do título de
Doutor em Medicina Tropical

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

**RECIFE
2004**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

PRÓ REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. José Tadeu Pinheiro

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Prof. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Prof^ª. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

CORPO DOCENTE

Prof^ª. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Prof^ª. Elizabeth Malagueño de Santana

Prof^ª. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Prof^ª. Gerusa Dreyer Vieira

Prof. Joaquim Alves Norões

Prof^ª. Maria Amélia Vieira Maciel

Prof^ª. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Prof^ª. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Prof. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Prof^ª. Sylvia Maria de Lemos Hinrichsen

Prof^ª. Vera Magalhães da Silveira



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL – MESTRADO E DOUTORADO

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DO DOUTORANDO

SAMUEL KOSMINSKY

No dia 04 de novembro de 2004, às 08h30, na Sala Murilo Lagreca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – C.C.S./UFPE, os Professores: **Prof^a. Dr^a. Vera Magalhães da Silveira** (Depto. de Medicina Tropical/UFPE – Membro Interno), **Prof^a. Dr^a. Célia Maria Machado Barbosa de Castro** (Depto. de Medicina Tropical/UFPE – Membro Interno), **Prof. Dr. Livre-Docente Ênio Torreão Soares Castellar** (Depto. Materno Infantil/UFPE – Externo), **Prof^a. Dr^a. Regina Célia Moreira** (Serviço de Virologia/Instituto Adolfo Lutz – IAL – Membro Externo) e **Prof^a. Dr^a. Viviane Maria Moutenegro** (Depto. de Imunologia/CPqAM – Membro Externo), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüíram o doutorando **SAMUEL KOSMINSKY** sobre a sua Tese intitulada **"INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS EPSTEIN-BARR NA ATIVIDADE DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO, AVALIADA PELO TESTE DE ENZIMAIMUNOENSAIO PARA AVIDEZ"**. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do doutorando as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof^a. Dr^a. Vera Magalhães da Silveira

Aprovado

Prof^a. Dr^a. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Aprovado

Prof. Dr. Ênio Torreão Soares Castellar

Aprovado

Prof^a. Dr^a. Regina Célia Moreira

Aprovado

Prof^a. Dr^a. Viviane Maria Moutenegro

Aprovado

Vera Magalhães
Prof^a. Dr^a. Vera Magalhães da Silveira

Célia Maria Machado B. Castro
Prof^a. Dr^a. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Ênio Torreão Soares Castellar
Prof. Dr. Ênio Torreão Soares Castellar

Regina Célia Moreira
Prof. Dr. Regina Célia Moreira

Viviane Maria Moutenegro
Prof^a. Dr^a. Viviane Maria Moutenegro

DEDICATÓRIA

*A felicidade não é produzida pela riqueza,
nem pela abundância ou pelo poder.
Ela se obtém pela ausência de dor,
pela moderação nas afeições e
pela disposição de respeitar os limites
colocados pela natureza*
Epicuro

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais,

retribuir seu desvelo é difícil e a vida toda não é suficiente para isso.

A minha esposa,

quanto mais se deseja, melhor se deseja.

Aos meus filhos,

encontrar liberdade interior para não ter medo de ir até o fim de seus pensamentos.

A Dr^a Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho,

uma amiga certa que me reconheceu numa situação incerta.

A todos,

que me ajudaram a encontrar uma realidade,

ceder às circunstâncias e

não ter medo de mudar se necessário

EPÍGRAFE

*Creio que poderia viver como os animais.
Eles são tão calmos e donos de si,
Detenho-me para contemplá-los sem parar.
Não se atarantam nem se queixam da própria sorte,
Não passam a noite em claro, remoendo suas culpas ...
Nenhum deles se mostra insatisfeito,
Nenhum deles se acha dominado pela mania de possuir coisas*
Walt Whitman

RESUMO

INTRODUÇÃO: O vírus Epstein-Barr, um herpesvírus que infecta mais de 90% da população mundial, pode desencadear ou agravar alterações auto-imunes, assim como pode anteceder o aparecimento das manifestações clínicas e imunológicas do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). Como os auto-anticorpos parecem exercer papel central na patogênese do LES, é importante correlacionar a presença e o título de anticorpos anti-EBV com a atividade do LES. **OBJETIVO:** Verificar a associação entre atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico, por meio dos critérios do SLEDAI, e a avidéz das imunoglobulinas IgG anti-EBV. **PACIENTES E MÉTODOS:** Foi realizado estudo tipo caso-controle, envolvendo 66 pacientes, atendidos no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), no período janeiro de 2002 a fevereiro de 2003, distribuídos em dois grupos: caso, composto por 22 pacientes com LES em atividade e SLEDAI > 4 , e controle, integrado por 44 pacientes com doença inativa, diagnosticada por SLEDAI ≤ 4 . A presença e o índice de avidéz de anticorpos IgG anti-EBV foram determinados pela técnica de ELISA. (Enzygnost[®] anti-ebv – Dade Behring), no Setor de Virologia do Laboratório de Imunologia Keizo Asami (LIKA). Os índices de avidéz e respectivas classificações da infecção foram: < 20 , infecção reativada; entre 20 e 40, infecção indeterminada, > 40 , infecção passada. **RESULTADOS:** Identificou-se positividade no teste de detecção de IgG para EBV em 21 (95,5%) casos e em 40 (90,9%) controles. O índice de avidéz alcançou valores ≥ 40 em 54 (88,5%) pacientes, sendo 34 (85%) do grupo controle e 20 (95,2%) do grupo caso; esteve entre 20 e 40 exclusivamente em 5 (12,5%) pacientes do grupo controle, e foi inferior a 20 em 2 (3,3%) pacientes. Adotando-se 20, 30 ou 40 como ponto de corte do índice de avidéz, para diagnóstico de reativação da infecção por EBV, detectou-se terem sido classificados como infecção reativada, respectivamente, 1 (4,8%) paciente do grupo caso e 1 (2,5%) do grupo controle; 1 (4,8%) do grupo caso e 4 (10%) do grupo controle, 1 (4,8%) no grupo caso e 5 (12,5%) no grupo controle. **CONCLUSÃO:** A modificação do ponto de corte não alterou a distribuição dos pacientes com infecção ativa do grupo caso, mas o fez no grupo controle. Não ter sido possível demonstrar, no presente trabalho, associação entre a atividade do EBV e a do LES corroborou relatos semelhantes na literatura consultada. Esse fato parece indicar que a não eliminação dos linfócitos B infectados se deve a falha no mecanismo de apoptose ou na ação de linfócitos T citotóxicos permitindo a progressão do LES.

Descritores: 1. Etiologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico, 2. Infecção por vírus Epstein-Barr, 3. Utilização do ELISA, 4. Imunologia de auto-anticorpos

ABSTRACT

INTRODUCTION: Epstein-Barr virus, an herpesvirus that infect more than 90% of world population, can excite or worsen auto-immune disorders, as well as can antecede the emergence of clinical and immunological manifestations of Systemic Lúpus Erythematosus (SLE). As auto-antibodies seem to play the central role on SLE pathogenesis, it is important to correlate the presence and the titles of anti-EBV antibodies to SLE activity. **OBJECTIVE:** To verify the association of SLE activity, according to SLEDAI criteria, to the avidity of IgG anti-EBV immune globulins. **PATIENTS AND METHODS:** Within case control study, 66 patients, who attempted at Rheumatology Service of Hospital das Clínicas - Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) – Recife, Pernambuco, Brazil, from January 2002 to February 2003. Patients were distributed into two groups: case, composed by 22 patients with SLE active and SLEDAI > 4, and control, integrated by 44 patients with inactive disease diagnosed by SLEDAI ≤ 4. The presence and the avidity index of IgG anti-EBV antibodies were determined by ELISA method (Enzygnost® anti-EBV/IgG - Dade Behring) at Virology Sector of Immunology Laboratory Keizo Asami (LIKA). The infection classification considered avidity indexes as: < 20, reactivated infection; from 20 to 40, undetermined infection and > 40, passed infection. **RESULTS:** IgG anti-EBV test was positive for 21 (95,5%) cases and 40 (90,9%) controls. Avidity index was ≥ 40 for 54 (88,5%) patients, being 34 (85%) of control group and 20 (95,2%) of case group. Only for 5 (12,5%) control patients, avidity index reached values from 20 to 40; for 2 (3,3%) patients, this index was inferior to 20. Adopting 20, 30 or 40 as cutoff point of avidity index to diagnose reactivation of EBV infection, the author classified as reactivated infection, for case and control groups respectively: 1 (4,8%) x 1 (2,5%) patient; 1 (4,8%) x 4 (10%) patients and 1 (4,8%) x 5 (12,5%) patients. **CONCLUSION:** modification of cutoff point for avidity index did not alter the infection classification for case patients, but altered for control patients. The absence of association between EBV activity and SLE has confirmed similar reports on consulted literature. This fact seems to indicate that persistence of infected B lymphocytes may be due to failure on apoptosis mechanism or on T cytotoxic lymphocytes action, permitting SLE evolution.

Key words: 1. Systemic Lúpus Erythematosus etiology, 2. Infection by Epstein-Barr virus, 3. ELISA utilization, 4. Immunology of auto-antibodies.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 – Microplacas adaptadas no caixilho, com reações positivas (identificadas pelas cores amarelo e laranja) e negativas (correspondentes à ausência de cor) 79

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição de 66 pacientes quanto aos sinais e sintomas do *American College of Rheumatology*, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 97

Gráfico 2 - Distribuição dos critérios do SLEDAI de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 98

Gráfico 3– Distribuição de 22 pacientes do grupo caso quanto à pontuação do SLEDAI segundo fenótipo – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 **Error! Bookmark not defined.**

Gráfico 4– Distribuição de 22 pacientes do grupo caso quanto à pontuação do SLEDAI segundo faixas etárias – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003..... **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE FÓRMULAS

Fórmula 1 – Coeficiente de extinção 84

Fórmula 2 – Conversão do coeficiente de extinção em atividade de anticorpo 84

Fórmula 3 – Cálculo do índice de avidéz 86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Distribuição etária de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 91

Tabela 2 Distribuição de sexo de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 91

Tabela 3 Distribuição de fenótipos de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 92

Tabela 4 Distribuição de procedência de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 92

Tabela 5 Distribuição de escolaridade de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 93

Tabela 6 Distribuição de renda mensal de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 93

Tabela 7 Distribuição de resultados da primeira fase do teste de detecção de IgG anti-EBV de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 94

Tabela 8 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 94

Tabela 9 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 95

Tabela 10 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 95

Tabela 11 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003 96

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Pesquisas que forneceram evidências da associação entre infecção por Parvovírus B19, *Herpes zoster*, *Herpes simplex tipo 1*, *Citomegalovírus* e *Vírus das hepatites B ou C* e Lúpus Eritematoso Sistêmico..... 54

Quadro 2– Mecanismos imunológicos dos anticorpos contra antígenos ou componentes do EBV, segundo período e tipo de infecção viral 66

Quadro 3– Mecanismos imunológicos dos anticorpos contra antígenos ou componentes do EBV, segundo período e tipo de infecção viral e método empregado no diagnóstico . 67

Quadro 4– Interpretação dos resultados do teste de avidéz para infecção por EBV 76

Quadro 5– Três pontos de corte e respectivas interpretações clínicas dos resultados do teste de avidéz para infecção por EBV 76

Quadro 6– Interpretação dos resultados do teste de ELISA para infecção por EBV 85

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
anti-Sm	anticorpo anti-Sm
BILAG	<i>British Isles Lúpus Assessment Group</i>
C _{1q}	fração hum do complemento
C ₂	fração dois do complemento
C3b	fração três do complemento
C ₄	fração quatro do complemento
CMV	citomegalovírus
CR1	receptor do complemento 1
DNA	ácido desoxirribonucléico
DO	densidade óptica
EA	antígeno precoce (<i>Early Antigen</i>)
EBNA	antígeno nuclear do Epstein-Barr (<i>Epstein Barr Nuclear Antigen</i>)
EBV	vírus Epstein-Barr
EIA	enzimaimunoensaio indireto
ELISA	enzimaimunoensaio
gli/ala	glicina/alanina
HBsAg	antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	vírus da hepatite B
HCMV	citomegalovírus humano
HCV	citomegalovírus
HHV-6	herpes vírus 6 humano
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HLA	antígeno leucocitário humano
HPV	herpes vírus humano
HSV	vírus Herpes Simplex
HVZ	vírus Herpes Zoster
HZV	varicela-herpes zoster
IFA	imunofluorescência
IgG	imunoglobulina G
IL-2	interleucina-2
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LMP	proteína latente de membrana
mg/dia	miligramas/dia
MHC	complexo maior de histocompatibilidade
NK	natural killer
NZB	New Zealand Black
PCR	reação de cadeia de polimerase
RNA	ácido ribonucléico
RNA _m	RNA mensageiro
RNA _r	RNA ribossômico
RNA _t	RNA transportador
RNP	ribonucleoproteínas
SLAM	Systemic Lúpus Activity Measure
SLE	Systemic Lúpus Erythematosus
SLEDAI	(<i>Systemic Lúpus Erythematosus Disease Activity Index</i>)

Sm	Smith
SNC	Sistema Nervoso Central
snRNP	small nuclear – RNP
T _c	linfócitos T citotóxicos
Th	linfócito T auxiliar
UVB	radiação ultra-violeta B
VCA	antígeno do capsídeo viral (<i>viral capsid antigen</i>)

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	VII
AGRADECIMENTOS.....	VIII
EPÍGRAFE.....	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT	XI
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	XII
LISTA DE GRÁFICOS.....	XII
LISTA DE FÓRMULAS	XII
LISTA DE TABELAS.....	XIII
LISTA DE QUADROS.....	XIV
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	XV
INTRODUÇÃO	20
OBJETIVOS	27
<i>Geral</i>	28
<i>Específicos</i>	28
REVISÃO DA LITERATURA.....	29
<i>Lúpus Eritematoso Sistêmico</i>	30
<i>Conceito e epidemiologia</i>	30
<i>Resposta imune no Lúpus.....</i>	32
<i>Quadro clínico do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....</i>	36
<i>Evolução do Lúpus Eritematoso Sistêmico.....</i>	39
<i>Avaliação da atividade da doença.....</i>	41
<i>Imunossupressão e infecções no LES.....</i>	42
<i>Papel de agentes infecciosos na resposta auto-imune</i>	44
<i>Ativação de linfócitos T e B auto-reativos</i>	49
<i>Artrites reativas.....</i>	50
<i>Superantígenos e auto-anticorpos</i>	51
<i>Estrutura antigênica do EBV</i>	53
<i>Ciclo viral</i>	56
<i>Mecanismo de latência viral</i>	56
<i>Papel do EBV na patogenia do LES</i>	58

<i>O EBV predispõe ao desenvolvimento do Lúpus ou o Lúpus predispõe à infecção pelo EBV?</i>	61
Sorologia para o diagnóstico da virose por Epstein Barr	64
PACIENTES E MÉTODOS	70
<i>Desenho do estudo</i>	71
<i>Locais de estudo</i>	71
<i>Sujeitos da pesquisa</i>	73
<i>Cálculo do tamanho da amostra</i>	73
<i>Variáveis e conceitos</i>	74
<i>Variáveis independentes</i>	74
<i>Variável dependente</i>	76
Métodos	77
<i>Coleta de dados</i>	77
<i>Padronização da técnica</i>	78
TÉCNICA DA COLETA DE SANGUE VENOSO	78
TÉCNICA DE ELISA PARA DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-EBV.	78
<i>Cálculos e interpretação dos resultados</i>	84
DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE AVIDEZ DE ANTICORPOS IgG ANTI-EBV PELA TÉCNICA ENZYGNOST®	85
<i>Análise e processamento de dados</i>	87
<i>Aspectos éticos</i>	88
RESULTADOS	89
<i>Caracterização amostral segundo grupo caso e controle</i>	90
<i>Teste de detecção de IgG anti-EBV</i>	93
<i>Sinais e sintomas de diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico</i>	96
<i>Critérios do American College of Rheumatology</i>	96
<i>Critérios SLEDAI de determinação do índice de atividade lúpica</i>	97
DISCUSSÃO	99
CONCLUSÕES	113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
ANEXOS	139
<i>Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação em estudo clínico</i>	143
<i>Anexo 2 – Questionário de anamnese e coleta de informações referentes aos critérios clínicos e laboratoriais de diagnóstico e de classificação do índice de atividade SLEDAI do Lúpus</i>	144
APÊNDICES	147

APÊNDICE 1 - Critérios da ACR, para classificação do LES, revisados em 1997	148
APÊNDICE 2 – Classificação do fototipo segundo escala de pigmentação de Fitzpatrick	149
APÊNDICE 3 – Índice de Atividade – SLEDAI	150



INTRODUÇÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto-imune de etiologia desconhecida, na qual os auto-anticorpos encontram-se universalmente presentes. Os mecanismos responsáveis pela produção e pela perpetuação desta resposta imune aberrante permanecem pouco esclarecidos (JAMES et al., 2001).

A doença apresenta distribuição universal, acometendo as mais distintas classes sociais. A incidência estimada varia entre 2 e 8 por 100.000 habitantes para os Estados Unidos e para a Europa, e a prevalência, entre 20 e 60 casos por 100.000 habitantes, não diferindo entre a população urbana e rural (JACOBSON et al., 1997).

Tem como características epidemiológicas: predominância de acometimento de indivíduos do sexo feminino (cerca de 90% dos casos), maior incidência entre 15 e 45 anos de idade, comprometimento mais grave da raça negra. Em sua etiologia variada, estão incluídas alterações imunológicas acarretando a produção de auto-anticorpos, ação de fatores genéticos, ambientais (vírus), radiação ultravioleta, drogas, hormônios e *stress* (PHALEN, 2002).

Num estudo multicêntrico, tipo coorte, envolvendo 187 portadores de LES, seguidos por 10 anos após o diagnóstico da doença, Swaak et al. (1999), identificaram as manifestações clínicas e imunológicas:

✍ *rush* malar, artrite e alterações hematológicas;

✍ lesões renais e serosite;

✍ envolvimento do sistema nervoso central (SNC);

- ✍ comprometimento renal;
- ✍ manifestações de pele;
- ✍ alterações do aparelho cardiovascular;
- ✍ alterações hematológicas como anemia, leucopenia e trombocitopenia;
- ✍ –sinais gastrintestinais como hepatomegalia, esplenomegalia, pancreatite e vasculite intestinal;
- ✍ presença do anticorpo anti-Sm, característico do LES, em 3% dos casos, no momento do diagnóstico, elevando-se para 11%, durante o seguimento.

O LES ainda é uma doença incurável e pode ser fatal. O tratamento tem o objetivo de tornar o paciente assintomático, ou seja, obter a remissão parcial ou completa de sinais e sintomas. Dubois, em 1956, descreveu a remissão da doença em 35% dos 520 pacientes acompanhados e identificou períodos assintomáticos por 10 a 20 anos. Na literatura, há referência de períodos prolongados de remissão em pacientes com LES, que não necessitaram de qualquer tratamento, antes e após 1953, quando os imunossupressores e os corticóides se tornaram disponíveis para tratamento (ESTES, CHRISTIAN, 1971).

O LES pode evoluir de forma contínua ou intermitente com períodos de remissão e exacerbação. Todavia uma porcentagem considerável de pacientes experimenta remissão habitualmente associada ao uso de drogas, cuja frequência e duração são difíceis de determinar (DRENKARD et al., 1996). É interessante assinalar que mesmo aqueles pacientes, que evoluem de forma desfavorável com uso de drogas imunossupressoras, podem, em algum momento, alcançar remissão das manifestações clínicas (TOZMAN, UROWITZ, GLADMAN, 1982).

O diagnóstico do LES é realizado quando o paciente preenche o critério proposto pelo Colégio Americano de Reumatologia (*American College of Rheumatology* - ACR), o qual é constituído por 11 itens contendo diferentes manifestações clínicas e laboratoriais. Quando quatro ou mais alterações se fizerem presentes, simultaneamente ou em diferentes espaços de tempo, pode-se estabelecer o diagnóstico da doença (HOCHBERG, 1998) (ANEXO 1).

A classificação da atividade de doença, definida como a exacerbação das manifestações clínicas reversíveis decorrentes de um processo inflamatório subjacente em pacientes com LES (BOMBARDIER, GLADMAN, UROWITZ, 1992), tem sido tema bastante controvertido. Sua mensuração é de primordial importância para distinguir a atividade da doença, uma vez que as decisões terapêuticas dependem da acurácia desse julgamento clínico.

Para esse propósito têm sido descritos mais de 60 índices, desde a década de 60, sendo o *Systemic Lúpus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI) considerado um índice válido e reproduzível. O SLEDAI foi desenvolvido em Toronto, Canadá, em 1985, durante o encontro de pesquisadores sobre a atividade no LES. Esse instrumento avaliava 24 atributos, claramente definidos, agrupados segundo nove órgãos, permitindo obter um escore de peso para cada órgão, bem como um escore total (HAWKER et al., 1993).

Em 1988, especialistas em lúpus, sediados em oito centros da Europa e dos Estados Unidos, realizaram estudo para avaliar e comparar três índices: SLEDAI, *British Isles Lúpus Assessment Group* (BILAG) e *Systemic Lúpus Activity Measure* (SLAM). Concluíram que o SLEDAI auto-aplicado era compreensível e facilmente respondido pelos pacientes, assim como era confiável quando utilizado por um médico reumatologista ou de outra especialidade (HAWKER et al., 1993).

Esse índice preenche os critérios metodológicos com valor em pesquisas clínicas, permitindo a comparação de pacientes de diferentes centros, bem como sua estratificação para ensaios terapêuticos. Esses critérios são: credibilidade, por medir o que realmente se deseja; alta acurácia, devido à alta sensibilidade às mudanças na apresentação clínica dos pacientes, reconhecimento das modificações biológicas e fácil utilização (GLADMAN, 1994). Além disso, dentre as vantagens do SLEDAI, Petri e Genovese (1992) ressaltam a existência de ampla variação do escore final entre 0 e 105; a possibilidade de diferenças numa única variável promoverem alteração no escore final de um a oito pontos e a alta confiabilidade para avaliação de atividade do LES.

Em 1995, Moga et al. analisaram a utilização do SLEDAI para identificar casos de LES, que evoluíram com remissão clínica. Pacientes, que não atingiam remissão clínica da doença, apresentavam valores do SLEDAI mais elevados, quando comparados com os que atingiam, embora tais diferenças não tenham sido estatisticamente significantes. Os autores concluíram que pacientes com alto índice de atividade do LES, ou seja, com início grave da doença, poderiam evoluir com remissão, cujo surgimento ocorreria tão mais tardiamente quanto mais alto fosse o SLEDAI.

Dentre os prováveis fatores etiológicos ou etiopatogênicos do LES, a infecção viral tem sido largamente estudada. Os vírus desempenham um papel importante nas doenças auto-imunes e um dos mais freqüentemente citados, como desencadeante ou agravante das alterações auto-imunes, é o *Epstein Barr Virus* (EBV) (VERDOLINI et al., 2002).

O EBV é um herpesvírus, que infecta mais de 90% da população mundial, sendo o agente etiológico da mononucleose infecciosa. O ciclo viral, no interior do hospedeiro, inclui um período de latência, em cujo estado pode permanecer anos, e outro, de virulência, no qual pode emergir em quantidade suficiente para causar estimulação do sistema imune (McCLAIN et al., 2003).

O antígeno nuclear 1 do EBV (EBNA-1), cujo epítopo é a região rica em glicína, é a mais importante proteína viral expressa no interior dos linfócitos B durante o período de latência, o que torna estas células indetectáveis pelos linfócitos T citotóxicos (LEVITSKAYA et al., 1995). Este mecanismo explicaria como o vírus pode permanecer latente no interior das células, sem o devido reconhecimento pelo sistema imune, que só ocorre quando o EBNA-1, no citoplasma dos linfócitos B, se associa a moléculas de histocompatibilidade celular (MHC) classe I e se apresenta na superfície celular aos linfócitos T citotóxicos. Apesar desta propriedade evasiva, o EBNA-1 é o alvo mais comum da resposta imune humoral. Anticorpos dirigidos contra esta proteína podem reagir de forma cruzada com proteínas humanas (VAUGHAN, 1997) e parecem desempenhar um importante papel nas doenças auto-imunes (ASCHERIO et al., 2001).

Pacientes com mononucleose aguda inicialmente produzem IgM anti-EBNA-1 e, só no período de convalescença, entre duas semanas ou meses após a infecção inicial, apresentam soro-conversão, permanecendo a IgG anti-EBNA-1 por toda a vida em circulação (McCLAIN et al., 2003).

A associação entre infecção pelo EBV e LES tem sido descrita por diferentes autores, bem como a reação cruzada de anticorpos contra constituintes protéicos virais e humanos (KATZ et al., 2001; DROR et al., 1998). A suspeita de tal associação foi reforçada pelo achado de altos títulos de anticorpos anti-EBV em pacientes com LES (ORIGGI et al., 1988), assim como pela constatação de que a infecção pelo EBV antecede o aparecimento das alterações auto-imunes, que ocorrem no LES (VERDOLINI et al., 2002; DROR et al., 1998). Um aumento na prevalência de infecções pelo EBV em pacientes jovens, portadores de LES, parece confirmar tais observações, como relatam James et al. (1997).

Dentre os auto-anticorpos presentes em portadores de LES, aqueles dirigidos contra as proteínas que compõem o *spliceossomo*, como a anti-Sm e anti-RNP, são encontrados no soro de 30% a 50% dos pacientes com a doença (HARLEY, JAMES, 1995). Os anticorpos, produzidos contra a

EBNA-1, em pacientes com LES, podem reagir de forma cruzada, em decorrência da semelhança antigênica entre peptídeos virais e peptídeos do núcleo celular, contidos nos *spliceossoma*, como a proteína Sm (VAUGHAN et al., 1995).

Essa semelhança antigênica explica como uma infecção viral pode ser o gatilho inicial das manifestações clínicas e imunológicas do LES (JAMES et al., 2001). Como os auto-anticorpos parecem exercer papel central na patogênese do LES, seu aparecimento pode preceder ou coincidir com a expressão das manifestações clínicas (ARBUCKLE et al., 2003). Dessa forma, ressalta-se a relevância do presente estudo que busca analisar a associação da presença e da avidéz de anticorpos anti-EBV com a atividade do LES.



OBJETIVOS

Geral

Verificar a associação entre atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico, por meio dos critérios do SLEDAI, e avides de anticorpos IgG anti-EBV.

Específicos

- ✍ Determinar as características sócio-demográficas e socioeconômicas dos pacientes, de acordo com os grupo caso e controle.
- ✍ Diferenciar os pacientes com LES quanto à presença de anticorpos IgG anti-EBV em soro, por meio do teste de enzimaímunoensaio (ELISA).
- ✍ Categorizar os pacientes com LES quanto à infecção por EBV, por meio do índice de avides dos anticorpos IgG anti-EBV.
- ✍ Comparar os índices de avides dos anticorpos IgG anti-EBV entre os pacientes com LES em atividade e inativo.
- ✍ Descrever sinais e sintomas do lúpus eritematoso sistêmico dos pacientes, segundo os critérios SLEDAI.



REVISÃO DA LITERATURA

Lúpus Eritematoso Sistêmico

Conceito e epidemiologia

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto-imune caracterizada pela produção de anticorpos anti-DNA, os quais parecem desempenhar importante papel em sua imunopatologia, cujos títulos freqüentemente estão associados à atividade de doença (MORROW, ISENBERG, 1987).

Em 1970, Siegel et al. estimaram a incidência anual do LES, nos Estados Unidos e na Europa, em dois a oito indivíduos por 100.000 habitantes. Em 1985, Hochberg encontrou incidência de 124 para 100.000 habitantes, nos Estados Unidos, utilizando pesquisa telefônica com os médicos responsáveis por pacientes com LES e diretamente com portadores da patologia. Jacobson et al., em 1997, revisando 19 artigos sobre epidemiologia do LES publicados entre 1965 e 1995, identificaram que, em quatro décadas, essa incidência, passou para 5 a 56 por 100.000 habitantes entre 1980 e 1992. Segundo Hopkinson et al. (1993) e Jacobson et al. (1997), na década de 90, sua prevalência situava-se entre 20 a 60 casos por 100.000 habitantes.

Diversos estudos têm apontado sexo e raça, como fatores de evolução desfavorável da doença. O LES predomina em mulheres (JACOBSON et al., 1997), principalmente em idade reprodutiva, quando a produção de estrógeno é maior (SIEGEL et al., 1970). Ao se demonstrar que, em animais castrados do sexo masculino, a incidência de LES foi semelhante à do feminino, reforçou-se a importância desse hormônio para o desenvolvimento da doença. No

entanto, embora o sexo masculino seja menos acometido, sua taxa de sobrevivência devido à doença é menor que no feminino (WALLACE et al., 1981).

Ward e Studenski, em 1990, identificaram que na raça negra a doença surge numa faixa etária mais jovem, com maior frequência de fotossensibilidade, síndrome *sicca*, nefrite e lesões discóides, além da presença dos anticorpos anti-RNP e anti-Sm. Johnson et al., em 1995, complementaram essa informação ao encontrarem incidência e prevalência de LES maior em orientais, além dos negros afro-caribenhos. A doença afeta mais e de forma mais severa a população não branca, segundo estudo realizado por Ghaussy et al., em 2004.

Fatores genéticos são importantes para o aparecimento do Lúpus. Sua ocorrência em gêmeos monozigóticos é de 24% (DEAPEN et al., 1992) e de 3% em dizigóticos (WINCHESTER, NUNES-ROLDAN, 1982). Estudos populacionais sugerem que a susceptibilidade para o LES poderia estar ligada ao gene de classe II em humanos. O risco relativo de apresentar a doença é maior nos pacientes portadores dos genes HLA-DR2, HLA-DR3, alelos nulos para C₄ (VAUGHAN, 1997), HLA-A1 e HLA-B8 (ARNET, REVEILLE, 1992). Walport (1993) demonstrou a associação entre deficiência de componentes iniciais do complemento e lúpus, ao constatar que 33% dos indivíduos com ausência total da fração C_{1q} e C₂ do complemento desenvolveram a patologia.

Dentre os fatores ambientais, que podem induzir ao aparecimento da doença, estão drogas, como a procainamida e a hidralazina (YUNG, RICHARDSON, 1994) além da radiação solar UVB, que parece estar envolvida na etiopatogenia do LES, por levar à formação de dímeros de timina, mutação e morte celular através de apoptose, causando lesões teciduais (TURNER et al., 2004; McGRATH JR, 1999).

A idéia de que um agente microbiano, incluindo bactérias, vírus e parasitas, possa representar fator importante para iniciar e perpetuar uma resposta auto-imune tem encontrado grande respaldo na literatura (BEHAR-PORCELLI, 1995). No entanto, nenhum microorganismo ou mecanismo pode

explicar, isoladamente, a extrema variedade de fenômenos na auto-imunidade. Evidências crescentes sugerem que certos vírus ocasionariam manifestações clínicas de natureza auto-imune em indivíduos geneticamente predispostos. Em 1985, Theofilopoulos e Dixon, ao demonstrarem altos títulos de retrovírus e o efeito deletério dessa infecção crônica em ratos *New Zealand Black* (NZB) com LES, reforçaram a participação viral na patogênese da auto-imunidade.

Esta hipótese, de ser a infecção viral um dos fatores causais do LES, é atraente, pelo fato dos pacientes apresentarem maior incidência, susceptibilidade e alterações imunes decorrentes de infecção (ILIPOULOS, TSOKOS, 1996).

Uma hipótese alternativa é que o LES possa resultar de resposta imune aberrante a diferentes fatores ambientais (KITAGAWA et al., 1988). Todavia tem-se constatado também a ação de outros fatores, como o hormonal, uma vez que a administração de estrógeno em animais de laboratório exacerba as manifestações clínicas da doença (AHMED, OLDSTONE, 1984). Auto-anticorpos surgem quando ocorre dano tecidual por causas não infecciosas, como o uso de certas drogas, o infarto do miocárdio, a queimadura severa e o câncer (SCHATTNER et al., 1983). Assim, o vírus não é o único fator responsável pelo surgimento da auto-imunidade e sua presença nem sempre conduz a patologias desse tipo (KANG et al., 2004).

Resposta imune no Lúpus

O LES, como a maioria das doenças auto-imunes, é uma síndrome clínica, na qual o dano tecidual resulta de uma resposta imune aberrante contra antígenos do próprio organismo (McCLAIN et al., 2002). O mecanismo principal decorre de falha na tolerância central ou periférica, que resulta na ativação e na expansão de clones auto-reativos de linfócitos T e B, levando à produção de auto-anticorpos, de grande variedade de citocinas e de mediadores inflamatórios

responsáveis pelos mais diversos danos tissulares. Embora muitas informações a respeito das doenças auto-imunes tenham se acumulado ao longo de anos de pesquisa, a etiologia destas permanece desconhecida (BEHAR, PORCELLI, 1995).

Auto-anticorpos, presentes em algumas infecções nos seres humanos, podem ocorrer em indivíduos normais, sem que necessariamente causem dano tissular ou manifestações clínicas, desaparecendo com a eliminação do agente infeccioso (VAUGHAN et al., 1995). Em alguns pacientes, essa reação pode promover lesão e conseqüente doença, pela exacerbação do processo auto-imune decorrente da replicação de determinados vírus em tecidos importantes (WANDINGER et al., 2000). Em caso de lesão de órgão por infecção viral, auto-anticorpos específicos para o tecido lesado têm sido encontrados e parecem participar do dano tissular, por meio da citotoxicidade dependente de anticorpo ou da formação de imunocomplexos, com fixação de complemento e citólise (VENTO et al., 1988).

Durante a evolução da doença, é possível ocorrer alterações nos componentes do sistema imune, que podem acentuar-se por infecções, bem como pelo uso de drogas imunossupressoras. A presença de anormalidades em órgãos, células e proteínas, importantes para a eliminação de agentes agressores e manutenção da homeostase tecidual, poderia, de certa forma, explicar a patogenia do LES. Descrevem-se, a seguir, algumas alterações do sistema retículo-endotelial, que poderiam justificar o aparecimento das respostas imunes aberrantes em pacientes com LES.

Os macrófagos apresentam diminuição na capacidade de fagocitar antígenos, bem como de apresentá-los aos linfócitos responsáveis pela resposta imune eficaz (ROBERTS et al., 1987), o que poderia justificar uma maior incidência de infecções nestes pacientes (YU et al., 1989). A presença de auto-anticorpos contra receptores de imunoglobulinas, presentes na superfície de tais células, também poderia interferir com suas funções normais (KIMBERLY, SALMOM, EDBERG, 1995). Estes mesmos auto-anticorpos podem alterar a

resposta imune, uma vez que tais receptores se acham presentes nos neutrófilos e nos linfócitos *natural killer* (NK).

Os neutrófilos apresentam alterações em número, visto a neutropenia ser achado freqüente durante evolução da doença (KEELING, ISEMBERG, 1993), assim como na capacidade de fagocitose (YU et al., 1989) e de quimiotaxia (PEREZ et al., 1987). O excesso de imunocomplexos circulantes pode induzir constante ativação de tais células, o que justificaria uma menor capacidade de responder a estímulos secundários adjacentes, como uma infecção concomitante durante atividade da doença (VIA, ALEEN, WELTON, 1984).

Os linfócitos, especialmente os T auxiliares (Th), encontram-se em menor número e sua função alterada pela menor capacidade de produção de interleucina-2 (IL-2) e gama interferon (TSOKOS, 1992). Os linfócitos B apresentam capacidade normal de sintetizar anticorpos, apesar da ativação policlonal e da hipergamaglobulinemia (TSOKOS, 1992). Os linfócitos NK podem se apresentar em menor quantidade (ERKELLER-YUSEL et al., 1993) e a presença de auto-anticorpos contra tais células justificaria alterações em suas funções normais (WINFIELD, MIMURA, 1992).

O sistema de complemento, importante para uma resposta imune adequada, apresenta alterações que têm a possibilidade de causar exacerbação do LES. O número de receptores do complemento (CR1), na superfície das hemácias, encontra-se diminuído (YOSHIDA, YUKIYAMA, MIYAMOTO, 1987) e a presença de auto-anticorpos contra fração C_{3b}, na superfície de tais células, dificulta a remoção dos imunocomplexos circulantes, favorecendo sua deposição e o dano tissular (MIR, BALSALOBRE, 1994).

O baço, importante componente do sistema retículo-endotelial, pode apresentar alterações responsáveis pela diminuição na filtração das hemácias recobertas por imunocomplexos (FRANK et al., 1979) e pela maior incidência de infecções bacterianas (PILIERO, FURIE, 1990).

É necessário abordar alguns aspectos da biossíntese protéica para compreender a importância das moléculas contra as quais estão direcionados os auto-anticorpos, produzidos em pacientes com LES.

Todas as células eucarióticas contêm certa quantidade de pequenos RNA (RNAs), além do RNA mensageiro, do RNA transportador e do RNA ribossômico. Habitualmente a estes RNA, fixam-se proteínas, originando as partículas de ribonucleoproteínas (RNP), entre as quais estão as *small nuclear RNP* (RNPs_{sn}), ricas em uridina.

As proteínas, associadas às RNPs_{sn}, podem ser divididas em dois grupos: as chamadas Sm, que estão presentes e são comuns a todos os quatro tipos de RNPs_{sn} *spliceossomal*, e as proteínas partículas específicas, as quais são associadas com uma das quatro RNPs_{sn} *spliceossomais* (BRAHMS et al., 2000). As proteínas Sm constituem um grupo de oito peptídeos denominados: B', B, D1, D2, D3, E, F e G, com importância imunológica (BRAHMS et al., 2000).

O primeiro passo na formação de RNPs_{sn} consiste na união das proteínas Sm com RNAs (HABETS et al., 1989), sendo as mais abundantes: U1, U2, U4/6 e U5, chamadas *spliceossomais*, desde que elas constituem os *spliceossoma* (GUNNEWIEK, VAN DE PUTTE, VAN VENROOIJ, 1997).

Os componentes das RNPs_{sn} são alvo de auto-anticorpos no LES e podem ser divididos em dois grandes grupos: o primeiro produzido contra as proteínas Sm dos *spliceossoma*, isto é, das RNPs_{sn} U1, U2, U4/6 e U5 sendo denominado de anti-Sm; o segundo, tendo como alvo a proteína partícula específica de cada RNPs_{sn}, por isso são denominados anti-RNPs_{sn}, pois somente essa estrutura é reconhecida (GUNNEWIEK, VAN DE PUTTE, VAN VENROOIJ, 1997). Auto-anticorpos anti-Sm e anti-RNP_n são produzidos por 25% a 40% dos pacientes com lúpus, respectivamente, sendo o primeiro, específico para o LES, ao contrário dos demais auto-anticorpos (VAUGHAN, 1996).

O anticorpo anti-Sm é de tal importância, que sua presença é um dos critérios elaborados pelo ACR para diagnóstico da doença (HOCHBERG,

1998). Pode interagir com componentes dos spliceossoma, especialmente as proteínas B, B' e D (McCLAIN et al., 2002), sendo este último constituído de seqüências repetidas de glicina/arginina (VAUGHAN, 1996). O fato dos anticorpos anti-Sm reconhecerem diferentes estruturas antigênicas deve-se, não a diferentes populações de anticorpos, mas a reações cruzadas, decorrentes de homologia entre as seqüências de aminoácidos, que compõem este grupo de peptídeos (ROKEACH, HASELBY, HOCH, 1988).

Atualmente, a seqüência de aminoácidos, presente na proteína Sm responsável pelo aparecimento dos auto-anticorpos, é conhecida (JAMES et al., 1994). O epítipo principal é composto por seqüências repetidas de glicina/arginina, localizadas na porção carboxi-terminal da Sm D1 (SABBATINI, BOMBARDIERI, MIGLIORINI, 1993a). Região com características semelhantes se faz presente também na proteína Sm D3, uma vez que imunização pela Sm D1 resulta na produção de anticorpos contra Sm D3 (RIEMECASTEN et al., 1995). Assim, esta região é o principal alvo dos auto-anticorpos, durante a resposta imune.

Entre as proteínas componentes do RNPsn, o polipeptídeo D é o de maior interesse no presente estudo, uma vez que possui homologia com seqüência do antígeno EBNA-1, produzido nas células infectadas pelo EBV (ROKEACH, HASELBY, HOCH, 1988).

Nos pacientes com LES, há produção de auto-anticorpos contra diversos componentes das estruturas responsáveis pela síntese protéica. Pode ocorrer, de forma exagerada, produção de auto-anticorpos contra componentes do cromossomo, ou seja, contra DNA, contra proteínas histonas e contra histonas não estruturais (HARDGRAVE et al., 1993).

Quadro clínico do Lúpus Eritematoso Sistêmico

As manifestações clínicas mais freqüentes do LES são aquelas

referidas no ACR (HOCHBERG, 1998), porém, durante a reativação da doença, podem surgir sinais e sintomas outros.

Os achados clínicos mais comuns, no início ou durante a evolução do LES, incluem:

- ✍ Acometimento músculo-esquelético - a maioria dos pacientes evolui com artralgias, comprometendo as articulações inter-falangianas proximais, metacarpo-falangianas, punhos e joelhos, geralmente em ausência de erosões articulares. A osteonecrose é a mais grave manifestação articular e geralmente se relaciona com o uso de altas doses de corticóide. As miopatias inflamatórias podem se fazer presentes em algumas ocasiões (CRONIN, 1988);
- ✍ Sinais e sintomas muco-cutâneos - as ulcerações orais estão presentes em 30% dos pacientes, localizando-se em palato com evolução indolor, exceto no caso de infecções como a candidíase. Lesões cutâneas ocorrem em 80% dos casos, durante a evolução da doença, sendo o rash malar em asa de borboleta e a fotossensibilidade as mais características. Em 25% dos pacientes, surgem lesões discóides, caracterizadas por atrofia cutânea; a alopecia manifesta-se em 50% dos casos, principalmente nos períodos de atividade do LES e o fenômeno de Raynaud é observado em 30%. Outras manifestações menos freqüentes são as urticárias (referida por 6% dos pacientes), a paniculite (por 1% dos casos), as telangectasias, o *livedo reticularis* (por 17% dos casos) e a púrpura digital (RABBANI et al., 2003);
- ✍ Serosite - em 41% dos casos, a inflamação da pleura, do pericárdio ou do peritônio pode ocorrer com ou sem efusão (WILLIAMS, SHAH, SARGEANT, 2004). Segundo Swaak et al. (1999), sua freqüência aumenta com a evolução da doença de 36% para 67%;
- ✍ Manifestações hematológicas - anemia, decorrente de processo inflamatório crônico, é a alteração hematológica mais freqüente, acometendo no mínimo uma vez 33% dos casos, dos quais 5% podem ser do tipo hemolítico.

Trombocitopenia, leucopenia com linfocitopenia na ausência de drogas imunossupressoras, são características do LES, sem, no entanto, representarem risco de infecção, embora acometam 17% e 42% dos pacientes respectivamente. Hemólise com teste de Coombs positivo não é manifestação comum no LES (HU et al., 2004);

- ✍ Manifestações renais - do ponto de vista histopatológico, a maioria dos pacientes apresenta glomerulopatias, no entanto, sua manifestação clínica ocorre em 50% dos doentes. Habitualmente, as lesões decorrem de depósitos de imunocomplexos, contendo DNA como antígeno, acompanhados de redução do nível de complemento. As alterações mais freqüentes são as lesões mesangiais, proliferativas e difuso-proliferativas, estas últimas acompanhadas de hipertensão arterial, com alterações no sedimento urinário, sendo a proteinúria a anormalidade mais freqüente (32%), seguida de diminuição da depuração de creatinina (27%), de hematúria (20%) e de cilindrúria (17%). A presença de uma síndrome nefrótica sugere alterações membranosas ao nível glomerular (WILLIAMS, SHAH, SARGEANT, 2004);
- ✍ Alterações neuropsiquiátricas - tais complicações estão presentes em 50% dos pacientes, manifestando-se como depressão (em 14% dos pacientes), alterações da personalidade e psicose. Em geral, essas alterações decorrem de inflamação dos vasos ou de fenômenos trombóticos (HAUPT, 2004);
- ✍ Manifestações pulmonares – o comprometimento do sistema respiratório pode se apresentar na forma de fibrose intersticial e vasculite, que são as principais causas de hipertensão pulmonar (MARTUSEWICZ–BOROS et al., 2002);
- ✍ Manifestações oculares – pacientes com LES podem desenvolver uveíte anterior, iridociclite, oclusão arterial e venosa da retina e lesões isquêmicas do nervo óptico (YAP et al., 1998).
- ✍ envolvimento do sistema nervoso central (SNC) com diversos sinais e diagnósticos como convulsão (9%), neuropatia periférica (6%), crises convulsivas, acidente vascular cerebral, diminuição da consciência (4%),

meningite asséptica (2%), além de outros comprometimentos que se tornam mais freqüentes com a evolução da doença passando de 6% para 65%, após dez anos;

✍ hepatomegalia – o sinal gastrointestinal mais freqüente, diagnosticado em 17% dos pacientes e a esplenomegalia, em 8%, além de outras manifestações como: pancreatite e vasculite intestinal, acometendo 3% e 1% dos casos, respectivamente;

Evolução do Lúpus Eritematoso Sistêmico

Em 1975, Fries e Holman afirmaram que o LES pode ser ativo por alguns anos e entrar em remissão permanente. Em 1987, Halberg, Alsbjorn e Gerstoft, não encontrando remissão em 148 pacientes lúpicos acompanhados após 10 anos, admitiram tratar-se de uma doença crônica. No entanto o lúpus pode evoluir de forma intermitente, embora seja possível sua remissão mesmo com a retirada de terapia adequada (FORMIGA, PAC, PUJOL, 1999). Bombardier, Gladman e Urowitz, (1992) relataram que, em formas graves da doença, também pode haver remissão, entretanto as características desses pacientes, bem como a freqüência e a duração da remissão, ainda não haviam sido determinadas.

Dubois descreveu a remissão em 35% de 520 pacientes, por tempo de 10 a 20 anos, em 1956, portanto antes do emprego de corticóide ou de imunossupressores no tratamento. Em 1976, o mesmo autor verificou que, durante o período chamado de remissão, os pacientes podiam evoluir com manifestações clínicas leves e com persistência das alterações laboratoriais.

Drenkard et al. (1996) verificaram que, dentre 667 pacientes, 25% tiveram remissão por período mínimo de um ano. Formiga et al. (1999), dentre 100 pacientes portadores de LES, observaram remissão em 14, os quais, ao início da doença, apresentavam elevado índice de atividade.

O conceito de remissão foi sendo aprimorado com o passar do tempo. Assim, Denkard et al., em 1996, adotaram dois critérios para caracterização de remissão: ausência de manifestações clínicas por período mínimo de um ano, bem como de medicação capaz de suprimir a atividade da doença. Não consideraram em remissão, paciente assintomático que necessitava de qualquer droga para suprimir a atividade da doença ou com manifestação clínica isolada.

Swaak et al., em 1999, associaram aos critérios de remissão, a ausência de atividade da doença, definida como a mudança de manifestações clínicas decorrentes de processo inflamatório desconhecido, avaliada por meio do *Systemic Lúpus Erythematosus Disease Activity Index*, conhecido pela sigla SLEDAI.

Formiga, Pac e Pujol, em 1999, alertaram que o critério de remissão não era invalidado pela presença de sintomas leves como febre e artralgias, nem pela presença de alterações laboratoriais.

Além da remissão do Lúpus Eritematoso Sistêmico, foi de primordial importância caracterizar sua atividade, para avaliar, de forma objetiva, se o paciente evolui com melhora ou piora da doença, o que tem sido tema bastante controvertido. A capacidade de avaliar o grau de atividade da doença no LES é de primordial importância, pois decisões terapêuticas dependem, em muitas ocasiões, do julgamento médico sobre o estado da doença (DECKER, 1982).

Na busca de um índice válido e reprodutível de atividade do LES, admite-se a necessidade de obediência a seis critérios metodológicos: fácil compreensão, credibilidade, acurácia, reprodutibilidade, coerência biológica e facilidade de uso. A acurácia de um instrumento de medida é função da segurança e do viés, enquanto que a reprodutibilidade está relacionada à magnitude dos possíveis escores que resultam da aplicação do índice. Um instrumento, que fornece amplo intervalo de variação de escore, tem reprodutibilidade, uma vez que a alteração de uma única variável provocará uma grande diferença no resultado final. Os seis critérios devem estar sempre

presentes para que o índice tenha valor em pesquisas clínicas e permita a comparação de pacientes de diferentes centros, bem como sua estratificação para ensaios terapêuticos (HAWKER et al., 1993).

Foram desenvolvidos mais de 60 índices, desde 1960, porém só mais recentemente obtiveram-se instrumentos capazes de fornecer uma avaliação global da atividade de doença.

Avaliação da atividade da doença

O SLEDAI foi inicialmente desenvolvido em Toronto, Canadá, em 1985, durante o encontro sobre atividade de doença no LES (BOMBARDIER, GLADMAN, UROWITZ, 1992), com o objetivo de avaliar 24 atributos claramente definidos, agrupados segundo sintomas e sinais detectáveis em nove órgãos, sendo determinado um escore ponderal para cada órgão bem como um escore total, cuja validade foi testada em 1988 por um grupo internacional de especialistas em lúpus, pesquisando em oito centros da Europa e dos Estados Unidos.

Petri e Genovesi, em 1992, demonstraram que o SLEDAI tem sensibilidade para detectar mudança na atividade da doença. Hawker et al., em 1993, comparando o SLEDAI, ao *British Isles Lúpus Assessment Group* - BILAG e ao *Systemic Lúpus Activity Measure* – SLAM, consideraram o SLEDAI como de fácil interpretação e de total confiabilidade quando aplicado por médico reumatologista. No entanto, em 1994, Gladman além de classificá-lo como o índice mais sensível para avaliar alterações da doença, considerou-o válido e confiável para ser aplicado em diferentes países e serviços de saúde e afirmou que mediante seu emprego obtém-se resultado satisfatório, comprovando que o índice contempla importantes dimensões de atividade da doença, sintomas e sinais clínicos, alterações laboratoriais e avaliação da resposta imune, independentemente da experiência do profissional que o emprega.

O SLEDAI tem sido empregado para avaliar, além de atividade da doença, o risco do desenvolvimento de algumas de suas complicações. Em 1994, Belmont et al. utilizaram o SLEDAI para verificar atividade de doença, em estudo no qual havia aumento na expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais. A presença aumentada de tais proteínas, nas superfícies celulares, acontecia com maior frequência nos períodos de exacerbação do LES.

Nossent em 1993, fez uso desse índice para descrever o curso e o prognóstico do LES em pacientes negros de origem caribenha. Observou que um escore elevado do SLEDAI estava associado a uma diminuição na sobrevida dos doentes. Em 1999, Formiga, Pac e Pujol, ao utilizarem o SLEDAI para identificar atividade clínica da doença, concluíram que, quanto mais severo o quadro clínico inaugural da doença e mais alto o SLEDAI, tão mais tardiamente poderá haver redução de sinais e sintomas iniciais.

Em 1997, Borba e Bonfá, estudando o papel das dislipoproteinemias como causa de aterosclerose em LES, classificaram como doença inativa ou estável aquela com SLEDAI igual ou menor que quatro e doença com atividade moderada ou severa, a que se acompanha de SLEDAI igual ou superior a seis. Em 2004, Kang et al. também utilizaram o SLEDAI para classificar atividade da doença, mas tomaram cinco como ponto de corte para classificar a atividade da doença como moderada ou severa.

Imunossupressão e infecções no LES

Tal como descrito na etiopatogenia do LES, as respostas imunes aberrantes são geralmente responsáveis pelo dano tissular e, para minimizar tais alterações, usam-se drogas, cujo objetivo principal é suprimir a resposta humoral, ou seja, a produção de auto-anticorpos. Assim, o tratamento do LES baseia-se no uso de antiinflamatórios não hormonais, corticosteróides e drogas

imunossupressoras, isoladas ou em associação com antibióticos, devido à incidência aumentada de infecções nesses pacientes.

A infecção acomete tanto os pacientes da comunidade como os hospitalizados e sua patogênese é complexa. Pode acometer diversos sítios, contudo o pulmonar é o mais comum, conforme relatado por Dufty, Dufty e Gladman, em 1991, e corroborado por Lee et al., em 1997.

As infecções bacterianas e não bacterianas são a maior causa de mortalidade e morbidade de pacientes com LES (ROSNER et al., 1982), respondendo por 30% dos óbitos por esta enfermidade (KARSH et al., 1979). O aumento da taxa de infecção pode ser atribuído ao Lúpus em si (NIVED, STURFELT, WOLLHEIM, 1985), à nefrite lúpica (LEE et al., 1997), à doença em atividade (DUFTY, DUFTY, GLADMAN, 1991), ao seu agravamento (NIVED, STURFELT, WOLLHEIM, 1985), ou ao uso de azathioprina (PETRI, GENOVESE, 1992).

Os agentes imunossupressores levam ao aumento da sobrevida dos pacientes (KLIPPEL, 1990), porém contribuem para risco maior de infecção, por vírus, incluindo herpes-zoster e citomegalovírus, assim como por bactérias oportunistas como *Pneumocystis carinii* (HELLMANN, PETRI, WHITING-O'KEEFE, 1987).

Em pacientes com doença em atividade, o risco de infecção aumenta quando se institui a terapêutica com esteróide associado à ciclofosfamida, empregando altas doses (MORGAN et al., 1990; SEN et al., 1991). No entanto o risco de infecção não se faz presente quando o corticosteróide é utilizado isoladamente, exceto na infecção por herpes-zoster e por bactérias oportunistas (PRYOR, BOLOGNA, KAHL, 1996).

Na infecção por EBV, o papel do corticóide tem sido questionado (PETRI, GENOVESE, 1992). Essa medicação não altera as transformações que sofrem os linfócitos na presença do EBV, nas primeiras duas semanas de uso. Após três meses da terapêutica, os pacientes apresentam diminuição significativa

no número de linfócitos T e B. Essa linfocitopenia poderia interferir na resposta imune ao EBV, entretanto a produção de IgG e IgM anti-VCA e IgG anti-EA não se alteram nos casos de mononucleose infecciosa (BRANDFONBRENER et al., 1986; FLEISHER, COLLINS, FAGER, 1985).

Altas doses de drogas imunossupressoras podem reativar o EBV e favorecer o surgimento de malignidade. A combinação de corticóide e de imunossupressores conduz a uma linfocitopenia bem como à reativação do EBV em estado latente, embora a diminuição de linfócitos T não se associe a maior incidência de infecções oportunistas (LAZZARINO et al., 1999).

Ginzler et al., em 1978, relataram aumento de infecções em pacientes com LES, quando em uso de doses iguais ou superiores a 40mg/dia de prednisona; esse aumento não foi verificado nos pacientes em uso de azathioprina. Contrariamente, Hellmann et al. (1987) comprovaram que terapias com drogas imunossupressoras associam-se a óbito, particularmente por infecção oportunista.

Papel de agentes infecciosos na resposta auto-imune

Os microorganismos possuem diferentes moléculas antigênicas, que serão reconhecidas como estranhas pelo sistema imune do hospedeiro. Estes antígenos potenciais incluem uma variedade de carboidratos, lipídeos e proteínas, que podem ser detectados por receptores específicos dos linfócitos T e B. O sistema receptor na superfície dos linfócitos B é constituído por imunoglobulinas, capazes de reconhecer antígenos protéicos, já os receptores dos linfócitos T só reconhecem antígenos protéicos derivados dos microorganismos, quando associados a outras moléculas, que podem ser de classe I ou classe II do MHC, apesar de algumas exceções terem sido descritas na década de 90 (BECKMAN et al., 1994).

Vírus, bactérias e auto-imunidade

Embora muitas informações a respeito das doenças auto-imunes tenham se acumulado ao longo de anos de pesquisa, a etiologia destas permanece desconhecida (BEHAR, PORCELLI, 1995).

Em alguns pacientes, os agentes infecciosos podem promover lesão e conseqüente doença, quer pela sua replicação em tecidos importantes ou favorecendo o surgimento de respostas auto-imunes (WANDINGER et al., 2000). Os vírus podem ainda modificar proteínas celulares, que deixariam de ser reconhecidas como próprias; liberar proteínas ausentes da circulação (antígenos seqüestrados); afetar o sistema imune com estimulação policlonal de linfócitos B; promover alterações nas células imunorreguladoras; mimetizar moléculas do organismo provocando reações cruzadas; gerar anticorpos anti-idiótipos ou levar à formação de imunocomplexos (SCHATTNER, RAGER-ZISMAN, 1990).

A concomitância de títulos elevados de anticorpos específicos, da identificação da seqüência viral e da presença de títulos elevados de γ -interferon em soro de pacientes têm reforçado que os vírus podem ser fatores etiológicos das doenças auto-imunes (KANG et al., 2004). Alguns exemplos são: a associação entre o vírus coxsackie B e o posterior desenvolvimento de diabetes mellitus insulino-dependente (BANATVALA, 1987); o surgimento de síndrome de Sjögren, anemia aplástica, hemólise e LES após mononucleose infecciosa (CHEESEMAN, 1988) e o desencadeamento ou exacerbação de doenças auto-imunes após vacinações contra doenças virais (BELLANTI, 1975).

A ação dos vírus, particularmente os herpesvirus (ZHU, 1995) nas doenças auto-imunes, decorre de sua permanência em células imunocompetentes, tais como linfócitos T, linfócitos B e macrófagos, bem como de sua capacidade de replicação, o que poderia explicar as manifestações cíclicas dessas patologias (RIDER et al., 1997). O vírus Epstein-Barr (EBV), o citomegalovírus (CMV), o herpes simplex e o vírus da hepatite B são exemplos característicos (McCHESNEY, OLDSTONE, 1987).

No caso do EBV, os linfócitos infectados tornam-se ativados, com crescimento e replicação autônomos e produção de auto-anticorpos (TOSATO, BLAESE, 1985), que reagem a múltiplos órgãos (GARZELLI et al., 1984). As ações do EBV no sistema imune incluem:

- ✍ poder atuar como gatilho inicial na produção de auto-anticorpos por estimular proliferação e diferenciação de linfócitos B, levando à produção de anticorpos que podem ou não causar danos nas células hospedeiras (SCHATTNER, 1987). A ativação das células produtoras destes anticorpos ocorre indiretamente, pela diminuição na atividade supressora de linfócitos T (MILLER, SCHWARTZ, 1982).
- ✍ responder, ainda, pela ruptura da imunorregulação, por causar redução no número e na função de linfócitos *natural killer* (NK), sendo este efeito comum nas doenças auto-imunes (McCHESNEY, OLDSTONE, 1987). Seu outro efeito indireto, no sistema imune, é a indução de síntese de γ -interferon (γ -INF), β -interferon (β -INF) (FREI et al., 1988) e fator de necrose tumoral (TNF) (BEUTLER, 1988), citocinas estas capazes de aumentar a resposta inflamatória, nas doenças auto-imunes.
- ✍ diminuir a expressão de moléculas de classe I do complexo maior de histocompatibilidade (MHC), evitando o reconhecimento das células infectadas por linfócitos T citotóxicos (T_c), favorecendo sua persistência no hospedeiro (DOHERTY, 1987); outros têm efeitos opostos, ou seja, induzem produção das citocinas IFN e TNF, que aumentam a expressão de antígenos classe I do MHC, facilitando a destruição destas células por linfócitos T_c autorreativos, tal como ocorre nas células beta do pâncreas no diabetes e nas células da tireóide, na tireoidite auto-imune (FELDMAN, LONDEI, BUCHAN, 1987).
- ✍ apresentar de epítomos similares, ou seja, seqüência de aminoácidos semelhantes, tanto no agente infeccioso como no hospedeiro. Tais antígenos, quando presentes em determinados vírus, poderiam induzir uma resposta imune, com produção de anticorpos, os quais por reação cruzada se ligariam aos antígenos do próprio hospedeiro, levando à subversão do mecanismo

normal de tolerância, bem como à perpetuação da resposta auto-imune. Reações cruzadas entre microorganismos e componentes próprios têm sido demonstradas experimentalmente em humanos e em animais de laboratório (PORCELLI, 1993).

- ✎ compartilhar sítios antigênicos com os do hospedeiro normal, porque ambos possuem seqüências de aminoácidos homólogas, de ocorrência aleatória ou como resultado da incorporação de proteínas das células hospedeiras, durante o período de replicação viral (SCHATTNER, RAGER-ZISMAN, 1990). Os modelos auto-imunes, baseados no mimetismo molecular, pressupõem a existência dos linfócitos T auto-reativos, uma vez que auxiliam linfócitos B auto-reativos na produção de auto-anticorpos. No entanto tais linfócitos são mantidos num estado de anergia ou de ignorância imunológica, antes do aparecimento das alterações imunes (MILLER, MORAHAN, 1992).

Faz-se necessário explicar como tais células escapam da indução de tolerância que ocorre no timo, e como permanecem em silêncio imunológico, ou seja, sem reagir com antígenos próprios. Outro ponto, que precisa ser mais bem compreendido, é a persistência da doença, evoluindo com remissão e exacerbação, mesmo após o agente infeccioso ter sido eliminado.

Embora proteínas teciduais sejam capazes de desencadear síntese de auto-anticorpos, habitualmente não induzem respostas imunes, por não serem adequadamente processadas e apresentadas aos linfócitos T potencialmente auto-reativos (SERCARZ et al., 1993). Estes antígenos próprios são coletivamente denominados antígenos seqüestrados. Suas seqüências de aminoácidos existem em diversos tecidos, podendo localizar-se também em áreas avasculares, como a córnea, e em tecidos com barreiras anatômicas, tal como ocorre no sistema nervoso central e na cápsula de Bowman no rim (SERCARZ et al., 1993).

No entanto, quando estes tecidos são danificados por vírus ou outros microorganismos, proteínas inicialmente inacessíveis podem ser expostas e desencadear resposta imune, quando apresentadas de forma eficaz aos linfócitos T potencialmente auto-reativos (LIN et al., 1991).

Existem dois mecanismos distintos para explicar como os vírus podem causar dano celular com liberação de antígenos seqüestrados, responsáveis pela produção de auto-anticorpos. No primeiro, admite-se que o antígeno encontrar-se-ia no interior da célula, impedindo sua detecção pelo sistema imune, até que fosse liberado ou exposto, como consequência da morte celular. Tais antígenos seriam então reconhecidos pelos linfócitos T e B auto-reativos, resultando numa resposta imune, que levaria à produção de auto-anticorpos, com possibilidade de causar dano tissular (BEHAR, PORCELLI, 1995).

Num segundo mecanismo, os antígenos próprios, que pudessem ocasionar reações imunes, poderiam ser tolerados através da deleção clonal, ou seja, eliminação de linfócitos potencialmente auto-reativos, principalmente as células T auxiliares importantes na produção de anticorpos, ou por não serem adequadamente expostos pelas células apresentadoras de antígenos. No entanto essa tolerância poderia ser rompida quando partículas virais se incorporassem a tais proteínas, originando novo sitio antigênico, que poderia ocasionar ativação de linfócitos T auxiliares, apropriados para estimular linfócitos B a produzirem anticorpos de reações cruzadas (COOKE, LYDYARD, ROITT, 1983).

O conceito de antígenos seqüestrados é útil para explicar a existência de linfócitos T potencialmente auto-reativos em estado silencioso, presentes no sangue e nos órgãos linfóides periféricos, que não foram suprimidos no timo nem tolerados no extra-timo. É provável que os linfócitos T auto-reativos não sejam suprimidos no timo, durante a seleção negativa, pelo fato dos antígenos próprios, que normalmente deveriam ser reconhecidos, não terem sido adequadamente apresentados pelas células epiteliais tímicas (BEHAR, PORCELLI, 1995).

O reconhecimento desta situação remete a algumas questões centrais sobre a ativação dos linfócitos T auto-reativos. Como estes antígenos seriam apresentados aos linfócitos T auto-reativos com a conseqüente ativação dos mesmos? Como a exposição a diferentes microorganismos levaria as células apresentadoras de antígenos a expor antígenos seqüestrados, com ativação de linfócitos T auto-reativos?

Ativação de linfócitos T e B auto-reativos

Estudos indicam que a tolerância pode ser quebrada pela ativação de linfócitos T auto-reativos e de linfócitos B de reação cruzada, por imunógenos estranhos (LIN et al., 1991). Os linfócitos B, que também podem funcionar como apresentadores de antígenos, ligam-se com alta afinidade por meio de receptores de superfície, ou seja, de imunoglobulinas, a antígenos exógenos liberados por microorganismos. Posteriormente, estes antígenos são fagocitados, processados e apresentados aos linfócitos T auto-reativos, ocasionando ativação dos mesmos (ROK, BENACERRAF, ABBAS, 1984). A proliferação e a diferenciação de linfócitos B de reação cruzada, com conseqüente produção de auto-anticorpos, fornece o mecanismo pelo qual o mimetismo molecular atuaria como gatilho nas doenças auto-imunes.

O maior obstáculo a ser superado para associar o mimetismo molecular com uma das vias da auto-imunidade é identificar o epítopo ou epítomos, ou seja, as seqüências de aminoácidos que iniciam tais reações nos indivíduos geneticamente predispostos.

Em outras palavras, que antígeno exógeno e que polipeptídeo próprio é relevante para a indução de doença auto-imune? A grande dificuldade em responder esta questão reside no fato de que homologias de seqüências de aminoácidos são uma ocorrência comum, quando examinam-se diferentes antígenos teciduais e variados tipos de microorganismos (LEHMANN et al., 1993).

Outra forma do surgimento de auto-antígenos ocorre quando os vírus induzem modificações nas células hospedeiras (SCHATTNER, RAGER-ZISMAN, 1990). Vírus, que emergem da membrana celular por brotamento, freqüentemente incorporam em seu envelope antígenos do hospedeiro, sendo então reconhecidos por linfócitos B auto-reativos, processados e apresentados aos linfócitos T auto-reativos induzindo assim respostas auto-imunes (FUJINAMI et al., 1983).

Artrites reativas

Os mecanismos descritos reforçam a hipótese de que agentes infecciosos possam funcionar como gatilhos para geração de auto-imunidade. Se a resposta auto-imune estiver direcionada contra componentes próprios, o contínuo reconhecimento dos mesmos poderia ser responsável pela evolução crônica da doença, explicando assim a perpetuação do processo auto-imune.

Em muitas situações, doenças auto-imunes podem ser causadas por uma resposta imune direta contra tecidos, que possuem fragmentos de antígenos microbianos ou contra organismos infecciosos intracelulares. Assim, aventa-se a hipótese de que doença dita auto-imune represente mais corretamente uma infecção crônica. A persistência do agente infeccioso no hospedeiro, ou mesmo de um fragmento antigênico, pode evoluir para uma inflamação crônica tecidual. Exemplos deste mecanismo são: o aparecimento de artrite, que habitualmente se segue a uma infecção não articular, a sinovite asséptica mediada primariamente pelo depósito de antígenos estranhos na forma de imunocomplexos e a artrite associada à hepatite B aguda (WANDS et al., 1975).

Com o avanço de técnicas capazes de detectar microorganismos e seus antígenos, foi possível verificar se fenômenos auto-imunes podem resultar da persistência de produtos microbianos nos tecidos danificados (PORCELLI, 1993). Essa persistência de antígenos como causa de auto-imunidade foi bem

caracterizada na população que desenvolvia sintomas articulares, após infecção entérica por *Yersinia enterocolitica* (HAMMER et al., 1990). As manifestações clínicas articulares poderiam decorrer da presença de antígenos bacterianos nas células sinoviais ou mesmo no líquido sinovial, semanas, meses ou anos depois da infecção. Esse achado reforçou a possibilidade de que a artrite dever-se-ia à infecção crônica articular, no entanto, mesmo usando-se técnica de PCR, não se amplificou DNA de *Yersinia* nas amostras do líquido e do tecido sinovial (NIKKARI et al., 1992). Os achados negativos não podem ser vistos como conclusivos, mas o resultado desse experimento, associado à inabilidade de cultivar este microorganismo, apoiou a hipótese de que persistência de antígenos bacterianos pudesse causar inflamação crônica articular mesmo na ausência de organismos viáveis.

A artrite de Lyme é um excelente exemplo da forma como uma inflamação articular, sugerindo doença auto-imune, pode ser causada por patógeno microbiano. Esta doença é transmitida pelo espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, que penetra no hospedeiro com a picada do mosquito *Ixodis dammini* (STEERE, 1989). O derrame articular ocorre em 60% dos pacientes não tratados e torna-se crônico em 10%, com erosão da cartilagem e do osso subcondral, assumindo características histopatológicas semelhantes às da artrite reumatóide (STEERE, DURAY, BUTCHER, 1988). O estudo da doença de Lyme aumentou a importância em considerar a infecção crônica persistente como possibilidade etiológica de patologias idiopáticas com característica auto-imune.

Superantígenos e auto-anticorpos

A descoberta dos superantígenos e de seu mecanismo de ação exerceram forte influência no estudo da imunologia das infecções e contribuíram para melhor entendimento das doenças auto-imunes.

Os superantígenos são proteínas presentes em uma grande variedade de espécies bacterianas e virais, capazes de ativar resposta imune independente das células apresentadoras de antígenos. Exercem seus efeitos nas células T por meio de sua ligação a receptores de superfície celular, denominados proteínas de classe II, que também são expressas nas células apresentadoras de antígenos (MARRACK, KAPPLER, 1990). O reconhecimento do superantígeno pela célula T pode acarretar diferentes consequências, como proliferação e expansão clonal, anergia ou morte celular (RAMMENSEE et al., 1989).

As manifestações clínicas resultantes da ação dos superantígenos decorrem de dois mecanismos: a ativação de linfócitos T e a produção desordenada de citocinas e de outros mediadores inflamatórios (MIETHKE et al., 1992). O primeiro sugere que estes antígenos poderiam estimular a produção de auto-anticorpos, pela ativação de células T normais, que passariam a interagir com células B produtoras de auto-anticorpos (FRIEDMAN et al., 1991). Os investigadores sugerem que linfócitos B auto-reativos, nestas circunstâncias, podem ser preferencialmente ativados porque recebem um sinal de crescimento, decorrente da interação de imunoglobulinas de superfície com antígenos e um segundo sinal, decorrente da ativação de linfócitos T pelos superantígenos. A expansão de células B auto-reativas conduziria à estimulação secundária de células T auto-reativas, por fornecer um segundo sinal necessário a sua ativação (FRIEDMAN et al., 1991).

O segundo mecanismo decorreria da ativação direta de células T auto-reativas, anérgicas ou ignorantes, sem necessidade de um segundo estímulo, com conseqüente expansão clonal e capacidade de liberar um segundo sinal, para ativação de linfócitos B auto-reativos, ocasionando produção de auto-anticorpos. Assim, os agentes infecciosos poderiam causar alterações auto-imunes, através da liberação de antígenos seqüestrados, devido ao dano tissular (MILLER et al., 1997), bem como ativação simultânea por meio dos superantígenos, de uma grande população de linfócitos T potencialmente auto-reativos (PERRON et al., 1997).

Relação entre LES e outras viroses

Desde de 1972, as pesquisas para identificar a etiopatogenia do LES além de terem implicado alguns vírus, forneceram evidências de que a infecção viral poderia causar alterações na resposta imune celular e humoral, favorecendo o aparecimento da auto-imunidade.

Os vírus implicados na etiopatogenia do LES foram: parvovírus B19 (NESHER, OSBORN, MOORE, 1995), *Herpes zoster* (MOGA et al., 1995) citomegalovírus humano (RIDER et al., 1997) e vírus da hepatite C (ALBERO et al., 1996) e as evidências estão expostas no Quadro 1

Estrutura antigênica do EBV

O EBV foi descoberto em 1964 por meio de microscopia eletrônica e, quatro anos após, foi responsabilizado pela mononucleose infecciosa (HENLE, HENLE, DICH, 1968). Incaprera et al., em 1998, historiando a sequência de descobertas envolvendo o EBV, explicam que o ácido desoxirribonucleico (DNA) do EBV foi detectado em tecido de pacientes portadores de carcinoma de nasofaringe, em 1970 por Zur Hausen et al. ; em 1980, comprovou-se associação entre linfoma não Hodgkin e EBV em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida, mas apenas na década de 90 surgiram as primeiras evidências do EBV na patogênese do Lúpus Eritematoso Sistêmico.

<i>EVIDÊNCIAS</i>	<i>VÍRUS IMPLICADOS E AUTORES</i>				
	<i>Parvovírus B19</i>	<i>Herpes zoster</i>	<i>Herpes simplex (HSV-1)</i>	<i>Citomegalovírus humano</i>	<i>Vírus das hepatites B ou C</i>
quadro clínico semelhante ao LES	Serjeant et al. (1981) Chassagne et al. (1993) Vigeant, Ménard, Boire (1994) Nesher, Osborn, Moore, (1995)			Espinosa et al. (1997)	Ziegenfuss et al. (1972)
exacerbação do LES	Meyer et al. (1991)			Söderberg et al. (1996) Aalto et al. (1998)	
simultaneidade da virose e do quadro clínico de LES	Cope et al. (1992)	Hashizume et al. (1991) Strom et al. (1994)			
semelhança entre anticorpos presentes no LES e aqueles detectados em infecções virais agudas	Loizou et al. (1997)				Pawlosky et al. (1995)
maior prevalência de infecção viral em portadores de LES, comparados a controles normais		Ragozzino et al. (1982)	Rider et al. (1997)	Rider et al. (1997)	Permin, Aldershville, Nielsen (1982) Looi, Prathap (1982)

Quadro 1 – Pesquisas que forneceram evidências da associação entre infecção por Parvovírus B19, *Herpes zoster*, *Herpes simplex tipo i*, *Citomegalovírus* e *Vírus das hepatites B ou C* e Lúpus Eritematoso Sistêmico

O EBV é membro da família *Herpesviridae*, subfamília *Gammaherpesvirinae* e gênero *Lymphocryptovirus*. O genoma viral encontra-se dentro do nucleocapsídeo, que, por sua vez, é rodeado pelo envelope viral. O vírus penetra nas células epiteliais da orofaringe, replica-se, podendo originar citólise, e é eliminado pelos perdigotos. Replica-se também nos linfócitos B (YAO et al., 1985).

O DNA do EBV tem configuração linear e é capaz de codificar 100 proteínas diferentes (KIEFF, 1996), importantes para regulação da expressão dos genes virais, pela replicação do DNA, pela formação dos componentes estruturais do vírus e pela modulação da resposta imune do hospedeiro.

Dos 100 genes que podem ser expressos durante a replicação viral, só 10 são ativos quando o vírus encontra-se latente nas células B (KIEFF, 1996). Devido ao reduzido número de polipeptídios virais sintetizados neste período, o reconhecimento de linfócitos B infectados, pelos linfócitos T citotóxicos torna-se dificultado. As principais proteínas codificadas pelo genoma viral durante o período de latência têm como função mais importante manter o agente agressor viável no interior do hospedeiro.

O antígeno nuclear do EBV (EBNA-1) é uma proteína que se liga ao DNA viral, permitindo que o genoma, normalmente linear, assuma uma forma circular nas células B (YATES et al., 1984). O EBNA-2 regula a expressão da proteína latente de membrana (LMP) 1 e 2, bem como as proteínas que contribuem para o crescimento e transformação das células B (JOHANNSEN et al., 1995). O EBNA-3 também regula a expressão de genes celulares por modular a expressão do EBNA 2 (WANG et al., 1990).

A LMP-1 atua como um oncogene capaz de bloquear mecanismos indutores da morte celular (WANG et al., 1985) e sua expressão em ratos transgênicos resulta em linfomas de células B (KULWICHIT et al., 1998). A LMP-2 bloqueia a fosforização da tirosinoquinase das células infectadas impedindo a reativação viral e permitindo sua sobrevivência no hospedeiro (MILLER et al., 1995).

Ciclo viral

Na infecção, o vírus EBV atinge a corrente circulatória, por meio da penetração da saliva contaminada na orofaringe, e, nessa região, liga-se a receptores existentes na superfície dos linfócitos B (RICKINSON, KIEFF, 1996), por meio de suas glicoproteínas (LI et al., 1997), resultando em resposta humoral e celular por parte do hospedeiro, sendo a primeira importante para o diagnóstico da doença e a segunda, responsável pelo controle da infecção.

Sua principal glicoproteína de superfície, gp350, liga-se ao CD21 (receptor C_{3d} do complemento) (FINGEROTH et al., 1984), assim como a proteína viral gp42 o faz com a molécula do complexo maior de histocompatibilidade (HLA) da classe II (HLA-DR) (SPRIGGS et al., 1996). No homem, a maioria dos anticorpos, que neutralizam o EBV, é direcionada contra a glicoproteína gp350, que é reconhecida pelos linfócitos Tc (COHEN, 1998).

A resposta imune característica, desencadeada pelo EBV, inicia-se com produção de IgM contra VCA e IgG contra EA. Mais tarde, surgem anticorpos associados ao antígeno nuclear (EBNA).

Mecanismo de latência viral

Os linfócitos B infectados durante a fase aguda, ou seja, quando ocorre passagem do vírus pela orofaringe, expressam um número limitado de genes virais. No entanto, numa pequena fração desses linfócitos, a replicação viral ocorre de forma espontânea com expressão aumentada desses genes e lise celular. No período de convalescença da infecção, o comportamento viral é semelhante ao da latência, por isso os linfócitos passam a expressar poucos genes virais. Numa pequena fração dessas células B com infecção latente ocorre reativação da infecção, e essas células reativadas expressam genes virais adicionais (COHEN, 1998).

Em pessoas imunocompetentes, o EBV permanece como infecção latente crônica, desenvolvendo quatro mecanismos que o ajudam a permanecer nos linfócitos B e a evitar que o sistema imune o destrua: limita o número de produtos de genes virais expressos, interfere na atividade das citocinas, suprime as moléculas de superfície que facilitam o reconhecimento pelo linfócito Tc das células infectadas e sintetiza proteínas anti-apoptóticas.

O primeiro mecanismo para despistar as respostas do hospedeiro é limitar o número de produtos de genes virais expressos, conforme comprovado por Strauss et al., em 1992, ao demonstrarem, *in vitro*, que quando o vírus sofre replicação, são expressos cerca de 90 genes; contudo, quando infecta de forma latente os linfócitos B, esse número é reduzido a 10 genes. Tierney et al. (1994) identificaram que, durante a convalescença, os linfócitos B infectados expressam produtos dos genes EBNA-1 e LMP-2, que são importantes para manter o vírus em latência e limitar a expressão de genes virais.

O segundo mecanismo consiste na produção de proteínas virais, BCRF-1 e BARF-1, que despistam o sistema imune, facilitando a latência viral. A proteína BCRF-1 do EBV compartilha 80% de sua sequência de aminoácidos com a interleucina 10 humana (IL-10) (MOORE et al., 1990) e, tal qual esta, inibe a síntese de γ -interferon nas células mononucleares periféricas, como os linfócitos e células *natural killer* (NK), impedindo assim a destruição dos linfócitos B infectados. Além disso, a BCRF-1 viral se expressa durante a infecção em seres humanos, inibindo a síntese de IL-1, IL-12 e do fator de necrose tumoral, assim como a proliferação de linfócitos T macrófago-dependentes, eventos que comprometem a capacidade do sistema imunológico de eliminar o vírus (HSU et al., 1990).

O fator estimulador de colônia1 aumenta a expressão de γ -interferon pelos monócitos e impede que novos linfócitos B sejam infectados. A BARF-1 ao acopla-se ao fator estimulador de colônia1, inibe a ação dessa citocina nos monócitos, bloqueando a produção de alfa interferon (COHEN, LEKSTROM, 1999). Sendo o γ e o γ -interferon responsáveis pela inibição da proliferação viral

nas células infectadas pelo EBV, *in vitro*, a BCRF-1 e a BARF-1 atuam auxiliando o vírus a se evadir da resposta imune no período agudo da infecção ou na reativação.

Um terceiro mecanismo envolve os linfócitos T citotóxicos, que são importantes na destruição dos linfócitos B infectados pelo vírus. Para eliminar as células infectadas, é preciso que as células Tc reconheçam peptídeos virais de superfície, no contexto das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (HLA) de classe I. O linfócito Tc libera proteínas citotóxicas, que causam morte das células infectadas (COHEN, 1998). É através da supressão de moléculas de superfície que facilitam o reconhecimento das células infectadas pelo linfócito Tc, que opera o terceiro mecanismo de evasão da resposta imune. A concentração reduzida de antígenos de classe I (ROWE et al., 1995) e a não degradação de proteínas associadas ao EBV, como a EBNA-1, pelo proteossoma das células infectadas, impedem sua exposição como peptídeos de superfície e seu reconhecimento pelos linfócitos Tc. O EBNA-1 seria responsável pela inibição de seu processamento, bem como de outras proteínas virais, junto ao proteossoma celular (LEVITSKAYA et al., 1997).

Uma quarta possibilidade para explicar a persistência do EBV poderia decorrer da síntese de polipeptídeos com ação anti-apoptótica. O EBV produz duas proteínas com ação inibidora da morte celular programada. Uma atua por homologia a proteínas humanas envolvidas nesse processo e outra por estimular síntese de proteínas anti-apoptóticas. A proteína BHFR-1 é homóloga ao BCL-2 (HENDERSON et al., 1993) e a LMP-1 à BCL-2 e à A-20 (KULWICHIT et al., 1998).

Papel do EBV na patogênese do LES

Alguns trabalhos têm considerado o EBV como agente etiológico ou participante na patogênese do Lúpus (VAUGHAN et al., 1995; ISACOVICS,

SILVERMAN, 1993).

Pesquisas têm sido realizadas, para se observar a reatividade entre seqüências de proteínas virais e auto-antígenos. Demonstrou-se ser possível uma resposta imune contra estrutura do EBV ocasionar reação cruzada em pacientes com LES, infectados por esse vírus, devido à homologia de seqüência de aminoácidos entre proteínas virais (SABBATINI et al., 1993b).

O EBV codifica várias proteínas, dentre as quais os antígenos nucleares de Epstein Barr (*Epstein Barr Nuclear Antigens*) com peso molecular 70K, 90K e 140K, que correspondem respectivamente ao EBNA-1, EBNA-2 e EBNA-3 (KITAGAWA et al., 1998). As respostas imunes para o EBNA-1 e EBNA-2 têm sido bem caracterizadas com relação ao tempo em que ocorrem. Anticorpos anti-EBNA-2 são os primeiros a aparecer, alcançando um pico entre quatro e doze meses após a infecção, decaindo em seguida, enquanto o anticorpo contra proteína EBNA-1 surge semanas ou meses após a EBNA-2, persistindo durante a vida (RHODES et al., 1985). A ocorrência do EBNA-2 se associa com infecção persistente ou prolongada do EBV (HENLE et al., 1987).

O EBNA-1 é uma proteína codificada pelo genoma do EBV, estando presente no núcleo das células infectadas. Este antígeno é vital para a persistência do vírus como parasita, bem como para a manutenção do seu DNA (YATES et al., 1984). Contém na sua parte central seqüência repetida de glicina/alanina correspondendo a um terço da molécula (HENNESSY, KIEFF, 1983) e representa o principal epítipo na resposta imune ao EBV (RHODES et al., 1985), podendo ocasionar reações cruzadas com proteínas em portadores de Lúpus por mimetismo molecular (VAUGHAN, 1996; RHODES et al., 1987).

A região N-terminal do EBNA-1 contém seqüência 35-58, semelhante à região C-terminal da proteína nuclear SmD (ROKEACH, HASELBY, HOCH, 1988), a qual é um dos alvos dos auto-anticorpos que surgem no LES (MARCHINE et al., 1994). Anticorpos anti-Sm são produzidos somente nos pacientes com LES e sua presença é um critério sorológico para diagnóstico da

doença (TAN et al., 1982), tendo sido detectada em um terço dos pacientes com LES (SABBATINI et al., 1993a).

Anticorpos contra o EBNA-1 ocorrem em pessoas saudas com passado de EBV, mas não no soro de pacientes sem história pregressa de mononucleose infecciosa. Este auto-anticorpo em pessoas saudas não sofre mutação somática, daí a não ocorrência de reação cruzada com Sm (VAUGHAN, 1996). A imunização de ratos com EBNA-1, associada a adjuvante, induziu a produção de anticorpo anti-Sm (MARCHINE et al., 1994), mas somente os anticorpos de pacientes com LES infectados por EBV reagiram com Sm e com EBNA-1, indicando que a capacidade de produção de anticorpos antivirais de reação cruzada se limitava ao LES. Experiência imunizando coelhos com SmB e B` levou à indução Lúpus *like* (JAMES et al., 1995) de modo semelhante ao que ocorria com EBNA-1.

Talvez a semelhança antigênica entre as proteínas do *spliceossomo* e o EBNA-1 viral possa representar o gatilho inicial no aparecimento do LES e a reação cruzada seria devido ao mimetismo molecular (JAMES et al., 1997).

Aproximadamente 70% dos soros dos pacientes com LES, infectados pelo EBV, têm anticorpos para antígenos EBNA-2 e EBNA-3, enquanto, na população sadia, sua ocorrência é de 10%. Esta diferença entre lúpicos e saudas é altamente significativa, sugerindo a participação do EBV na etiopatogenia da doença (KITAGAWA et al., 1988).

É provável que o EBNA-2 aumente o poder de transformação das células B infectadas (ERNBERG et al., 1986) e que o EBNA-3 seja responsável pela expressão de alguns genes virais (HENNESSY, FENNEWALD, KIEFF, 1985). A presença de anticorpos contra EBNA-2 e EBNA-3 no soro dos pacientes com LES indica que síntese continua de tais antígenos pelo paciente com LES, devido à expansão dos linfócitos B infectados. Tal mecanismo poderia explicar a ativação policlonal que é característica imunológica do LES (KITAGAWA et al., 1988).

O EBV predispõe ao desenvolvimento do Lúpus ou o Lúpus predispõe à infecção pelo EBV?

Esse questionamento foi suscitado desde a constatação da associação do LES com EBV por James et al., em 1997, e a enunciação da hipótese de susceptibilidade maior ao EBV nesses pacientes. A ocorrência de atividade anormal das células B inerente à própria doença, que se constituem em hospedeiras do vírus, poderia explicar uma menor resistência desta infecção nos pacientes com LES.

Enquanto a maioria das pessoas infectadas pelo EBV desenvolve anticorpo contra o VCA, alguns sintetizam anticorpos contra outros constituintes virais, incluindo o EBNA-1, que dá reação cruzada contra epítomos do *spliceossomo* (CHACK-SING et al., 1998). Habitualmente o DNA viral se incorpora ao genoma do hospedeiro e, durante a replicação, o EBV pode ter em sua composição seqüências de aminoácidos componentes das células B. Quando infecta um novo hospedeiro, o complexo antígenos/autoantígenos, pode tornar-se mais imunogênico e ao ser processado e apresentado ao sistema imune de uma forma que não ocorrera anteriormente; pode acarretar a quebra de tolerância; passando o organismo a reconhecer os epítomos apresentados como estranhos (VAUGHAN, 1996). Se esta seqüência de eventos for verdadeira, a infecção deve preceder o aparecimento da doença.

O conceito de que o EBV induz a formação de auto-anticorpos, não somente pela via policlonal como por mimetismo molecular, não é novo. Tsokos, Magrath e, Balow, (1983) sugeriram que a latência do vírus e a deficiência das células T em suprimir a infecção podem ser fatores que reforçam a hipótese do EBV desempenhar papel na auto-imunidade. Estes autores verificaram a incapacidade das células T em impedir o crescimento de células B infectadas por EBV *in vitro*, fazendo com que o vírus permanecesse em latência e perpetuasse a resposta imune no hospedeiro.

As hipóteses de que os vírus funcionem como gatilho nas doenças auto-imunes (COPE et al., 1992) e de que o EBV exacerbe o LES (FOX et al., 1992) têm sido aventadas e discutidas. Atualmente, supõe-se que o EBV é necessário, porém insuficiente, para atuar como agente etiopatogênico. A persistência do vírus no hospedeiro desencadearia a produção de anticorpos, bem como a ativação de células T, ocasionando reações auto-imunes por mimetismo molecular devido à similaridade antigênica entre as proteínas Sm e o antígeno EBNA-1 (VAUGHAN, 1996).

O EBV tem potencial de induzir auto-imunidade, devido à presença de numerosos auto-anticorpos, que surgem concomitantemente durante a fase aguda da doença, na maioria dos casos (GARZELLI, 1996). Alta proporção de pacientes com LES tem anticorpos anti-EBV (SCULLEY, SCULLEY, POPE, 1986), bem como esse vírus em grande quantidade de linfócitos B de memória (BABCOCK et al., 1998; ALLAWAY et al., 1988), capazes de multiplicarem-se continuamente em cultura *in vitro*. Fato semelhante poderia ocorrer *in vivo*, levando à ativação do sistema imune para destruir células infectadas. A produção de anticorpos de reação cruzada e a ativação de células T auto-reativas poderiam ser os eventos iniciais da auto-imunidade (INCAPRERA et al., 1998).

Do ponto de vista epidemiológico, ainda não foi descrito ser o LES resultante da transmissão de agentes infecciosos. No entanto, do ponto de vista biológico, esta associação parece existir. Como o EBV infecta continuamente o linfócito B, levando à exposição prolongada dos antígenos virais, poderia ocorrer uma reação cruzada com antígenos do hospedeiro. Assim a constante estimulação antigênica em pacientes geneticamente predispostos, promoveria o aparecimento de anticorpos de alta afinidade, que poderiam reagir com auto-antígenos (DIAMOND et al., 1992).

Na mononucleose aguda, a IgM produzida inicialmente pode reagir de forma cruzada com uma variedade de proteínas humanas (RHODES et al., 1987), porém este auto-anticorpo geralmente desaparece após meses de infecção sem que, necessariamente, ocorra mudança de classe para IgG com o mesmo determinante antigênico. Isso sugere a existência de fator que opera

negativamente no aparecimento de IgG de reação cruzada. O sistema que impede o desvio de IgM para IgG, que poderia reagir com seqüência própria glicina/alanina, inclui células T supressoras, células T citotóxicas e anticorpos anti-idiótipos (ROITT et al., 1992).

O EBV infecta o linfócito B levando à produção crônica de IgG, que poderá promover reação cruzada com proteínas do núcleo celular (MARCHINI et al., 1994; TOSATO et al., 1984). Ao infectar o linfócito B, o EBV torna-se ativado, com replicação autônoma, repetitiva, produzindo auto-anticorpos que reagem com antígenos em múltiplos órgãos (GARZELLI et al., 1984).

Seria plausível questionar a existência de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico EBV-negativos? Na literatura consultada, não se julgou plausível, mas, sim, aventou-se a possibilidade da manifestação concomitante ou tardia do LES, porém posterior à infecção por EBV.

Um estudo em Taiwan não foi capaz de detectar DNA de EBV em pacientes jovens portadores de LES, entretanto, no trabalho de James et al. (1997), o EBV pareceu ser o principal fator ambiental para o desenvolvimento da doença em pacientes geneticamente predispostos.

Em algumas ocasiões o EBV pode manifestar-se clínica e laboratorialmente antes do início do LES, tal como informou Bhimma, Adhikari e Coovadia, em 1995, ao descreverem uma síndrome similar à mononucleose infecciosa, cujo paciente evoluiu com LES. Dror et al., em 1998, relataram o caso de uma paciente com 14 anos, que apresentou, simultaneamente, sintomatologia de Lúpus e infecção aguda por EBV, confirmada pela presença de partículas virais na biópsia renal e em testes sorológicos. Sugeriram que o agente infeccioso desempenhou algum papel na patogênese do Lúpus.

A hipótese de uma infecção atuar desencadeando a doença é atraente, uma vez que foram relatados diversos casos dessa associação, bem como o aumento da susceptibilidade para viroses em presença de LES, ocasionando sérias alterações imunológicas (ILIPOULOS, TSOKOS, 1996).

Pacientes com LES podem desenvolver mononucleose infecciosa por reativação da forma primária (HUGGINS, TODD, POWELL, 2003) e, em determinadas situações, quando manifestações como febre, fadiga, leucopenia e adenopatia surgem, fica difícil estabelecer se é devido à piora do LES ou à reativação pelo EBV.

Sorologia para o diagnóstico da virose por Epstein Barr

A sorologia para o EBV é de grande importância para o diagnóstico diferencial entre esta infecção e doenças caracterizadas por linfadenopatia, febre, infecção respiratória, hepatite, trombocitopenia e sintomas neurológicos (CHIN, 1989). O diagnóstico se baseia na detecção de IgG e IgM anti-EBNA-1, anti-antígenos precoces (EA) e anti-antígeno do capsídeo viral (VCA) (SCHILLINGER et al., 1993), contudo existe grande variabilidade na resposta imune durante e após a infecção aguda pelo EBV, cujos resultados sorológicos podem variar de acordo com a técnica empregada (MAURMANN et al., 2003).

A sorologia para diagnóstico do EBV pode indicar a presença de um estado soro-negativo, de uma infecção aguda ou passada ou, ainda, de reativação devido à replicação viral, que é um fenômeno comum e pode ocorrer sem manifestações clínicas, especialmente em pacientes transplantados, HIV soropositivos e portadores de câncer (GÄRTNER et al., 2003). A reativação sorológica do EBV pode não se associar com manifestações clínicas decorrentes dessa infecção, principalmente nos imunocomprometidos. No entanto, a maioria dos casos de reativação viral parece estar presente em pacientes com sistema imune normal (OBEL, HOIER-MADSEN, KANGRO, 1996).

Habitualmente, utilizam-se imunofluorescência (IFA), considerada como padrão-ouro, e ELISA para pesquisa desses anticorpos contra constituintes virais, no entanto, podem-se encontrar diferentes resultados entre esses métodos com relação à capacidade de detectar níveis de anticorpos contra componentes virais. O ELISA foi recomendado por Schubert et al., em 1996, e Weissbrich, em

1998, pelo fato da imunofluorescência ser muito trabalhosa e impedir sua automação (VETTER, KREUTZER, BAUER, 1994). A recomendação foi feita também por Rea et al., em 2002, devido à facilidade de realização da técnica, e, por Gärtner et al. (2003), pela sua reprodutibilidade em aparelhos semi-automáticos de alta tecnologia.

Independentemente de se utilizar IFA ou ELISA, os testes disponíveis para o diagnóstico de infecção por EBV, com sensibilidade semelhante, pela determinação de IgG ou de IgM podem ser classificados em duas categorias: testes individualizados, com os quais é determinada a presença dos anticorpos contra cada um dos componentes antigênicos do EBV, ou seja, anti-VCA, anti-EA e anti-EBNA-1 e os testes anti-EBV, com os quais determina-se presença de anticorpos contra combinações de antígenos do EBV.

Stratta et al., em 1999, estudando 60 pacientes com Lúpus, fizeram testes sorológicos para detectar anticorpos anti-*Cytomegalovirus*, anti-parvovirus B19 e anti-EBV. Na sorologia do EBV, pesquisaram anticorpos para antígeno do capsídeo viral (VCA), antígeno precoce (EA), por imunofluorescência indireta (EBV-VCA-IgG IFA, MRL Diagnostics®, Cypress, California, USA), e antígeno nuclear do Epstein-Barr (EBNA). Concluíram que, quando a IgG anti-EA apresentou títulos superiores a 1:80, na presença de EBNA-1 e VCA, indicou reativação da virose. Quando a IgG anti-EA era negativa e a IgG anti-VCA ou a IgG anti-EBNA-1 positiva, indicou contato prévio com vírus. Quando a IgG anti-EA era positiva com IgG anti-EBNA-1 e IgG anti-VCA positivas ou negativas, indicou reativação do EBV. Todavia a IgM anti-VCA e IgG anti-EBNA-1 podiam apresentar resultados falso-positivos ou falso-negativos, conduzindo a situações duvidosas da sorologia do EBV (Quadro 2).

ANTICORPOS	INFECÇÃO PRIMÁRIA POR EBV			REATIVAÇÃO	INFECÇÃO PASSADA
	aguda inicial	evolução	Convalescença		
IgM anti-VCA	??	?	?	?	?
IgG anti-VCA	?	?	??	?	?
IgG anti-EA	?	?	?	?	?
IgG anti-EBNA-1	?	?	?	??	??

Legenda: ? - ausente ? - presente, aumentado ?? - presente, muito aumentado

Quadro 2– Mecanismos imunológicos dos anticorpos contra antígenos ou componentes do EBV, segundo período e tipo de infecção viral

Assim a presença de IgM anti-VCA em ausência da IgG anti-EBNA-1 é fortemente sugestiva de infecção aguda, enquanto ausência de IgM anti-VCA e presença de IgG anti-EBNA-1 indica infecção passada (LINDE, 1992).

De modo geral, quando se emprega a imunofluorescência, a infecção primária é caracterizada pela detecção de IgG e IgM anti-VCA e anti-EA, em ausência de IgG anti-EBNA. Durante o período de convalescença, a concentração de IgM anti-VCA passa a não ser detectada, enquanto a IgG anti-VCA pode se manter por toda a vida. A IgG anti-EBNA-1, que surge nesta fase, permanece por toda a vida em concentrações detectáveis pelo método. Em casos agudos, a IgG anti-EA é detectada em 70% por meio da IFA, desaparecendo durante a convalescença. Na reativação do EBV, a IgG anti-EA pode reaparecer, associada à elevação de IgG anti-VCA, com presença ou não de IgM anti-VCA (BUISSON et al., 1999) (Quadro 3).

MÉTODOS E ANTICORPOS	INFECÇÃO PRIMÁRIA POR EBV			REATIVAÇÃO	INFECÇÃO PASSADA
	aguda inicial	evolução	Convalescença		
Imunofluorescência					
IgM anti-VCA	??	??	?	? ou ?	?
IgG anti-VCA	??	??	?	??	?
IgM anti-EA	??	??	?	?	?
IgG anti-EA	??	??	?	?	?
IgG anti-EBNA-1	?	?	?	??	??
ELISA					
IgM anti-VCA	??	?	?	?	?
IgG anti-VCA	??	?	??	?	?
IgG anti-EA	?	?	?	?	?
IgG anti-EBNA-1	?	?	?	??	??

Legenda: ? - ausente ? - presente, aumentado ?? - presente, muito aumentado

Quadro 3– Mecanismos imunológicos dos anticorpos contra antígenos ou componentes do EBV, segundo período e tipo de infecção viral e método empregado no diagnóstico

Utilizando-se a técnica ELISA, a fase aguda se caracteriza pela presença de IgG e IgM anti-VCA em ausência da IgG anti-EBNA. Durante a evolução, a IgM anti-VCA tende a declinar e surge a IgG anti-EBNA, cuja concentração permanece elevada juntamente com a da IgG anti-VCA. A diferença entre as técnicas é que, no ELISA, a IgM anti-VCA é detectada por mais tempo, enquanto que, quando se emprega a IFA, detecta-se a IgG anti-EBNA mais precocemente (REA et al., 2002).

Na prática, a distinção entre infecção aguda, passada, convalescença ou reativação nem sempre é possível (WEISSBRICH, 1998), uma vez que o anticorpo IgM pode não ser detectado nas infecções agudas (SCHILLINGER et al., 1993), além de poder permanecer elevado durante meses após o início dos sintomas ou tornar-se novamente positivo, durante a reativação viral (SUMAYA, 1977).

Quando se emprega o ELISA para detecção de anticorpo IgM anti-EBV, freqüentemente podem-se encontrar resultados falso-positivos ou falso-negativos. Weissbrich, em 1998, também encontrou resultados falso-positivos e

falso-negativos quando pesquisava IgM anti-VCA para determinação de infecção aguda pelo EBV. Gray, Caldwell e Sillis, em 1992, encontraram resultados falso-positivos durante determinação do IgM anti-EBNA. Svahn et al., em 1997, demonstraram que a pesquisa de IgM pode apresentar resultados equivocados. Bruu et al., em 2000, encontraram resultados falso-positivos, quando só utilizavam detecção de IgM anti-VCA para diagnóstico de EBV. Chan et al., em 2001, também encontraram resultado falso-negativo, quando pesquisavam IgM anti-VCA.

O EBNA-1 é de fundamental importância na sorologia, uma vez que se encontra ausente nos casos agudos e, presente, no período de convalescença (SCHILLINGER et al., 1993), entretanto os níveis de IgG anti-EBNA-1 podem se encontrar baixos ou negativos em alguns casos de imunodeficiência (MILLER et al., 1997), e negativos em casos raros, no período de convalescença (KAMPMANN, HENNINGER, BAUER, 1998) e nos casos de mononucleose infecciosa crônica (MILLER et al., 1997).

Na tentativa de solucionar esses problemas de diagnóstico, adotou-se a pesquisa da avidéz de IgG para simplificar o teste, realizada por meio de método semi-automático (SCHUBERT, TER MEULEN, WEISSBRICH, 1996).

A avidéz pode ser definida como a resistência da ligação entre antígeno e anticorpo e sua mensuração pode ser realizada por meio da incubação do complexo antígeno-anticorpo com solução de uréia na concentração 6M. Ligações de alta avidéz persistem, enquanto as de baixa avidéz são destruídas, após adição de uréia (ANDERSON et al., 1994).

A aferição da avidéz baseia-se no grau de maturação de afinidade dos anticorpos IgG no decurso da resposta imune humoral (HEDMAN et al., 1989). Durante infecção aguda, os anticorpos, inicialmente produzidos, são de baixa avidéz, por não se ligarem fortemente ao antígeno correspondente. Com a evolução da resposta imune, os anticorpos secretados ligam-se de forma mais eficaz, devido à maturação de afinidade na resposta humoral, isto é, uma baixa avidéz de IgG é indicativa de infecção primária, pois, na fase aguda, as células B

secretam anticorpos com essa característica, ao passo que uma avidéz elevada é típica de infecção pregressa, reativação ou reinfeção (STRASEK, MARIN, 2001). Nesse contexto, utilizando a avidéz de anticorpo, é possível estimar o período em que ocorreu uma infecção.

Técnicas de desnaturação para distinguir infecção primária (baixa avidéz de anticorpo) de infecção passada ou reativada (alta avidéz de anticorpo), têm sido estabelecidas para uma variedade de vírus, incluindo rubéola (MAURACHER, MITCHELL, TINGLE, 1992), *Varicela-Zoster vírus* (JUNKER, TILLEY, 1994), *Herpes simples* (HASHIDO, INOUE, KAWANA, 1997), parvovírus B19 (GRAY, COHEN, DESSELBERGER, 1993), *Herpes vírus 6 humano* (WARD, PYUN, STUDENSKI, 1993) e EBV (ANDERSON et al., 1994).

Um kit ideal para este propósito, ou seja, detectar os anticorpos específicos para EBV, deve ter alta sensibilidade para identificar infecção primária, bem como para diagnóstico de pacientes com sintomas atípicos, atribuíveis a uma infecção pelo EBV (BRUU et al., 2000). As técnicas recentemente desenvolvidas para medida da avidéz de anticorpos IgG específicos têm alta sensibilidade para o diagnóstico sorológico de várias doenças infecciosas. Na infecção pelo citomegalovírus, foi possível determinar infecção primária ou passada, em mulheres grávidas, quando a avidéz dos anticorpos IgG foi pesquisada (BODÉUS, FEYDER, GOUBAU, 1998).

Segundo Anderson et al. (1994), a avidéz de IgG anti-VCA é um marcador útil para o diagnóstico sorológico da infecção por EBV. Em 1994, Vetter, Kreutzer e Bauer, reforçaram a pesquisa de Anderson et al. (1994), ao identificarem que a determinação da avidéz de IgG anti-VCA era capaz de diferenciar infecção aguda de pregressa, mesmo em pacientes imunocomprometidos, ou seja, que mantinham anti-EBNA-1 permanentemente negativo.

Em 1995, Gray, utilizando teste ELISA para determinação de avidéz de anticorpo IgG anti-VCA, tendo as amostras sido retiradas de recipientes contendo órgãos para transplantes e de indivíduos normais, encontrou baixa

avidez em amostras com infecção recente e alta avidez naquelas com reativação, dado que levou o autor à conclusão de que a determinação da avidez do anticorpo IgG anti-EBV é um importante procedimento para se determinar o estágio da infecção por este vírus. Schaade, Kleines e Häusler, em 2001, empregando técnica do Enzygnost[®] (Dade), para diagnóstico de infecção pelo EBV em crianças, encontraram sensibilidade de 100% para soronegatividade.

Bruu et al., em 2000, analisando doze diferentes tipos de sorológicos para detecção de anticorpos contra componentes do EBV, referiram sensibilidade de 99%, quando utilizavam o método do Enzygnost[®] (Dade).

Weissbrich, em 1998, investigou se a determinação de avidez da IgG, usando placas cobertas com mistura de antígenos do EBV por meio da ELISA, permitiria melhorar a sensibilidade do teste nos casos de mononucleose aguda. Assim, comparando técnicas de ELISA utilizando misturas de antígenos do EBV, com outra que só utilizava produtos sintéticos do complexo VCA, encontrou sensibilidade de 100%, para o ELISA com mistura de antígenos; concluiu que essa técnica era capaz de distinguir infecção aguda ou passada.



PACIENTES E MÉTODOS

Desenho do estudo

Foi realizado estudo tipo caso-controle.

O estudo tipo caso-controle presta-se a avaliar a ação isolada ou associada dos fatores potencialmente relacionados ao efeito que está sendo analisado. Neste tipo de estudo as fontes dos casos podem ser hospitalares, de serviços de saúde (base hospitalar), bem como doentes na população em geral (base populacional). O fato de não demandar longo período para a coleta de dados e o baixo custo para sua realização representam vantagens importantes. Entre as desvantagens desse desenho, está o fato de a exposição e a doença existirem no momento em que os indivíduos são admitidos no estudo, o que inviabiliza o estabelecimento de seqüência temporal entre exposição e doença (PEREIRA, 1995).

Tal tipo de estudo foi utilizado no presente trabalho, no qual se analisou a exposição ao EBV como provável fator etiológico ou desencadeante de Lúpus Eritematoso Sistêmico, com fonte de dados de base hospitalar.

Locais de estudo

O estudo foi realizado no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) e no Setor de Virologia do Laboratório de Imunologia Keizo Asami (LIKA, 2003).

O HC-UFPE é uma instituição vinculada ao Ministério da Educação e do Desporto, com função de apoiar o ensino de graduação e pós-graduação dos Centros de Ensino da Universidade Federal de Pernambuco, em particular, o Centro de Ciências da Saúde (CCS). Atua como hospital-escola em todas as áreas médicas e paramédicas e integra o Sistema Único de Saúde do Estado de Pernambuco (SUS-PE), prestando serviços médico-hospitalares e atendimento ambulatorial. É hospital de referência em várias especialidades médicas e paramédicas pela experiência do corpo funcional em tratamentos de alta complexidade, constituindo-se em um importante centro de realização de projetos de pesquisa, desenvolvimento de conhecimentos e formação de profissionais na área de saúde (LIKA, 2003).

O ambulatório de Reumatologia é referência da Região Nordeste e atende à clientela proveniente da cidade do Recife, da Região Metropolitana, do Interior do Estado de Pernambuco, assim como de outros Estados da Região Nordeste, por demanda espontânea após triagem feita pelo Serviço de Pronto Atendimento nesse hospital ou por encaminhamento. Constitui-se no único centro de formação de especialistas na área de Reumatologia no Estado de Pernambuco.

O LIKA é uma instituição de pesquisa multidisciplinar com suporte da *Japan International Cooperation Agency* (JICA), da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e do Ministério da Educação e do Desporto, oferecendo suas instalações a muitos programas de mestrado e doutorado da UFPE, contribuindo de forma inequívoca para o desenvolvimento e qualificação de pesquisadores no Estado de Pernambuco. No Setor de Virologia do LIKA, onde foram realizados os testes da presente pesquisa, desenvolvem-se estudos sorológicos e de biologia molecular em vírus do grupo herpes (*Cytomegalovirus* humano, Epstein-Barr e herpes humano) e vírus da dengue (LIKA, 2003).

Sujeitos da pesquisa

Foram sujeitos da pesquisa pacientes, de ambos os sexos, diagnosticados como portadores de LES que preenchiam pelo menos quatro dos 11 critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) no Ambulatório de Reumatologia do HC-UFPE, no período de janeiro de 2002 a fevereiro de 2003, que concordaram em participar da pesquisa.

Foram considerados critérios de exclusão a negatividade e os títulos indeterminados do teste de ELISA para anticorpos IgG anti-EBV.

Cálculo do tamanho da amostra

Pelo fato de não se dispor da frequência de exposição esperada, para definição do tamanho da amostra necessária, foi realizado estudo-piloto composto por quarenta pacientes, para avaliar a proporção de lúpus eritematoso sistêmico em atividade e em inatividade no Serviço de Reumatologia. O cálculo estatístico foi realizado a partir dos dados iniciais, considerando a atividade da doença e a presença do vírus Epstein-Barr, definindo-se um número mínimo de 18 casos e de 36 controles, utilizando nível de significância igual a 0,05.

Um estudo tipo caso-controle inicia-se pela seleção dos casos, obedecendo a critérios diagnósticos que, além de restritos, devem ser representativos da doença em uma determinada população. A seleção de um grupo de comparação adequado é tarefa crucial e sua organização deve ser realizada de modo a representar a prevalência de exposição na população, de onde os casos foram originados. Respeitando a normatização deste tipo de

estudo, na presente pesquisa, todos os casos e controles foram submetidos aos mesmos critérios de inclusão e de exclusão.

Para o estudo atual, não se encontraram referências bibliográficas que pudessem embasar a proporção ideal entre casos e controles. Dessa forma, o autor assumiu a proporção de um caso para dois controles com base na vivência ambulatorial, assim como no fato de os pacientes portadores de LES, na maior parte das vezes, se apresentarem para consulta médica quando a doença exacerbava. Assumir uma proporção maior de controles poderia significar inviabilidade de execução do estudo. Ainda que se propusesse um estudo-piloto para determinação da avidéz do anticorpo para vírus EBV entre casos e controles, assim como da frequência de exposição de vírus Epstein-Barr na população estudada, considerando que são imprevisíveis as inatividades e as exacerbações do LES, tal conhecimento poderia não alterar a significância amostral.

Partindo desses dados, estimou-se o tamanho amostral em 66 pacientes com proporção de 1:2 caso:controle, poder de prova de 80,0% e nível de confiança da ordem de 95%, sendo 22 casos para 44 controles.

Variáveis e conceitos

Variáveis independentes

- ✍ Idade do paciente ? anos completos de vida do paciente. Foi categorizada em cinco classes de amplitude intervalar igual a 10 anos.
- ✍ Sexo ? categorizado em masculino e feminino.
- ✍ Fenótipos ? consistindo no fototipo cutâneo, segundo escala de pigmentação de Fitzpatrick (1988), composto por fototipos de 0 a VI (ANEXO 2), baseados nos fenótipos: cor da pele, cor dos olhos e cor dos cabelos, sensibilidade às

queimaduras e capacidade de bronzeamento da pele após a exposição aos primeiros 45 a 60 minutos ao sol de meio-dia, no verão. Foi categorizada em branca, correspondendo aos fototipos cutâneos I, II e III e não branca, quando da presença dos fototipos cutâneos IV, V e VI.

- ✍ Procedência ? local de habitação e residência do paciente, à época da pesquisa. Foi categorizada em Recife, Região Metropolitana, Interior e outros Estados.
- ✍ Escolaridade ? maior nível do ensino formal que o paciente declarou ter concluído, à época da pesquisa. Foi categorizado em até primeiro grau e maior que primeiro grau.
- ✍ Renda familiar ? montante pecuniário percebido pelos membros do núcleo familiar do paciente, à época da pesquisa, avaliado em unidade de salário mínimo, fixada em R\$200,00 (duzentos reais). Foi categorizada em: menos que 1 salário mínimo e 1 salário mínimo ou mais.
- o Infecção por vírus Epstein-Barr ? a infecção foi diagnosticada pela detecção de anticorpos IgG anti-EBV por técnica imunoenzimática (Enzygnost? anti-EBV/IgG – *Dade Behring Marburg GmbH Marburg/Germany* ELISA) (DADE BEHRING, 1999a). Seguindo a orientação do fabricante do kit utilizado, a variável foi categorizada em teste de detecção positivo, quando os exames apresentaram densidade óptica (DO) igual ou superior a 0,20; teste de detecção negativo, nos casos para os quais houve valores de densidades ópticas inferiores a 0,10 e teste de detecção indeterminado, quando a DO esteve entre 0,10 e 0,20.
- ✍ Índice de avidéz de anticorpos (IA)? avaliação da força com que o anticorpo anti-EBV se liga ao antígeno EBV. Foram utilizados quatro pontos de corte para os valores dos índices de avidéz, com os quais foi feita sua interpretação clínica.

O primeiro ponto de corte foi IA ? 20%, 20% < IA ? 40% e IA > 40%, cujas interpretações clínicas constam do Quadro 4.

? E _{amostra} no ELISA para IgG	Índice de avides	INTERPRETAÇÃO CLÍNICA
? E _{amostra} < 0,10	não considerado	EBV negativo
? E _{amostra} ? 0,10	IA ? 20%	Infecção reativada
? E _{amostra} ? 0,10?	20% < IA ? 40%	Infecção indeterminada
? E _{amostra} ? 0,10	IA > 40%	Infecção passada

Quadro 4– Interpretação dos resultados do teste de avides para infecção por EBV

Os três pontos de corte e suas respectivas interpretações clínicas constam do Quadro 5.

CATEGORIZAÇÕES	PONTOS DE CORTE E INTERPRETAÇÕES CLÍNICAS	
	Infecção reativada	Infecção passada
Segundo ponto de corte	< 20	? 20
Terceiro ponto de corte	< 30	? 30
Quarto ponto de corte	< 40	? 40

Quadro 5– Três pontos de corte e respectivas interpretações clínicas dos resultados do teste de avides para infecção por EBV

Variável dependente

A variável dependente de condição clínica exigiu, inicialmente, que o paciente fosse classificado como portador de LES, com identificação da presença, simultânea ou periódica, de quatro ou mais dos 11 critérios do *American College of Rheumatology* (ACR), revisados em 1998 (HOCHBERG) (Anexo 1), em qualquer época de seu seguimento clínico ou laboratorial.

Reconhecidamente portadores de LES, todos os pacientes foram classificados, à época da pesquisa, como ativo ou inativo. Para tanto foi utilizado o índice de atividade da doença, obtido pela soma da pontuação oriunda da presença de cada um dos 24 sinais ou sintomas, clínicos ou laboratoriais, que compõem o *Systemic Lúpus Erythematosus Diagnostic Activity Index* (SLEDAI) (Anexo 3).

Foram incluídos, no grupo caso, os pacientes com LES em atividade e com SLEDAI maior que quatro, enquanto que no grupo controle estiveram os pacientes com doença fora de atividade, diagnosticada por SLEDAI igual ou inferior a quatro (BORBA, BONFÁ, 1997).

Métodos

Coleta de dados

Inicialmente os pacientes foram esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa, seus riscos e benefícios, enfatizando-se seus direitos em participar ou não. Para os que concordaram, foi solicitada assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 4).

Todos os participantes da pesquisa foram atendidos no ambulatório de Reumatologia. Para padronização da anamnese e da coleta das informações referentes aos critérios clínico-laboratoriais de diagnóstico e de classificação do índice de atividade SLEDAI do LES, utilizou-se questionário elaborado pelo pesquisador (Anexo 5). Os pacientes foram classificados como caso ou controle conforme a soma do índice de atividade de SLEDAI tivesse sido respectivamente maior que quatro ou menor que quatro, inclusive.

Seguiu-se a coleta de sangue venoso, no local de atendimento, por meio da técnica padronizada, tendo sido as amostras encaminhadas ao Setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA, 2003).

Todos os pacientes, independentemente da presente pesquisa, continuam sendo atendidos no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE.

Padronização da técnica

Técnica da coleta de sangue venoso

Cada participante do estudo foi submetido a venopunção para coleta de 5mL de sangue venoso, em tubo de ensaio 13x100mm, seco, tipo Vacuntainer[®], respeitados os cuidados padrão de antissepsia. As amostras foram imediatamente submetidas à centrifugação a 5000rpm durante 10 minutos, e os soros, assim obtidos, acondicionados em tubos Eppendorf, tipo 1800, devidamente identificados com nome de cada paciente e número seqüencial da amostra. As alíquotas de soro foram estocadas a –20°C até a realização dos testes sorológicos de ELISA e determinação do índice de avides dos anticorpos IgG anti-EBV.

Técnica de ELISA para determinação de anticorpos anti-EBV

✎ REAGENTES DO *Enzygnost*? anti-EBV/IgG (*Dade Behring Marburg GmbH Marburg/Germany*)

o Antígenos virais e de controle

Os antígenos virais estavam compostos por antígenos de capsídeo viral (VCA), antígenos associados ao núcleo celular do EBV (EBNA) e *early proteins* (EA-D), portanto contendo proteínas virais de valor diagnóstico. Estes antígenos foram obtidos de células linfoblastóides infectadas com EBV após estimulação de síntese viral. Os antígenos de controle foram obtidos de células da mesma linhagem, mas nas quais se inibiu a síntese viral.

Os antígenos virais e de controle, no *kit* utilizado para diagnóstico, estavam inativados e recobriam poços de um sistema de seis barretas dispostas em caixilho-suporte. Sua identificação foi feita pela lateralidade, de tal forma que os antígenos virais corresponderam aos poços à esquerda e os antígenos de controle, àqueles à direita.

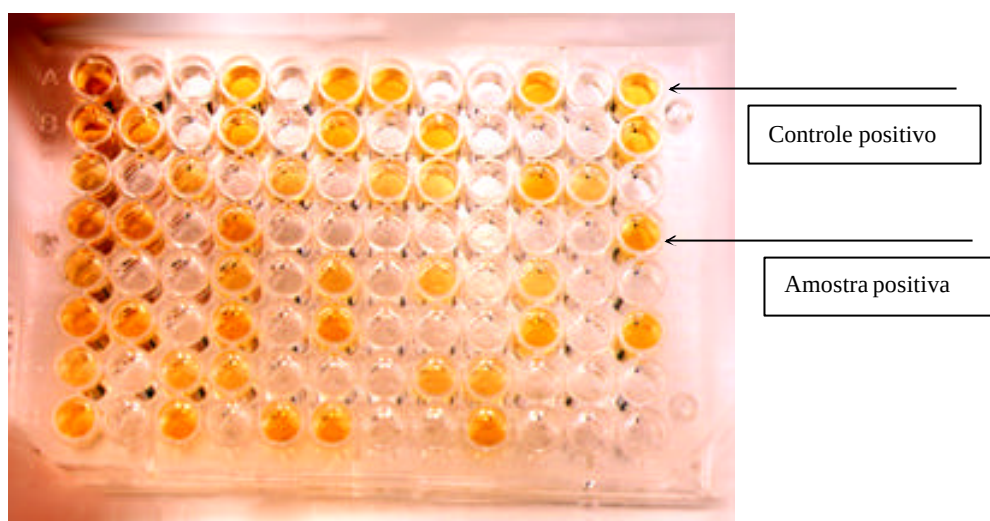


Ilustração 1 – Microplacas adaptadas no caixilho, com reações positivas (identificadas pelas cores amarelo e laranja) e negativas (correspondentes à ausência de cor)

o Imunoglobulina humana de referência anti-EBV P/N

Para que se pudesse trabalhar com controle de qualidade, no *kit* houve um reagente de referência anti-EBV P/N, contendo IgG humana específica anti-EBV, suspensa em solução tampão Tris, com concentração de 20mmol/L e conservada com anfotericina B (?5mg/L) e gentamicina (?100mg/L). A sigla P/N expressava uma reação cromática muito intensa quando da positividade de IgG (P) ou completamente ausente (N).

o Solução tampão POD

Solução tampão Tris, na concentração de 0,3mol/L, conservada com anfotericina B (5mg/L) e gentamicina (100mg/L), utilizada para diluição das amostras de soro a serem testadas e da imunoglobulina humana de referência, integrante do kit de dosagem.

o Conjugado anti-IgG humana/POD

Este reagente consistiu numa solução de fragmento F_{ab}' de anticorpo de coelho, específico para cadeia γ da imunoglobulina IgG humana, conjugado à enzima peroxidase (POD), em solução tampão Tris, na concentração de 0,05mol/L, contendo corante azul patente, na concentração máxima de 60mg/L, e conservada com fenol, na concentração de 1g/L.

o Solução tampão diluente de conjugado

A solução tampão utilizada era constituída por 37mg/L de ácido etileno diaminotetracético (EDTA), suspensos em tampão fosfato a 0,01mol/L, tendo por conservantes gentamicina (100mg/L), 5-cloro-2-metil-isotiazol-3-on a 6mg/L e 2-metil-4-isotiazol-3-on a 2mg/L.

o Solução de cromógeno TMB

Para aumentar a sensibilidade do teste, o hidrocloreto de 3',3',5',5'-tetrametilbenzidina (TMB) foi utilizado como corante

hidrossolúvel, não mutagênico, na concentração de 5g/L em tampão Tris (0,3mol/L), conservada com anfotericina B (?5mg/L) e gentamicina (?100mg/L), que atuou como substrato da POD, fornecendo coloração amarela nítida, absorvida a 450nm. O volume de 1,0mL da solução concentrada foi diluído em 10mL da solução de peróxido de hidrogênio a 0,1g/L, em tampão de acetato de sódio.

o Solução de lavagem

Solução de tampão fosfato, contendo Tween 80, diluída a 1/20 em água destilada.

o Solução de interrupção da peroxidase

Para bloquear a ação enzimática sobre o substrato TMB, utilizou-se solução de ácido sulfúrico 0,5N.

o Reagente de avides

Esteve constituído por uma solução pronta para uso, composta por derivado urêico, na concentração 6M (DADE BEHRING, 1999b).

✍ FUNDAMENTO DA TÉCNICA

Os anticorpos IgG específicos contra o vírus EBV, presentes na amostra a ser testada, ligam-se aos antígenos fixados à superfície dos poços da placa de reação. A estes anticorpos, liga-se o conjugado anti-IgG humano/POD. A parte enzimática do

conjugado reage com a solução de cromógeno (TMB + peróxido de hidrogênio), produzindo uma coloração azul. Esta reação é interrompida mediante adição de solução de interrupção POD (coloração amarelada). A intensidade do amarelo depende da capacidade dos anticorpos IgG específicos do vírus, contidos na amostra, se ligarem ao conjugado anti-IgG humano/POD.

✍ TÉCNICA DE DOSAGEM

Todas as reações foram realizadas em conjuntos pareados de poços, um contendo antígeno viral EBV e outro, antígeno de controle. Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados em ambos os poços a um só tempo, conforme esquematizado na Figura 1. Todos os reagentes foram utilizados a temperatura entre 18°C e 25°C, com exceção das placas que foram retiradas da refrigeração cinco minutos antes da realização do ELISA.

A um conjunto contendo antígeno viral EBV foi adicionada amostra a ser testada diluída a 1:231 em tampão POD e, ao conjunto contendo antígeno de controle, adicionou-se referência anti-EBV P/N, na mesma diluição. O caixilho, contendo os dois conjuntos, foi incubado em câmara úmida, coberto com folha de alumínio para evitar evaporação do material, por uma hora a 37°C. Seguiu-se lavagem com tampão POD para retirada do excesso de anticorpos, que não se acoplaram aos antígenos. Adicionaram-se 100 µL de conjugado anti-IgG, diluído a 1:50 em tampão diluente de conjugado, a todos os poços de reação, que foram novamente incubados em câmara úmida, coberta com folha de alumínio, por uma hora, a 37°C. Após lavagem com tampão POD, foram adicionados 100 µL de reagente cromógeno TMB, ao que se seguiu nova incubação, à temperatura ambiente.

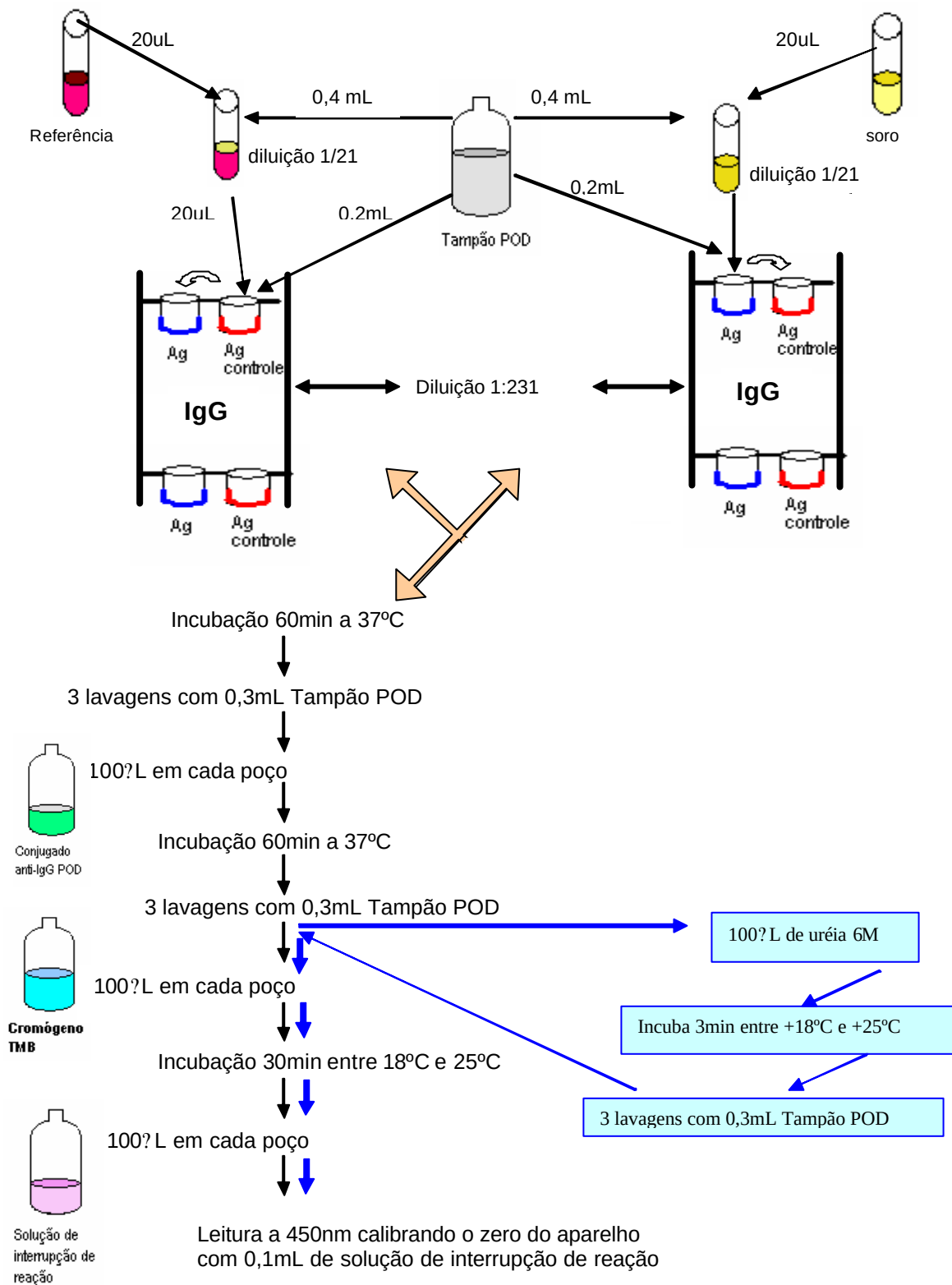


Figura 1–Esquema de determinação de IgG anti-EBV pela técnica do *Enzygnost®* (Dade Behring, GMBH, Marburg, Germany)

Decorridos os trinta minutos de incubação, a reação foi encerrada pela adição de solução de interrupção. A leitura foi procedida utilizando-se espectrofotômetro para microplacas ELISA com filtro a 450nm de comprimento de onda.

Para calibrar o fotômetro a zero, utilizou-se 0,1mL de solução de interrupção POD, medindo a extinção óptica no comprimento de onda de leitura de 450nm. Para correção das diferenças de extinção da imunoglobulina humana de referência anti-EBV P/N, foi feita leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 650nm, adotando-se os limites de normalidade indicados na embalagem do fabricante do kit.

A reação positiva foi indicada pela diferença na absorção de 0,2 ou mais entre antígeno do EBV e antígeno controle.

Cálculos e interpretação dos resultados

A interpretação do resultado se baseou no coeficiente de extinção, calculado pela fórmula 1:

$$E = E_{\text{antígeno}} - E_{\text{antígeno de controle}}$$

Fórmula 1 – Coeficiente de extinção

Os coeficientes de extinção foram convertidos em atividade imunológica do anticorpo anti-EBV utilizando a correção do E , para cada amostra, segundo a fórmula 2:

$$\log_{10} \text{U/mL} = E \cdot K$$

onde:

K e E são constantes que variam com o lote do kit e estão expressas na embalagem.

Fórmula 2 – Conversão do coeficiente de extinção em atividade de anticorpo

Os resultados foram interpretados conforme consta no Quadro 6.

$\% E_{amostra}$	INTERPRETAÇÃO CLÍNICA
$\% E_{amostra} < 0,10$	anti-EBV IgG negativo
$0,10 < \% E_{amostra} < 0,20$	anti-EBV IgG indeterminado
$\% E_{amostra} \geq 0,20$	anti-EBV IgG positivo

Quadro 6– Interpretação dos resultados do teste de ELISA para infecção por EBV

Determinação do índice de avidéz de anticorpos IgG Anti-EBV pela técnica Enzygnost®

✍ FUNDAMENTO DA TÉCNICA

A avidéz de anticorpos informa a força de ligação desses anticorpos a antígenos multivalentes. Foi avaliada a avidéz de anticorpo IgG anti-EBV através da incubação do conjugado antígeno-anticorpo com solução de uréia 6M. Os anticorpos de alta avidéz permaneceram ligados ao antígeno, e os de baixa avidéz foram destruídos após a adição de uréia (STRASEK, MARIN, 2001). Ao final da reação cromogênica, teve-se uma densidade óptica menor que aquela do ELISA. Com base na razão entre essas aferições distinguiram-se: infecção ausente, reativada e passada.

✍ TÉCNICA DE DOSAGEM

Para cada paciente foram utilizados, em cada caixilho, dois poços para o teste ELISA para IgG (um para teste da amostra e outro com antígeno controle) e dois poços para o teste de avidéz anti-IgG, conforme Figura 1. O procedimento técnico, até a adição do conjugado anti-IgG POD é idêntico para os testes de ELISA e de avidéz. Nessa etapa, são adicionados, nos dois poços para avidéz (marcados na Figura 1 em azul claro), 100 μ L de uréia 6M que, durante a incubação por 3min a temperatura ambiente, deslocam os anticorpos de baixa avidéz de sua ligação com os antígenos

multivalentes. Os dois poços utilizados para teste de avidéz são submetidos a três ciclos de lavagem com 0,3 mL de solução tampão POD, por meio das quais os anticorpos de baixa avidéz são retirados dos poços. A reação prossegue idêntica, para todos os poços, com a adição de reagente cromógeno TMB até a leitura por espectrofotometria a 450nm contra branco constituído por 0,1mL de solução de interrupção de reação.

✍ CONTROLE DE QUALIDADE

Todas as dosagens foram realizadas com corrida pareada de controle negativo e positivo, tanto para dosagem de IgG anti-EBV, quanto para o teste de avidéz.

Para as leituras espectrofotométricas, utilizou-se como branco de densidade óptica, 1mL de solução de interrupção de reação, com a qual calibrou-se o aparelho para densidade óptica igual a zero.

✍ CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A porcentagem de anticorpos de alta avidéz, não deslocáveis, permite concluir sobre a resposta imunológica do paciente frente ao EBV. Dessa forma, comparou-se a densidade óptica do teste de ELISA com a do teste utilizando uréia (teste de avidéz por meio da razão de coeficientes de extinção), expressa na fórmula 3.

$$\text{índice de avidéz} = \frac{E_{\text{teste de avidéz}}}{E_{\text{teste de referência}}} \times 100$$

Fórmula 3 – Cálculo do índice de avidéz

A interpretação dos resultados foi feita segundo consta no Quadro 4.

Análise e processamento de dados

Os dados foram organizados e processados por meio do programa EPI-INFO, versão 6.04d, utilizando-se as subrotinas EPED, para criação do banco de dados, CHK, para construção do programa de consistência de digitação, ENTER, para digitação das informações, VALIDATE, para consistência e crítica dos dados e ANALYSIS, para análise estatística descritiva, incluindo cálculo de médias, medianas, desvios-padrão, distribuição de freqüências, assim como para testes de inferência estatística da análise estratificada.

Utilizou-se o teste Qui Quadrado (χ^2) de homogeneidade e contingência, assim como o teste exato de Fisher, para pequenas amostras, ambos ao nível de significância de 0,05.

A utilização do teste de Qui quadrado teve por objetivo analisar a associação entre variáveis, que mantêm entre si analogia fisiológica, para que se determinasse a aderência das variáveis testadas, ou seja, para identificar a probabilidade de a variável dependente ser causada pela independente, tomando por base o nível de significância de 5%. No entanto, no emprego desse teste estatístico, foi valorizada a freqüência esperada de cada casa do corpo numérico tabular, para a escolha técnica do uso do teste de Fisher ou do teste de Qui quadrado.

Empregou-se o teste de Fisher (1934) para pequenas amostras sempre que freqüência esperada inferior foi inferior a 20, em mais de 5% das casas numéricas tabulares, critério denominado regra de Cochran (1952). Assim sendo, o teste de Qui quadrado e o de Fisher prestaram-se à análise de contingência; este para amostras pequenas e aquele, para grandes amostras.

Aspectos éticos

O projeto de estudo foi submetido à apreciação da Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, tendo sido aprovado (Anexo 6).

Todos pacientes foram informados sobre o estudo e, tendo concordado, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 4), conforme preceitua a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, em concordância com a Declaração de Helsinki VI, aprovada em 1996 em Hong-Kong e referendada em 2000 na Bélgica.

Quaisquer informações, que possam identificar os pacientes presentes neste estudo, não serão publicadas nem divulgadas. Os dados serão mantidos por cinco anos na posse do pesquisador para eventuais comprovações.



RESULTADOS

Caracterização amostral segundo grupo caso e controle

No período de estudo, foi possível coletar dados de 67 pacientes lúpicos, sendo 23 casos e 44 controles. Todavia, no decorrer da pesquisa, um caso foi excluído devido à impossibilidade técnica de realização do teste ELISA, ocasionada por presença de fibrina na amostra de sangue. O tamanho amostral final foi 22 casos e 44 controles.

Outros cinco pacientes foram excluídos, dos quais um caso e um controle, devido à negatividade do teste ELISA para IgG anti-EBV, e três controles, cujos níveis de anticorpos IgG anti-EBV tinham valores que não permitiam afirmar a exposição prévia e a produção de anticorpos antivírus (EBV). Dessa forma, para análise do índice de avidéz para EBV foram incluídos 61 pacientes, dos quais 21 eram casos e 40, controles.

Dentre os 66 pacientes analisados, a idade variou entre 12 e 53 anos, com média igual a 33 ± 11 anos, tendo 50% dos pacientes 32 anos ou mais. Constatou-se semelhança etária entre os grupos, visto que os casos tinham idade variando entre 12 e 53 anos, média igual a 31 ± 12 anos, enquanto que os controles tinham idade média de 34 ± 11 anos, com variação entre 13 e 53 anos. Houve predomínio de pacientes na faixa etária de 20 a 39 anos, em ambos os grupos, sendo 13 (59,1%) pacientes do grupo caso e 27 (60,3%), do grupo controle (Tabela 1).

Tabela 1 Distribuição etária de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

IDADES (anos)	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
10 – 19	3	13,6	2	4,5	5
20 – 39	13	59,1	27	61,4	40
40 – 59	6	27,3	15	34,1	21
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

Sessenta (90,9%) pacientes eram do sexo feminino, sendo 17 (77,3%) no grupo caso e 43 (97,7%) no grupo controle. Dentre os 6 (9,1%) pacientes do sexo masculino, cinco (22,7%) eram do grupo caso e um (2,3%) do controle (Tabela 2). A distribuição de sexo segundo atividade do lúpus eritematoso sistêmico foi significativa; dentre as mulheres, houve maior número no grupo caso e, dentre os homens, no grupo caso.

Tabela 2 Distribuição de sexo de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

SEXO	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
feminino	17	77,3	43	97,7	60
masculino	5	22,7	1	2,3	6
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

$p_{\text{Fisher}} = 0,01$

Segundo os critérios de Fitzpatrick (1988), foram identificados 27 (40,9%) pacientes brancos e 35 (59,1%) não brancos, os quais predominaram em ambos os grupos, tendo havido 16 (72,7%) dentre 22 pacientes no grupo caso e 23 (52,3%), dentre 44 do grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3 Distribuição de fenótipos de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

FENÓTIPOS	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
branco	6	27,3	21	47,7	27
não branco	16	72,7	23	52,3	35
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

$\chi^2=1,76$; $p=0,18$

Observou-se discreto predomínio de pacientes provenientes da Região Metropolitana do Recife (25 ? 37,9%). Em segundo lugar estiveram os pacientes do Interior do Estado (21 ? 31,8%), seguindo-se em número aqueles da Cidade do Recife (18 ? 27,3%) (Tabela 4).

Tabela 4 Distribuição de procedência de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

PROCEDÊNCIA	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
Região Metropolitana	11	50,0	14	31,8	25
Interior	8	36,4	13	29,5	21
Recife	3	13,6	15	34,1	18
Outros Estados	-	-	2	4,6	2
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

$\chi^2=4,74$, $p=0,31$

Quarenta e sete (71,2%) pacientes tinham escolaridade até primeiro grau e 19 (28,8%) tinham maior nível. Não houve diferença estatística na distribuição dos pacientes dos grupos em estudo, quanto à escolaridade, tendo predominado nível até primeiro grau, em ambos (Tabela 5).

Tabela 5 Distribuição de escolaridade de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

ESCOLARIDADE	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
até 1º grau	17	77,3	30	68,2	47
maior que 1º grau	5	22,7	14	31,8	19
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

$\chi^2=0,23$, $p=0,63$

A renda mensal variou entre um e doze salários mínimos para 48 (72,7%) pacientes e foi inferior a um salário mínimo para 18 (27,3%). Não houve diferença estatística entre os grupos caso e controle (Tabela 6).

Tabela 6 Distribuição de renda mensal de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

RENDA MENSAL (salário-mínimo)	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
Menor que um	7	31,8	11	25,0	18
Igual ou maior que 1	15	68,2	33	75,0	48
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

$\chi^2=0,09$, $p=0,77$

Teste de detecção de IgG anti-EBV

Na primeira fase do teste de detecção de IgG para EBV, 61 (92,4%) pacientes tiveram resultado positivo, dois (3,0%) foram negativos, sendo um (4,5%) do grupo caso e um (2,3%) do grupo controle, e três (4,5%) foram considerados indeterminados, todos do grupo controle (Tabela 7).

Tabela 7 Distribuição de resultados da primeira fase do teste de detecção de IgG anti-EBV de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

Teste de detecção de IgG anti-EBV (1ª fase)	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
positivo	21	95,5	40	90,9	61
negativo	1	4,5	1	2,3	2
indeterminado	-	-	3	6,8	3
TOTAL	22	100,0	44	100,0	66

NOTA: Este agrupamento impossibilita teste estatístico porque há 62,5% das casas com frequência esperada inferior a cinco.

Analisando os índices de avidéz de 61 pacientes com positividade no teste de detecção de IgG para EBV, identificou-se que para 54 (88,5%), este alcançou valores iguais ou superiores a 40, dos quais 34 (63%) eram do grupo controle e 20 (95,2%) tinham lúpus eritematoso em atividade. Em 5 (8,2%) pacientes, o índice esteve entre 20 e 40, sendo todos do grupo controle, e em 2 (3,3%), foi inferior a 20 (Tabela 8).

Tabela 8 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

CLASSES DE ÍNDICE DE AVIDEZ DE ANTICORPOS	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
< 20	1	4,8	1	2,5	2
20 - 40	-	-	5	12,5	5
? 40	20	95,2	34	85,0	54
TOTAL	21	100,0	40	100,0	61

NOTA: Foram excluídos: três pacientes, com DO cujo valor não permitiu concluir pela positividade ou negatividade do EBV e dois pacientes com testes imunológicos negativos na primeira fase
 $\chi^2=2,41$, $p=0,30$

Nas tabelas 9, 10 e 11 estão apresentados os resultados dos índices de avidéz com três pontos de corte distintos, respectivamente iguais a 20, 30 e 40.

Tomando 20 como valor de ponto de corte, identificou-se que 2 (3,3%) pacientes tinham diagnóstico de infecção por EBV reativada, sendo um (4,8%) do grupo caso e um (2,5%) do grupo controle (Tabela 9).

Tabela 9 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

CLASSES DE ÍNDICE DE AVIDEZ DE ANTICORPOS	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
< 20	1	4,8	1	2,5	2
≥ 20	20	95,2	39	97,5	59
TOTAL	21	100,0	40	100,0	61

NOTA: Foram excluídos: três pacientes, com DO cujo valor não permitiu concluir pela positividade ou negatividade do EBV e dois pacientes com testes imunológicos negativos na primeira fase
 $p_{\text{Fisher}} = 0,57$

Ao adotar 30 por valor de ponto de corte, 5 (8,2%) pacientes foram diagnosticados como portadores de infecção por EBV reativada, dos quais 1 (4,8%) integrava o grupo caso e 4 (10,0%), o grupo controle (Tabela 10).

Tabela 10 Distribuição dos índices de avidéz de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

CLASSES DE ÍNDICE DE AVIDEZ DE ANTICORPOS	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
< 30	1	4,8	4	10,0	5
≥ 30	20	95,2	36	90,0	56
TOTAL	21	100,0	40	100,0	61

NOTA: Foram excluídos: três pacientes, com DO cujo valor não permitiu concluir pela positividade ou negatividade do EBV e dois pacientes com testes imunológicos negativos na primeira fase
 $p_{\text{Fisher}} = 0,43$

Alterando o ponto de corte para o valor 40 (Tabela 11), o número de pacientes diagnosticados como infecção por EBV reativada no grupo controle aumentou para cinco (12,5%), mantendo-se igual a um (4,8%) no grupo caso, totalizando 6 (9,8%) diagnósticos de infecção reativada, dentre os 61 pacientes estudados.

Tabela 11 Distribuição dos índices de avides de anticorpos de 61 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

CLASSES DE ÍNDICE DE AVIDEZ DE ANTICORPOS	GRUPO DE PACIENTES				TOTAL
	caso		controle		
	n	%	n	%	
< 40	1	4,8	5	12,5	6
≥ 40	20	95,2	35	87,5	55
TOTAL	21	100,0	40	100,0	61

NOTA: Foram excluídos: três pacientes, com DO cujo valor não permitiu concluir pela positividade ou negatividade do EBV e dois pacientes com testes imunológicos negativos na primeira fase
 $p_{\text{Fisher}} = 0,32$

Constatou-se que a modificação do ponto de corte não alterou a distribuição dos pacientes do grupo caso, mas o fez no grupo controle. Não houve diferença estatisticamente significativa em qualquer dos pontos de corte adotado.

Sinais e sintomas de diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico

Critérios do American College of Rheumatology

Comparando sintomas e sinais dos pacientes do grupo caso aos do controle, identificou-se terem sido mais freqüentes entre os casos: eritema malar (90,9%), fotossensibilidade (72,7%), alterações hematológicas (54,5%), acometimento renal (50,0%), lesões cutâneas discóides e úlceras orais ou nasofaríngeas (31,8%), alterações imunológicas (27,3%) e pleurite ou pericardite (22,7%) (Gráfico 1).

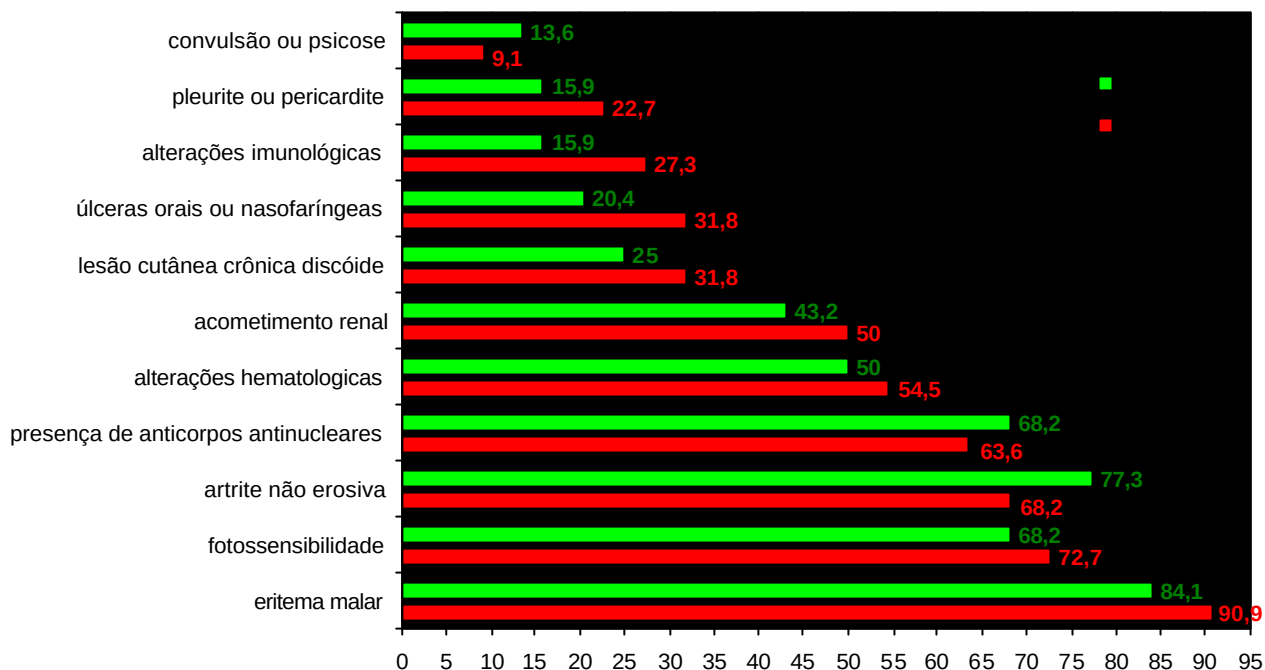


Gráfico 1 – Distribuição de 66 pacientes quanto aos sinais e sintomas do *American College of Rheumatology*, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

CrITÉRIOS SLEDAI de determinação do índice de atividade lÚpica

No Gráfico 2 está expressa a distribuição de freqüências dos sintomas e sinais investigados como critérios SLEDAI, onde se pode identificar que os pacientes do grupo controle apresentaram sete (38,9%) dentre os 18 sinais ou sintomas diagnosticados nos pacientes do grupo caso. Para os pacientes do grupo controle, foram eles, em ordem decrescente de freqüência: alopecia (20,4%), rash recente (11,4%), hematúria (9,1%), proteinúria (6,8%), febre, úlceras de mucosa e anticorpos anti-DNA, todos em 2,3% dos 44 pacientes controles.

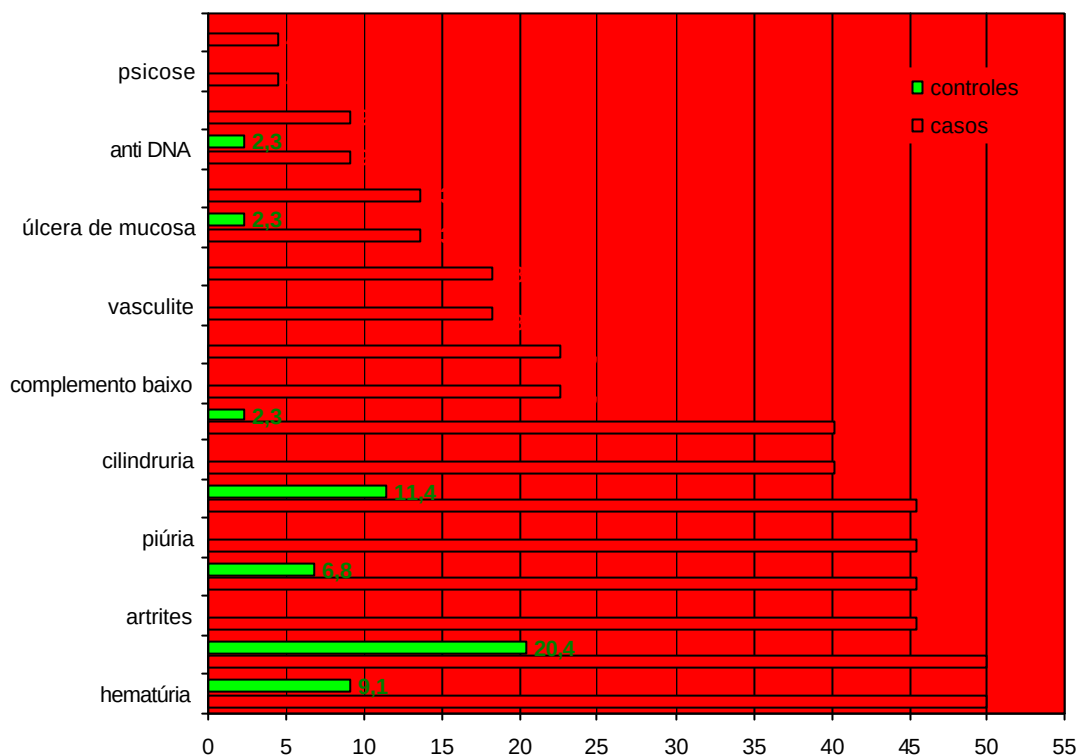


Gráfico 2 - Distribuição dos critérios do SLEDAI de 66 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, segundo grupo caso e controle – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife – Janeiro 2002-Fevereiro 2003

A pontuação geral de SLEDAI dos brancos variou entre 5 e 33, com média igual a 13 ? 10,5, e mediana e moda iguais a 8. No grupo de não brancos, os limites de pontuação do SLEDAI foram 5 e 29, igualando-se mediana e moda respectivamente a 14,5 e 23. Sessenta e nove por cento dos 16 pacientes não brancos atingiram pontuação de SLEDAI superior a 9 pontos. A média de pontuação desse grupo foi 16,1 ? 8,6, no entanto não se verificou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos quanto ao SLEDAI.



DISCUSSÃO

Escolheu-se estudar o EBV em pacientes com LES, devido a sua alta prevalência na população em geral e, em especial, nesses pacientes, devido a sua latência e suas exacerbações de forma espontânea em indivíduos infectados (WILSON, MORGAN, 2002).

O encontro de alta prevalência de anticorpos anti-EBV, na amostra lúpica do presente estudo, sugeriu, como em outras pesquisas (KANG et al., 2004; HUGGINS, TODD, POWELL, 2003), a importância desse vírus como um dos agentes etiológicos do LES. Como o LES é uma doença auto-imune, de etiologia multifatorial, na qual ocorrem as mais diversas alterações imunológicas e clínicas (McCLAIN, HARLEY, JAMES, 2001; SWAAK et al., 1999), a comprovação de que o EBV poderia atuar como gatilho no seu desenvolvimento traria uma contribuição importante para o melhor entendimento do papel desse agente infeccioso na etiopatogênese do LES. Poder-se-á estar complementando os artigos que, embora investiguem a presença do EBV em LES, não classificam esta última como ativa ou inativa.

A esses fatos motivadores, durante a revisão bibliográfica procedida concomitantemente ao estudo, somou-se o encontro de trabalhos similares (ASCHERIO et al., 2001; WANDINGER et al., 2000), aventando a participação do EBV na exacerbação de manifestações clínicas da esclerose múltipla, o que reforçou a relevância da pesquisa.

Importante relatar que todos os participantes do presente trabalho eram portadores de LES com doença em atividade ou inativa. Assim sendo, dependendo de estar o vírus num período de latência ou de exacerbação nesses pacientes, poder-se-ia inferir o papel desse microorganismo na quebra de tolerância e na indução da resposta auto-imune no LES, ou seja, nos períodos de remissão e exacerbação (HEINLEN et al., 2003).

Durante a evolução do LES, pode ocorrer uma série de alterações imunológicas, que favorecem o agravamento da enfermidade (McCLAIN et al., 2003). Como não é possível determinar quando tais exacerbações ocorrerão, buscou-se relacionar esse evento com o ciclo viral (latência ou replicação) no interior dos linfócitos B circulantes de pacientes com LES. Isto foi feito por meio da análise da avidéz dos anticorpos de classe IgG no soro desses pacientes.

Uma vez que o vírus deixa o interior das células e passa a circular no sistema vascular e linfático, o organismo desenvolve respostas imunes, que normalmente se seguem a uma infecção viral (LAU et al., 1998). Devido ao fato de terem sido selecionados pacientes que habitualmente apresentavam resposta imune aberrante, a presença do EBV na circulação poderia acentuá-las, induzindo o aumento da atividade do LES.

Os pacientes com LES, quando em remissão, podem não apresentar manifestação clínica ou laboratorial, o mesmo acontecendo nos portadores de EBV na forma latente (WILSON, MORGAN, 2002). Partindo desse princípio, levantou-se a proposição de que os pacientes com LES, durante o período de remissão, não deveriam apresentar alterações auto-imunes características da doença, bem como não apresentariam alterações imunes que indicassem a presença do vírus na circulação. Por outro lado, em pacientes com atividade lúpica, deveriam estar presentes manifestações clínicas características da doença em atividade, bem como anticorpos de alta avidéz, que sugerissem reativação do EBV.

A escolha de estudo tipo caso-controle acarretou dificuldade inicial para selecionar o grupo controle, que deveria ter lúpus inativo. Os trabalhos consultados (SWAAK et al., 1999; DRENKARD et al., 1996) recomendavam, como critérios de inatividade, que os pacientes deveriam estar assintomáticos por um período maior que um ano, não fazer uso de qualquer droga e ter os exames laboratoriais dentro dos limites da normalidade, ou seja, ter SLEDAI igual a zero. O cumprimento de tais critérios é difícil pela própria natureza recorrente do lúpus, na qual, em algum momento, o paciente apresentará um ou mais sintomas, neles incluídas eventuais anormalidades laboratoriais.

Para minimizar tais dificuldades, analisou-se o critério de atividade proposto por Borba e Bonfá (1997), em trabalho sobre dislipidemias, no qual os pacientes poderiam apresentar sintomas e alterações laboratoriais, desde que não ultrapassassem a pontuação de SLEDAI igual a cinco, considerado pelos autores como ponto de corte. Assim, um paciente com LES e SLEDAI igual ou menor que 4 foi considerado no presente trabalho, como LES inativo, sendo incluído no grupo controle (KANG et al., 2004). A partir daí, a seleção do grupo controle foi bastante facilitada.

Para determinar a presença do vírus, no grupo caso e no grupo controle, utilizou-se a pesquisa do anticorpo IgG anti EBV e, posteriormente, de sua respectiva avidéz, que permitiram inferir se a infecção era passada ou reativada.

Foram excluídos da amostra os pacientes, com ausência de contato com o EBV, comprovada laboratorialmente pela negatividade do teste de pesquisa de IgG anti-EBV ou com resultados indeterminados, nos quais não foi possível conclusão adequada a respeito do contato prévio com o vírus.

A discussão dos resultados do presente trabalho é restrita porque os estudos imunológicos permitem apenas aventar hipóteses com base nos dados disponíveis, ainda sem explicações plausíveis. Dessa forma, coube constatar concordâncias ou discordâncias dos achados com aqueles da literatura, pois pareceu temerário justificá-los pela falta de embasamento. No entanto à semelhança de outros estudos, optou-se por aventar algumas hipóteses, com o intuito de enriquecer as possibilidades de novas pesquisas.

A limitação metodológica imposta pelo atual conhecimento que se tem da imunologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico fez com que se considerasse mais adequado admitir 5% como nível de significância para os testes estatísticos, tal como procederam todos os autores consultados para a elaboração do atual trabalho, uma vez que a assunção do nível de significância de 1% ainda não é recomendável, até que novos estudos permitam melhor compreensão do assunto.

A proporção da doença foi maior no sexo feminino em relação ao masculino, da ordem de 10:1, semelhante à descrita na literatura consultada (JACOBSON et al., 1997). Esse dado parece reforçar a hipótese da ação estrogênica como um dos fatores etiológicos da doença (AHMED, OLDSTONE, 1984).

O LES compromete mais pacientes entre 20 e 50 anos (HOCKBERG, 1985), ou seja, durante o período de maior atividade sexual, o que correspondeu aos achados da presente pesquisa.

Existe relato de que a doença evoluiria de forma mais grave, quando ocorresse numa faixa etária mais jovem (WARD, PYUIN, STUDENSKI, 1993). Na presente casuística, houve cinco pacientes na fase de adolescência, o que não permitiu reforçar essa assertiva.

No Reino Unido, a doença é mais freqüente na raça negra, em asiáticos e em caribenhos, e mais rara em pacientes brancos (JOHNSON et al., 1995). Devido à dificuldade para classificação de raça em pacientes brasileiros, optou-se por subdividi-los segundo fenótipo, em brancos e não brancos. No presente trabalho, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, todavia no grupo caso houve maior número de pacientes não brancos do que pacientes brancos.

O baixo grau de escolaridade e de renda dos pacientes deveu-se ao fato de terem sido selecionados em hospital público, onde se atende a uma classe social menos favorecida. Segundo Ward, Pyun e Studenski (1995), essas duas condições socioeconômicas podem interferir no prognóstico da doença por dificultarem o acesso às consultas agendadas, a aquisição de medicação quando não é possível seu fornecimento gratuito e, ainda, a percepção da necessidade do acompanhamento médico nos períodos assintomáticos.

A ausência de significância estatística entre os grupos caso e controle, quanto à escolaridade e à renda mensal parece indicar ser a atividade

lúpica uma manifestação “democrática”, acometendo indivíduos independentemente de suas características socioeconômicas.

No presente trabalho, a prevalência do EBV foi alta tanto no grupo caso como no grupo controle, resultado este semelhante aos encontrados na literatura (HUGGINS, TODD, POWELL, 2003).

Em um estudo do tipo caso-controle, utilizando 153 controles sadios e 117 pacientes com LES, James et al. (1997) identificaram soropositividade para o EBV por reação de cadeia de polimerase em 99% dos casos e em 70% dos controles sadios (OR= 49,9% IC 95% 9,3 – 1025). Diante desses resultados, os autores aventaram três explicações possíveis: o aumento de susceptibilidade para Lúpus em pacientes previamente infectados pelo EBV; a maior susceptibilidade para infecção por EBV de pacientes portadores de LES e susceptibilidades distintas para a infecção por EBV e LES.

Considerando a impossibilidade de determinar nos pacientes da atual pesquisa a temporalidade da infecção por EBV em relação ao início do LES, qualquer uma das hipóteses de James et al. (1997) é viável.

Na literatura, tem sido sugerido que o EBV apresenta-se mais como uma das causas do que como consequência das anormalidades da resposta imune induzidas pelo LES. O EBV pode ser capaz de infectar populações de linfócitos B auto-reativos, perpetuando sua presença em tais células, além de causar sua expansão mediante a indução de proliferação e diferenciação celular. Usualmente os linfócitos T_c são capazes de eliminar linfócitos B infectados pelo EBV, durante o processo de replicação celular. No entanto células B de memória com genoma viral podem sobreviver por longos períodos (THORLEY-LAWSON, 2001).

A persistência de linfócitos B infectados pelo EBV, bem como a presença de linfócitos T auto-reativos, poderia decorrer de uma falha no mecanismo de apoptose, que consiste na morte celular decorrente da expressão de determinados genes. O sistema Fas/Fas-ligante é um importante mecanismo

para manutenção da tolerância periférica, ou seja, é capaz de induzir apoptose em linfócitos anormais, presentes na circulação (VANPARIJS, ABAS, 1996). Assim, um defeito no gene Fas pode ser um dos fatores relacionados com a persistência de linfócitos auto-reativos, responsáveis pelas alterações auto-imunes (WU et al., 1994).

Os linfócitos B infectados pelo EBV geralmente não são destruídos por linfócitos T e por células NK, podendo permanecer em repouso ou replicar, sem serem eliminados por meio destas células. É provável que a regulação negativa da proteína classe I do MHC, nas células infectadas, seja um dos principais responsáveis pelo mecanismo de escape de sua destruição (LI et al., 1995). Dessa maneira, a infecção pelo EBV pode causar expansão clonal de linfócitos T auto-reativos (THORLEY-LAWSON, 2001) que, por sua vez, auxiliariam linfócitos B auto-reativos na produção de auto-anticorpos, bem como na perpetuação das respostas auto-imunes.

Durante a maturação dos linfócitos T no timo, algumas dessas células auto-reativas podem não ser eliminadas pelo processo de apoptose (DELVES, ROITT, 2000) passando à corrente sangüínea, sem que necessariamente sejam ativadas. Para se tentar estabelecer um dos prováveis mecanismos da patogenia do LES, deve-se levar em conta a presença de linfócitos T e linfócitos B auto-reativos na circulação, e considerar que, de alguma forma, essas células sejam ativadas, produzindo resposta imune aberrante.

A produção de auto-anticorpos normalmente requer a presença de linfócitos T auto-reativos, visto serem essas células de fundamental importância para ativação dos linfócitos B. Os linfócitos T auto-reativos devem desempenhar papel importante, uma vez que a presença de IgG de alta afinidade contra constituintes nucleares requer a presença dessas células em associação com linfócitos B (SHEDLOCK, SHEN, 2003).

Para que tais eventos se façam presentes, além da perda da tolerância, os pacientes deveriam apresentar predisposição genética que, associada a fatores ambientais como presença de EBV latente em linfócitos B,

favoreceria o surgimento das alterações auto-imunes presentes no LES (PENDER, 2003). Tais fatores podem atuar na perpetuação da resposta imune anormal, uma vez que linfócitos T auto-reativos podem surgir após infecção viral, sem, no entanto, causar dano tissular ou provocar resposta imune anormal e conseqüente lesão tecidual (PENDER, 1999).

Uma hipótese para explicar esse processo, de uma forma mais ampla, deveria envolver: predisposição genética, fator ambiental, perda da tolerância imunológica, genes que controlam a produção de citocinas, genes que regulam o mecanismo de apoptose, mecanismos responsáveis pela deleção de linfócitos auto-reativos, genes que facilitam a perpetuação de linfócitos infectados e os mecanismos de evasão que possui o EBV para que não seja reconhecido pelo linfócito T citotóxico.

Corroborando essa hipótese, há publicações sobre o provável papel dos vírus no desenvolvimento do Lúpus (HEINLEN et al., 2003; McCLAIN et al., 2003). Tais trabalhos sugerem que a infecção viral e as alterações imunológicas do LES poderiam anteceder o aparecimento clínico da doença além de os pacientes com LES apresentarem deficiências na capacidade de eliminação do vírus EBV. Outros trabalhos sugerem a simultaneidade do início do LES com a replicação viral (VERDOLINI et al., 2002; DROR et al., 1998).

Apesar de não ter sido possível demonstrar, no presente trabalho, associação entre a atividade do EBV e a do LES, existem, na literatura, relatos de associação da atividade deste vírus com o LES (HUGGINS, TODD, POWELL, 2003) e com outras doenças auto-imunes, especialmente a esclerose múltipla, na qual foi demonstrada nítida correlação entre a exacerbação da mesma e o período de replicação viral (ASCHERIO et al., 2001; WANDINGER et al., 2000).

Em trabalho realizado com adolescentes portadores de LES, não foi possível associar a exacerbação da doença com o período de replicação viral. Questionou-se se sintomas, tipo febre, fadiga, adenopatia e leucopenia, relacionavam-se com exacerbação do vírus ou derivavam do LES. Feito o perfil sorológico do EBV, constatou-se que poucos tinham o vírus na forma reativada e,

como a amostra era pequena, não foi possível correlacionar com atividade de doença. Por esse motivo, concluiu-se que os sintomas relatados estavam mais associados ao LES que à presença do vírus reativado (KATZ et al., 2001).

No presente estudo, todos os pacientes eram portadores de LES; diferiam principalmente pela atividade da doença, estando os casos geralmente em uso de drogas imunossupressoras. Poder-se-ia sugerir que essa terapêutica fosse um dos fatores responsáveis pela exacerbação do vírus e, portanto, que na sua forma ativa deveria estar presente numa maior proporção dos casos. Isto não foi encontrado no atual estudo. É possível que a exacerbação do vírus latente não esteja relacionada a um único agente causal, mas, como nas doenças auto-imunes, seja multifatorial (KANG, PARK, 2003).

Na presente pesquisa, houve alta prevalência de infecção pelo EBV, na ausência de frequência significativa de reativação da infecção viral, tanto no grupo caso (pacientes com lúpus em atividade) quanto no grupo controle (pacientes com lúpus inativo).

James et al. (2001) e Huggins, Todd e Powell (2003), na pesquisa de infecção viral pela técnica de ELISA, não levaram em conta ser a infecção reativada ou passada, ou seja, através do simples contato com o vírus, inferiram que o mesmo poderia ser o gatilho inicial da doença. Com a finalidade de aprofundar o verdadeiro papel do vírus como desencadeador do LES, buscou-se estabelecer o índice de avidéz do anticorpo IgG anti-EBV, uma vez que, dependendo do resultado encontrado, poder-se-ia afirmar se, no momento da pesquisa, a doença encontrava-se ativa ou inativa. Pode-se supor que, caso os autores consultados tivessem determinado os valores de avidéz para anticorpos IgG anti-EBV, talvez também detectassem um baixo índice de reativação viral como ocorreu no presente trabalho.

Foi a preocupação de pesquisar um método imunológico economicamente viável e válido na Região Nordeste do Brasil, que fez com que se priorizasse a determinação de auto-anticorpos por ELISA e, não, por reação de cadeia de proteína (*polimerase chain reaction* – PCR). Ainda que a PCR esteja

sendo largamente estudada e sua utilização difundida para pesquisa de diversas viroses, é um método que emprega equipamentos e reagentes importados, de alto custo, inviáveis para que seja utilizado como rotina diagnóstica na região. No futuro, a relação entre EBV e LES poderá ser estudada por meio dessa técnica, dando seguimento às idéias expressas no presente trabalho.

Tal estudo poderá se constituir numa complementação, considerando que o tipo de ensaio utilizado para determinação de avidéz demonstra a presença do anticorpo e não indica necessariamente uma infecção reativada pelo EBV. Assim, é plausível questionar se, nos relatos da literatura consultada, os quadros inicialmente descritos como EBV agudo não seriam, na realidade, manifestações iniciais do LES.

Houve positividade de anticorpos anti-EBV em todos os pacientes estudados, entretanto esteve ausente diferença de avidéz desses anticorpos nos grupos de pacientes com lúpus em atividade e inativo.

Tais resultados condizem com as descrições recentes, de que as anormalidades da resposta imunológica, presentes no lúpus, iniciam-se muito antes do aparecimento clínico da doença. Assim também a influência do EBV nessa desregulação parece não acontecer de forma aguda, podendo estar associada à atividade do LES.

Desta forma, a pesquisa de anticorpos anti-EBV deve ser preconizada de forma rotineira, utilizando técnica padronizada e informada nos resultados, permitindo comparações ao longo do tempo, a fim de se detectar e tratar a infecção viral antes que o vírus possa induzir ou acelerar a quebra de tolerância imunológica, e, em consequência, o aparecimento de auto-anticorpos, ou mesmo, o surgimento ou o agravamento dos sintomas clínicos do lúpus.

A falta de associação entre avidéz dos anticorpos e ativação ou inativação do lúpus, constatada no estudo atual, pode também ter sido causada por problemas de ordem metodológica, entre eles o pequeno tamanho amostral.

Outro aspecto metodológico a ser considerado foi a hipótese admitida para o atual estudo, de que a avidéz dos anticorpos circulantes anti-EBV estaria relacionada à atividade do LES, identificada pelo SLEDAI maior que quatro, ou seja, que a exacerbação da sintomatologia estaria associada à carga viral de EBV circulante fora das células mononucleares, para que pudessem ser apresentadas ao sistema imunológico. Não encontrar essa associação, inicialmente, pareceu uma falha do presente estudo, devida à variação amostral ou à limitação do teste de avidéz, entre outros fatores.

No entanto, poderia também estar indicando uma falha da hipótese inicial, isto é, a sintomatologia do LES poderia independender do número de partículas virais livres circulantes, fato que poderia ser viável considerando a característica do EBV localizar-se nos linfócitos B e neles permanecer como hospedeiro. Caso isso ocorresse, a associação a ser pesquisada seria entre carga viral do EBV no interior das células mononucleares e LES, independentemente da sintomatologia.

Foi o trabalho de Moon et al., publicado em 2004 que permitiu compreender os resultados de avidéz do atual trabalho, ao confirmarem que pacientes com LES têm uma carga viral 15 vezes maior de EBV que os controles normais, dentro das células B, sugerindo que essa infecção é anormalmente controlada nos portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico.

A falta de associação entre SLEDAI e avidéz é a corroboração do trabalho de Moon et al. (2004).

A relação entre lúpus e infecção por EBV é convidativa, posto que o vírus é um componente ambiental de risco para a doença. Todavia cinco comprovações merecem destaque, por estarem logicamente encadeadas. Em primeiro lugar, a infecção por EBV é disseminada no mundo todo e poupa uma parte da população, semelhante ao que ocorre no lúpus. Em segundo lugar, após a infecção, o EBV mantém-se viável e infecta ativamente o hospedeiro, durante toda sua vida. Em terceiro lugar, a infecção por EBV é uma fonte contínua de estimulação imunológica crônica, visto que, na forma latente, infecta os linfócitos

B e neles se perpetua, células essas essenciais para a produção e a propagação de auto-anticorpos, que se constituem no centro do diagnóstico laboratorial do LES, assim como de muitas de suas manifestações. Em quarto lugar, a reativação periódica do EBV pode estar, hipoteticamente, no LES, associada ao aumento da produção de auto-anticorpos e talvez a sua exacerbação. Em quinto lugar e último, geneticamente, a proteína EBNA1, que se expressa tardiamente nos linfócitos B infectados, é homóloga aos auto-antígenos do LES.

Essa seqüência lógica permite aventar a hipótese de que os indivíduos infectados por EBV deveriam desencadear lúpus, pois que o vírus seria necessário para o desenvolvimento da doença lúpica, então as prevalências deveriam ser semelhantes e não o são. Já que a distribuição epidemiológica é diferente, então deve haver um mecanismo na resposta imune humana que impede essa relação causal direta e previne que o lúpus seja uma doença ainda mais disseminada.

Ao se analisarem os critérios de diagnóstico do LES, observou-se que sinais e sintomas estavam presentes, tanto nos casos como nos controles, no momento em que se aplicava o questionário do SLEDAI. Este fato decorreu de, ao ser coletado o histórico clínico e laboratorial dos pacientes, tais manifestações deverem ser assinaladas, mesmo que no momento do preenchimento dos formulários não estivessem presentes, visto que nos critérios do ACR para LES devem-se incluir sinais e sintomas pregressos.

A atividade da doença avaliada pelo SLEDAI diferiu daquela utilizando os critérios do ACR, uma vez que naquela consideravam-se somente os achados clínicos e laboratoriais presentes no momento da coleta dos dados. Assim pode-se verificar a diversidade dos sinais e sintomas presentes no grupo caso, e pouca ou nenhuma alteração no grupo controle.

As manifestações clínicas mais freqüentes na presente pesquisa corresponderam às descritas na literatura, ou seja, lesões cutâneas e artrite não erosiva (GHAUSSY et al., 2004). Com relação às anormalidades laboratoriais características do LES, não se pode concluir se houve diferença entre os grupos

caso e controle, uma vez que nem todos os pacientes estudados dispunham de resultados em suas fichas de acompanhamento.

A hematúria, presente em 50% dos casos, foi compatível com os achados descritos na literatura para LES de longa evolução (GHAUSSY et al., 2004). A presença de alopecia, no grupo controle, em quantidade semelhante ao grupo caso poderia estar relacionada ao uso de drogas imunossupressoras ou à própria atividade da doença.

Nos pacientes com LES inativo, que correspondeu ao grupo controle, a presença de dois casos sugerindo reativação viral, pode ter simulado uma exacerbação do LES, devido à presença de sinais e sintomas comuns às duas patologias (KATZ et al., 2001). A exacerbação do vírus, no entanto, não se fez presente com manifestações clínicas, uma vez que nenhum paciente apresentou sintomas comuns a esta virose, com exceção da febre.

É provável que pacientes com LES apresentem linfócitos T auxiliares capazes de desempenhar suas funções normais, no entanto, a diminuição na capacidade de resposta dos linfócitos T_c, específicos para o EBV, pode ser um dos fatores responsáveis pela capacidade de manter a infecção viral sob a forma latente nos linfócitos B. Reforçando tais afirmações, Kang et al. (2004) demonstraram que linfócitos T auxiliares com especificidade para antígenos do EBV apresentavam aumento na capacidade de síntese de γ -interferon e fator de necrose tumoral γ , levantando à hipótese de que a ausência de controle sobre os linfócitos B infectados não se devesse às células T auxiliares, uma vez que linfócitos T auxiliares de memória apresentavam a capacidade de produzir γ -interferon de forma eficaz, quando novamente estimulados por linfócitos B infectados por EBV.

A capacidade dos pacientes com LES em controlar a infecção pelo EBV poderia dever-se ao aumento da população de células B infectadas, decorrentes de alterações nos genes que controlam a divisão celular bem como a apoptose. No entanto, pacientes com LES freqüentemente evoluem com

leucopenia e linfocitopenia, ao invés de leucocitose, o que possivelmente invalidaria essa hipótese.

A associação entre gatilhos infecciosos e indução de resposta auto-imune pode levar a uma nova fase do conhecimento, no que diz respeito aos objetivos de pesquisas. Quanto ao tratamento do LES, deve haver maior empenho em fazer a profilaxia destas anormalidades, investigando-se a carga do EBV por meio de testes imunológicos, a fim de evitar que infecções virais sejam capazes de induzir toda essa seqüência de anormalidades imunológicas. Ao invés de compreender como o sistema imune responde de forma desregulada a uma infecção viral, dever-se-ia investir na prevenção de tais infecções.

Quanto à resposta imune humana, já se busca identificar o mecanismo protetor que quebra a relação entre estímulo antigênico dos linfócitos B infectados por EBV, produção de auto-anticorpos e lúpus eritematoso sistêmico.

Feitas essas ponderações, o presente trabalho pode ser considerado inovador por correlacionar, pela primeira vez, a afinidade dos anticorpos anti-EBV em pacientes com LES e a atividade da doença através do SLEDAI.



CONCLUSÕES

Não ter sido possível demonstrar, no presente trabalho, associação entre a atividade do EBV e a do LES corroborou relatos semelhantes na literatura consultada.

O fato de não se ter encontrado associação entre reativação viral e exacerbação do LES, parece indicar a não eliminação dos linfócitos B infectados por falha no mecanismo de apoptose ou na ação de linfócitos T citotóxicos permitindo a progressão do LES.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALTO, S. M.; LINNAVUORI, K.; PELTOLA, H.; VUORI, E.; WEISSBRICH, B.; SCHUBERT, J.; HEDMAN, L.; HEDMAN, K. Immunoreactivation of Epstein-Barr virus due to cytomegalovirus primary infection. **J Med Virol**, v. 56, p. 186-191, 1998.

AHMED, R.; OLDSTONE, M. B. A. Mechanisms and biological implications of virus-induced polyclonal B-cell activation. In: NOTKINS, A. L.; OLDSTONE, M. B. S. (ed). **Concepts in viral pathogenesis**. New York: Springer-Verlag. 1984. p. 231-238.

ALBERO, M. D.; RIVERA, F.; MERINO, E.; GIL, M. T.; JIMENEZ, L. A.; ARANDA, I.; OLIVARES, J. Hepatitis C virus infection complicating lupus nephritis. **Nephrol Dial Transplant**, v. 11, p. 1342-1345, 1996.

ALLAWAY, G. P.; SRINIVASAPPA, J.; MILLER, F.; PRABHAKAR, B. S.; NOTKINS, A. L. Spontaneously proliferating human B lymphocytes make autoantibodies. **J Infect Dis**, v. 157, p. 968-972, 1988.

ANDERSON, A.; VETTER, V.; KREUTZER, L.; BAUER, G. Avidities of IgG directed against viral capsid antigen or early antigen: useful markers for significant Epstein-Bar virus serology. **J Med Virol**, v. 43, p. 238-244, 1994.

ARBUCKLE, M. R.; MCLAIN, M. T.; RUBERTONE, M. V.; SOFIELD, R. H.; DENNIS, G. J.; JAMES, J. A.; HARLEY, J. B. Development of antoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. **N Engl J Med**, v. 346, p. 1526-1533, 2003.

ARNETT, F. C.; REVEILLE, J. D. Genetics of systemic lupus erythematosus. **Rheum Dis Clin North Am**, v. 18, p. 865-892, 1992.

ASCHERIO, A.; MUNGER, K. L.; LENNETTE, E. T.; SPIEGELMAN, D.; HERNAN, M. A.; OLEK, M. J.; HANKINSON, S. E.; HUNTER, D. J. Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: a prospective study. **JAMA**, v. 286, n. 24, p. 3083-3088, 2001.

BABCOK, G. J.; DECKER, L. I.; VOLK, M.; THORLEY-LAWSON, D. A. EBV persistence in memory B cells in vivo. **Immunity**, v. 9, p. 395-404, 1998.

BANATVALA, J. E. Insulin-dependent (juvenile-onset, type 1) diabetes mellitus. Coxsackie B viruses revisited. **Prog Med Virol**, v. 34, p. 33-54, 1987.

BECKMAN, E. M.; PORCELLI, S.; MORITA, C.; BEHAR, S.; FURLONG, S.; BRENNER, M. B. Recognition of a lipid antigen by CD1 restricted $\gamma\gamma$ T cells. **Nature**, v. 372, p. 391-394, 1994.

BEHAR, S.; PORCELLI, S. Mechanisms of autoimmune disease induction. The role of the immune response to microbial pathogens. **Arthritis Rheum**, v. 38, p. 458-476, 1995.

BELLANTI, J. A. Adverse effects of viral vaccines. In: NOTKINS, A. L. (ed). **Viral immunology and immunopathology**. New York: Academic Press. 1975. p. 327-339.

BELMONT, H. M.; BUYON, J.; GIORNO, R.; ABRAMSON, S. Up-regulation of endothelial cell adhesion molecules characterizes disease activity in systemic lupus erythematosus. The schwartzman phenomenon revisited. **Arthritis Rheum**, v. 37, p. 376-383, 1994.

BEUTLER, B. The presence of cachectin/tumor necrosis factor in human disease states. **Am J Med**, v. 85, p. 287-288, 1988.

BHIMMA, R.; ADHIKARI, M.; COOVADIA, H. M. Epstein-Barr virus-induced systemic lupus erythematosus. **SAMJ**. v. 85, n. 9, p. 899-900, 1995.

BODÉUS, M.; FEYDER, S.; GOUBAU, P. Avidity of IgG antibodies distinguishes primary from non-primary cytomegalovirus infection in pregnant women. **Clin Diagn Virol**, v. 9, p. 9-16, 1998.

BOMBARDIER, C.; GLADMAN, D. D.; UROWITZ, M. B. The development and validation of the SLE disease activity index. **Arthritis Rheum**, v. 35, p. 630-640, 1992.

BORBA, E. F.; BONFÁ, E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. **Lupus**, v. 6, p. 533-539, 1997.

BRAHMS, H.; RAYMACKERS, J.; UNION, A.; KEYSER, F.; MEHEUS, L. The C-terminal RG dipeptide repeats of the spliceosomal Sm proteins D1 and D3 contain symmetrical dimethylarginines, which form a major B-cell epitope for anti-Sm autoantibodies. **J Biol Chemistry**, v. 275, n. 22, p. 17122-17129, 2000.

BRANDFONBRENER, A.; EPSTEIN, A.; WU, S.; PHAIR, J. Corticosteroid therapy in Epstein-Barr virus infection. Effect on lymphocyte class, subset, and response to early antigen. **Arch Intern Med**, v. 146, p. 337-339, 1986.

BRUU, A. L.; HJETLAND, R.; HOLTER, E.; MORTENSEN, L.; NATAS, O.; PETTERSON, W.; SKAR, A. G.; SKARPAAS, T.; TJADE, T.; ASJO, B. Evaluation of 12 commercial tests for detection of Epstein-Barr virus-specific and heterophile antibodies. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 7, n. 3, p. 451-456, 2000.

BUISSON, M.; FLEURENT, B.; MAK, M.; MORAND, P.; CHAN, L.; NG, A.; GUAN, M.; CHIN, D.; SEIGNEURIN, J. M. Novel immunoblot assay four recombinant antigens for diagnosis of Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. **J Clin Microbiol**, v. 37, n. 8, p. 2709-2714, 1999.

CHACK-SING, L.; KNOK-YUNG, Y.; KNOK-YUNG, C.; RAYMOND-WOON-SING. Lack of evidence of active lytic replication of Epstein-Barr and cytomegaloviruses in patients with systemic lupus erythematosus. **Chin Med J**, v. 111, n. 7, p. 600-665, 1998.

CHAN, K. H.; NG, M. H.; SETO, W. H.; PEIRIS, J. S. M. Epstein-Barr virus (EBV) DNA in sera patients with primary EBV infection. **J Clin Microbiol**, v. 39, n. 11, p. 4152-4154, 2001.

CHASSAGNE, P. L.; MEJJAD, O.; GOURMELEN, O. et al. Exacerbation of systemic lupus erythematosus during human parvovirus B19 infection. **Br J Rheumatol**, v. 32, p. 158-159, 1993.

CHEESEMAN, S. H. Infectious mononucleosis. **Semin Hematol**, v. 25, p. 261-268, 1988.

CHIN, T. D. Y. Diagnostic criteria and differential diagnosis. In: SCHLOSSBERG, D. **Infectious mononucleosis**. New York 2^a ed. 1989. p. 117-125.

CHING, H. H.; FOCK, K. M.; CHEW, C. N.; GUAN, R.; FENG, P. H.; BOEY, M. L.; CHEE, E. N.; CHUA, K. L. Hepatitis B virus infection in patients with systemic lupus erythematosus. **Singapore Med J**, v. 34, p. 325-326, 1993.

COCHRAN, W. G. The χ^2 test of goodness of fit. **Ann Math Statist**, v. 23, p. 315-345, 1952. ?

COHEN, J. I. Vírus Epstein-Barr e o sistema imunológico. Um jogo de pique-esconde. **JAMA Brasil**, v. 2, n. 1, p. 259-262, 1998.

COHEN, J. I.; LEKSTROM, K. Epstein-Barr virus BARF1 protein is dispensable for B-cell transformation and inhibits alpha interferon secretion from mononuclear cells. **J Virol**, v. 73, p. 7627-7632, 1999.

COOKE, A.; LYDYARD, P. M.; ROITT, I. M. Mechanisms of autoimmunity: a role of cross-reactive idiotypes. **Immunol Today**, v. 4, p. 170-175, 1983.

COPE, A. P.; JONES, A.; BROZOVIC, M.; SHALFI, M. S.; MINI, R. M. Possible induction of systemic lupus erythematosus by human parvovirus. **Ann Rheum Dis**, v. 51, p. 803-804, 1992.

CRONIN, M. E. Musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. **Rheum Dis Clin North Am**, v. 14, n. 1, p. 99-116, 1988.

DADE BEHRING. **Every minute of every day. Enzygnost® Anti-EBV/IgG Avidity 1, Anti-EBV/IgG Testkit**. Catalog OWIS51. 1999a.

DADE BEHRING. **Supplementary reagents for Enzygnost®/TMB**. Catalog OUVF G17. 1999b.

DEAPEN, D.; ESCALANTE, A.; WEINRIB, L. et al. A revised estimate of twin concordance in to systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 35, p. 311-318, 1992.

DECKER, J. L. The management of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 25, p. 891-894, 1982.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The immune system. **N Engl J Med**, v. 343, p. 37-49, 2000.

DIAMOND, B.; KATZ, J. B.; PAUL, E.; ARANOW, C.; LUSTGARTEN, D.; SCHARFF, M. D. The role of somatic mutation in the pathogenic anti-DNA response. **Ann Rev Immunol**, v. 10, p. 731-757, 1992.

DOHERTY, P. C. Some problem areas in the interaction between viruses and the immune system. **Immunol Cell Biol**, v. 65, p. 279-286, 1987.

DRENKARD, C.; VILLA, A. R.; GARCIA-PADILLA, C. et al. Remission of systemic lupus erythematosus. **Medicine**, v. 75, p. 88-98, 1996.

DROR, Y.; BLACHAR, Y.; COHEN, P.; LIVNI, N.; ROSENMAN, E.; ASHKENAZI, A. Systemic lupus erythematosus associated with acute Epstein-Barr virus infection. **Am J Kidney Dis**, v. 32, n. 5, p. 825-828, 1998.

DUBOIS, E. L. Systemic lupus erythematosus: recent advances in its diagnosis and treatment. **Ann Intern Med.** v. 45, p. 163-184, 1956.

DUFTY, K. N.; DUFTY, C. M.; GLADMAN, D. D. Infection and disease activity in systemic lupus erythematosus: a review of hospitalized patients. **J Rheumatol**, v. 18, p. 1180-1184, 1991.

ERKELLER-YUSEL, F.; HULSTAART, F.; HANNET, I. et al. Lymphocyte subsets in a large cohort of patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 2, p. 222-231, 1993.

ERNBERG, I.; KALLIN, B.; DILLNER, J.; FALK, K.; EHLIN-HENRIKSSON, B.; HAMMARSKJOLD, M. L.; KLEIN, G. Lymphoblastoid cell lines and Burkitt-lymphoma-derived cell lines differ in the expression of second nuclear antigen. **Int. J Cancer**, v. 38, p. 729-737, 1986.

ESPINOSA, M. D.; ANGUITA, F.; HERNÁNDEZ, A.; NOGUERAS, F.; MARTÍN-VIVALDI, R. Lupus eritematoso cutáneo y virus de la hepatitis C. **Rev Esp Enf Digest**, v. 89, n. 10, p. 792-794, 1997.

ESTES, D.; CHRISTIAN, C. L. The natural history of systemic lupus erythematosus by prospective analysis. **Medicine (Baltimore)**, v. 50, p. 85-95, 1971.

FELDMAN, M.; LONDEI, M.; BUCHAN, G. Interferons and autoimmunity. In: GRESSESI, M. (ed). **Interferon 9**. New York: Academic Press. 1987, p. 75-90.

FINGEROTH, J. D.; WEISS, J. J.; TEDDER, T. F. et al. Epstein-Barr virus receptor of human B lymphocytes is the C3d receptor CR2. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 81, p. 4510-4516, 1984.

FISHER, R. A. **Statistical methods for research workers**. 5th ed. Edinburgh: Oliver & Boyd. 1934.

FITZPATRICK, T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Arch Dermatol**, v. 124, p. 869-871, 1988.

FLEISHER, G. R.; COLLINS, M.; FAGER, S. Humoral immune response in infectious mononucleosis. Late emergence of anti-EAR and the effects of corticosteroid therapy. **J Adolesc Health Care**, v. 6, n. 6, p. 424-428, 1985.

FORMIGA, F.; PAC, M.; PUJOL, R. High disease activity at baseline does not prevent a remission in patients with systemic lupus erythematosus. **British Society for Rheumatol**, v. 38, p. 724-727, 1999.

FOX, R. I.; LUPPI, M.; PISA, P.; KANG, H. I. Potential role of Epstein-Barr virus in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. **J Rheumatol**, v. 19, n. S32, p. 18-24, 1992.

FRANK, M. M.; HAMBURGER, M. I.; LAWLWY, T. J. et al. Defective reticuloendothelial system Fc-receptor function in systemic lupus erythematosus. **N Engl J Med**, v. 300, p. 518-523, 1979.

FREI, K.; LEIST, T. P.; MEAGER, A.; GALLO, P.; LEPPERT, D.; ZINKERNAGEL, R. M.; FONTANA, A. Production of B cell stimulatory factor-2 and interferon γ in the central nervous system during viral meningitis and encephalitis. Evaluation in a murine model infection and in patients. **J Exp Med**, v. 168, p. 449-453, 1988.

FRIEDMAN, S. M.; POSNETT, D. N.; TUMANG, J. R.; COLE, B. C.; CROW, M. K. A potential role for microbial superantigens in the pathogenesis of systemic autoimmune disease. **Arthritis Rheum**, v. 34, p. 468-480, 1991.

FRIES, J. F.; HOLMAN, H. R. **Systemic lupus erythematosus. A clinical analysis**. Philadelphia: WB Saunders. 1975. v. VI, p. 127-133.

FUJINAMI, R. S.; OLDSTONE, M. B. A.; WROBLEWSKA, Z.; FRANKEL, M. E.; KOPROWSKI, H. Molecular mimicry in virus infection: cross-reaction of measles virus phosphoprotein or of herpes simplex virus protein with human intermediate filaments. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 80, p. 2346-2350, 1983.

GÄRTNER, B. C.; HESS, R. D.; BANDT, D.; KRUSE, A.; RETHWILM, A.; ROEMER, K.; MUELLER-LANTZCH, N. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with immunofluorescence assay as the reference method. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 10, n. 1, p. 78-82, 2003.

GARZELLI, C. Epstein-Barr virus and auto-immunity. In: FRIEDMAN, H.; ROSE, N. R.; BENDINELLI, M. (ed). **Microorganisms and autoimmune diseases**. New York: Plenum Press. 1996, p. 197-217.

GARZELLI, C.; TAUB, F. E.; SCHARFF, J. E.; PRABHAKAR, B. S.; GISNBERG-FELLNER, F.; NOTKINS, A. L. Epstein-Barr virus-transformed lymphocytes produce monoclonal autoantibodies that react with antigens in multiple organs. **J Med Virol**, v. 52, p. 722-725, 1984.

GHAUSSY, N. O.; SIBBITT JR, W. L.; BANKHURST, A. D.; QUALLS, C. R. The effect of race on disease activity in systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol**, v. 31, n. 5, p. 15-9, 2004.

GINZLER, E. M.; DIAMOND, H. S.; KAPLAN, D. et al. Computer analysis of factors influencing frequency of infection in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 21, p. 37-44, 1978.

GLADMAN, D. D. Indicators of disease activity, prognosis and treatment of systemic lupus erythematosus. **Current Opinion Rheumatol**, v. 6, p. 487-492, 1994.

GRAY, J. J. Avidity of EBV VCA – specific IgG antibodies: distinction between recent primary infection, past infection and reactivation. **J Virol Med**, v. 52, p. 95-104, 1995.

GRAY, J. J.; CALDWELL, J.; SILLIS, M. The rapid serological diagnosis of infectious mononucleosis. **J Infect**, v. 25, p. 39-46, 1992.

GRAY, J. J.; COHEN, B. J.; DESSELBERGER, U. Detection of human parvovirus B19-specific IgM and IgG antibodies using a recombinant viral VP1 antigen expressed in insect cells and estimation of time of infection by testing for antibody avidity. **J Virol Methods**, v. 11, p. 11-24, 1993.

GUNNEWIEK, J. M. T. K.; VAN DE PUTTE, L. B. A.; VAN VENROOIJ, W. J. The U1 snRNP complex: an autoantigen in connective tissue diseases. An update. **Clin Exp Rheumatol**, v. 15, p. 549-560, 1997.

HABETS, W.; SILLEKENS, P. T. G.; HOET, M. H. et al. Small nuclear RNA associated proteins are immunologically related as revealed by mapping of autoimmune reactive B cell epitopes. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 86, p. 4674-4678, 1989.

HALBERG, P.; ALSBJORN, B.; GERSTOFT, J. et al. Systemic lupus erythematosus: Follow-up study of 148 patients I: Classification, clinical and laboratory finding, course and outcome. **Clin Rheumat**, v. 6, p. 13-21, 1987.

HAMMER, M.; ZEIDLER, H.; KLIMSA, S.; HEESEMANN, J. Yersinia enterocolitica in the synovial membrane of patients with Yersinia-induced arthritis. **Arthritis Rheum**, v. 33, p. 1795-1800, 1990.

HARDGRAVE, K. L.; NEAS, B. R.; SCOFIELD, R. H.; HARLEY, J. B. Antibodies to vesicular stomatitis virus proteins in patients with systemic lupus erythematosus and in normal subjects. **Arthritis Rheum**, v. 36, n. 7, 1993.

HARLEY, J. B.; JAMES, J. A. Autoepitopes in lupus. **J Lab Clin Med**, v. 126, p. 509-516, 1995.

HASHIDO, M.; INOUE, S.; KAWANA, T. Differentiation of primary from nonprimary genital herpes infections by a herpes simplex virus specific immunoglobulin G avidity assay. **J Clin Microbiol**, v. 35, p. 1766-1768, 1997.

HASHIZUME, K.; SATO, M.; SAEKI, S.; TAKAMOTO, S.; MINO, Y.; ONISH, T. An elderly case of systemic lupus erythematosus associated with herpes zoster, anemia, and hemiparesis. **Nippon Ronen Igakkai ZASSHI**, v. 28, p. 817-822, 1991.

HAUPT, M. Psychiatric disorders in rheumatic diseases, as exempla by systemic lupus erythematosus (SLE). **Z Rheumatol**, v. 63, n. 2, p. 122-130, 2004.

HAWKER, G.; GABRIEL, S.; BOMBARDIER, C.; GOLDSMITH, C.; CARON, D.; GLADMAN, D. A reliability study of SLEDAI: a disease activity index for systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol**, v. 20, n. 4, p. 657-660, 1993.

HEDMAN, K.; HIETALA, J.; TIILIKAINEN, A.; HARTIKAINEN-SORRI, A. L.; RÄIHÄ, K.; SUNI, J.; VÄÄNÄNEN, P.; PIETILÄINEN, M. Maturation of immunoglobulin G avidity after rubella vaccination studied by an enzyme linked immunosorbent assay (avidity-ELISA) and by haemolysis typing. **J Med Virol**, v. 27, p. 293-298, 1989.

HEILEN, L. D.; MACLAIN, M. T.; DENNIS, G. J.; RUBERTONE, M. V.; HARLEY, J. B.; JAMES, J. A. The development of antibodies targeting Epstein-Barr virus closely parallels autoimmune progression near the onset of SLE. **Arthritis Rheum**, v. 48, n. 9, p. S662-3, 2003.

HELLMANN, D. B.; PETRI, M.; WHITING-O'KEEFE, Q. Fatal infections in systemic lupus erythematosus: the role of opportunistic organisms. **Medicine (Baltimore)**, v. 66, p. 341-348, 1987.

HENDERSON, S.; HUEN, D.; ROWE, M.; DAWSON, C.; JOHSON, G.; RICKINSON, A. Epstein-Barr virus-coded BHRF1 protein, a viral homolog of Bcl-2, protects human B cells from programmed cell death. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, p. 8479-8483, 1993.

HENLE, G.; HENLE, W.; DICH, V. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 59, p. 94-101, 1968.

HENLE, W.; HENLE, G.; ANDERSON, J. et al. Antibody responses to Epstein-Barr virus-determined nuclear antigen EBNA-1 and EBNA-2 in acute and chronic Epstein-Barr virus infection. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 84, p. 570-574, 1987.

HENNESSY, K.; FENNEWALD, S.; KIEFF, E. A third viral nuclear protein in lymphoblasts immortalized by Epstein-Barr virus. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 82, p. 5944-5948, 1985.

HENNESSY, K.; KIEFF, E. One of two Epstein-Barr virus nuclear antigen contains a glycine-alanine copolymer domain. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 40, p. 5665-5669, 1983.

HOCHBERG, M. C. The incidence of systemic lupus erythematosus in Baltimore, Maryland, 1970-1977. **Arthritis Rheum**, v. 6, p. 28-80, 1985.

HOCHBERG, M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 40, n. 9, p. 1725, 1998.

HOPKINSON, N. D.; DOHERTY, M.; POWELL, R. J. The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Nottingham, UK, 1989-1990. **Br J Rheumatol**, v. 32, p. 110-115, 1993.

HSU, D. H.; MALEFYT, R. D. W.; FIORENTINO, D. F. et al. Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. **Science**, v. 250, p. 830-832, 1990.

HU, X. M.; FAN, Z. R.; ZHOU, S. Y.; WEI, W.; ZHU, B. H.; CAO, Y. F. Hematological abnormality and clinical characteristic systemic lupus erythematosus. **Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi**, v. 2, p. 170-173, 2004.

HUGGINS, M. L.; TODD, I.; POWELL, R. J. Reactivation of Epstein-Barr virus in patients with systemic lupus erythematosus. **Rheumatol Int**, 2003.

ILIOPOULOS, A. G.; TSOKOS, G. C. Immunopathogenesis and spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. **Semin Arthritis Rheum**, v. 25, p. 318-336, 1996.

INCAPRERA, M.; RINDI, L.; BAZZICHI, A.; GARZELLI, C. Potential role of the Epstein-Barr virus in systemic lupus erythematosus autoimmunity. **Clin Exp Rheumatol**, v. 16, p. 289-294, 1998.

ISACOVICS, B.; SILVERMAN, E. D. Limiting dilution analysis of Epstein-Barr virus infectable B cells secreting anti-Ro/SSA and anti-L a/SSB antibodies in neonatal lupus erythematosus and systemic lupus erythematosus. **J Autoimmun**, v. 6, p. 481-494, 1993.

JACOBSON, D. L.; GANGE, S. J.; ROSE, N. R.; GRAHAM, N. M. H. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. **Clin Immunol Immunopathol**, v. 84, p. 223-243, 1997.

JAMES, J. A.; GROSS, T.; SCOFIELD, R. H.; HARLEY, J. B. Immunoglobulin epitope spreading autoimmune disease after peptide immunization: Sm B/B'-derived PPPGMRPP and PPPGIRGP induce spliceosome autoimmunity **J Exp Med**, v. 181, p. 453-461, 1995.

JAMES, J. A.; KAUFMAN, K. M.; FARRIS, A. D.; TAYLOR-ALBERT, E.; LEHMAN, T. J. A.; HARLEY, J. B. An increased prevalence of Epstein-Barr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus. **J Clin Invest**, v. 100, n. 12, p. 3019-3026, 1997.

JAMES, J. A.; MAMUFA, M. J.; HARLEY, J. B. Sequential autoantigenic determinants of the small nuclear ribonucleoprotein Sm shared by human lupus autoantibodies and MRL *lpr/lpr* antibodies. **Clin Exp Immunol**, v. 09, p. 419, 1994.

JAMES, J. A.; NEAS, B. R.; MOSER, K. L.; HALL, T.; BRUNER, G. R.; SESTAK, A. L.; HARLEY, J. B. Systemic lupus erythematosus in adults is associated with previous Epstein-Barr virus exposure. **Arthritis Rheum**, v. 44, n. 5, p. 1122-1126, 2001.

JOHANNSEN, E.; KOH, E.; MOSIALOS, G.; TONG, X.; KIEFF, E.; GROSSMAN, S. Epstein-Barr virus nuclear protein 2 transactivation of the latent membrane protein I promoter is mediated by kappa and PU.I. **J Virol**, v. 69, p. 253-262, 1995.

JOHONSON, A. E.; GORDON, C.; PALMER, R. G.; BACON, P. A. The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Birmingham, relationship to ethnicity and country of birth. **Arthritis Rheum**, v. 38, p. 551-558, 1995.

JUNKER, A. K.; TILLEY, P. Varicella-zoster virus antibody avidity and IgG-subclass patterns in children with recurrent chickenpox. **J Med Virol**, v. 43, p. 119-124, 1994.

KAMPMANN, M.; HENNINGER, K.; BAUER, G. Determination of antibodies directed specifically against Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) by anticomplementary immunofluorescence (ACIF). **Med Microbiol Letters**, v. 2, p. 1-8, 1998.

KANG, I.; PARK, S. H. Infectious complications in SLE after immunosuppressive therapies. **Current Opinion Rheumatol**, v. 15, p. 528-534, 2003.

KANG, I.; QUAN, T.; NOLASCO, H.; PARK, S. H.; HONG, M. S.; CROUCH, J.; PAMER, E. G.; HOWE, J. G.; CRAFT, . Defective control of latent Epstein-Barr

virus infection in systemic lupus erythematosus. **J Immunol**, v. 173, p. 1287-1294, 2004.

KARSH, J.; KLIPPEL, J. H.; BALOW, J. E.; DECKER, J. L. Mortality in lupus nephritis. **Arthritis Rheum**, v. 22, p. 764-769, 1979.

KATZ, B. Z.; SALIM, I. B.; KIM, S.; NSIAH-KUMI, P.; WEINEL, W. Epstein-Barr virus burde in adolescents with systemic lupus erythematosus. **Pediatr Infect Dis J**, v. 20, n. 2, p. 148-153, 2001.

KEELING, D. M.; ISENBERG, D. A. Haematological manifestations of systemic lupus erythematosus. **Blood Rev**, v. 7, p. 199-207, 1993.

KIEFF, E. Epstein-Barr virus and its replication. In: FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (eds). **Fields virology**. 3rd ed. v. 2. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1996. p. 2343-2396.

KIMBERLY, R. P.; SALMOM, J. E.; EDBERG, J. C. Receptors for immunoglobulin G: Molecular diversity and implications for disease. **Arthritis rheum**. v. 38, p. 306-314, 1995.

KITAGAWA, H.; IHO, S.; YOKOCHI, T.; HOSINO, T. Detection of antibodies to the Epstein-Barr virus nuclear antigens in the sera of patients with systemic lupus erythematosus. **Immunol Lett**, v. 17, p. 249-252, 1988.

KLIPPEL, J. H. Systemic lupus erythematosus: treatment relates complications superimposed on chronic disease. **JAMA**, v. 263, p. 1812-1815, 1990.

KULWICHIT, W.; EDWARDS, R.; DAVENPORT, E. M.; BASKAR, J. F.; GODFREY, V.; RAAB-TRAUB, N. Expression of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces B cells lymphoma in transgenic mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 95, p. 11963-11968, 1998.

LAU, C. S.; YUEN, K. Y.; CHAN, K. H.; WONG, R. W. Lack of evidence of active lytic replication of Epstein-Barr and cytomegaloviruses in patients with systemic lupus erythematosus. **Chin Med J (Engl)**, v. 111, n. 7, p. 660-665, 1998.

LAZZARINO, M.; ORLANDI, E.; BALDANTI, F.; FURIONE, M.; PAGNUCCO, G.; ASTORI, C.; VIGLIO, A.; PAULLI, M.; BERNASCONI, C. The immunosuppression and potential for EBV reactivation of fludarabine with cyclophosphamide and dexamethasone in patients with lymphoproliferative disorders. **Br J Haematol**, v. 107, n. 4, p. 877-882, 1999.

LEE, P.; UROWITZ, M. B.; BOOKMAN, A. A. M.; KOEHLER, B. E.; SMYTHE, H. A.; GORDON, D. A.; OGRYZLO, M. A. Systemic lupus erythematosus: a review of

110 cases with reference to nephritis, the nervous system, aseptic necrosis. **QJM**, v. 46, p. 1-32, 1997.

LEHMANN, P. V.; SERCAZ, E. E.; FORSTHUBER, T.; DAYAN, C.; GAMMON, G. Determinant spreading and the dynamics of the autoimmune T-cell repertoire. **Immunol Today**, v. 14, p. 203-208, 1993.

LEVITSKAYA, J.; CORAM, M.; LEVITSKY, V. et al. Inhibition of antigen processing by the internal repeat region of the Epstein-Barr virus nuclear antigen-1. **Nature**, v. 375, p. 685-688, 1995.

LEVITSKAYA, J.; SHAPIRO, A.; LCONCHIKS, A.; CICHANOVER, A.; MASUCCI, M. G. Inhibition of ubiquitin/proteasome-dependent protein degradation by the Gly-Ala reappear domain of the Epstein-Barr virus nuclear antigen I. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 94, p. 12616-12621, 1997.

LI, F. et al. Reduced expression of peptide-loaded HLA class I molecules on multiple sclerosis lymphocytes. **Ann Neurol**, v. 38, p. 147-154, 1995.

LI, Q.; SPRIGGS, M. K.; KOVATS, S. et al. Epstein-Barr virus uses HLA class II as a cofactor for infection of B lymphocytes. **J Virol**, v. 71, p. 4657-4662, 1997.

LIKA. Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami. TCTP. **VII Curso Internacional sobre doenças tropicais**. Disponível em <http://www.lika.ufpe.br>. Acesso em 20/03/2003.

LIN, R. H.; MAMULA, M. J.; HARDIN, J. A.; JANEWAY, C. A. Induction of auto reactive B cells allows priming of auto reactive T cells. **J Exp Med**, v. 173, p. 1433-1439, 1991.

LINDE, A. Diagnosis and pathogenesis of infections mononucleosis and other Epstein-Bar virus associated diseases. **Reviews Med Microbiol**, v. 3, p. 43-51, 1992.

LOIZOU, S.; CAZABON, J. K.; WALPORT, M. J.; TAIT, D.; SO, A. K. Similarities of specificity and cofator dependence in serum antiphospholipid antibodies from patients with human parvovirus B19 infection and from those with systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 40, p. 103-108, 1997.

LOOI, L. M.; PRATHAP, K. Hepatitis B virus surface antigen in glomerular immune complex deposits of patients with systemic lupus erythe matosus. **Histopatol**, v. 6, p. 141-147, 1982.

MARCHINI, B.; DOLCHER, M. P.; SABBATINI, A.; KLEIN, G.; MIGLIORINI, P. Immune response to different sequences of the EBNA 1 molecule in Epstein-Barr

virus-related disorders and in autoimmune diseases. **J Autoimmunity**, v. 7, p. 179-191, 1994.

MARRACK, P.; KAPPLER, J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. **Science**, v. 248, p. 705-711, 1990.

MARTUSEWICZ-BOROS, M.; WIATR, E.; PLODZISZEWSKA, M.; GAWRYLU OPOKA, L.; ZALESKA, J. Lung involvement in systemic lupus erythematosus own experience. **Pneumol Alergol Pol**, v. 70, n. 1-2, p. 12-24, 2002.

MAURACHER, C. A.; MITCHELL, L. A.; TINGLE, A. J. Differential IgG avidity to rubella virus structural proteins. **J Med Virol**, v. 36, p. 202-208, 1992.

MAURMANN, S.; FRICKE, L.; WAGNER, H. J.; SCHLENKE, P.; HENNING, H.; STEINHOFF, J.; JABS, W. J. Molecular parameters for precise diagnosis of asymptomatic Epstein-Barr virus reactivation in health carriers. **J Clin Microbiol**, v. 41, n. 12, p. 5419-5428, 2003.

McCHESNEY, M. B.; OLDSTONE, M. B. A. Viruses perturb lymphocyte functions: selected principles characterizing virus induced immunosuppression. **Annu Rev Immunol**, v. 5, p. 279-304, 1987.

McCLAIN, M. T.; HARLEY, J. B.; JAMES, J. A. The role of Epstein-Barr virus in systemic lupus erythematosus. **Front Biosci**, v. 6, p. E137-147, 2001.

McCLAIN, M. T.; RAMSLAND, P. A.; KAUFMAN, K. M.; JAMES, J. A. Anti-Sm autoantibodies in systemic lupus target highly basic surface structures of complexed spliceosomal autoantigens. **J Immunol**, v. 168, p. 2054-2062, 2002.

McCLAIN, M. T.; RAPP, E. C.; HARLEY, J. B.; JAMES, J. A. Infectious mononucleosis patients temporarily recognize a unique, cross-reactive epitope of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1. **J Med Virol**, v. 70, n. 2, p. 253-257, 2003.

McGRATH JR, H. Ultraviolet A1 (340-400nm) irradiation and systemic erythematosus. **J Investig Dermatol Symp Proc**, v. 4, n. 1, p. 79-84, 1999.

MEYER, O.; KHAN, M. G.; GROSSIN, M. et al. Parvovirus B19 infection can induce histiocytic necrotizing lymphadenitis (Kikuchi's disease) associated with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 1, p. 37-41, 1991.

MIETHKE, T.; WAHL, C.; HEEG, K.; ECHTENACHER, B.; KRAMMER, P. H.; WAGNER, H. T cell-mediated lethal shock triggered in mice by the superantigen staphylococcal enterotoxin B: critical role of tumor necrosis factor. **J Exp Med**, v. 175, p. 91-98, 1992.

MILLER, C. L.; BURKHARDT, A. L.; LEE, J. H. et al. Integral membrane protein 2 of Epstein-Barr virus regulates reactivation from latency through dominant negative effects on protein-tyrosine kinases. **Immunity**, v. 2, p. 155-166, 1995.

MILLER, J. F. A. P.; MORAHAN, G. Peripheral T cell tolerance. **Ann Rev Immunol**, v. 10, p. 51-70, 1992.

MILLER, K. B.; SCHWARTZ, R. S. Autoimmunity and suppressor T lymphocytes. **Adv Intern Med**, v. 27, p. 281-313, 1982.

MILLER, S. D.; VADERLUGT, C. L.; SMITH-BEGOLKA, W. S. et al. Persistent infection with Theiler's virus leads to CNS autoimmunity via epitope spreading. **Nat Med**, v. 3, p. 1133-1136, 1997.

MIR, A.; BALSALOBRE, B. Inhibition of complement dependent phagocytosis by autoantibodies against C3b-receptor (CR1) in a case of systemic lupus erythematosus. **J Intern Med**, v. 235, p. 284-285, 1994.

MOGA, I.; FORMIGA, F.; CANET, R.; PAC, M.; MITJAVILA, F.; PUJOL, R. Infección por virus del herpes zoster en pacientes con lupus eritematoso sistémico. **Rev Clin Esp**, v. 195, p. 530-533, 1995.

MOON, U. Y.; PARK, S. J.; OH, S. T.; KIM, W. U.; PARK, S. H.; LEE, S. H.; CHO, C. S.; KIM, H. Y.; LEE, W. K.; LEE, S. K. Patients with systemic lupus erythematosus have abnormally elevated Epstein-Barr virus load in blood. **Arthritis Res Ther**, v. 6, p. R295-R302, 2004.

MOORE, K. W.; VIEIRA, P.; FIORENTINO, D. F. et al. Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL10) to the Epstein-Barr virus gene BCRF1. **Science**, v. 248, p. 1230-1234, 1990.

MORGAN, M. C.; MATTESON, E.; DUNNE, R.; BROWN, M.; FOX, D. A.; MCCUNE, W. J. Complications of intravenous cyclophosphamide: association of infections with high daily doses of prednisone in lupus patients (abstract). **Arthritis Rheum**, v. 33, suppl 5, p. R27, 1990.

MORROW, W. J. W.; ISENBERG, D. A. **Autoimmune rheumatic disease**. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1987.

NESHER, G.; OSBORN, T. G.; MOORE, T. L. Parvovirus infection mimicking systemic lupus erythematosus. **Semin Arthritis Rheum**, v. 24, p. 297-303, 1995.

NIKKARI, S.; MERILAHTI-PALO, R.; SAARIO, R.; SÖDERSTRÖM, K. O.; GRANFORS, K.; SKURNIK, M.; TOIVANEN, P. Yersinia-triggered reactive arthritis. Use of polymerase chain reaction and immunocytochemical staining in

the detection of bacterial components from synovial specimens. **Arthritis Rheum**, v. 35, p. 682-687, 1992.

NIVED, O.; STURFELT, G.; WOLLHEIM, F. Systemic lupus erythematosus and infection: a controlled and prospective study including an epidemiological group. **QJM**, v. 55, p. 271-287, 1985.

NOSSENT, J. C. Course and prognostic value of systemic lupus erythematosus disease activity index in black Caribbean patients. **Semin Arthritis Rheum**, v. 23, p. 16-21, 1993.

OBEL, N.; HOIER-MADSEN, M.; KANGRO, H. Sorological and clinical findings in patients with sorological evidence of reactivated Epstein-Barr virus infection. **APMIS**, v. 104, p. 424-428, 1996.

ORIGGI, L.; PEREGO, R.; HU, C.; BERTETTI, E.; D'AGOSTINO, P.; ASERO, R.; RIBOLDI, P. Anti-Epstein-Barr virus antibodies in systemic lupus erythematosus. **Boll Ist Sieroter Milan**, v. 67, n. 2, p. 116-122, 1988.

PAWLOSKY, J. M.; ROUDOT-THORAVALL, F.; SIMMONDS, P. et al. Extrahepatic immunologic manifestations in chronic hepatitis C and hepatitis virus serotypes. **Ann Intern Med**, v. 122, p. 169-173, 1995.

PENDER, M. P. Activation-induced apoptosis of auto reactive and alloreactive T lymphocytes in the target organ as a major mechanism of tolerance. **Immunol Cell Biol**, v. 77, p. 216-223, 1999.

PENDER, M. P. Infection of autoreactive B lymphocytes with EBV, causing chronic autoimmune disease. **Trends Immunol**, v. 24, n. 11, 2003.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia. Teoria e prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1995. 596p.

PEREZ, D. H.; HOOPER, C. VOLANAKIS, J. et al. Specific inhibitor of complement (C5)-derived chemotactic activity in systemic lupus erythematosus related antigenically to the Bb fragment of human factor B. **J Immunol**, v. 139, p. 484-489, 1987.

PERMIN, H.; ALDERSHVILLE, J.; NIELSEN, J. O. Hepatitis B virus infection in patients with rheumatic diseases. **Ann Rheum Dis**, v. 41, p. 479-482, 1982.

PERRON, H. GARSON, J. A.; BEDIN, F. et al. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 94, p. 7583-7588, 1997.

PETRI, M.; GENOVESE, M. Incidence of and risk factor for hospitalizations in systemic lupus erythematosus: a prospective study of the Hopkins Lupus cohort. **J Rheumatol**, v. 19, p. 1559-1565, 1992.

PHALEN, M. K. F. **Progress on lupus: new clarity for a baffling disease**. E Mednews (on line), 2002. Disponível em http://www.amea-assn.org/sci-pubs/amnews/pick_02/hlsa100/.htm. Acesso em 22/05/2003.

PILIERO, P.; FURIE, F. Functional asplenia in systemic lupus erythematosus. **Semin Arthritis Rheum**, v. 20, p. 185-189, 1990.

PORCELLI, S. Molecular mimicry and the generation of autoimmune diseases. **Rheumatol Rev**, v. 2, p. 41-50, 1993.

PRYOR, B. D.; BOLOGNA, S. G.; KAHL, L. E. Risk factors for serious infection during treatment with cyclophosphamide and high-dose corticosteroids for systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 39, n. 9, p. 1475-1482, 1996.

RABBANI, M. A.; SHAH, S. M.; AHMED, A. Cutaneous manifestations of systemic lupus erythematosus Pakistani patients. **J Pak Med Assoc**, v. 53, n. 11, p. 539-541, 2003.

RAGOZZINO, M. W.; MELTON III, L. J.; KURLAND, L. T.; CHU, C. P.; PERRY, H. O. Population-based study of herpes zoster and its sequelae. **Medicine**, v. 61, p. 310-316, 1982.

RAMMENSEE, H. G.; KROSCHEWSKY, R.; FRANGOULINS, B. Clonal anergy induced in mature V α 6 T lymphocytes on immunizing Mls-1^b mice with Mls-1^a expressing cells. **Nature**, v. 339, p. 541-544, 1989.

REA, T. D.; ASHLEY, R. L.; RUSSO, J. E.; BUCHWALD, D. S. A systematic study of Epstein-Barr virus serologic assays following acute infection. **Am J Clin Pathol**, v. 117, n. 1, p. 156-161, 2002.

RHODES, G.; CARSON, J.; VALBRACHT, R.; HOUGHTEN, R.; VAUGHAN, J. H. Human immune responses to synthetic peptides from the Epstein-Barr nuclear antigen. **J Immunol**, v. 134, p. 211-216, 1985.

RHODES, G.; RUMPOLD, H.; KURKI, P.; PATRICK, K. M.; CARSON, D. A.; VAUGHAN, J. H. Autoantibodies in infectious mononucleosis have specificity for the glycine-alanine repeating region of the Epstein-Barr virus nuclear antigen. **J Exp Med**, v. 165, p. 1026-1040, 1987.

RICKINSON, A. B.; KIEFF, E. Epstein-Barr virus. In: FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. et al. (eds). **Field's Virology**. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven. 1996, p. 2397-2446.

RIDER, J. R.; OLLIER, W. E. R.; LOCK, R. J.; BRROKES, S. T.; PAMPHILON, D. H. Human cytomegalovirus infection and systemic lupus erythematosus. **Clin Exper Rheumatol**, v. 15, p. 405-409, 1997.

RIEMEKASTEN, G.; MARELL, G.; TREBEJAHN, R.; KLEIN, G.; HAUSDORF, T.; HAUPT, J.; SCHNEIDER-MERGENER, J.; BURMESTER, G. R.; HIEPE, F. A novel epitope on the C-terminus of SmD1 is recognized by the majority of sera from patients with systemic lupus erythematosus. **J Clin Invest**, v. 102, p. 754, 1995.

ROBERTS, P. J.; ISENBERG, D. A.; SEGAL, A. W. Defective degradation of bacterial DNA by phagocytes from patients with systemic and discoid lupus erythematosus. **Clin Exp Immunol**, v. 69, p. 68-78, 1987.

ROITT, I. M.; HUTCHINGS, P. R.; DAWE, K. I.; SUMAR, N.; BODMAN, K. B.; COOKE, A. The forces driving autoimmune disease. **J Autoimmun**, v. 5, p. 11-26, 1992.

ROK, K. L.; BENACERRAF, B.; ABBAS, A. Antigen presentation by hapten-specific B lymphocytes. I. Role of surface immunoglobulin receptors. **J Exp Med**, v. 160, p. 1102-1113, 1984.

ROKEACH, L. A.; HASELBY, J. A.; HOCH, S. O. Molecular cloning of a c-DNA encoding the human Sm-D autoantigen. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 85, p. 4832, 1988.

ROSNER, S.; GINZLER, E. M.; DIAMOND, H. S. et al. A multicenter study of outcome in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 25, p. 612-617, 1982.

ROWE, M.; KHANNA, R.; JACOB, C. A. et al. Restoration of endogenous antigen processing in Burkitt's lymphoma cells by Epstein-Barr virus latent membrane protein-1: coordinate up-regulation of peptide transporters and HLA-class I antigen expression. **Eur J Immunol**, v. 25, p. 1374-1384, 1995.

SABBATINI, A.; BOMBARDIERI, S.; MIGLIORINI, P. Autoantibodies from patients with systemic lupus erythematosus bind a shared sequence of SmD and Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen EBNA-1. **Eur J Immunol**, v. 23, p. 1146-1154, 1993a.

SABBATINI, A.; DOLCHER, M. P.; MARCHINI, B.; BOMBARDIERI, S.; MIGLIORINI, P. Mapping of epitopes on the SmD molecule: the use of multiple antigen peptides to measure autoantibodies in systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol**, v. 20, p. 1679, 1993b.

SCHAADE, L.; KLEINES, M.; HÄUSLER, M. Application of virus-specific immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgA antibody detection with a polyantigenic enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Epstein-Barr virus infections in childhood. **J Clin Microbiol**, v. 39, n. 11, p. 3902-3905, 2001.

SCHATTNER, A. The origin of autoantibodies. **Immunol Lett**, v. 14, p. 143-153, 1987.

SCHATTNER, A.; RAGER-ZISMAN, B. Virus-induced autoimmunity. **Rev Infect Dis**, v. 12, p. 204-218, 1990.

SCHATTNER, A.; SHANI, A.; TALPAZ, M.; BENTTWICH, Z. Rheumatoid factors in the sera of patients with gastrointestinal carcinoma. **Cancer**, v. 52, p. 2156-2161, 1983.

SCHILLINGER, M.; KAMPMANN, M.; HENNINGER, K.; MURRAY, G.; HANSELMANN, I.; BAUER, G. Variability of humoral immune response to acute Epstein-Bar virus (EBV) infection: evaluation of the significance of serological markers. **Med Microbiol Letters**, v. 2, p. 296-303, 1993.

SCHUBERT, J.; TER MEULEN, V.; WEISSBRICH, B. Aviditätsbestimmung in der Epstein-Bar-virus-diagnostik – ein Vergleich von immun-fluoreszenztest und ELISA. **Laboratoriumsmedizin**, v. 20, p. 713-717, 1996.

SCULLEY, D. G.; SCULLEY, T. B.; POPE, J. H. Reactions of sera from patients with rheumatoid arthritis , systemic lupus erythematosus and infections mononucleosis to Epstein-Barr virus-induced polypeptides. **J Gen Virol**, v. 67, p. 2253-2258, 1986.

SEN, R. P.; WALSH, T. E.; FISCHER, W. et al. Pulmonary complications of combination therapy with cyclophosphamide and prednisone. **Chest**, v. 99, p. 143-146, 1991.

SERCARZ, E.; LEHMANN, P. V.; AMETANI, A.; BENICHOU, G.; MILLER, A.; MOUDGIL, K. Dominance and crypticity of T cell antigenic determinants. **Ann Rev Immunol**, v. 11, p. 729-766, 1993.

SERJEANT, G. R.; TOPLEY, J. M.; MANSON, K. et al. Outbreak of aplastic crises in sickle cell anemia associated with parvovirus-like agent. **Lancet**, v. 2, p. 595-597, 1981.

SHEDLOCK, D. J.; SHEN, H. Requirement for CD4 T cell help in generating functional CD8 T cell memory. **Science**, v. 300, n. 5617, p. 337-339, 2003.

SIEGEL, M.; HOLLEY, H. L.; LEE, S. L. Epidemiologic studies on systemic lupus erythematosus: comparative data for New York City and Jefferson County, Alabama, 1956-1965. **Arthritis Rheum**, v. 13, p. 802-811, 1970.

SÖDERBERG, C.; SUMITRAN-KARUPPAN, S.; LJUNGMAN, P.; MÖLLER, E. CD13 - specific autoimmunity in cytomegalovirus-infected immunocompromised patients. **Transplantation**, v. 61, p. 594-600, 1996.

SPRIGGS, M. K.; ARMITAGE, R. J.; COMEAU, M. R. et al. The extracellular domain of the Epstein-Barr virus BZLF2 protein binds the HLA-DR beta chain and inhibits antigen presentation. **J Virol**, v. 70, p. 5557-5563, 1996.

STEERE, A. C. Lyme disease. **N Engl J Med**, v. 321, p. 586-596, 1989.

STEERE, A. C.; DURAY, P. H.; BUTCHER, E. C. Spirochetal antigens and lymphoid cell surface markers in Lyme synovitis: comparison with rheumatoid synovium and tonsillar lymphoid tissue. **Arthritis Rheum**, v. 31, p. 487-495, 1988.

STRASEK, K.; MARIN, J. Epstein-Barr virus infections - avidity test for IgG antibodies. **ZDRAV VESTN**, v. 70, p. 321-323, 2001.

STRATTA, P.; CANAVESE, C.; CICCONE, G.; SANTI, S.; QUAGLIA, M.; GHISETTI, V.; MARCHIARO, G.; BARBUI, A.; FOP, F.; CAVALLO, R.; PICCOLI, G. Correlation between cytomegalovirus infection and Raynaud's phenomenon in lupus nephritis. **Nephron**, v. 82, p. 145-154, 1999.

STRAUSS, S. E.; COHEN, J. I.; TOSATO, G.; MEIER, L. Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management. **Ann Intern Med**, v. 118, p. 45-58, 1992.

STROM, B. L.; REIDENBERG, M. M.; WET, S. et al. Shingles, allergies, family medical history, oral contraceptives, and others potential risk factors for systemic lupus erythematosus. **Am J Epidemiol**, v. 140, p. 632-642, 1994.

SUMAYA, C. V. Endogenous reactivation of Epstein-Bar virus infections. **J Inf Dis**, v. 135, p. 374-379, 1977.

SVAHN, A.; MAGNUSSON, M.; JÄGDAHL, L.; SCHLOSS, L.; KAHLMETER, G.; LINDE, A. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays and two latex agglutination assays for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection. **J Clin Microbiol**, v. 35, n. 11, p. 2728-2732, 1997.

SWAAK, G. J. A.; TOSI, S.; MOSCA, M. et al. Systemic lupus erythematosus: clinical features in patients with a disease duration of over 10 years: first evaluation. **British Soc Rheumatol**, v. 38, p. 953-958, 1999.

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

THEOFILOPOULOS, A. N.; DIXON, F. J. Murine models of systemic lupus erythematosus. **Adv Immunol**, v. 37, p. 269-390, 1985.

THORLEY-LAWSON, D. A. Epstein-Barr virus: exploiting the immune-system. **Nat Rev Immunol**, v. 1, p. 75-82, 2001.

TIERNEY, R. J.; STEVEN, N.; YOUNG, L. S.; RICKINSON, A. B. Epstein-Barr virus latency in blood mononuclear cells: analysis of viral gene transcription during primary infection and in the carrier state. **J Virol**, v. 68, p. 7374-7385, 1994.

TOSATO, G. et al. Abnormally elevated frequency of Epstein-Barr virus-infects B cells in the blood of patients with rheumatoid arthritis. **J Clin Invest**, v. 73, p. 1789-1795, 1984.

TOSATO, G.; BLAESE, R. M. Epstein-Barr virus infection and immunoregulation in man. **Adv Immunol**, v. 37, p. 99-149, 1985.

TOZMAN, E. C.; UROWITZ, M. B.; GLADMAN, D. D. Prolonged complete remission in previously severe SLE. **Ann Rheum Dis**, v. 41, p. 39-40, 1982.

TSOKOS, G. C. Overview of cellular immune responses in systemic lupus erythematosus. In: LAHITA, R. G. (ed) **Systemic lupus erythematosus**. v. 2. New York, NY: Churchill Livingstone. 1992. p. 15-50.

TSOKOS, G. C.; MAGRATH, I. T.; BALOW, J. E. Epstein-Barr virus induces normal B cell responses but defective suppresser T cell responses in patients with systemic lupus erythematosus. **J Immunol**, v. 131, p. 1797-1801, 1983.

TURNER, P. C.; McLENNAN, A. G.; BATES, A. D.; WHITE, M. R. H. **Biologia molecular**. 2 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. sec F2, p. 80-82.

VAN PARIJS, L.; ABBAS, A. K. Role of Fas-mediated cell death in the regulation of immune responses. **Curr Opin Immunol**, v. 8, p. 355-361, 1996.

VAUGHAN, J. H. Viruses and autoimmune disease. **British J Rheumatol**, v. 23, p. 1821-1823, 1996.

VAUGHAN, J. H.; NGUYEN, D.; VALBRACHT, J. R.; PATRICK, K.; RHODES, G. H. Epstein-Barr virus-induced autoimmune responses. II Immunoglobulin G autoantibodies to mimicking and non mimicking epitopes. Presence in autoimmune disease. **J Clin Invest**, v. 95, p. 1316-1327, 1995.

VAUGHAN, J.H. The Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. **J. Clin Invest**, v. 100, n. 12, p. 2939-2940, 1997.

VENTO, S.; MCFARLANE, B. M.; MCSORLEY, C. G.; RANIERI, S.; GIULIANI-PICCARI, D.; DAL MONTE, P. R.; VERUCCHI, G.; WILLIAMS, R.; CHIODO, F.; MCFARLANE, I. G. Liver auto reactivity in acute virus A, B and non-A, non-B hepatitis. **J Clin Lab Immunol**, v. 25, p. 1-7, 1988.

VERDOLINI, R.; BUGATTI, L.; GIANGIACOMI, M.; NICOLINI, M.; FILOSA, G.; CERIO, R. Systemic lupus erythematosus induced by Epstein-Barr virus infection. **Br J Dermatol**, v. 146, n. 5, p. 877-881, 2002.

VETTER, V.; KREUTZER, L.; BAUER, G. Differentiation of primary from secondary anti-EBNA-1-negative cases by determination of avidity of VCA-IgG. **Clin Diagnostic Virol**, v. 2, p. 29-40, 1994.

VIA, C. S.; ALEEN, R. C.; WELTON, R. C. Direct stimulation of neutrophil-oxygenation activity by serum from patients with systemic lupus erythematosus: a relationship to disease activity. **J Rheumatol**, v. 11, p. 745-753, 1984.

VIGEANT, B.; MÉNARD, H. A.; BOIRE, G. Chronic modulation of the autoimmune response following parvovirus B19 infection. **J Rheumatol**, v. 21, p. 1165-1167, 1994.

WALLACE, D. J.; PODELL, T.; WEINER, J.; KLINENBERG, J. R.; FOROUZESH, S.; DUBOIS, E. L. Systemic lupus erythematosus-survival patterns: experience with 609 patients. **JAMA**, v. 245, p. 934-938, 1981.

WALPORT, M. J. Complement deficiency and disease. **Br J Rheumatol**, v. 32, p. 269-273, 1993.

WANDINGER, K. P.; JABS, W.; SIEKHAUS, A.; BUBEL, S.; TRILLENBERG, P.; WAGNER, H. J.; WESSEL, K.; KIRCHNER, H.; HENNING, H. Association between clinical disease activity and Epstein-Barr virus reactivation in MS. **Neurology**, v. 55, p. 178-184, 2000.

WANDS, J. R.; MANN, E.; ALPERT, E.; ISSELBACKER, K. J. The pathogenesis of arthritis associated with acute hepatitis-B surface antigen-positive hepatitis: complement activation and characterization of circulating immune. **J Clin Invest**, v. 55, p. 930-936, 1975.

WANG, F.; GREGORY, C.; SAMPLE, C. et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein (LMPI) and nuclear proteins 2 and 3C are effectors of phenotypic changes in B lymphocytes: EBNA-2 and LMPI cooperatively induce CD23. **J Virol**, v. 64, p. 2309-2318, 1990.

WANG, F.; LICBOWITZ, D.; KIEFF, E. An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. **Cell**, v. 43, p. 831-840, 1985.

WARD, M. M.; PYUN, E.; STUDENSKI, S. Long-term survival in systemic lupus erythematosus: patient characteristics associated with poorer outcomes. **Arthritis Rheum**, v. 38, p. 274-283, 1995.

WARD, M. M.; PYUN, E.; STUDENSKI, S. Survival and causes of death in systemic lupus erythematosus: eleven year follow-up of an inception cohort. **Arthritis Rheum**, v. 36, suppl 9, p. S68, 1993.

WARD, M. M.; STUDENSKI, S. Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus: identification of racial and socioeconomic influences. **Arch Intern Med**, v. 150, p. 849-853, 1990.

WEISSBRICH, B. The use of semi-automated EBV IgG avidity determination for the diagnosis of infectious mononucleosis. **J Med Virol**, v. 54, p. 145-153, 1998.

WILLIAMS, W.; SHAH, D.; SARGEANT, L. A. The clinical and epidemiologic features in 140 patients lupus nephritis in a predominantly black population one center in Kingston, **Jamaica. Am J Med Sci**, v. 327, n. 6, p. 324-329, 2004.

WILSON D. A.; MORGAN, A. J. Primary immune responses by cord blood CD4⁺ T cells and NK cells inhibit Epstein-Barr virus B-cell transformation in vitro. **J Virol**, v. 76, n. 10, p. 5071-5081, 2002.

WINCHESTER, R. J.; NUNES-ROLDAN, A. Some genetic aspects of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 25, p. 833-837, 1982.

WINFIELD, J. B.; MIMURA, T. Pathogenic significance of anti-lymphocyte autoantibodies in systemic lupus erythematosus. **Clin Immunol Immunopathol**, v. 63, p. 13-16, 1992.

WU, J.; ZHOU, T.; ZHANG, J. et al. Correction of accelerated autoimmune disease by early replacement of mutated *lpr* gene with the normal Fas apoptosis gene in the cells of transgenic MRL-*lpr/lpr* Mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 91, p. 2344-2348, 1994.

YAO, Q. Y.; RICKINSON, A. B.; EPSTEIN, M. A. A re-examination of the Epstein-Barr virus carrier state in health soropositive individuals. **Int J Cancer**, v. 35, p. 35-42, 1985.

YAP, E. Y.; AU EONG, K. G.; FONG, K.; HOWE, H. S.; BOEY, M. L.; FENG, P. H. Ophthalmic manifestations in Asian patients with systemic lupus erythematosus. **Singapore Med J**, v. 39, n. 12, p. 557-559, 1998.

YATES, J.; WARREN, N.; REISMAN, D.; SUGDEN, B. A cis-acting element from the Epstein-Barr viral genome that permits stable replication of recombinant plasmids in latently infected cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 81, p. 3806-3810, 1984.

YOSHIDA, K.; YUKIYAMA, Y.; MIYAMOTO, T. Quantification of the complement receptor function on polymorph nuclear leucocytes: its significance in patients with systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol**, v. 14, p. 490-496, 1987.

YU, C. L.; CHANG, K. L.; CHIU, C. C. et al. Defective phagocytosis, decreased tumour necrosis factor- γ production, and lymphocyte hyporesponsiveness predispose patients with systemic lupus erythematosus to infection. **Scand J Rheumatol**, v. 18, p. 97-105, 1989.

YUNG, R. L.; RICHARDSON, B. C. Drug-induced lupus. **Rheum Dis Clin North Am**, v. 20, p. 61-86, 1994.

ZHU, J. Cytomegalovirus infection induces expression of 60 KD/RO antigen on human cheratinocytes. **Lupus**, v. 4, p. 396-406, 1995.

ZUR HAUSEN, H.; SCHULTE-HOLTHAUSEN, H.; KLEIN, G. et al. EBV DNA in biopsies of Burkitt tumours and anaplastic carcinomas of the nasopharynx. **Nature**, v. 228, p. 1056-8, 1970.

ZIEGENFUSS, J. F.; BYRNE, E. B.; STOLOFF, J. L.; BURKA, E. R. Australian antigen in systemic lupus erythematosus. **Lancet**, v. 1, p. 800, 1972.



ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM ESTUDO CLÍNICO

Título: Associação da atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) com o vírus Epstein-barr (EBV)

Investigador Principal: Dr. Samuel Kosminsky

Orientadora: Profª Drª Rosangela Coelho

Co-Orientadora: Profª Drª. Ângela Duarte

Unidade: Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Pernambuco

Av. Prof. Moraes Rego, s/n50690-901 – Recife/PE

Por meio deste instrumento estou sendo informado, em detalhes, sobre o estudo acima e resolvi dele participar. Eu serei um dos pacientes participantes deste estudo nesta instituição. O objetivo deste estudo é determinar a associação da atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) com o vírus Epstein-Barr (EBV). Serei beneficiado porque a presença do vírus pode estar associada a exacerbação da minha doença, possibilitando os médicos um melhor entendimento sobre a mesma.

Entendo que minha participação é inteiramente voluntária e qualquer transtorno durante o procedimento de coleta do sangue, implicará em tratamento médico nesta instituição. Para isso, terei que comparecer no dia marcado para coleta do sangue, onde serão dosados os títulos de anticorpos para o vírus EBV. Os riscos serão os inerentes a coleta de sangue, tais como dor ou hematoma no local da punção e mais raramente tromboflebite (inflamação na veia)

Como benefício do referido trabalho, serei informado ser ou não portador do vírus Epstein-Barr e no caso de ter que usar corticóide ou imunossupressor em doses altas para controle da atividade do Lúpus Eritematoso Sistêmico, poderei usar de forma profilática drogas anti-vírais que previnam exacerbação do vírus que influencia de forma desfavorável a evolução da doença.

Eu serei informado de qualquer alteração no estudo ou qualquer nova observação pertinente ao mesmo. Estou ciente que os médicos que estão conduzindo este estudo são capacitados e bem treinados, de forma a me oferecer os maiores benefícios possíveis. Todos os dados da minha participação neste estudo serão documentados e mantidos confidencialmente, sendo disponíveis apenas para as autoridades de saúde e minha pessoa.

Como minha participação é voluntária, posso abandonar o estudo a qualquer momento, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou perda de meus direitos nesta instituição. Não receberei compensação financeira por eventuais injúrias que possam me ocorrer, mas não me privo de meus direitos legais agindo desta forma. Se eu tiver qualquer dúvida ou perguntas relativas a este estudo ou aos meus direitos, no que diz respeito à minha participação, ou ainda se quiser relatar eventos adversos, posso contatar o Dr. Samuel Kosminsky através do telefone 3454.0155.

Eu concordo em seguir as instruções das pessoas que estão conduzindo e monitorizando este estudo, de forma a obter o máximo de benefícios da atenção médica oferecida por esta pesquisa.

Data: ____/____/2002

Nome do paciente: _____

Assinatura _____

Endereço _____

Nome da testemunha: _____ Assinatura: _____

Endereço: _____

Nome da testemunha: _____ Assinatura: _____

Endereço: _____

Investigador: Samuel Kosminsky Assinatura: _____

Endereço: Hospital das Clínicas – Departamento de Medicina Interna – Disciplina de Reumatologia

ANEXO 2 – QUESTIONÁRIO DE ANAMNESE E COLETA DE INFORMAÇÕES REFERENTES AOS CRITÉRIOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE DIAGNÓSTICO E DE CLASSIFICAÇÃO DO ÍNDICE DE ATIVIDADE SLEDAI DO LÚPUS

Caso Nº _____ Registro Nº _____ Data ____/____/____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Nome _____

Endereço _____

Idade _____ Data de nascimento: ____/____/____ Sexo masculino ☐ feminino ☐

Raça: branca ☐ não branca ☐ Estado civil: casado ☐ não casado ☐

Procedência: Recife ☐ Região metropolitana ☐ Interior ☐ Outros Estados ☐

Escolaridade: até 1º grau ☐ maior que 1º grau ☐

Renda Familiar: < 1 salário mínimo ☐ ? 1 salário mínimo ☐

DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL DE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DO LES (ACR, 1997)	sim	não
1. Rash malar	☐	☐
2. Lesão cutânea crônica (discóide)	☐	☐
3. Fotossensibilidade	☐	☐
4. Úlceras orais/nasofaríngeas	☐	☐
5. Artrite não erosiva	☐	☐
6. Pleurite/pericardite	☐	☐
7. Acometimento renal – proteinúria >0,5g ou cilindros celulares	☐	☐
8. Convulsão/psicose	☐	☐
9. Alterações hematológicas – anemia hemolítica com reticulocitose e/ou leucopenia <4.000 e/ou linfopenia < 1.500 e/ou plaquetopenia < 100. 000 em 2 ou mais ocasiões	☐	☐
10. Alterações imunológicas – anti-DNA e/ou anti-Sm e/ou anticorpo antifosfolípídios (anticardiolipina, anticoagulante lúpico ou falsa sorologia VDRL)	☐	☐
11. AAN positivo, na ausência de uso de drogas indutoras	☐	☐
Escore total		

Índice de Atividade – SLEDAI (Bombardier et al, 1992)

Manifestação	Definição	Pontos
Convulsão	Início recorrente. Excluir causas metabólicas, infecciosas, drogas.	8 ☞
Psicose	Alteração d atividade normal por distúrbio severo na percepção da realidade: alucinação, incoerência, perda da capacidade associativa, da organização do pensamento, pensamento ilógico, bizarro, desorganizado, catatonia. Excluir causas metabólicas e drogas.	8 ☞
Síndrome orgânico cerebral	Alteração na função mental com dificuldade de orientação, memória ou outras funções intelectuais, com início rápido e características flutuantes. Inclui alteração da consciência com redução da capacidade de manter atenção ao ambiente, e mais duas das seguintes alterações: distúrbio da percepção, fala incoerente, insônia ou sonolência durante o dia, ou aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou drogas.	8 ☞
Distúrbios visuais	Alteração da retina. Incluindo corpos citóides, hemorragia retiniana, exsudato seroso ou hemorrágico no plexo coróide, ou neurite ótica. Excluir infecção, hipertensão e drogas.	8 ☞
Comprometimento de pares cranianos	Neuropatia sensorial ou motora envolvendo pares cranianos, de início ou reinício recente	8 ☞
Cefaléia lupica	Cefaléia severa e persistente, tipo enxaqueca, mas não responsiva aos analgésicos	8 ☞
AVC	AVC recente. Excluir aterosclerose	8 ☞
Vasculire	Úlceras, gangrenas, infartos periungueais, nódulos digitais dolorosos, áreas hemorrágicas ou biópsia ou angiograma demonstrando vasculites	8 ☞
Artrites	Artrite em mais de duas articulações	4 ☞
Miosite	Dor ou fraqueza muscular proximal com aumento de creatinafosfoquinase/aldolase ou eletromiografia alterada ou biópsia com miosite	4 ☞
Cilindrúria	Cilindros hemáticos ou granulados.	4 ☞
Hematuria	>5 hemácias por campo. Excluir litíase, infecção, ou outra causa.	4 ☞
Proteinúria	>0,5g/24 horas. Aumento recente ou inicial.	4 ☞
Piúria	>5 leucócitos por campo. Excluir infecção.	4 ☞
Rash recente	Início ou recorrência do rash.	2 ☞
Alopécia	Início ou recorrência de alopecia localizada ou generalizada.	2 ☞
Úlcera de mucosa	Início ou recorrência de úlcera nasal ou oral.	2 ☞
Pleurite	Dor pleurítica com atrito ou efusão, ou espessamento pleural.	2 ☞
Pericardite	Dor pericárdica com pelo menos atrito e/ou efusão e/ou confirmação por eletrocardiograma ou ecocardiograma	2 ☞
Complemento baixo	Diminuição de CH ₅₀ , C3 ou C4	2 ☞
Anti DNA	>25% por método de Farr, ou acima do normal para testes laboratoriais	2 ☞
Febre	> 38°C. Excluir infecção.	1 ☞
Trombocitopenia	<100.000 plaquetas/mm ³ .	1 ☞
Leucopenia	<3.000 leucócitos/mm ³ . Excluir drogas como causa.	1 ☞
Escore do SLEDAI		

A escala deste índice varia de 0 a 105

LES	
ativo	☞
inativo	☞

ELISA – EBV	
positivo	
negativo	
indeterminado	

Índice de atividade	
recente	
passado	
indeterminado	

ANEXO 3 – APROVAÇÃO DO PROJETO PELA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa

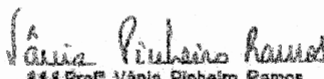
Of. 106/2002-CEP/CCS

Recife, 08 de maio de 2002.

Senhor (a) Pesquisador(a),

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humano do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco CEP/CCS/UFPE analisou o Protocolo de pesquisa nº 055/2002-CEP/CCS, intitulado "ASSOCIAÇÃO DA ATIVIDADE DO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO COM VÍRUS EPSTEIN BARR", aprovando-o de acordo com a Resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde, em 03 de maio de 2002, liberando para início da coleta de dados.

Atenciosamente,


Profª Vânia Pinheiro Ramos
Vice-coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa CCS/UFPE

Ao
Prof. Samuel Kosminsky
Departamento de Medicina Clínica - CCS/UFPE



APÊNDICES

APÊNDICE 1 - CRITÉRIOS DA ACR, PARA CLASSIFICAÇÃO DO LES, REVISADOS EM 1997

1. Eritema malar
2. Lesão cutânea crônica (discóide)
3. Fotossensibilidade
4. Úlceras orais ou nasofaríngea
5. Artrite não erosiva
6. Pleurite ou Pericardite
7. Acometimento renal: proteinúria persistente (0,5g/dia) ou cilindros celulares
8. Convulsão ou Psicose
9. Alterações hematológicas: anemia hemolítica com reticulocitose ou leucopenia $< 4.000/\text{mm}^3$ ou linfopenia $< 1.500/\text{mm}^3$ ou trombocitopenia $< 100.000^3$ em duas ou mais ocasiões
10. Alterações imunológicas: anti DNAn ou anti Sm ou anticorpo anti fosfolipídios (teste positivo para anticorpo anticoagulante lúpico ou níveis séricos elevados de anticorpos anticardiolipina IgG ou IgM ou reação falso positivo para *Treponema pallidum*)
11. Presença de anticorpos antinucleares: um título elevado de ANA pela IFI ou teste equivalente em qualquer época de investigação na ausência de uso de drogas capazes de induzi-los

APÊNDICE 2 – CLASSIFICAÇÃO DO FOTOTIPO SEGUNDO ESCALA DE PIGMENTAÇÃO DE FITZPATRICK

FOTOTIPOS	CARACTERÍSTICAS	REAÇÕES AO SOL
0	Albino	Queimadura
I	Cabelo ruivo, pele branca com sardas	Queima facilmente, nunca bronzeia
II	Pele branca, cabelo loiro ou castanho claro, olhos claros ou não	Difícilmente bronzeia, usualmente queima
III	Pele branca, cabelo castanho ou preto, olhos castanhos escuros ou pretos	Queimadura moderada, Bronzeamento médio
IV	Pele cor jambo, cabelo preto, olhos castanhos escuros ou pretos	Raramente queima, Bronzeia com facilidade
V	Mulato	Queima raramente, Bronzeia facilmente
VI	Negro	Não queima, Bronzeia muito

FONTE: Fitzpatrick, 1988 .

APÊNDICE 3 – ÍNDICE DE ATIVIDADE – SLEDAI

Pontuação	Manifestação	Definição
8	Convulsão	Início recorrente. Exclusão causas metabólicas, infecciosas, drogas.
8	Psicose	Alteração da atividade normal por distúrbio severo na percepção da realidade: alucinação, incoerência, perda da capacidade associativa, da organização do pensamento, pensamento ilógico, bizarro, desorganizado, catatonia. Excluir causas metabólicas e drogas.
8	Síndrome orgânico cerebral	Alteração na função mental com dificuldade de orientação, memória ou outras funções intelectuais, com início rápido e características flutuantes. Inclui alteração da consciência com redução da capacidade de manter atenção ao ambiente, e mais duas das seguintes alterações: distúrbio da percepção, fala incoerente, insônia ou sonolência durante o dia, ou aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou drogas.
8	Distúrbios visuais	Alteração da retina. Incluindo corpos citóides, hemorragia retiniana, exsudato seroso ou hemorrágico no plexo coróide, ou neurite ótica. Excluir infecção, hipertensão e drogas.
8	Comprometimento pares cranianos	Neuropatia sensorial ou motora envolvendo pares cranianos, de início ou reinício recente
8	Cefaléia lúpica	Cefaléia severa e persistente, tipo enxaqueca, mas não responsiva aos analgésicos
8	AVC	AVC recente. Excluir aterosclerose
8	Vasculite	Úlceras, gangrenas, infartos periungueais, nódulos digitais dolorosos, áreas hemorrágicas ou biópsia ou angiograma demonstrando vasculites
4	Artrites	Artrite em mais de duas articulações
4	Miosite	Dor ou fraqueza muscular proximal com aumento de creatinafosquinase/aldolase ou eletromiografia alterada ou biópsia com miosite
4	Cilindrúria	Cilindros hemáticos ou granulados.
4	Hematuria	>5 hemácias por campo. Excluir litíase, infecção, ou outra causa.
4	Proteinúria	>0,5g/24 horas. Aumento recente ou inicial.
4	Piúria	>5 leucócitos por campo. Excluir infecção.
2	Rash recente	Início ou recorrência do rash.
2	Alopécia	Início ou recorrência de alopecia localizada ou generalizada.
2	Úlcera de mucosa	Início ou recorrência de úlcera nasal ou oral.
2	Pleurite	Dor pleurítica com atrito ou efusão, ou espessamento pleural.
2	Pericardite	Dor pericárdica com pelo menos atrito ou efusão ou confirmação por eletrocardiograma ou ecocardiograma
2	Complemento baixo	Diminuição de CH ₅₀ , C3 ou C4
2	Anti DNA	>25% por método de Farr, ou acima do normal para testes laboratoriais
1	Febre	> 38°C. Excluir infecção.
1	Trombocitopenia	<100.000 plaquetas/mm ³ .
1	Leucopenia	<3.000 leucócitos/mm ³ . Excluir drogas como causa.

A escala deste índice varia de 0 a 105.