

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



FILIPE WANICK SARINHO

A REDE DE IMUNOGLOBULINA E NA NEFRITE LÚPICA

RECIFE

2017

Filipe Wanick Sarinho

A Rede de Imunoglobulina E na Nefrite Lúpica

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde, do Centro de Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Pernambuco,
para obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Co-Orientadoras: Prof. Dr. Cláudia Diniz Lopes Marques;
Prof. Dr. Lucila Maria Valente Lopes

RECIFE
2017

Catálogo na fonte:
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4-1895

S243a Sarinho, Filipe Wanick.
A rede de imunoglobina e na nefrite lúpica / Filipe Wanick Sarinho. –
Recife: o autor, 2017.
116 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Imunoglobulina E. 2. Lúpus Eritematoso Sistêmico. 3. Nefrite lúpica.
I. Sarinho, Emanuel Sávio Cavalcanti (Orientador). II. Título.

610 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2018-013)

FILIPPE WANICK SARINHO

A REDE DE IMUNOGLOBULINA E NA NEFRITE LÚPICA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE em CIÊNCIAS DA SAÚDE.

Aprovado em: 29/08/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof^{ta} Dr^a Lucila Maria Valente (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof Dr Henrique de Ataíde Mariz
(Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^{ta} Dr^a Valéria Soraya de Farias Sales
(Examinador Externo)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Corpo Docente

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Ângela Luzia Branco Pinto Duarte

Ary Gomes Filho

Bruno Severo Gomes

Brivaldo Markman Filho

Cláudia Diniz Lopes Marques

Décio Medeiros Peixoto

Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Edgar Guimarães Victor

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Emilia Chagas Costa

Heloisa Ramos Lacerda de Melo

Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Lucila Maria Valente

José Ângelo Rizzo

Lúcio Vilar Rabelo Filho

Marcelo Renato Guerino

Marcelo Tavares Viana

Paulo Sergio Ramos de Araújo

Patrícia Érika de Melo Marinho

Romualda Castro do Rêgo Barros

Sandro Gonçalves de Lima

Simone Cristina Soares Brandão

Dedico esta Dissertação de Mestrado:

Primeiro, à Deus, pela força em todos os desafios;

À minha família, sustentáculo de todas minhas conquistas;

Ao meus pais, meus guias, que sempre me orientaram na vida;

À minha futura esposa, Giovanna, pelo amor e compreensão;

Aos meus mestres — os que já vieram e aos certamente virão
— que sempre me lembrem de manter a mente de principiante.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Emanuel Sarinho, por toda excelência profissional e brilhantismo científico, pelo incentivo diário na formação desta e de outras ideias.

Ao meu mentor na Imunologia Clínica, Dr. Francisco Barretto (Chicão), com quem tive a honra de aprender inestimáveis ensinamentos durante os anos de residência em Clínica Médica e a quem devo meu interesse nas doenças autoimunes.

Às minhas co-orientadoras, Prof. Dra. Cláudia Marques e Prof. Dra. Lucila Valente, pelo auxílio no meu amadurecimento acadêmico, com orientações fundamentais em suas respectivas áreas de conhecimento.

Aos professores e funcionários da Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da UFPE, em especial à Prof. Dra. Gisélia Alves, pelos direcionamentos conceituais que foram fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação.

Ao Coordenador da Residência Médica em Alergia e Imunologia Clínica, do Hospital das Clínicas - UFPE, Prof. Dr. Mateus Rios, pelo apoio na minha formação profissional.

Aos preceptores e colegas residentes do Centro de Pesquisa em Alergia e Imunologia do Hospital das Clínicas - UFPE, pelos aprendizados constantes e suporte diário.

Aos preceptores, residentes e funcionários do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas - UFPE, em especial à Prof. Dr. Ângela Duarte, pelo exemplo profissional, de interdisciplinaridade e apoio incondicional aos pacientes e à pesquisa clínica no HC-UFPE.

Aos preceptores, residentes e funcionários do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas - UFPE, pela oportunidade de acompanhar o serviço e auxílio durante as coletas.

Aos médicos e funcionários do Laboratório Marcelo Magalhães, em especial a Dra. Vera Magalhães, Dra. Roberta Magalhães, Terezinha Breda e Maria do Bom Parto, por toda assistência, assessoria e excelência em análise laboratorial.

Aos profissionais e colegas que me auxiliaram diretamente na coleta e análise de dados, Isaías Lira (Estatístico), Caroline Diniz (Ciências Biológicas) e Guilherme Alves (Bolsista de Iniciação Científica).

A todos os profissionais do Hospital das Clínicas-UFPE e da Universidade Federal de Pernambuco, que de forma direta ou indireta participaram da pesquisa.

Aos nossos pacientes, razão inicial e final de todo conhecimento clínico produzido.

“Medicine is a science of uncertainty and an art of probability”

— William Osler

RESUMO

INTRODUÇÃO: Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma afecção autoimune complexa do ponto de vista fisiopatológico, com ampla gama de manifestações clínicas e de respostas ao tratamento. Há um número razoável de pacientes que experimentam graves efeitos colaterais do tratamento imunossupressor indistinto e - por isso - é intensa a busca por biomarcadores e tratamentos mais específicos. O sistema de imunoglobulina E (IgE) é bastante conhecido pelo papel nas doenças alérgicas. A presença de anticorpos IgE autorreativos em pacientes com LES indica uma ação potencial dessa isotipo em doenças autoimunes. No entanto, a utilidade clínica de mensurar esses autoanticorpos ainda necessita maiores esclarecimentos.

OBJETIVOS: Verificar a utilidade clínica de se avaliar alguns componentes do sistema de IgE em pacientes com nefrite lúpica, a partir de objetivos específicos: verificar se há diferença entre IgE total, sensibilização para aeroalérgenos e doenças atópicas em pacientes com nefrite lúpica e controles; verificar a frequência de positividade de FAN IgE e anti-DNA IgE em pacientes com nefrite lúpica e controles; verificar se há associação entre atividade do LES e IgE total, FAN IgE e anti-DNA IgE, em pacientes atópicos e não-atópicos; comparar o perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do FAN IgG e FAN IgE; comparar o perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do anti-DNA IgG e anti-DNA IgE.

MÉTODOS: Estudo observacional, analítico, transversal, com grupo controle comparativo, composto por 78 pacientes com nefrite lúpica coletados por amostra de conveniência e 40 adultos saudáveis pareados para idade, sexo, etnia e escolaridade, em um hospital universitário de Recife-PE, de Junho de 2016 a Abril de 2017.

RESULTADOS: Não houve aumento da sensibilização ou de prevalência de doenças atópicas em pacientes com nefrite lúpica, quando comparados com o grupo controle. A presença de FAN IgE (47,9%; $p=0,006$) e anti-DNA IgE (10,3%; $p=0,08$) parece ser maior em pacientes com nefrite lúpica. Apenas o anti-DNA IgE se relacionou com atividade de doença de forma independente de alergias e sensibilização ($p=0,012$). Identificamos um subgrupo de pacientes em que a IgE autorreativa pode causar maior atividade de doença e doença renal ativa, de maneira independente de autoanticorpos IgG.

CONCLUSÃO: Em pacientes com nefrite lúpica, a participação de parte do sistema de IgE pode ser demonstrada pela presença de IgE autorreativa. No entanto, essa ativação pode ser incompleta ou desviada, uma vez que não parece haver aumento de IgE total, sensibilização ou doenças atópicas nesses pacientes. O anti-DNA IgE se associou com atividade de doença aferida pelo SLEDAI 2K. A presença isolada de IgE autorreativa pode sugerir a presença de nefrite lúpica mais grave.

Palavras-Chave: Imunoglobulina E. Lúpus Eritematoso Sistêmico. Nefrite Lúpica.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Systemic lupus erythematosus (SLE) is a complex autoimmune disorder from the physiopathological point of view. Its clinical manifestations and treatment outcomes can vary widely. There is a considerable number of patients that experience severe adverse effects from indistinct immunosuppression and, therefore, search for more precise biomarkers and new treatments is intense. The immunoglobulin E (IgE) system is widely known for its role in allergy. The discovery of autoreactive IgE in SLE patients indicates a potential role for this isotype in autoimmune diseases. But, its clinical role still needs clarification.

OBJECTIVES: To verify the clinical relevance of evaluating parts of the IgE system in patients with lupus nephritis, with regard to: to verify if there any difference between total IgE, allergen sensitization and atopic diseases in patients with lupus nephritis and healthy controls; to verify the frequency of IgE-ANA and IgE-anti-DNA in patients with lupus nephritis and healthy controls; to verify association between SLE activity and total IgE, IgE-ANA, anti-DNA-IgE, in atopic and non-atopic patients; to compare clinical and laboratory characteristics according to ANA phenotype; to compare clinical and laboratory characteristics according to anti-DNA phenotype.

METHODS: We performed an observational-analytic-transversal study, with 78 lupus nephritis patients and 40 healthy adults in a university hospital in Brazil, from June 2016 to April 2017.

RESULTS: Sensitization, atopy or total IgE levels were similar between groups. Lupus nephritis patients had more positive IgE-ANA (47,9%; $p=0,006$) than healthy controls, whereas IgE-anti-DNA (10,3%; $p=0,08$) was not. Only IgE-anti-DNA was associated with disease activity, regardless of allergy or sensitization. We identified a subgroup of patients in which autoreactive IgE might contribute to disease activity and renal activity, regardless the presence of autoreactive IgG.

CONCLUSION: The IgE system can be active in lupus nephritis patients, as demonstrated by the presence of autoreactive IgE in these patients. However, it might be a partial or shifted activation, once we could not demonstrate higher total IgE, sensitization or atopic disease in these patients. IgE-anti-DNA can be used as a disease activity biomarker. Isolated autoreactive IgE can be associated with more severe lupus nephritis.

Keywords: Immunoglobulin E. Lupus Erythematosus, Systemic. Lupus Nephritis.

LISTA DE FIGURAS

CONTEÚDO		Págs.
Figura 1 — Representação simplificada da Rede de IgE		20
Figura 2 — IgE ligada ao receptor de alta afinidade FcεRI		
Figura 3 — Modelo da participação de IgE autorreativa na nefrite lúpica		29
Figura 4 — Ação sinérgica de imunocomplexos IgG e IgE na produção de IFN-α		30
Figura 5 — Modelo teórico de lesão tecidual do Lúpus Eritematoso Sistêmico		61

LISTA DE TABELAS

	CONTEÚDO	págs.
Tabela 1 —	Caracterização Clínica dos Pacientes com Nefrite Lúpica, Coletados de Junho a Dezembro de 2016, em um Hospital Universitário de Recife	68
Tabela 2 —	Características Demográficas de Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, Coletados de Junho a Dezembro de 2016, em um Hospital Universitário de Recife	69
Tabela 3.1 —	Comparativo entre o nível de IgE Total, Frequência de Sensibilização e Doenças atópicas independente de comprovação de sensibilização, em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, de um hospital universitário de Recife, ano de 2016.	71
Tabela 3.2 —	Comparativo entre o nível de IgE Total, Frequência de Sensibilização e Doenças atópica em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, com comprovação sérica de sensibilização, em um Hospital Universitário de Recife, ano de 2016.	72
Tabela 4 —	Frequência de FAN IgE e anti-DNA IgE em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, em um Hospital Universitário de Recife, no ano de 2016	73
Tabela 5.1 —	Rede de IgE e Atividade de Doença em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles com Atopia, em um hospital universitário de Recife, em 2016	74
Tabela 5.2 —	Rede de IgE e Atividade de Doença em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles sem atopia, em um hospital universitário de Recife, em 2016	74

Tabela 6 —	Subgrupos de Fenótipos Laboratoriais de Pacientes com Nefrite Lúpica, de acordo com a Positividade ou Negatividade do FAN de isotipos IgG e IgE	75
Tabela 7 —	Subgrupos de Fenótipos Laboratoriais de pacientes com Nefrite Lúpica, de acordo com a positividade ou Negatividade do anti-DNA de isotipos IgG e IgE	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SIGLA	SIGNIFICADO
ACR	— <i>American College of Rheumatology</i>
ANTI-DNA	— Anticorpo anti-ácido desoxirribonucleico
APCs	— Células Apresentadoras de Antígenos
AZA	— Azatioprina
BT	— <i>Blomia tropicalis</i>
CD	— Grupo de Diferenciação, ex. CD23
CYC	— Ciclofosfamida
DP	— <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
FAN	— Anticorpos contra Fatores Antinucleares
FcεRI	— Receptor de Alta Afinidade para IgE
HCQ	— Hidroxicloroquina
IFI	— Imunofluorescência indireta
IFN-α	— Interferon alfa
IFN-γ	— Interferon-γ
IgA	— Imunoglobulina A
IL	— Interleucina, ex. IL-4 — Interleucina 4
ISN/RPS	— <i>International Society of Nefrology/Renal Pathology Society</i>
LES	— Lúpus Eritematoso Sistêmico
MMF	— Micofenolato de Mofetil
MTX	— Metotrexato
PCR	— Proteína C Reativa
pDC	— Células Dendríticas Plasmocitóides.
PDF	— Prednisona
PPGCS	— Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
SLEDAI	— Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index
TH	— Linfócitos T auxiliares (<i>helper</i>). ex. do tipo 2 (TH2)
Treg	— Célula T reguladora
UFPE	— Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO	
1.1	APRESENTAÇÃO	17
1.2	A REDE DE IMUNOGLOBULINA E	19
1.2.1	A Imunoglobulina E	19
1.2.2	Receptores de IgE	20
1.2.3	Síntese e Regulação da IgE	21
1.2.4	Basófilos, Mastócitos e Eosinófilos	22
1.2.5	Possíveis Funções Fisiológicas do Sistema de IgE	23
1.2.6	Modelo Clássico da Participação da IgE em Doenças Alérgicas	24
1.2.7	Possível Participação da IgE nas Doenças Autoimunes	26
1.2.8	Utilização da Nefrite Lúpica Como Modelo de Estudo	27
1.3	IGE AUTORREATIVA NA NEFRITE LÚPICA	29
1.3.1	Racional Biológico	29
1.3.2	Autoanticorpos IgE	31
1.3.3	Necessidade de Estudos Clínicos	32
1.4	JUSTIFICATIVA	32
1.5	OBJETIVOS	32
1.5.1	Objetivo Geral	32
1.5.2	Objetivos Específicos	33
1.6	HIPÓTESES	33
1.7	REFERÊNCIAS	34
2	MÉTODOS	40
2.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO	40
2.2	LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO	40

2.3	POPULAÇÃO EM ESTUDO	40
2.3.1	População Alvo	40
2.3.2	Critérios de Inclusão	41
2.3.3	Critérios de Exclusão	41
2.4	CÁLCULO E PROCESSO DE AMOSTRAGEM	41
2.5	DEFINIÇÃO DE TERMOS E VARIÁVEIS	42
2.5.1	Variáveis Demográficas	42
2.5.2	Definições de Termos e Variáveis para Avaliação do Lúpus Eritematoso Sistêmico	42
2.5.3	Variáveis Séricas Específicas Para Avaliação da Rede de IgE nos Pacientes com Nefrite Lúpica e no Grupo Comparativo	45
2.5.4	Variáveis Séricas para Avaliação de Autoanticorpos nos Pacientes com Nefrite Lúpica e no Grupo Comparativo	46
2.5.5	Etapas e Métodos de Coleta dos Dados	47
2.5.6	Definição dos Recursos Humanos	47
2.5.7	Instrumentos de Medida e Confiabilidade - Aferições	48
2.5.8	Padronização de Técnicas	48
2.5.8.1	Técnica empregada para detecção de autoanticorpos	49
2.5.9	Plano de Tabulação e Análise de Dados	50
2.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
2.7	ORÇAMENTO-FINANCIAMENTO	51
2.8	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	52
2.9	LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS DO ESTUDO	52
2.10	REFERÊNCIAS	53
3	ARTIGO ORIGINAL	55
3.1	PÁGINA DE ROSTO	55
3.2	RESUMO	56
3.3	ABSTRACT	58
3.4	INTRODUÇÃO	60
3.4.1	Autoanticorpos como biomarcadores séricos no LES	62

3.4.2	Diferentes isótipos, diferentes pacientes?	63
3.4.3	Rede de IgE como biomarcador na nefrite Lúpica	64
3.5	MÉTODOS	65
3.5.1	Desenho do Estudo	65
3.5.2	Critérios de inclusão	65
3.5.3	Critérios de Exclusão	65
3.5.4	Ensaio de Imunofluorescência Indireta	65
3.5.5	Análise Estatística	66
3.5.6	Aspectos Éticos	66
3.6	RESULTADOS	67
3.6.1	Descrição da amostra	67
3.6.2	Nível de IgE total, Prevalência de Sensibilização a Aeroalérgenos e Doenças Alérgicas	70
3.6.3	FAN IgE e Anti-DNA IgE em pacientes com nefrite lúpica e controles	73
3.6.4	Relação da Rede IgE autorreativa e Atividade de doença	73
3.6.5	Perfil Clínico e Laboratorial de Acordo com a Positividade ou Negatividade do FAN IgG e FAN IgE	74
3.6.6	Perfil Clínico e Laboratorial de Acordo com a Positividade ou Negatividade do Anti-DNA IgG e Anti-DNA IgE	77
3.7	DISCUSSÃO	80
3.7.1	Nível de IgE Total, Sensibilização Para Aeroalérgenos e Doenças Atópicas em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles	80
3.7.2	Frequência de FAN IgE e Anti-DNA IgE em Pacientes com Nefrite Lúpica e Saudáveis	83
3.7.2.1	FAN IgE	83
3.7.2.2	ANTI DNA IgE	84
3.7.3	Relação da Rede IgE autorreativa e Atividade de doença	85
3.7.4	Perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do FAN IgG e FAN IgE	86
3.7.5	Perfil Clínico e Laboratorial de Acordo com a Positividade ou Negatividade do anti-DNA IgG e anti-DNA IgE	89

3.8	REFERÊNCIAS	90
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
4.1	CONCLUSÕES	97
4.2	LIMITAÇÕES	98
4.3	EXPECTATIVAS FUTURAS	99
4.4	REFERÊNCIAS	100
	APÊNDICES	
	APÊNDICE A - PROTOCOLO DE PESQUISA	101
	APÊNDICE B - TCLE	104
	ANEXOS	
	ANEXO I - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	108
	ANEXO II - SLEDAI 2000	113

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 APRESENTAÇÃO

A medicina está na era da informação. A recente explosão na produção de dados e do conhecimento imunológico revela uma complexa interação entre sistemas que ainda não é totalmente compreendida. A utilização de conceitos de ciências das redes pode permitir o entendimento dessas interações complexas de forma mais clara, mesmo que a análise não seja aprofundada a nível molecular.

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma afecção autoimune complexa, com ampla gama de manifestações clínicas e de resposta à terapia. A nefrite lúpica é uma das manifestações mais graves do LES. Atrasos no seu diagnóstico ou pouca resposta ao tratamento podem acarretar dano renal irreversível, com evolução à insuficiência renal. A terapêutica atual é padronizada por consensos e visa suprimir o sistema imune sem distinção. Dessa forma, existe um número razoável de pacientes que apresentam resposta terapêutica insatisfatória ou que experimentam graves efeitos colaterais dessa imunossupressão indistinta.

Nesse contexto, a solução parece ser a medicina de precisão — uma nova abordagem que busca identificar subgrupos de pacientes semelhantes a fim de propor uma terapia com maior probabilidade de sucesso e com minimização dos riscos e efeitos colaterais. Esse processo utiliza biomarcadores para identificar de características clínicas (fenótipos) e fisiopatológicas (endótipos) que possam estratificar pacientes em diferentes subgrupos. O desenvolvimento de biomarcadores que possam prever acometimento renal, atividade de doença ou resposta terapêutica pode otimizar o tratamento atual da nefrite lúpica.

A imunoglobulina E (IgE) é reconhecida por ocasionar algumas doenças alérgicas. A descoberta da presença de autoanticorpos de classe IgE em pacientes com dermatite atópica - e posteriormente na artrite reumatóide - despertou um crescente interesse e curiosidade em se avaliar se a IgE poderia contribuir de alguma forma para doenças autoimunes. No LES, especialmente nos últimos anos, estudos têm demonstrado que a frequência desses autoanticorpos pode ultrapassar metade dos pacientes, correlacionando-se com atividade de

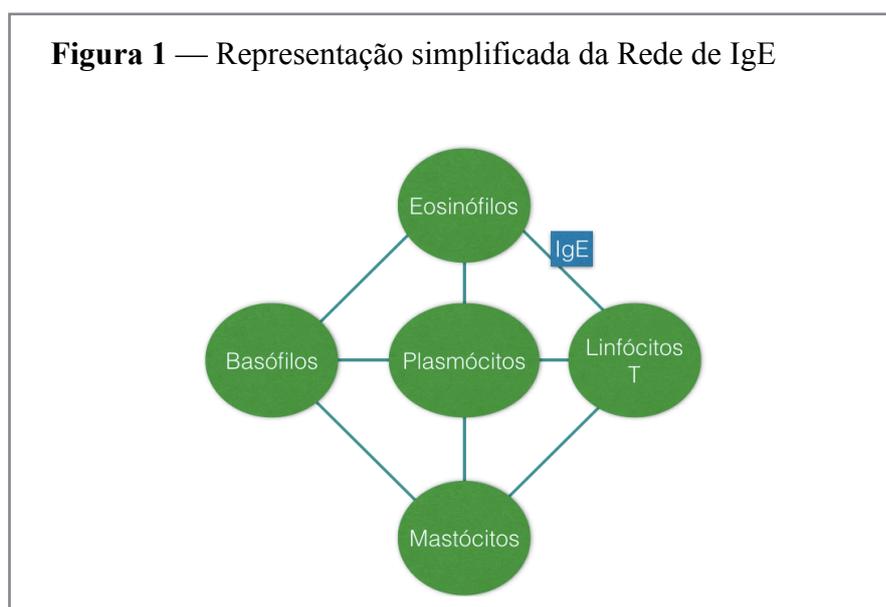
doença e doença renal. No entanto, ainda é preciso avaliar se a presença dessa IgE autorreativa pode interferir em outros componentes da rede de IgE.

Assim, faz-se mister tentar identificar quais são os pacientes com nefrite lúpica que a presença de IgE autorreativa pode ter influência — com a descrição de características clínicas e laboratoriais — bem como entender qual é a participação de outros componentes da rede de IgE como IgE total, células efectoras, sensibilização e atopia nesses pacientes.

De acordo com as normas estabelecidas pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências das Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (PPG/CS/UFPE), a dissertação deve ser redigida em quatro capítulos. No primeiro capítulo, nossa intenção é familiarizar o leitor com os componentes do sistema de Imunoglobulina E (IgE), bem como as funções em estados fisiológicos e patológicos. Como o papel desse sistema em doenças autoimunes ainda não é bem estabelecido, escolhemos a nefrite lúpica como modelo de estudo. Também neste capítulo apresentamos a justificativa, objetivos e hipóteses. O segundo capítulo descreve a metodologia utilizada. O terceiro capítulo consta da formatação inicial do artigo original a ser publicado, em que enfatizamos a presença de IgE autorreativa na nefrite lúpica, bem como a possibilidade de IgE autorreativa isoladamente se associar à doença renal mais grave. O último capítulo sintetiza as conclusões da dissertação, elabora limitações e expectativas futuras, além de disponibilizar apêndices e anexos para consulta.

1.2 A REDE DE IMUNOGLOBULINA E

A teoria das redes postula que sistemas com interações complexas podem ser analisados de forma abrangente quando representados como redes. (BARABÁSI, 2007) Redes são coleções de nós interligados por uma conexão que permite interações (CHAN, 2012). Em medicina, o sistema de imunoglobulina E (IgE) pode ser interpretado como uma rede, na qual células efetoras são os nós que podem se relacionar através da IgE (Figura 1).



1.2.1 A Imunoglobulina E

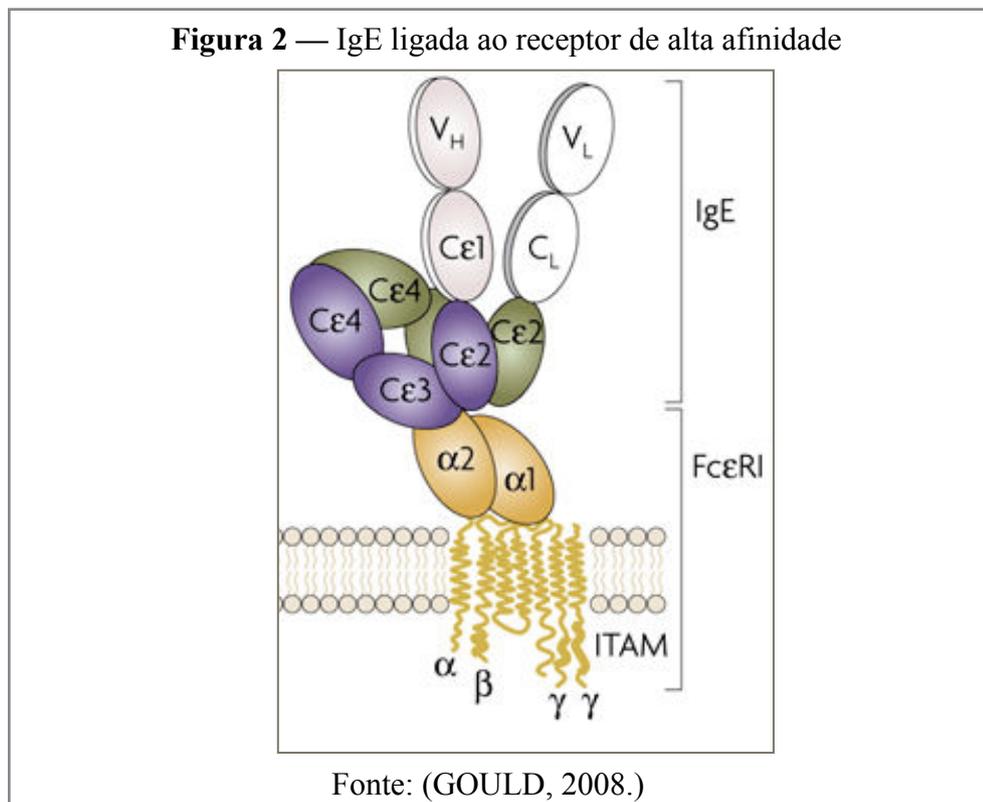
A IgE foi a última classe de anticorpo a ser descoberta em 1966, (ISHIZAKA, 1966) Estruturalmente, os diferentes isotipos de imunoglobulinas podem ser definidos pelas particularidades nas regiões constantes de suas cadeias pesadas. Enquanto a cadeia pesada da IgG possui três domínios constantes, a IgE possui uma cadeia pesada com quatro, o que permite que a molécula aparente se dobrar sobre si mesmo. (GOULD, 2003)

Por ser um anticorpo citofílico, a IgE se apresenta em concentrações extremamente baixas no sangue. Enquanto a concentração de IgG no soro é dada em mg/mL, a concentração de IgE no soro de indivíduos normais é em termos de ng/mL - cerca de mil vezes menos elevada. Além de mais rara, a IgE tem meia vida 7x mais curta que a IgG, com permanência na circulação por apenas dois a três dias. (KELLY, 2016)

1.2.2 Receptores de IgE

Apesar da imunoglobulina IgE constituir apenas uma minúscula fração dos anticorpos presentes no soro humano, suas ações são potentes devido à interação com dois receptores estruturalmente independentes: o receptor de alta afinidade - FcεRI; e o receptor de baixa afinidade - FcεRII - também conhecido como CD23.

O FcεRI pertence à superfamília das imunoglobulinas e é altamente homólogo aos receptores Fc-gama. Apresenta uma estrutura tetramérica composta por quatro peptídeos transmembranas: uma α -cadeia, uma cadeia β e duas cadeias γ -dissulfureto ligadas entre si. (KRAFT, 2007) A IgE se liga com uma afinidade que é 1000 vezes maior no FcεRI que no CD23, ligação essa que pode persistir de semanas a meses (Figura 2). Isto faz com que a IgE em níveis fisiológicos saturem completamente o FcεRI presente na superfície dos mastócitos teciduais e basófilos, as principais células participantes da rede de IgE. Além delas, o FcεRI ainda pode ser detectado em menor quantidade em eosinófilos, neutrófilos e plaquetas. (GARMAN, 1998)



De forma diferente dos outros receptores de imunoglobulinas, o CD23 é um membro da superfamília das C-lectinas. Existem basicamente duas isoformas diferentes do CD23. Enquanto a isoforma CD23a é naturalmente expresso e restrito a células B, CD23b é expresso após indução pela interleucina 4 (IL-4) e está presente em uma variedade de células, tais como monócitos, macrófagos, eosinófilos, plaquetas, células natural killer, células T, células dendríticas foliculares e células de Langerhans. O CD23a encontra-se associado com a endocitose de partículas revestidas com IgE pelas células B e com a apresentação de antígeno dependente de IgE, enquanto o CD23b pode ser ativador da citotoxicidade dependente de IgE e promover a fagocitose de complexos solúveis da IgE. (WEIS, 1993)

1.2.3 Síntese e Regulação da IgE

Enquanto a IgM e IgD são desenvolvidas naturalmente nos linfócitos B, os outros isotipos (IgA, IgE e IgG) apenas são produzidos após recombinação genética para troca de classes. (GAUCHAT, 1993) Dessa forma, após o antígeno ser internalizado, processado em peptídeo e se associar a moléculas MHC de classe II, dois sinais são necessários para promover a proliferação de células B e a diferenciação em plasmócitos secretores de IgE: a interação do CD40-CD40 Ligante (CD40L) e a presença de interleucina 4 (IL-4). (GEHA, 2003)

Os linfócitos T produtores de IL-4 e/ou interleucina 13 (IL-13) são polarizados como linfócitos T Helper do tipo 2 (TH2) e estimulam a produção de IgE e IgG1. (SIEBENKOTTEN, 1992) O interferon- γ (IFN- γ) produzido pelos linfócitos T Helper do tipo 1 (TH1) tende a inibir as respostas TH2 e a síntese de IgE. (DEMA, 2016)

A IL-4 é a citocina mais atuante na rede de IgE pois promove o desenvolvimento da resposta do tipo TH2, aumenta a expressão Fc ϵ RI, induz a expressão de CD23 e o mais importante: em conjunto com a IL-13, atua na recombinação com o gene C ϵ , resultando na transcrição de cadeia epsilon e consequente mudança de isotipo para IgE. No entanto, uma vez que seja produzida, a própria IgE pode regular as suas próprias respostas através de

interações com os seus receptores, modulando a expressão na superfície celular de FcεRI e do CD23, prolongando suas funções. (MACGLASHAN, 1999)

Adicionalmente, a ligação de IgE monomérica ao FcεRI, mesmo na ausência de antígeno, promove a sobrevivência de mastócitos (por reduzir a apoptose). Esse feedback positivo mediada pela própria IgE parece ampliar suas funções efetoras aumentando tanto a sensibilidade à provocação com o antígeno bem como a intensidade da resposta. (ASAI, 2001)

Em contraste, o CD23 parece ser o receptor mais importante que diminui a produção de IgE. Na verdade, a interação com CD23 pode inibir ou estimular respostas de IgE, dependendo do tipo de célula, do nível de expressão e da isoforma do CD23 (dependente do correceptor CD21) (DEMA, 2016). A ligação IgE/antígeno com o CD23 super-expresso no linfócito B pode inibir a própria produção de IgE, se a IL-4 for cofator. Por outro lado, quando a expressão de CD23 na célula B é pequena, este receptor pode facilitar a produção de IgE. (CHENG, 2010). De uma forma geral, pode-se considerar que ao se envolver com o FcεRI a IgE aumenta seus próprios efeitos, enquanto a ligação com o CD23 pode inibi-los.

1.2.4 Basófilos, Mastócitos e Eosinófilos

Basófilos são células bi ou trilobuladas que contém grânulos citoplasmáticos grosseiros repletos de mediadores químicos, como a histamina. Em condições normais são as células menos abundantes na circulação e migram para tecidos linfóides quando são ativadas, com diminuição do quantitativo circulante (STONE, 2009). Existem evidências que indicam que, além de células efetoras, essas células podem funcionar como células apresentadoras de antígenos (APCs) e induzir uma forte resposta TH2 ao interagir com linfócitos CD4+ virgens. Portanto, elas podem potencializar a produção de anticorpos IgE pelos linfócitos B (CROMHEECKE, 2013). Eles também podem interagir diretamente com linfócitos CD8+ e promover liberação de IL-10.

Mastócitos são granulócitos muito semelhantes aos basófilos, tanto em forma e função. Também produzem mediadores químicos inflamatório (como a histamina) em

resposta à ativação pela IgE e sinais de alarme. Porém, eles são células caracteristicamente teciduais principalmente em locais de interface com o ambiente, como pele, trato digestivo e respiratório. (PRUSSIN, 2003)

Eosinófilos são células bilobuladas que recebem esse nome por possuírem grânulos citoplasmáticos com alta afinidade com corantes ácidos (eosina). Esses grânulos podem ser específicos ou primários. Os específicos contêm muitas proteínas catiônicas, enquanto os primários contêm mediadores comuns a outros granulócitos, como a histamina. Além desses mediadores químicos, os eosinófilos também podem produzir espécies reativas de oxigênio, mediadores inflamatórios lipídicos e citocinas. Em média constituem 1-6% das células circulantes e têm maturação estimulada em resposta a IL-3, IL-5 e GM-CSF. São as principais células teciduais efectoras da rede IgE, com estimativa de possuírem 10 células teciduais para cada célula sanguínea circulante (HOGAN, 2008).

1.2.5 Possíveis Funções Fisiológicas da Rede de IgE

A IgE é encontrada apenas em mamíferos. Esse fato biológico nos leva a crer que do ponto de vista evolutivo sua presença deva ser considerada uma avanço. É curioso, porém, que o estudo de sua função seja intrinsecamente relacionada a doenças alérgicas, sendo seu papel fisiológico na defesa do hospedeiro um tanto quanto incerto. (VERNERSSON, 2002)

Postula-se que a IgE e seus receptores possam ter evoluído como um mecanismo de defesa contra as infecções parasitárias, em particular contra helmintos. Essa conclusão parte de estudos epidemiológicos que sugerem que a presença de IgE específica contra ascaris pode conferir proteção contra infestação. (SUTTON, 1993)

Neste sentido, foi verificado em um trabalho clínico-experimental que é possível que esta produção de IgE anti-ascaris possa conferir alguma resistência à reinfecção pelo parasita através de uma resposta mais eficaz e com menor produção de interleucina- 10 (IL- 10). (SOUZA, 2014)

Uma forma intuitiva de entender o papel fisiológico da IgE é estudar o que acontece na sua ausência. A terapia alvo-molecular anti-IgE com omalizumabe é eficaz em retirar IgE

livre da circulação. Assim, um outro estudo clínico acompanhou 137 pacientes em alto risco de infecção helmíntica em uso de omalizumabe por um ano e não encontrou diferenças na taxa de infecção helmíntica entre o grupo de tratamento e o controle, nem houve caso de superinfecção. Esse achado sugere que a IgE possa ser apenas um mecanismo adicional, com grau de importância variável na complexa defesa contra parasitas. (COOPER, 2007)

A descoberta da IgE específica contra partículas virais alertou pesquisadores sobre a possibilidade de que essa imunoglobulina pode facilitar o reconhecimento viral pelo sistema imune (HENAULT, 2016). Existe evidência que a presença de IgE direcionada contra o vírus da imunodeficiência humana pode ajudar no controle da infecção, com bloqueio da replicação viral. (PELLEGRINO, 2002)

Uma outra hipótese recente especula que a IgE também poderia ser útil no processo de cicatrização. (KELLY, 2016) Como a IgE auxilia na polarização da resposta TH2 através de mastócitos e basófilos, isso poderia resultar no aumento de IL-4, que já foi relacionado à cicatrização mais rápida. Observações do seu aumento após situações de estresse ambiental (cirurgias, queimaduras, etc) enquanto outras classes diminuem, alertam sobre o possível papel da IgE na resposta homeostática de fase aguda. (NAVARRO-ZORRAQUINO, 2001)

Como a IgE pode reconhecer quantidades ínfimas de proteínas, outro possível papel para esta imunoglobulina é o de “vigilante do sistema imune” contra substâncias ambientais como toxinas, venenos, irritantes e xenobióticos. Nesse sentido parece que a IgE pode funcionar como um potenciador das respostas imunes contra antígenos que encontram-se em em baixas concentrações. (HEYMAN, 2002). Outra possibilidade é que ela possa contraregular o efeito de toxinas. Ratos que foram sensibilizados com IgE a veneno de abelha morreram menos que os controles quando posteriormente foram expostos doses tóxicas do veneno. (MARICHAL, 2013)

1.2.6 Modelo Clássico da Participação da Rede de IgE em Doenças Alérgicas

Ao contrário das outras classes de imunoglobulinas, a IgE é muito mais estudada pelo seu papel patológico que fisiológico. A descoberta de sua participação em processos alérgicos

transformou o entendimento da fisiopatologia dessas doenças, com desenvolvimento de conceitos considerados hoje como fundamentais. O próprio conceito de atopia ou hipersensibilidade do tipo I se sustenta no papel patológico da IgE.

Essa resposta alérgica IgE dependente habitualmente envolve o desenvolvimento de duas fases distintas: uma fase de sensibilização e outra efetora.

Na fase de sensibilização, o antígeno (alérgeno) entra no corpo através de inalação, ingestão, através da pele ou mesmo por injeção. Nesses locais, principalmente nas superfícies epiteliais (pele, trato respiratório e digestivo), as células apresentadoras de antígenos (APCs) entram em contato com esse alérgeno, internalizam-no, e migram para um linfonodo de drenagem onde apresentam peptídeos derivados do alérgeno às células T e induzem a sua ativação. Vários tipos de células diferentes podem funcionar como APCs, a depender do local de encontro com o alérgeno. Por exemplo, macrófagos, células B ativadas e células dendríticas podem ser as APCs no trato respiratório, enquanto que células de Langerhans são as APCs mais importantes na pele. (RINDSJÖ, 2010)

Após contato com as APCs, os linfócitos T Helper naive (*TH naive*) irão se polarizar em maior ou menor grau para um fenótipo TH1, TH2, TH17, TH22, TH9 ou Tregs, a depender de vários fatores como condições do local de apresentação do alérgeno, tipo de APCs, *milieu* de citocinas, tipo de antígeno, bem como tempo e dose da exposição (NEWCOMB, 2013; SCHMITT, 2015). Para as doenças alérgicas IgE mediadas, é classicamente descrito que as células TH naive irão se polarizar em maior grau para um fenótipo TH2, que produzirá as interleucinas IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13. (PAWANKAR, 2015)

O ambiente de citocinas no linfonodo de drenagem também influencia a comutação para os diferentes padrões TH. Se IL-4 e IL-13 estão disponíveis neste ambiente, uma fração substancial das células B irá se transformar em plasmócitos produtores de IgE. Os anticorpos IgE específicos secretados migram dos gânglios linfáticos e ligam-se aos FcεRI expressos na superfície dos mastócitos e basófilos. A IgE específica ligada aos mastócitos nos tecidos é única para o alérgeno em questão e o encontro subsequente com tal alérgeno iniciará a fase efetora (BURTON, 2011)

A fase efetora, por sua vez, inicia-se quando um alérgeno se associa com a IgE ligada ao receptor na superfície de mastócito ou basófilos. Essa ligação desencadeia eventos de

transdução de sinal e provoca um influxo de ions Ca^{2+} na célula-alvo, que promove a desgranulação e liberação de mediadores químicos pré-formados como a histamina, enzimas proteolíticas e heparina. Estes mediadores pré-formados dão origem a uma resposta imediata, geralmente dentro de 20 minutos. Além disso, novos degranuladores dos mediadores lipídicos são neosintetizados tais como leucotrienos, prostaglandinas e citocinas - interleucina 5 (IL-5) e interleucina 8 (IL-8) - que recrutam outras células inflamatórias como eosinófilos, neutrófilos e linfócitos para o local da reação. O influxo destas células inflamatórias é o responsável pela fase tardia da resposta alérgica, que ocorre de 6 a 24 horas após a exposição ao alérgeno. Juntos, esses mecanismos são os responsáveis pelos efeitos fisiopatológicos que caracterizam as reações alérgicas, tais como o aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, prurido, edema, infiltração celular, contração do músculo liso hiperprodução de muco. (RINDSJÖ, 2010)

1.2.7 Possível Participação da IgE nas Doenças Autoimunes

É interessante notar que existem diversas semelhanças entre doenças alérgicas e autoimunes. Ambas são afecções crônicas, inflamatórias, desencadeadas pela perda de tolerância e são exemplos de reações de hipersensibilidade - na qual há uma resposta imune exacerbada a estímulos que deveriam ser considerados inócuos. A assinatura de citocinas TH2 é um perfil descrito em diversas doenças dos dois grupos. (ROSENBLUM, 2015)

Porém, enquanto na alergia a resposta patológica é atribuída à IgE, na autoimunidade ela é classicamente atribuída à formação de imunocomplexos com autoanticorpos de classe IgG. Isso ocorre porque a maioria dos estudos clássicos de patogênese utilizaram este isotipo e demonstraram que os imunocomplexos depositados nos tecidos são em maioria dessa classe. (SCHRODER, 2012)

Existem evidências de que os níveis de IgE podem estar elevados sempre que existir desregulação imune (LISTON, 2008.). Também foi descoberto que alérgenos ambientais podem ter estrutura comum com autoantígenos e assim favorecer a formação de autoanticorpos IgE que são patogênicos e perpetuam doenças atópicas (autoalergia)

(HRADETZKY, 2015). Estudos com urticária crônica, LES e artrite reumatoide também demonstram a possibilidade de que autoanticorpos IgE produzirem doenças autoimunes. (SANJUAN, 2016). Porém, há bastante controvérsia se existe aumento da prevalência de doenças alérgicas em pacientes com doenças autoimunes e vice-versa. (DE LUCENA, 2013; SKAABY, 2015) É possível que estes dois grupos de doenças sejam facetas diferentes de um mesmo pólo de desregulação imune, no qual a polarização do perfil TH2 possa ser fator preponderante. Independente disso, é um fato que essas duas doenças participam de uma complexa relação que ainda permanece pouco estudada.

O estudo mais antigo (PubMed, em agosto 2017) sobre o possível papel da IgE em doenças autoimunes data de 1972, seis anos após o relato da descoberta da IgE, quando Marcolongo descreveu como “normal” a presença de IgE total em pacientes com artrite reumatoide comparados a controles saudáveis. (MARCOLONGO, 1972) Anos mais tarde, a presença de autoanticorpos IgE foi detectada em pacientes com artrite reumatoide e LES (PERMIN, 1978). Poucos estudos relevantes foram publicados até a década de 2010, quando dezenas de estudos clínicos e experimentais alertaram sobre o potencial papel patológico da IgE autorreativa nas doenças autoimunes. Certamente os avanços nos métodos de detecção foi um dos motivos que permitiu que esse isótipo fosse melhor estudado.

Atualmente há relatos de que sua presença é mais frequente que anteriormente suspeitado e que deve ter um papel ativo nos mecanismos fisiopatológicos em diversas doenças autoimunes, como artrite reumatóide, LES, pênfigo bolhoso, urticária crônica, uveíte, esclerose múltiplas e esclerose sistêmica. (SANJUAN, 2016)

1.2.8 Utilização da Nefrite Lúpica como Modelo de Estudo

O LES é considerado um paradigma de doenças autoimunes. (BOSCH, 2011) Apesar de ser classicamente descrito uma doença de linfócitos B, existe evidência suficiente para considerar como relevante o papel de linfócitos T devido às respostas TH1, TH2, TH17, TH foliculares e T reguladores (Treg) (VELDHOEN, 2009; LECH, 2013; ANAYA, 2014) Esses diferentes subtipos de linfócitos TH naive são responsáveis por “ajudar excessivamente” os

linfócitos B a produzirem os autoanticorpos, que formarão imunocomplexos que vão causar lesão tecidual. (BOSCH, 2011) Os linfócitos Treg - que seriam responsáveis por suprimir a proliferação de linfócitos TH - são hipofuncionantes no LES (VALENCIA, 2007)

A descoberta de que a imunidade inata também pode participar da patogênese do LES, introduziu o potencial papel deletério de neutrófilos e monócitos/macrófagos. O reconhecimento de material genético endógeno por essas células pode estimular a produção de interferon do tipo I - principalmente o interferon-alfa (IFN- α). (KARAGEORGAS, 2011) Essa citocina é central na resposta imune contra vírus e tende a estimular o desenvolvimento de uma resposta TH1 ou TH17 por linfócitos T (OSHEA, 2000). Esse é um dos mecanismos que podem explicar a ocorrência de algumas manifestações clínicas (febre, mialgia, fadiga, etc) e laboratoriais (linfopenia, neutropenia, trombocitopenia) que pacientes com LES apresentam. (BIESEN, 2016)

Boa parte do conhecimento sobre patogênese de LES foi desenvolvido a partir de recortes de modelos murinos de nefrite lúpica. (DEAN, 2000; CHAN, 2006). Enquanto o padrão de glomerulonefrite membranoproliferativa parece se associar a assinatura TH1 (MASUTANI, 2001), o padrão de glomerulonefrite membranosa pode representar uma perfil de assinatura predominantemente TH2. (BOSCH, 2011) Nos últimos anos, porém, avanços no entendimento da patogênese permitiram a concepção de que diferentes perfis de linfócitos TH podem se alternar e até coexistir, a depender de fatores genéticos, epigenéticos e gatilhos ambientais (AKAHOSHI, 1999; TSOKOS, 2016; LIU, 2014; REKVIG, 2014)

Estudos recentemente publicados mostram que é possível que a rede de IgE seja um mecanismo preponderante em alguns pacientes com LES, sem que haja relação com alergia ou parasitose (LIPHAUS 2012). Autoanticorpos IgE contra antígenos nucleares são patogênicos no LES (CHARLES, 2010) e podem propiciar estímulo para diferentes pólos de resposta TH (CHARLES, 2010; HENAULT, 2015).

1.3 REDE DE IGE AUTORREATIVA NO NEFRITE LÚPICA

1.3.1 Racional Biológico

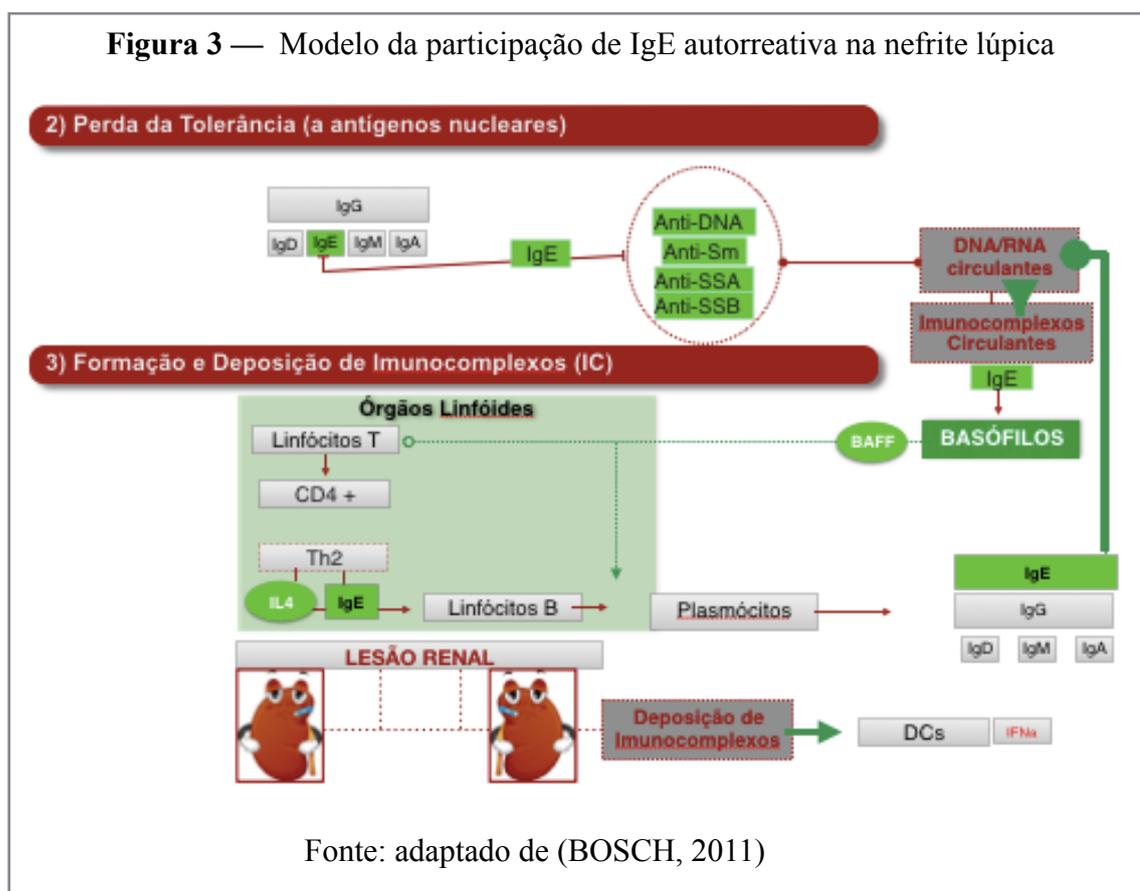
Em 2010 Charles et al descreveram um modelo murino de LES em que a participação IgE autorreativa contra antígenos nucleares formava uma alça de *feedback* positivo, com reforço do perfil TH2 e amplificação importante da produção de auto-anticorpos IgG1. (CHARLES, 2010)

Nesse modelo, camundongos geneticamente modificados eram depletados da proteína Lyn (*Lyn -/-*), uma tirosina kinase relacionada à tolerância de linfócitos B. Os camundongos deficientes de Lyn tendem a ter linfócitos B hiperreativos e, assim, desenvolvem uma glomerulonefrite proliferativa similar a do LES.

O achado inédito desse trabalho é que, após desenvolvimento da perda da tolerância imunológica, autoanticorpos de classe IgE formaram imunocomplexos capazes de ativar basófilos. Esses basófilos uma vez ativados migraram para órgãos linfóides (com consequente diminuição de sua contagem sanguínea), onde estimularam linfócitos T imaturos - principalmente LT CD4+ - e Linfócitos B. A interação com LT CD4+ produziu um forte perfil de citocinas TH2 (principalmente IL-4), que associado ao estímulo de basófilos nos linfócitos B por meio de citocina estimuladora de linfócitos B (BAFF) e IL-6, induziu a maturação de plasmócitos e prolongou a sobrevivência. Houve aumento da produção de autoanticorpos, principalmente isótipos IgG1 e IgE. (CHARLES, 2010)

Com maior produção de IgE e consequentemente ligação ao receptor FcεRI nos basófilos, há polarização progressiva do perfil TH2 (IL-4, IL-13, etc) e que produz quantidades cada vez maiores de autoanticorpos IgG1 e IgE, com consequente retroalimentação desse mecanismo. (Figura 3) (BOSCH, 2011)

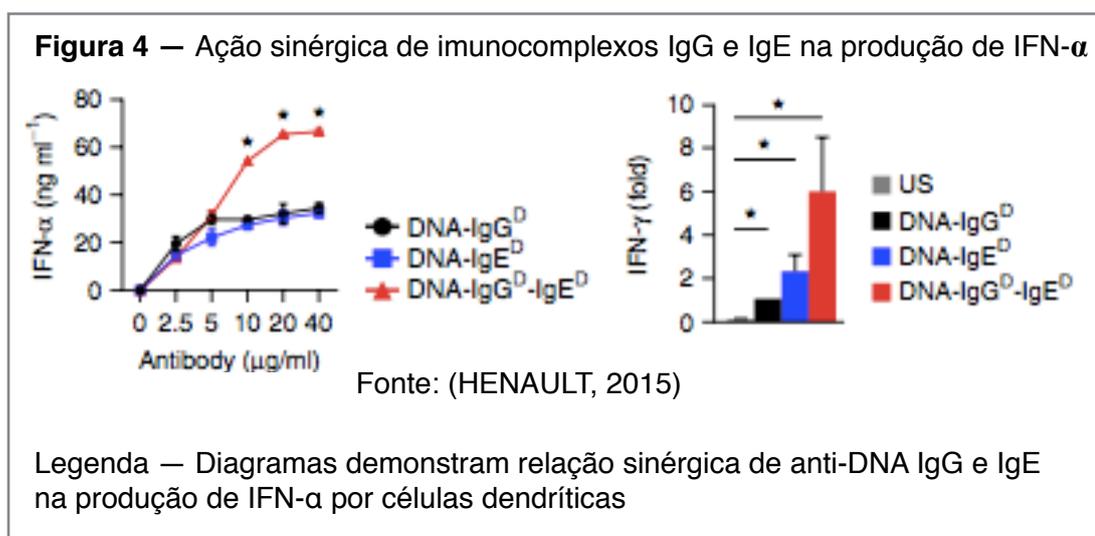
Concluiu-se, então, que é possível que a ativação da rede de IgE autorreativa no LES ocasiona um *booster* na produção de autoanticorpos, principalmente de subclasse IgG1 e de IgE, o que pode fazer com que mais imunocomplexos se depositassem nos tecidos, justificando maior probabilidade de lesão renal e atividade de doença. (DAVIDSON, 2010)



Um outro mecanismo proposto de participação da rede de IgE autorreativa no LES parece ser independente da resposta TH2 e inclui o aumento da produção de IFN- α por monócitos e células dendríticas plasmocitoides (pDC). Essas últimas são as principais produtoras de IFN tipo I e podem participar da proliferação e amadurecimento de linfócitos B, bem como prolongar sua sobrevivência (pela produção de IL-6 e IFN). (JEGO, 2003)

Henault *et al.* foram os primeiros a demonstrar que a utilização de um bloqueador de anticorpos IgE reduz os níveis de secreção de IFN- α por monócitos incubados em soro de pacientes que tinham anti-DNA IgE. De maneira oposta, a infusão de um anticorpo anti-DNA IgE sintético induziu a formação de imunocomplexos que produziam grandes quantidades de IFN- α das pDCs, potencialmente causando lesão renal. (HENAULT, 2015)

Esse efeito pode ser explicado pela atividade sinérgica na ativação de pDC quando há presença combinada de imunocomplexos IgG e IgE. A alta afinidade da IgE pelo seu receptor específico (Fc ϵ RI) pode fazer com que as pDCs diminuam o seu gatilho de ativação do receptor x da IgG, permitindo ativação com quantidades menores de autoanticorpos IgG (Figura 4).



Adicionalmente, um terceiro mecanismo ainda pouco conhecido indica a possibilidade de imunocomplexos IgE se depositarem diretamente no parênquima renal (*in situ*) e ocasionar inflamação independente da presença de IgG. (MCPHAUL, 1974). Depósitos de IgE já foram demonstrados em pacientes com nefrite lúpica. (TUMA, 1981)

1.3.2 Autoanticorpos IgE em Pacientes com LES

Além de modelos animais, autoanticorpos IgE também foram detectados pelo FAN em estudos clínicos primeiramente em 1978. Descrito como prevalente em metade dos pacientes com LES, habitualmente os autoanticorpos são detectados nesses estudos pelo método ELISA, mas estudos com imunofluorescência indireta (IFI) também já foram demonstrados. (ATTA 2010)

Anticorpos IgE contra antígenos nucleares específicos também são descritos como presentes em 61% dos pacientes (DEMA, 2014A), com correlação com atividade de doença. Os principais alvos moleculares são proteínas nucleares, como por exemplo DNA de dupla hélice (anti-DNA), proteína Smith, SSA/Ro e SSB/La. Inclusive, já foram identificadas três novas proteínas nucleares que nunca haviam sido antes descritas para outros isotipos: a APEX nuclease 1 (APEX), glicosilase N-metilpurina DNA (MPG) e o *domínio CAP-GLY containing linker protein family member 4* (CLIP4). (DEMA, 2014A). Autoanticorpos IgE podem ser biomarcadores de lesão renal aguda e atividade de doença com especificidade melhor que autoanticorpos IgG. (DEMA, 2014B)

1.3.3 Necessidade de mais Estudos Clínicos

Apesar da existência de estudos clínicos sobre IgE autorreativa no LES, ainda é preciso maior esclarecimento quanto à real utilidade clínica, inclusive como biomarcador. A simples presença do autoanticorpo ou até mesmo a associação com atividade de doença pode não ser relevante, caso não seja estabelecido qual a vantagem de tais autoanticorpos em relação ao arsenal diagnóstico já disponível.

Também é interessante a reprodutibilidade desses achados em pacientes com contexto clínico diverso. Estudos de mundo real possuem a vantagem de utilizar cenários clínicos similares ao encontrado na maioria dos serviços clínicos.

1.5 JUSTIFICATIVA

Portanto, aprofundar o conhecimento sobre a rede de IgE além de doenças alérgicas pode auxiliar no entendimento de mecanismos patológicos (endótipos) e no processo de personalização do tratamento no LES. Componentes desse sistema podem ser utilizados como biomarcadores e auxiliar a identificar fenótipos que podem se beneficiar de um tratamento de precisão, otimizado, com menor risco de efeitos colaterais e maior probabilidade de resposta.

1.4 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral:

- Verificar a positividade de componentes da rede de IgE autorreativa em pacientes com nefrite lúpica, em um contexto de mundo real

1.5.2 Objetivos Específicos:

- Verificar se há diferenças entre IgE total, sensibilização para aeroalérgenos (BT e DP) e doenças atópicas, em pacientes com nefrite lúpica e saudáveis;
- Verificar a frequência de positividade de FAN IgE e ANTI-DNA IgE em pacientes com nefrite lúpica e saudáveis;
- Verificar se há associação entre atividade do LES e IgE total, FAN IgE e anti-DNA IgE positivos, em pacientes atópicos e não-atópicos.
- Comparar o perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do FAN IgG e FAN IgE;
- Comparar o perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do anti-DNA IgG e anti-DNA IgE.

1.6 HIPÓTESE

A rede de IgE autorreativa é presente na nefrite lúpica independente da resposta alérgica e pode ajudar a identificar endótipos e fenótipos específicos em pacientes com nefrite lúpica:

- Não há diferenças entre IgE total, sensibilização para aeroalérgenos (BT e DP) e doenças atópicas, em pacientes com nefrite lúpica e saudáveis;
- Pacientes com nefrite lúpica têm frequência mais elevada de IgE autorreativa que a população em geral;
- A rede de IgE autorreativa associa-se com atividade de doença, independente da presença de atopia;
- Pacientes com FAN IgE positivo são pacientes com mais gravidade, lesão renal ativa, e atividade de doença;
- Pacientes com anti-DNA IgE positivo são pacientes com mais gravidade, lesão renal ativa, e atividade de doença.

1.7 REFERÊNCIAS

AKAHOSHI, M.; NAKASHIMA, H.; TANAKA, Y; *et al.* **T_H1/T_H2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus.** Arthritis and Rheumatism. v. 42, n. 8, p. 1644-8. 1999

ANAYA, J-M.; SCHOENFELD, Y.; CERVERA, R. **Systemic Lupus Erythematosus 2014.** Autoimmune Diseases. v. 2014. 2014.

ASAI K, KITaura J, Kawakami Y, *et al.* **Regulation of mast cell survival by IgE.** Immunity. v. 14, p. 791-800. 2001.

BARABÁSI, A-L. **Network Medicine — From Obesity to the “Diseasome”.** New England Journal of Medicine.v. 357, p. 404-407. 2007.

BIESEN, R.; ROSE, T.; HOYER, B. F. *et al.* **Autoantibodies, complement and type I interferon as biomarkers for personalized medicine in SLE.** Lupus, v. 25, p. 823–829, 2016.

BOSCH, X. *et al.* **Basophils, IgE, and Autoantibody-Mediated Kidney Disease.** The Journal of Immunology, v. 186, n. 11, p. 6083–6090, 2011.

BURTON, O. T.; OETTGEN, H. C. **Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases.** Immunological Reviews. v. 242, p. 128-43. 2011.

CHAN, S. Y.; LOSCALZO, J. **The emerging paradigm of network medicine in the study of human disease.** Circulation Research. v. 111, n. 3, p. 359-74. 2012.

CHARLES, N. *et al.* **Basophils and the T helper 2 environment can promote the development of lupus nephritis.** Nature Medicine, v. 16, n. 6, p. 701–707, 2010.

CHENG L. E.; WANG Z. E.; LOCKSLEY R. M. **Murine B cells regulate serum IgE levels in a CD23-dependent.** Journal of Immunology. v. 185, p. 5040-5047. 2010.

COOPER P. J. **Safety of anti-immunoglobulin E therapy with omalizumab in allergic patients at risk of geohelminth infection.** *Clinical and Experimental Allergy*. v. 37, p. 197-207. 2007.

CROMHEECKE J. L. ; NGUYEN, K. T.; HUSTON, D. P. **Emerging Role of Human Basophil** *Biology in Health and Disease*. v. 14, p. 408. 2014

DAVIDSON, A.; DIAMOND, B. **Activated basophils give lupus a booster shot.** *Nature medicine*, v. 16, n. 6, p. 635–636, 2010.

DE LUCENA, G. R. A. C. et al. **Systemic lupus erythematosus and allergy: an integrative review of the literature.** *Acta reumatologica portuguesa*, v. 38, n. 3, p. 162–70,. 2008.

DEMA, B.; PELLEFIGUES, C.; HASNI, S.; et al. **Autoreactive IgE is prevalent in systemic lupus erythematosus and is associated with increased disease activity and nephritis.** *PLoS ONE*, v. 9, n. 2, 2014.

DEMA, B.; CHARLES, N; PELLEFIGUES, C. et al. **Immunoglobulin E plays an immunoregulatory role in lupus.** *The Journal of Experimental Medicine*, v. 211. p. 2159–2168, 2014.

DEMA, B.; CHARLES, N. **Autoantibodies in SLE: Specificities, Isotypes and Receptors.** *Antibodies*, v. 5, n. 1, p. 2, 2016.

GAUCHAT J.F.; HENCHOZ S.; MAZZEI G. **Induction of human IgE synthesis in B cells by mast cells and basophils.** *Nature*. v. 365, p. 340-343. 1993.

GARMAN, S.C. I KINET, J. P.; JARDETZKY, T.S. **Crystal structure of the human high-affinity IgE.** *Cell*. v. 95, p. 951-961; 1998.

GEHA, R. S.; JABARA, H. H.; BRODEUR, S. R. **The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination.** *Nature Reviews of Immunology*. n. 3, p. 721–732. 2003.

GOULD, H. J.; SUTTON, B. J. **IgE in allergy and asthma today.** *Nature Reviews Immunology*, v. 8, n. 3, p. 205–217, mar. 2008.

GOULD H. J.; SUTTON B. J.; BEAVIL A. J, *et al.* **The biology of IgE and the basis of allergic disease.** *Annual Reviews of Immunology*. v.21, p. 579-628, 2003.

HRADETZKY, S.; WERFEL, T. RÖSNER, L. M. **Autoallergy in atopic dermatitis**. *Allergo Journal International*.v. 24, p.16-22. 2015

HENAULT, J.; RIGGS, J. M.; Karnell, J. L *et al*. **Self-reactive IgE exacerbates interferon responses associated with autoimmunity**. *Nature Immunology*. v. 17, p. 196-203. 2015.

HEYMAN, B. . **IgE-mediated enhancement of antibody responses: the beneficial function of IgE?** *Allergy*. v. 57, p. 577-585. 2002.

HOGAN, S. P.;ROSENBERG, H. F.; MOQBE, R. **Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease**. *Clinical and Experimental Immunology*. v. 38, p. 709–750. 2008

ISHIZAKA K; ISHIZAKA T.; HORNBROOK M. M. **Physico-chemical properties of reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier or reaginic activity**. *The Journal of Immunology*; v. 97, p. 75-85, 1966.

JEGO, G.; PALUCKA, A. K.; BLANCK, J. P.; *et al*. **Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6**. *Immunity*. v. 19, n. 2, p. 225-34. 2003.

KARAGEORGAS, T. P.; TSERONIS, D.D.; MAVRAGANI, C. P. **Activation of Type I Interferon Pathway in Systemic Lupus Erythematosus: Association with Distinct Clinical Phenotypes**. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. v. 2011, p.13. 2011.

KRAFT, S.I.; KINET, J. P. **New developments in FcεRI regulation, function and inhibition**. *Nature Review of Immunology*. v. 7, p. 365–378, 2007.

KELLY, 2016

Kelly, B. T.; Grayson, M. H. **Immunoglobulin E, what is it good for?** *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* v. 116, p. 183-187; 2016.

LECH, M. ANDERS, H-J. **The Pathogenesis of Lupus Nephritis**. *Jornal of American Society of Nephrology*. v. 24, p.1357–1366. 2013.

LIU, Y. ANDERS, H-J. **Lupus Nephritis: From Pathogenesis to Targets for Biologic Treatment**. *Nephron Clinical Practice*. v. 128, p. 224–231. 2014

LIPHAUS, B. L. et al. **Increased IgE serum levels are unrelated to allergic and parasitic diseases in patients with juvenile systemic lupus erythematosus.** Clinics (São Paulo, Brazil), v. 67, n. 11, p. 1275–80, 2012.

LISTON, A.; ENDERS, A.; SIGGS, O. M. **Unravelling the association of partial T-cell immunodeficiency and immune dysregulation.** Nature Reviews Immunology. v. 8, p. 545-558. 2008.

MACGLASHAN D. JR., LICHTENSTEIN L.M., MCKENZIE-WHITE J. et al. **Upregulation of FcepsilonRI on human basophils by IgE antibody is mediated by interaction of IgE with FcepsilonRI.** Journal of Allergy and Clinical Immunology. v. 104, p. 492-498. 1999.

MARCELONGO, R.; MARSILLI, C. **Determination of serum IgD and IgE levels in patients with rheumatoid arthritis.** Reumatismo. v. 24, n. 2, p. 173-174. 1972.

MARICHAL T.; STARKL, P.; REBER, L. L.; *et al* **A beneficial role for immunoglobulin E in host defense against honeybee venom.** Immunity. v. 39, p. 963-975. 2013.

MASUTANI, K.; AKAHOSHI, M.; TSURUYA K.; et al. **Predominance of TH1 immune response in diffuse proliferative lupus nephritis.** Arthritis and Rheumatism. v. 44, n. 9, p. 2097-106. 2001.

MCPHAUL, J. J. et al. **Participation of immunoglobulin E (IgE) in immune-mediated glomerulonephritis.** Kidney International, v. 5, n. 4, p. 292–299, abr. 1974.

NAVARRO-ZORRAQUINO, M. **Determination of the immunoglobulin E postoperative variation as a measure of surgical injury.** World Journal of Surgery. v. 25, p. 585- 591. 2001.

NEWCOMB, D. C.; PEEBLES JR., R. S. **Th17-mediated inflammation in asthma.** Current Opinion Immunology. v. 25. 2013.

OSHEA, J. J.; VISCONTI, R. **Type 1 IFNs and regulation of TH1 responses: enigmas both resolved and emerge.** Nature Immunology v. 1, p. 17 - 19. 2000.

PAWANKAR, R; HAYASHI, M.; YAMANISHI, S.; *et al.* **The paradigm of cytokine networks in allergic airway inflammation.** Current Opinion Allergy and Clinical Immunology. v. 15, p. 41-48. 2015

PELLEGRINO, M.G; BLUTH, M. H.; SMITH- NOROWITZ, T. *et al.* **HIV type 1-specific IgE in serum of long-term surviving children inhibits HIV type 1 production in vitro.** AIDS Res.earch and Human Retroviruses. v. 18, p. 363–372. 2002.

PERMIN, H.; WIJK, A. **The prevalence of IgE antinuclear antibodies in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus.** Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. v. 5, p. 245-249. 1978

PRUSSIN, C.; METCALFE, D. D. **IgE, mast cells, basophils, and eosinophils.** Journal of Allergy and Clinical Immunology. v. 111, p. S486–S494. 2003.

REKVIG, O. P.; VAN DER VLAG, J. **The pathogenesis and diagnosis of systemic lupus erythematosus: still not resolved.** Seminars in Immunopathology, v. 36, n. 3, p. 301–311, 2014.

ROSENBLUM, M. D.; REMEDIOS, K. A.; ABBAS, A. K. **Mechanisms of human autoimmunity.** Journal of Clinical Investigation, v. 125, n. 6, p. 2228–2233, 2015.

RINDSJÖ, E.; SCHEYNIUS, A. **Mechanisms of IgE-mediated allergy.** Experimental Cell Research. v. 316, p. 1384-1389. 2010.

SANJUAN, M. A.; SAGAR, D.; KOLBECK, R. **Role of IgE in autoimmunity.** Journal of Allergy and Clinical Immunology, v. 137, n. 6, p. 1651–1661, jun. 2016.

SCHMITT, N.; UENO, H. **Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines.** Current Opinion Immunology. v. 34, p. 130-136. 2015.

SCHROEDER, K.; HERRMANN, M.; WINKLER, T. H. **The role of somatic hypermutation in the generation of pathogenic antibodies in SLE.** Autoimmunity. v. 46, n. 2, p. 121-127. 2013.

SKAABY, T.; HUSEMOEN, L.L. ; THUESEN, B. H. **Specific IgE positivity against inhalant allergens and development of autoimmune disease.** Autoimmunity. v. 48, n. 5, p. 282-288. 2015

SIEBENKOTTEN, G.; ESSER, C.; WABL, M. *et al.* **The murine IgG1/IgE class switch program.** European Journal of Immunology. 22: 1827–1834. 1992.

SOUZA V.; MEDEIROS D.; SALES I; *et al* **Ascaris lumbricoides infection in urban schoolchildren: specific IgE and IL-10 production.** Allergy Immunopathology. v. 42, p. 206-211. 2014.

STONE, K. D.; PRUSSIN, C.; METCALFE, D. D. **IgE, mast cells, basophils, and eosinophils.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. v. 125, p. S73-S80. 2010.

SUTTON, B. J.; GOULD, H. J. **The human IgE network.** *Nature*. v. 366, p. 421-428. 1993

TSOKOS, G. C. *et al.* **New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus.** *Nature Reviews Rheumatology*, v. 12, n. 12, p. 716–730. 2016.

TUMA, S. N.; LLACH, F.; SOSTRIN, S.; *et. al.* **Glomerular IgE deposits in patients with lupus nephritis.** *American Journal of Nephrology* v. 1, p31–36. 1981.

VALENCIA X.; YARBORO, C.; ILLEI, G.; *et al.* **Deficient CD4 +CD25high T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus.** *Journal of Immunology*. v. 178, n.4, p. 2579-2588. 2007.

VELDHOEN, M. **The role of T helper subsets in autoimmunity and allergy.** *Current opinion in immunology*, v. 21, n. 6, p. 606–11, dez. 2009.

VERNERSSON, M. *Rise and Fall of IgE*. 2002. 61 F. Tese (Doutorado em Imunologia Molecular) - Universidade de Uppsala. ISBN 91-554-5388-0.

WEIS W.I.; TAYLOR, M. E.; DRICKAMER K. *et al.* **The C-type lectin superfamily in the immune system.** *Immunology Reviews*. v. 163, p. 19-34. 1993.

2. CAPITULO II - MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO DE ESTUDO

Estudo clínico, transversal, analítico, de caráter exploratório, com amostra por conveniência composta por em 78 pacientes com nefrite lúpica e 40 controles saudáveis, pareados para idade, sexo, raça e escolaridade.

2.2 LOCAL E PERÍODO DA PESQUISA

Os pacientes com nefrite lúpica foram recrutados no ambulatório de nefrite do serviço de Nefrologia e no ambulatório de lúpus do serviço de Reumatologia, ambos no Hospital das Clínicas - UFPE, entre junho e dezembro de 2016.

Os controles eram pessoas saudáveis. A maior parte composta de genitores recrutados por amostra de conveniência do ambulatório de puericultura do serviço de Pediatra do Hospital das Clínicas-UFPE entre dezembro de 2016 e abril de 2017.

2.3 POPULAÇÃO EM ESTUDO - AMOSTRA

2.3.1 População alvo

Paciente portadores de lúpus eritematoso sistêmico (LES) com Nefrite, que preencham critérios de classificação do American College Rheumatology (ACR) de 1997/1980, recrutados do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

2.3.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes com LES, portadores de nefrite lúpica, com ou sem atividade de doença, na faixa etária entre 18 e 65 anos. Os pacientes deveriam ter diagnóstico de nefrite lúpica (de acordo com critérios do *ACR*) firmado por especialista e registrado em prontuário, preferencialmente confirmado por estudo histopatológico de biópsia renal. Adicionalmente, foram recrutados participantes saudáveis com características demográficas semelhantes para compor o grupo controle.

2.3.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os pacientes portadores de neoplasias; pacientes que possuíam outra doença auto-imune além do LES (exceto síndrome do anticorpo antifosfolípide); pacientes com causas diversas (além do LES) de síndrome nefrítica/nefrótica; em diálise ou transplante renal; em uso de antibióticos ou com intercorrências infecciosas; e pacientes sem diagnósticos definidos.

2.4 CÁLCULO E PROCESSO DE AMOSTRAGEM

A mostra foi estimada a partir de estudos clínicos que demonstraram que o FAN IgE e anti-DNA IgE são prevalente em 81% (ATTA, 2004) e 40,3% (DEMA, 2014) pacientes com LES. Dessa maneira, considerando um alfa de 5%, um beta de 20%, estimamos que uma amostra com um mínimo de 75 pacientes com nefrite lúpica e 40 controles saudáveis devesse trazer resultados significativos para demonstrar que a rede de IgE possui participação e importância em um parcela dos pacientes com LES e nefrite lúpica.

Os participantes foram selecionados por amostra de conveniência, de acordo com a demanda espontânea, exceto por vinte pacientes cujos dados e exames foram compartilhados a partir de banco de soro.

2.5 DEFINIÇÃO DE TERMOS E VARIÁVEIS

2.5.1 Variáveis Demográficas

- **Idade:** Variável discreta. Descrita em anos.
- **Sexo:** Variável nominal. Masculino ou Feminino.
- **Etnia:** Variável categórica. Branca, negra, parda, amarela ou não sabe/não quer informar.
- **Peso:** Variável contínua, em quilos (Kg).
- **Altura:** Variável contínua, em metros.

2.5.2 Definições de Termos e Variáveis para avaliação do Lúpus Eritematoso Sistêmico

- **Tempo de doença:** variável discreta. Descrita em anos, a partir do ano de diagnóstico clínico firmado por especialista.
- **Lúpus Eritematoso Sistêmico:** Definido pela presença de ≥ 4 dos 11 critérios do American College Rheumatology (HOCHBERG, 1997)
- **Atividade de doença:** Dicotômica, a partir de escore clínico-laboratorial validado: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI 2K). Positivo se ≥ 6 (GLADMAN, 2002).
- **Nefrite Lúpica:** Presença de diagnóstico firmado por especialista com paciente com acompanhamento clínico, preferencialmente confirmado por biópsia.

- **Nefrite Lúpica Ativa ou Doença Renal Ativa:** definida pela presença de proteinúria 24h 500 mg/dia (ou estimado pela relação albumina/creatinina urinária ≥ 500 mg/g) associado a sedimento ativo na urina: hematúria, piúria e/ou cilindros. Considerou-se Hematúria: > 5 hemáceas por campo; Piúria: > 5 leucócitos por campo; Cilindros: presença de cilindros hemáticos ou granulares.
- **Biópsia renal:** variável categórica. Classificada de acordo com a classificação da *International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS)*. A ênfase será para a nefrite membranoproliferativa (classe IV) e membranosa (classe V), pois estão relacionadas à polarização TH1 e TH2, respectivamente. (AKAHOSHI, 1999)
- **Uso de medicamentos:** medicamento(s) e a dose mais recente que o paciente utilizou no momento da coleta dos dados do estudo. Foram desconsiderados medicamentos prescritos e não utilizados pelos pacientes. As definições de medicações são detalhadas no quadro 1.

Quadro 1 — Medicamentos, tipos de variáveis e unidades pelos pacientes com nefrite lúpica recrutados entre junho-dezembro 2016 no Hospital das Clínicas - UFPE

Medicamento	Tipo de Variável	Unidade
Prednisona (PDN)	Contínua	mg/dia
Hidroxicloroquina (HCQ)	Contínua	mg/dia
Ciclofosfamida (CYC)	Dicotômica: SIM = Uso esquema para indução	-
Indução de Micofenolato de Mofetil (MMF)	Dicotômica: SIM = doses ≥ 3 g/dia	-
Manutenção de Micofenolato de Mofetil (MMF)	Dicotômica; doses ≤ 2 g/dia	-
Azatioprina (AZA)	Dicotômica	-
Metotrexate (MTX)	Dicotômica	-
Colecalciferol	Dicotômica: Positiva se dose média diária >400 UI	-
Uso de inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA) ou bloqueador do receptor de angiotensina (BRA)	Dicotômica. Positiva se presença de uso de captopril, enalapril, valsartana ou outra medicação destas classes.	-

- **Dosagem sérica de exames laboratoriais:** os valores de referência foram considerados conforme orientações técnicas dos equipamentos utilizados, listadas no quadro 2.

Quadro 2 - Exames utilizados para avaliação de características laboratoriais em pacientes com nefrite lúpica, recrutados entre junho-dezembro 2016

Exame	Variável	Equipamento/KIT	Valor de Referência
Hemoglobina	Contínua	Pentra 120	g/L
Leucócitos	Discreta	Pentra 120	n x 10 ⁹ /L
Contagem de basófilos no sangue periférico	Discreta	Pentra 120	0,01-0,06 × 10 ⁹ /L
Contagem de eosinófilos no sangue periférico	Discreta	Pentra 120	40-700 × 10 ⁹ /L.
Contagem de monócitos no sangue periférico	Discreta	Pentra 120	160-1200 × 10 ⁹ /L.
Plaquetas	Discreta	Pentra 120	n x 10 ⁹ /L
Nível de C3	Contínua	Imunoturbidimétrico - Cobas 6000	≥90
Nível de C4	Contínua	Imunoturbidimétrico - Cobas 6000	≥10
Proteína C Reativa (PCR)	Contínua	Imunoturbidimétrico - Cobas 6000	< 5,0 mg/L.
Velocidade de Hemossedimentação	Discreta	Fotometria por Capilaridade	<40 mm/H
Bilirrubina Total	Contínua	Automação	mg/dL
Creatinina Sérica	Contínua	Automação	mg/dL
Ureia Sérica	Contínua	Automação	mg/dL
Proteinúria de 24h	Contínua	Automação	mg/24h
Relação Albumina/Creatinina Urinária:	Contínua	Automação	mg/g
Hematúria	Discreta	Automação	Hemácias por campo
Piúria	Discreta	Automação	Leucócitos por campo
Cilindros urinários	Discreta	Automação	Presença ou Ausência de cilindros hemáticos ou granular.

2.5.3 Variáveis específicas para avaliação da rede de IgE nos pacientes com nefrite lúpica e no grupo comparativo

- **IgE total:** variável contínua, em IU/mL e em escala logarítmica. Alternativamente variável categórica, com ponto de corte ≥ 100 , por ser academicamente considerado o ponto de corte mais utilizado na prática clínica (CHANG, 2015)
- **IgE específica para *Blomia tropicalis*:** variável contínua. em kUI/mL. Alternativamente dicotômica, de acordo com pontos de corte. Para análise preliminar utilizamos três pontos de corte $>0,1$, $\geq 0,35$, e $\geq 0,70$. Após avaliação, optamos por utilizar o ponto de corte de $\geq 0,35$ kUI/L, que é o mais adequado para nossa amostra, que também é o mais utilizado na prática clínica e recomendado pelo fabricante. (CIPRANDI, 2014; PHADIA, 2017)
- **IgE específica para *Dermatophagoides pteronissinus*:** variável contínua. em kUI/mL. Alternativamente dicotômica, de acordo com pontos de corte. Para análise preliminar utilizamos três pontos de corte $>0,1$, $\geq 0,35$, e $\geq 0,70$. Após avaliação, optamos por utilizar o ponto de corte de $\geq 0,35$ kUI/L, que é o mais adequado para nossa amostra, que também é o mais utilizado na prática clínica e recomendado pelo fabricante. (CIPRANDI, 2014; PHADIA, 2017)
- **Sensibilização (para aeroalérgenos):** Dicotômica; positiva se presença de valores acima de $\geq 0,35$ para *B. tropicalis* e/ou *D. pteronissinus*.
- **Atopia ou Atopia Clínica:** variável dicotômica. Presença de sensibilização positiva para *D. pteronissinus* e/ou *B. tropicalis* ($\geq 0,35$ kUI/L) com presença atual ou passada de sintomas de Asma, Rinite ou Dermatite Atópica.
- **Passado de Sintomas de Asma:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 28.1 do protocolo de pesquisa.
- **Passado de Sintomas de Rinite:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 29.1 do protocolo de pesquisa.
- **Passado de Sintomas de Dermatite Atópica:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 30.1 do protocolo de pesquisa.
- **Passado de Sintomas de Urticária:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 31.1 do protocolo de pesquisa.

- **Sintomas Atuais de Asma:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 28.2 do protocolo de pesquisa.
- **Sintomas Atuais de Rinite:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 29.2 do protocolo de pesquisa.
- **Sintomas Atuais de Dermatite:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 30.2 do protocolo de pesquisa.
- **Diagnóstico de Asma:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 28.6 do protocolo de pesquisa.
- **Diagnóstico de Rinite:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 29.5 do protocolo de pesquisa.
- **Diagnóstico de Dermatite Atópica:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM no item 30.6 ou 32.8 do protocolo de pesquisa.
- **Histórico Familiar de Doenças Autoimunes:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM ao item 33.1.
- **Histórico Familiar de Doenças Alérgicas:** variável dicotômica. Positiva se resposta SIM ao item 33.2.

2.5.4 Variáveis séricas para avaliação de autoanticorpos nos pacientes com nefrite lúpica e no grupo comparativo:

- **FAN IgE:** variável discreta. Em diluições: 1/160; 1/320; 1/640. Alternativamente, variável dicotômica, positiva quando $\geq 1/160$.
- **FAN IgG:** Variável discreta. variável discreta. Em diluições: <1/160; 1/160; 1/320; 1/640; 1/1280; 1/2560; 1/5000. Alternativamente, variável dicotômica, positiva quando $\geq 1/160$.
- **Anti-DNA dupla-hélice IgE:** variável discreta. Em diluições: <1/10; 1/10; 1/20; 1/40. Alternativamente, variável dicotômica, positiva quando $\geq 1/10$.
- **Anti-DNA dupla-hélice IgG:** Em diluições: <1/10; 1/10; 1/20; 1/40; 1/80. Alternativamente, variável dicotômica, positiva quando $\geq 1/10$.

2.5.5 Etapas e Métodos de coleta dos dados

- Abordagem com explicação sobre a pesquisa clínica, aspectos éticos e após concordância e esclarecimento de dúvidas, assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.
- Coleta da história clínica e dados clínicos, com preenchimento de protocolo de pesquisa.
- Avaliação de atividade da doença através do SLEDAI 2K.
- Coleta de aproximadamente 20mL de sangue, que foi enviado para análise em laboratório ou armazenado em freezer a -30°C para dosagem posterior em laboratório especializado.
- A amostra de sangue e urina foi coletada por profissional técnico em coleta contratado exclusivamente para a pesquisa.
- Análise da proteinúria de 24h solicitada pelo médico assistente e trazida pelo paciente. Na ausência desta ou quando considerada má coletada (volume urinário baixo), foi coletado amostra espontânea de aproximadamente 20 mL de urina, com análise imediata ou refrigeração em geladeira para análise em <12h.
- Análise dos exames laboratoriais solicitados para a pesquisa, segundo normas técnicas específicas para o respectivo exame.
- Resgate dos exames e digitação em dupla entrada em planilha.

2.5.6 Definição dos recursos humanos

A coleta de dados foi realizada pelo pesquisador principal. Em parte dos pacientes foi auxiliado por estudante do 5o ano da graduação de medicina, bolsista de um programa de iniciação científica, supervisionado em mesma sala pelo pesquisador.

2.5.7 Instrumentos de medida e sua confiabilidade - aferições

- Esfignomanômetros Tycos certificado pelo *inmetro*.
- Balança Filizola certificada pelo *inmetro*.
- Hemograma: Pentra 120 calibrada.
- Microscópio de Imunofluorescência Eurostar III plus.
- Avaliação da Atividade de doença: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI 2K) é um instrumento de avaliação de atividade de doença validado (GLADMAN, 2002) e utilizado em diversos estudos para avaliar atividade do LES (vide instrumento nos anexos). É uma modificação do SLEDAI original (BOMBARDIER, 1992) considerada mais prática e que permite considerar atividade de doença persistente em relação ao rash, alopecia, úlceras orais e proteinúria. Apesar de existirem variações quanto ao ponto de corte em relação à atividade de doença, utilizamos aleatoriamente o ponto de corte (≥ 6) que é considerado como clinicamente importante e que afeta a decisão de iniciar/modificar tratamento em >50% dos casos (MIKDASHI, 2015).
- Questionário Asma/Rinite/Dermatite: As perguntas foram adaptadas do questionário ISAAC validado para a língua portuguesa. (SOLÉ, 1998; VANNA, 2001; YAMADA, 2002), que foi utilizado no estudo que determinou a prevalência de asma, rinite e dermatite atópica em crianças brasileiras. (SOLÉ, 2010)

2.5.8 Padronização das técnicas

- Os dados foram coletados através de questionário específico para pesquisa e do SLEDAI 2K, coletados de forma padronizada.
- Mensuração das variáveis clínicas seguiu padrões técnicos estabelecidos.
- As amostras de sangue e urina foram coletadas por técnico em coleta laboratorial.
- As dosagens específicas em soro e urina foram realizadas de acordo com o manual do fabricante, em laboratórios de referência: Laboratório de Análise Clínica do Hospital das Clínicas da UFPE e Laboratório Marcelo Magalhães ambos certificados em qualidade e utilizados clinicamente no mundo real para atendimento de pacientes. Os analistas nos respectivos laboratórios não tinham conhecimento a que grupo o soro pertencia.

2.5.8.1 Técnica empregada para detecção de autoanticorpos

- FAN IgG: Método: Imunofluorescência indireta em células Hep2.
- Anti-DNA dupla hélice IgG: Método: Imunofluorescência indireta em chritidia.
- FAN IgE: Imunofluorescência indireta em células Hep2. Utilizamos as lâminas NOVA Lite® HEp-2 ANA Kit with DAPI INOVA, diluindo inicialmente os soros a 1/160. O conjugado marcado com fluoresceína foi da marca INVITROGEN ref A18800 – goat Anti-Human IgE (épsilon chain) Antibody, fluorescein (FITC) conjugate, cross absorbed titulado para 1/320 com azul de evans – conforme técnica descrita no kit do fabricante.
- Anti-DNA dupla hélice IgE: Imunofluorescência indireta em chritidia. Utilizamos as lâminas do KIT NOVA Lite® dsDNA Crithidia luciliae Kits/Substrate Slides INOVA, diluindo inicialmente os soros a 1/10. O conjugado marcado com fluoresceína da marca INVITROGEN ref A18800 – goat Anti-Human IgE (épsilon chain) Antibody, fluorescein (FITC) conjugate, cross absorbed titulado para 1/160 com azul de evans – conforme técnica descrita no kit do fabricante.

Na técnica de imunofluorescência indireta, as amostras são incubadas com substrato de antígeno e os anticorpos sem reação são desprezados durante a lavagem. O substrato é incubado com conjugado marcado de fluoresceína específico e, em seguida, o reagente não ligado é lavado. Quando visto através de um microscópio de fluorescência, as amostras positivas de autoanticorpos exibem uma fluorescência azulada correspondente às áreas da célula ou dos núcleos onde o autoanticorpo estava ligado.

Foram seguidos os seguintes passos para leitura:

1. Preparação das Lâminas: As lâminas foram removidas da saqueta após atingir temperatura ambiente. Após marcação com lápis, foram colocadas em câmara úmida. Uma gota (20-25 µL) do controle positivo e negativo não diluído foi adicionada aos poços 1 e 2, respectivamente. Então, 1 gota (20-25 µL) da amostra do paciente foi diluída aos poços remanescentes.

2. Incubação da Lâmina: A lâmina foi incubada durante 30 ± 5 minutos numa câmara úmida (uma toalha de papel umedecida colocada numa base plana de um recipiente de plástico ou de vidro fechado).
3. Lavagem de Lâminas: Após a incubação, uma pipeta foi utilizada para lavar suavemente o soro com o tampão PBS II diluído. Orientado a lâmina e o fluxo do tampão PBS II. As lâminas foram colocadas na tina de lavagem com PBS II diluído durante mais 5 minutos e então foram colocadas em um frasco de Coplin do amortecedor diluído de PBS II por até 5 minutos.
4. Adição de Conjugado Fluorescente: O excedente do tampão PBS II foi retirado e a lâmina novamente colocada na câmara úmida e cada poço coberto imediatamente com uma gota de conjugado fluorescente. As lâminas foram incubadas durante mais 30 ± 5 minutos.
5. Nova Lavagem de Lâminas: idêntico ao passo 3.
6. Lamínula: Colocamos uma lamela numa toalha de papel. b. Realizamos um meio de montagem numa linha contínua na extremidade da lamela. c. Retiramos o excesso de tampão PBS II e colocamos a extremidade inferior da lâmina na extremidade da lamela, deslizando a lâmina suavemente no sentido da lamela de tal modo que o meio de montagem flua para a extremidade superior da lâmina sem a formação de bolhas de ar ou artefactos.
7. Leitura no microscópio de Imunofluorescência Eurostar III plus, por dois profissionais treinados.

2.5.9 Plano De Tabulação E Análise De Dados

- **Planilhas:** As informações coletadas foram tabuladas em dois bancos de dados (dupla entrada) para identificar eventuais inconsistências no processo de digitação, utilizando-se o programa Pages para OSX.
- **Formas de Entrada de Dados:** Os dados foram digitados em dupla-entrada, por dois pesquisadores de maneira independente.

2.6 ANALISE ESTATÍSTICA

Para a análise de dados utilizou-se o SPSS versão 20 (2011), onde com base numa amostra de 78 pacientes com Nefrite e 40 pacientes considerados como controle, inicialmente realizou-se uma caracterização da amostra, onde as variáveis qualitativas foram estudadas com base nas frequências absolutas e percentuais. Para as variáveis quantitativas, realizou-se um estudo da mediana, mínimo e máximo a fim de entender o comportamento da amostra em questão. Além disto, analisou-se também a caracterização clínica dos pacientes.

Com o objetivo de verificar possíveis associações entre as variáveis qualitativas, construiu-se tabelas de contingência para estudo das frequências absolutas e percentuais, além da aplicação dos testes *Qui-quadrado de Independência* ou *Teste Exato de Fisher*. Ambos os testes avaliam a hipótese de que o par de variáveis qualitativas (ex: Etnia vs Grupo) são independentes ($p\text{-valor} > 0,05$) contra a hipótese alternativa de que não são independentes ($p\text{-valor} > 0,05$). Em alguns casos onde suposições teóricas foram violadas, a *Correção de Yates* foi aplicada ao teste *Qui-quadrado de Independência*.

Para a comparação das variáveis quantitativas entre os grupos Nefrite e Saudáveis, após avaliação da distribuição da normalidade dos dados, aplicou-se o teste *U de Mann-Whitney* testando a hipótese nula de que a distribuição dos valores da variável numérica em questão não diferia significativamente entre os grupos ($p\text{-valor} > 0,05$) contra a hipótese alternativa de que os dois grupos apresentaram diferenças significativas ($p\text{-valor}$) nos valores da tal variável. Para todos os testes estatísticos utilizou-se do nível de 5% de significância.

2.7 ORÇAMENTO-FINANCIAMENTO

O custo da pesquisa foi financiado pelos próprios autores, sem financiamento das agências de fomento em pesquisa.

Houve bolsa de mestrado da CAPES durante 12 meses para o pesquisador principal e de pesquisador do CNPQ para o orientador do estudo.

2.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todos os aspectos éticos relativos à pesquisa com sujeitos humanos foram respeitados, conforme a Resolução Nº. 466 de 10 de 2012 Conselho Nacional de Saúde / MS.

A todos os pacientes foram explicados os objetivos da dissertação e sua operacionalização, com assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. O modelo de TCLE para maiores de 18 anos ou emancipados está disponibilizado nos anexos.

O projeto (CAAE 50456315.8.0000.5208) foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa pelo parecer de número 1.331.033. O parecer encontra-se disponível na íntegra nos anexos.

2.9 LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS DO ESTUDO

Como limitação metodológica principal destaca-se a falta de padronização dos testes para identificação de autoanticorpos IgE, bem como de seus valores de referência. A utilização de um grupo controle sem doenças autoimunes é uma tentativa de minimizar esse tipo de erro.

Adicionalmente, a seleção de pacientes do sistema único de saúde (SUS) tende refletir a realidade de uma população com menor poder econômico e socialmente desfavorecida. É preciso considerar que esses pacientes muitas vezes são referenciados tardiamente e que durante o período da coleta dos dados houve irregularidade na dispensação do medicamento micofenolato de mofetil pela farmácia do estado em alguns pacientes, o que pode ter favorecido o uso irregular desse tratamento e consequente reativação da doença. Para minimizar a influência desse erro, apenas consideramos as medicações conforme foram utilizadas pelos pacientes (e não conforme prescrição médica).

Outras limitações metodológicas incluem o recrutamento de pacientes diferentes estágios de doença e com diferentes formas de tratamento; a ausência a contagem de basófilos por citometria de fluxo e do teste de liberação de basófilos; ausência de dosagem de citocinas, etc - por limitação de recursos.

2.10 REFERÊNCIAS

AKAHOSHI, M.; NAKASHIMA, H.; TANAKA, Y; *et al.* **T_H1/T_H2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus.** Arthritis and Rheumatism. v. 42, n. 8, p. 1644-8. 1999

ATTA, A.M.; SOUSA, C.P.; CARVALHO, E.M. *et al.* **Immunoglobulin E and systemic lupus erythematosus.** Brazilian Journal of Medicine and Biological Research. v. 37, n. 10, p. 1497-1501. 2004.

BENCIVELLI, W. VITELI, C.; ISENBERG, D.; *et al.* **Disease activity in systemic lupus erythematosus: report of the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research. III. Development of a computerised clinical chart and its application to the comparison of different indices of disease.** Clinical and experimental rheumatology, v. 10, n. 5, p. 549–54.

CIPRANDI, G.; SILVESTRI, M.; SIVESTRI, M. **Serum specific IgE: a biomarker of response to allergen immunotherapy.** Journal of investigational allergology & clinical immunology, v. 24, n. 1, p. 35–9, 2014.

CHANG, M. *et al.* **Analysis of total immunoglobulin E and specific immunoglobulin E of 3,721 patients with allergic disease.** Biomedical Reports, v. 3, n. 4, p. 573–577. 2015.

DEMA, B.; PELLEFIGUES, C.; HASNI, S.; *et al.* **Autoreactive IgE is prevalent in systemic lupus erythematosus and is associated with increased disease activity and nephritis.** PLoS ONE, v. 9, n. 2, 2014.

GLADMAN, D. D.; IBANÉZ, D.; UROWITZ, M. B. **Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000.** The Journal of rheumatology, v. 29, n. 2, p. 288–91, fev. 2002.

HOCHBERG, M. C. **Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.** Arthritis and rheumatism, v. 40, n. 9, p. 1725, set. 1997.

MIKDASHI, J.; NIVED, O. **Measuring disease activity in adults with systemic lupus erythematosus: the challenges of administrative burden and responsiveness to patient concerns in clinical research.** Arthritis Research & Therapy, v. 17, n. 1, p. 183, 20 dez. 2015.

PHADIA. Disponível em: <<http://www.phadia.com/en-GB/5/Products/ImmunoCAP-Assays/1/>>. Acesso em: 12 de agosto de 2017.

SOLÉ, D.; VANNA, A. T.; YAMADA, E.; *et al.* **International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) written questionnaire: validation of the asthma component among Brazilian children.** Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology. v. 8, n.6, p. 376-82. 1998.

SOLÉ, D.; MALLOL, J.; CAMELO-NUNES, I. C.; *et al.* **Latin American ISAAC Study Group. Prevalence of rhinitis-related symptoms in Latin American children - results of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase three.** PPediatric Allergy Immunology. v. 21, p. e127-36. 2010.

VANNA, A. T.; YAMADA, E.; ARRUDA, L. K.; *et al.* **International Study of Asthma and Allergies in Childhood: validation of the rhinitis symptom questionnaire and prevalence of rhinitis in schoolchildren in São Paulo, Brazil.** Pediatric Allergy Immunology. v. 12, p. 95-101. 2001.

YAMADA E.; VANNA, A. T.; NASPITZ, C. K.; *et al.* **International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): validation of the written questionnaire (eczema component) and prevalence of atopic eczema among Brazilian children.** Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology. v. 12, p. 34-41. 2002.

3. ARTIGO ORIGINAL

3.1 PÁGINA DE ROSTO

3.2 RESUMO

INTRODUÇÃO: Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma afecção autoimune complexa do ponto de vista fisiopatológico, com ampla gama de manifestações clínicas e de respostas ao tratamento. Há um número razoável de pacientes que experimentam graves efeitos colaterais do tratamento imunossupressor indistinto e - por isso - é intensa a busca por biomarcadores e tratamentos mais específicos. O sistema de imunoglobulina E (IgE) é bastante conhecido pelo papel nas doenças alérgicas. A presença de anticorpos IgE autorreativos em pacientes com LES indica uma ação potencial dessa isotipo em doenças autoimunes. No entanto, a utilidade clínica de mensurar esses autoanticorpos ainda necessita maiores esclarecimentos.

OBJETIVOS: Verificar a utilidade clínica de se avaliar alguns componentes do sistema de IgE em pacientes com nefrite lúpica, a partir de objetivos específicos: verificar se há diferença entre IgE total, sensibilização para aeroalérgenos e doenças atópicas em pacientes com nefrite lúpica e controles; verificar a frequência de positividade de FAN IgE e anti-DNA IgE em pacientes com nefrite lúpica e controles; verificar se há associação entre atividade do LES e IgE total, FAN IgE e anti-DNA IgE, em pacientes atópicos e não-atópicos; comparar o perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do FAN IgG e FAN IgE; comparar o perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do anti-DNA IgG e anti-DNA IgE.

MÉTODOS: Estudo observacional, analítico, transversal, com grupo controle comparativo, composto por 78 pacientes com nefrite lúpica coletados por amostra de conveniência e 40 adultos saudáveis pareados para idade, sexo, etnia e escolaridade, em um hospital universitário de Recife-PE, de Junho de 2016 a Abril de 2017.

RESULTADOS: Não houve aumento da sensibilização ou de prevalência de doenças atópicas em pacientes com nefrite lúpica, quando comparados com o grupo controle. A presença de FAN IgE (47,9%; $p=0,006$) e anti-DNA IgE (10,3%; $p=0,08$) parece ser maior em pacientes com nefrite lúpica. Apenas o anti-DNA IgE se relacionou com atividade de doença de forma independente de alergias e sensibilização ($p=0,012$). Identificamos um subgrupo de pacientes em que a IgE autorreativa pode causar maior atividade de doença e doença renal ativa, de maneira independente de autoanticorpos IgG.

CONCLUSÃO: Em pacientes com nefrite lúpica, a participação de parte do sistema de IgE pode ser demonstrada pela presença de IgE autorreativa. No entanto, essa ativação pode ser incompleta ou desviada, uma vez que não parece haver aumento de IgE total, sensibilização ou doenças atópicas nesses pacientes. O anti-DNA IgE se associou com atividade de doença aferida pelo SLEDAI 2K. A presença isolada de IgE autorreativa pode sugerir a presença de nefrite lúpica mais grave.

Palavras-Chave: **Imunoglobulina E. Lúpus Eritematoso Sistêmico. Nefrite Lúpica.**

3.3 ABSTRACT

INTRODUCTION: Systemic lupus erythematosus (SLE) is a complex autoimmune disorder from the physiopathological point of view. Its clinical manifestations and treatment outcomes can vary widely. There is a considerable number of patients that experience severe adverse effects from indistinct immunosuppression and, therefore, search for more precise biomarkers and treatments is intense. The immunoglobulin E (IgE) system is widely known for its role in allergy. The discovery of autoreactive IgE in SLE patients indicates a potential role for this isotype in autoimmune diseases. But, its clinical role still needs clarification.

OBJECTIVES: To verify the clinical relevance of evaluating parts of the IgE system in patients with lupus nephritis, with regard to: to verify if there is any difference between total IgE, allergen sensitization and atopic diseases in patients with lupus nephritis and healthy controls; to verify the frequency of IgE-ANA and IgE-anti-DNA in patients with lupus nephritis and healthy controls; to verify association between SLE activity and total IgE, IgE-ANA, anti-DNA-IgE, in atopic and non-atopic patients; to compare clinical and laboratory characteristics according to ANA phenotype; to compare clinical and laboratory characteristics according to anti-DNA phenotype.

METHODS: We performed an observational-analytic-transversal study, with 78 lupus nephritis patients and 40 healthy adults in a university hospital in Recife-PE, from June 2016 to April 2017.

RESULTS: Sensitization, atopy or total IgE levels were similar between groups. Lupus nephritis patients had more positive IgE-ANA (47,9%; $p=0,006$) and IgE-anti-DNA (10,3%; $p=0,08$) than healthy controls. Only IgE-anti-DNA was associated with disease activity, regardless of allergy or sensitization. We identified a subgroup of patients in which autoreactive IgE might contribute to disease activity and renal activity, regardless the presence of autoreactive IgG.

CONCLUSION: The IgE system can be active in lupus nephritis patients, as demonstrated by the presence of autoreactive IgE in these patients. However, it might be a partial or shifted activation, once we could not demonstrate higher total IgE, sensitization or atopic disease in

these patients. IgE-anti-DNA can be used as a disease activity biomarker. Isolated autoreactive IgE can be associated with more severe lupus nephritis.

Keywords: Immunoglobulin E. Lupus Erythematosus, Systemic. Lupus Nephritis.

3.4 INTRODUÇÃO

O termo doença autoimune é utilizado para definir um grupo de afecções que ocorrem quando o sistema imune falha no reconhecimento e tolerância dos componentes do próprio organismo e passa a agredi-los. Enquanto grupo, é a terceira causa mais prevalente, acometendo cerca de 5% da população, atrás apenas das neoplasias e doenças cardiovasculares (RAY 2012).

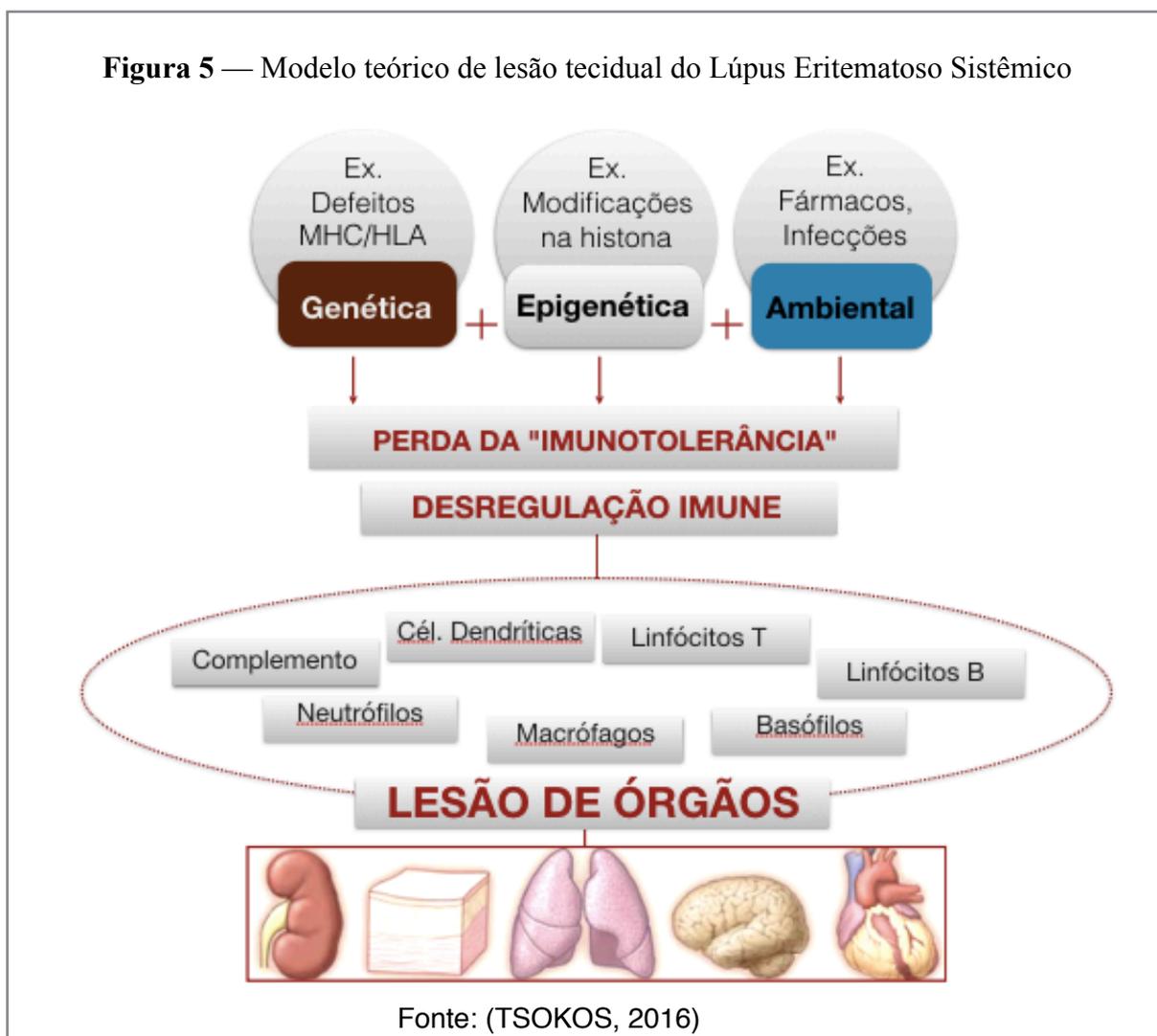
Uma das principais representantes desse grupo, o Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é mais prevalente em mulheres de idade fértil e acomete cerca de 128 em cada 100 mil. (SOMERS, 2014) É uma afecção crônica, que cursa com agudizações, alta morbidade, perda de qualidade de vida e elevado custo de tratamento.

É causada por uma complexa relação entre fatores genéticos e ambientais que são responsáveis pela perda da tolerância imunológica e propagação da desregulação autoimune. A ativação simultânea ou sequencial de diversas células e setores do sistema imune pode amplificar diferentes mecanismos patogênicos que ocasionam inflamação crônica e lesões em órgãos alvos. (figura 5) (TSOKOS, 2016).

O principal desses mecanismos patogênicos é a presença de autoanticorpos contra antígenos nucleares, que formam imunocomplexos e podem se depositar virtualmente em qualquer órgãos, com ativação da cascata do complemento, inflamação, e consequente lesão tecidual. (HERRMANN, 2015) Por isso, é possível uma grande variedade de manifestações clínicas, com lesões principalmente em pele, articulações, sistema hematopoiético e rins.

A nefrite lúpica é a principal complicação do LES e pode acometer até metade desses pacientes. É considerada uma manifestação clínica de mau prognóstico pois tende a ocorrer nos primeiros anos de doença e pode evoluir até lesão renal terminal em até 25% nesses pacientes. (SALGADO, 2012), além de se relacionar com maior mortalidade (XIONG, 2014)

A terapêutica clássica objetiva supressão generalizada e indistinta do sistema imune, sendo o grau e a escolha do imunossupressor determinados de acordo com o órgão acometido, gravidade, atividade de doença e desejo de gestação. Os pilares do tratamento são antimaláricos, glicocorticoides e citotóxicos, e são padronizados por consensos internacionais em linhas de tratamento, que são sucedidas após tentativa e erro. (HAHN, 2012; BERTSIAS 2012)



Depois de décadas sem atualização no arsenal terapêutico, em 2011 o FDA aprovou o Belimumabe, um anticorpo anti-citocina estimuladora de linfócitos B (BAFF) que é indicado como tratamento complementar à terapia padrão para pacientes com LES ativo anticorpos positivos (FAN IgG e/ou anti-DNA IgG), com eficácia que depende dos níveis circulantes de BAFF. (STOHL, 2012) Esse foi o primeiro representante de uma nova classe de medicamentos no LES, denominada terapia biológica (ou terapia alvo-molecular), capaz de agir em vias específicas do sistema imune, para que essa resposta seja modulada de forma a ficar mais controlada e previsível.

Outras medicações da terapia alvo-molecular para o LES falharam em demonstrar benefício em ensaios clínicos. Rituximabe, por exemplo, é um anticorpo monoclonal anti-CD20 que visa a depleção de linfócitos B de memória. Apesar de inicialmente pequenos

ensaios clínicos terem demonstrado eficácia, dois grandes ensaios clínicos multicêntricos (MERRIL, 2011; FURLE, 2009) falharam em confirmá-la. Desde então inúmeros debates sobre o desenho, seleção de pacientes e validade desses estudos foram suscitados. (THANOU, 2014). Inúmeros especialistas utilizam a medicação como terapia *off-label* no tratamento da nefrite lúpica refratária.

Isso ocorre porque uma das discussões vigentes questiona se o lúpus representa uma doença única com espectro clínico amplo ou se na verdade são várias doenças com mecanismos imunes distintos que compartilham manifestações clínicas similares. (AGMON-LEVIN, 2012) Diante da complexidade da doença, é bastante provável que diferentes mecanismos imunes possam causar manifestações clínicas similares (ROSENBLUM, 2015). E que, por isso, não se deve tratar todos os pacientes com nefrite lúpica (por exemplo) da mesma maneira.

Portanto, é razoável supor que - para que determinada terapia alvo-molecular demonstre benefício real - é necessária a seleção cuidadosa de um subgrupo de pacientes nos quais o mecanismo proposto para intervenção seja preponderante. (ANDERS, 2015) A utilização de biomarcadores pode auxiliar a estratificar pacientes de acordo com a rede imunológica preponderante (endótipo) (BANCHEREAU, 2016) e isso pode facilitar o desenho de ensaios clínicos que comprovem uma resposta terapêutica mais eficiente para a prática clínica. (THANOU, 2013) Assim poderemos garantir aos nossos pacientes uma abordagem mais individualizada, que seja personalizada, preditiva, preventiva e com participação ativa. (ANAYA, 2016)

3.4.1 Autoanticorpos como biomarcadores séricos no LES

Os anticorpos contra fatores anti-nucleares (FAN) são um dos mais antigos utilizados para rastreio de LES. Apesar de poderem estar presente na população saudável em baixos títulos, familiares de pacientes com LES que tenham FAN positivo têm maior risco de desenvolver a doença (MUNROE, 2017). Outros autoanticorpos também são utilizados como critérios diagnósticos e incluem anti-DNA de dupla hélice (anti-DNA), anti-Smith (Sm) e anticorpos antifosfolípidos. (HOCHBERG, 1997)

É fundamental que alguns biomarcadores ajudem a diferenciar a inflamação ocasionada pelo LES de outras causas como, por exemplo, infecções. Títulos elevados de anticorpos anti-DNA podem ser utilizados para prever especificadamente atividade de doença, porém até 40% dos pacientes que reativam a doença possuem sua dosagem negativa. (BIESEN, 2016) Anticorpos anti-nucleossomos (anti-Nu) foram propostos como uma alternativa melhor que o anti-DNA para prever reativação, porém ainda podem ser negativo em alguns pacientes. (BIZARRO, 2012)

A predição do acometimento renal é fundamental para instituir medidas de rastreio e de tratamento precoces, com minimização do risco de lesão renal crônica. Anticorpos anti-DNA, anti-Sm e contra a fração C1q do complemento (anti-C1q) são fortemente associados à nefrite lúpica. (BIESEN, 2016) mas ainda é possível identificar uma parcela considerável desses pacientes que possuem a dosagem negativa desses anticorpos. (YUNG, 2008)

É importante frisar que os dados referidos até então são exclusivos para auto-anticorpos do isótopo IgG. Antígenos nucleares também podem induzir a formação de outras classes de anticorpos (IgA, IgM e IgE) que sejam potencialmente patogênicos. (DEMA, 2014C). Ademais, é possível que pacientes com anticorpos IgG negativos possam ter outros isótipos detectáveis. O estudo destas outras classes, portanto, pode ajudar a descrever endótipos diferentes, associá-los a fenótipos e ajudar no desenvolvimento de terapias específicas.

3.4.2 Diferentes isótipos, diferentes pacientes?

Autoanticorpos IgA são frequentes na síndrome antifosfolípide e possivelmente também em alguns pacientes com LES (DEMA, 2016). A positividade de FAN IgA está associada a lesão de pele, principalmente lúpus discoide (JOST, 2014). A presença de anti-DNA IgA pode aumentar o diagnóstico de LES em até 7,5% dos pacientes e pode se associar a doença renal ativa (VILLALTA, 2013)

Anticorpos de classe IgM habitualmente são descritos como protetores em doenças autoimunes, sendo associado a manifestações clínicas mais amenas. (OLSEN, 2013). A presença de anticorpos anti-DNA IgM, por exemplo, está relacionada à proteção renal em estudos murinos. (WERWITZKE, 2005) Possivelmente isso ocorre porque esses anticorpos

IgM são relacionados a potencialização da limpeza de debris celulares e efeitos imunomodulatórios. (VAS, 2012)

Autoanticorpos IgE podem ser encontrado em até metade dos pacientes com LES. Anti-DNA IgE parece estar associado a nefrite lúpica e se relacionar com atividade de doença. Já foram detectados autoanticorpos IgE contra outros antígenos nucleares, como anti-SSA, anti-SSB, inclusive contra antígenos pouco descritos em outras classes (ex. CLIP4) (DEMA, 2014A)

Aspectos relevantes sobre a utilidade desses outros isótipos na prática clínica precisam ser melhor elucidados. Ainda é desconhecido se a identificação de diferentes classes de autoanticorpos pode estratificar pacientes com diferentes endótipos, prognósticos ou resposta à terapia. A descoberta que autoanticorpos IgE podem causar nefrite lúpica (CHARLES, 2010) é um fato instigante que suscita muitas dúvidas ainda não respondidas.

3.4.3 Rede de IgE como biomarcador na nefrite Lúpica

A IgE é bastante conhecida pela participação com doenças alérgicas (BURTON, 2011). O relato de que a IgE pode ser um marcador de desregulação imune e estar associada a doenças autoimunes (DEMA, 2014B; DEMA, 2016) suscita interesse em outras ações da rede de IgE além das doenças alérgicas.

A descrição de modelos fisiopatológicos de IgE autorreativa no LES permitiu a realização de estudos clínicos que comprovaram que a rede de IgE autorreativa é prevalente nessa doença e que se associa com atividade de doença e lesão renal (DEMA, 2014A). No entanto, aspectos relevantes para a prática clínica ainda permanecem com pouca elucidação e dúvidas quanto a reprodutibilidade e utilidade clínica ainda necessitam ser demonstrados.

Assim, esta dissertação se propõe em direcionar clinicamente a utilidade da rede de IgE autorreativa em pacientes brasileiros com nefrite lúpica, utilizando imunofluorescência indireta como método de detecção, em um estudo clínico exploratório de mundo real.

Temos a intenção de esclarecer em qual subgrupo clínico de pacientes a presença de IgE autorreativa é mais frequente na prática clínica e se outros fatores da rede de IgE - como a presença de alergias ou uso de imunossupressores - podem interferir na positividade.

3.5 MÉTODOS

3.5.1 Desenho do Estudo

Estudo clínico, transversal de caráter exploratório, analítico, com amostra por conveniência composta por em 78 pacientes com nefrite lúpica e 40 controles saudáveis, pareados para idade, sexo e raça.

3.5.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes com LES, portadores de nefrite lúpica, com ou sem atividade de doença, na faixa etária entre 18 e 65 anos. Os pacientes deveriam ter diagnóstico de nefrite lúpica firmado por especialista e registrado em prontuário, preferencialmente confirmado por estudo histopatológico de biópsia renal. Adicionalmente, foram recrutados participantes saudáveis com características demográficas semelhantes para compor o grupo controle.

3.5.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os pacientes portadores de neoplasias; pacientes que possuíam outra doença auto-imune além do LES (exceto síndrome do anticorpo antifosfolípide); pacientes com causas diversas (além do LES) de síndrome nefrítica/nefrótica; em diálise ou transplante renal; em uso de antibióticos ou com intercorrências infecciosas; e pacientes sem diagnósticos definidos.

3.5.4 Ensaio de Imunofluorescência Indireta

- **FAN IgE:** Em diluições: <1/160; 1/160; 1/320; 1/640.
- **FAN IgG:** Variável discreta. variável discreta. Em diluições: <1/160; 1/160; 1/320; 1/640; 1/1280; 1/2560; 1/5000.
- **Anti-DNA dupla-hélice IgE:** variável discreta. Em diluições: <1/10; 1/10; 1/20; 1/40.
- **Anti-DNA dupla-hélice IgG:** Em diluições: <1/10; 1/10; 1/20; 1/40; 1/80.

3.5.5 Análise Estatística

Para a análise de dados utilizou-se o SPSS versão 20 (2011), onde com base numa amostra de 78 pacientes com Nefrite e 40 pacientes considerados como controle, inicialmente realizou-se uma caracterização da amostra, onde as variáveis qualitativas foram estudadas com base nas frequências absolutas e percentuais.

Com o objetivo de verificar possíveis associações entre as variáveis qualitativas, construiu-se tabelas de contingência para estudo das frequências absolutas e percentuais, além da aplicação dos testes *Qui-quadrado de Independência* e *Teste Exato de Fisher*. Ambos os testes avaliam a hipótese de que o par de variáveis qualitativas (ex: Etnia vs Grupo) são independentes ($p\text{-valor} > 0,05$) contra a hipótese alternativa de que não são independentes ($p\text{-valor} > 0,05$). Em alguns casos onde suposições teóricas foram violadas, a *Correção de Yates* foi aplicada ao teste *Qui-quadrado de Independência*.

Para a comparação das variáveis quantitativas entre os grupos Nefrite e Saudáveis, por se comprovar ausência de normalidade dos dados, aplicou-se o teste *U de Mann-Whitney* testando a hipótese nula de que a distribuição dos valores da variável numérica em questão não diferia significativamente entre os grupos ($p\text{-valor} > 0,05$) contra a hipótese alternativa de que os dois grupos apresentaram diferenças significativas ($p\text{-valor}$) nos valores da tal variável. Para todos os testes estatísticos utilizou-se do nível de 5% de significância.

3.5.6 Aspectos Éticos

A todos os pacientes foram explicados os objetivos da dissertação e sua operacionalização, com assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Todos os aspectos éticos relativos à pesquisa com sujeitos humanos foram respeitados, conforme a Resolução N°. 466 de 10 de 2012 Conselho Nacional de Saúde / MS.

3.6 RESULTADOS

3.6.1 Descrição da amostra

A amostra de pacientes com nefrite foi composta por 78 pacientes, dos quais 76 (96,15%) eram mulheres. A mediana da idade foi de 33,5 anos. A maioria (53,8%) dos pacientes se autodeclarou como sendo de etnia parda.

Como características clínicas, o grupo com nefrite lúpica tinha média de duração de doença de 8,45 anos ($DP \pm 5,93$) após firmado o diagnóstico. Como critérios diagnósticos do ACR, 1997 - além da nefrite - a maioria dos pacientes apresentou FAN positivo (93,6%), seguido de artrite (78,2%) e rash malar (64,1%). Metade dos pacientes tinha doença ativa, com 63,1% desses com atividade renal ($N=24$; 30,7% do total). A maioria fazia uso de algum imunossupressor. A dose média de prednisona foi 10,94 mg/dia ($DP \pm 12,97$), com apenas oito pacientes utilizando dose imunossupressora ($> 0,5\text{mg/kg/dia}$). (Tabela 1)

No grupo controle havia 40 pessoas saudáveis, sem doenças autoimunes. Os testes estatísticos utilizados demonstraram que os grupos eram homogêneos quanto à sexo, idade, etnia, escolaridade e renda. (Tabela 2)

Tabela 1 — Caracterização clínica dos pacientes com nefrite lúpica

	NEFRITE LÚPICA	
<i>DURAÇÃO DE DOENÇA</i>		
<i>Média em anos (DP)</i>	8,45	(5,93)
<i>ATIVIDADE DE DOENÇA</i>		
Média SLEDAI 2K (DP)	6,47	(5,64)
SLEDAI 2K ≥ 6 - N (%)	40	(51,2)
Doença Renal Ativa, N (%)	24	(30,7)
Anti-DNA IgG	23	(29,5)
PCR $\geq 5,0$, N (%)	9	(11,5)
VHS ≥ 20 , N (%)	25	(32,0)
C3 <90, N (%)	28	(36,8)
C4 <10, N (%)	10	(13,2)
<i>TERAPIA ATUAL</i>		
Indução com Ciclofosfamida, N (%)	5	(6,4)
Indução com Micofenolato, N (%)	9	(11,5)
Prednisona, N (%)	60	(79,6)
Hidroxicloroquina, N (%)	67	(85,9)
Manutenção com Micofenolato, N (%)	41	(52,5)
Azatioprina, N (%)	8	(10,3)

Tabela 2 — Características Demográficas dos Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, em um hospital universitário de Recife-PE, em 2016-2017

	GRUPOS		VALOR p
	NEFRITE LÚPICA	CONTROLE	
TOTAL, N	78	40	
SEXO FEMININO, N (%)	75 (96,15)	39 (97,5)	0,582*
IDADE			
<i>Mediana em anos (Mín-Máx)</i>	33,5 (18-65)	33,5 (20-52)	0,744**
ETNIA			
			0,669***
Pardo, N (%)	42 (53,8)	17 (42,5)	
Branco, N (%)	19 (24,4)	10 (25,0)	
Negro, N (%)	15 (19,2)	10 (25,0)	
Amarelo, N (%)	2 (2,6)	2 (5,0)	
ESCOLARIDADE			
<i>Mediana em anos (Mín-Máx)</i>	11 (3-16)	11 (2-15)	0,325**
RENDA			
≤ 1 salário mínimo	57 (73,0%)	31 (77,5%)	0,660*

* Teste Exato de Fisher; **Mann-Whitney; ***Qui-quadrado de Independência;

Legenda: Min=Mínimo; Máx=Máximo;

3.6.2 Nível de IgE total, Prevalência de Sensibilização a Aeroalérgenos e Doenças Alérgicas

Houve tendência à diferença significativa entre a média logarítmica do nível de IgE total entre os grupos quando desconsiderada a sensibilização (tabela 3.1), com maior valor de mediana no grupo controle. No entanto, quando utilizado o ponto de corte de IgE mais utilizado na prática clínica (IgE total ≥ 100 ng/mL), não houve diferença estatística significativa ($p= 0.3004$) entre os dois grupos. Em relação à sensibilização, os grupos eram homogêneos, com 18 (23,0%) pacientes do grupo de nefrite lúpica com alguma sensibilização presente. A presença de sintomas de atopia foi significativamente menor nos pacientes com nefrite lúpica ($p=0,0007$), particularmente em relação a sintomas de rinite ($p=0,02$).

Para avaliar as respostas do questionário adaptado do ISAAC para asma, rinite e dermatite atópica com maior fidedignidade, consideramos as mesmas variáveis de acordo com presença de sensibilização sérica. É possível observar que a diferença significativa do relato de sintomas de atopia entre os grupos desaparece após essa consideração (tabela 3.2).

Tabela 3.1 — Comparativo entre o nível de IgE Total, Frequência de Sensibilização e Doenças atópicas independente de comprovação de sensibilização, em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, de um hospital universitário de Recife, em 2016-2017.

	Independente de Sensibilização				p-valor
	NEFRITE		SAUDÁVEIS		
	N=78		N=40		
IGE					
TOTAL ≥ 100, N (%)	37	(47,4)	23	(57,5)	0,3004
Log IgE, média (DP)	1,89	(0,72)	2,16	(0,62)	0,052
SENSIBILIZAÇÃO, N (%)	-	-	-	-	
<i>D. pteronyssinus</i>	-	-	-	-	
<i>B. tropicalis</i>	-	-	-	-	
SINTOMAS ATOPIA, N (%)	33	(42,3)	30	(75,0)	0,0007
ASMA					
Sintomas alguma vez, N (%)	18	(23,0)	15	(37,5)	0,0984
Diagnóstico, N (%)	9	(11,5)	4	(10,0)	0,8005
RINITE					
Sintomas alguma vez, N (%)	24	(30,7)	21	(52,5)	0,0214
Diagnóstico, N (%)	12	(15,3)	11	(27,5)	0,4466
DERMATITE					
Sintomas alguma vez, N (%)	8	(10,6)	3	(7,5)	0,6259
Diagnóstico, N (%)	1	(1,3)	1	(2,5)	0,9999

Tabela 3.2 — Comparativo entre o nível de IgE Total, Frequência de Sensibilização e Doenças atópicas em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, com comprovação sérica de sensibilização, em um hospital universitário de Recife, em 2016-2017.

	Sensibilização IgE esp $\geq 0,35$				p-valor
	NEFRITE		SAUDÁVEIS		
	N=18		N=11		
IGE					
TOTAL ≥ 100, N (%)	16	(20,6)	11	(27,5)	0,3922
Log IgE, média (DP)	2,61	(0,35)	2,64	(0,35)	0,8050
SENSIBILIZAÇÃO, N (%)	18	(23,0)	11	(27,5)	0,5973
<i>D. pteronyssinus</i>	11	(14,1)	5	(12,5)	0,8096
<i>B. tropicalis</i>	18	(23,0)	11	(27,5)	0,5973
SINTOMAS ATOPIA, N (%)	9	(11,5)	9	(22,5)	0,4495
ASMA					
Sintomas alguma vez, N (%)	5	(6,4)	3	(7,5)	0,9999
Diagnóstico, N (%)	3	(3,8)	2	(5,0)	0,9999
RINITE					
Sintomas alguma vez, N (%)	6	(7,7)	8	(20,0)	0,0976
Diagnóstico, N (%)	3	(3,8)	3	(7,5)	0,6799
DERMATITE					
Sintomas alguma vez, N (%)	2	(3,6)	1	(2,5)	0,9999
Diagnóstico, N (%)	1	(1,3)	0	0,0	0,9999

3.6.3 FAN IgE e Anti-DNA IgE em pacientes com nefrite lúpica e controles

O FAN IgE foi significativamente mais frequente em pacientes com nefrite lúpica (Razão de prevalências = 2,39; $p=0,006$). Autoanticorpos anti-DNA IgE tiveram uma positividade acima da titulação 1/10 em 8 (10,3%) pacientes enquanto em nenhum controle sadio, sem significância estatística ($p=0,087$; tabela 4).

Tabela 4 — Frequência de FAN IgE e anti-DNA IgE em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles, em um hospital universitário de Recife-PE, no ano de 2016

	GRUPOS		VALOR p
	NEFRITE LÚPICA N=78 (%)	CONTROLE N=40 (%)	
<i>ANTICORPOS IGE</i>			
FAN IgE	37 (47,9%)	8 (20%)	0,006
Anti-DNA IgE	8 (10,3%)	0 (0,0%)	0,0870

*Qui-quadrado com correção de Yates:

3.6.4 Relação da Rede IgE autorreativa e Atividade de doença

Para avaliar a rede de IgE e atividade de doença aferida pelo SLEDAI 2K, dividimos os pacientes com nefrite em dois grupos de acordo com a presença de atopia (histórico de rinite, asma ou dermatite atópica em pacientes com sensibilização comprovada).

Quando os atópicos foram estratificados em doença ativa (SLEDAI 2K ≥ 6) ou inativa (SLEDAI < 6), não houve diferença na positividade de IgE total, FAN IgE ou anti-DNA IgE (tabela 5.1). No entanto, foi possível observar uma tendência à positividade do FAN IgE. Nos paciente não-atópicos, houve diferença apenas na positividade de anti-DNA IgE (tabela 5.2).

Tabela 5.1 — Rede de IgE e Atividade de Doença em Pacientes com Nefrite Lúpica com atopia, em um hospital universitário de Recife-PE, em 2016-2017

	ATÓPICOS		p VALOR
	SLEDAI 2K \geq 6	SLEDAI 2K <6	
REDE DE IgE	N=3	N=6	
IgE Total \geq 100	3	5	0,999
FAN IgE	2	1	0,133
Anti-DNA IgE	1	0	0,333

Tabela 5.2 — Rede de IgE e Atividade de Doença em Pacientes com Nefrite Lúpica sem atopia, em um hospital universitário de Recife-PE, em 2016-2017

	NÃO-ATÓPICOS		p VALOR
	SLEDAI 2K \geq 6	SLEDAI 2K <6	
REDE DE IgE	N=37	N=32	
IgE Total \geq 100	14	14	0,999
FAN IgE	19	14	0,522
Anti-DNA IgE	7	0	0,012

3.6.5 Perfil Clínico e Laboratorial de Acordo com a Positividade ou Negatividade do FAN IgG e FAN IgE

O subgrupo com FAN IgG negativo/FAN IgE positivo (FAN IgE isolado) representou pacientes significativamente mais velhos (mediana da idade - 47 anos) com mais atividade de doença (100% com SLEDAI 2K \geq 6; p=0,042) . (Tabela 6)

Tabela 6 — Subgrupos de Fenótipos Laboratoriais de Pacientes com Nefrite Lúpica, de acordo com a positividade ou Negatividade do FAN de isotipos IgG e IgE

(Continua)

	GRUPOS				p-valor
	FAN IgG+/IgE+	FAN IgG+/IgE-	FAN IgG-/IgE+	FAN IgG-/IgE-	
TOTAL, N (%)	32 (100,0)	34 (100,0)	5 (100,0)	7 (100,0)	-
SEXO FEMININO, N (%)	30 (93,7)	34 (100,0)	4 (80,0)	7 (100,0)	0,129
IDADE (anos), mediana (min-máx)	31,00 (18-51)	38,00 (19-65)	47,00 (32-58)	32,00 (24-44)	0,033*
DURAÇÃO DE DOENÇA (anos), mediana (min-máx)	5,00 (1-19)	8,00 (0-30)	10,00 (0-13)	14,00 (4-22)	0,095
SLEDAI 2K, mediana (min-máx)	5,00 (0-25)	4,00 (0-20)	13,00 (8-16)	8,00 (2-10)	0,034*
SLEDAI 2K ≥ 6, N (%)	16 (50,0)	13 (38,2)	5 (100,0)	5 (71,4)	0,042*
COM DOENÇA RENAL ATIVA, N (%)	10 (31,5)	7 (20,6)	3 (60,0)	4 (57,1)	0,114
PCR ≥5,0, N (%)¹	3 (13,0)	4 (16,0)	1 (25,0)	1 (16,7)	0,940
VHS ≥20, N (%)¹	9 (19,0)	13 (54,2)	2 (50,0)	2 (33,3)	0,444
C3 <90, N (%)	13 (40,6)	12 (35,3)	1 (20,0)	1 (14,3)	0,518
C4 <10, N (%)	7 (21,8)	2 (5,8)	0 (0,0)	1 (14,3)	0,207
ANTI-DNA IgG POSITIVO, N (%)	13 (40,6)	10 (29,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,074

Tabela 6 — Subgrupos de Fenótipos Laboratoriais de Pacientes com Nefrite Lúpica, de acordo com a positividade ou Negatividade do FAN de isotipos IgG e IgE

(Continuação)

	GRUPOS				p-valor
	FAN IgG+/IgE+	FAN IgG+/IgE-	FAN IgG-/IgE+	FAN IgG-/IgE-	
<i>REDE DE IgE</i>					
IGE TOTAL \geq 100, N (%)	16 (50,0)	12 (35,3)	3 (60,0)	4 (57,1)	0,477
Log IgE, mediana (min-máx)					
ANTI-DNA IgE, N (%)	4 (12,5)	2 (5,9)	2 (40,0)	0 (0,0)	0,090
EOSINÓFILOS, (absoluto), mediana (min-máx)	90 (10-507)	50 (0-400)	210 (10-510)	90 (70-360)	0,283
BASÓFILOS, (absoluto), mediana (min-máx)	20 (0-96)	20 (0-94)	30 (10-40)	41 (20-57)	0,233
SENSIBILIZAÇÃO, N (%)	8 (25,0)	7 (20,58)	1 (20,0)	2 (28,6)	0,954
ATÓPICOS COM SENSIBILIZAÇÃO, N (%)	3 (9,3)	5 (14,7)	0 (0,0)	1 (14,3)	0,717
<i>TTO ATUAL, N (%)</i>					
Ciclofosfamida (indução), N (%)	2 (6,25)	2 (5,9)	1 (20,0)	0 (0,0)	0,565
Micofenolato de Mofetila (indução), N (%)	4 (12,5)	5 (14,7)	0 0,0	0 (0,0)	0,587
Prednisona, N (%)	25 (78,1)	25 (73,5)	5 (100,0)	6 (85,7)	0,559
Hydroxicloroquina, N (%)	29 (90,6)	28 (82,3)	5 (100,0)	6 (85,7)	0,615
Micofenolato de Mofetila (manutenção), N (%)	12 (37,5)	15 (44,1)	3 (60,0)	7 (100,0)	0,023*
Azatioprina, N (%)	6 (18,7)	2 (5,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,204

3.6.6 Perfil Clínico e Laboratorial de Acordo com a Positividade ou Negatividade do Anti-DNA IgG e Anti-DNA IgE

Também avaliamos subgrupos de pacientes de acordo com a positividade de anti-DNA IgG e anti-DNA IgE (tabela 7). O subgrupo anti-DNA IgG negativo/IgE negativo (duplo negativo) foi significativamente associado com menor atividade de doença ($p=0,003$) e doença renal inativa ($p=0,04$). Comparativamente, o subgrupo com maior atividade de doença e mais doença renal ativa foi o subgrupo que tinha anti-DNA IgE isolado.

Tabela 7 — Subgrupos de Fenótipos Laboratoriais de Pacientes com Nefrite Lúpica, de acordo com a positividade ou Negatividade do anti-DNA de isotipos IgG e IgE

	GRUPOS				<i>p</i> -valor
	A-DNA IgG+/IgE+	A-DNA IgG+/IgE-	A-DNA IgG-/IgE+	A-DNA IgG-/IgE-	
TOTAL, N (%)	4 (5,1)	19 (24,3)	4 (5,1)	51 (65,4)	-
SEXO FEMININO, N (%)	4 (100,0)	18 (94,7)	3 (75,0)	50 (98,0)	0,2275
IDADE (anos), mediana (mín-máx)	35,00 (24-43)	31,00 (19-51)	35,50 (29-58)	34,00 (18-65)	0,453
ETNIA					
DURAÇÃO DE DOENÇA (anos), mediana (mín-máx)	8,00 (4-17)	5,00 (1-19)	7,50 (1-10)	8,00 (0-30)	0,905
SLEDAI 2K, mediana (mín-máx)	7,00 (2-10)	12,00 (2-25)	10,50 (8-13)	4,00 (0-16)	0,0004*
SLEDAI 2K \geq 6, N (%)	3 (75,0)	14 (73,7)	4 (100,0)	18 (35,3)	0,0033*
COM DOENÇA RENAL ATIVA, N (%)	1 (25,0)	9 (47,3)	3 (75,0)	11 (21,5)	0,0416*
PCR \geq 5,0, N (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (25,0)	8 (21,0)	0,2507
VHS \geq 20, N (%)	1 (33,0)	5 (41,7)	2 (50,0)	17 (50,0)	0,9193
C3 $<$ 90, N (%)	2 (50,0)	10 (52,6)	0 (0,0)	17 (33,3)	0,1782
C4 $<$ 10, N (%)	1 (25,0)	4 (21,0)	0 (0,0)	5 (9,8)	0,4426
FAN IgG POSITIVO, N (%)	4 (100,0)	19 (100,0)	2 (50,0)	41 (80,4)	0,036*

(Continua)

Tabela 7 — Subgrupos de Fenótipos Laboratoriais de Pacientes com Nefrite Lúpica, de acordo com a positividade ou Negatividade do anti-DNA de isotipos IgG e IgE

	GRUPOS					<i>p</i> -valor
	A-DNA IgG+/IgE+	A-DNA IgG+/IgE-	A-DNA IgG-/IgE+	A-DNA IgG-/IgE-		
<i>REDE DE IgE</i>						
IGE TOTAL \geq100, N (%)	1 (25,0)	10 (52,6)	2 (50,0)	23 (45,0)	0,780	
Log IgE, mediana (mín-máx)						
FAN IgE, N (%)	2 (50,0)	11 (57,7)	4 (100,0)	20 (39,9)	0,0836	
EOSINÓFILOS (absoluto), mediana (mín-máx)	30,00 (0-110)	65,00 (10-400)	65,00 (17-380)	70,00 (0-510)	0,735	
BASÓFILOS, (absoluto), mediana (mín-máx)	10,00 (0-10)	10,00 (0-55)	30,00 (10-43)	30,00 (0-96)	0,078	
SENSIBILIZAÇÃO, N (%)	0 (0,0)	4 (21,0)	2 (50,0)	12 (23,5)	0,410	
ATÓPICOS COM SENSIBILIZAÇÃO, N (%)	0 (0,0)	1 (5,3)	1 (25,0)	17 (33,3)	0,719	
<i>BIÓPSIAS¹, N (%)</i>						
CLASSE IV	1 (33,3)	4 (44,4)	1 (25,0)	11 (28,9)	0,837	
CLASSE V	1 (33,3)	4 (44,4)	1 (25,0)	13 (34,2)		
CLASSE IV+V	1 (33,3)	1 (11,1)	2 (50,0)	14 (36,8)		
<i>TTO ATUAL, N (%)</i>						
Ciclofosfamida (indução), N (%)	0 (0)	3 (15,7)	0 (0)	2 (3,9)	0,2769	
Micofenolato de Mofetila (indução), N (%)	1 (25,0)	2 (10,5)	2 (50,0)	4 (7,8)	0,0655	
Prednisona, N (%)	2 (50,0)	17 (89,4)	3 (75,0)	38 (74,5)	0,3214	
Hidroxicloroquina, N (%)	3 (75,0)	17 (89,4)	4 (100,0)	43 (84,3)	0,7161	
Micofenolato de Mofetila (manutenção), N (%)	1 (25,0)	4 (21,0)	2 (50,0)	34 (66,6)	0,0049	
Azatioprina, N (%)	1 (25,0)	4 (21,0)	0 (0)	3 (5,9)	0,1817	

(Continuação)

3.7 DISCUSSÃO

Os estudos pré-clínicos sobre o papel da rede de IgE autorreativa no LES são convincentes e demonstram o mecanismo patogênico em modelos murinos. Alguns estudos clínicos já foram realizados e demonstram que a IgE autorreativa é prevalente no LES e até correlacionam com atividade de doença (DEMA, 2014A; ATTA, 2004; ATTA, 2010; HENAULT, 2015). No entanto, são necessários estudos que explorem de maneira mais ampla a interrelação entre os diversos componentes da rede de IgE e a prática clínica. É relevante para o especialista clínico que a utilidade clínica de se solicitar autoanticorpos de isotipo IgE seja estabelecida de maneira prática.

Dessa forma, nosso estudo tentou avaliar a rede de IgE em pacientes com nefrite lúpica e identificar subgrupos de pacientes nos quais possíveis endótipos da rede IgE autorreativas pudessem estar presentes. Este trabalho é pioneiro ao realizar uma avaliação simultânea de IgE total, IgE autorreativa, sensibilização a aeroalérgenos e prevalência de doenças atópicas em pacientes com nefrite lúpica.

3.7.1 Nível de IgE Total, Sensibilização Para Aeroalérgenos e Doenças Atópicas em Pacientes com Nefrite Lúpica e Controles

Para avaliar a presença da rede de IgE na nefrite lúpica e se seus componentes poderiam se associar com o LES, optamos por comparar a influência clássica da IgE em doenças alérgicas em pacientes com nefrite lúpica e no grupo controle.

Em relação ao nível de IgE total, não foi observada diferença entre os grupos ao utilizarmos o ponto de corte padronizado na literatura (≥ 100 UI/mL). (CHANG, 2015). Algumas pesquisas anteriores divergem desse achado e mostram que a média da IgE total pode ser mais elevada tanto em pacientes com LES em geral quanto naqueles com nefrite lúpica (ATTA, 2004; ELKAYAN, 1995). Todavia, é preciso atentar que esses estudos possuíam casuísticas pequenas - no máximo 20 pacientes - e não levaram em considerações diferenças demográficas (sexo e raça). A maioria dos estudos são concordantes (GOLDMAN,

1976; DEMA, 2014; PARKS, 2010), inclusive o estudo com maior casuística (N=265), que não encontrou evidência de associação após correção da diferença para sexo e etnia (PARKS, 2010). Os relatos de frequência de IgE elevada (≥ 100 UI/mL) em pacientes com LES em geral variam de 30-45% na literatura. Nossos resultados parecem corroborar com a evidência mais robusta ao indicar que presença de nefrite lúpica não encontra-se associada com níveis elevados de IgE total.

É possível que essa diversidade de relatos possa ser justificada por diferenças de metodologia; variações populacionais; uso de diferentes pontos de corte da IgE total, de médias e de imunossuppressores. A grande variação possível da IgE total justifica a preferência pela média logarítmica e boa parte dos estudos não utiliza esse tratamento. Na nossa casuística, ao utilizarmos a média logarítmica, encontramos diferença estatística entre os grupos, com pacientes com nefrite lúpica apresentando níveis inferiores. Esse efeito pode ter sido influenciado pelo uso de corticoesteroides e imunossuppressores (NEUBER, 2000). O ponto de corte deveria variar de acordo com a população estudada, com tendência a níveis mais elevados quanto maior a prevalência de doenças atópicas e/ou parasitárias.

É importante frisar que nossos indivíduos do grupo comparativo foram selecionados adequadamente de forma que não foram detectadas diferenças entre etnia, sexo, nível socioeconômico ou idade. No entanto, ainda é possível que existam diferenças em relação à parasitose intestinal, uma vez que apenas os pacientes com LES devem ter sido tratados preemptivamente. Outros potenciais fatores que poderiam influenciar essa diferença não foram avaliados diretamente, como a exposição à cigarro, fumaça e urbanização. Portanto, é possível que uma maior frequência de nível IgE total no grupo controle possa ser decorrente de alguns desses fatores isolados ou somados.

A sensibilização aos dois aeroalérgenos mais comuns na nossa região (SARINHO, 2009; BALDAÇARA, 2013) não diferiu substancialmente entre os grupos, mesmo após ajuste para diferentes pontos de cortes, níveis de IgE total e presença de atopias. Isso significa que pacientes com nefrite lúpica são capazes de montar uma resposta de sensibilização a aeroalérgenos de maneira semelhante às pessoas saudáveis. Os estudos clínicos que avaliaram diferenças de sensibilização entre pacientes com LES e saudáveis mostram resultados semelhantes (ATTA, 2004; MORTON, 1998). No entanto, comparado com a literatura, nossos pacientes com nefrite lúpica parecem apresentar percentualmente sensibilização mais

frequente que o relatado (MORTON, 1998). Esse achado pode ser decorrente de uma tendência mundial de aumento de atopia, de característica de país tropical com maior pobreza e exposição aos parasitas, mas também pode ser decorrente do método que utilizamos para avaliar sensibilização. Outro ponto relevante é como a sensibilização foi avaliada. A maioria dos estudos avaliam sensibilização através do teste de puntura (*prick test*). Apesar de resultados comparáveis entre o teste de puntura e IgE específica sérica na população geral, é preciso considerar que - devido ao uso de imunossupressores, que pode resultar em teste de puntura falsos negativos - a dosagem de IgE específica é o método ideal para avaliar sensibilização em pacientes com alguma imunossupressão.

Em relação ao histórico de doenças atópicas (rinite, asma e dermatite atópica), observamos que pacientes com nefrite lúpica apresentaram menos antecedentes de sintomas dessas doenças (42% vs. 70%, $p < 0,0007$). Sekigawa et al (SEKIGAWA, 2002) encontraram achados semelhantes, apesar de menor prevalência em ambos grupos (respectivamente 13% vs. 35%; $p=0,012$). Esse fato poderia ser relacionado à elevada taxa de corticoide oral utilizadas pelos pacientes do estudo, que pode ter mascarado sintomas de atopia - especialmente de rinite. No entanto, para aumentar a confiabilidade do questionário, optamos por considerar como atópicos apenas os pacientes que tinham histórico de sintomas na vigência de sensibilização (IgE específica $\geq 0,35$ a pelo menos um aeroalérgenos avaliados). Desse modo, observamos que não houve diferença entre os grupos em relação a doenças atópicas (asma, rinite ou dermatite), independente do uso de medicamentos.

Estudos específicos sobre a prevalência de atopia em pacientes com nefrite lúpica são raros. As informações disponíveis em geral são sobre alergia em LES (independente de nefrite) e são bastante controversas. O maior estudo que encontramos foi um estudo populacional de 2014 que demonstrou que pacientes com LES recém diagnosticado - quando comparados com controles aleatórios - apresentavam maior taxa de dermatite atópica (6.81% vs. 3.06%), e asma (10.6% vs. 7.64%). (HSIAO, 2014). Contrariamente, outros autores demonstraram que a prevalência de atopia não é marcadamente aumentada em pacientes com LES (SEKIGAWA 2002; ATTA, 2004; MORTON, 1998; WOZNIACKA, 2003; PARKS, 2010), com prevalência variável.

Tamanha variação é comum por confusões entre os conceitos de alergia e atopia (MORTON, 1998), bem como do uso de diferentes ferramentas para avaliar prevalência de

doenças atópicas e sensibilização. A consideração do grupo comparativo também é importante e os estudos variam nesse aspecto, com alguns utilizando outras doenças (HSIAO, 2014), enquanto outros utilizam pessoas saudáveis. (MORTON, 1998) Também é provável que a presença de pacientes em terapia imunossupressora possa reduzir o efeito de sintomas e do diagnóstico de atopia. Nesse sentido é interessante comentar que o resultado do estudo populacional (HSIAO, 2014) considera pacientes com LES recém diagnosticados, o que pode sugerir que em pacientes no início do tratamento a relação de LES e atopia possa ser diferente do que foi avaliado em nosso estudo.

Após termos analisado os níveis de IgE total e específicas bem como a presença de atopia em pacientes com LES, o passo seguinte foi verificar se em pacientes com nefrite lúpica a rede IgE pode ser ativada por outros mecanismos, como pela presença de anticorpos IgE autorreativos.

3.7.2 Frequência de FAN IgE e Anti-DNA IgE em Pacientes com Nefrite Lúpica e Saudáveis

Níveis elevados de IgE total não são necessários para demonstrar a influência da rede de IgE no desencadeamento de resposta inflamatória exacerbada. A fração autorreativa de IgE pode ter nível independentes e não correlacionado com a IgE total (ATTA, 2010; DEMA, 2014; SANJUAN, 2016). Assim, mesmo com níveis normais de IgE total, sem maior frequência de sensibilização ou doenças atópicas, a presença de IgE autorreativa pode ser frequente e provocar lesão tecidual nesses pacientes.

3.7.2.1 FAN IgE

Encontramos que 37 (47,9%) pacientes com nefrite lúpica demonstravam FAN IgE positivo. Apesar de não ter estudos específicos com FAN IgE apenas na nefrite lúpica, alguns

estudos fizeram análises *post-hoc* nesse subgrupo de pacientes e encontraram que a frequência parece ser maior em pacientes com doença renal. (ATTA, 2004). Por exemplo, Permin *et al* em 1978 encontrou que todos os cinco pacientes com nefrite lúpica que foram estudados apresentavam FAN IgE positivo (através de ELISA). Atta *et al* (2004) detectaram que 6 de 8 pacientes (75%) com nefrite eram FAN IgE positivo (por imunofluorescência indireta). A frequência de FAN IgE positivo aparenta variar em uma mesma população com LES (31,5-81%) (ATTA, 2010), o que pode sugerir haver variabilidade de acordo com o método laboratorial utilizado e que este deva ser melhor padronizado.

Houve diferenças estatísticas quando analisamos a positividade do FAN de acordo com os padrões, tanto nuclear quanto citoplasmático, o que pode indicar que antígenos citoplasmáticos também sejam relevantes na ativação da rede de IgE autorreativa. Curiosamente, não encontramos na literatura relatos de IgE autorreativa direcionada contra antígenos citoplasmáticos, como a proteína P ribossomal. DEMA *et al* (2014) estudaram diferentes autoantígenos específicos, inclusive com descrição de antígenos inéditos, mas todos eram nucleares.

Chama a atenção o fato de 20% das pessoas do grupo controle terem apresentando FAN IgE positivo. Esse fato sugere que a presença de IgE autorreativa pode estar presente em indivíduos normais. No entanto, como o grupo controle da nossa casuística continha uma quantidade considerável de pacientes com atopia, também é possível que a positividade de FAN IgE possa representar essa parcela de atópicos.

Uma análise estatística de correlação foi realizada entre FAN IgE e IgE total elevada, sensibilização, atopia, eosinofilia, basofilia e monocitose, sem encontrarmos significância estatística (resultados estatísticos não apresentados).

3.7.2.2 ANTI DNA IgE

A presença de anti-DNA IgE é mais específico que FAN IgE e mais associada à lesão renal (ATTA, 2010; DEMA, 2014). Comparativamente com seu isotipo IgG, também parece ser mais associado à atividade de doença (SLEDAI ≥ 4) (DEMA, 2014). Assim, avaliar a

presença de anti-DNA IgE parece ser mais relevante que o FAN IgE em pacientes com nefrite lúpica.

O anti-DNA IgE foi positivo em oito (10,3%) pacientes com nefrite lúpica e nenhum controle, o que indica uma boa especificidade desse isotipo. A falta de diferença estatística pode ser explicada por termos encontrado uma frequência aquém da esperada pela literatura (34-51%), o que pode ter ocorrido por diferenças metodológicas (diferente padronização do ponto de corte e de diluições). Possivelmente uma menor diluição do soro poderia aumentar a sensibilidade, com conseqüente aumento de frequência.

Uma análise estatística de correlação foi realizada entre anti-DNA IgE e IgE total elevada, sensibilização, atopia, eosinofilia, basofilia e monocitose, sem encontrarmos significância estatística (resultados estatísticos não demonstrados).

3.7.3 Relação da Rede IgE autorreativa e Atividade de doença

Após demonstrar que FAN IgE e anti-DNA IgE são frequentes em pacientes com nefrite lúpica de forma independente de atopia, sensibilização e IgE total, tentamos demonstrar que esses exames podem se associar à maior atividade de doença, de forma independente à presença de atopia.

Desta forma dividimos os pacientes com nefrite lúpica em dois subgrupos de acordo com a presença de atopia (histórico de sintomas de rinite, asma e dermatite atópica com sensibilização positiva) e comparamos os títulos de IgE total, FAN IgE (e padrões) e anti-DNA. A atividade de doença foi aferida de acordo com o SLEDAI 2K.

Na nossa casuística não encontramos associação entre o nível de IgE e atividade de doença. Rebhun et al foram os primeiros a relacionar elevação de IgE total e atividade do LES (REBHUN, 1983), com pouca reprodutibilidade (ELKAYAN, 1995). Estudos maiores não conseguiram demonstrar associação estatística entre atividade de doença e nível de IgE (LIPHAUS, 2012; PARKS, 2010). A interpretação desse dado requer cautela, conforme comentado anteriormente, uma vez que é possível que o uso de pontos de cortes diferente da população em geral sejam necessários para pacientes com LES e nefrite lúpica.

Tampouco encontramos diferenças entre IgE autorreativa e atividade de doença, no subgrupo de pacientes com nefrite e atopia. Apesar de existir uma tendência para positividade de FAN IgE nos pacientes com maior atividade. Isso pode sugerir que a presença de autoanticorpos IgE em pacientes alérgicos pode estar associada a maior desregulação imune e conseqüentemente - atividade de doença. No entanto, é curioso o fato de o anti-DNA IgE não ter sido um autoanticorpo significativo. É possível que outros autoanticorpos IgE sejam mais relevantes que o anti-DNA em pacientes atópicos. Também é importante frisar que o tamanho da amostra após subdivisão em atópicos (N=9) dificulta a análise estatística.

Já em pacientes com nefrite lúpica sem atopia, é possível perceber que o FAN IgE parece ter menor importância quando comparado com o anti-DNA IgE. Apenas o anti-DNA IgE foi mais presente em pacientes com maior atividade de doença, com significância estatística. Isso pode sugerir um papel ativo na lesão tecidual, especialmente em pacientes com nefrite lúpica.

Também é curioso o fato que apenas 1 paciente de 8 com anti-DNA IgE positivo tenha antecedente de atopia. Isso pode indicar que a desregulação imune da rede de IgE possa ser mutuamente exclusiva, com manifestações polarizadas entre doenças atopia e nefrite lúpica. Com esse pensamento, a presença de anti-DNA IgE poderia indicar maior probabilidade de doença autoimune.

3.7.4 Perfil clínico e laboratorial de acordo com a positividade ou negatividade do FAN IgG e FAN IgE

O FAN IgE pode auxiliar como exame de triagem para autoanticorpos IgE. A forma como ele se associa com atividade de doença é questionável, com resultados conflitantes. No entanto, quando positivo a presença de autoanticorpos específicos deve ser melhor investigada. Classificamos os pacientes com nefrite lúpica em subgrupos de acordo com a positividade de FAN IgG e FAN IgE no momento da coleta, com o propósito de avaliar possíveis diferenças clínicas e laboratoriais. Assim, pudemos estratificar quatro subgrupos de fenótipos laboratoriais, a saber: FAN IgG+/FAN IgE+ (FAN duplo positivo); FAN IgG+/FAN

IgE- (FAN IgG isolado); FAN IgG-/FAN+ (FAN IgE isolado); e FAN IgG-/FAN IgE- (duplo anti-DNA negativo).

Surpreendentemente, o subgrupo duplo FAN positivo não foi o que os pacientes tinha mais lesão renal ativa ou atividade de doença (SLEDAI ≥ 6). Mesmo ao comparar possíveis diferenças apenas entre os subgrupos FAN IgG positivo (duplo FAN positivo vs FAN IgG isolado - resultados não demonstrados), não houve diferença significativa importante. Curiosamente, a biópsia renal classe V (ISN/RPS) teve mais tendência de ocorrer nesse subgrupo ($p=0.16$), assim como o uso de azatioprina ($p=0,10$) - sem significância estatística.

Esses achados permitem conjecturar que apesar do endótipo de *booster* da rede de IgE autorreativa descrito por Charles et al (2010) poder ser encontrado em uma parcela considerável de pacientes (41%), ele não aparenta ocasionar mais gravidade ou atividade de doença em pacientes num contexto de mundo real. Aparentemente a simples detecção simultânea de FAN IgG e IgE não parece ser suficiente para comprovar maior dano ou atividade renal. É provável que seja necessária a dosagem de autoanticorpos IgE específicos que tenham associação com doença renal, como anti-DNA e/ou anti-nucleossomos.

Dos doze pacientes FAN IgG negativos, cinco (41,6%) apresentaram FAN IgE positivo. Esse subgrupo FAN IgE isolado foi o que estatisticamente demonstrou maior frequência de pacientes mais velhos e com maior atividade de doença, com tendência ($p<0,20$) a doença renal ativa mais frequente e menor consumo de complemento em comparação aos demais subgrupos.

Apesar de no momento da coleta terem apenas o FAN IgE positivo isoladamente, ao menos um desses cinco pacientes já teve positividade autoanticorpos de outras classes em baixos títulos. Isto porque o paciente em questão apresentou biópsia renal classe IV (ISN/RPS) com imunofluorescência em "*full house*" (depósitos de imunocomplexos com IgA, IgG, IgM, C3, C1q, Kappa e Lambda), sem nunca ter apresentado positividade do FAN IgG. Hipoteticamente, pode-se imaginar que autoanticorpos em baixos títulos possam se ligar a autoantígenos em quantidade suficiente para formar imunocomplexos e causar atividade de doença ou até dano renal, porém insuficiente para ser detectado em exames séricos.

Outros três pacientes apresentaram FAN IgG negativo no momento da coleta, mas tinham histórico de positividade FAN IgG. Apenas um paciente FAN IgE positivo isolado nunca havia apresentado positividade de FAN IgG. Esse achado não é muito abordado nos

estudos de modelos animais de nefrite lúpica. Alguns estudos de glomerulonefrite descrevem a possibilidade de imunocomplexos de IgE se depositarem no rim, com desencadeamento direto de lesão renal (MCPHAUL, 1974) Inclusive, existem relatos do achado isolado de FAN IgE e imunocomplexos IgE em pacientes com nefrite lúpica (BARONE, 1981). O mecanismo fisiopatológico envolvido ainda é obscuro e como esse isotipo não agrega complemento, é provável que a inflamação desencadeada seja independente da ativação do sistema complemento.

Portanto, o fenótipo laboratorial de FAN IgE isolado pode englobar tanto pacientes com endótipos de autoanticorpos IgE isolados, quanto pacientes duplo FAN positivo, que por algum fator não tiveram seus autoanticorpos IgG detectados. Independente disso, a detecção de FAN IgE isolada esteve associada a um subgrupo de pacientes mais graves, que no momento da coleta não possuíam positividade de auto anticorpos IgG. Seria interessante pormenorizar os achados clínicos e laboratoriais (exemplo, resultado de biópsia) desses pacientes, uma vez que podem funcionar como protótipos clínicos para explicar essa possibilidade do isotipo IgE participar isoladamente da patogênese de nefrite lúpica.

O subgrupo duplo FAN negativo por sua vez compreendeu pacientes mais jovens, com mais atividade de doença e com maior frequência do uso de micofenolato do que o esperado. Doses elevadas de MMF estão associadas à diminuição da produção de autoanticorpos de IgG (RAMOS, 2003), sendo esse efeito em autoanticorpos IgE ainda pouco explorado. É possível que a maior frequência de uso de micofenolato de mofetila (MMF) possa ter influenciado os resultados de autoanticorpos negativos, principalmente o FAN IgG negativo (apenas dois dos sete pacientes nunca tiveram positividade do FAN IgG). Também é possível que nesse subgrupo de pacientes existam influência de autoanticorpos de outras classes que não avaliamos, como a classe IgA. (VILLALTA, 2013)

No entanto, nenhum paciente desse subgrupo teve autoanticorpo anti-DNA IgG ou IgE positivo. Como houve uma tendência à persistência de lesão renal ativa apesar do tratamento e com anticorpos patogênicos negativos, é plausível imaginar que nesse subgrupo de pacientes outros mecanismos de lesão renal sejam responsáveis por perpetuar a lesão renal, como por exemplo, defeitos no reparo tecidual. Esse mecanismo pode desencadear um processo patológico pouco responsivo à terapia imunossupressora, com progressão para lesão renal terminal apesar do tratamento (LECH, 2013).

3.7.5 Perfil Clínico e Laboratorial de Acordo com a Positividade ou Negatividade do anti-DNA IgG e anti-DNA IgE

Autoanticorpos anti-DNA de dupla hélice parecem ser um dos principais responsáveis pela formação de imunocomplexos e lesão renal. É bem descrito que os isotipos IgG, correlacionam-se bem com presença de lesão renal e atividade de doença. Nesse sentido, estudar diferentes classes de autoanticorpos anti-DNA poderia refinar ainda mais os achados descritos pelo FAN, uma vez que avaliaremos diretamente um dos fatores patogênicos. Com esse objetivo, dividimos os pacientes estudados em quatro subgrupos de acordo com a positividade de anti-DNA IgG e IgE: anti-DNA IgG+/anti-DNA IgE+ (duplo anti-DNA positivo); anti-DNA IgG+/anti-DNA IgE- (anti-DNA IgG isolado); anti-DNA IgG-/anti-DNA IgE+ (anti-DNA IgE isolado); e anti-DNA IgG-/anti-DNA IgE- (duplo anti-DNA negativo).

É possível observar na tabela 7 que a presença de anticorpo anti-DNA, independentemente da classe, foi associada à maior atividade de doença. Vinte e três pacientes demonstraram anti-DNA IgG positivo, sendo que apenas quatro desses eram duplo anti-DNA positivo. Ao contrário do que pensamos, esse subgrupo (duplo anti-DNA positivo) não foi o subgrupo com maior atividade de doença renal. Mesmo ao comparar isoladamente com o subgrupo com apenas anti-DNA IgG positivo, não houve diferença importante nas características clínicas e laboratoriais, apesar de maior tendência à basopenia ($p < 0,20$). Esses achados podem indicar que apesar de poder estar presente em 5,1% dos pacientes, o modelo explicativo de lesão renal por *booster* de basófilos ativado por anti-DNA IgE não ajudou a identificar pacientes mais graves.

O subgrupo anti-DNA IgE positivo isolado foi o subgrupo com maior atividade de doença (SLEDAI ≥ 6) e doença renal ativa. Apesar de todos quatro pacientes terem registro em prontuário de positividade FAN IgG, em nenhum deles houve antecedente de positividade de anti-DNA IgG. Isto sugere que o anti-DNA IgE pode ser patogênico por mecanismos independentes de anti-DNA IgG. A ausência de pacientes com consumo de complemento fortalece essa possibilidade. A dosagem desse auto-anticorpo pode auxiliar na identificação de pacientes em atividade de doença, sendo aparentemente o biomarcador mais indicado para avaliação de atividade de doença nesse subgrupo. Também é importante ressaltar que 100%

dos pacientes utilizavam MMF, seja em dose de indução ou de manutenção. A utilidade como possível marcador preditivo de pouca resposta ao MMF precisa ser avaliada mais objetivamente.

O grupo duplo-negativo conforme esperado foi o com menos atividade de doença e menor lesão renal ativa. Também foi o grupo com mais uso de MMF, o que pode sugerir boa resposta à terapia, provavelmente por negatização de autoanticorpos patogênicos - apesar da positividade do FAN IgG persistir em cerca de 80% dos pacientes.

Portanto, é preciso esmiuçar as evidências da literatura que mostram que a rede de IgE autorreativa está associada a maior atividade de doença e acometimento renal (DEMA, 2014). Certamente ao menos uma parte desse efeito não é causado pelo modelos explicativo atuais (CHARLES, 2010; HENAULT, 2016) e sim pela presença isolada de IgE autorreativa, que ao formar imunocomplexos e se depositarem no rim, podem causar lesão por mecanismos ainda pouco compreendidos. É possível que os modelos explicativos de IgE autorreativa atuais sejam mais relevantes no início da doença ou antes do início do tratamento imunossupressor.

3.8 REFERÊNCIAS

AGMON-LEVIN, N.; MOSCA, M.; PETRI, M. *et al.* **Systemic lupus erythematosus one disease or many?** *Autoimmunity Reviews*, v. 11, n. 8, p. 593–595, jun. 2012.

ANAYA, J.-M. DUARTE-REY, C.; SARMIENTO-MONROY, J. C. *et al.* **Personalized medicine. Closing the gap between knowledge and clinical practice.** *Autoimmunity Reviews*, v. 15, n. 8, p. 833–842. 2016.

ANDERS, H.-J.; WEIDENBUSCH, M.; ROVIN, B. **Unmet medical needs in lupus nephritis: solutions through evidence-based, personalized medicine.** *Clinical Kidney Journal*, v. 8, n. 5, p. 492–502, out. 2015.

BALDACARA, R. P. DE C.; FERNANDES, M. de F. M.; BALDACARA, L. *et al.* **Prevalence of allergen sensitization, most important allergens and factors associated with atopy in children.** Sao Paulo Medical Journal, v. 131, n. 5, p. 301–308, 2013.

BANCHEREAU, R.; HONG, B.; CANTAREL, B. *et al.* **Personalized Immunomonitoring Uncovers Molecular Networks that Stratify Lupus Patients.** Cell, v. 165, n. 3, p. 551–565, abr. 2016.

BARONE, C.; BARTOLONI, C.; GENTILONI, N. **Systemic Lupus Erythematosus With Only Ige-Class Antinuclear Antibodies.** Arthritis and Rheumatism.v. 24, n.11, p 1441-3. 1981.

BERTSIAS, G. K.; TEKTONIDOU, M.; AMOURA, Z.; *et al.* **Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis.** Annals of the Rheumatic Diseases, v. 71, n. 11, p. 1771–1782. 2012.

BIESEN, R.; ROSE, T.; HOYER, B. F. *et al.* **Autoantibodies, complement and type I interferon as biomarkers for personalized medicine in SLE.** Lupus, v. 25, p. 823–829, 2016.

BIZZARO, N.; VILLALTA, D.; GIAVARINA, D. *et al.* **Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis.** Autoimmunity Reviews, v. 12, n. 2, p. 97–106. 2012.

BURTON, O. T.; OETTGEN, H. C. **Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases.** Immunological Reviews, v. 242, n. 1, p. 128–143. 2011.

CHANG, M. et al. **Analysis of total immunoglobulin E and specific immunoglobulin E of 3,721 patients with allergic disease.** Biomedical Reports, v. 3, n. 4, p. 573–577. 2015.

CHARLES, N. et al. Basophils and the T helper 2 environment can promote the development of lupus nephritis. Nature Medicine, v. 16, n. 6, p. 701–707, 2010.

DEMA, B.; PELLEFIGUES, C.; HASNI, S.; et al. **Autoreactive IgE is prevalent in systemic lupus erythematosus and is associated with increased disease activity and nephritis.** PLoS ONE, v. 9, n. 2, 2014. (A)

DEMA, B.; CHARLES, N.; PELLEFIGUES, C. et al. **Immunoglobulin E plays an immunoregulatory role in lupus.** The Journal of Experimental Medicine, v. 211. p. 2159–2168, 2014. (B)

DEMA, B.; CHARLES, N. **Advances in mechanisms of systemic lupus erythematosus.** Discovery medicine, v. 17, n. 95, p. 247–55, 2014. (C)

DEMA, B.; CHARLES, N. **Autoantibodies in SLE: Specificities, Isotypes and Receptors.** Antibodies, v. 5, n. 1, p. 2, 2016.

ELKAYAM, O.; TAMIR, R.; PICK, A. *et al.* **Serum IgE concentrations, disease activity, and atopic disorders in systemic lupus erythematosus.** Allergy, v. 50, n. 1, p. 94–6, jan. 1995.

GOLDMAN, J. A.; KLIMEK, G. A.; ALI, R. **Allergy in systemic lupus erythematosus. IgE levels and reaginic phenomenon.** Arthritis and rheumatism, v. 19, n. 4, p. 669–76, 1976.

GRONWALL, V. J.; MARSHAK-ROTHSTEIN, A.; SILVERMAN, G. J. *et al.* **Natural antibody to apoptotic cell membranes inhibits the proinflammatory properties of lupus autoantibody immune complexes.** Arthritis Rheum. 2012;64(10):3388–3398

HAHN, B. H. et al. **American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis.** *Arthritis Care & Research*, v. 64, n. 6, p. 797–808, jun. 2012.

HAMILTON, R. G.; WILLIAMS, P. B. **Human IgE antibody serology: A primer for the practicing North American allergist/immunologist.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 126, n. 1, p. 33–38, jul. 2010.

HERRMANN, M.; PODOLSKA, M.; BIERMANN, M. *et al.* **Inflammatory etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus: an update.** *Journal of Inflammation Research*, p. 161. 2015.

HOCHBERG, M. C. **Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis and rheumatism*, v. 40, n. 9, p. 1725,. 1997.

HSIAO, Y.-P.; TSAI, J.-D.; MUO, C.-H. *et al.* **Atopic Diseases and Systemic Lupus Erythematosus: An Epidemiological Study of the Risks and Correlations.** *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 11, n. 8, p. 8112–8122, 8 ago. 2014.

JOST, S.A.; TSENG, L.C.; MATTHEWS, L.A.; et al. **IgG, IgM, and IgA antinuclear antibodies in discoid and systemic lupus erythematosus patients.** *Scientific World Journal*, 2014.

LIPHAUS, B. L. et al. **Increased IgE serum levels are unrelated to allergic and parasitic diseases in patients with juvenile systemic lupus erythematosus.** *Clinics (São Paulo, Brazil)*, v. 67, n. 11, p. 1275–80, 2012.

MCPHAUL, J. J. et al. **Participation of immunoglobulin E (IgE) in immune-mediated glomerulonephritis.** *Kidney International*, v. 5, n. 4, p. 292–299, abr. 1974.

MERRILL, J. T.; NEUWELT, C. M.; WALLACE, D. J. *et al.* **Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: The randomized, double-blind, phase ii/iii systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial.** *Arthritis & Rheumatism*, v. 62, n. 1, p. 222–233. 2010.

MORTON, S.; PALMER, B.; MUIR, K. *et al.* **IgE and non-IgE mediated allergic disorders in systemic lupus erythematosus.** *Annals of the rheumatic diseases*, v. 57, n. 11, p. 660–3, 1998.

MUNROE, M. E.; YOUNG, K. A.; KAMEN, D. L. *et al.* **Discerning Risk of Disease Transition in Relatives of Systemic Lupus Erythematosus Patients Utilizing Soluble Mediators and Clinical Features.** *Arthritis & Rheumatology*, v. 69, n. 3, p. 630–642, mar. 2017.

NEUBER, K.; SCHWARTZ, I.; ITSCHERT, G. *et al.* **Treatment of atopic eczema with oral mycophenolate mofetil.** *Brazilian Journal of Dermatology*. v. 143, n. 2, p. 385-91. 2000.

OLSEN, N. J.; KARP, D. R. **Autoantibodies and SLE—the threshold for disease.** *Nature Reviews Rheumatology*, v. 10, n. 3, p. 181–186, 3 dez. 2013.

PARKS, C. BIAGINI, R. E.; COOPER, G. S. *et al.* **Total serum IgE levels in systemic lupus erythematosus and associations with childhood onset allergies.** *Lupus*, v. 19, n. 14, p. 1614–1622. 2010.

RAY, S. **Autoimmune Disorders: An Overview of Molecular and Cellular Basis in Today's Perspective.** *Journal of Clinical & Cellular Immunology*, v. 1, n. S10, 2013.

RAMOS, M. A.; PINERA, C. SETIEN, M. *et al.* **Modulation of autoantibody production by mycophenolate mofetil: effects on the development of SLE in (NZBxNZW)F1 mice.** *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 18, n. 5, p. 878–883, 2003.

REBHUN, J.; QUISMORIO, F.; DUBOIS, E. *et al.* **Systemic lupus erythematosus activity and IgE.** *Annals of Allergy*, 50: 34-36. 1983.

ROSENBLUM M. D.; REMEDIOS, K. A.; ABBAS, A. K. **Mechanisms of human autoimmunity.** *Journal of Clinical Investigation*, v. 125, n. 6, p. 2228–2233, 2015.)

ROVIN, B. H.; FURIE, R.; LATINIS, K. *et al.* **Efficacy and safety of rituximab in patients with active proliferative lupus nephritis: The lupus nephritis assessment with rituximab study.** *Arthritis & Rheumatism*, v. 64, n. 4, p. 1215–1226, 2012.

SALGADO, A. DE Z.; HERRERA-DIAZ, C. **Lupus Nephritis: An Overview of Recent Findings.** *Autoimmune Diseases*, v. 2012, p. 1–21, 2012.

SANJUAN, M. A.; SAGAR, D.; KOLBECK, R. **Role of IgE in autoimmunity.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 137, n. 6, p. 1651–1661, jun. 2016.

SARINHO, E. C. S.; MARIANO, J.; SARINHO, S. W. *et al.* **Sensitisation to aeroallergens among asthmatic and non-asthmatic adolescents living in a poor region in the Northeast of Brazil.** *Allergologia et Immunopathologia*, v. 37, n. 5, p. 239–243. 2009.

SEKIGAWA, I.; YOSHIKE, T.; IIDA, N. *et al.* **Review Allergic diseases in systemic lupus erythematosus : Prevalence and immunological considerations.** *Clinical and experimental rheumatology*, v. 21, n. 1, p. 117–21. 2002.

SOMERS, E. C.; MARDER, W.; CAGNOLI, P. *et al.* **Population-Based Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus: The Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance Program.** *Arthritis & Rheumatology*, v. 66, n. 2, p. 369–378, 2014.

STOHL, W.; HIEPE, F.; LATINIS, K. M. *et al.* **Belimumab reduces autoantibodies, normalizes low complement levels, and reduces select B cell populations in patients with systemic lupus erythematosus.** *Arthritis & Rheumatism*, v. 64, n. 7, p. 2328–2337. 2012.

THANOU, A.; MERRILL, J. T. **Treatment of systemic lupus erythematosus: new therapeutic avenues and blind alleys.** *Nature Reviews Rheumatology*, v. 10, n. 1, p. 23–34, 2013.

TSOKOS, G. C. et al. **New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus.** *Nature Reviews Rheumatology*, v. 12, n. 12, p. 716–730. 2016.

VILLALTA, D.; BIZZARO, N.; BASSI, N.; *et al.* **Anti-dsDNA antibody isotypes in systemic lupus erythematosus: IgA in addition to IgG anti-dsDNA help to identify glomerulonephritis and active disease.** *PLoS ONE* 2013, 8, e71458).

WERWITZKE, S. **Inhibition of lupus disease by anti-double-stranded DNA antibodies of the IgM isotype in the (NZB x NZW)F1 mouse.** *Arthritis Rheum.* 52, 3629–3638 (2005).

WOZNIACKA, A. SYSAJEDRZEJOWSKA, A.; ROBAK, E. *et al.* **Allergic diseases, drug adverse reactions and total immunoglobulin E levels in lupus erythematosus patients.** *Mediators of Inflammation*, v. 12, n. 2, p. 95–99, 2003.

XIONG, W.; LAHITA, R. G. **Pragmatic approaches to therapy for systemic lupus erythematosus.** *Nature Reviews Rheumatology*, v. 10, n. 2, p. 97–107. 2013.

YUNG, S.; CHAN, T. M. **Anti-DNA antibodies in the pathogenesis of lupus nephritis — The emerging mechanisms.** *Autoimmunity Reviews*, v. 7, n. 4, p. 317–321, fev. 2008.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

4.1 CONCLUSÕES

- Não houve diferença significativa entre nível elevado IgE total, sensibilização positiva para aeroalérgenos e presença de doenças atópicas entre pacientes com nefrite lúpica e saudáveis;
- A rede de IgE pode causar lesão tecidual por meio de autoanticorpos IgE, presentes em cerca de metade dos pacientes com nefrite lúpica e que parecem atuar de maneira independente do nível de IgE total, sensibilização e doenças atópicas;
- Apenas a positividade de anti-DNA IgE se associou com atividade de doença, em indivíduos não atópicos;
- A presença do fenótipo laboratorial de FAN IgE isolado se associou a pacientes com nefrite lúpica mais grave quando comparado com outros subgrupos;
- A presença do fenótipo laboratorial de anti-DNA IgE também se associou a pacientes com nefrite lúpica mais grave quando comparado com outros subgrupos;
- Esses achados podem indicar um subgrupo com endótipo distinto no qual os exames e a terapia usual são pouco úteis. Existe a possibilidade da terapia anti-IgE ser benéfica nesses pacientes.
- Adicionalmente, os modelos explicativos atuais de lesão tecidual por IgE autorreativa não contemplam a lesão isolada por autoanticorpo IgE, sem a participação de IgG.
- Assim, mais estudos pré-clínicos e clínicos são necessários.

4.2 LIMITAÇÕES

O caráter transversal do estudo tem a vantagem de permitir observações práticas no contexto de mundo real. No entanto, a análise de pacientes com aspectos clínicos diversos - num único momento - é morosa e qualquer conclusão deve ser interpretada com bastante cautela.

A nossa casuística foi calculada com a expectativa de uma positividade de FAN IgE em 70% e de anti-DNA IgE em 40% dos pacientes. A constatação de menor frequência que o esperado pode ser uma variação populacional, mas também pode refletir diferenças na metodologia dos testes.

Tivemos dificuldade em importar e reproduzir o teste utilizado para detecção de anti-DNA IgE do estudo pioneiro (CHARLES, 2010). Com a ajuda do setor de imunologia laboratorial, do Laboratório Marcelo Magalhães, obtivemos um kit reproduzível. No entanto, a forma de diluição do exame pode ter ocasionar uma diferença crucial. Por não encontramos referências nos métodos (CHARLES, 2010 - supplement), utilizamos as recomendações do fabricante do kit que importamos, que era análoga à diluição para anti-DNA IgG (diluição inicial 1/10). No entanto, como a IgE é cerca de 1000x menos concentrada, acreditamos que a essa diluição deva ser menor. Possivelmente nossos resultados refletem apenas os pacientes com títulos muito elevados de anti-DNA IgE e estudos posteriores devem atentar a esse fato, independente da recomendação do fabricante.

Não avaliamos citocinas séricas específicas ou outros autoanticorpos específicos (como anti-nucleossomos). Adicionalmente, as biópsias utilizadas para interpretação não foram necessariamente realizadas no mesmo momento da coleta dos dados. O uso de imunossupressores pode ter dificultado a interpretação da titulação de autoanticorpos, uma vez que alguns fatores importantes - como por exemplo variação da resposta individual ou até mesmo falta de adesão - não foram medidos especificadamente.

Portanto, os resultados dessa dissertação devem ser interpretados em um contexto de conceitos, métodos e conhecimentos científicos ainda não totalmente consolidados.

4.3 EXPECTATIVAS FUTURAS

A presença da IgE autorreativa isolada em pacientes com nefrite lúpica parece indicar que os isotipos de auto-anticorpos podem ter papéis distintos no LES. Em relação a autoanticorpos IgE, é preciso que haja detalhamento das características clínicas e laboratoriais desses pacientes, em especial do fenótipo anti-DNA IgE positivo isolado. Intentamos prosseguir investigação com acompanhamento clínico e detalhamento de laboratorial desses pacientes. Um estudo projetado inclui dosagem de citocinas específicas, avaliação biópsia renal (quando indicada) com imunofluorescência para IgE e desfechos clínicos ao longo do tempo.

Estudos pré-clínicos ainda são necessários para explicar mais detalhadamente por quais mecanismos imunocomplexos de IgE autorreativa podem causar lesões renais. Adicionalmente, precisamos ter mais certeza da reprodução desses mecanismos em pacientes por meio de estudos clínicos. O ideal seria o desenvolvimento de estudos prospectivos com pacientes virgens de tratamento, a fim de se avaliar o verdadeiro papel dos diferentes isotipos e a influência da terapia imunossupressora. No entanto, entendemos que a viabilidade desse projeto é difícil em um único centro.

O omalizumabe é um anticorpo monoclonal IgG1 anti-IgE que pode diminuir o nível de IgE circulante bem como diminuir a expressão de FcεRI em basófilos. Atualmente possui aprovação do FDA para aplicação na asma alérgica refratária e na urticária crônica refratária, mas existe racional teórico para utilização em qualquer doença que a IgE participe do mecanismo patológico.

Diversos ensaios clínicos demonstram uma boa resposta do omalizumabe na urticária crônica, que é uma doença em que há participação de IgE autorreativa, e incita boas expectativas futuras acerca do papel desse anticorpo em doenças autoimunes, como o LES. Inclusive, há registro um ensaio clínico randomizado, cross-over, duplo-cego, placebo controlado, que avaliará a segurança e tolerabilidade do omalizumabe em pacientes com LES (STOP LUPUS), com término previsto para 2020. (HASNI, 2017). Faz-se mister saber se os autores buscaram identificar subgrupos de pacientes que potencialmente possam se beneficiar mais do mecanismo biológico proposto.

4.4 REFERÊNCIAS

CHARLES, N. et al. Basophils and the T helper 2 environment can promote the development of lupus nephritis. *Nature Medicine*, v. 16, n. 6, p. 701–707, 2010.

CHARLES, N et al. Basophils and the T helper 2 environment can promote the development of lupus nephritis. *Nature Medicine*, v. 16, n. 6, p. 701–707, 2010. Supplement. Disponível em: <<https://www.nature.com/nm/journal/v16/n6/extref/nm.2159-S1.pdf>>

HASNI, 2017. <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01716312>> Acessado em: 13 de agosto de 2017.

APÊNDICE A

MODELO DO PROTOCOLO DE PESQUISA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
 Centro de Ciências da Saúde
 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
 Curso de Mestrado em Ciências da Saúde

PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS

FICHA NÚMERO _____ GRUPO _____ DATA: _____

INFORMAÇÕES DEMOGRÁFICAS

1. Nome: _____ 2. Prontuário: _____
 3. RG: _____ CPF: _____ 4. Fone: (____) _____
 5. Sexo: _____ 6. Data de nascimento: _____ 7. Idade: _____
 8. Escolaridade: _____ (anos) 9. Etnia: B / N / P / I / A 10. Naturalidade: _____
 11. Procedência: L / ZM / A / S 12. Ocupação: _____
 13. Renda Familiar: _____ (1: <1 salário; 2: 2-4 salários; 3: 5-8 salários; 4: >9 salários [] Desempregado) [] Benefício

INFORMAÇÕES CLÍNICAS

14. Datas: Início dos sintomas ___/___/___ 15. Data do Diagnóstico ___/___/___
 16. Data do Início do Tratamento ___/___/___ 17. Data da Última Consulta ___/___/___

18. Critérios Diagnósticos ACR, 1997:

1. Eritema malar / 2. Úlceras de mucosa / 3. Fotossensibilidade / 4. Rash discóide
 5. Artrite não erosiva / 6. Serosite: Pleurite Pericardite /
 7. Alteração renal: Proteinúria persistente (> 0,5g/dia ou 3+) Cilindrúria /
 8. Alt. hematológica: Anemia hemolítica Leucopenia Linfopenia Plaquetopenia /
 9. Alteração neurológica: Convulsão Psicose /
 10. Alteração imunológica: [N=negativo P=positivo (título) NA=não avaliado/sem reg.]
 Anti-DNA: _____ Anti-Sm _____ Anti-RNP _____ Anti-La (SSA) _____
 aCL IgM _____ aCL IgG _____ AL _____ Anti-Ro (SSB) _____
 11. FAN _____ Padrão: _____

19. SLEDAI na apresentação: _____ 20. Nefrite? [] 1. SIM [] 2. NÃO

21. Biópsia: classe _____ G_ escl_ Data BX: _____

23. Imunofluorescência _____

24. .1. INDUÇÃO/PULSOTERAPIA ||||| .2. MANUTENÇÃO/TTO DÇA BASE:

	Data	Data	Data	Data
MetipDLN				
CCF NIF				
CCF EUROLES				
MMF 3g				

	Dose x Meses	Dose x Meses	Dose x Meses	Dose x Meses	ATUAL
Prednisona					
Hidroxicloroquina					
Cloroquina					
Metotrexato					
Azatioprina					
Micofenolato					
Ciclofosfamida					
Colecalciferol					

.3 OUTROS:

- [] IECA: _____
 [] BRA: _____
 [] STA: _____
 [] ANTI-HAS: _____
 [] _____
 [] _____

25. Peso: _____ Altura: _____ = IMC: _____ 26. PA _____ x _____

27. SLEDAI ATUAL (PREENCHER/VIDE FICHA EM ANEXO): _____

ANTECEDENTES ATÓPICOS

28. ISAAC ASMA:

- 1. Alguma vez na vida, você teve sibilos (chiado no peito)?
 1. SIM 2. NÃO — Se a resposta for não passe para a questão 5.
- 2. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve sibilos (chiado no peito)?
 1. SIM 2. NÃO
- 3. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas crises de sibilos (chiado no peito) você teve?
 1. nenhuma crise; 2. 1 a 3 crises 3. 4 a 12 crises 4. mais de 12 crises
- 4. Nos últimos 12 meses, com que frequência você teve seu sono perturbado por chiado no peito?
 1. nenhuma 2. <1 noite por semana 3. ≥1 noite por semana
- 5. Nos últimos 12 meses, seu chiado foi tão forte a ponto de impedir que você conseguisse dizer mais de 2 palavras entre cada respiração?
 1. SIM 2. NÃO
- 6. Alguma vez na vida você teve asma?
 1. SIM 2. NÃO
- 7. Nos últimos 12 meses, você teve chiado no peito após exercícios físicos?
 1. SIM 2. NÃO
- 8. Nos últimos 12 meses, você teve tosse seca à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória?
 1. SIM 2. NÃO

29. ISAAC RINITE: (As perguntas são sobre problemas que ocorrem quando você não estava gripado ou resfriado)

- 1. Alguma vez na vida você teve problema com espirros ou coriza (corrimento nasal), quando não estava gripado?
 1. SIM 2. NÃO — Se a resposta for não passe para a questão 5.
- 2. Nos últimos 12 meses, você teve algum problema com espirros, coriza (corrimento nasal) ou obstrução nasal quando não estava gripado ou resfriado?
 1. SIM 2. NÃO
- 3. Nos últimos 12 meses esse problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?
 1. SIM 2. NÃO
- 4. Nos últimos 12 meses, suas atividades diárias foram atrapalhadas por problema nasal?
 1. nada 2. pouco 3. moderado 4. muito
- 5. Alguma vez na vida você teve rinite?
 1. SIM 2. NÃO

30. ISAAC DERMATITE:

- 1. Alguma vez na vida você teve manchas com coceira na pele (eczema), que apareciam e desapareciam por pelo menos 6 meses
 1. SIM 2. NÃO — Se a resposta for não passe para a questão 5.
- 2. Nos últimos 12 meses você teve essas manchas na pele (eczema)?
 1. SIM 2. NÃO
- 3. Alguma vez essas manchas com coceira afetaram: dobras de cotovelos, atrás de joelhos, na frente de nádegas ou em volta de pescoço, orelhas ou olhos?
 1. SIM 2. NÃO
- 4. Alguma vez essas manchas com coceira desapareceram completamente nos últimos 12 meses?
 1. SIM 2. NÃO
- 5. Nos últimos 12 meses, quantas vezes, aproximadamente, você ficou acordado a noite por causa dessa coceira na pele?
 1. SIM 2. NÃO
- 6. Alguma vez você teve eczema?
 1. SIM 2. NÃO

31. TRIAGEM URTICÁRIA:

- 1. Alguma vez na vida você já apresentou placas vermelhas no corpo, que coçam bastante, que lembram urticárias (mostrar foto urticária)? 1. SIM 2. NÃO
2. Lesões duraram mais de >6 semanas? 1. SIM 2. NÃO
3. Relaciona a algum desencadeante? 1. SIM 2. NÃO 3. Qual _____

32. Comorbidades:

1. HAS 2. DM 3. DLP 4. ICC 5. IAM 6. DEPRESSÃO 7. ANSIEDADE
 8. DERMATITE ATÓPICA 9. ALERGIA ALIMENTAR 10. ALERGIA MEDICAMENTOS
 11. Outras _____ 12. TAB

33. História Familiar

1. Algum dos pais/filhos/irmãos com dca autoimune? 1. SIM, _____ 2. NÃO
2. Algum dos pais/filhos/irmãos com atopia? 1. SIM, _____ 2. NÃO

APÊNDICE B

MODELO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - MODELO DA UFPE



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
 Centro de Ciências da Saúde
 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
 Curso de Mestrado em Ciências da Saúde

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

Convidamos a Sra (o Sr.) para participar como voluntária (o) da pesquisa (Contagem de basófilos e a rede de IgE auto-reativa na Nefrite Lúpica), que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Filipe Wanick Sarinho, situado no endereço Av. Professor Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901; contato através de (81) 2126-8000 ou fiwasal@hotmail.com; e está sob a orientação de: Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho - Telefone: (81) 2126-8000. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Dr Cláudia Marques, Dr Ângela Duarte, Dr Henrique Mariz, Dr Lucila Valente.

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

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

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Descrição da pesquisa:

Essa pesquisa visa entender melhor os mecanismos que causam o lúpus eritematoso sistêmico nas pessoas e dessa forma sugerir pesquisas futuras em busca de tratamentos mais eficazes e com menos efeitos colaterais.

Serão coletados dados sócio-demográficos, clínicos e laboratoriais, através do seu prontuário e aferido diretamente a partir de você, por um pesquisador treinado. Para isso, serão utilizados: a) Um protocolo criado especificadamente para essa pesquisa; b) Um questionário validado internacionalmente para medir atividade do lúpus eritematoso sistêmico (SLEDAI); 3) Coleta de exame de sangue; 4) Coleta de exame de urina;

Esses dados serão coletados numa única visita. Inicialmente o pesquisador preencherá o protocolo de pesquisa com alguns dados obtidos através do prontuário e de você. Em seguida, ele aplicará um questionário (SLEDAI 2K). Posteriormente, serão colhidos 20mL de

sangue - cerca de 01 colher de sopa - por punção na veia de um dos braços. Também serão colhidos aproximadamente 20 mL de urina num recipiente estéril.

RISCOS

Os principais riscos dessa pesquisa incluem acidentes de punção na hora da coleta do sangue (hematoma, punção venosa, trombose superficial), desconforto ou constrangimento em informar alguns dados pessoais e clínicos. Toda equipe da pesquisa estará a disposição para orientar e oferecer suporte em caso de eventuais malefícios ocasionados diretamente pela pesquisa.

BENEFÍCIOS

Os benefícios diretos incluem a revisão dos dados clínicos do paciente, realização de exames laboratoriais não disponíveis pelo sistema único de saúde (SUS) e eventual sugestão de tratamentos alternativos (a depender do perfil clínico-laboratorial) nos casos refratários.

Os benefícios indiretos incluem contribuição para o conhecimento atual da patogênese do lúpus eritematoso sistêmico.

CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em arquivos impressos e em computador pessoal dos pesquisadores, sob a responsabilidade do orientador da pesquisa, no endereço (acima informado), pelo período de máximo 10 anos. Adicionalmente, uma amostra de 10mL de sangue será armazenada para compor o banco de pesquisa sobre lupus eritematoso sistêmico.

CUSTOS

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

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

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo "Contagem de basófilos e a rede de IgE auto-reativa na Nefrite Lúpica", como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Recife, _____

Assinatura do participante: _____

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

Nome: _____

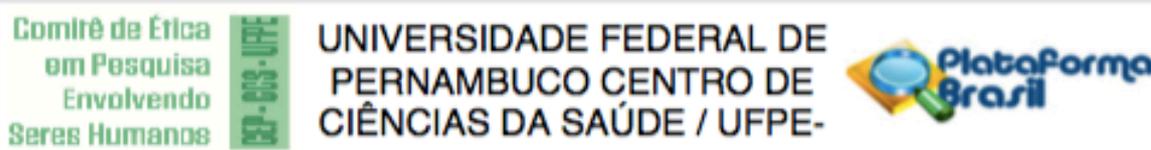
Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

ANEXO I

PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Contagem de Basófilos e a rede de IgE auto-reativa na nefrite lúpica

Pesquisador: FILIPE WANICK SARINHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50456315.8.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.331.033

Apresentação do Projeto:

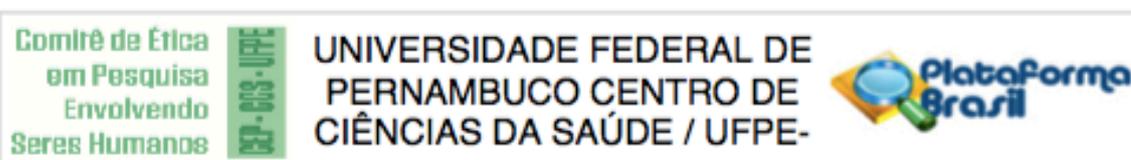
Trata-se de um projeto de mestrado do Estudante Filipe Wanick Sarinho sob a orientação do Professor Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho. O projeto será desenvolvido no Hospital das Clínicas, especificamente no serviço de nefrologia e serviço de reumatologia. A proposta consiste basicamente na validação da hipótese: Baixa contagem de basófilos em sangue periférico é um indicativo de atividade de doença na nefrite lúpica e se correlaciona com níveis séricos de IgE total e IgE auto-reativas em alguns pacientes. Para este fim realizar-se-á um estudo observacional, transversal, de caráter clínico exploratório, com amostra por conveniência estimada em 60 pacientes com nefrite lúpica, comparando-os a 40 pacientes com LES (Lúpus Eritematoso Sistêmico) sem nefrite e 40 controles saudáveis.

Os pacientes com nefrite serão recrutados no ambulatório de nefrite lúpica, do serviço de nefrologia do Hospital das Clínicas-UFPE, às segundas-feiras, de 07:30 h às 12:30 h, de Janeiro a Junho de 2016.

Os pacientes com LES sem nefrite serão recrutados no ambulatório de LES, do serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas-UFPE, às quartas-feiras, de 13:30 h às 17:30 h, de Janeiro a Junho de 2016.

Os controles saudáveis serão convidados por amostra de conveniência, a partir de amostras de acompanhantes dos pacientes, de Janeiro a Junho de 2016.

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



Continuação do Parecer: 1.331.033

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Verificar a ligação do basófilo com a rede de IgE auto-reativa na nefrite lúpica.

Específicos:

- Verificar relação entre a contagem de basófilos, IgE total e IgE auto-reativa entre si e correlacionar à atividade de doença (aferida pelo escore de atividade de doença SLEDAI 2K).
- Verificar relação entre a contagem de basófilos e a atividade laboratorial de nefrite.
- Comparar níveis de IgG auto-reativas (anti-DNA dupla-hélice e FAN) e IgE auto-reativas (IgE anti-DNA dupla-hélice e FAN).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão explicitamente delineados no projeto de pesquisa e no termo de consentimento livre e esclarecido. Os riscos incluem principalmente acidentes de punção na hora da coleta do sangue (hematoma, punção arterial, trombose venosa superficial), desconforto ou constrangimento em informar alguns dados pessoais e clínicos. Visando minimizar estes riscos intrínsecos aos procedimentos de coleta, toda equipe da pesquisa é devidamente habilitada e estará a disposição para orientar e oferecer suporte em caso de eventuais malefícios ocasionados diretamente pela pesquisa.

Os benefícios diretos consistem basicamente na revisão dos dados clínicos do paciente, realização de exames laboratoriais não disponíveis pelo sistema único de saúde (SUS) e eventual sugestão de tratamentos alternativos nos casos refratários. Os benefícios indiretos incluem contribuição para o conhecimento atual da patogênese do lúpus eritematoso sistêmico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um tema muito interessante e atual para a população e toda comunidade médica, uma vez que tem aumentado a incidência de casos de Lúpus Eritematoso Sistêmico. Neste contexto qualquer iniciativa visando o aumento de conhecimento científico nesta área é muito relevante.

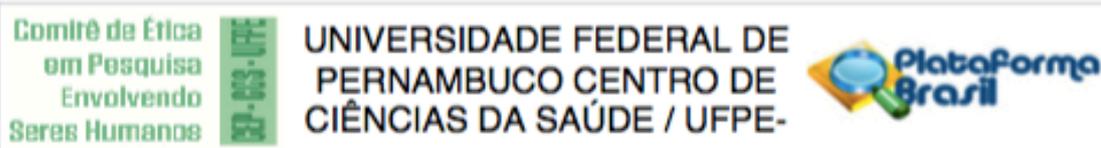
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todas as cartas de anuência e currículos estão devidamente anexadas. Adicionalmente o termo de consentimento livre e esclarecido está em linguagem adequada aos participantes da pesquisa. Os critérios de inclusão e exclusão dos participantes da pesquisa estão devidamente delineados. A folha de rosto está devidamente assinada e carimbada.

Recomendações:

Nenhuma

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8568 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.331.033

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Considerações Finais a critério do CEP:

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

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

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

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_615110.pdf	26/10/2015 17:36:27		Aceito
Outros	CLAUDIA.pdf	26/10/2015 17:35:30	FILIPPE WANICK SABINHO	Aceito
Outros	LUCILA.pdf	26/10/2015 17:33:24	FILIPPE WANICK SABINHO	Aceito

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

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Serres Humanos		UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-	
--	---	---	---

Continuação do Parecer: 1.331.033

Outros	ESARINHO.pdf	26/10/2015 17:24:12	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Outros	FWS.pdf	26/10/2015 17:14:22	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Orçamento	orcam.pdf	26/10/2015 17:09:35	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	26/10/2015 17:09:12	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Outros	AnuenciaassNEFRORreal.JPG	26/10/2015 16:58:50	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	26/10/2015 16:52:38	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Folha de Rosto	FROSTOcarimbada.pdf	26/10/2015 16:48:51	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Outros	anuenciaassreumato.jpeg	26/10/2015 11:05:44	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	26/10/2015 10:59:48	FILIFE WANICK SARINHO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 20 de Novembro de 2015

Assinado por:
Gisele Cristina Sena da Silva Pinho
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8568 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

ANEXO II
ESCORE SLEDAI 2000 (SLEDAI 2K)

SLEDAI 2000 (SLEDAI 2K)
(GLADMAN, 2002)

Table 2. SLEDAI- 2K data collection form.

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 _____			

Study No.: _____ Patient Name: _____ Visit Date: _____

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