



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO

Mateus da Costa Machado Rios

AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL NA NEFRITE
LÚPICA

RECIFE–PE 2015

Mateus da Costa Machado Rios



AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL NA NEFRITE LÚPICA

Dissertação apresentada à
banca examinadora do Programa da
Pós Graduação do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Pernambuco como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

**Recife – PE
2015**

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Susyleide Brito, CRB4-1141

R586a Rios, Mateus da Costa Machado.
Avaliação da imunidade humoral na nefrite lúpica / Mateus da Costa Machado Rios. – 2015.
79 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Recife, 2015.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Lúpus eritematoso. 2. Nefrite lúpica. 3. Imunodeficiência. 4. Hipogamaglobulinemia. 5. Micofenolato de mofetil. I. Sarinho, Emanuel Sávio Cavalcanti (Orientador). II. Título.

610 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2017-342)

Mateus da Costa Machado Rios

AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL NA NEFRITE LÚPICA

Dissertação apresentada à
banca examinadora do Programa de
Pós Graduação do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Pernambuco como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciências da Saúde

Aprovado em 08/09/2015

BANCA EXAMINADORA

Prof Dr José Angelo Rizzo (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof Dra Silvia Maria Lucena Montenegro (Examinador Externo)
Aggeu Magalhães

Prof Dra Lucila Maria Valente (Examinador Interno)
Universidade de Federal de Pernambuco

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR**

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DIRETOR**

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETOR SUPERINTENDENTE**

Prof. Frederico Jorge Ribeiro

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE**

COORDENADOR

Prof. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

VICE-COORDENADOR

Prof. Brivaldo Markamn Filho

CORPO DOCENTE

Prof^ª. Ana Lúcia Coutinho Domingues

Prof^ª. Ângela Luiza Pinto Duarte

Prof^º. Ary Gomes Filho

Prof^º Brivaldo Markman Filho

Prof^º. Bruno Severo Gomes

Prof^ª. Cláudia Diniz Lopes Neto

Prof.^o. Décio Medeiros Peixoto

Prof.^o. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Prof.^o Edgar Guimarães Victor

Prof.^o Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Prof.^o. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Prof.^a. Emília Chagas Costa

Prof.^a Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Prof.^o. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Prof.^o José Ângelo Rizzo

Prof.^a. Lucila Maria Valente

Prof.^o Lucio Villar Rabelo Filho

Prof.^o. Marcelo Renato Guerino

Prof.^o. Marcelo Tavares Viana

Prof.^o. Paulo Sérgio Ramos Araújo

Prof.^a Patrícia Érika de Melo Marinho

Prof.^a. Romualda Castro do Rêgo Barros

Prof.^o. Sandro Gonçalves de Lima

Prof.^o. Simone Cristina Soares Brandão

Dedico esta dissertação a minha família.

Aos meus pais Nilva e Francisco (in memoriam) que me deram o alicerce e instrumento para a minha formação como pessoa e como profissional.

A minha mãe e irmãos (Lucas e Felipe) que sempre me deram exemplos de união e me ajudaram a enfrentar os desafios.

Aos meus avós, tios e primos pelo carinho e incentivo a meu crescimento como pessoa e profissional.

A minha esposa (Renata) pelo amor, compreensão, incentivo e apoio.

Aos meus filhos (Francisco e Helena) que diariamente me dão novos sentidos de enxergar a vida e me incentiva a buscar o aprimoramento como pessoa e como profissional.

AGRADECIMENTO

Ao finalizar esta dissertação não poderia deixar de agradecer às pessoas que ajudaram na elaboração e concretização da pesquisa, permitindo que a inquietação inicial fosse metodologicamente formulada e trabalhada para gerar respostas cientificamente aceitas.

Agradecimento a todo corpo docente da Pós graduação em Ciências da Saúde pela orientação durante as aulas, seminários e conversas informais, gerando conhecimento e ao mesmo tempo, servindo de exemplo como professores e pesquisadores.

Agradecimento especial ao Prof. Dr Emanuel Sarinho pela generosidade e disponibilidade na orientação, sem a qual, não conseguiria concretizar a dissertação, além da imensa contribuição que tem me dado na minha formação como pessoa e profissional.

Agradecimento à Clínica de Nefrologia do Hospital das Clínicas da UFPE, especialmente a Dra Lucila Valente pelo acolhimento e apoio para que o projeto pudesse ser realizado.

Agradecimento ao corpo de enfermagem e do ambulatório de pacientes portadores de glomerulopatias da Clínica de Nefrologia do Hospital das Clínicas da UFPE.

Agradecimento à prof Almerinda do Rego e Prof Clezio Leitão pela amizade e apoio nas discussões que contribuíram para execução da tese.

Agradecimento ao aluno de medicina Mateus que contribuiu na coleta dos dados da tese e pesquisa de artigos;

Agradecimento à Prof Dra Nadja Assano pela contribuição na seleção de pacientes que participaram do projeto.

Agradecimento ao colega Roberto Amorim e minha esposa Renata pela dedicação na realização da revisão do projeto.

Agradecimento ao Prof Marcelo Tavares pela contribuição no trabalho

Agradecimento especial a todos os pacientes que se submeteram ao exame e permitiram que os dados fossem utilizados, sem os quais, não haveria pesquisa.

Agradecimento à Dra Silvia Montenegro, Prof Dr Brivaldo Markman, Prof Dr José Ângelo, Dra Lucila Valente, Prof Dr Emanuel Sarinho e Prof Dra Silvia Sarinho pela disponibilidade na defesa desta tese

Agradecimento especial ao amigo e mestre Paulo Meireles que me incentivou na escolha da especialidade e na procura de sempre me aperfeiçoar.

RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune que acomete vários órgãos ou sistemas e pode estar presente imunodeficiência, tanto de forma primária como secundária. Esta dissertação consiste de um capítulo de revisão e de dois artigos originais. No capítulo de revisão enfatizamos uma possível relação do LES com a presença de imunodeficiência. A imunodeficiência secundária no LES está relacionada ao uso dos imunossuppressores, a atividade de doença e ao comprometimento renal. A imunodeficiência primária está associada ao LES, sendo descrito a imunodeficiência comum variável, deficiência seletiva de IgA e deficiência seletiva de IgM. Algumas infecções são tidas como desencadeadoras no desenvolvimento do LES, como o vírus Epstein Barr (EBV) e o citomegalovírus (CMV). Nos artigos originais enfatizamos a avaliação de imunodeficiência e resposta viral no LES. O primeiro artigo original tem o objetivo de avaliar as alterações da imunidade humoral em pacientes com nefrite lúpica em atividade, buscando identificar possíveis imunodeficiências primárias, bem como verificar a influência dos fatores como proteinúria, atividade de doença, e imunossupressor nas respostas da imunidade humoral. O segundo artigo tem o objetivo de avaliar a prevalência da positividade da sorologia para o vírus Epstein Barr e citomegalovírus, assim como a prevalência de imunodeficiência humoral nos pacientes com nefrite lúpica. Os principais achados dos artigos foram que a média dos níveis de imunoglobulina G no grupo com proteinúria foi de 1060,6 mg/100mL e no grupo sem proteinúria foi de 1468,7 mg/100mL e a diferença mostrou-se significativa ($p < 0,05$). Cinco dos pacientes estudados apresentaram deficiência da imunidade humoral, e foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), quando avaliado pela proteinúria e pelo índice de atividade de doença (SLEDAI). O micofenolato de mofetil teve forte correlação negativa ($r = -0,648$) com a IgG. A prevalência da positividade da sorologia para CMV e EBV foi de 92% (49/53) e 88% (47/53), respectivamente nos pacientes lúpicos e assemelharam a população geral ($p > 0,05$). A imunodeficiência humoral foi mais prevalente nos lúpicos 9,43% (5/53), quando comparado à população geral. Foi concluído que a proteinúria reduz os níveis de IgG, porém não a ponto desenvolver hipogamaglobulinemia. Imunodeficiência humoral está presente nos pacientes portadores de nefrite lúpica e esteve associado com evolução mais grave da doença, com presença de proteinúria e presença de atividade de doença. O micofenolato de mofetil foi a variável que se correlacionou com a redução de IgG, porém não sendo capaz de promover níveis compatíveis com imunodeficiência. A sorologia para CMV e EBV não demonstrou relevância clínica no acompanhamento de pacientes portadores de LES, pois a positividade sorológica não os diferencia da população geral.

Palavras chave: Lúpus eritematoso sistêmico. Nefrite lúpica. Imunodeficiência. Hipogamaglobulinemia. Micofenolato de mofetil.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic inflammatory disease that affects various organs or systems and may present during the course of the disease with the presence of immunodeficiency, both primary way secondary. This dissertation consists of a chapter review and two original articles. In the review chapter we emphasize a possible relation of SLE in the presence of immunodeficiency. The secondary immunodeficiency in SLE is related to the use of immunosuppressive drugs, the activity of disease and renal impairment. Primary immunodeficiency is associated with SLE, described the common variable immunodeficiency, selective IgA deficiency, selective IgM deficiency. Infections are regarded as triggering the development of SLE, such as Epstein Barr virus (EBV) and cytomegalovirus (CMV). In original articles we emphasize the evaluation of immunodeficiency and viral response in SLE. The first original article aims to evaluate the changes of humoral immunity in patients with lupus nephritis activity, identifying possible primary immunodeficiencies, and to verify the influence of factors such as proteinuria, disease activity, and immunosuppressive responses in humoral immunity. The second article aims to assess the prevalence of positive serology for Epstein Barr virus and cytomegalovirus, as well as the prevalence of humoral immunodeficiency in patients with lupus nephritis. The main findings of the articles were the average of the immunoglobulin G levels in the group with proteinuria was 1060.6 and in the group without proteinuria was 1468.7 and the difference was significant ($p < 0.05$). Five of the patients showed impairment of humoral immunity, and was statistically significant ($p < 0.05$) when assessed by proteinuria and the disease activity index (SLEDAI). Mycophenolate mofetil had strong negative correlation ($r: - 0.648$) with IgG. The prevalence of positive serology for CMV and EBV was 92% (49 \ 53) and 88% (47 \ 53) respectively in lupus patients and resembled the general population ($p > 0.05$). The humoral immune deficiency was more prevalent in lupus 9.43% (5 \ 53), when compared to the general population. It was concluded that reduces proteinuria levels of IgG, but not to the point developing hipogamaglobulinemia. Humoral immunodeficiency is present in patients with lupus nephritis and was associated with more severe course of the disease, with the presence of proteinuria and the presence of disease activity. Mycophenolate mofetil was the variable that correlated with the reduction of IgG, but not being able to promote levels consistent with immune deficiency. The EBV and CMV serology did not show clinical relevance in the treatment of patients with SLE, since the seropositivity does not differentiate between the general population.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. Lupus nephritis. Immunodeficiency. Hypogammaglobulinemia. Mycophenolate mofetil.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1: Caracterização dos pacientes no grupo com proteinúria (P+) e sem proteinúria (P-) _____ 48

Tabela 2: Alterações da imunidade Humoral _____ 48

Tabela 3: Caracterização do paciente com alteração da imunidade humoral, idade, proteinúria, Dose de micofenolato de mofetil, classe histológica, níveis de imunoglobulina, resposta vacinal a rubéola e provável diagnóstico clínico. _____ 49

Tabela 4: Coeficientes do modelo de regressão linear múltiplo tendo como variáveis independentes SLEDAI, MMF e proteinúria e o Igg como dependente. _____ 53

ARTIGO 2

Tabela 1: Caracterização conforme idade, IgG, IgA e IgM..... 65

Tabela 2: Prevalência da sorologia para citomegalovírus em portadores de nefrite lúpica 65

Tabela 3: Prevalência da sorologia para o vírus Epstein Barr em portadores de nefrite lúpica 65

Tabela 4: Prevalência de imunodeficiência humoral em portadores de nefrite lúpica 65

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura 1: Correlação dos níveis de IgG, IgA, IgM e resposta sorológica a rubéola com a proteinúria_ 50

Figura 2: Correlação dos níveis de IgG, IgA, IgM e resposta sorológica a rubéola com o SLEDAI ____ 51

Figura 3: Correlação dos níveis de IgG, IgA, IgM e resposta sorológica a rubéola com o MMF _____ 52



LISTA ABREVIATURAS

LES	- Lupus eritematoso sistêmico
IDCV	- Imunodeficiência Comum Variável
IgA	- Imunoglobulina A
IgM	- Imunoglobulina M
IgG	- Imunoglobulina G
IgD	- Imunoglobulina D
IgE	- Imunoglobulina E
EBV	- Epstein Barr vírus
CMV	- Citomegalovirus
SLEDAI	- Systemic Lupus Erythematosus Diseases Activity Index
MMF	- Micofenolato de Mofetil
P +	- Proteinúria positiva
P -	- Proteinúria negativa



SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	INTRODUÇÃO.....	17
2.2	PERGUNTA CONDUTORA.....	21
2.3	JUSTIFICATIVA.....	21
2.4	OBJETIVOS.....	21
2.4.1	Objetivo Principal	21
2.4.2	Objetivos específicos.....	21
2.5	HIPÓTESE.....	22
3	MÉTODOS.....	23
3.1	DESENHO E TIPO DE ESTUDO	23
3.2	POPULAÇÃO DE ESTUDO	23
3.3	AMOSTRAGEM	23
3.3.1	Critérios de Inclusão	24
3.3.2	Critérios de Exclusão.....	25
3.3.3	Definição do tamanho amostral	26
3.4	DEFINIÇÃO DE VARIÁVEIS.....	26
3.4.1	Variáveis Descritivas	26
3.4.2	Variáveis dependente.....	27
3.4.3	Variáveis independente	28
3.5	OPERACIONALIZAÇÃO E COLETA DOS DADOS	28
3.6	COLETA E MÉTODO DE ANÁLISE APLICADO DO SANGUE PERIFÉRICO	29
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	29
3.8	ASPECTOS ÉTICOS	30
4	ARTIGOS ORIGINAIS	32
4.1	ARTIGO ORIGINAL 1	32



4.2	ARTIGO ORIGINAL 2.....	54
	CONCLUSÃO-.....	66
	REFERÊNCIA DA DISSERTAÇÃO.....	67
	APENDICES	71
	APENDICE 1 QUESTIONÁRIO	71
	ANEXOS.....	74
	ANEXO 1 SLEDAI SCORE.....	74
	ANEXO 2 NÍVEIS SÉRICOS DAS IGGG	75
	ANEXO 3 SINAIS DE ALERTA	75
	ANEXO 4 TABELA DE CLASSIFICAÇÃO DE CORRELAÇÕES	76
	ANEXO 5 TERMO DE CONSENTIMENTO	77
	ANEXO 6 COMITE ÉTICA.....	79

CAPÍTULO 1

1 APRESENTAÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica que acomete vários órgãos ou sistemas, e a prevalência em estudo americano, realizado entre 2003 a 2008, foi de 7,2/100 mil habitantes e em estudo brasileiro a prevalência foi de 8,7/100 mil habitantes (SALGADO;2012)(FURST;2012)(VILLAR;2002). A doença renal é manifestação clínica frequente, diagnosticada em 74% dos pacientes e com classificação estabelecida conforme critérios histológicos, de acordo com a Sociedade Internacional de Nefrologia. No LES, pode estar presente a imunodeficiência, tanto de forma primária como secundária (KARIM;2006).

A hipogamaglobulinemia secundária encontra-se presente nos pacientes portadores de LES, sobretudo relacionado a presença de proteinúria, atividade de doença e o uso de imunossuppressores, como a azatioprina, ciclofosfamida e o micofenolato de mofetil (YONG;2008) (PARK,2011) (SONG, 2003)(FEDOR,2006) (DANZA, 2013)(DESAR, 2007)(SONG,2003) (YAP, 2014). A imunodeficiência primária humoral está presente nos pacientes lúpicos, sendo descrito imunodeficiência comum variável, deficiência seletiva de IgA, deficiência seletiva de IgM e deficiência específica de anticorpos. Esses fatores contribuem para o aumento dos riscos de infecções (FERNANDEZ-CASTRO, 2007) (YONG, 2008). (LIM, 2013).

Esta dissertação de mestrado consta de uma revisão e dois artigos originais. A revisão aborda sobre alterações da imunidade humoral em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, descrevendo a apresentação de deficiência primária e secundária. Descreve também a influência da proteinúria, imunossuppressores e o índice de atividade de doença na imunidade humoral e no risco de infecção.

O primeiro artigo intitulado: Avaliação da imunidade humoral na nefrite lúpica, será submetido como artigo original na revista lupus. Este artigo tem como objetivo avaliar as alterações da imunidade humoral em pacientes com nefrite lúpica em atividade, identificando possíveis imunodeficiências primárias, bem como verificar a influência dos fatores como proteinúria, atividade de doença, e imunossupressor nas respostas da imunidade humoral.

O segundo artigo intitulado: Avaliação do vírus Epstein Barr, citomegalovírus e deficiência humoral em pacientes com LES: O que é necessário?, foi submetido a revista da associação brasileira médica. Este artigo tem como objetivo avaliar a prevalência da

positividade da sorologia para o vírus Epstein Barr e citomegalovirus, assim como a prevalência de imunodeficiência humoral nos pacientes com nefrite lúpica.

CAPÍTULO 2

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INTRODUÇÃO

Lúpus eritematoso sistêmico

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune que acomete vários órgãos ou sistemas. Uma das primeiras descrições clínicas que se fez do lúpus foi no século X, com lesões cutâneas (SMITH E CYR, 1988). Outras lesões cutâneas com referência ao lúpus foram descritas durante séculos, porém foi somente em 1895 que Osler descreveu o lúpus eritematoso com características sistêmicas, cuja clínica apresentava-se com nefrite (Osler, 1895). Atualmente a prevalência do LES em estudo americano, realizado entre 2003 e 2008, foi de 7,2/100 mil habitantes e em estudo brasileiro, a prevalência foi de 8,7/100 mil habitantes (SALGADO E DIAZ, 2012) (FURST ET AL, 2012)(VILLAR E SATO, 2002). No LES, frequentemente, há ativação imune policlonal com níveis de IgG elevados ou normais, além de anticorpos específicos direcionados a antígenos próprios (antígenos nucleares), incluindo anti-DNA e anti-Sm (YONG ET AL, 2008). A doença renal é manifestação clínica frequente, diagnosticada em 74% dos pacientes e com classificação estabelecida conforme critérios histológicos, de acordo com a Sociedade Internacional de Nefrologia. (WEENING ET AL, 2004). A nefrite lúpica é classificada em seis classes: alterações mensangiais mínimas (classe I), alterações proliferativas mesangiais (classe II), proliferativa focal (classe III), proliferativa difusa (classe IV), membranosa (classe V) e esclerose avançada (classe VI), sendo característica da manifestação renal a presença de proteinúria, podendo ou não evoluir para perda da função renal, dependendo da classe apresentada (EKNOYAN ET AL, 2012)(GOLGFARB ET AL, 2012).

Imunodeficiência e imunoglobulinas

As imunodeficiências são alterações em segmentos do sistema imunológico, cujas principais apresentações são infecções repetidas, porém podem se apresentar de outras formas, como o surgimento de processos autoimunes (YONG ET AL, 2008). A primeira descrição de imunodeficiência primária foi feito por Bruton em 1952, sendo descrito agamaglobulinemia, uma deficiência da imunidade humoral, que se caracteriza por ausência de imunoglobulinas (BRUTON, 1952).

As imunoglobulinas são anticorpos responsáveis pela resposta efetora da imunidade humoral, e sua estrutura consta de duas cadeias pesadas e leves. As moléculas de anticorpos

podem ser divididas em classes e subclasses distintas com base nas diferenças nas estruturas das cadeias pesadas e leves. Conforme as cadeias pesadas as imunoglobulinas são denominadas de IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, sendo as IgA e IgG subdivididas em IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄ e de acordo com as cadeias leves são divididas em κ e λ (MERINO, 2011).

A imunodeficiência humoral está relacionada a defeitos no desenvolvimento ou funções das células B, ocasionando distúrbios na resposta mediada pelos anticorpos (imunoglobulinas), de forma primária ou secundária (CUNNINGHAM-RUNDLES, 2012). Pode se apresentar: 1-com ausência total das imunoglobulinas, como na agamaglobulinemia; 2-Com ausência específica das imunoglobulinas, como na deficiência seletiva de IgA, seletiva de IgM e específica de anticorpos; 3- Com redução quantitativa e/ou funcional primária dos anticorpos, como na imunodeficiência comum variável (IDCV); 4-Com redução quantitativa e funcional secundária de anticorpos, como no uso de imunossuppressores, perdas protéicas e desnutrição (CHINEN E SHEARER, 2011) (KARIM, 2006).

A primeira descrição da presença de imunodeficiência primária com apresentação autoimune foi feita em 1962, no relato de um caso de hipogamaglobulinemia de provável natureza primária, associada com anemia hemolítica de provável natureza autoimune (THOMPSON e JOHNSON, 1962). No LES pode estar presente imunodeficiência, tanto de forma primária como secundária. dentre as primárias são descritas as deficiências de complemento e humoral (KARIM, 2006) (CARNEIRO-SAMPAIO, 2008).

LES e Imunodeficiência secundária

Nefrite lúpica

A hipogamaglobulinemia secundária encontra-se presente nos pacientes portadores de LES, sobretudo relacionada ao uso de imunossuppressores e a presença de comprometimento renal, principalmente com apresentação de síndrome nefrótica, sendo esta um fator de risco para infecções (YONG ET AL, 2008) (PARK E SHIN, 2011) (SONG ET AL, 2003)(FEDOR E RUBINSTEIN, 2006) (DANZA E IRASTORZA, 2013). A nefrite lúpica, sobretudo com proteinúria, pode se apresentar com hipogamaglobulinemia, devido a perda seletiva de IgG, a nível glomerular, e com valores de IgA e IgM normais, em virtude do tamanho dessas moléculas não permitir a perda através dos glomérulos (YONG ET AL, 2008) (AGARWAL E CUNNINGHAM-RUNDLES, 2007).

Imunossupressores e atividade de doença

Os imunossupressores, por provável ação em linfócitos B, interferem na produção de imunoglobulinas, ocasionando então hipogamaglobulinemia quando utilizados, isto é descrito com o uso da azatioprina e com o uso da ciclofosfamida (DESAR ET AL, 2007) (SONG ET AL, 2003). Em um trabalho com 46 pacientes portadores de nefrite lúpica constatou-se que o corticóide e o micofenolato de mofetil influenciam os níveis de IgG (YAP ET AL, 2014). Os imunossupressores e a atividade de doença, avaliado pelo índice de atividade de doença (SLEDAI), são fatores importantes de risco para infecções e o SLEDAI foi uma variável significativa e independente quando avaliou infecção, comparando 2 grupos lúpicos (com atividade e sem atividade) (DANZA E IRASTORZA, 2013) (ZONANA-NACACH ET AL, 2001) (OGLESBY ET AL, 2013).

LES e imunodeficiência primária

A relação entre LES e imunodeficiência primária pode estar associada a alterações genéticas específicas, como demonstrado em um estudo japonês, que identificou forte associação com susceptibilidade do polimorfismo do gene CD 19 em pacientes com LES. Nesses casos cursando com hipogamaglobulinemia, em virtude do gene CD 19 regular a sinalização para o desenvolvimento, ativação e proliferação dos linfócitos B (KUROKI ET AL, 2002) (CUNNINGHAM-RUNDLES, 2012).

Estudos demonstram a presença de deficiência da imunidade humoral nos pacientes lúpicos, sendo descrito imunodeficiência comum variável, deficiência seletiva de IgA, deficiência seletiva de IgM e deficiência específica de anticorpos. Uma série de 18 casos demonstrou a presença dessas imunodeficiências em pacientes com diagnóstico de LES (FERNANDEZ-CASTRO ET AL, 2007) (YONG ET AL, 2008). Outro estudo com 86 pacientes pediátricos portadores de LES identificou que seis pacientes apresentavam hipogamaglobulinemia e nestes, foi identificado forte associação com nefrite lúpica (LIM ET AL, 2013).

Uma análise de 248 pacientes portadores de IDCV identificou 56 pacientes com diagnóstico de doença autoimune, sendo dois portadores de LES (CUNNINGHAM-RUNDLES E BODIAN, 1999). Um estudo com 77 pacientes pediátricos e 152 adultos portadores de LES identificou uma prevalência de deficiência de IgA de 5,2% no primeiro grupo e 2,6% no segundo, sendo também identificado em outro estudo com 96 pacientes lúpicos, a presença de deficiência de IgA em cinco indivíduos (CASSIDY ET AL,

2007)(RANKIN e ISENBURG, 1997). Foi descrito também um relato de caso de um paciente com diagnóstico de deficiência específica a anticorpos, sem resposta adequada ao pneumococo e ao tétano, e evoluiu posteriormente com o diagnóstico de LES (HAMZI ET AL, 2013). Deficiência seletiva de IgM é descrita em pacientes portadores de LES, estando associada à deficiência de outras imunoglobulinas ou isoladamente (TAKEUCHI ET AL, 2001) (SALKI ET AL, 1987) (SENALDI ET AL, 1988).

Conforme o modelo teórico, o LES, sobretudo com nefrite, pode se apresentar com alterações da imunidade humoral, cursando com deficiência quantitativa das imunoglobulinas e alterações funcionais na resposta (LIM ET AL, 2013) (SPIKA ET AL, 1982). Essas alterações estão relacionadas a fatores secundários e primários, como as imunodeficiências primárias, sendo a deficiência de IgA, IDCV e deficiência seletiva de IgM as mais relacionadas (YONG ET AL,2008). Entre os fatores secundários são importantes a proteinúria, os imunossupressores e a atividade de doença (PARK E SHIN, 2011) (DESAR ET AL, 2007) (SONG ET AL, 2003) (DANZA E IRASTORZA, 2013). A proteinúria pode cursar com redução dos níveis de IgG, além de sofrer influência da atividade de doença e da classe histológica da nefrite (YAP ET AL, 2014). Os imunossupressores alteram a resposta humoral por ação direta nas células, já a atividade de doença age também na resposta celular, assim como influenciam na proteinúria. A redução da resposta humoral predispõe a infecções e redução da resposta sorológica (FASSBINDER ET AL, 2015) (DANZA E IRASTORZA, 2013).

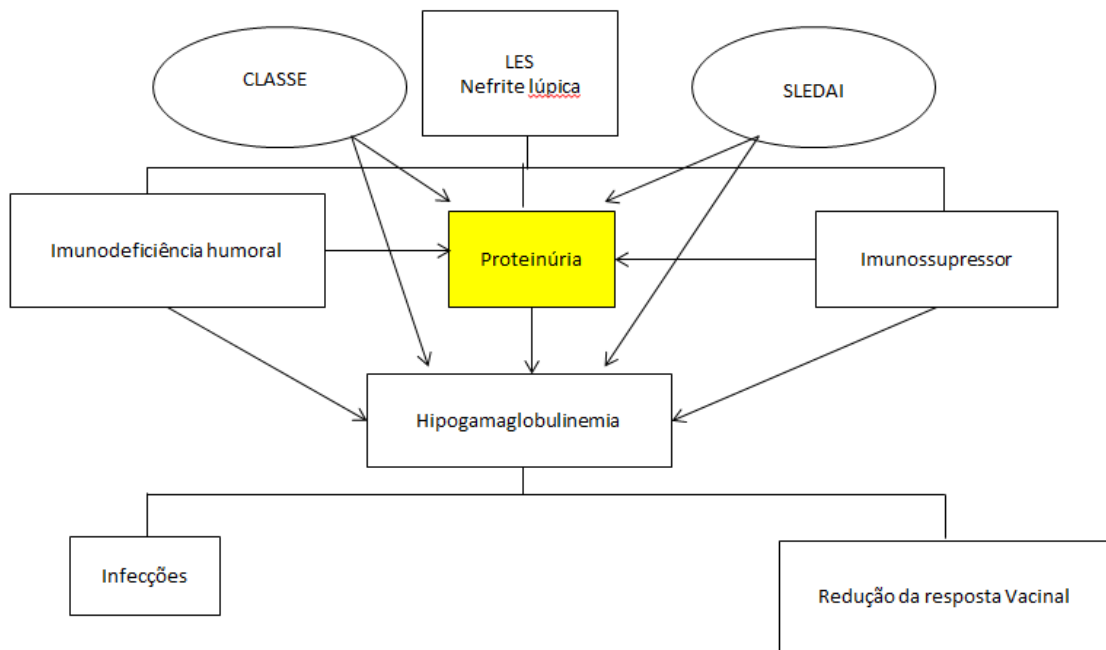


Figura 1: Modelo teórico proposto para suscetibilidade de Hipogamaglobulinemia

2.2 PERGUNTA CONDUTORA

Há redução nos níveis de imunoglobulinas em pacientes portadores de nefrite lúpica com doença em atividade?

2.3 JUSTIFICATIVA

O estudo das alterações da imunidade humoral em pacientes portadores de nefrite lúpica é importante para identificar possíveis alterações imunes primárias e/ou secundárias nesses pacientes.

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Verificar os níveis de imunoglobulinas em paciente com nefrite lúpica.

2.4.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS



- Descrever as alterações da imunidade humoral nos pacientes;
- Verificar avaliação funcional da imunidade humoral, através da resposta sorológica a rubéola;
- Correlacionar os níveis de imunoglobulinas com a proteinúria, atividade de doença (SLEDAI), e o uso de micofenolato de mofetil;
- Avaliar marcadores imunológicos de infecções prévias por citomegalovirus e Epstein barr.

2.5 HIPÓTESE

Pacientes com LES podem apresentar imunodeficiência humoral primária ou secundária a atividade da doença ou ao uso de imunossupressor.

CAPITULO 3

3 MÉTODOS

3.1 DESENHO E TIPO DE ESTUDO

Estudo clínico exploratório, transversal, comparativo, com grupos internos e amostras por conveniência para verificar a ocorrência de alterações na imunidade humoral em pacientes portadores de nefrite lúpica clínica e subclínica, divididos em dois grupos. Grupo ativo com nefrite lúpica clínica com proteinúria (P +); Grupo controle com nefrite lúpica subclínica sem Proteinúria (P-).

3.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Foram analisados 53 pacientes do sexo feminino na faixa etária entre 18 e 60 anos de idade do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE. O estudo foi realizado no período de outubro de 2013 à junho de 2014.

3.3 AMOSTRAGEM

Os pacientes foram alocados em dois grupos. FIGURA 2

Grupo (P+) - formado por 20 pacientes (portadores de nefrite lúpica clínica com atividade de doença e proteinúria e em uso do micofenolato de mofetila (MMF) e hidroxicloroquina).

Grupo(P-) - formado por 33 pacientes (portadores de nefrite lúpica subclínica sem atividade de doença e sem proteinúria e também em uso de MMF e hidroxicloroquina ou utilizando apenas hidroxicloroquina).

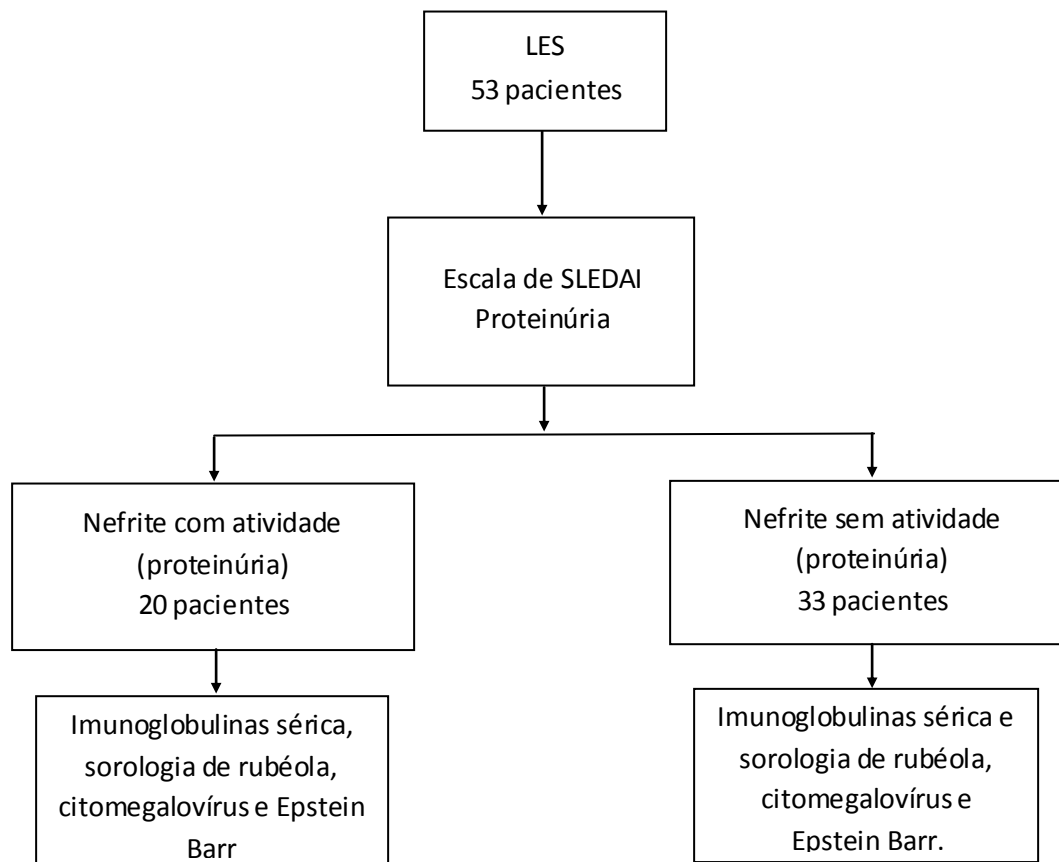


Figura 2: FLUXOGRAMA 1 – SELEÇÃO DOS PACIENTES

3.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos pacientes portadores de LES, de acordo com os critérios do American College Rheumatology (ACM) e da International Society of Nephrology (SIN) associado com nefrite, com ou sem atividade, na faixa etária entre 18 e 60 anos do sexo feminino e que fossem acompanhados no Hospital das Clínicas da UFPE (TAM, 1982) (HOCHBERG, 1997) (PETRI, 2012) (WEENING;2004). Esses pacientes deveriam possuir estudos histopatológico de biópsia renal com análise por microscopia eletrônica e imunofluorescência, e classificados conforme a SIN (WEENING;2004)(EKNOYAN;2012)(GOLGFARB;2012). Todos os pacientes deveriam estar fazendo uso do micofenolato de mofetil, quando em uso de droga imunossupressora, e numa variação de dose de 1g a 3g, associado com a hidroxicloroquina com uma variação de 200mg à 400mg. O uso do corticosteroide somente era incluído em doses não

imunossupressoras, como prednisona em doses máximas de 20mg e não sendo incluídos quando feito pulsoterapia com metilprednisolona (1g/m^2)

3.3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos os pacientes com outras causas possíveis de síndrome nefrótica e uso de anticonvulsivante, em virtude de também ser causa de redução da IgG. Quando em uso dos demais imunossupressores (ciclofosfamida, azatioprina, ciclosporina), os pacientes não eram incluídos, assim como não deveriam ter feito a ciclofosfamida nos últimos dois anos.

FIGURA 3

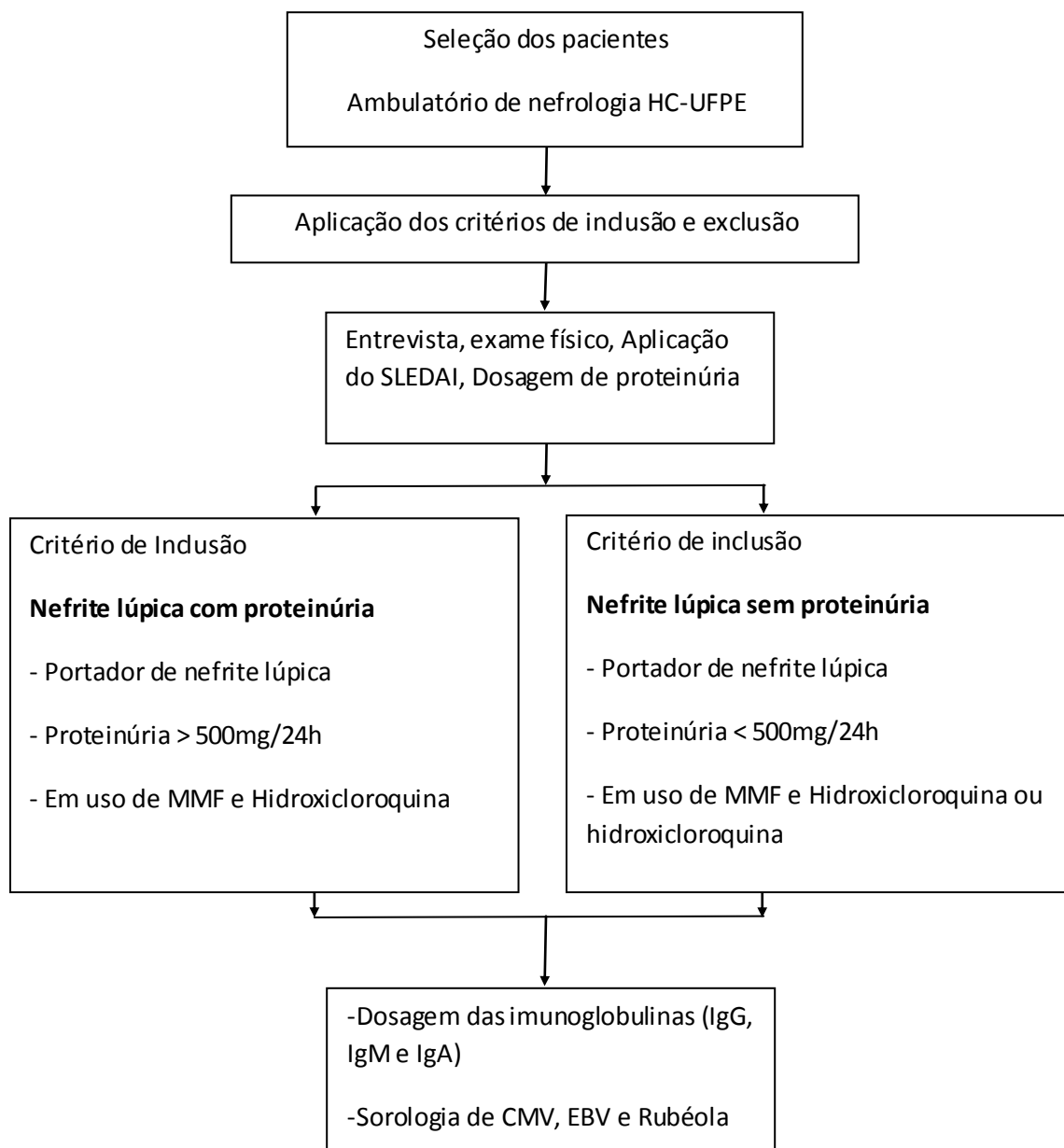


Figura 3: FLUXOGRAMA 2

3.3.3 DEFINIÇÃO DO TAMANHO AMOSTRAL

A amostra do trabalho foi por conveniência.

3.4 DEFINIÇÃO DE VARIÁVEIS

3.4.1 VARIÁVEIS DESCRITIVAS

Idade: variável numérica, discreta, expressa em anos completos, calculado a partir da data do aniversário do paciente.

Índice de atividade de SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Diseases Activity Index): É um índice que reflete a persistência da atividade de doença ou prever novas recorrências. O Índice contém 24 itens e avalia manifestações específicas em 9 órgãos/sistemas. A pontuação pode variar de 0 a 105, sendo acima de 2 devera ser considerado com atividade de doença e acima de 10 reflete mal prognóstico. Sintomas e\ou sinais clínicos ou laboratoriais, quando presente correspondem a pontuações pré-estabelecidas nessa escala e o somatório corresponderá ao valor do SLEDAI. (GLADMAN, 2002)(ANEXO 1)

Imunoglobulinas: A dosagem dessas imunoglobulinas informa a presença ou não de deficiências quantitativas da imunidade humoral. Os valores de referência de normalidade seguiu conforme percentis estabelecido no gráfico do trabalho de (FUJIMURA, 1990) (CONLEY, 1999)(ESID REGISTRY) (ANEXO 2)

Sorologias (IgG) a antígenos vírus da rubéola: Identifica a presença de anticorpos direcionados a rubéola, representando a presença de resposta funcional da imunidade humoral. A identificação tem o objetivo de avaliar infecção prévia à rubéola, assim como resposta vacinal a rubéola.

Sorologia (IgG) a antígeno do vírus CMV: Identifica a presença de anticorpos direcionados ao CMV, representando a presença de resposta funcional da imunidade humoral. A identificação tem o objetivo de avaliar infecção prévia ao CMV.

Sorologia (IgG) a antígeno do vírus EBV: Identifica a presença de anticorpos direcionados ao EBV representando a presença de resposta funcional da imunidade humoral. A identificação tem o objetivo de avaliar infecção prévia ao EBV.

Proteinúria: Identifica a perda excessiva de proteínas pela urina, e foi considerado a presença de proteinúria, níveis acima de 500 mg\24h, pois este é o critério de atividade estabelecido na escala de SLEDAI. (GLADMAN, 2002)

Micofenolato de Mofetila: Medicamento imunossupressor, inibidor da proliferação de linfócitos utilizado como tratamento de lúpus eritematoso sistêmico com comprometimento renal, e pode ser utilizado em doses que variam de 500mg a 3g, conforme atividade de doença.

Hidroxicloroquina: Medicamento utilizado como imunomodulador, cuja dose pode variar de 200 a 400mg;

Esteróide: Medicamento antiinflamatório hormonal, utilizado como medicação antiinflamatória e imunossupressora. Foi estabelecido que a população de estudo poderiam fazer a prednisona em dose antiinflamatória com valores que variam no máximo 20mg\dia.

Avaliação de Infecção: Foi identificado história passada de sinais clínicos que sugerissem sinais de alerta de nos itens relacionados a infecções dos sinais de alerta para imunodeficiência primária no adulto. (ANEXO 3)

3.4.2 VARIÁVEIS DEPENDENTE

Quadro 1: Variáveis Dependentes

Nome da Variável	Definição	Categorização
Imunoglobulina G	Variável contínua	Identifica o valor quantitativo da IgG
Imunoglobulina A	Variável contínua	Identifica o valor quantitativo da IgA
Imunoglobulina M	Variável contínua	Identifica o valor quantitativo da IgM
Resposta a antígenos do vírus da rubéola	Variável contínua	Identifica a presença de anticorpos direcionados a rubéola, representando a presença de resposta funcional da imunidade humoral. A identificação tem o objetivo de avaliar infecção prévia à rubéola,

		assim como resposta vacinal a rubéola.
Resposta a antígenos do vírus CMV	Variável categórica	Positivo quando reagente e negativo quando não reagente
Resposta a antígenos do vírus EBV	Variável categórica	Sorologias (IgG) a antígenos vírus da rubéola):

3.4.3 VARIÁVEIS INDEPENDENTE

Quadro 2: Variáveis Independentes

Nome da variável	Definição	Categorização
Idade	Variável contínua definida pelos anos de idade desde o nascimento	
Proteinúria	Variável categórica e contínua	Proteinúria presente quando $> 500\text{mg}/\text{dia}$ e proteinúria ausente quando $< 500\text{mg}/\text{dia}$
SLEDAI	Variável contínua e categórica	FIGURA 1
Micofenolato de mofetil	Variável contínua e categórica	

3.5 OPERACIONALIZAÇÃO E COLETA DOS DADOS

Os dados de coleta foram obtidos nos pacientes atendidos no ambulatório de glomerulopatia, do serviço de nefrologia do hospital das clínicas-UFPE. A leitura e explicação do TCLE em conjunto com o paciente, solicitando sua aprovação com assinatura do documento e aplicado os critérios de inclusão e exclusão para o estudo. Logo após a aprovação, foi preenchido o formulário com anamnese e realizado o exame clínico, juntamente com aplicação do índice de atividade de doença SLEDAI e resgatado proteinúria do paciente. Posteriormente foi resgatado em prontuário o resultado do histopatológico de

biópsia renal, assim como coletado exames para dosagem das imunoglobulinas e sorologias para resposta a antígenos virais.

3.6 COLETA E MÉTODO DE ANÁLISE APLICADO DO SANGUE PERIFÉRICO

Foi realizado coleta de aproximadamente 5mL de sangue, e posteriormente centrifugado a 200 de gravidade por 10 minutos e feito a separação do plasma, e foram armazenados em freezer a -20°C e posteriormente realizado estudos mencionados. A quantificação das imunoglobulinas sérica, foi realizada pelo método de nefelometria, que se trata de um ensaio que quantifica proteínas em solução baseando-se nas propriedades de difração da luz por imunocomplexos gerados no tubo de teste após a adição de anticorpos específicos contra a IgG.

As sorologias pelo método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), que se trata de um método imunoensaio e é utilizado rotineiramente para avaliação da presença de anticorpos contra agentes infecciosos. Então o antígeno (rubéola, CMV e EBV) é imobilizado em uma placa de poliestereno, sendo então adicionado o plasma do paciente a ser estudado e estando presente anticorpos contra o antígeno estudado, forma-se imunocomplexo que se aderem a placa. Em um segundo momento adiciona-se anticorpo contra o anticorpo do antígeno a ser estudado e se liga a uma enzima que degrada um substrato cromogênico, gerando uma mudança de cor que é proporcional à quantidade de anticorpos. Os valores das imunoglobulinas sérica, resposta vacinal para rubéola e sorologias para EBV e CMV foram correlacionados com os dados clínicos de história de infecções.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Com base no banco de dados de 53 pacientes, executou-se a análise estatística usando o software R e SPSS com o objetivo de verificar medidas descritivas e testes pertinentes.

Para a verificação de existência de diferenças significativas entre os pacientes do grupo de nefrite lúpica clínica com proteinúria P+ e grupo da Nefrite lúpica subclínica sem proteinúria P- para cada uma das variáveis, testou-se a normalidade e nos casos onde ocorreu

normalidade aplicou-se o Teste T para amostras independentes e nos casos onde não se obteve normalidade aplicou-se o teste U de Mann-Whitney.

Para a análise da deficiência da imunidade humoral os pacientes foram divididos a partir de três classificações: Proteinúria (presença e ausência), SLEDAI (com atividade e sem atividade) e MMF (MMF+ e MMF-). Neste sentido, foram obtidos percentuais e quantitativos nas tabelas de contingência. A partir da tabela de contingência o teste **Fisher's Exact Test** foi usado para verificar se ocorrência de deficiência da imunidade humoral esteve associada com a presença ou ausência de proteinúria, SLEDAI (com e sem atividade) e MMF (positivo e negativo).

O teste de correlação de Spearman foi usado com o objetivo de estudar a existência de correlação entre: Proteinúria com as variáveis IgA, IgM, IgG e sorologia da rubéola; SLEDAI com o IgA, IgM, IgG e sorologia da rubéola; Micofenolato de mofetil com o IgA, IgM, IgG e sorologia da rubéola. O valor do coeficiente de Spearman mediu a intensidade destas correlações; o sinal (+ ou -) deste coeficiente indicou se esta correlação era direta (+) ou inversa (-) e por fim o teste de significância testou esta correlação foi (p-valor <0,05) ou não (p-valor > 0,05) significativa, ao nível de 5% de significância. Para verificar a existência de uma possível relação conjunta do MMF, SLEDAI e Proteinúria com o IgG, foi aplicado o modelo linear múltiplo tendo como variáveis explicativas(ou "independentes") MMF, SLEDAI e Proteinúria e como variável dependente o IgG. Na verificação da positividade para CMV e EBV em comparação com a população geral, aplicou-se o teste Qui-Quadrado de Independência para o CMV e o teste Exato de Fisher para o EBV. (ANDY, 2009)(MARDIA, 1979) (ANEXO 4)

3.8 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi realizado no período de outubro de 2013 à junho de 2014. Foi encaminhado ao referido hospital a carta de anuência para devido autorização bem como o termo de consentimento livre e esclarecido aos pacientes participantes do estudo. O projeto foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UFPE, tendo como número de protocolo (CAAE) 13319913000005208.

Antes de coletar os dados dos pacientes, foi realizado a leitura e explicação do TCLE em conjunto com o paciente, solicitando sua aprovação com assinatura do documento.

CAPÍTULO 4**4 ARTIGOS ORIGINAIS****4.1 ARTIGO ORIGINAL 1****AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL EM PACIENTES COM NEFRITE
LÚPICA**

RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune que acomete vários órgãos ou sistemas e pode se apresentar durante a evolução da doença com a presença de imunodeficiência, tanto de forma primária como secundária. A imunodeficiência secundária no LES está relacionada ao uso dos imunossuppressores, a atividade de doença e comprometimento renal. A imunodeficiência primária está associada ao LES, sendo descrito a imunodeficiência comum variável, deficiência seletiva de IgA e deficiência seletiva de IgM.

OBJETIVOS: Avaliar as alterações da imunidade humoral em pacientes com nefrite lúpica em atividade, identificando possíveis imunodeficiências primárias, bem como verificar a influência dos fatores como proteinúria, atividade de doença, e imunossupressor nas respostas da imunidade humoral. **METODOLOGIA:** Foram analisados 53 pacientes portadores de LES associado a nefrite do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da UFPE e fazendo uso do micofenolato de mofetil, quando utilizado droga imunossupressora. Foram divididos em dois grupos. Um grupo ativo de 20 pacientes com nefrite lúpica clínica com proteinúria (P+), e o controle com 33 pacientes com nefrite lúpica subclínica sem proteinúria (P-).

RESULTADOS: A média dos níveis de imunoglobulina G no grupo P+ foi de 1060,6 e no grupo P- foi de 1468,7, estando à diferença significativa ($p < 0,05$). Cinco dos pacientes estudados apresentaram deficiência da imunidade humoral, primária ou secundária, sendo três com hipogamaglobulinemia, um com deficiência seletiva de IgA e outro com deficiência seletiva de IgM. As deficiências da imunidade humoral foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), quando avaliado pela proteinúria e pelo índice de atividade de doença (SLEDAI). O micofenolato de mofetil teve forte correlação negativa ($r = -0,648$) com a IgG. **CONCLUSÃO:** A proteinúria reduz os níveis de IgG, porém não a ponto desenvolver hipogamaglobulinemia. Imunodeficiência humoral está presente nos pacientes portadores de nefrite lúpica e esteve associado com evolução mais grave da doença, com presença de proteinúria e presença de atividade de doença. O micofenolato de mofetil foi a variável que se correlacionou com a redução de IgG, porém não sendo capaz de promover níveis compatíveis com imunodeficiência.

Palavras chave: Lúpus eritematoso sistêmico, Nefrite lúpica, Imunodeficiência, Hipogamaglobulinemia, micofenolato de mofetil

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic inflammatory disease that affects various organs or systems and may present during the course of the disease with the presence of immunodeficiency, both primary way secondary. The secondary hypogammaglobulinemia in SLE is related to the use of immunosuppressive drugs, the activity of disease and renal impairment. Primary immunodeficiency is associated with SLE, described the common variable immunodeficiency, selective IgA deficiency, selective IgM deficiency. OBJECTIVES: To evaluate the changes of humoral immunity in patients with lupus nephritis activity, identifying possible primary immunodeficiency as well as checking the influence of factors such as proteinuria, disease activity, and immunosuppressive responses in humoral. METODOLOGIA immunity: We analyzed 53 patients SLE associated with nephritis of Nephrology Service, Hospital Clinics of the UFPE and making use of mycophenolate mofetil when used immunosuppressive drug. They were divided into two groups. An active group of 20 patients with lupus nephritis and proteinuria (P +), and control with 33 patients with lupus nephritis without proteinuria (P). RESULTS: The mean IgG levels in the P + group was 1060.6 and P group was 1468.7 and the difference was significant ($p < 0.05$). Five of the patients showed impairment of humoral immunity, three with hypogammaglobulinemia, with selective IgA deficiency and one with selective IgM deficiency. The deficiencies of humoral immunity was statistically significant ($p < 0.05$) when assessed by proteinuria and the disease activity index (SLEDAI). Mycophenolate mofetil had strong negative correlation ($r: - 0.648$) with IgG. CONCLUSION: Proteinuria reduces IgG levels, but not about developing hipogamaglobulinemia. Humoral immunodeficiency is present in patients with lupus nephritis and was associated with more severe course of the disease, with the presence of proteinuria and the presence of disease activity. Mycophenolate mofetil was the variable that correlated with the reduction of IgG, but not being able to promote levels consistent with immune deficiency.

Key words: systemic lupus erythematosus, lupus nephritis, immunodeficiency, Hypogammaglobulinemia, mycophenolate mofetil

INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune que acomete vários órgãos ou sistemas, cuja prevalência em estudo americano, realizado entre 2003 à 2008, foi de 7,2/100 mil habitantes e em estudo brasileiro a prevalência foi de 8,7/100 mil habitantes.^{1,2,3} No LES frequentemente há ativação imune policlonal com níveis de imunoglobulina G (IgG) elevados ou normais, além de anticorpos específicos direcionados a antígenos próprios (antígenos nucleares), incluindo anti-DNA e anti-Sm.⁴ A doença renal é manifestação clínica frequente, diagnosticada em 74% dos pacientes e com classificação estabelecida conforme critérios histológicos, de acordo com a Sociedade Internacional de Nefrologia (SIN).^{5,6,7} No LES pode estar presente imunodeficiência, tanto de forma primária como secundária.⁸

A hipogamaglobulinemia secundária encontra-se presente nos pacientes portadores de LES, sobretudo relacionado a imunossupressores utilizados e a presença de comprometimento renal, principalmente com apresentação de síndrome nefrótica, sendo esta um fator de risco para infecções.^{3,9,10,11,12} A nefrite lúpica, sobretudo a apresentação com proteinúria, pode se apresentar com hipogamaglobulinemia, devido a perda seletiva de IgG, a nível glomerular, e com valores de imunoglobulina A e M normais, em virtude do tamanho dessas moléculas não permitir essa perda através dos glomérulos.^{3,13} Os imunossupressores, por provável ação em linfócitos B, interferem na produção de imunoglobulinas, ocasionando então hipogamaglobulinemia quando utilizados.^{10,14} Um trabalho com 46 pacientes portadores de nefrite lúpica constatou que o corticoide e o micofenolato de mofetil influenciam os níveis de IgG.¹⁵ A atividade de doença, avaliado pelo índice de atividade de doença lúpica (SLEDAI), também é fator importante de risco para infecções.^{12,16}

Estudo com 86 pacientes pediátricos portadores de LES identificou que seis apresentavam hipogamaglobulinemia e destes, foram identificado forte associação com nefrite lúpica.¹⁷ Estudos demonstram a presença de deficiência primária da imunidade humoral nos pacientes lúpicos, sendo descrito imunodeficiência comum variável (IDCV), deficiência seletiva de imunoglobulina A (IgA), deficiência seletiva de imunoglobulina M (IgM) e deficiência específica de anticorpos, e uma análise de uma série de 18 casos demonstrou a presença dessas imunodeficiências em pacientes com diagnóstico de LES.^{18,19,4} Um estudo com 248 pacientes portadores de Imunodeficiência comum variável identificou 56 pacientes

com diagnóstico de doença autoimune, sendo dois portadores de LES.²⁰ Essa relação de LES e imunodeficiência primária pode estar ligada a alterações genéticas específicas, e isso foi demonstrado em um estudo japonês, que identificou forte associação com a susceptibilidade ao desenvolvimento do LES e o polimorfismo do gene CD 19, cuja mutação também está relacionado com o desenvolvimento de IDCV.²¹ Um estudo com 77 pacientes pediátricos e 152 adultos portadores de LES identificaram uma prevalência de deficiência de IgA de 5,2% no primeiro grupo e 2,6% no segundo.^{22,23} Deficiência seletiva de IgM é descrito em pacientes portadores de LES, estando associado a deficiência de outras imunoglobulinas ou isoladamente.^{24,25,26}

Este trabalho visa avaliar as alterações da imunidade humoral em pacientes com nefrite lúpica em atividade, identificando possíveis imunodeficiências primárias e/ou secundária, bem como verificar a influência dos fatores como proteinúria, atividade de doença, e imunossupressor nas respostas da imunidade humoral.

MÉTODO

Estudo clínico exploratório, transversal, comparativo, com grupos internos para verificar a ocorrência de deficiência na imunidade humoral, primária ou secundária, em pacientes portadores de nefrite lúpica. Foram analisados 53 pacientes do gênero feminino na faixa etária entre 18 e 60 anos de idade do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. O estudo foi realizado no período de outubro de 2013 à junho de 2014. Todos os pacientes eram portadores de LES, de acordo com os critérios do American College Rheumatology (ACR)^{27,28,29}, associado com nefrite diagnosticada por estudo histopatológico de biópsia renal com análise por microscopia eletrônica e imunofluorescência, e classificados conforme a International Society of Nephrology e Renal Pathology Society Working Group.^{30,31,32} Deveriam estar fazendo uso do micofenolato de mofetil, quando em uso de droga imunossupressora, e numa variação de dose de 1g a 3g, associado com a hidroxicroquina com uma variação de 200mg à 400mg. O uso do corticosteroide somente era incluído em doses não imunossupressoras, como prednisona em doses máximas de 20mg e não sendo incluídos quando feito pulsoterapia com metilprednisolona (1g/m²) e não deveriam ter feito a ciclofosfamida nos últimos dois anos. Foram excluídos os pacientes com outras causas possíveis de síndrome nefrótica e uso de anticonvulsivante, em virtude de também ser causa de redução da IgG.

Os 53 pacientes foram divididos em dois grupos. Um grupo ativo com nefrite lúpica clínica e proteinúria (P+), formados por 20 pacientes em uso do micofenolato de mofetila associado com hidroxicloroquina e o controle com nefrite lúpica subclínica sem proteinúria (P-), formados por 33 pacientes em uso do micofenolato de mofetil e hidroxicloroquina ou somente hidroxicloroquina. Foram considerados os pacientes com a presença de proteinúria quando os valores estão acima de 500mg/24h, conforme critério de atividade do índice de atividade de doença de SLEDAI.³³

Após a aprovação dos critérios de inclusão foi preenchido o formulário com anamnese e realizado o exame clínico, juntamente com aplicação do índice de atividade de doença SLEDAI, resgatado a proteinúria do paciente e o histopatológico em prontuário. Posteriormente foi coletado exames para dosagem das imunoglobulinas e sorologia para rubéola. A quantificação das imunoglobulinas séricas foi realizada pelo método de nefelometria e as sorologias pelo método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Os valores referenciais de normalidade das imunoglobulinas foram de acordo com a referência Fujimore e os critérios diagnósticos de possíveis deficiências primárias foi de acordo com o ESID.^{34,35,36}

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base no banco de dados de 53 pacientes, executou-se a análise estatística usando o software R e SPSS com o objetivo de verificar medidas descritivas e testes pertinentes.^{37,38} Para a verificação de existência de diferenças significativas entre os pacientes do grupo de nefrite lúpica clínica com proteinúria(P+) e grupo da Nefrite lúpica subclínica sem proteinúria (P-) para cada uma das variáveis, testou-se a normalidade e nos casos onde ocorreu normalidade aplicou-se o Teste T para amostras independentes e nos casos onde não se obteve normalidade aplicou-se o teste U de Mann-Whitney. Para a análise da presença da deficiência da imunidade humoral, os pacientes foram divididos a partir de três classificações: Proteinúria (presença e ausência), SLEDAI (com atividade e sem atividade) e o uso de micofenolato de mofetil (presente (MMF+) e ausente (MMF-)). Neste sentido, foram obtidos percentuais e quantitativos nas tabelas de contingência. A partir da tabela de contingência o Fisher's Exact Test foi usado para verificar se ocorrência de deficiência da imunidade humoral esteve associada com a presença ou ausência de proteinúria, SLEDAI (com e sem atividade) e MMF (positivo e negativo). O teste de correlação de Spearman foi usado com o objetivo de

estudar a existência de correlação entre: Proteinúria com as variáveis IgA, IgM, IgG e sorologia da rubéola; SLEDAI com o IgA, IgM, IgG e sorologia da rubéola; Micofenolato de mofetil com o IgA, IgM, IgG e sorologia da rubéola. Para verificar a existência de uma possível relação conjunta do MMF, SLEDAI e Proteinúria com o IgG, foi aplicado o modelo linear múltiplo tendo como variáveis explicativas(ou independentes) MMF, SLEDAI e Proteinúria e como variável dependente o IgG.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 53 pacientes com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico conforme os critérios do American College Rheumatology (ACM), apresentando nefrite lúpica conforme a Sociedade Internacional de Nefrologia. Todos os pacientes eram do gênero feminino e foram alocados em 20 no grupo com nefrite lúpica clínica com proteinúria (P+) e 33 no grupo com nefrite lúpica subclínica sem proteinúria (P-). A média da idade no grupo P+ foi semelhante ao grupo P- de 36,3 anos. A média dos níveis de imunoglobulina G no grupo P+ foi de 1060,6 e no grupo P- foi de 1468,7 e mostra-se diferente com significância estatística ($p=0,002$). As imunoglobulinas A, M e a resposta sorológica a rubéola não foi significante estatisticamente entre os dois grupos. TABELA 1

Quatro pacientes apresentaram história clínica sugestiva de infecções de repetição relacionado com a imunidade humoral (sinusite, otite e pneumonias), sendo dois no grupo P+ e dois no grupo P-. Dos 53 pacientes, dez fizeram uso de prednisona, sendo 5 no grupo P+ e 5 no grupo P-.

Foi constatado que cinco dos pacientes estudados apresentaram deficiências da imunidade humoral, seja primária ou secundária, em virtude dos valores das imunoglobulinas estarem reduzidas em relação ao referencial, sendo três com hipogamaglobulinemia e valores de IgG menor que 500 mg/24h, um com deficiência seletiva de IgA e outro com deficiência seletiva de IgM. As deficiências da imunidade humoral foi estatisticamente significativa, quando avaliado pela proteinúria ($p=0,005$) e pelo índice de atividade de doença (SLEDAI)($p=0,006$), sabendo que a proteinúria contribui de forma importante com o valor do SLEDAI. TABELA 2

Em relação aos pacientes com imunodeficiências, primária ou secundária, o paciente 1 apresenta hipogamaglobulinemia, com classe histológica V (membranosa), além de ter história frequente de sinusite e otite de repetição. O paciente 2 também encontra-se com

importante redução da IgG, sem resposta vacinal adequada, sem passado de infecções de repetição e classe histológica III. O paciente 3 apresentou hipogamaglobulinemia, classe histológica V, proteinúria nefrótica, albumina de 1,2 e sem passado de infecções de repetição. O paciente 4 tinha deficiência seletiva de IgM, tipo histológico classe II e história de infecções de repetição.. O paciente 5 teve o diagnóstico de deficiência seletiva de IgA, tipo histológico classe III e apresentou microangiopatia trombótica arteriolar. Todos os cinco pacientes que apresentaram alterações da imunidade humoral encontravam-se em uso do micofenolato de mofetil. TABELA 3

Na análise de correlação foi observado que a imunoglobulina G foi à única variável que se correlacionou com a proteinúria, SLEDAI e o micofenolato de mofetil ($p < 0,05$). A imunoglobulina G associou-se com a proteinúria em fraca correlação negativa ($r: -0,375$)($p=0,006$), com o SLEDAI também em fraca correlação negativa ($r:-0,425$)($p=0,002$) e com o micofenolato de mofetil teve moderada correlação negativa ($r:-0,648$)($p=0,000$). Não foi observado correlação das imunoglobulinas A, M e resposta sorológica a rubéola com a proteinúria, SLEDAI e o micofenolato de mofetil. FIGURA 1, FIGURA 2, FIGURA 3 Assim, na análise multivariada de regressão linear constata-se que o micofenolato de mofetil foi o fator que influenciou nos níveis de IgG com r de $-0,55$ ($p < 0,000$). TABELA 4

DISCUSSÃO

No presente estudo foi constatado que existe uma redução dos valores de IgG, quando comparado pacientes com nefrite lúpica clínica com proteinúria e subclínica sem proteinúria, demonstrando que a proteinúria influencia na redução dos valores séricos das imunoglobulinas G, porém não a ponto de apresentar valores muito reduzido, que o caracterizem como hipogamaglobulinemia. Esta influência da proteinúria não foi observado nas imunoglobulinas A e M, e isso pode ser justificado pela perda seletiva de IgG a nível glomerular, em virtude do tamanho molecular da IgA e IgM não permitir essa perda através dos glomérulos.^{3,13}

Foi verificado também que a presença da deficiência da imunidade humoral, primária ou secundária, esteve relacionada com a proteinúria e a atividade de doença, sabendo que a proteinúria contribui de forma importante no SLEDAI desses pacientes, e essas deficiências estiveram numa frequência de 9,43% tanto no grupo de pacientes com proteinúria como no grupo de pacientes com atividade de doença lúpica, concluindo que a presença dessas

deficiências associa-se com a evolução do lúpus eritematoso sistêmico mais grave, e com maior risco de infecção, haja vista que dois pacientes dos quatro que possuem história de infecções de repetição por bactérias encapsuladas (pneumonia, sinusite e otite) e encontraram-se com níveis bastante reduzidos de imunoglobulinas, com níveis característicos de imunodeficiência, seja primária ou secundária. É importante salientar também que o LES também pode estar associado com outras deficiências primárias ou secundárias, como a deficiência de complemento e deficiência na imunidade celular, que também pode cursar com episódios de infecções, apesar de características diferentes no caso da celular. O uso do micofenolato de mofetil não se relacionou com a presença de deficiência da imunidade humoral, concluindo que o uso desse imunossupressor nas doses até 3g não se relaciona diretamente com o surgimento dessas imunodeficiências, apesar de promover alguma redução dos níveis de IgG, isto encontra-se em contraste com outros imunossupressores, como a azatioprina e a ciclofosfamida, que podem ocasionar hipogamaglobulinemia quando utilizados, assim como doses imunossupressoras de corticoesteróide.^{10,14,39}

Dos cinco pacientes com deficiência da imunidade humoral, primária ou secundária, sendo que três apresentaram hipogamaglobulinemia, com níveis de IgG abaixo de 500, um apresentou deficiência seletiva de IgA e outro apresentou deficiência seletiva de IgM. A frequência descrita das deficiências da imunidade humoral no estudo é semelhante à encontrada na literatura mundial no que se refere ao lúpus eritematoso sistêmico.^{22,23} Um estudo com pacientes pediátricos portadores de LES identificou seis (6,9%) dos 86 pacientes com hipogamaglobulinemia, sendo que em dois pacientes haviam realizado o rituximab (anti-linfócito B), o que os caracterizam como provável causa secundária. Ainda foi identificado no estudo em questão, que três dos seis pacientes com hipogamaglobulinemia apresentou também deficiência de IgA e sugeriu que esta deficiência pode evoluir em conjunto com deficiência de IgG.¹⁷ Conclusão semelhante foi feita em uma série de quatro casos, que observou redução de IgA antecedendo a redução de IgG e/ou IgM.¹⁴

A frequência da deficiência seletiva de IgA em estudo com pacientes portadores LES foi de 5,2% no grupo pediátrico e 2,6% em adultos. Outro estudo com 96 pacientes lúpicos encontrou frequência de 5,2% pacientes com deficiência seletiva de IgA, sendo verificado em nosso estudo uma frequência de 1,8%.^{22,23} A deficiência seletiva de IgM foi verificado em nosso trabalho, assim como foi descrita em outros estudos de forma isolada ou associado com outras imunoglobulinas.^{24,25,26}

Observando a tabela 3, que descrevemos os cinco pacientes com imunodeficiência humoral, verificamos que o primeiro paciente da lista possui história de infecção de repetição por bactérias encapsuladas associado com hipogamaglobulinemia e tinha o tipo histológico classe V (membranosa). Descrição semelhante foi feita em uma paciente com nefropatia membranosa associado com níveis reduzidos de IgA, IgM e IgG, com o diagnóstico de imunodeficiência comum variável, então este paciente poderia se enquadrar numa deficiência primária, apesar da necessidade de observar a evolução clínica para melhor definição.⁴¹ O paciente 2 também com quadro de hipogamaglobulinemia encontra-se sem resposta adequada a vacina da rubéola e isto pode caracterizar uma deficiência quantitativa e funcional de anticorpos, que também pode estar presente nas deficiências primárias de anticorpos, apesar que da mesma forma que o paciente 1, há a necessidade de observar a evolução clínica para melhor esclarecer. O paciente 3 apresenta hipogamaglobulinemia associado com intensa proteinúria e sinais outros de perda proteica por via urinária, pois apresenta níveis reduzidos de albumina, podendo ficar melhor caracterizado como uma deficiência secundária devido a perda proteica, necessitando também avaliar a evolução clínica para melhor definição. Os pacientes 4 e 5 se caracterizam com deficiência humoral primária com apresentação de doença autoimune, sendo o paciente 4 uma deficiência seletiva de IgM com história de infecção de repetição por bactérias encapsuladas e o paciente 5 teve o diagnóstico de deficiência seletiva de IgA. O tipo histológico mais presente nos pacientes com hipogamaglobulinemia foi membranosa, sendo descrito também em outros estudos quando presente a associação de deficiência humoral primária com nefropatia membranosa.^{41,42}

Observamos ainda uma fraca correlação negativa da imunoglobulina G com a proteinúria, de forma que o aumento da proteinúria poderia refletir redução dos níveis de IgG. Outro estudo também demonstrou correlação negativa, porém forte, da IgG com a proteinúria.¹⁵ Da mesma forma que a proteinúria, o nosso estudo demonstrou que a atividade de doença também poderia apresentar uma correlação negativa com a IgG, onde valores maiores do SLEDAI correlacionou a redução da imunoglobulina G e com maior intensidade em relação a proteinúria, então apesar da proteinúria ser um fator importante para contribuir com o valor do SLEDAI, outros fatores da atividade de doença estariam contribuindo em virtude da correlação mais intensa. Essa redução da IgG com o aumento da atividade de doença tem sido descrito em outros estudos, assim como o aumento do risco de infecções, sobretudo por bactérias encapsuladas, e pode ser justificado com a redução dos valores da imunoglobulina G.^{12,16,40} No estudo foi observada também uma moderada correlação

negativa do micofenolato de mofetil com a imunoglobulina G, de forma que doses maiores do imunossupressor resulta em redução dos valores de IgG. Em contraste, outro estudo com 46 pacientes que objetivava relacionar a IgG com o micofenolato de mofetil e os corticosteroides, não demonstrou relação estatística significativa, o que pode ser justificado com a diferença no número de pacientes estudados, a diferença no tempo de uso do imunossupressor, a dose utilizada, além da associação com os corticosteroides.¹⁵

Na análise multivariada regressiva, teve como variáveis independentes a proteinúria, SLEDAI e o micofenolato de mofetil, o estudo demonstrou que o micofenolato de mofetil é a variável que mais influencia na redução dos valores de IgG, porém como já descrito não a ponto de se apresentar com deficiência humoral, caracterizado com hipogamaglobulinemia.

Foi constatado neste estudo que o lúpus eritematoso sistêmico pode cursar com deficiência da imunidade humoral, estando presente em quase 10% dos 53 pacientes estudados. Essas deficiências podem se apresentar no LES e em outras doenças autoimunes, como deficiências primárias e/ou secundárias. Em relação à associação do LES e imunodeficiência primária, um estudo avaliou 248 pacientes com imunodeficiência comum variável e verificou que 55 (22%) eram portadores de doenças autoimunes, e destes pacientes, 02 eram lúpicos.²⁰ Outro estudo constatou uma frequência de 5,2% de deficiência seletiva de IgA nos pacientes lúpicos, demonstrando a importância de pesquisar possíveis imunodeficiências primárias nesses pacientes, devido a associação com o curso mais grave da doença, além de um maior risco de infecções.

Estudos demonstraram também que a proteinúria, o índice de atividade de doença e o uso de imunossupressores estão associados com o aumento da frequência de infecções nos pacientes lúpicos, e isto é justificado pela associação de possíveis deficiências secundárias relacionadas a esses fatores.¹² Nosso estudo constatou que esses fatores se correlacionaram com alterações nos níveis de imunoglobulina G, justificando o aumento da frequência de infecções nos pacientes lúpicos, tornando-se então fundamental a avaliação periódica das imunoglobulinas nos pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico para um melhor acompanhamento clínico. O nosso estudo demonstrou também, na análise multivariada, que o micofenolato de mofetil foi o fator que se correlacionou com a redução dos níveis de imunoglobulinas G, e isso se deve possivelmente pela redução da função dos linfócitos, pois o mecanismo de ação do deste imunossupressor inibe a proliferação dos linfócitos T e B, reduzindo a produção de anticorpos, mas nas doses habituais parece que não reduz as imunoglobulinas a ponto de caracterizar uma imunodeficiência.^{39,43}

REFERÊNCIA

- 1- Salgado AZ, Diaz CH. Lupus nephritis: an Overview of recent findings. *Autoimmune Diseases* 2012 mar; 22: 1-21.
- 2- Furst DE, Clarke AE, Fernandes AW, Brancroft T, Greth W, Iorga S. Incidence and prevalence of adult systemic lupus erythematosus in a large US managed care population. *Lupus* 2012 Oct 5
- 3- Villar MJ, Sato EI. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). *Lupus* 2002; 11: 528-32.
- 4- Yong PFK, Aslam L; Karim MY; Khamashta MA. Management of hypogammaglobulinaemia occurring in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2008; 47 1400-1405.
- 5- Weening JJ, D'Agatti VD, Schwartz MM, Sesshan SV, Alers CE, Appel GB, et al. On behalf of the International Society of Nephrology and Renal Pathology Society Working Group on the classification of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 241-250.
- 6- Eknoyan G, Lameire N, Eckadt K, Kasiske BI, Abboud OI, Adler , et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. *J Int Soc Nephrol* 2012 Jun 2; 2: 221-232.
- 7- Golgfarb S, Townsend RR, Deuter G, Cohen D, Choi MJ, Emmett M, et al. Glomerular, Vascular and Tubulointerstitial Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2012 May 11; 3: 171-182.
- 8- Karim MY. Immunodeficiency in the lupus clinic. *Lupus* 2006, 15. 127-131
- 9- Park SJ, Shin JI. Complications of nephrotic syndrome. *Korean J Pediatr* 2011, 54(8). 322-328.
- 10- Song J, Park YB, Suh CH, Lee SK. Transient panhypogammaglobulinaemia and B-lymphocyte deficiency in a patient with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus after immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol* 2003; 22;62-6.
- 11- Fedor ME, Rubinstein A. Effects of long-term low dose corticosteroid therapy on humoral immunity. *Ann Allergy Asthma immunol* 2006; 97; 113-6.
- 12- Danza A, Irastorza G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. *Lupus* 2013, 22. 1286-1294.
- 13- Agarwal S, Cunningham-Rundles C. Assessment and clinical interpretation of reduced IgG values. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007 sept, 99(3). 281-283

- 14- Desar IME, Weemaes CMR, Deuren MV, Meer JWMV. Reversible hypogammaglobulinaemia. *The Journal of Medicine* 2007; nov 65(10). 381-5.
- 15- Yap DYH, Yung S, Ma MKM, Mok MMY, Kwan LPY, Chan GCW, Chan TM. Serum immunoglobulin G level in patients with lupus nephritis and the effect of treatment with corticosteroids and mycophenolate mofetil. *Lupus* 2014; jan 23. 678-683.
- 16- Zonana-Nacach A, Camargo-Coronel A, Yanez P, Sanchez L, Jimenez-Balderas FJ, Fraga A. Infections in outpatients with systemic lupus erythematosus: a prospective study. *Lupus* 2001, 10. 505-510.
- 17- Lim E, Tao yu, White AJ, French AR, Cooper MA. Hypogammaglobulinemia in pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2013, nov 22(13): 1382-1387.
- 18- Fernandez Castro M, Mellor-Pita S, Jesus CM et al. Common variable immunodeficiency in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 2007; 36;238-45.
- 19- Hamzi HA, Shaikn AA, Arnaout RK. Poor specific antibody response immunodeficiency (dysgammaglobulinemia)predates systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2013, 22. 961-966.
- 20- Charlotte-Cunningham R, Bodiant C. Common Variable Immunodeficiency: Clinical and Immunological Features of 248 Patients. *Clinical Immunology* 1999; july 92(1): 34-48.
- 21- Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Hagiwara K, Kano H, Takazoe M, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Polymorphisms of human CD19 gene: Possible association with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes and immunity* 2002, supl 1, 20-30.
- 22- Rankin EC, Isenberg DA, IgA deficiency and SLE prevalence in a clinic population and a review of the literature. *Lupus* 1997, 6: 390-4.
- 23- Cassidy JT, Kitson RK, Selby CL. Selective IgA deficiency in children and adults with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 647-50.
- 24- Takeuchi T, Nakagawa T, Maeda Y et al. Functional defect of B lymphocytes in a patient with selective IgM deficiency associated with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2001; 34: 115-22.
- 25- Salki O, Saeki Y, Tanaka T et al. Development of selective IgM deficiency in systemic lupus erythematosus patients with disease of long duration. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 1289-92

- 26- Senaldi G, Ireland R, Bellingham AJ, Vergani D, Veerapan K, Wang F. IgM reduction in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1213.
- 27- Tan EM, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
- 28- Hochberg MC, et al. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
- 29- Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *American College of Rheumatology* 2012 August; 64(8): 2677-2686.
- 30- Weening JJ, D'Agatti VD, Schwartz MM, Sesshan SV, Alers CE, Appel GB, et al. On behalf of the International Society of Nephrology and Renal Pathology Society Working Group on the classification of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 241-250.
- 31- Eknoyan G, Lameire N, Eckadt K, Kasiske BI, Abboud OI, Adler , et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. *J Int Soc Nephrol* 2012 Jun 2; 2: 221-232.
- 32- Golgfarb S, Townsend RR, Deuter G, Cohen D, Choi MJ, Emmett M, et al. Glomerular, Vascular and Tubulointerstitial Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2012 May 11; 3: 171-182.
- 33- Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic Lupus Erythematosus Diseases Activity Index 2000. *J Rheumatol*, 2002. 29: 288-91.
- 34- Fujimura MD. Níveis séricos das subclasses de imunoglobulina G em crianças normais e nefróticas . São Paulo, SP: USP; 1990.
- 35- Conley ME, Notaranjelo LD, Etzioni A. Diagnostic Criteria for Primary Immunodeficiencies. *Clinical Immunology*, 1999. 93 (3): 190-197.
- 36- ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID
- 37- Andy Field. (2009). *Discovering statistics using SPSS*. Sage publications.
- 38- Mardia, K. V., Kent, J. T., & Bibby, J. M. (1979). *Multivariate analysis*. Academic press.
- 39- Fassbinder T, Saunders U, Eva Mickholz E, Elisabeth Jung, Heidemarie B, Shluter B, Jacobi AM. Diferencial effects of cyclophosphamide and mycophenolate mofetil on

- cellular and serological parameters in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research e Therapy* 2015; 17: 92. 1-12.
- 40- Oglesby A, Shaul AJ, Pokora T, Paramore C, Cragin L, Dennis G, Narayanan S, Weinstein A. Adverse event burden, resource use, and costs associated with immunosuppressant medications for the treatment of systemic lupus
- 41- Yim HE, Yoo KH. Membranous nephropathy in a 13 year old boy with common variable immunodeficiency. *J Korean Med Sci* 2012; 27: 1436-1438.
- 42- Endo LM, Giannobile JV, Dobbs AK, Foote JB, Szymanska E, Warnock DG, Cook WJ, et al. Membranous glomerulopathy in an adult patient with x-linked agammaglobulinemia receiving intravenous gammaglobulin. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2011; 21(5): 405-409.
- 43- Kaltenbora A, Schrem. Mycophenolate mofetil in liver transplantation: A review. *Ann Transplant*, 2013; 18: 685-696.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Caracterização dos pacientes no grupo com proteinúria (P+) e sem proteinúria (P-)

	Grupo P+ (n = 20)	Grupo P- (n=33)	p
IDADE (anos)	36,3	36,3	0,948
IgG (mg/100mL)	1060,6 ± 474,5	1468,7 ± 431,8	0,002
IgA (mg/100mL)	269,1 ± 154,8	256,2 ± 106,4	0,826
IgM (mg/100mL)	90,8 ± 70,9	79,6 ± 48,6	0,783
Sorologia para rubéola UI/mL)	182,3 ± 121,2	173,7 ± 114,8	0,781

Grupo P+: Proteinúria + e MMF + ; Grupo P-: Proteinúria – e MMF + ou MMF-

P<0,05

*Os pacientes que tiveram sorologia negativa para rubéola, foram retiradas da análise de resposta funcional;

Tabela 2: Alterações da imunidade Humoral

		Alteração da Imunidade Humoral		p- valor(fisher)
		Sim	não	
Nível de proteinúria	P+	5	15	0,005
	P-	0	33	
	Total	5	48	
SLEDAI	Com atividade	5	15	0,006
	Sem atividade	0	32	
	Total	5	47	
MMF	MMF +	5	33	0,305
	MMF -	0	15	
	Total	5	48	

SLEDAI – Systemic Lupus Erythematosus Diseases Activity Index

MMF – micofenolato de mofetil

P<0,05

Tabela 3: Caracterização do paciente com alteração da imunidade humoral, idade, proteinúria, Dose de micofenolato de mofetil, classe histológica, níveis de imunoglobulina, resposta vacinal a rubéola e provável diagnóstico clínico.

Paciente	Idade	Proteinúria	Micofenolato de mofetil	Classe histológico	SLEDAI	IgG	IgA	IgM	Rubeola	Provável diagnóstico clínico
1	24	1683	3	V	4	339	268	49	Positivo	Hipogamaglobulinemia
2	20	3016	3	III	12	311	65	32	Negativo	Hipogamaglobulinemia
3*	32	4416	2	V	8	302	136	52	Positivo	Hipogamaglobulinemia
4	47	1067	2	II	12	888	275	8	Positivo	Deficiência seletiva de IgM
5*	33	2200	3	III	8	1070	0	112	Positivo	Deficiência parcial de IgA

*paciente 3 apresentava-se com albumina 1,2

*paciente 5 apresentava-se com microangiopatia trombótica

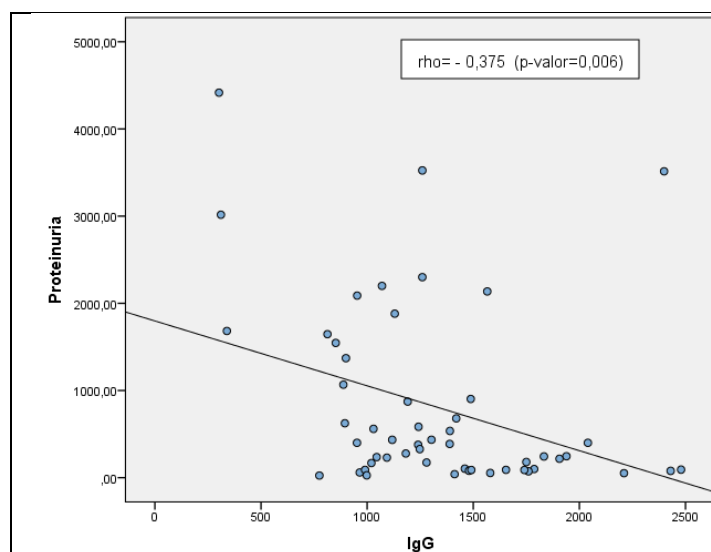


Figura 1A - Correlação da Proteinúria com IgG

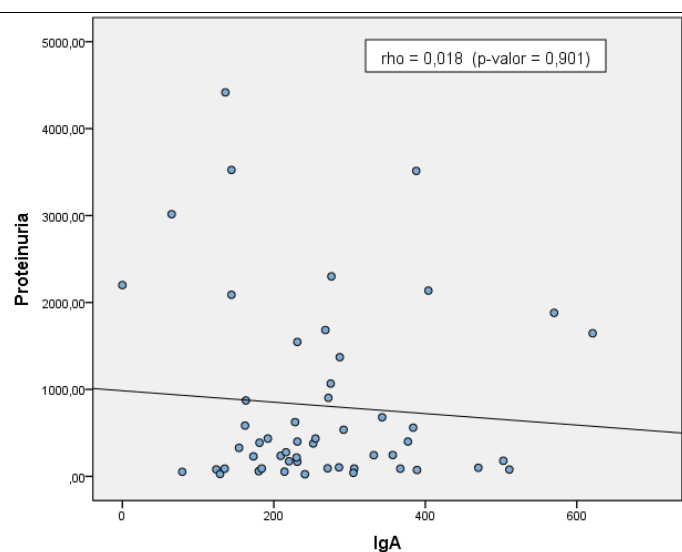


Figura 1B - Correlação da Proteinúria com IgA

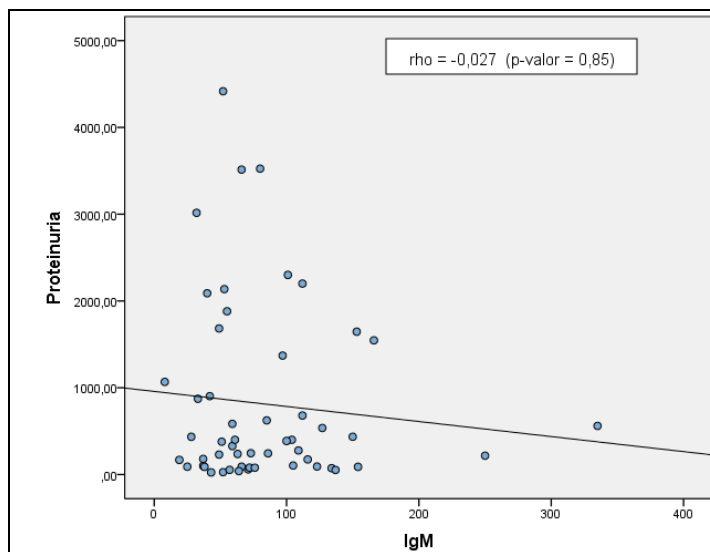


Figura 1C - Correlação da Proteinúria com IgM

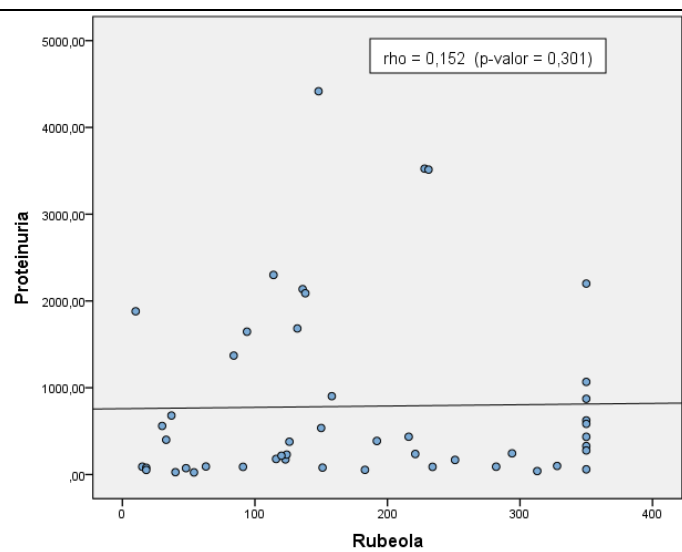


Figura 1D - Correlação da Proteinúria com Rubeola

Figura 1: Correlação dos níveis de IgG, IgA, IgM e resposta sorológica a rubéola com a proteinúria

P<0,05

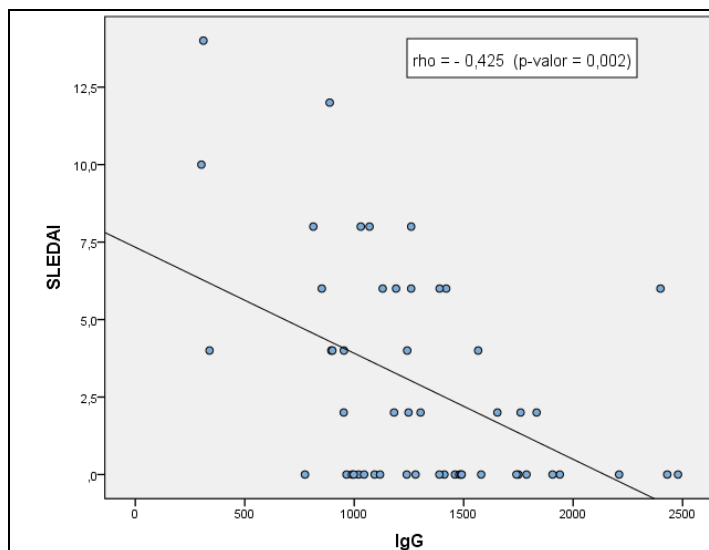


Figura 2A - Correlação do SLEDAI com IgG

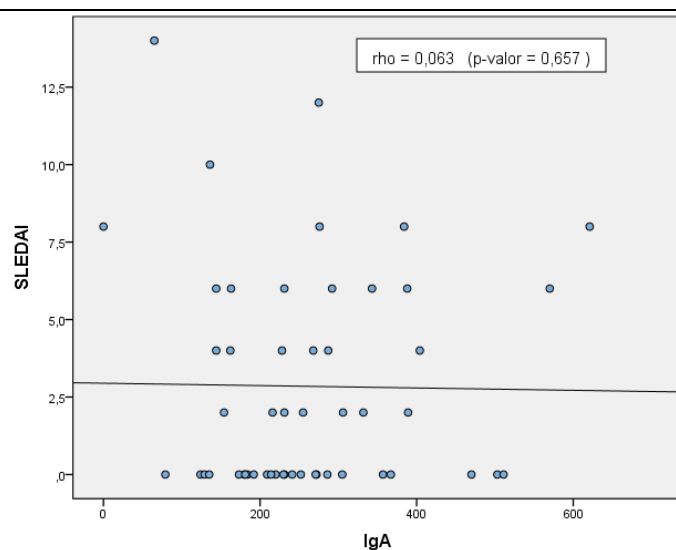


Figura 2B - Correlação do SLEDAI com IgA

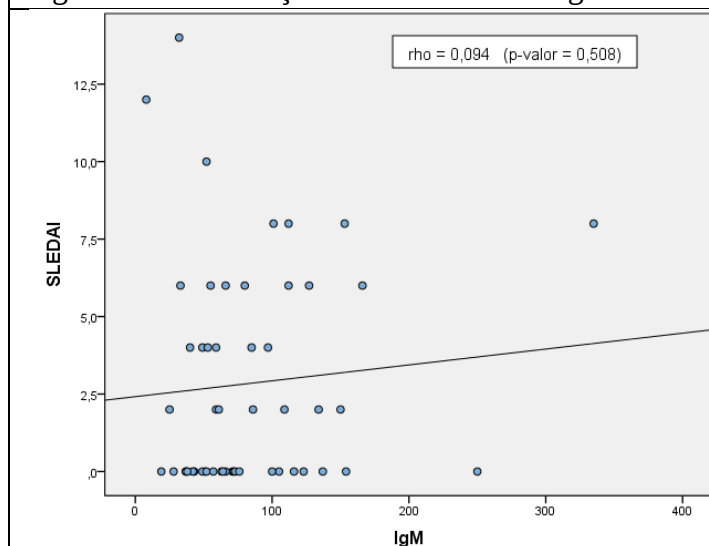


Figura 2C - Correlação do SLEDAI com IgM

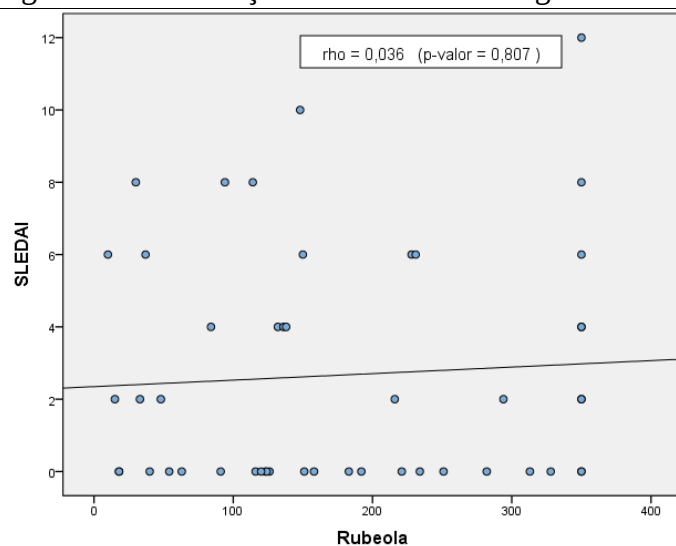


Figura 2D - Correlação do SLEDAI com Rubéola

Figura 2: Correlação dos níveis de IgG, IgA, IgM e resposta sorológica a rubéola com o SLEDAI

$P < 0,05$

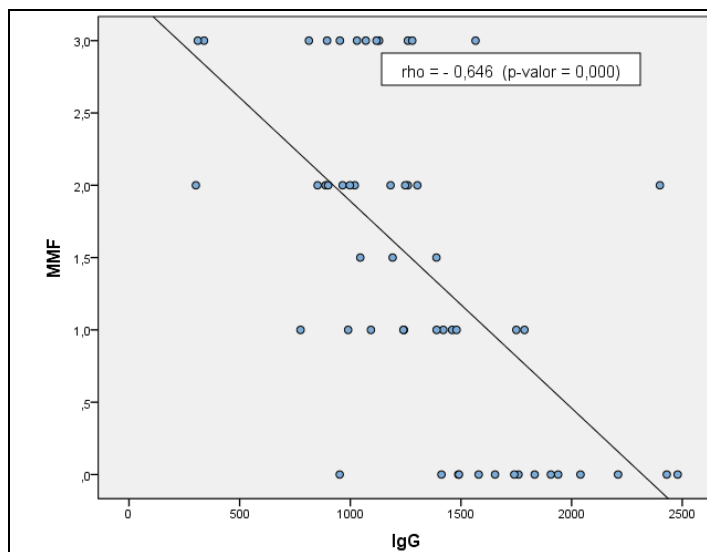


Figura 3A - Correlação do MMF com IgG

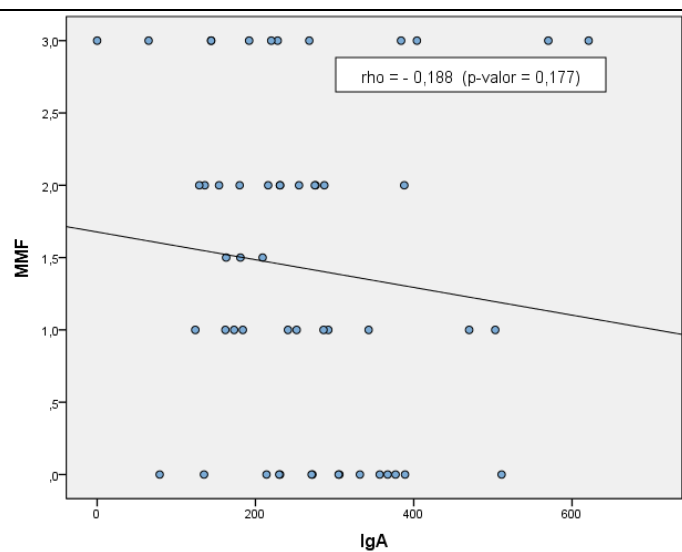


Figura 3B - Correlação do MMF com IgA

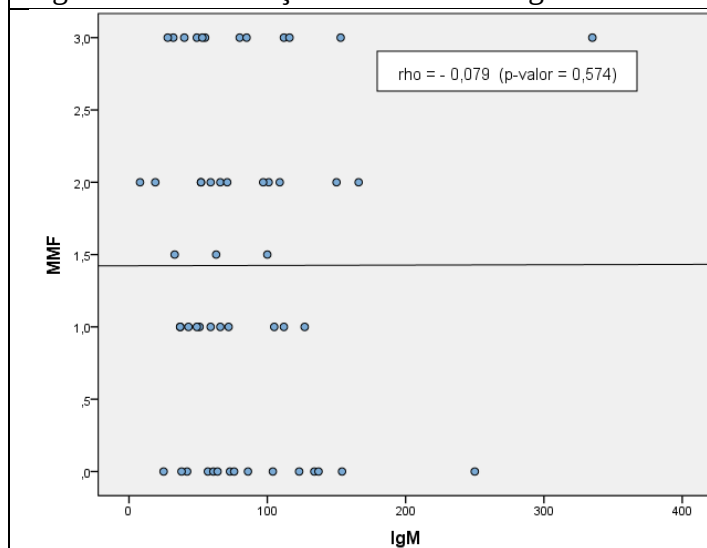


Figura 3C - Correlação do MMF com IgM

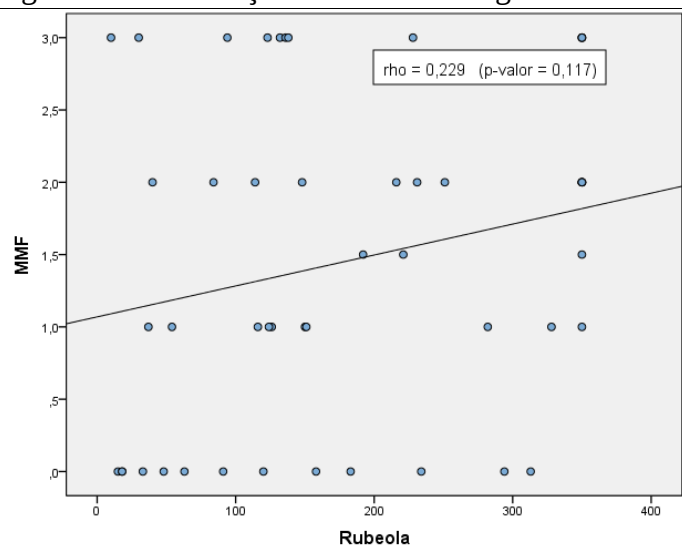


Figura 3D - Correlação do MMF com Rubeola

Figura 3: Correlação dos níveis de Ig G, Ig A, IgM e resposta sorológica a rubéola com o MMF

$P < 0,05$

Tabela 4: Coeficientes do modelo de regressão linear múltiplo tendo como variáveis independentes SLEDAI, MMF e proteinúria e o IgG como dependente.

Model	Coefficients ^a				p.
	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	
	B	Std. Error	Beta		
(Constant)	1706,669	87,813		19,435	,000
SLEDAI	-43,328	23,409	-,318	-1,851	,070
MMF	-240,959	59,764	-,555	-4,032	,000
Proteinúria	,095	,080	,207	1,186	,241

a. Dependent Variable: IgG

SLEDAI – Systemic Lupus Erythematosus Diseases Activity Index

MMF – micofenolato de mofetil

P<0,05

4.2 ARTIGO ORIGINAL 2

AVALIAÇÃO DO VÍRUS EPSTEIN BARR, CITOMEGALOVIRUS E DEFICIÊNCIA HUMORAL EM PACIENTES COM LES: O QUE É NECESSÁRIO?

RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune que acomete vários órgãos ou sistemas. Vários fatores estão relacionados ao seu desenvolvimento, tais como infecções, medicamentos e estilo de vida, em virtude da susceptibilidade genética preexistente. Os vírus Epstein Barr (EBV) e citomegalovirus (CMV) são citados como importantes causas na patogênese do LES. Há evidências também da presença de imunodeficiência humoral, primária ou secundária, associado com o LES. **OBJETIVOS:** Avaliar a prevalência da positividade da sorologia para o vírus Epstein Barr e citomegalovirus, assim como a prevalência de imunodeficiência humoral nos pacientes com nefrite lúpica. **MÉTODOS:** Foram analisados 53 pacientes do gênero feminino com diagnóstico de nefrite lúpica e comparados com a população geral. A sorologia para EBV e CMV foi determinada pelo método ELISA e a quantificação das imunoglobulinas pelo método da nefelometria. **RESULTADOS:** A prevalência da positividade da sorologia para CMV e EBV foi de 92% (49/53) e 88% (47/53) respectivamente nos pacientes lúpicos e assemelharam-se à população geral ($p>0,05$). A imunodeficiência humoral foi mais prevalente nos lúpicos 9,43% (5/53), quando comparado à população geral ($p<0,05$). **CONCLUSÃO:** A sorologia para CMV e EBV não demonstrou relevância clínica no acompanhamento de pacientes portadores de LES, pois a positividade sorológica não é diferente da população geral. A pesquisa de deficiência humoral, através das dosagens de imunoglobulinas demonstrou ser relevante nos pacientes lúpicos, pois ocorreu em nosso estudo numa frequência em torno de 10% dos pacientes avaliados.

Palavras chaves: Lupus eritematoso sistêmico; Citomegalovirus; vírus Epstein Barr; imunodeficiência primária, Doença autoimune

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune inflammatory disease that affects various organs or systems. Various factors are related to the development, such as infection, drugs, and lifestyle, because of preexisting genetic susceptibility. The Epstein Barr virus (EBV) and cytomegalovirus (CMV) are cited as important causes in the pathogenesis of SLE. There is also evidence of the presence of humoral, primary or secondary immunodeficiency associated with SLE. **OBJECTIVES:** To assess the prevalence of positive serology for Epstein Barr virus and cytomegalovirus, as well as the prevalence of humoral immunodeficiency in patients with lupus nephritis. **METHODS:** We analyzed 53 female patients diagnosed with lupus nephritis and compared with the general population. The serology for EBV and CMV was determined by ELISA and the quantification of immunoglobulins by the method of nephelometry. **RESULTS:** The prevalence of positive serology for CMV and EBV was 92% (49/53) and 88% (47/53) respectively in lupus patients and resembled the general population ($p > 0.05$). The humoral immune deficiency was more prevalent in lupus 9.43% (5/53), when compared to the general population ($p < 0.05$). **CONCLUSION:** EBV and CMV serology did not show clinical relevance in the treatment of patients with SLE, since the seropositivity is no different from the general population. The humoral deficiency research, through the dosages of immunoglobulins show to be relevant in lupus patients, as occurred in our study at a frequency around 10% of the patients.

Key words: Systemic lupus erythematosus; Cytomegalovirus; Epstein Barr virus; primary immunodeficiency, autoimmune disease.

INTRODUÇÃO:

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica autoimune que acomete vários órgãos ou sistemas, com prevalência em estudo americano, realizado entre 2003 a 2008, de 7,2/100 mil habitantes e em estudo brasileiro em torno de 8,7/100 mil habitantes.^{1,2,3} Há vários fatores relacionados ao desenvolvimento do LES, tais como infecções, medicamentos e estilo de vida que podem ser decorrentes de uma susceptibilidade genética preexistente. No que diz respeito às infecções, como fatores importantes na patogênese, uma variedade de vírus, sobretudo da classe herpes vírus, têm sido incriminadas.⁴

O vírus Epstein-Barr (EBV) apresenta forte associação com o LES, e isso foi demonstrado em trabalhos que verificaram uma frequência elevada na positividade de testes sorológicos como o anti-VCA IgG, quando comparado ao grupo controle.⁵ Outros estudos constataram que a imunização de cobaias com o seqüenciamento EBNA-1 do gene do vírus EBV, foi capaz de estimular a produção do anticorpo anti-Sm, sendo este específico para o LES.^{6,7} Estudos sugerem também que o citomegalovírus contribui como importante causa na patogênese do LES, sendo verificada uma frequência também elevada da sorologia para CMV nos pacientes com LES.^{8,9}

Alterações genéticas que predisponham ao surgimento do LES, também podem cursar com imunodeficiência primária humoral.¹⁰ Um estudo com 86 pacientes pediátricos portadores de LES identificou que seis apresentavam hipogamaglobulinemia, sendo primária ou secundária, e nestes, foi identificada uma forte associação com nefrite lúpica.¹¹ Outros estudos demonstram a presença de deficiência da imunidade humoral nos pacientes lúpicos, sendo descrito imunodeficiência comum variável, deficiência seletiva de IgA, deficiência seletiva de IgM e deficiência específica de anticorpos; e uma análise de uma série de 18 casos demonstrou a presença dessas imunodeficiências primárias em pacientes com diagnóstico de LES.^{12,13,14}

Este estudo objetiva avaliar a prevalência da sorologia do citomegalovírus e do vírus Epstein Barr, e de possíveis imunodeficiências humorais em 53 pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico associado com nefrite, conjecturando sobre a importância destas investigações na prática clínica.

METODOLOGIA:

Trata-se de um estudo clínico exploratório, transversal e comparativo para verificar a prevalência de sorologia positiva para vírus Epstein Barr e citomegalovirus e deficiências da imunidade humoral em pacientes portadores de nefrite lúpica. Foram analisados 53 pacientes do gênero feminino na faixa etária entre 18 e 60 anos de idade do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. O estudo foi realizado no período de outubro de 2013 a junho de 2014. Todos os pacientes eram portadores de LES, de acordo com os critérios do American College Rheumatology (ACR)^{15,16,17}, associado com nefrite e deveriam possuir estudo histopatológico de biópsia renal com análise por microscopia eletrônica e imunofluorescência, e classificados de acordo com a Sociedade Internacional de Nefrologia (SIN).^{18,18,20} Estavam em uso do micofenolato de mofetil, como tratamento imunossupressor com doses que variavam de 500mg a 3g por dia, associado com a hidroxicloroquina com doses diárias de 200 a 400mg. Quanto ao uso do corticosteroide somente foram incluídos os pacientes que se encontravam em doses não imunossupressoras, sendo a prednisona o corticosteroide usado de rotinas pelo serviço em doses máximas de 20mg. Aqueles submetidos a regimes de pulsoterapia (corticosteroide em altas doses) não participaram do estudo. Foram excluídos ainda os pacientes com outras causas possíveis de síndrome nefrótica e uso de anticonvulsivante, uma vez que proteinúria a níveis nefróticos cursa com perdas urinárias de imunoglobulinas e o uso de anticonvulsivante interfere na imunidade humoral.

Para realizar a comparação das prevalências encontradas no estudo com a população em geral foram utilizados os seguintes estudos:

- - Serra FC et al 2009 – Um estudo de prevalência de citomegalovirus, em um grupo de 4620 gestantes procedentes de diferentes estados brasileiros;²¹
- - Kuschnaroff TM et al 2007 – Um estudo de prevalência do vírus Epstein Barr, com um grupo controle de 36 doadores de sangue da cidade de São Paulo.²²
- - Roxo Júnior P et al 2005 – Um estudo de prevalência de imunodeficiência primária do grupo de Ribeirão Preto-SP. Nesse estudo foi utilizado como referência a deficiência humoral mais comum, a deficiência seletiva de IgA, cuja prevalência foi de 0,1%, visto que é a deficiência humoral, primária ou

secundária, mais registrada pela Latin American Society Immunodeficiencies - LASID.²³

Após a aprovação dos critérios de inclusão foi preenchido o formulário com anamnese e realizado o exame clínico, foi coletado exames para dosagem das imunoglobulinas e sorologia para CMV, EBV. A quantificação das imunoglobulinas séricas foi realizada pelo método de nefelometria e as sorologias pelo método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Os valores referenciais de normalidade das imunoglobulinas foram de acordo com a referência Fujimore e os critérios diagnósticos de possíveis deficiências primárias foram de acordo com o ESID (European Society for Immunodeficiencies).^{24,25,26}

ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Com base no banco de dados de 53 pacientes, executou-se a análise estatística usando o software R e SPSS com o objetivo de verificar medidas descritivas e testes pertinentes. Na verificação da positividade para CMV, EBV e presença de imunodeficiência humoral em comparação com a população geral, aplicou-se o teste Qui-Quadrado de Independência para o CMV e o teste Exato de Fisher para o EBV e a presença de imunodeficiência humoral.²⁸

RESULTADOS:

Foram incluídos no estudo 53 pacientes com diagnóstico de lupus eritematoso sistêmico conforme os critérios do American College Rheumatology (ACM). Todos os pacientes eram do gênero feminino, portadores de nefrite lúpica e apresentavam uma média de 1311 de IgG, 261 de IgA e 83 de IgM. TABELA 1.

Foi verificado uma prevalência de 92%(49/53) de positividade na sorologia para CMV nos pacientes portadores de nefrite lúpica e uma frequência de 84% na população geral, demonstrando não haver diferença estatisticamente significativa ($p=0,103$). TABELA 2.

Foi constatada uma prevalência de 88%(47/53) de positividade para o EBV nos pacientes de nefrite lúpica e uma frequência de 94% na população comparativa, demonstrando não haver diferença estatisticamente significativa ($p>0,204$). TABELA 3

Foi constatada uma prevalência de 9,43% (5/53) de imunodeficiência humoral nos pacientes portadores de nefrite lúpica e mostrou-se estatisticamente significativa quando comparado a prevalência de 0,1% (1/1000) da população geral ($p<0,05$). TABELA 4

DISCUSSÃO:

No presente estudo foi constatado que os pacientes com lupus eritematoso sistêmico apresentaram positividade para citomegalovirus (CMV) e vírus Epstein Barr (EBV) semelhante à população geral. Em outros estudos constatações divergentes foram evidenciadas quanto à positividade dessas sorologias em pacientes lúpicos, quando comparado à população geral, uma vez que alguns trabalhos demonstraram a presença dessa correlação, e outros estudos não.^{5,8,9} A pesquisa das sorologias para CMV e EBV nesses pacientes não evidenciou importância clínica, apesar das evidências desses vírus estarem relacionados ao desenvolvimento do LES, como observado quando o sequenciamento EBNA-1 do gene EBV foi capaz de estimular a produção do anti-Sm, um anticorpo específico do LES.^{6,7}

Foi evidenciado em nosso estudo que 9,43% (5/53) dos pacientes com nefrite lúpica apresentaram-se com deficiência da imunidade humoral, primária ou secundária, com relevância clínica quando comparado à população geral. Dos cinco pacientes com deficiência humoral, três apresentaram hipogamaglobulinemia, primária ou secundária, com valores de IgG menor que 500 não sendo possível no momento estabelecer a natureza da deficiência. Um paciente apresentou deficiência seletiva de IgA e outro apresentou deficiência seletiva de IgM. A frequência descrita das deficiências da imunidade humoral no nosso estudo é semelhante à encontrada na literatura mundial no que se refere a pacientes com LES.^{28,29} Um estudo com pacientes pediátricos portadores de LES identificou seis casos de hipogamaglobulinemia (6,9%) dentre os 86 participantes sendo que dois pacientes haviam recebido o rituximab (uma droga com ação anti- linfócito B) e tinham, portanto, provável causa secundária.¹¹

Essas deficiências humorais podem se apresentar no LES e outras doenças autoimunes como deficiências primárias e/ou secundárias. Em relação à associação do LES e imunodeficiência primária, um estudo avaliou 248 pacientes com imunodeficiência comum variável e verificou que 55 (22%) eram portadores de doenças autoimunes, e destes pacientes, dois eram lúpicos.³⁰ Outro estudo constatou uma frequência de 5,2% de deficiência seletiva de IgA nos pacientes lúpicos, demonstrando a importância de pesquisar possíveis imunodeficiências primárias nesses pacientes, devido a associação com um curso mais grave da doença, além de um maior risco de infecções.²⁸ Dos cinco pacientes que se encontravam com imunodeficiência, dois possuíam história de infecções de repetição (pneumonia, sinusite e otite) por bactérias encapsuladas.

Foi verificado em nosso estudo que a pesquisa da sorologia para CMV e EBV não demonstrou relevância clínica no acompanhamento de pacientes portadores de LES, pois a positividade sorológica não os diferencia da população geral e não traz nenhum acréscimo na condução e evolução desses pacientes, além de trazer um ônus desnecessário à saúde pública. Diferentemente, a dosagem de imunoglobulinas, em nosso estudo, demonstrou ser relevante nos pacientes com lúpus na investigação de imunodeficiências, pois uma redução significativa nos níveis séricos de imunoglobulinas ocorreu numa frequência de quase 10% dos pacientes avaliados. Essa deficiência por sua vez tem implicações importantes no desfecho desfavorável do lúpus por estar associada com evolução mais grave da doença e maior risco de infecções. Em virtude desses achados recomendamos que nos pacientes lúpicos seja realizada investigação da imunidade humoral com pesquisa de imunoglobulinas séricas, e descartada a necessidade de investigação, como uma rotina, desprovida de manifestações clínicas, para os vírus CMV e EBV, através de sorologias.

REFERÊNCIAS

- 1- Salgado AZ, Diaz CH. Lupus nephritis: an Overview of recent findings. *Autoimmune Diseases* 2012 mar; 22: 1-21.
- 2- Furst DE, Clarke AE, Fernandes AW, Brancroft T, Greth W, Iorga S. Incidence and prevalence of adult systemic lupus erythematosus in a large US managed care population. *Lupus* 2012 Oct 5
- 3- Villar MJ, Sato EI. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). *Lupus* 2002; 11: 528-32.
- 4- Nelson P, Rylance P, Roden D, Trela M, Tugnet N. Viruses as potential pathogenic agents in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2014; 23: 596-605.
- 5- Hanlon P, Avenell A, Aucott L, Vickers MA. Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research e Therapy*, 2014. 16.
- 6- Sundar K, Sabine J, Gottlieb P, Villars R, Benito ME, Taylor DK, Spatz LA. Expression of the Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) in the mouse can elicit the production of anti-dsDNA and anti-Sm antibodies. *Journal of Autoimmunity*, 2004; 23: 127-140.
- 7- Sundar K, Jacques S, Gottlieb P, Villars R, Benito ME, Taylor DK, Spatz LA. Expression of the Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) in the mouse can elicit the production of anti-dsDNA and anti-Sm antibodies. *Journal of autoimmunity*; 2004; 23: 127-140.
- 8- James JA, Kaufman KM, Farris AD, Taylor-Albert E, Lehman TJA, Harley JB. An increased prevalence of Epstein Barr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*; 1997; 100: 3019-3026.
- 9- Halenius A, Hengel H. Human Cytomegalovirus and Autoimmune Disease. *BioMed Research International*, 2014. 1-15.
- 10- Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Hagiwara K, Kano H, Takazoe M, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Polymorphisms of human CD19 gene: Possible association with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes and immunity* 2002, suppl 1, 20-30.
- 11- Lim E, Tao yu, White AJ, French AR, Cooper MA. Hypogammaglobulinemia in pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2013, nov 22(13): 1382-1387.

- 12- Yong PFK, Aslam L; Karim MY; Khamashta MA. Management of hypogammaglobulinaemia occurring in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2008; 47 1400-1405.
- 13- Desar IME, Weemaes CMR, Deuren MV, Meer JWMV. Reversible hypogammaglobulinaemia. *The Journal of Medicine* 2007; nov 65(10). 381-5.
- 14- Fernandez Castro M, Mellor-Pita S, Jesus CM et al. Common variable immunodeficiency in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 2007; 36;238-45.
- 15- Tan EM, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
- 16- Hochberg MC, et al. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
- 17- Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *American College of Rheumatology* 2012 August; 64(8): 2677-2686.
- 18- Weening JJ, D'Agatti VD, Schwartz MM, Sesshan SV, Alers CE, Appel GB, et al. On behalf of the International Society of Nephrology and Renal Pathology Society Working Group on the classification of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 241-250.
- 19- Eknoyan G, Lameire N, Eckadt K, Kasiske BI, Abboud OI, Adler , et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. *J Int Soc Nephrol* 2012 Jun 2; 2: 221-232.
- 20- Golgfarb S, Townsend RR, Deuter G, Cohen D, Choi MJ, Emmett M, et al. Glomerular, Vascular and Tubulointerstitial Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2012 May 11; 3: 171-182.
- 21- Serra FC, Machado J, Nicola MH, Jorge MCAS, Cruz LE, Giordano MV, Silva RO. Soroprevalência de citomegalovírus em gestantes brasileiras de classe socioeconômica favorecida. *J Brás Doenças Sex Trasm*, 2009; 23:12-15.
- 22- Kuschnaroff, Berrocal TG, Klautau GB, Chiattoni CS, Langhi Jr DM, Souza JF, Rio RC, Barbosa Jr AP. Prevalência da infecção pelo vírus Epstein-Barr em voluntários doadores de sangue e indivíduos em AIDS na cidade de São Paulo. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*, 2007. 52(1): 8-13.



- 23- Roxo Júnior P, Menezes UP, Ferriani. VPL. Relative frequency between primary immunodeficiency groups in the primary immunodeficiency ward of Ribeirão Preto Clinics Hospital-USP, from 1994 to 2005. Clinics. 2005;60:55.
- 24- Fujimura MD. Níveis séricos das subclasses de imunoglobulina G em crianças normais e nefróticas . São Paulo, SP: USP; 1990.
- 25- Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic Criteria for Primary Immunodeficiencies. Clinical Immunology, 1999. 93 (3): 190-197.
- 26- ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID
- 27- Andy Field. (2009). Discovering statistics using SPSS. Sage publications.
- 28- Rankin EC, Isenberg DA, IgA deficiency and SLE prevalence in a clinic population and a review of the literature. Lupus 1997, 6: 390-4.
- 29- Cassidy JT, Kitson RK, Selby CL. Selective IgA deficiency in children and adults with systemic lupus erythematosus. Lupus 2007; 16: 647-50.
- 30- Charlotte-Cunningham R, Bodiant C. Common Variable Immunodeficiency: Clinical and Immunological Features of 248 Patients. Clinical Immunology 1999; july 92(1): 34-48.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Caracterização conforme idade, IgG, IgA e IgM

	Grupo (n = 53)
IDADE (anos)	36,3 ± 11,2
IgG (mg/100mL)	1311,7 ± 487,2
IgA (MG/100mL)	261,2 ± 125,9
IgM (MG/100mL)	83,9 ± 57,8

Tabela 2: Prevalência da sorologia para citomegalovírus em portadores de nefrite lúpica

	Sorologia CMV+	Sorologia CMV-	P
Grupo Nefrite lúpica	49	4	0,103
População comparativa	3894	726	
P<0,05			

Tabela 3: Prevalência da sorologia para o vírus Epstein Barr em portadores de nefrite lúpica

	EBV+	EBV-	P
Grupo Nefrite lúpica	47	6	0,204
População comparativa	34	2	
P<0,05			

Tabela 4: Prevalência de imunodeficiência humoral em portadores de nefrite lúpica

	Deficiência humoral	Sem Deficiência humoral	P
Grupo Nefrite lúpica	5	48	P<0,05
População comparativa	1	1000	
P<0,05			

CAPITULO 4

CONCLUSÃO-

- A proteinúria reduz os níveis de IgG, porém não a ´ponto de desenvolver hipogamaglobulinemia;
- - Imunodeficiência humoral, primária ou secundária, está presente nos pacientes portadores de nefrite lúpica;
- - O micofenolato de mofetil foi a variável que se correlacionou com a redução de IgG, porém não sendo capaz de promover níveis compatíveis com imunodeficiência;
- - A sorologia de citomegalovirus e vírus epstein barr não demonstrou relevância clínica no acompanhamento de pacientes portadoras lupus eritematoso sistêmico.

REFERÊNCIA DA DISSERTAÇÃO

- 1- Agarwal S, Cunningham-Rundles C. Assessment and clinical interpretation of reduced IgG values. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007 sept, 99(3). 281-283
- 2- Andy Field. (2009). *Discovering statistics using SPSS*. Sage publications.
- 3- Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics*, 1952. Jun, 9(6): 722-8.
- 4- Carneiro-Sampaio M, Liphaus BL, Jesus AA, Silva CAA, Oliveira JB, Kiss MH. Understanding Systemic lupus erythematosus physiopathology in the light of primary immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2008; 28 (suppl 1): 34-41.
- 5- Cassidy JT, Kitson RK, Selby CL. Selective IgA deficiency in children and adults with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 647-50.
- 6- Chinen J, Shearer WT. Advances in basic and clinical immunology 2010. *J Allergy Clin Immunol*, 2011. Feb 1; 127(2): 336-341.
- 7- Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic Criteria for Primary Immunodeficiencies. *Clinical Immunology*, 1999. 93 (3): 190-197.
- 8- Cunningham-Rundles C. Human B cell defects in perspective. *Immunol Res*, 2012. Dec; 54(1-3): 227-232.
- 9- Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common Variable Immunodeficiency: Clinical and Immunological Features of 248 Patients. *Clinical Immunology* 1999; July 92(1): 34-48.
- 10- Danza A, Irastorza G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. *Lupus* 2013, 22. 1286-1294.
- 11- Desar IME, Weemaes CMR, Deuren MV, Meer JWMV. Reversible hypogammaglobulinaemia. *The Journal of Medicine* 2007; Nov 65(10). 381-5.
- 12- Eknoyan G, Lameire N, Eckardt K, Kasiske BI, Abboud OI, Adler , et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. *J Int Soc Nephrol* 2012 Jun 2; 2: 221-232.
- 13- ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID
- 14- Fassbinder T, Saunders U, Eva Mickholz E, Elisabeth Jung, Heidemarie B, Shluter B, Jacobi AM. Differential effects of cyclophosphamide and mycophenolate mofetil on cellular and serological parameters in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research e Therapy* 2015; 17: 92. 1-12.
- 15- Fedor ME, Rubinstein A. Effects of long-term low dose corticosteroid therapy on humoral immunity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97: 113-6.

- 16-Fernandez Castro M, Mellor-Pita S, Jesus CM et al. Common variable immunodeficiency in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 2007; 36;238-45.
- 17-Fujimura MD. Níveis séricos das subclasses de imunoglobulina G em crianças normais e nefróticas . São Paulo, SP: USP; 1990.
- 18-Furst DE, Clarke AE, Fernandes AW, Brancroft T, Greth W, Iorga S. Incidence and prevalence of adult systemic lupus erythematosus in a large US managed care population. *Lupus* 2012 Oct 5
- 19-Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic Lupus Erythematosus Diseases Activity Index 2000. *J Rheumatol*, 2002. 29: 288-91.
- 20-Golgarb S, Townsend RR, Deuter G, Cohen D, Choi MJ, Emmett M, et al. Glomerular, Vascular and Tubulointerstitial Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2012 May 11; 3: 171-182.
- 21-Hamzi HA, Shaikn AA, Arnaout RK. Poor specific antibody response immunodeficiency (dysgammaglobulinemia)predates systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2013, 22. 961-966. Hochberg MC, et al. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
- 22-Hochberg MC, et al. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
- 23-Karim MY. Immunodeficiency in the lupus clinic. *Lupus* 2006, 15. 127-131
- 24-Kuroki K, Tsuchiya N, Tsao BP, Grossman JM, Fukazawa T, Hagiwara K, Kano H, Takazoe M, Iwata T, Hashimoto H, Tokunaga K. Polymorphisms of human CD19 gene: Possible association with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes and immunity* 2002, suppl 1, 20-30.
- 25-Lim E, Tao yu, White AJ, French AR, Cooper MA. Hypogammaglobulinemia in pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2013, nov 22(13): 1382-1387.
- 26-Mardia, K. V., Kent, J. T., Bibby, J. M. (1979). Multivariate analysis. Academic press.
- 27-Merino GA. Anticuerpos monoclonales. *Aspectos básicos Neurología*, 2011; 26(5): 301-306.
- 28-Oglesby A, Shaul AJ, Pokora T, Paramore C, Cragin L, Dennis G, Narayanan S, Weinstein A. Adverse event burden, resource use, and costs associated with

- immunosuppressant medications for the treatment of systemic lupus erythematosus: a systematic literature review. *International Journal of Rheumatology* . 2013. 1-9
- 29- Osler W. On the visceral complications of erythema exudativum multiforme. *Am J Med Sci*, 1895; 110: 629-646.
 - 30- Park SJ, Shin JI. Complications of nephrotic syndrome. *Korean J Pediatr* 2011, 54(8). 322-328.
 - 31- Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *American College of Rheumatology* 2012 August; 64(8): 2677-2686.
 - 32- Rankin EC, Isenberg DA, IgA deficiency and SLE prevalence in a clinic population and a review of the literature. *Lupus* 1997, 6: 390-4.
 - 33- Salki O, Saeki Y, Tanaka T et al. Development of selective IgM deficiency in systemic lupus erythematosus patients with disease of long duration. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 1289-92
 - 34- Salgado AZ, Diaz CH. Lupus nephritis: an Overview of recent findings. *Autoimmune Diseases* 2012 mar; 22: 1-21.
 - 35- Senaldi G, Ireland R, Bellingham AJ, Vergani D, Veerapan K, Wang F. IgM reduction in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1213.
 - 36- Smith CD, Cyr M. The histoty of lupus erythematosus from Hippocrates to Osler. *Rheum Dis Clin North Am*, 1988; 14: 1-19.
 - 37- Song J, Park YB, Suh CH, Lee SK. Transient panhypogammaglobulinaemia and B-lymphocyte deficiency in a patient with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus after immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol* 2003; 22;62-6.
 - 38- Spika JS, Halsey NA, Fish AJ, Lum GM, Lauer BA, Schiffman G, Giebink GS. Serun antibody response to pneumococcal vaccine in children with nephrotic syndrome. *Pediatrics* 1982 Feb 69 (2): 219-23.
 - 39- Takeuchi T, Nakagawa T, Maeda Y et al. Functional defect of B lymphocytes in a patient with selective IgM deficiency associated with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2001; 34: 115-22.
 - 40- Tan EM, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
 - 41- Thompson EN, Johnson RS. A case of primary idiopathic hypogammaglobulinaemia associated with haemolytic anaemia. *Postgrad. Med J*, 1962; 38: 292-295.



- 42- Villar MJ, Sato EI. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). *Lupus* 2002; 11: 528-32.
- 43- Weening JJ, D'Agatti VD, Schwartz MM, Sesshan SV, Alers CE, Appel GB, et al. On behalf of the International Society of Nephrology and Renal Pathology Society Working Group on the classification of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 241-250
- 44- Yap DYH, Yung S, Ma MKM, Mok MMY, Kwan LPY, Chan GCW, Chan TM. Serum immunoglobulin G level in patients with lupus nephritis and the effect of treatment with corticosteroids and mycophenolate mofetil. *Lupus* 2014; jan 23. 678-683.
- 45- Yong PFK, Aslam L; Karim MY; Khamashta MA. Management of hypogammaglobulinaemia occurring in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2008; 47 1400-1405.
- 46- Zonana-Nacach A, Camargo-Coronel A, Yanez P, Sanchez L, Jimenez-Balderas FJ, Fraga A. Infections in outpatients with systemic lupus erythematosus: a prospective study. *Lupus* 2001, 10. 505-510.

APENDICES

APENDICE 1 QUESTIONÁRIO

Escala do Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity (SLEDAI)

Peso	Escore	Descritor	Definição
8		Convulsões	Início recente. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou drogas.
8		Psicose	Atividades normais prejudicadas devido a sérias alterações da percepção alterada da realidade. Inclui alucinações, incoerência, perda acentuada de associações, conteúdo de pensamento imprevisível, pensamento ilógico acentuado, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Excluir uremia e drogas.
8		Síndrome cerebral orgânica	Alteração da função mental com transtorno de orientação, memória ou outra função intelectual, com instalação rápida e flutuação das manifestações clínicas. Inclui alteração de consciência, com capacidade reduzida de focar e incapacidade para manter atenção ao meio, com pelo menos dois das seguintes: distúrbio de percepção, discurso incoerente, insônia ou sonolência diurna, atividade motora aumentada ou diminuída. Excluir causas metabólicas, infecciosas e/ou drogas.
8		Distúrbio visual	Alterações da retina no LES incluem corpos cetóides, hemorragia retiniana, exsudato seroso ou hemorrágico na coróide ou no nervo óptico. Excluir hipertensão, infecção e drogas.
8		Alterações de nervos cranianos	Aparecimento recente de neuropatia sensorial ou motora envolvendo nervos cranianos.
8		Cefaléia lúpica	Cefaléia grave, persistente; pode ser enxaqueca, mas deve ser não-responsiva à analgesia com narcóticos.
8		Acidente vascular cerebral	Aparecimento recente de acidente cerebrovascular. Excluir aterosclerose.
8		Vasculites	Uleração, gangrena, nódulos digitais dolorosos, infartos periungueais, pontos hemorrágicos, ou com biópsia ou arteriografia mostrando vasculites.
4		Artrites	Mais de duas articulações com dor e sinais inflamatórios (dor, edema ou derrame).
4		Miosites	Musculatura proximal dolorosa/fraca, associada à elevação de creatinina fosfoquinase/aldolase ou eletroneuromiografia alterada ou biópsia mostrando miosite.
4		Cilindros urinários	Presença de cilindros de hemoglobina ou de hemácias.
4		Hematúria	> 5 hemácias/campo. Excluir cálculos, infecções ou outras causas.
4		Proteinúria	> 0,5g/24h. Aparecimento recente ou aumento de mais de 0,5g/24h.
4		Leucocitúria	> 5 leucócitos/campo. Excluir infecções.
2		Novo rash	Aparecimento recente ou recorrência de rash inflamatório.
2		Alopecia	Aparecimento recente ou recorrência de perdas de cabelos focal ou difusa.



Rios MCM. Avaliação da Imunidade Humoral na Nefrite Lúpica

2		Úlceras orais	Aparecimento recente ou recorrência de ulcerações orais ou nasais.
2		Pleurite	Dor torácica tipo pleural, atrito pleural, ou derrame ou espessamento pleural.
2		Pericardite	Dor pericárdica com pelo menos um dos seguintes: atrito, derrame ou confirmação com eletrocardiograma ou ecocardiograma.
2		Complemento baixo	Queda de CH ₅₀ , C3 ou C4 abaixo dos valores normais.
2		Aumento de anti-DNA	Aumento acima dos níveis normais.
1		Febre	> 38°C. Excluir infecção.
1		Trombocitopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³
1		Leucopenia	< 3.000 leucócitos/mm ³ . Excluir drogas.

FICHA Nº: _____

Reg: _____

n Glome: _____

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: ☐ Masculino ☐ Feminino

Raça: ☐ Branca ☐ Negra ☐ Parda ☐ Amarela

Atividade: Sim ☐ Não ☐

Vacinação rubéola: Sim ☐ Não ☐

Vacinação rubéola: Sim ☐ Não ☐

Tipo histológico da nefrite: _____

Índice de SLEDAI : _____

Proteinúria : _____

IgG sérica : _____ IgG urinária: _____ U: _____

IgA sérica: _____ IgM sérica : _____ Cr: _____

C4 : _____ C3 _____ Albumina: _____

CH50 : _____ Anti-DNA: _____

Hemoglobina : _____ Plaquetas: _____ Linf total : _____

Leucócitos: _____ FAN: _____



SU: Bleucocitos ☐ Hemáceas ☐ Proteínas ☐

Sorologia p\ rubéola : _____ sorologia p\ Citomegalovirus: _____

Sorologia p\ Epstein Baar : _____

Infecções associadas:

☐ Pneumonia

☐ Sinusite

☐ Otite

☐ Amigdalite

☐ Uso de carbamazepina

☐ Uso de antimalárico

☐ Uso de corticóide

☐ Uso do MMF Dose _____ Indução ☐ Manutenção ☐

ANEXOS

ANEXO 1 SLEDAI SCORE

(Enter weight in SLEDAI Score column if descriptor is present at the time of the visit or in the preceding 10 days.)

Weight	SLEDAI SCORE	Descriptor	Definition
8	_____	Seizure	Recent onset, exclude metabolic, infectious or drug causes.
8	_____	Psychosis	Altered ability to function in normal activity due to severe disturbance in the perception of reality. Include hallucinations, incoherence, marked loose associations, impoverished thought content, marked illogical thinking, bizarre, disorganized, or catatonic behavior. Exclude uremia and drug causes.
8	_____	Organic brain syndrome	Altered mental function with impaired orientation, memory, or other intellectual function, with rapid onset and fluctuating clinical features, inability to sustain attention to environment, plus at least 2 of the following: perceptual disturbance, incoherent speech, insomnia or daytime drowsiness, or increased or decreased psychomotor activity. Exclude metabolic, infectious, or drug causes.
8	_____	Visual disturbance	Retinal changes of SLE. Include cytoid bodies, retinal hemorrhages, serous exudate or hemorrhages in the choroid, or optic neuritis. Exclude hypertension, infection, or drug causes.
8	_____	Cranial nerve disorder	New onset of sensory or motor neuropathy involving cranial nerves.
8	_____	Lupus headache	Severe, persistent headache; may be migrainous, but must be nonresponsive to narcotic analgesia.
8	_____	CVA	New onset of cerebrovascular accident(s). Exclude arteriosclerosis.
8	_____	Vasculitis	Ulceration, gangrene, tender finger nodules, periungual infarction, splinter hemorrhages, or biopsy or angiogram proof of vasculitis.
4	_____	Arthritis	≥ 2 joints with pain and signs of inflammation (i.e., tenderness, swelling or effusion).
4	_____	Myositis	Proximal muscle aching/weakness, associated with elevated creatine phosphokinase/aldolase or electromyogram changes or a biopsy showing myositis.
4	_____	Urinary casts	Heme-granular or red blood cell casts.
4	_____	Hematuria	>5 red blood cells/high power field. Exclude stone, infection or other cause.
4	_____	Proteinuria	>0.5 gram/24 hours
4	_____	Pyuria	>5 white blood cells/high power field. Exclude infection.
2	_____	Rash	Inflammatory type rash.
2	_____	Alopecia	Abnormal, patchy or diffuse loss of hair.
2	_____	Mucosal ulcers	Oral or nasal ulcerations.
2	_____	Pleurisy	Pleuritic chest pain with pleural rub or effusion, or pleural thickening.
2	_____	Pericarditis	Pericardial pain with at least 1 of the following: rub, effusion, or electrocardiogram or echocardiogram confirmation.
2	_____	Low complement	Decrease in CH50, C3, or C4 below the lower limit of normal for testing laboratory
2	_____	Increased DNA binding	Increased DNA binding by Farr assay above normal range for testing laboratory.
1	_____	Fever	>38° C. Exclude infectious cause.
1	_____	Thrombocytopenia	<100,000 platelets / x10 ⁹ /L, exclude drug causes.
1	_____	Leukopenia	< 3,000 white blood cells / x10 ⁹ /L, exclude drug causes.
TOTAL SLEDAI SCORE _____			

ANEXO 2 NÍVEIS SÉRICOS DAS IGGG

Adultos	IgG	IgA	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Percentil 3	739	84	81	256	180	12	13
P10	793	99	92	256	192	29	23
P25	860	132	103	401	214	43	30
P50	986	179	124	579	266	55	45
P75	1116	255	144	756	304	72	71
P97	1390	354	167	877	372	92	78

Fonte: Fujimura MD

ANEXO 3 SINAIS DE ALERTA



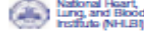
Warning Signs of Primary Immunodeficiency

Primary Immunodeficiency (PI) causes children and adults to have infections that come back frequently or are unusually hard to cure. 1:500 persons are affected by one of the known Primary Immunodeficiencies. **If you or someone you know is affected by two or more of the following Warning Signs, speak to a physician about the possible presence of an underlying Primary Immunodeficiency.**

- Two or more new ear infections within 1 year.
- Two or more new sinus infections within 1 year, in the absence of allergy.
- One pneumonia per year for more than 1 year.
- Chronic diarrhea with weight loss.
- Recurrent viral infections (colds, herpes, warts, condyloma).
- Recurrent need for intravenous antibiotics to clear infections.
- Recurrent, deep abscesses of the skin or internal organs.
- Persistent thrush or fungal infection on skin or elsewhere.
- Infection with normally harmless tuberculosis-like bacteria.
- A family history of PI.

Presented as a public service by:











These warning signs were developed by the Jeffrey Modell Foundation Medical Advisory Board. Consultation with Primary Immunodeficiency experts is strongly suggested. © 2009 Jeffrey Modell Foundation. For information or referrals, contact the Jeffrey Modell Foundation: 866-INFO-4-PI | info4pi.org

ANEXO 4 TABELA DE CLASSIFICAÇÃO DE CORRELAÇÕES

Coeficiente de correlação	Correlação
$r = 1$	Perfeita positiva
$0,8 \leq r < 1$	Forte positiva
$0,5 \leq r < 0,8$	Moderada positiva
$0,1 \leq r < 0,5$	Fraca positiva
$0 < r < 0,1$	Ínfima positiva
0	Nula
$-0,1 < r < 0$	Ínfima negativa
$-0,5 < r \leq -0,1$	Fraca negativa
$-0,8 < r \leq -0,5$	Moderada negativa
$-1 < r \leq -0,8$	Forte negativa
$r = -1$	Perfeita negativa

Fonte: tabela de classificação das correlações, proposta por:

SANTOS, Carla, (2007), *Estatística Descritiva - Manual de Auto-aprendizagem*, Lisboa, Edições Sílabo.

ANEXO 5 TERMO DE CONSENTIMENTO

Centro de Pesquisa em Alergia e Imunologia Clínica

Termo de consentimento livre e esclarecido

Convido o (a) Sr.(a) ----- para participar, como voluntário (a), da pesquisa. Hipogamaglobulinemia na Nefrite Lúpica
Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: **Níveis séricos de imunoglobulina na Nefrite Lúpica.**

Pesquisador Responsável: Mateus da Costa Machado Rios Fone: 99138706

Pesquisadores participantes: Emanuel Sarinho Fone:

Pesquisador participante: Lucila Valente: Fone:

A pesquisa consiste em avaliar dividido em dois subgrupos: Grupo controle, formado por 30 pacientes (portadores de nefrite lúpica sem atividade de doença\sem proteinúria), o grupo experimental constará também de 30 pacientes (portadores de nefrite lúpica com atividade de doença\com proteinúria). O protocolo do índice de atividade da doença SLEDAI é composto por 24 (vinte e quatro) itens, sendo esses formado por peso e escores que estão relacionadas com todas as manifestações do lúpus eritematoso sistêmico com e sem nefrite.(ANEXO 1) Será aplicado também questionário com abordagem das infecções mais frequentes na deficiência do setor humoral (pneumonias, sinusites, otite, etc.).(ANEXO 2) Será aplicada a técnica de entrevista para o referido protocolo e questionário. Será realizado coleta de aproximadamente 5mL de sangue, e posteriormente centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos e retirado material rico em células leucocitário e separação do soro, com são armazenados em freezer a -30°C e realização de estudos futuros. A quantificação clínica das imunoglobulinas G sérica e urinária será pelo método de nefelometria , que se trata de um ensaio que quantifica proteínas em solução baseando-se nas propriedades de difração da luz por imunocomplexos gerados ao tubo de teste após a adição de anticorpos específicos contra a IgG.

A sorologia vacinal da rubéola e anti-tetânica será realizado pelo método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), que se trata de um método imunoensaio e se baseia no antígeno (rubéola e tétano) é imobilizado em uma placa de poliestereno, sendo então adicionado o soro do paciente a ser estudado e estando presente anticorpos contra o antígeno estudado, forma-se imunocomplexo que se aderem a placa. Em um segundo momento adiciona-se anticorpo anti o antígeno a ser estudado e se liga a uma enzima que degrada um substrato cromogênico, gerando uma mudança de cor que é proporcional à



quantidade de anticorpos. Os valores das imunoglobulinas sérica e urinária serão correlacionados com os dados clínicos de história de infecções, assim como correlacionar com a resposta vacinal para rubéola e tétano. O referido projeto foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UFPE, tendo como número de protocolo (CAAE) 13319913000005208, sob o título de polimorfismo genético na nefrite lúpica.

As informações vinculadas ao projeto se manterá sob sigilo.

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG/ CPF/ _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo _____, como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo(a) pesquisador(a) _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

ANEXO 6 COMITE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: POLIMORFISMO GENÉTICO NA NEFRITE LÚPICA

Pesquisador: mateus da costa machado rios

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 13319913.0.0000.5208

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas de Pernambuco

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 248.971

Data da Relatoria: 18/04/2013