



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

**EUDES GUSTAVO CONSTANTINO CUNHA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA ONCOSTATINA M E SEU RECEPTOR  
SOLÚVEL COMO BIOMARCADORES PARA O DIAGNÓSTICO DA ESCLEROSE  
SISTÊMICA**

**Recife  
2024**

**EUDES GUSTAVO CONSTANTINO CUNHA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA ONCOSTATINA M E SEU RECEPTOR  
SOLÚVEL COMO BIOMARCADORES PARA O DIAGNÓSTICO DA ESCLEROSE  
SISTÊMICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico Recife, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Desenvolvimento pré-clínico de produtos bioativos.

Orientador(a): Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta

Coorientador(a): Profa. Dra. Andréa Tavares Dantas

Dr. Anderson Rodrigues de Almeida

**Recife  
2024**

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Cunha, Eudes Gustavo Constantino.

Avaliação do potencial da Oncostatina M e seu receptor solúvel como biomarcadores para o diagnóstico da Esclerose Sistêmica / Eudes Gustavo Constantino Cunha. - Recife, 2024. 90f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, 2024.

Orientação: Maira Galdino da Rocha Pitta.

Coorientação: Andréa Tavares Dantas.

Coorientação: Anderson Rodrigues de Almeida.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Artrite Reumatoide; 2. Lúpus Eritematoso Sistêmico; 3. Autoimunidade; 4. Inflamação; 5. Acurácia. I. Pitta, Maira Galdino da Rocha. II. Dantas, Andréa Tavares. III. Almeida, Anderson Rodrigues de. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

**EUDES GUSTAVO CONSTANTINO CUNHA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA ONCOSTATINA M E SEU RECEPTOR SOLÚVEL  
COMO BIOMARCADORES PARA O DIAGNÓSTICO DA ESCLEROSE SISTÊMICA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico Recife, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Desenvolvimento pré-clínico de produtos bioativos.

Aprovada em: 12/07/2024.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Profa. Dra. Maria Danielly Lima de Oliveira (Examinador interno)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Profa. Dra. Angela Luzia Branco Pinto Duarte (Examinador interno)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Prof. Dr. Eraldo Fonseca dos Santos Junior (Examinador externo)  
Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – Suely Galdino

---

Profa. Dra. Sayonara Maria Calado Gonçalves (Examinador externo)  
Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – Suely Galdino

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que em minha jornada acadêmica contribuíram de alguma maneira para o meu crescimento como pessoa e profissional que me tornei. Os obstáculos enfrentados foram cruciais para que eu pudesse encontrar meios de superá-los e alcançar novas perspectivas. Minha esposa Kettelyn, meus pais e sogros, meu irmão e cunhados, meus amigos e colegas, e a família do pastor Roberval de Oliveira formaram uma base de sustentação para a construção deste “edifício acadêmico”.

Agradeço aos professores Ivan Pitta, Maira Pitta, Moacyr Rêgo, Michelly Pereira e Michelle Melgarejo pela oportunidade e apoio a mim concedidos durante todos esses anos de formação acadêmica.

À excelente equipe de estudos Esclero Team: Dr. Anderson Rodrigues, que muito me ajudou e contribuiu para o sucesso acadêmico; João Victor, que foi muito além de um aluno de iniciação científica; Eduarda Gonçalves, que sempre ajudou em todos os sentidos.

Também agradeço à competente equipe de médicos professores do ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas de Pernambuco: Dra. Angela Duarte, Dra. Andrea Dantas, Dra. Rafaela Gonçalves, e os demais que sempre me ofereceram suporte quando precisei.

Agradeço aos Pós-Docs e técnicos do NUPIT-SG que contribuíram para minha formação.

Aos profissionais do laboratório de análises clínicas do Hospital das Clínicas de Pernambuco que nos ajudaram.

A todos os amigos e colegas de trabalho do NUPIT-SG vai meu “Muito Obrigado” pelo apoio e ajuda prestados a mim.

À minha esposa, meus pais e sogros, meu irmão e cunhados, meu pastor e família, e aos meus amigos dedico esta tese com toda gratidão.

O coração do homem planeja o seu caminho, mas o Senhor lhe dirige os passos (BÍBLIA, Provérbios 16:9).

## RESUMO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença autoimune reumatológica complexa, caracterizada por danos na microvasculatura, desregulação do sistema imunológico e fibrose de pele e órgãos internos. O diagnóstico baseia-se principalmente em sinais e sintomas, apoiado pela análise do perfil de autoanticorpos e exames complementares. Contudo, atrasos são comuns devido a encaminhamentos tardios e à falta de testes diagnósticos padronizados, específicos e sensíveis. Em alguns casos, a doença evolui rapidamente, ressaltando a necessidade ainda atual de biomarcadores para auxiliar no diagnóstico precoce. Embora algumas proteínas tenham sido propostas como biomarcadores, o diagnóstico da ES permanece um desafio clínico. O receptor solúvel da oncostatina M (OSMRs) tem sido apontado como um antagonista da sinalização mediada pela oncostatina M (OSM), envolvida em processos biológicos e inflamatórios, incluindo lesão tecidual e fibrose. Além disso, o OSMRs está aumentado no soro de pacientes com ES e foi associado com manifestações clínicas da doença. Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo analisar a acurácia da OSM e do OSMRs na identificação de pacientes com ES e das manifestações clínicas da doença, em contraste com a artrite reumatoide (AR) e o lúpus eritematoso sistêmico (LES). A coorte foi composta por 105 pacientes com ES, 50 com artrite reumatoide (AR), 64 com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e 130 controles saudáveis. Amostras de sangue periférico foram coletadas após consentimento dos participantes, e o soro foi obtido para quantificação sérica da OSM e do OSMRs por ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) sanduíche. A análise da acurácia foi realizada através do cálculo da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), e o poder preditivo foi avaliado pela área sob a curva (AUC). Os pontos de corte foram determinados através do Youden index. Os resultados foram estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ . Os níveis de OSMRs estão significativamente elevados no soro de pacientes com ES quando comparados com pacientes com AR e LES, bem como com controles saudáveis ( $p < 0,0001$  para todas as comparações). Pacientes com ES e úlceras digitais apresentaram maiores níveis de OSMRs ( $p=0,0456$ ) do que os pacientes sem essa manifestação. A análise da curva ROC revelou a capacidade dos níveis séricos do OSMRs de distinguir pacientes com ES de AR [AUC = 0,901; IC 95% (0,842 - 0,943);  $p < 0,0001$ ], com sensibilidade de 89,52% e especificidade de 78,00%, e de pacientes com LES [AUC = 0,897; IC 95% (0,841 - 0,938);  $p < 0,0001$ ], com sensibilidade de 81,90% e especificidade de 89,06%, bem como de controles saudáveis [AUC = 0,876; IC 95% (0,827 - 0,916);  $p < 0,0001$ ], com sensibilidade de 82,86% e especificidade de 81,54%. Ao comparar pacientes com ES com pacientes com outras doenças reumatológicas autoimunes (AR e LES combinados), foi encontrada uma AUC de 0,898 [IC 95% (0,851 - 0,935);  $p < 0,0001$ ], com sensibilidade de 82,86% e especificidade de 85,09%. Ao avaliar a acurácia do OSMRs nas manifestações e características clínicas da ES foi encontrada diferença estatística para hipertensão arterial pulmonar com AUC de 0,648 [IC 95% (0,549 - 0,739);  $p = 0,0359$ ], sensibilidade de 94,12% e especificidade de 40,91%. Ademais, os níveis da OSM não foram detectáveis no soro de pacientes com ES e controles saudáveis. Assim, observa-se que os níveis séricos do OSMRs estão elevados em pacientes com ES e demonstraram boa capacidade discriminatória para diferenciar ES de AR, LES e controles saudáveis. Desse modo, sugere-se o OSMRs como um biomarcador promissor para o diagnóstico de ES.

**Palavras-chave:** Artrite Reumatoide; Lúpus Eritematoso Sistêmico; Autoimunidade; Inflamação; Acurácia.

## ABSTRACT

Systemic sclerosis (SSc) is a complex autoimmune rheumatic disease characterized by microvascular damage, immune dysregulation, and fibrosis in the skin and internal organs. The diagnosis is based on clinical signs and symptoms, supported by autoantibody profiling and complementary tests. However, diagnostic delays are common due to late referrals and the lack of standardized, specific, and sensitive diagnostic tests. In some instances, the disease progresses rapidly, highlighting the ongoing need for biomarkers to aid in early diagnosis. Although some proteins have been proposed as biomarkers, the diagnosis of SSc remains a clinical challenge. The soluble oncostatin M receptor (sOSMR) acts as an antagonist of oncostatin M (OSM)-mediated signaling, which is involved in biological and inflammatory processes including tissue injury and fibrosis. Moreover, serum sOSMR levels are elevated in SSc patients and have been linked to clinical manifestations of the disease. Given this context, the present study aimed to analyze the accuracy of serum OSM and sOSMR levels in identifying SSc patients and their clinical features, compared to patients with rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE), and healthy controls. The cohort comprised 105 SSc patients, 50 RA patients, 64 SLE patients, and 130 healthy controls. Peripheral blood samples were collected after informed consent, and serum was isolated for quantification of OSM and sOSMR by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Accuracy was assessed by the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, and the predictive power by area under the curve (AUC). Cut-off points were determined using the Youden index. Results were considered statistically significant when  $p < 0.05$ . Serum sOSMR levels were significantly higher in SSc patients compared to RA, SLE, and healthy controls ( $p < 0.0001$  for all comparisons). Additionally, SSc patients with digital ulcers exhibited higher sOSMR levels than those without ( $p = 0.0456$ ). ROC curve analysis showed that sOSMR levels distinguished SSc patients from RA [AUC = 0.901; 95% CI (0.842 - 0.943);  $p < 0.0001$ ] with 89.52% sensitivity and 78.00% specificity; from SLE [AUC = 0.897; 95% CI (0.841 - 0.938);  $p < 0.0001$ ] with 81.90% sensitivity and 89.06% specificity; and from healthy controls [AUC = 0.876; 95% CI (0.827 - 0.916);  $p < 0.0001$ ], with 82.86% sensitivity and 81.54% specificity. When combining RA and SLE patients, sOSMR discriminated SSc with an AUC of 0.898 [95% CI (0.851–0.935);  $p < 0.0001$ ], sensitivity of 82.86%, and specificity of 85.09%. Regarding clinical manifestations, sOSMR levels were associated with pulmonary arterial hypertension (PAH), with an AUC of 0.648 [95% CI (0.549–0.739);  $p = 0.0359$ ], showing high sensitivity (94.12%) but low specificity (40.91%). Notably, serum OSM levels were undetectable in both SSc patients and healthy controls. These results indicate that elevated serum sOSMR levels effectively distinguish SSc patients from those with RA, SLE, and healthy individuals. Thus, sOSMR is suggested as a promising biomarker for the diagnosis of SSc.

**Keywords:** Rheumatoid Arthritis; Systemic Lupus Erythematosus; Autoimmunity; Inflammation; Accuracy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Fisiopatogenia da esclerose sistêmica.	20
Figura 2 –	Manifestações clínicas em pacientes com esclerose sistêmica cutâneo limitada.	26
Figura 3 –	Manifestações clínicas em pacientes com esclerose sistêmica cutâneo difusa.	27
Figura 4 –	Áreas de acometimento de fibrose cutânea em pacientes com esclerose sistêmica cutâneo limitada e cutâneo difusa.	28
Figura 5 –	Áreas de acometimento das principais manifestações clínicas da esclerose sistêmica.	30
Figura 6 –	Complexos de ligação e vias de sinalização da oncostatina M.	35
Fluxograma 1 –	Desenho experimental do estudo.	39
Figura 7 –	Níveis séricos do receptor solúvel da oncostatina M em pacientes com esclerose sistêmica, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e controles saudáveis.	45
Figura 8 –	Acurácia do OSMRs no soro de pacientes com esclerose sistêmica cutânea limitada e difusa, distinguindo-se de pacientes não-ES e controles saudáveis.	50
Figura 9 –	Acurácia do OSMRs no soro de pacientes com esclerose sistêmica cutânea limitada e difusa, distinguindo-se do subconjunto com todos os grupos.	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Índices de incidência e prevalência da esclerose sistêmica por região.	18
Tabela 2 –	Autoanticorpos e suas associações clínicas na esclerose sistêmica.	23
Tabela 3 –	Critérios de classificação do ACR para a esclerose sistêmica.	31
Tabela 4 –	Critérios de classificação do ACR/EULAR 2013 para a esclerose sistêmica.	32
Tabela 5 –	Caracterização demográfica, clínica e laboratorial dos pacientes com esclerose sistêmica e o grupo controle.	41
Tabela 6 –	Limites de detecção dos kits comerciais de ELISA utilizados no estudo.	43
Tabela 7 –	Diferença dos níveis séricos de OSMRs nas manifestações clínicas e características de pacientes com esclerose sistêmica.	46
Tabela 8 –	Correlações entre níveis de OSMRs e características clínicas e laboratoriais em pacientes com esclerose sistêmica.	47
Tabela 9 –	Diferença dos níveis séricos de OSMRs no tratamento de pacientes com esclerose sistêmica.	48
Tabela 10 –	Acurácia do OSMRs na distinção de pacientes com esclerose sistêmica, de artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e controles saudáveis.	49
Tabela 11 –	Avaliação do receptor solúvel da oncostatina M com manifestações clínicas e características clínicas de pacientes com esclerose sistêmica.	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha$ -SMA	Actina do músculo liso alfa, do inglês, <i>alpha-smooth muscle actin</i>
ACR	Colégio Americano de Reumatologia, do inglês, <i>American College of Rheumatology</i>
AR	Artrite reumatóide
AUC	Área sob a curva, do inglês, <i>area under the curve</i>
CMV	Citomegalovírus
CTGF	Fator de crescimento do tecido conjuntivo, do inglês, <i>connective tissue growth factor</i>
DAMPs	Padrões moleculares associados ao dano, do inglês, <i>damage-associated molecular patterns</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>
DP	Desvio padrão
DPI	Doença pulmonar intersticial
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática, do inglês, <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ES	Esclerose sistêmica
EScl	Esclerose sistêmica cutâneo limitada
EScd	Esclerose sistêmica cutâneo difusa
EULAR	Liga Europeia Contra Reumatismo, do inglês, <i>European League Against Rheumatism</i>
FRy	Fenômeno de Raynaud
gp130	Glicoproteína 130
HAQ	Questionário de avaliação de saúde, do inglês, <i>health assessment questionnaire</i>
HAP	Hipertensão arterial pulmonar
HBV	Vírus da hepatite B
HCPE	Hospital das Clínicas de Pernambuco
HPV	Vírus do papiloma humano
IC	Intervalo de confiança
ICAM	Molécula de adesão intercelular, do inglês, <i>intercellular adhesion molecule</i>

IL	Interleucina
IQR	Intervalo interquartil, do inglês, interquartile range
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LIFR	Receptor do fator inibidor da leucemia, do inglês, <i>leukemia inhibitory factor receptor</i>
MEC	Matrix extracelular
MMPs	Matriz metaloproteinases
NUPIT-SG	Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – Suely Galdino
OSM	Oncostatina M
OSMR	Receptor da oncostatina M
OSMR $\beta$	Receptor da oncostatina M beta
OSMRs	Receptor solúvel da oncostatina M
PCR	Proteína C reativa
PDGF	Factor de crescimento derivado de plaquetas, do inglês, <i>platelet-derived growth factor</i>
RNA	Ácido ribonucleico, do inglês, <i>ribonucleic acid</i>
ROC	Curva de característica de operação, do inglês, <i>receiver operating characteristic</i>
ROS	Especies reativas de oxigênio, do inglês, <i>reactive oxygen species</i>
SHAQ	Questionário de avaliação de saúde para esclerodermia, do inglês, <i>scleroderma health assessment questionnaire</i>
SMAD	Família de proteínas SMAD
TGF- $\beta$	Fator transformador de crescimento, do inglês, <i>transforming growth factor beta</i>
Th	T <i>helper</i>
TIMP	Inibidores teciduais de metaloproteinases, do inglês, <i>tissue inhibitors of metalloproteinases</i>
TLR	Receptor <i>Toll-like</i>
TNF	Fator de necrose tumoral, do inglês, <i>tumor necrosis factor</i>
UD	Úlceras digitais
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular, do inglês, <i>vascular endothelial growth factor</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>18</b>
2.1	ESCLEROSE SISTÊMICA	18
<b>2.1.1</b>	<b>Epidemiologia</b>	<b>18</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Etiopatogênese</b>	<b>19</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Patogênese</b>	<b>19</b>
2.1.3.1	Vasculopatia	20
2.1.3.2	Desregulação imunológica	21
2.1.3.3	Fibrose tecidual	24
<b>2.1.4</b>	<b>Manifestações clínicas</b>	<b>25</b>
<b>2.1.5</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>30</b>
2.1.5.1	Biomarcadores	33
2.1.5.2	Oncostatina M e seu receptor solúvel	34
<b>2.1.6</b>	<b>Tratamento farmacológico</b>	<b>37</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>38</b>
3.1	OBJETIVO GERAL	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>39</b>
4.1	DESENHO EXPERIMENTAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO	39
<b>4.1.1</b>	<b>Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes</b>	<b>40</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Critérios de inclusão e exclusão dos voluntários sadios</b>	<b>40</b>
4.2	COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO	42
4.3	DOSAGEM DA ONCOSTATINA M E DO RECEPTOR SOLÚVEL DA ONCOSTATINA M	42
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>45</b>
5.1	NÍVEIS SÉRICOS DA ONCOSTATINA M E DO RECEPTOR SOLÚVEL DA ONCOSTATINA M	45
5.2	ANÁLISE DE ACURÁCIA DO RECEPTOR SOLÚVEL DA ONCOSTATINA M	49

<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>60</b>
	<b>APÊNDICE A – DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS CLÍNICAS</b>	<b>68</b>
	<b>APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA PARA PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA</b>	<b>70</b>
	<b>APÊNDICE C – TCLEs PARA PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICE D – TCLEs PARA CONTROLES SAUDÁVEIS</b>	<b>77</b>
	<b>ANEXO A – PARECERES DO COMITÊ DE ÉTICA</b>	<b>81</b>
	<b>ANEXO B – ARTIGO SOLUBLE ONCOSTATIN M RECEPTOR (sOSMR): A POTENTIAL BIOMARKER IN SYSTEMIC SCLEROSIS DIAGNOSIS</b>	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença autoimune reumatológica de etiologia desconhecida. Acredita-se que fatores ambientais e genéticos em consonância contribuam para o desenvolvimento da doença. A ES, juntamente com a artrite reumatóide (AR) e o lúpus eritematoso sistêmico (LES) estão incluídas no grupo de doenças reumatológicas autoimunes caracterizadas por respostas imunes excessivas, aberrantes e direcionadas contra aloantígenos presentes nos tecidos e órgãos internos (BICIUSCA *et al.*, 2024, HORIMOTO; DA COSTA, 2015). Embora fenotipicamente diferentes, essas doenças possuem várias características patogênicas em comum. Vasculopatia, autoimunidade e acometimento de órgãos internos presentes na ES, também podem ser vistos AR e no LES. Acometimentos como hipertensão arterial pulmonar, doença pulmonar intersticial, artrite, acometimento musculoesquelético, e diferentes níveis de envolvimento renal e fibrose também podem ocorrer (BICIUSCA *et al.*, 2024, SCHERLINGER *et al.*, 2018).

A ES possui taxas de incidência e prevalência variáveis nas diferentes regiões do mundo, mas exibindo em todas elas altos índices de morbidade e mortalidade associados à doença. Pessoas do sexo feminino compõe o grupo de indivíduos mais afetados pela doença numa proporção média global de 5 mulheres para cada homem (BAIRKDAR *et al.*, 2021). Devido ao caráter sistêmico, a ES acomete pele e órgãos internos e pode ser classificada nos subtipos cutâneo limitada (EScl) e cutâneo difusa (EScd) de acordo com o grau de extensão da fibrose na pele. Conhecida por sua heterogeneidade, a ES acomete o tecido conjuntivo e é marcada pela vasculopatia, desregulação imunológica com produção de autoanticorpos e fibrose progressiva. Estas nuances que envolvem a patogenia da ES estão muito relacionadas entre si, embora os sintomas de dano vascular sejam mais marcantes na fase inicial da doença enquanto a fibrose tecidual progressiva é mais grave e incapacitante em estágios mais avançados da doença (ALLANORE *et al.*, 2015; ASANO *et al.*, 2018; DENTON, KHANNA, 2017; HUGES, 2019).

O dano vascular é uma das características mais precoces da ES e resultado do desequilíbrio entre vasoconstritores e vasodilatadores ao nível das vênulas e arteríolas. O fenômeno de Raynaud (FRy), por exemplo, é um sintoma muito frequente em pacientes e pode surgir muito antes do aparecimento dos demais sintomas. A produção de autoanticorpos por células B é comum no quadro inflamatório. Estes anticorpos atacam alvos intra e extracelulares, estão relacionados com manifestações clínicas e são úteis para o diagnóstico (ALLANORE *et*

*al.*, 2015). Como decorrência do processo inflamatório autoimune, o qual orchestra grande quantidade de células e proteínas mediadoras, o processo fibrótico é estabelecido na pele e em órgãos internos. A fibrose causa progressivamente a perda funcional dos órgãos afetados e contribui fortemente para a perda da qualidade de vida e morte (ALLANORE *et al.*, 2015; ASANO *et al.*, 2018; DENTON, KHANNA, 2017; HUGES, 2019).

O diagnóstico da ES é essencial clínico, baseado nos sintomas e sinais apresentados pelo paciente e auxiliado pelo resultado de exames laboratoriais e complementares (ALLANORE *et al.*, 2015; ASANO *et al.*, 2018; DENTON, KHANNA, 2017). Como em outras doenças reumatológicas, o diagnóstico precoce é primordial para evitar que a doença progrida rapidamente e aumente as taxas de sobrevivência. Os autoanticorpos são uma marca da ES. Eles são produzidos por células B e atacam aloantígenos no interior das células. Vários autoanticorpos como o anti-centromero, anti-Scl-70 e anti-RNA polimerase III têm sido amplamente utilizados como biomarcadores do processo patológico da ES (CAVAZZANA *et al.*, 2023, KANG *et al.*, 2020). Contudo, até o presente não existe um biomarcador ou teste diagnóstico único para ES (HUGES, 2019). A necessidade de biomarcadores capazes de auxiliar no diagnóstico e prever desfechos irreversíveis, além da dificuldade de manejo terapêutico para evitar a progressão da fibrose na ES, em especial a fibrose pulmonar, têm reunido esforços de grupos de pesquisa ao redor do mundo (ALLANORE *et al.*, 2015; ASANO *et al.*, 2018; DENTON, KHANNA, 2017; HUGES, 2019; VOLKMANN; ANDRÉASSON; SMITH, 2023).

A oncostatina M (OSM) é uma importante glicoproteína pertencente à família da IL-6 que também está relacionada tanto em processos inflamatórios quanto em desordens inflamatórias e fibróticas (BROWN; O'REILLY, 2019; STAWSKI; TROJANOWSKA, 2019; WEST *et al.*, 2018). A via de sinalização da OSM se dá através da sua ligação a dois complexos de receptor: o tipo 1 (gp130/LIFR), e o tipo 2 (gp130/OSMR $\beta$ ). Em doenças fibróticas, o eixo OSM-OSMR tem se mostrado relevante (BROWN; O'REILLY, 2019; WEST *et al.* 2018). A expressão gênica de OSMR foi apontada como fator prognóstico para o risco de progressão da lesão de pele e à alteração do escore de pele ao longo do tempo na ES (STIFANO *et al.*, 2018).

Assim, considerando a alta complexidade e heterogeneidade da ES nos indivíduos de diferentes regiões e carga genética, bem como a dificuldade em estabelecer o diagnóstico para alguns pacientes, faz-se necessária a descoberta de novos biomarcadores que possam contribuir para o diagnóstico e acompanhamento da doença.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença complexa, heterogênea, autoimune e sistêmica, que acomete vários órgãos, em especial a pele ocasionando vasculopatia, inflamação e fibrose (ASANO *et al.*, 2018; DENTON, KHANNA, 2017; ALLANORE *et al.*, 2015; GABRIELLI; AVVEDIMENTO; KRIEG, 2009).

### 2.1 ESCLEROSE SISTÊMICA

#### 2.1.1 Epidemiologia

As taxas de incidência e prevalência variam bastante dependendo da região da população analisada (BAIRKDAR *et al.*, 2021), como pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1 – Índices de incidência e prevalência da esclerose sistêmica por região.

Região	Incidência	Prevalência
África	0,2 por 100.000	*
América do Norte	1,6 por 100.000	25,9 por 100.000
América do Sul	1,5 por 100.000	24,8 por 100.000
Ásia	0,9 por 100.000	1,8 por 100.000
Europa	1,6 por 100.000	14,8 por 100.000
Oceania	1,0 por 100.000	23,8 por 100.000

Fonte: Adaptado de BAIRKDAR *et al.* (2021).

\* O autor relatou ausência de estudos de prevalência da esclerose sistêmica realizados na África.

É observado que o acometimento da ES varia de acordo com o sexo do indivíduo, que possui proporção global de 5 mulheres para cada homem (BAIRKDAR *et al.*, 2021).

No Brasil, os dados epidemiológicos são escassos. Até o momento, apenas a cidade de Campo Grande, no estado do Mato Grosso do Sul possui tais dados, exibindo incidência de 11,9 e prevalência de 105,5 casos por milhão por habitantes (HORIMOTO *et al.*, 2016).

A ES mundialmente apresenta altos índices de morbidade e mortalidade. Estima-se que pacientes com ES têm quase duas a cinco vezes mais probabilidades de morrer em comparação com a população em geral (POUDEL, DERK, 2018; RUBIO-RIVAS *et al.*, 2014). A baixa qualidade de vida impacta diretamente nas atividades cotidianas, comprometidas

principalmente pelo quadro fibrótico severo apresentado pelos pacientes (ALMEIDA, C.; ALMEIDA, I.; VASCONCELOS, 2015; HUGHES; HERRICK, 2019; RUBIO-RIVAS *et al.*, 2014). A baixa taxa de sobrevivência da ES está atrelada aos graves acometimentos como hipertensão arterial pulmonar e doença pulmonar intersticial, e são apontadas como causas de pior prognóstico e morte (POUDEL, DERK, 2018; POUDEL *et al.*, 2017; ELHAI *et al.*, 2017).

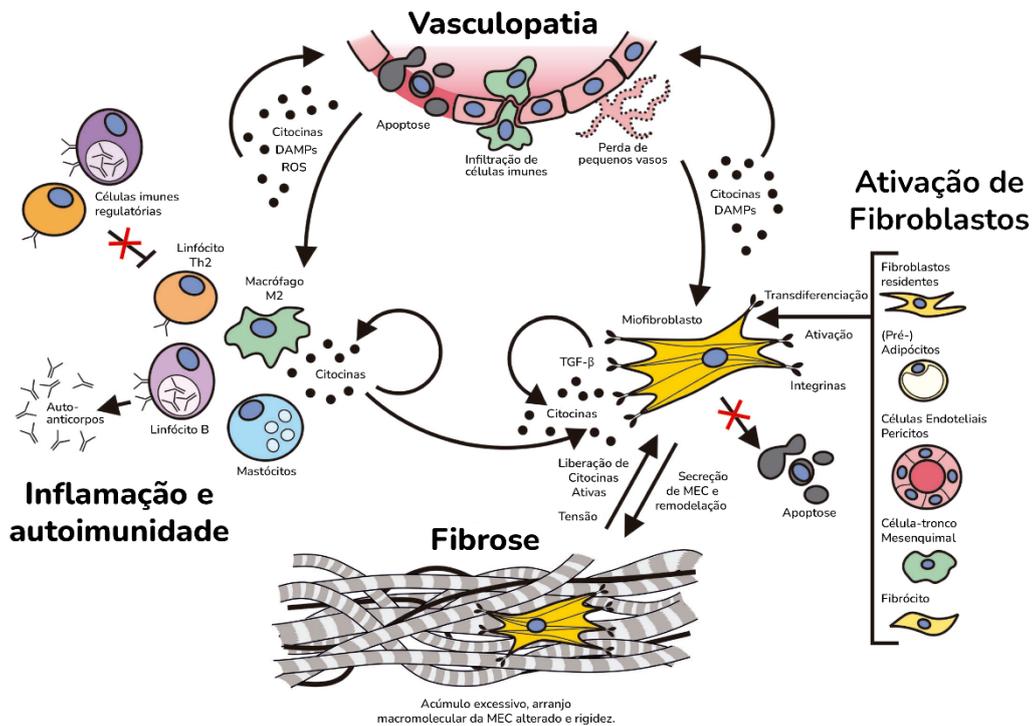
### **2.1.2 Etiopatogênese**

Sabe-se que diversos fatores contribuem para o surgimento da ES em indivíduos, contudo ainda não é conhecido o mecanismo principal pelo qual a ES é desencadeada. A relação de gatilhos para a doença envolve a exposição à sílica e solventes orgânicos, infecções virais pelo vírus do papiloma humano (HPV), vírus da hepatite B (HBV), citomegalovírus (CMV), agentes pesticidas, tratamento anticâncer com quimioterápicos e radiações ultravioleta (DIOT *et al.*, 2002; ARNISON *et al.*, 2009; ZIMMERMANN; PIZZICHINI, 2013; DENTON; KHANNA, 2017). Por outro lado, a presença de fatores genéticos na carga genética do indivíduo é bastante importante para o surgimento da doença. Nesse espectro, vários polimorfismos genéticos foram apontados como envolvidos no risco ao desenvolvimento e aparecimento de sintomas em pacientes com ES (SALAZAR; MAYES, 2015; DE MARTINIS *et al.*, 2016; ZUO *et al.*, 2016). Alguns destes polimorfismos são nas regiões dos genes: IRF5, CD226, CD247, *locus* do HLA-DPA1 e HLA-DPB1, entre outras (RAMOS; SILVER; FEGHALI-BOSTWICK, 2015; BOSSINI-CASTILLO; LÓPEZ-ISAC; MARTÍN, 2015). Além dos polimorfismos, as alterações epigenéticas como modificações em histonas, metilação de DNA, RNAs longos não-codificantes e micro-RNAs, têm sido amplamente estudadas no contexto patogênico da ES nos últimos anos, embora exista muito o que ainda ser investigado (ANGIOLILLI *et al.*, 2018).

### **2.1.3 Patogênese**

De maneira geral, em um indivíduo geneticamente predisposto, quando exposto aos fatores ambientais as células imunes começam a desencadear eventos inflamatórios contra antígenos próprios localizados na vasculatura, em especial nas vênulas e arteríolas das extremidades (SIERRA-SEPÚLVEDA *et al.*, 2019; ASANO, 2018). Estas manifestações ocorrem em três diferentes braços da doença: vasculopatia, desregulação imunológica e fibrose tecidual (Figura 1).

Figura 1 – Fisiopatogenia da esclerose sistêmica.



Fonte: Adaptado de ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022. DAMPs – Padrões moleculares associados ao dano (*damage-associated molecular patterns*); MEC – Matriz extracelular; ROS – Espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species*); TGF-β – Fator de transformação do crescimento beta (*transforming growth factor beta*); Th – T helper.

### 2.1.3.1 Vasculopatia

A vasculopatia é resultante do constante desbalanço de vasoconstritores e vasodilatadores promovido pelas células endoteliais. O dano à vasculatura é um dos primeiros eventos no desenvolvimento da ES (FULLARD; O'REILLY, 2015). A lesão vascular se origina da redução do número de vasos sanguíneos, estreitamento do lúmen e espessamento da parede dos vasos que culminam com a má oxigenação, levando ao estresse oxidativo por espécies reativas de oxigênio (ROS), padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) e citocinas (ALLANORE *et al.*, 2015; ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022). Este dano contínuo motivados pela hipóxia crônica e por ROS culmina em morte tecidual nos pequenos vasos sanguíneos por processos de apoptose e necrose (ALLANORE *et al.*, 2015; ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022). Uma vez que as células endoteliais responsáveis pela neovascularização estão comprometidas, a reconstrução da vascularização local também fica prejudicada. Nestas células, as proteínas mediadoras da adesão celular endotelina-1, ICAM e

E-selectina favorecem a manutenção da inflamação, inibindo a sinalização positiva para a angiogênese (LIAKOULI *et al.*, 2011; STICHERLING, 2012; STERN; DENTON, 2015). Subsequentemente, eventos como proliferação de células musculares lisas, hiperplasia da camada íntima e da membrana basal decorrem das alterações vasculares primárias (ASANO, 2018; THOREAU *et al.*, 2021; ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022). Durante este processo patológico, as células imunes, dentre elas macrófagos, monócitos e células T secretam TGF- $\beta$ , IL-4, IL-13 e IL-6 resultando em amplificação do sinal inflamatório, proliferação e diferenciação de fibroblastos, produção de matriz extracelular (MEC), inibição da síntese de metaloproteases (MMPs) e aumento do inibidor tecidual de metaloprotease (TIMP) (ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022).

#### 2.1.3.2 Desregulação imunológica

A desregulação imunológica na patogenia da ES envolve a participação dos sistemas imune inato e adaptativo (BENFAREMO *et al.*, 2022). O dano vascular promove a liberação de DAMPs por células endoteliais lesadas e apoptóticas, ativando a resposta imune inata. Adicionalmente, os receptores *Toll-like* (TLR), especialmente o TLR-2 e TLR-4, promovem a ativação de células dendríticas e subsequente produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias como o interferon (INF) tipo 1, que leva à subsequente ativação de monócitos, linfócitos T e B, fibroblastos e células dendríticas (BENFAREMO *et al.*, 2022; FULLARD; O'REILLY, 2015; THOREAU *et al.*, 2021). Postula-se que a ligação entre os sistemas imune inato e adaptativo se dá através das células dendríticas. Estas células, estimuladas pelo TLR-4 e TLR-8, produzem grandes quantidade de IL-10, IFN e da quimiocina CXCL4, promovendo transformação de fibroblastos e produção de colágeno (AFFANDI *et al.*, 2022; BENFAREMO *et al.*, 2022; THOREAU *et al.*, 2021; ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022). O recrutamento, proliferação e ativação de células do sistema imune adaptativo amplifica o sinal através de citocinas, quimiocinas e proteínas de adesão, causando o aumento da resposta inflamatória e progressão da lesão tecidual (BENFAREMO *et al.*, 2022; THOREAU *et al.*, 2021; ROSENDAHL; SCHÖNBORN; KRIEG, 2022).

O curso da ES exhibe diferentes padrões de citocinas produzidas por perfil de linfócitos T-helper. Os perfis de linfócitos Th1 e Th17 dirigem a resposta inflamatório no período inicial da doença enquanto o perfil Th2 é mais observado nos estágios mais tardios da doença, caracterizado pela fibrose tecidual progressiva (GONÇALVES *et al.*, 2018; THOREAU *et al.*, 2022; ASANO, 2018). Durante os estágios iniciais da ES, as citocinas produzidas por linfócitos

Th-1 estão mais atuantes. São o caso das citocinas interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-2 (IL-2), as quais estão envolvidas com manifestações clínicas específicas da ES (BALANESCU *et al.*, 2015; CHIZZOLINI *et al.*, 2006; DANTAS *et al.*, 2015). Os linfócitos Th-17 produzem as interleucinas: IL-17A, IL-17F, IL-21 e IL-22. Dentre estas interleucinas, a IL-17A tem se apresentado por contribuir significativamente nos processos patológicos da ES embora o seu papel seja controverso (GONÇALVES *et al.*, 2018). Por outro lado, os linfócitos Th2 produzem e secretam citocinas como IL-4, IL-13, IL-6 e outros membros da família da IL-6, a exemplo da oncostatina M (OSM). Esses mediadores estão diretamente envolvidos na ativação e/ou manutenção do processo fibrótico, o que implica em agravamento do quadro clínico progredindo para estágios mais avançados da doença, levando às altas taxas de morbidade e mortalidade (BROWN; O'REILLY, 2019; WEST *et al.* 2018).

Mastócitos e macrófagos M2 também estão envolvidos na ES e contribuem na patogênese direcionando e regulando a resposta inflamatória através da produção e secreção de fatores e citocinas pró-inflamatórias (THOREAU *et al.*, 2021; ASANO, 2018).

As células B, assim como os fibroblastos, exercem um papel chave na fisiopatogenia da ES e estão implicadas nas manifestações clínicas associadas à fibrose tecidual e na autoimunidade. As células B produzem autoanticorpos, citocinas e agem juntamente com macrófagos e células dendríticas amplificando a resposta inflamatória e fibrótica em pacientes com ES. Estas células podem ser encontradas na corrente sanguínea e na pele de pacientes acometidos (THOREAU *et al.*, 2022; ASANO, 2018). No contexto da ES, as células B são chave pois estão com sua homeostase anormal e agem como indutoras de fibrose (THOREAU *et al.*, 2022; BROWN; O'REILLY, 2019). De maneira geral, as células B e T interagem entre si amplificando, direcionando e regulando a resposta inflamatória e fibrótica em pacientes com ES (GONÇALVES *et al.*, 2018; THOREAU *et al.*, 2022; ASANO, 2018).

A produção de anticorpos contra antígenos próprios é algo marcante na ES. As células B produzem anticorpos que possuem como alvos antígenos no citoplasma, núcleo e nucléolo, bem como contra proteínas secretadas na MEC como algumas isoformas MMPs (ALLANORE *et al.*, 2015; BENFAREMO *et al.*, 2022). Estes autoanticorpos são importantes marcadores de diagnóstico, prognóstico e predição da SSc e estão diretamente implicados na patogênese da ES (ARONSON; FERNER, 2017). A maior parte dos pacientes com ES apresentam autoanticorpos, aproximadamente 95% deles possui autoanticorpos antinuclear (ANA). Dentre eles estão os clássicos autoanticorpos anti-centrômero, anti-topoisomerase I, também conhecido como anti-Scl-70, e o anti-RNA polimerase III. Outros anticorpos não clássicos têm sido

estudados e relacionados com a ES são o anti-U3RNP, associado à EScl e a diversas alterações de órgãos internos, o anti-Th/To, associados à EScl e com alta frequência de envolvimento de órgãos internos, e o anti-U11/U12 RNP, associada a DPI grave e alta mortalidade (CAVAZZANA *et al.*, 2023, KANG *et al.*, 2020) (Tabela 2).

Tabela 2 – Autoanticorpos e suas associações clínicas na esclerose sistêmica.

<b>Anticorpo</b>	<b>Forma clínica</b>	<b>Associação clínica</b>
<b>Anti-centromero</b>	EScl	Hipertensão arterial pulmonar (HAP)
<b>Anti-topoisomerase I (Anti-Scl-70)</b>	EScl	Fibrose pulmonar e envolvimento cardíaco
<b>Anti-RNA polimerase III</b>	EScl	Crise renal, atrito do tendão, sinovite, miosite, contraturas articulares
<b>Anti-U3RNP (Fibrilarina)</b>	EScl	Crise renal e envolvimento cardíaco, pulmonar, músculo esquelético e gastrointestinal.
<b>Anti-Th/To</b>	EScl	Doença pulmonar intersticial (DPI), hipertensão arterial pulmonar (PAH), envolvimento cardíaco e crise renal.
<b>Anti-U11/U12 RNP (RNPC-3)</b>		Doença pulmonar intersticial (DPI), fibrose pulmonar, fenômeno de Raynaud e envolvimento gastrointestinal.

Fonte: Adaptado de KAIZER AND FRITZLER (2015), KANG *et al.* (2020), CAVAZZANA *et al.* (2023), e BENFAREMO *et al.* (2022). EScl = esclerose sistêmica cutâneo limitada; EScl = esclerose sistêmica cutâneo difusa;

### 2.1.3.3 Fibrose tecidual

O processo fibrótico está presente em todo o curso da doença, porém é no estágio final que este acometimento possui maior dano, o que contribui significativamente para o aumento da morbidade e mortalidade (ALLANORE, 2015). A fibrose tecidual é progressiva e decorre do processo inflamatório vascular e dirigido por linfócitos e citocinas do perfil Th2 (VARGA; ABRAHAM, 2007). Células residentes e circulantes cooperam juntamente com produção de mediadores químicos amplificando e direcionando o curso da resposta à aloantígenos. No contexto da fibrose relacionada à ES, a célula principal é o fibroblasto, células mesenquimais produtoras de matriz extracelular (MEC). Estas células ao receberem estímulos através de citocinas e quimiocinas são ativadas e passam a produzir uma alta quantidade de MEC e proteínas necessárias ao processo de cicatrização tecidual. Os fibroblastos são essenciais para a cicatrização. Em condições normais estas células produzem fibras para a MEC suficiente para o reparo do tecido conectivo, e a remodelação tecidual é arranjada com a ação das MMPs que degradam o excesso de MEC. Estudos apontam que a ativação aberrante motivada pelo *pool* de mediadores pro-fibróticos como IL-4, IL-6, IL-13, IL-17, IL-33, PDGF, CTGF e TGF- $\beta$ , e a deficiência da degradação da MEC pelas MMPs são as causas para o processo de cicatrização defeituoso na ES (BHATTACHARYYA; WEI; VARGA, 2011; KENDALL; FEGHALI-BOSTWICK, 2014).

Os miofibroblastos são a forma ativa dos fibroblastos, caracterizados pela capacidade de contração, a expressão de  $\alpha$ -SMA (*alpha-smooth muscle actin*), proteínas da família SMAD, e alta capacidade de secretar componentes da MEC e TGF- $\beta$ . Estas células podem ser originadas não somente de fibroblastos residentes, mas também de outros tipos celulares como fibrócitos, monócitos, queratinócitos, pericitos, pré-adipócitos e adipócitos, e através da diferenciação epitelial ou endotelial-mesenquimal. Tais diferenciações são iniciadas a partir de um pool de sinalizadores químicos, sendo o TGF- $\beta$  o mais relevante dentre eles (KORMAN, 2019).

O TGF- $\beta$  é uma citocina pleiotrópica envolvida no processo de cicatrização tecidual e é o mediador químico mais importante para a patogênese da ES. Este fator de crescimento é produzido e secretado por fibroblastos, linfócitos T, monócitos e plaquetas na forma de um complexo latente, vindo a ser ativado quando ocorre lesão tecidual. A ativação do TGF- $\beta$  deflagra a ativação da cascata das proteínas SMAD, particularmente as isoformas 2 e 3, no citosol. Este estímulo por TGF- $\beta$  resulta na ativação do fibroblasto em miofibroblasto, que por sua vez, passa a produzir elementos da MEC como colágeno e outras proteínas (BROWN; O'REILLY, 2019). O mecanismo de ação do TGF- $\beta$  decorre da ativação de vias intracelulares

de sinalização: a via canônica, a qual dependente das proteínas SMAD, e o conjunto de vias SMAD-independente (ERK1/ERK2, TAK1, AKT, JNK-p38, EGR1, FAK1 e c-Abl) (GABRIELLI; AVVEDIMENTO; KRIEG, 2009; BHATTACHARYYA; WEI; VARGA, 2011; KENDALL; FEGHALI-BOSTWICK, 2014; KORMAN, 2019). No contexto da ES, a alta produção de TGF- $\beta$  ocasiona num aumento de fibroblastos ativados, o que gera um efeito de retroalimentação, uma vez que os miofibroblastos utilizam o próprio TGF- $\beta$  por meio de sinalização autócrina (THOREAU *et al.*, 2021). Outro fator a ser ponderado é a produção aberrante das enzimas MMPs, o que limita a regulação da MEC pela incapacidade de remover o excesso de MEC depositada na pele e órgãos internos (RECH *et al.*, 2016). As MMPs promovem a remodelação da MEC através da degradação da MEC, indução da liberação e ativação de citocinas e fatores de crescimento, e são reguladas por enzimas inibidoras de proteases. Concentrações anormais das MMPs estão implicadas em doenças fibróticas, em especial na ES, na qual altas concentrações da MMP-7, MMP-9 e MMP-12 estão correlacionadas com fibrose na pele e pulmão (UTSUNOMIYA; OYAMA; HASEGAWA, 2020).

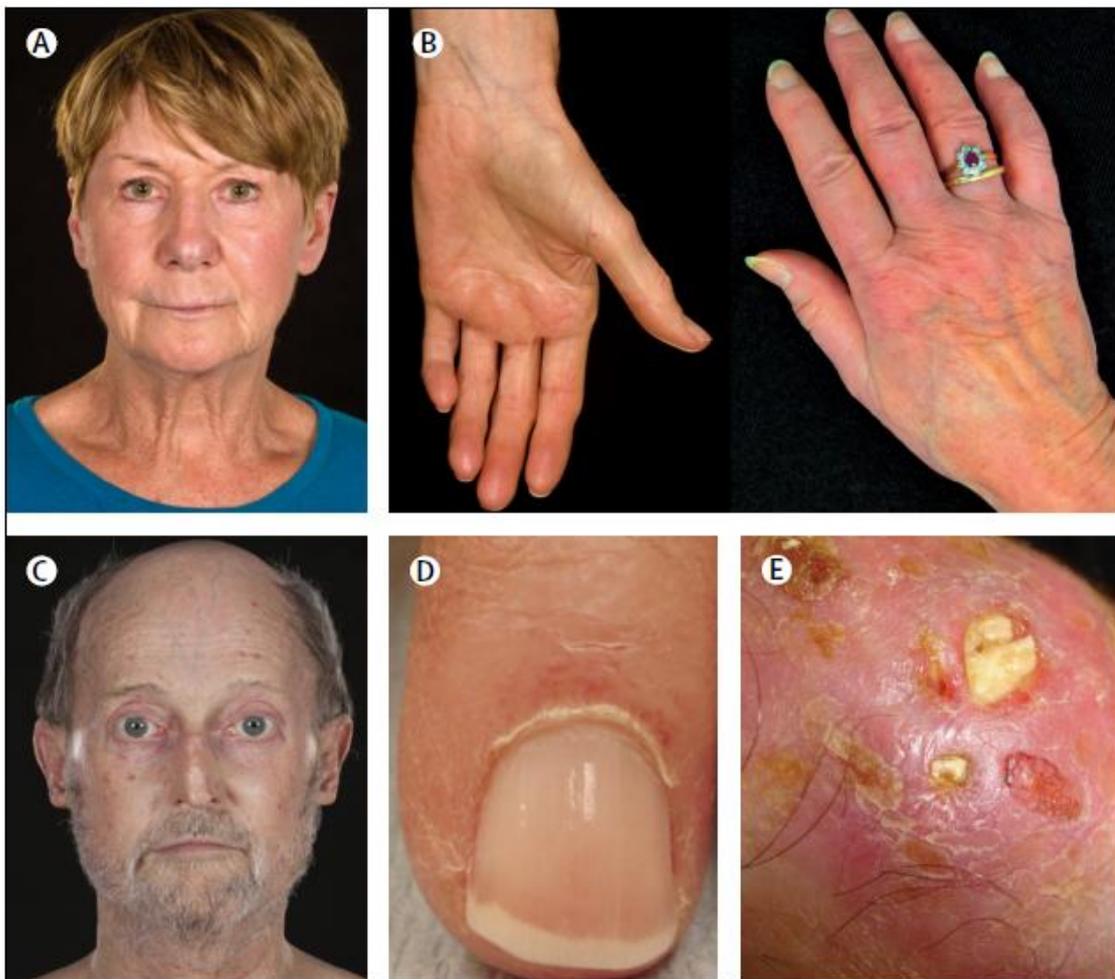
Além do TGF- $\beta$  outros fatores de crescimento e citocinas estão presentes na patofisiologia da ES. O fator de crescimento derivado de plaquetas (*platelet-derived growth factor*, PDGF) é secretado por plaquetas, fibroblastos, células endoteliais e macrófagos, e age como estimulantes para células mesenquimais contribuindo para a inflamação, angiogênese e fibrose (ALLANORE, 2015; UTSUNOMIYA; OYAMA; HASEGAWA, 2020). O fator de crescimento do tecido conjuntivo (*connective tissue growth factor*, CTGF/CCN2) mostrou-se relevante no processo fibrótico pois funciona em conjunto com o TGF- $\beta$  em respostas à estímulos fibróticos. O CTGF é capaz de aumentar a produção de colágeno tipo 1 e fibronectina em fibroblastos. Em condições normais o CTGF é expresso em níveis baixos, porém em pacientes com ES altas concentrações são encontradas, correlacionando-se com fibrose na pele e pulmão ALLANORE, 2015; UTSUNOMIYA; OYAMA; HASEGAWA, 2020).

#### **2.1.4 Manifestações clínicas**

Os pacientes com ES são classificados em duas principais formas clínicas a depender do grau de extensão do espessamento da pele: esclerose sistêmica cutâneo limitada (EScl) e esclerose sistêmica cutâneo difusa (EScd). Os pacientes com EScl apresentam fibrose na face,

pescoço, extremidades dos joelhos e cotovelos, podendo também apresentar comprometimento de órgãos internos (Figura 2).

Figura 2 – Manifestações clínicas em pacientes com esclerose sistêmica cutâneo limitada.

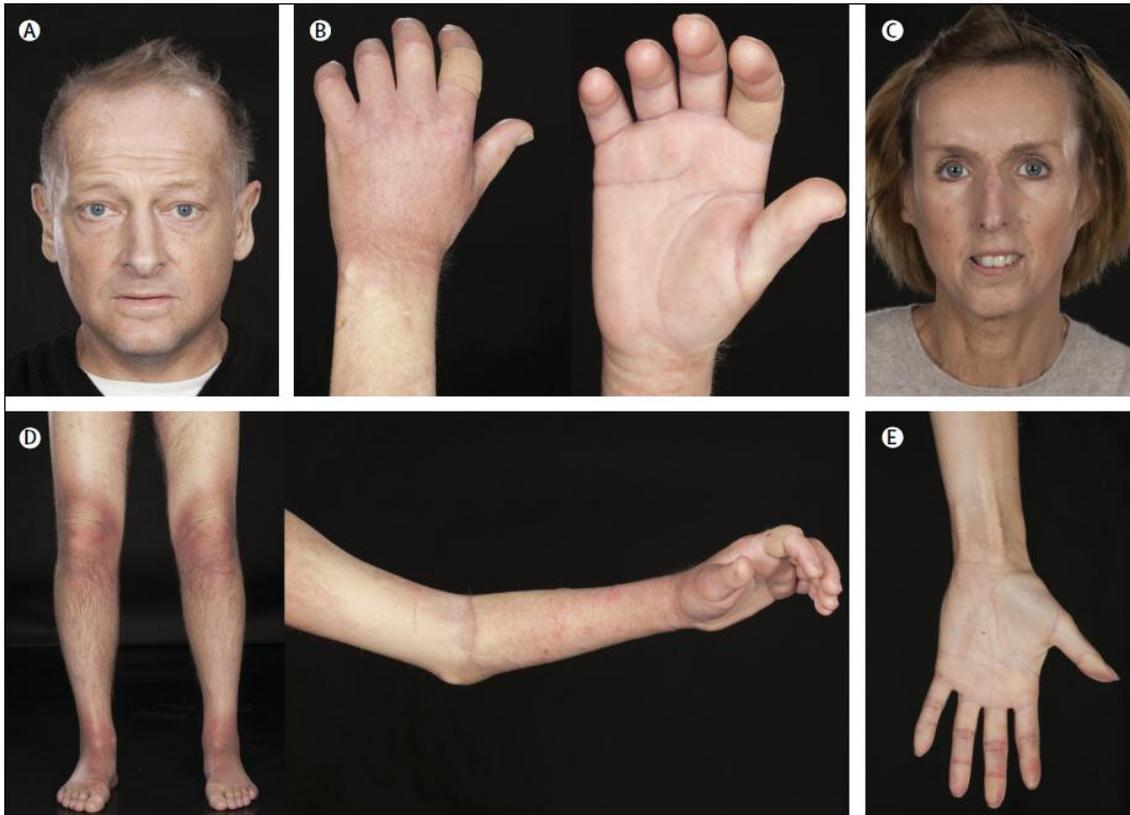


Fonte: Adaptado de DENTON *et al.*, 2017.

A - Perda de tecidos moles periorais; B - Esclerodactilia; C - Telangiectasia facial; D - Capilares ungueais dilatados; E - Calcinose cutânea.

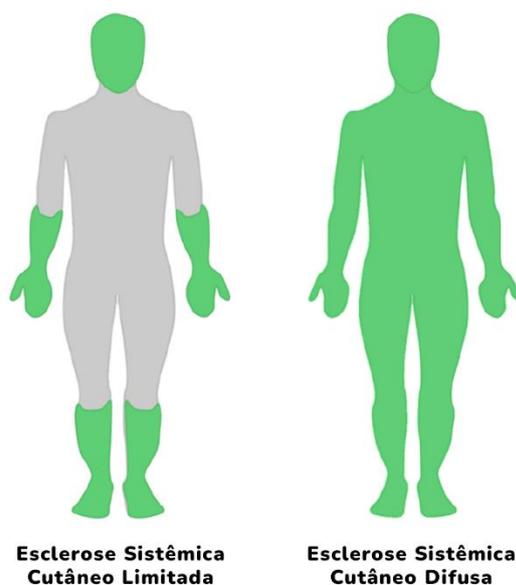
Por outro lado, os pacientes com EScl apresentam um elevado grau de fibrose tecidual que se estende por toda a pele e com maior frequência de comprometimento de órgãos internos (Figura 3). Este grupo de pacientes possui menor taxa de sobrevivência devido ao comprometimento de órgãos vitais, diferentemente do grupo EScl que possui maior proporção de aparecimento do fenômeno de Raynaud (FRy), úlceras digitais e hipertensão arterial pulmonar (ASANO *et al.*, 2018; DENTON, KHANNA, 2017; ALLANORE *et al.*, 2015, HACHULLA; LAUNAY, 2011). A figura 4 apresenta o desenho esquemático das áreas acometidas pela fibrose cutânea em pacientes com EScl e EScl.

Figura 3 – Manifestações clínicas em pacientes com esclerose sistêmica cutâneo difusa.



Fonte: Adaptado de DENTON *et al* (2017). A - O envolvimento grave da pele afetando a aparência facial; B - Função da mão afetada associada a úlceras digitais graves e ulceração em áreas de pressão ou trauma; C - Alterações atróficas de envolvimento difuso da pele em estágio avançado com crescimento proeminente de pelos; D - O branqueamento típico da pele endurecida, espessada e sem pelos ao longo dos membros, e positividade para anticorpo anti-RNA polimerase; E - Alterações atróficas das mãos no envolvimento cutâneo difuso em estágio avançado.

Figura 4 – Áreas de acometimento de fibrose cutânea em pacientes com esclerose sistêmica cutâneo limitada e cutâneo difusa.



Fonte: Adaptado de LESCOAT *et al* (2019).

O FRy é um dos primeiros sintomas clínicos a aparecerem em pacientes com ES. Esta condição decorre do desbalanço entre vasoconstritores e vasodilatadores nos capilares das extremidades dos dedos e seu aparecimento pode preceder a doença em anos. As úlceras digitais (UD) são feridas que aparecem na polpa dos dedos causadas pela hipóxia tecidual nesta região, o que provoca necrose tecidual e então o aparecimento das feridas. Se não tratadas corretamente, as UD podem ocasionar amputação dos membros afetados (ALLANORE *et al.*, 2015; SOBOLEWSKI *et al.*, 2019; HUGHES *et al.*, 2020). A calcinose cutânea pode estar presente ao redor de articulações da mão em forma de nódulos como resultado da deposição de cálcio. A taxa de ocorrência desta manifestação clínica gira em torno de 25% e pode ocasionar efeitos leves a graves, havendo a necessidade de intervenção cirúrgica (ALLANORE *et al.*, 2015; SOBOLEWSKI *et al.*, 2019). Outra característica clínica encontrada em pacientes com ES é a telangiectasia, que é o aparecimento de pequenos vasos na pele da face, tórax e na palma das mãos. O aumento das telangiectasias pode ser útil como marcador de progressão da gravidade das anormalidades vasculares (HUGHES *et al.*, 2020; JERJEN *et al.*, 2022).

O acometimento do trato gastrointestinal (TGI) é uma característica comum em pacientes, tanto a porção superior, quanto a inferior e causa sintomas como refluxo, constipação

e diarreia (DENTON; KHANNA, 2017). Ademais, acometimentos envolvendo a musculatura esquelética são comuns, como artrite e miosite, as quais são comumente encontradas em pacientes com a forma clínica difusa (HUGHES; HERRICK, 2019).

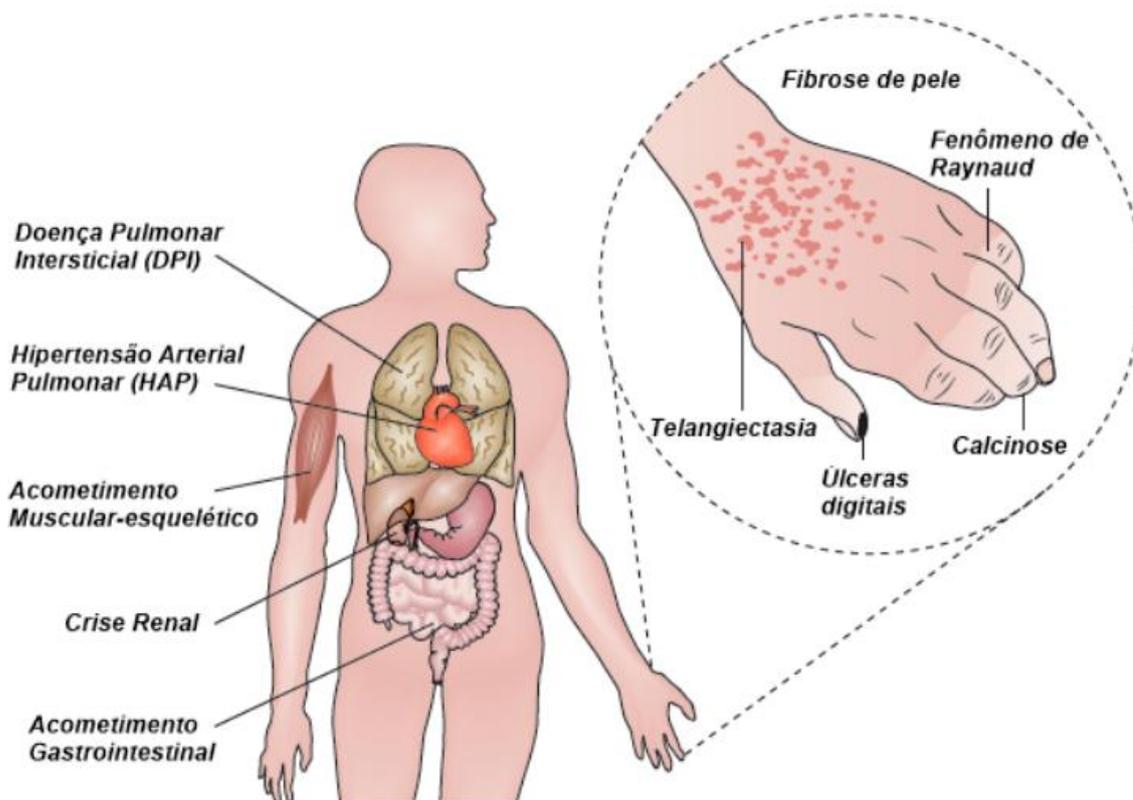
As complicações mais severas da ES são vistas em pacientes com acometimento pulmonar, cardíaco e renal (JERJEN *et al.*, 2022). A crise renal esclerodérmica (CRE) possui uma baixa frequência de ocorrência, sendo mais comum em pacientes EScd, nos primeiros anos da doença. Após a utilização dos fármacos inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) a CRE, que era responsável por grande parte das causas de mortalidade em pacientes, aumentou a taxa de sobrevida em pacientes acometidos (ALLANORE *et al.*, 2015).

O acometimento pulmonar, caracterizado pela hipertensão arterial pulmonar (HAP) e doença pulmonar intersticial (DPI), é atualmente a principal causa de mortalidade nesses pacientes, apresentando cerca de 50% das causas de morte dos pacientes (ALLANORE, 2015; NIKPOUR; BARON, 2014). A HAP é mais comum em pacientes com EScl acometendo cerca de 15% dos pacientes, especialmente naqueles com maior duração da doença, presença de anticorpos anti-centrômero e telangiectasias (DENTON; KHANNA, 2017; ALLANORE, 2015). A DPI é uma complicação precoce da esclerose sistêmica mais comum em pacientes com a EScd. Na maior parte dos pacientes a DPI permanece leve, o que torna um desafio clínico identificar os casos que progridem para falência do órgão (ALLANORE, 2015; DENTON; KHANNA, 2017).

A fibrose cardíaca está entre as principais complicações da esclerose sistêmica. Este acometimento quando não identificado previamente contribui para a morte súbita em pacientes (ALLANORE, 2015; DENTON; KHANNA, 2017). A identificação do envolvimento cardíaco é essencial para mitigar as chances de morte súbita (DENTON; KHANNA, 2017).

A figura 5 apresenta a localização esquemática das áreas que podem ser acometidas em um paciente com ES.

Figura 5 – Áreas de acometimento das principais manifestações clínicas da esclerose sistêmica.



Fonte: Adaptado de ALLANORE, 2015.

### 2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico da ES essencialmente clínico, baseado nos sintomas e sinais apresentados pelo paciente, no perfil de autoanticorpos e nos resultados de exames complementares para avaliação do comprometimento de órgãos-alvo. Entretanto, critérios classificatórios, elaborados fundamentalmente para fins de pesquisa clínica, são muitas vezes utilizados para auxílio no diagnóstico (SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2013; VAN DE HOOGEN *et al.*, 2013; HUDSON; FRITZLER, 2014).

Inicialmente, os pacientes eram classificados de acordo com os critérios do ACR, publicados em 1980 (LEROY *et al.*, 1988; MASI, 1980). Segundo esses critérios, o médico deve constatar a presença do critério maior ou dois dos critérios menores apresentados na tabela 3 (MASI *et al.*, 1980; LEROY *et al.*, 1988; SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2013; VAN DE HOOGEN *et al.*, 2013).

Tabela 3 – Critérios de classificação do ACR para a esclerose sistêmica.

<b>CRITÉRIOS ACR (1980)</b>	
<b>Maior</b>	Espessamento cutâneo proximal às MCF
<b>Menores</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Esclerodactilia;</li> <li>• Microcicatrizes digitais ou perda de substância;</li> <li>• Fibrose pulmonar bibasal.</li> </ul>

Fonte: Elaborado pelo autor (2024). ACR – American College of Rheumatology; DPI – doença pulmonar intersticial; EULAR – European League Against Rheumatism; FRy – fenômeno de Raynaud; HAP – hipertensão arterial pulmonar; MCF – metacarpofalangeanas.

Para superar a falta de sensibilidade para ES precoce e ES cutânea limitada, a ACR/EULAR publicou uma nova classificação em 2013 incluindo critérios de diagnóstico mais precisos do que os critérios ACR de 1980, que manteve os critérios propostos em 1980 e adicionou casos adicionais à classificação ES. Com base nos critérios ACR/EULAR 2013, indivíduos com pontuação maior ou igual a 9 são classificados como pacientes com ES (Tabela 4). Além disso, os critérios incluídos em 2013 compreendem as três classes de manifestação clínica da doença: vasculopatia, presença de autoanticorpos específicos e fibrose de pele e órgãos internos (ALLANORE *et al.*, 2015; BELLANDO-RANDONE; MATUCCI-CERINIC, 2019; DENTON; KHANNA, 2017; VAN DE HOOGEN *et al.*, 2013).

Tabela 4 – Critérios de classificação do ACR/EULAR 2013 para a esclerose sistêmica.

<b>Item</b>	<b>Sub-item</b>	<b>Pontuação</b>
Espessamento da pele dos dedos de ambas as mãos estendendo-se às articulações metacarpofalangeanas proximais		9
Espessamento da pele dos dedos (contar apenas a pontuação mais alta)	Dedos inchados	2
	Esclerodactilia nos dedos	4
Lesões na ponta dos dedos (contar apenas a pontuação mais alta)	Úlceras digitais	2
	Microcicatrices de polpa digital	3
Telangiectasias		2
Capilares ungueais anormais		2
Hipertensão arterial pulmonar e/ou doença pulmonar intersticial (a pontuação máxima é 2)	Hipertensão arterial pulmonar	2
	Doença intersticial pulmonar	2
Fenômeno de Raynaud		3
Autoanticorpos relacionados à esclerose sistêmica (a pontuação máxima é 3*)	Anti-centrômero	3
	Anti-topoisomerase I (Anti-Scl-70)	
	Anti-RNA polimerase III	

Fonte: Adaptado de VAN DE HOOGEN, 2013. \*A presença de qualquer autoanticorpo equivale a 3 pontos, mas não pode ter mais de 3 pontos (muito raro ter dois autoanticorpos).

O diagnóstico muitas vezes pode ser atrasado por vários motivos, como encaminhamentos tardios para hospitais especializados e falta de testes diagnósticos padronizados, específicos e sensíveis (HUGHES; HERRICK, 2019; VOLKMANN; ANDRÉASSON; SMITH, 2023). Nas últimas duas décadas, esforços têm sido aplicados para o diagnóstico precoce. O diagnóstico precoce evita danos irreversíveis aos órgãos ao permitir abordagem terapêutica precoce, que melhora o prognóstico e a expectativa de vida (DENTON; KHANNA, 2017; HUGHES; HERRICK, 2019).

Devido à baixa sensibilidade dos critérios existentes, o desafio ainda presente é lidar com a falta de critérios específicos para a identificação da ES e biomarcadores que possam auxiliar no diagnóstico precoce da doença, uma vez que os critérios de classificação são constituídos de manifestações clínicas patologicamente estabelecidas.

### 2.1.5.1 Biomarcadores

Um marcador biológico (biomarcador) é uma medida objetiva que captura o que está acontecendo em um sistema em um momento específico. Esta característica é útil para trazer sinais de identificação de desordens na saúde de um indivíduo (ARONSON; FERNER, 2017; STRIMBU; TAVEL, 2010). Os biomarcadores podem ser baseados em medidas como pressão arterial, peso corporal, escore de Rodnan, enquanto outros a partir de fluidos corporais, os quais detectam alterações a nível celular e molecular. Quanto ao uso, os biomarcadores são úteis no diagnóstico, prognóstico, triagem, teste de eficiência de medicamentos, entre outras (ARONSON; FERNER, 2017). Para que um biomarcador seja clinicamente aceito são necessários estudos de acurácia que mostrem a relação do potencial biomarcador com a doença (ou a falta dela), e que apresente boa facilidade de mensurar e reprodutibilidade (ARONSON; FERNER, 2017; STRIMBU; TAVEL, 2010).

O campo de biomarcadores na ES é complexo devido à vasta quantidade de moléculas envolvidas no processo patológico (ARRON *et al.*, 2021; MURUGANANDAM *et al.*, 2023; PAWLIK *et al.*, 2020). Os biomarcadores e exames laboratoriais utilizados na ES são limitados e revelam uma necessidade da busca de biomarcadores mais específicos e sensíveis para diagnóstico e monitoramento do curso da doença (ARONSON; FERNER, 2017; KANG; HA; LEE, 2020; MURUGANANDAM *et al.*, 2023). Um exemplo de desafio atual neste campo é a necessidade de um biomarcador capaz de auxiliar no diagnóstico precoce da ES (BELLANDO-RANDONE; MATUCCI-CERINIC, 2019). A ES precoce é uma condição caracterizada por alterações vasculares, que devido à ausência de biomarcadores eficazes limita a intervenção terapêutica, embora esforços tenham sido empregados para reunir evidências e montar um modelo de avaliação de risco para aparecimento da doença (BELLANDO-RANDONE; MATUCCI-CERINIC, 2019; BELLOCCHI; CHUNG; VOLKMANN, 2022).

Até o momento, nenhum teste ou biomarcador único é capaz de diagnosticar indivíduos com ES (HUGHES; HERRICK, 2019). Estudos recentes revelam que há pelo menos 240 vias e moléculas implicadas na patogênese da ES, muitas delas sugeridas como biomarcadores. Este alto número de moléculas e vias reportadas é um reflexo da heterogeneidade e complexidade da fisiopatogênese da ES que inclui autoanticorpos, antígenos HLA e não-HLA, citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, receptores, glicoproteínas e outros tipos de proteínas (MURUGANANDAM *et al.*, 2023; UTSUNOMIYA; OYAMA; HASEGAWA, 2020).

Além dos autoanticorpos já utilizados como critérios para diagnóstico da ES (anti-centrômero, anti-topoisomerase I e anti-RNA polimerase III), a proteína C reativa (PCR), mediada pela ação da IL-6, está associada ao risco desenvolvimento de fibrose progressiva, HAP e mortalidade. Em pacientes com DPI, a IL-6 tem sido apontada como fator de mau prognóstico, também a glicoproteína-6 de Krebs von den Lungen (KL-6) e a quimiocina CXCL18 podem prever a gravidade e progressão deste acometimento (VOLKMANN; ANDRÉASSON; SMITH, 2023). Além disso, o peptídeo natriurético tipo B (BNP) e da porção N-terminal do peptídeo natriurético tipo B (NT-proBNP) foram considerados biomarcadores séricos relacionados à gravidade em pacientes com HAP (UTSUNOMIYA; OYAMA; HASEGAWA, 2020).

Diante da evidente a necessidade de novos biomarcadores que possam contribuir para este amplo espectro de complexidade envolvida na patogênese da ES, são necessários estudos neste campo vasto e complexo.

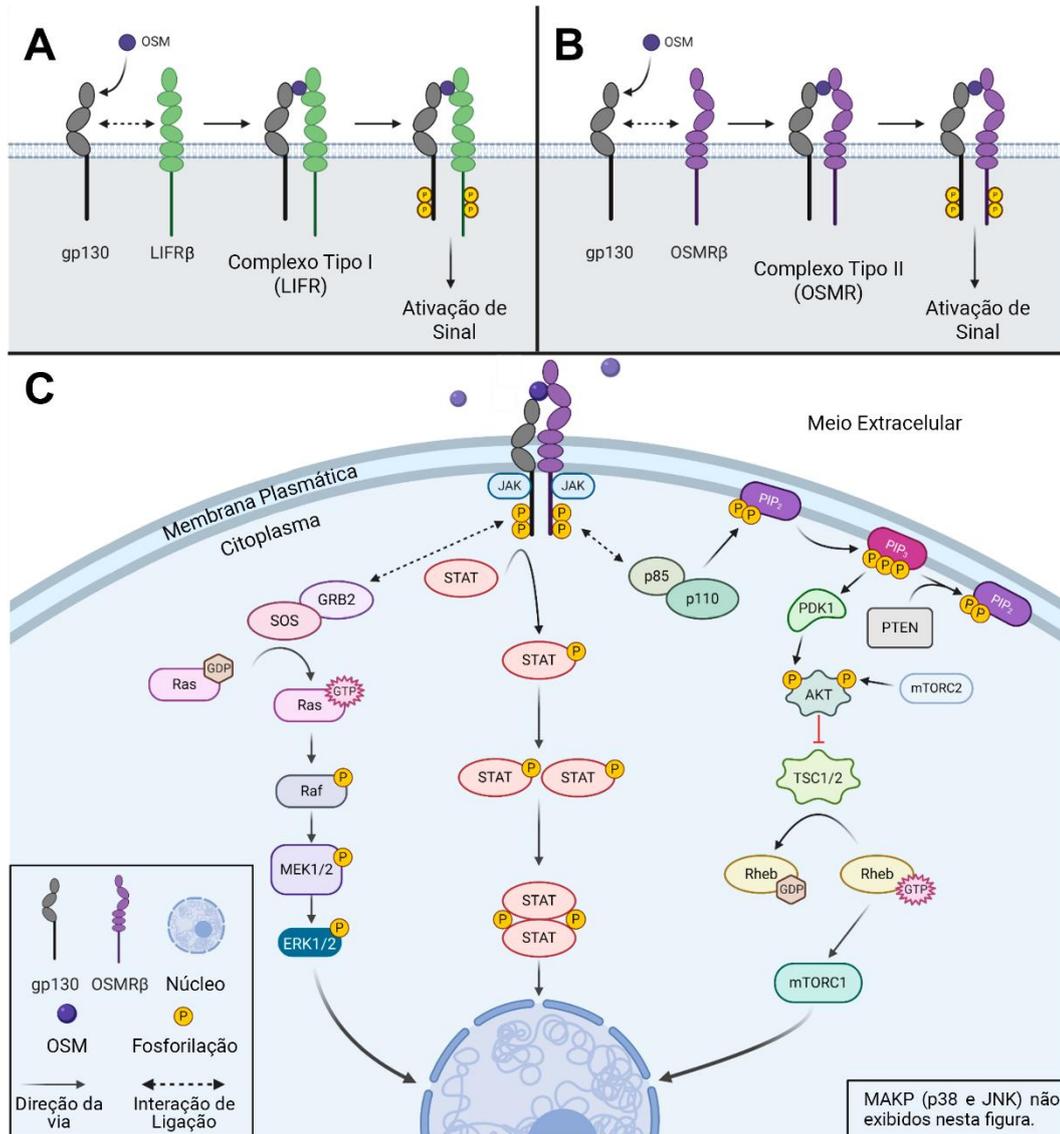
#### 2.1.5.2 Oncostatina M e seu receptor solúvel

A oncostatina M (OSM) é uma citocina pleiotrópica pertencente à família da IL-6 produzida por células de origem hematopoiéticas como monócitos, células T ativadas, células dendríticas, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos, bem como células não-hematopoiéticas (KAWAGUCHI, 2017; WEST *et al.*, 2018). A OSM é produzida em resposta a infecções e lesões teciduais e tem sido implicada em processos biológicos como diferenciação, hematopoiese, proliferação celular e sobrevivência celular, bem como em processos inflamatórios, modulação da MEC, em doenças fibróticas e câncer (MOZAFFARIAN *et al.*, 2008; WEST *et al.*, 2018; STAWSKI; TROJANOWSKA, 2019; VERSTOCKT *et al.*, 2019).

A via de sinalização da OSM se dá através da ligação a dois possíveis conjuntos de receptor: tipo I, no qual há coparticipação do receptor do fator inibidor de leucemia (*leukemia inhibitory factor* receptor, LIFR $\beta$ ) e da glicoproteína 130 (gp130) formando um complexo, ou o complexo de receptor tipo II onde há a participação receptor beta específico da oncostatina M (OSMR $\beta$ ) com a gp130 (CHEN *et al.*, 2008; STAWSKI; TROJANOWSKA, 2019). Particularmente, a via mais utilizada pelo OSM para sinalização nos processos patológicos se dá através do OSMR (WEST *et al.*, 2018). O tipo de resposta a ser produzida pela OSM variam de acordo com a sua concentração e o tipo de célula-alvo, as quais podem incluir a atuação

pelas cascatas de sinalização JAK/STAT, MAPK, PI3K/ART e PKC $\delta$ , como pode ser observado na figura 6 (STAWSKI; TROJANOWSKA, 2019; MARDEN *et al.*, 2020).

Figura 6 – Complexos de ligação e vias de sinalização da oncostatina M.



Fonte: Adaptado de WOLF *et al* (2023). A – Sinalização através do complexo tipo I; B – Sinalização através do complexo tipo II; C – Cascatas de sinalização intracelular após ligação da OSM ao seu receptor.

Em camundongos, a presença da OSM culminou no aumento de células inflamatórias e deposição de colágeno. Também, a OSM induziu fibrose em camundongos geneticamente modificados por uma via independente de o eixo IL-4/IL-13 e TGF- $\beta$ , de modo que a resposta fibrótica mostrou-se independente de linfócitos B e T, eosinófilos e mastócitos

(MOZAFFARIAN *et al.*, 2008). No contexto da ES, a OSM mostrou-se aumentada em soro de pacientes e no lavado broncoalveolar (MOZAFFARIAN *et al.*, 2008), contudo, um recente ensaio clínico randomizado de fase 2 não encontrou efeitos terapêuticos no bloqueio da OSM com GSK2330811, um anticorpo monoclonal IgG1 humanizado que impede a ligação da OSM ou seu receptor (DENTON *et al.*, 2022).

Além da OSM, a IL-31 utiliza a OSMR $\beta$  e participa de processos biológicos e patológicos em comum à OSM. Neste caso particular, a IL-31 liga-se somente ao OSMR $\beta$ , uma vez esta interleucina não possui afinidade com a gp130 (STAWSKI; TROJANOWSKA, 2019).

O OSMR pode ser encontrado ligado à membrana plasmática em células não-hematopoiéticas de diversos tecidos dentre eles, células epiteliais da pele, fibroblastos e células endoteliais, ou na sua forma solúvel (WEST *et al.*, 2018). Além do receptor tipo II OSMR $\beta$ , existe a forma curta OSMR (OSMRc) e forma solúvel do OSMR (OSMRs). O OSMRc é uma proteína truncada por *splicing* alternativo devido a um códon de parada que possui 1620 pares de base, equivalente a apenas 39% do OSMR $\beta$ . Por outro lado, o OSMRs é produto de um *splicing* incompleto na junção entre o éxon 8 e do íntron 8, em que a presença de um códon de parada produz esta proteína truncada maior que o OSMRc por 53 resíduos de aminoácidos (CHEN *et al.*, 2008). A forma como estes receptores interagem nos processos patológicos permanece pouco explorada até o momento. Entretanto, foi observado que a OSM pode promover a expressão de OSMR, e que o OSMRs atua como antagonista da OSM, podendo bloquear a sinalização da OSM através do complexo de receptor transmembrana, que também impede o funcionamento da gp130 complexada (ALMEIDA *et al.*, 2020; VERSTOCKT *et al.*, 2019).

Especialmente em doenças fibróticas como a ES, a OSM bem como seu receptor OSMR tem se mostrado importantes atores no processo fibrótico. Stifano *et al.* (2018) reportaram a expressão gênica de OSMR como fator prognóstico para o risco de progressão da lesão de pele e à alteração do escore de pele ao longo do tempo. Almeida *et al.* (2020) encontraram níveis séricos de OSMRs e gp130 elevados em pacientes com esclerose sistêmica e associação com úlceras digitais e disfunção esofageana.

### 2.1.6 Tratamento farmacológico

Até o presente momento a ES permanece como uma doença sem cura e o grande desafio atual é reverter ou estacionar de maneira eficaz a fibrose tecidual, que leva a altos índices de morbidade e mortalidade (ASANO *et al.* 2018; DENTON, 2017; ALLANORE *et al.*, 2015). Desse modo, apesar dos recentes avanços, a abordagem terapêutica utilizada na ES ainda consiste na combinação de fármacos que atinjam objetivos de suprimir os sintomas (BENFAREMO *et al.*, 2022; LEPRI *et al.*, 2022).

Agentes vasodilatadores, imunossupressores, antifibróticos, inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), e os bloqueadores do receptor da angiotensina II (BRA) são as classes atualmente mais utilizadas (BENFAREMO *et al.*, 2022; LEPRI *et al.*, 2022; SAMPAIO-BARROS *et al.*, 2013).

Além das classes citadas acima, outros medicamentos são utilizados no manejo terapêutico de comorbidades apresentadas pelos pacientes com ES. São o caso dos inibidores de bomba de prótons, inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueadores do receptor da angiotensina II (BRA), entre outros.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar a acurácia da oncostatina M (OSM) e do receptor solúvel da oncostatina M (OSMRs), e suas possíveis associações com a esclerose sistêmica (ES) em contraste com a artrite reumatoide (AR) e lúpus eritematoso sistêmico (LES).

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar os níveis séricos da OSM em pacientes com esclerose sistêmica e controles saudáveis;
- Avaliar os níveis séricos do OSMRs em pacientes com esclerose sistêmica, controles saudáveis, AR e LES;
- Avaliar as possíveis associações e correlações do OSMRs com parâmetros clínicos, demográficos e laboratoriais de pacientes com ES;
- Analisar acurácia do OSMRs em pacientes com esclerose sistêmica, controles saudáveis, AR e LES;
- Analisar acurácia do OSMRs com parâmetros clínicos, demográficos e laboratoriais de pacientes com ES.

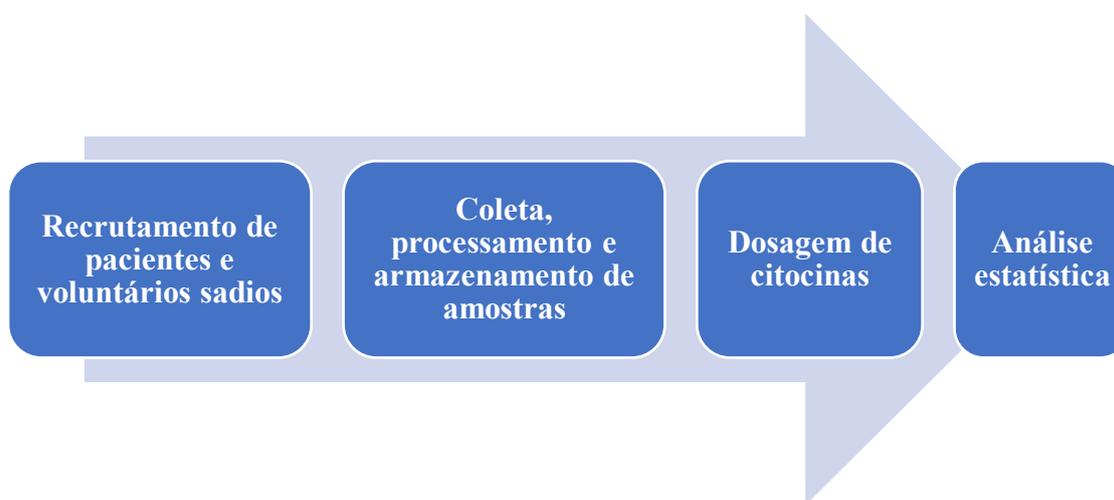
## 4 METODOLOGIA

### 4.1 DESENHO EXPERIMENTAL E POPULAÇÃO DO ESTUDO

O presente trabalho trata-se de um estudo transversal com 105 pacientes diagnosticados com esclerose sistêmica (ES) (Apêndices A e B), 50 diagnosticados com artrite reumatoide (AR) e 64 com lúpus eritematoso sistêmico (LES), acompanhados regularmente no ambulatório de reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) e recrutados por amostragem de conveniência no período de 2018 a 2024.

Foram incluídos pacientes diagnosticados com AR e LES compondo um grupo à parte para análise comparativa com o grupo de pacientes com ES, uma vez que são doenças reumatológicas autoimunes e inflamatórias. O grupo de controle sadio foi composto de 130 voluntários pareados por sexo e idade, residentes no estado de Pernambuco e selecionados aleatoriamente nas dependências do HCPE, desde que atendessem os critérios de inclusão e exclusão. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos (CCS/UFPE) (Apêndices C e D; Anexo A). O projeto seguiu de acordo com as etapas apresentadas no fluxograma 1.

Fluxograma 1 – Desenho experimental do estudo.



Fonte: O autor (2024).

#### 4.1.1 Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes

**Inclusão:** Ter idade igual ou superior a 18 anos; possuir diagnóstico médico e classificação como portador de ES de acordo com os critérios preliminares do *American College of Rheumatology* (MASI, 1980) ou os critérios do *American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism* (ACR/EULAR) 2013 (VAN DE HOOGEN *et al.*, 2013); portadores de artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico classificados pelos critérios do *American College of Rheumatology* para cada respectiva doença (ARNETT *et al.*, 1988; HOCHBERG, 1997; ALETAHA *et al.*, 2010); estar em acompanhamento médico regular no ambulatório de reumatologia do HC-UFPE.

**Exclusão:** Possuir sobreposição de doenças reumatológicas; impossibilidade de coleta de sangue periférico devido ao comprometimento fibrótico; gravidez; câncer; infecção ativa.

#### 4.1.2 Critérios de inclusão e exclusão dos voluntários sadios

**Inclusão:** Ter idade igual ou superior a 18 anos; não possuir diagnóstico conhecido de doença autoimune reumatológica ou imunodeficiência.

**Exclusão:** Indivíduos com diagnóstico doença reumatológica ou com sintomas reumatológicos; estar em uso de medicamentos imunossupressor e/ou anti-inflamatório; gravidez; câncer; infecção ativa.

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes com ES e controles sadios recrutados para o estudo estão sumarizados na tabela 5.

Tabela 5 – Caracterização demográfica, clínica e laboratorial dos pacientes com esclerose sistêmica e o grupo controle.

<b>Características</b>	<b>ES (n=105)</b>	<b>Controles (n=130)</b>
<b>Idade (anos)</b>		
Média ± SD	47,90 ± 12,69	48,16 ± 14,12*
<b>Sexo (%)</b>		
Feminino	96 (91,43)	118 (90,77)*
<b>Duração da doença (meses) #</b>		
Mediana (IQR)	108 (60 - 216)	
<b>Subtipos clínicos (%)</b>		
Cutâneo difusa	54 (51,43)	
Cutâneo limitada	51 (48,57)	
<b>Manifestações clínicas (%)</b>		
Fenômeno de Raynaud	103 (98,09)	
Disfunção esofágica	91 (88,35)	
DPI	75 (71,43)	
Telangiectasias	61 (59,22)	
Úlceras digitais	45 (48,86)	
Artrite	19 (18,09)	
Miopatia	18 (17,14)	
HAP	17 (16,19)	
Calcinose	12 (11,65)	
Crise renal	2 (1,90)	
<b>Escore de Rodnan mediana (IQR)</b>	16 (10 - 26)	
<b>Autoanticorpos (%)</b>		
ANA positivo	80/86 (93,02)	
Anti-Scl-70 positivo	23/56 (40,07)	
Anticentrômero positivo	4/41 (9,76)	
<b>Tratamento (%)</b>		
BCC	55 (52,38)	
Imunossupressor	62 (59,05)	
Azatioprina	29 (27,62)	
Metotrexato	17 (16,19)	
Micofenolato mofetila	9 (8,57)	
Ciclofosfamida	4 (3,81)	
Rituximab	3 (2,86)	
BRA ou IECA	43 (41,35)	
Glicocorticoides	41 (39,05)	
Sildenafil	16 (15,24)	
Bosentana	7 (6,67)	

Fonte: O autor (2024). IQR – Interquartil range; HAQ – Health Assessment Questionnaire; SHAQ – Scleroderma Health Assessment Questionnaire; ANA – Anticorpo anti núcleo; BCC – Bloqueador de canal de cálcio; BRA – bloqueador do receptor de angiotensina; IEAC – inibidor da enzima conversora de angiotensina.

\*Amostra de controles pareados por sexo e idade. #Tempo de doença em meses até o dia da coleta de sangue periférico.

## 4.2 COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO

Em cada indivíduo participante da pesquisa foram coletados 9mL de sangue periférico para experimentação. Após as coletas, o material biológico foi devidamente acondicionado e encaminhado ao laboratório de pesquisa. Em seguida, nas dependências do laboratório, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para separação completa do soro, aliquotadas em microtubos de 1,5mL e armazenadas em freezer -80°C. Todas as coletas foram realizadas por profissionais capacitados após o consentimento do paciente por escrito. As amostras de cada paciente receberam um código para garantir a confidencialidade dos dados.

## 4.3 DOSAGEM DA ONCOSTATINA M E DO RECEPTOR SOLÚVEL DA ONCOSTATINA M

As amostras de soro foram submetidas à quantificação da OSM (Cat: DY295; R&D™) e do OSMRs (Cat: 88-50330-88; Lot:174355004; eBioscience/Invitrogen™) através do ensaio de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) sanduíche seguindo as recomendações do fabricante.

O ensaio para quantificação da OSM foi iniciado com a adição de 100µL do anticorpo de captura por poço da placa de ELISA com incubação noturna (*over night*) à temperatura ambiente. Na manhã do dia seguinte, iniciou-se com três lavagens com o tampão de lavagem (PBS 1X com Tween-20 a 0,05%) seguida da saturação da placa com 300µL do diluente de ensaio (*assay diluent* - BSA1% PBS1X) por 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, a placa foi submetida a três lavagens com tampão de lavagem para receber 100µL do padrão, branco (controle negativo) e amostras por poço correspondente e incubada por 2 horas em temperatura ambiente. Na sequência, a placa foi novamente submetida à três lavagem com o tampão de lavagem e recebeu 100µL por poço do anticorpo de detecção e incubada por 2 horas em temperatura ambiente. Após o período de incubação, a placa foi novamente submetida à três lavagens com o tampão de lavagem, e cada poço recebeu 100µL da enzima streptavidina-HRP diluída em BSA1% PBS1X, incubada por 20 minutos à temperatura ambiente em local protegido da luz. Após esta etapa, a placa foi lavada com o tampão de lavagem por três vezes para a adição do substrato. 100µL do substrato TMB (Tetramethylbenzide 1X) foram adicionados por poço seguido com um período de espera de 20 minutos para a reação

enzimática colorimétrica. A reação enzimática foi parada com 50µL da solução de parada (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

A quantificação do OSMRs iniciou com a adição de 100µL do anticorpo de captura por poço e incubação *over night* à 4°C. Na manhã seguinte, a placa foi submetida a duas lavagens com o tampão de lavagem seguida da saturação da placa com 250µL do diluente de ensaio (*assay diluent*) por 2 horas à temperatura ambiente. Logo após, a placa foi submetida a duas lavagens com tampão de lavagem para receber 100µL do padrão, branco e amostras. Juntamente com a adição destes, foi adicionado 50µL do anticorpo de detecção seguido de incubação por 2 horas à temperatura ambiente em agitador a 400 rotações por minuto (rpm). Ao final deste período de incubação a placa foi submetida a cinco lavagens com o tampão de lavagem e, em seguida, recebeu 100µL em cada poço da enzima streptavidina-HRP com incubação por 1 hora à temperatura ambiente em agitador a 400 rpm. Em seguida, foram adicionados 100µL do substrato TMB por poço e em 20 minutos a reação foi parada com 100µl da solução de parada (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Para ambos os ensaios (OSM e OSMRs) as lavagens da placa foram feitas manualmente com o preenchimento dos poços utilizando uma pisseta, e subsequente retirada do tampão de lavagem invertendo a placa. A leitura da absorbância foi realizada na leitora de placas BioTek® no filtro de 450nm, com o auxílio do software Gen5® (Fisher Scientific™). A análise dos resultados obtidos foi feita com o Excel® (Microsoft Office 365™) no qual foi calculada a equação da reta e as concentrações de cada poço. Os limites de detecção dos kits de ELISA utilizados estão sumarizados na tabela 6.

Tabela 6 – Limites de detecção dos kits comerciais de ELISA utilizados no estudo.

<b>Kit, Fabricante</b>	<b>Limite de detecção inferior</b>	<b>Limite de detecção superior</b>
OSM, R&D™	15,65 pg/ml	2.000 pg/ml
OSMRs, Invitrogen™	156,25 pg/ml	20.000 pg/ml

Fonte: O autor (2024). OSM – oncostatina M; OSMRs – receptor solúvel da oncostatina M.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise das variáveis contínuas iniciou com o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade dos dados. Em seguida, os dados foram analisados através dos testes paramétricos *t Student* e ANOVA, bem como os não-paramétricos Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, com comparação múltipla através do pós-teste de Dunn. A análise da acurácia foi realizada através do cálculo da curva ROC (do inglês, *Receiver Operating Characteristic*) e da área sob a curva (AUC; do inglês, *Area Under the Curve*). Os valores de corte para determinar o ponto de sensibilidade e especificidade foram obtidos através do Youden Index (FLORKOWSKI, 2008; HAJIAN-TILAKI, 2013; MANDREKAR, 2010). Valores de AUC entre 0,7 e 0,8 foram considerados aceitáveis; entre 0,8 e 0,9, bons; e, acima de 0,9 excelentes (HOND, DE; STEYERBERG; CALSTER, VAN, 2022; MANDREKAR, 2010).

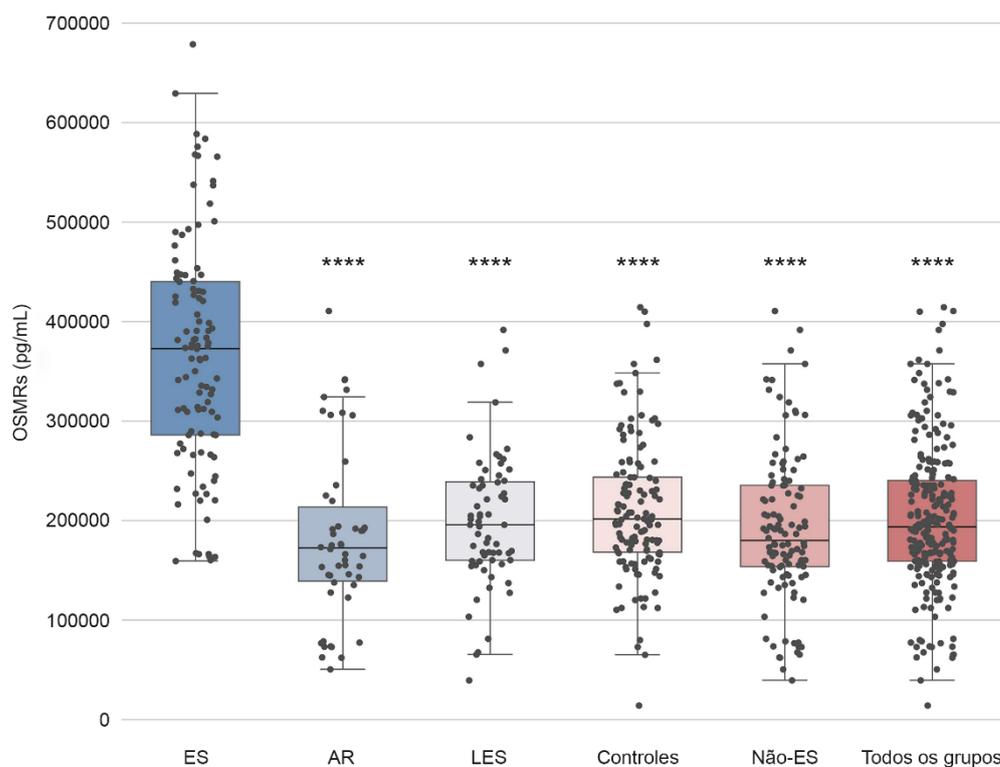
Os testes estatísticos foram realizados com o auxílio dos softwares GraphPad Prism® (versão 6.0; Califórnia, EUA), MedCalc® (versão 22.009; MedCalc Software Ltd, Ostende, Bélgica) e SPSS Statistics (versão 25, IBM®) e os resultados obtidos foram considerados estatisticamente significantes quando  $p < 0,05$ , para um intervalo de confiança de 95%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 NÍVEIS SÉRICOS DA ONCOSTATINA M E DO RECEPTOR SOLÚVEL DA ONCOSTATINA M

Os níveis da OSM não foram detectáveis em soro de pacientes e controles sadios pela metodologia utilizada, visto que ficaram abaixo do limite de detecção do teste. Por outro lado, os níveis do OSMRs estavam elevados em pacientes com ES [372.750,00 (IQR 286.083,30 – 440.238,10) pg/mL;  $p < 0,0001$ ] comparado ao grupo de controle sadio [(201.666,70 [IQR 168.526,70 – 243.811,70] pg/mL], AR [172.542,85 (IQR 139.364,27 – 213.658,02) pg/mL] e LES [195.971,45 (IQR 160.219,80 – 238.956,27) pg/mL] (Figura 7).

Figura 7 – Níveis séricos do receptor solúvel da oncostatina M em pacientes com esclerose sistêmica, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e controles sadios.



Fonte: O autor, 2024. ES – Esclerose sistêmica; AR – Artrite reumatoide; LES – Lúpus eritematoso sistêmico; Não-ES inclui os grupos AR e LES; O subconjunto “Todos os grupos” se refere ao grupo formado por AR, LES e controles; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Na sequência, nós avaliamos a diferença dos níveis do OSMRs nos subtipos clínicos, características, e manifestações clínicas da ES. Uma diferença foi encontrada para pacientes com úlceras digitais ( $392.247,00 \pm 117.681,00$  pg/mL;  $p = 0,0456$ ) comparados com aqueles que não apresentam. Além disso, nenhuma associação foi encontrada entre os subtipos EScl e ESdc, sexo, e demais manifestações clínicas (Tabela 7).

Tabela 7 – Diferença dos níveis séricos de OSMRs nas manifestações clínicas e características de pacientes com esclerose sistêmica.

Características	Categoria	Nº de indivíduos (%)	Média ± DP (pg/mL)	P-valor
Subtipo clínico	EScl	51 (48,57)	385.277,00 ± 108.144,00	0,1043
	ESdc	54 (51,43)	348.887,00 ± 118.368,00	
Sexo	M	9 (8,57)	304.482,00 ± 94.147,00	0,0909
	F	96 (89,29)	372.316,00 ± 114.872,00	
Fenômeno de Raynaud	+	103 (98,09)	368.242,00 ± 114.799,00	0,2741
	-	2 (1,91)	278.500,00 ± 43.841,00	
Calcinose	+	12 (11,65)	384.249,00 ± 143.587,00	0,5908
	-	91 (88,35)	365.065,00 ± 111.986,00	
Telangiectasias	+	61 (59,22)	374.515,00 ± 119.804,00	0,4471
	-	42 (40,78)	356.821,00 ± 109.231,00	
Úlceras digitais	+	45 (42,86)	392.247,00 ± 117.681,00	<b>0,0456</b>
	-	60 (57,14)	347.247,00 ± 108.965,00	
DPI	+	75 (71,43)	376.482,00 ± 108.264,00	0,1600
	-	30 (28,57)	341.661,00 ± 127.119,00	
HAP	+	17 (16,19)	415.087,00 ± 111.936,00	0,0556
	-	88 (83,81)	357.153,00 ± 113.140,00	
Disfunção esofageana	+	91 (88,35)	357.964,00 ± 106.523,00	0,0825
	-	12 (11,65)	419.323,00 ± 162.227,00	
Miopatia	+	18 (17,14)	342.735,00 ± 122.897,00	0,3348
	-	87 (82,86)	371.456,00 ± 112.730,00	
Artrite	+	19 (18,09)	341.065,00 ± 88.079,00	0,2859
	-	86 (81,91)	372.159,00 ± 119.177,00	
Crise renal	+	2 (1,91)	389.881,00 ± 76.267,00	0,7724
	-	103 (98,09)	366.079,00 ± 115.259,00	

Fonte: O autor (2024). EScl – esclerose sistêmica cutâneo limitada; ESdc – esclerose sistêmica cutâneo difusa; M – masculino; F – feminino; DPI – doença pulmonar intersticial; HAP – hipertensão arterial pulmonar; DP – desvio padrão; + positivo para a manifestação clínica; - negativo para a manifestação clínica.

A análise de correlação dos níveis séricos do OSMRs revelou uma correlação positiva fraca com idade ( $r = 0,2668$ ,  $p = 0,0059$ ) e duração da doença ( $r = 0,2393$ ,  $p = 0,0182$ ) (Tabela 8).

Tabela 8 – Correlações entre níveis de OSMRs e características clínicas e laboratoriais em pacientes com esclerose sistêmica.

<b>Parâmetro</b>	<b>Coefficiente de correlação (CI 95%)</b>	<b>P-valor</b>
Idade	0,2668 (0,0734 – 0,4408) <sup>a</sup>	<b>0,0059</b>
Duração da doença	0,2393 (0,0418 – 0,4188) <sup>b</sup>	<b>0,0182</b>
Escore de Rodnan	-0,0969 (-0,2904 – 0,1043) <sup>a</sup>	0,3302

Fonte: O autor (2024). <sup>a</sup>Correlação de Spearman; <sup>b</sup>Correlação de Pearson; IC, intervalo de confiança.

Concernente ao tratamento, foram encontrados níveis séricos elevados em pacientes que faziam uso de azatioprina ( $406.609,00 \pm 111.009,00$  pg/mL;  $p = 0,0259$ ), e níveis séricos mais baixos em pacientes que faziam uso do metotrexato ( $296.035,00 \pm 101.208,00$  pg/mL;  $p = 0,0050$ ) (Tabela 9).

Tabela 9 – Diferença dos níveis séricos de OSMRs no tratamento de pacientes com esclerose sistêmica.

Tratamento	Categoria	Nº de indivíduos (%)	Média ± DP (pg/mL)	P-valor
BCC	+	55 (52,38%)	371.250,00 ± 119.430,00	0,6599
	-	50 (47,62%)	361.344,00 ± 109.652,00	
BRA	+	24 (23,08%)	281.245,00 ± 112.567,00	0,4115
	-	80 (76,92%)	359.501,00 ± 113.489,00	
IECA	+	9 (8,65%)	367.825,00 ± 100.943,00	0,9274
	-	95 (91,35%)	364.206,00 ± 114.671,00	
Sildenafil	+	16 (15,24%)	397.867,00 ± 82.456,00	0,2360
	-	89 (84,76%)	360.900,00 ± 118.774,00	
Bosentana	+	7 (6,67%)	342.846,00 ± 102.542,00	0,5733
	-	98 (93,33%)	368.225,00 ± 115.529,00	
Glicocorticóide	+	41 (39,05%)	375.642,00 ± 119.049,00	0,5165
	-	64 (60,95%)	360.697,00 ± 111.943,00	
Imunossupressor	+	62 (59,05%)	363.062,00 ± 114.312,00	0,7110
	-	43 (40,95%)	371.536,00 ± 115.781,00	
Azatriopina	+	29 (27,62%)	406.609,00 ± 111.009,00	<b>0,0259</b>
	-	76 (73,38%)	351.240,00 ± 112.698,00	
Metotrexato	+	17 (16,19%)	296.035,00 ± 101.208,00	<b>0,0050</b>
	-	88 (83,81%)	380.152,00 ± 112.304,00	
Micofenolato mofetil	+	9 (8,57%)	320.029,00 ± 44.708,00	0,2038
	-	96 (91,43%)	370.892,00 ± 118.085,00	
Ciclofosfamida	+	4 (3,81%)	370.298,00 ± 151.337,00	0,9469
	-	101 (96,19%)	366.384,00 ± 113.718,00	
Rituximab	+	3 (2,86%)	408.766,00 ± 115.777,00	0,5192
	-	102 (97,14%)	365.291,00 ± 114.738,00	

Fonte: O autor (2024). BCC – bloqueador de canal de cálcio; BRA – bloqueador do receptor da angiotensina; IECA – inibidor da enzima conversora de angiotensina; DP – desvio padrão; +positivo para o tratamento; - negativo para o tratamento.

## 5.2 ANÁLISE DE ACURÁCIA DO RECEPTOR SOLÚVEL DA ONCOSTATINA M

A capacidade do OSMRs em distinguir pacientes com ES de pacientes com outras doenças reumatológicas autoimunes (AR e LES) e de controles saudáveis foi avaliada (Tabela 10). A análise da acurácia do OSMRs em ES em comparação com o grupo controle sadio apresentou AUC de 0,876 (IC 95% 0,827 – 0,916;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 82,86% e especificidade de 81,54%. Ao compararmos ES com outras doenças reumatológicas, encontramos AUC de 0,901 (IC 95% 0,842 – 0,943;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 89,52% e especificidade de 78,00% para AR; e 0,897 (IC 95% 0,841 – 0,938;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 81,90% e especificidade de 89,06% para LES. Considerando em conjunto as doenças não-ES, foi encontrada uma AUC de 0,898 (IC 95% 0,851 - 0,935;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 82,86% e especificidade de 85,09%. Em seguida, avaliamos ES frente a todos os grupos, que inclui AR, LES e controles saudáveis, e encontramos uma AUC de 0,887 (IC 95% 0,849 - 0,918;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 82,86% e especificidade de 83,20% (Tabela 10).

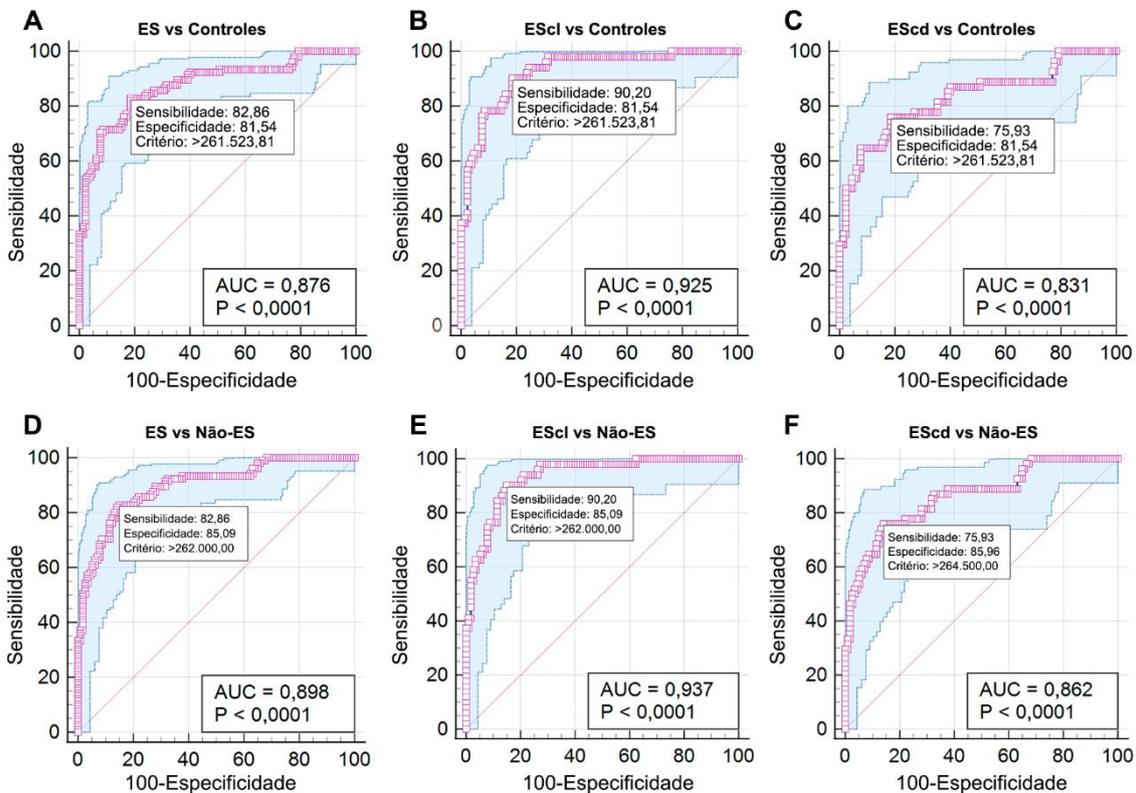
Tabela 10 – Acurácia do OSMRs na distinção de pacientes com esclerose sistêmica, de artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e controles saudáveis.

Grupo (nº de indivíduos testados)	AUC (erro padrão [IC 95%])	Valores de corte (pg/mL)	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	Razão de Verossimilhança Positiva	P-valor
AR (50)	0,901 (0,0255 [0,842 – 0,943])	225.437,50	89,52 (82,0 – 94,7)	78,00 (64,0 – 88,5)	4,07	<0,0001
LES (64)	0,897 (0,0241 [0,841 – 0,938])	264.500,00	81,90 (73,2 – 88,7)	89,06 (78,8 – 95,5)	7,49	<0,0001
Não-ES (114)	0,898 (0,0208 [0,851 – 0,935])	262.000,00	82,86 (74,3 – 89,5)	85,09 (77,2 – 91,1)	5,56	<0,0001
Controles (130)	0,876 (0,0235 [0,827 – 0,916])	261.523,81	82,86 (74,3 – 89,5)	81,54 (73,8 – 87,8)	4,49	<0,0001
Todos os grupos (244)	0,887 (0,0204 [0,849 – 0,918])	262.000,00	82,86 (74,3 – 89,5)	83,20 (77,9 – 87,7)	4,93	<0,0001

Fonte: O autor (2024). AR – artrite reumatoide; LES – lúpus eritematoso sistêmico; Não-ES – não-esclerose sistêmica inclui pacientes com AR e LES; O subconjunto "Todos os grupos" inclui indivíduos com AR, LES e controles; AUC – área sob a curva; IC – intervalo de confiança. Todas as comparações foram feitas com o grupo de esclerose sistêmica (ES). O valor de P indica a diferença entre o grupo ES e cada um dos demais grupos.

Avaliamos o desempenho do sOSMR na distinção de subtipos clínicos de ES, controles saudáveis, e pacientes não-ES (Figura 8). A comparação com EScl e controles saudáveis revelou uma AUC de 0,925 (IC 95% 0,876 - 0,959;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 90,20% e especificidade de 81,54% (Figura 8B). Para pacientes não-ES, foi observada AUC de 0,937 (IC 95% 0,888 - 0,969;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 90,20% e especificidade de 85,09% (Figura 8C). Ao comparar a ESdc com controles saudáveis encontramos uma AUC de 0,831 (IC 95% 0,768 - 0,882;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 75,93% e especificidade de 81,54% (Figura 8E); e com não-ES uma AUC de 0,862 (IC 95% 0,801 - 0,910;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 75,93% e especificidade de 85,96% foi encontrada (Figura 8F).

Figura 8 – Acurácia do OSMRs no soro de pacientes com esclerose sistêmica cutânea limitada e difusa, distinguindo-se de pacientes não-ES e controles saudáveis.

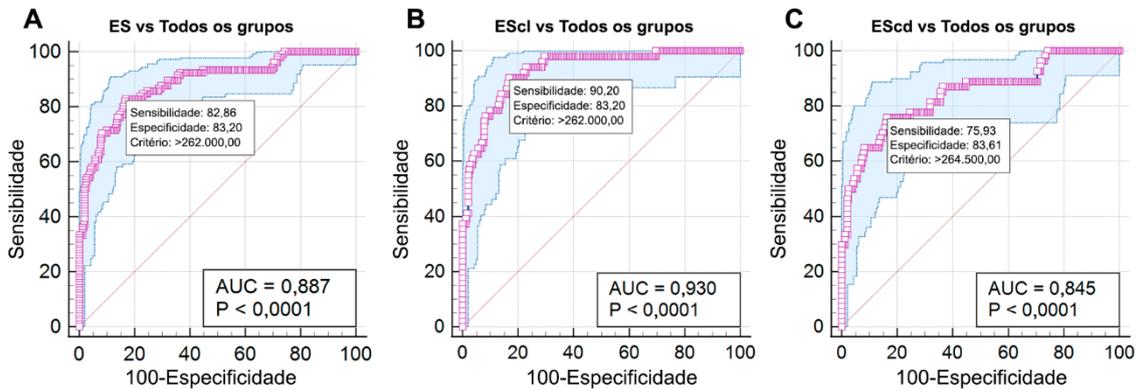


Fonte: O autor (2024). ES – esclerose sistêmica; EScl – esclerose sistêmica cutâneo limitada; ESdc – esclerose sistêmica cutâneo difusa; Não-ES – não-esclerose sistêmica inclui pacientes com artrite reumatóide (AR) e lúpus eritematoso sistêmico (LES); AUC – área sob a curva.

Em seguida, comparamos a EScl com o grupo geral (AR, LES e controles) e encontramos uma AUC de 0,930 (IC 95% 0,895 - 0,957;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de

90,20% e especificidade de 83,20%. Para EScd, foi encontrada uma AUC de 0,845 (IC 95% 0,799 - 0,885;  $p < 0,0001$ ), com sensibilidade de 75,93% e especificidade de 83,61% para o grupo geral (AR, LES e controles) (Figura 9).

Figura 9 – Acurácia do OSMRs no soro de pacientes com esclerose sistêmica cutânea limitada e difusa, distinguindo-se do subconjunto com todos os grupos.



Fonte: O autor (2024). ES – esclerose sistêmica; EScl – esclerose sistêmica cutâneo limitada; EScd – esclerose sistêmica cutâneo difusa; O subconjunto “Todos os grupos” inclui pacientes com artrite reumatóide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES) e controles saudios; AUC – área sob a curva.

Além disso, avaliamos a acurácia do OSMRs nas manifestações e características clínicas da ES. Dentre elas, somente uma diferença estatística foi encontrada para HAP com AUC de 0,648 [(0,549 - 0,739) IC 95%;  $p = 0,0359$ ], sensibilidade de 94,12% e especificidade de 40,91% (Tabela 11).

Tabela 11 – Avaliação do receptor solúvel da oncostatina M com manifestações clínicas e características clínicas de pacientes com esclerose sistêmica.

Dado clínico	Grupo positivo vs. negativo	AUC (erro padrão [IC 95%])	Valore de corte (pg/mL)	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	Razão Likelihood Positiva	P-valor
Forma clínica (ESlc vs EScd)	51 (48,57%) 54 (51,43%)	0,590 [0,0577 (0,489 - 0,685)]	227.380,95	98,04 (89,6 - 100,0)	22,22 (12,0 - 35,6)	1,26	0,1077
Sexo (F/M)	96 (91,43%) 9 (8,57%)	0,666 [0,0845 (0,567 - 0,755)]	407.380,95	36,46 (26,9 - 46,9)	100,00 (66,4 - 100,0)	-	0,0493
FRy	103 (98,10%) 2 (1,90%)	0,769 [0,0755 (0,677 - 0,846)]	309.500,00	69,90 (60,1 - 78,5)	100,00 (15,8 - 100,0)	-	0,0004
Calcinose	12 (11,65%) 91 (88,35%)	0,538 [0,107 (0,437 - 0,636)]	497.380,95	33,33 (9,9 - 65,1)	75,82 (65,7 - 84,2)	1,38	0,7259
Telangiectasia	61 (59,22%) 42 (40,78%)	0,544 [0,0577 (0,442 - 0,642)]	390.238,09	45,90 (33,1 - 59,2)	69,05 (52,9 - 82,4)	1,48	0,4511
Úlceras digitais	45 (42,86%) 60 (57,14%)	0,603 [0,0572 (0,503 - 0,697)]	407.380,95	46,67 (31,7 - 62,1)	76,67 (64,0 - 86,6)	2,00	0,0715
DPI	75 (71,43%) 30 (28,57%)	0,590 [0,0644 (0,490 - 0,685)]	234.416,67	92,00 (83,4 - 97,0)	30,00 (14,7 - 49,4)	1,31	0,1631
HAP	17 (16,19%) 88 (83,81%)	0,648 [0,0707 (0,549 - 0,739)]	313.000,00	94,12 (71,3 - 99,9)	40,91 (30,5 - 51,9)	1,59	0,0359
Acometimento esofageano	91 (88,35%) 12 (11,65%)	0,595 [0,106 (0,494 - 0,691)]	565.952,38	96,70 (90,7 - 99,3)	33,33 (9,9 - 65,1)	1,45	0,3703
Miopatia	18 (17,14%) 87 (82,86%)	0,578 [0,0724 (0,477 - 0,673)]	390.238,09	83,33 (58,6 - 96,4)	43,68 (33,1 - 54,7)	1,48	0,4044

Artrite	19 (18,10%)	0,573	446.916,66	94,74	25,58	1,27	0,2713
	86 (81,90%)	[0,0665 (0,473 - 0,669)]		(74,0 - 99,9)	(16,8 - 36,1)		
Crise renal	2 (1,90%)	0,592	334.500,00	100,00	41,75	1,72	0,6064
	103 (98,10%)	[0,179 (0,492 - 0,687)]		(15,8 - 100,0)	(32,1 - 51,9)		

Fonte: O autor (2024). EScl – esclerose sistêmica cutâneo limitada; EScd – esclerose sistêmica cutâneo difusa; FRy – fenômeno de Raynaud; DPI – doença pulmonar intersticial; HAP – hipertensão arterial pulmonar; AUC – Área sob a curva; IC – Intervalo de confiança.

## 6 DISCUSSÃO

Nossos achados revelam que os níveis séricos do OSMRs estão significativamente maiores em pacientes com ES do que em todos os outros grupos (AR, LES e controles saudáveis) e demonstram boa acurácia conferida após a análise da curva ROC. Este estudo é pioneiro em avaliar a acurácia do OSMRs no soro como um potencial biomarcador para o diagnóstico de ES, distinguindo-o de outras doenças autoimunes. A OSM não foi detectada no soro de pacientes e controles sadios. Poucos estudos reportaram a detecção de níveis séricos da OSM em pacientes com ES (FEENEY *et al.*, 2015; HASEGAWA *et al.*, 1998) A OSM também não foi detectada em soro de pacientes com AR, e em LES apenas 9,4% dos soros de paciente puderam ter níveis detectáveis por ELISA (LE GOFF *et al.*, 2014; ROBAK *et al.*, 1997). Não há registros de dosagens séricas da OSM em pacientes com ES no Brasil. Este fato pode estar atrelado à heterogeneidade da ES, que apresenta variação de característica em populações geograficamente distintas devido a fatores intrínsecos como estilo de vida, clima e herança genética (RANQUE; MOUTHON, 2010).

A identificação precoce da ES é um desafio devido à heterogeneidade da doença e à semelhança de alguns sintomas comuns a outras doenças reumatológicas. O diagnóstico clínico da ES pode ser atrasado devido a encaminhamentos tardios para centros e hospitais especializados, e à falta de testes diagnósticos padronizados, específicos e sensíveis (HUGHES; HERRICK, 2019; VOLKMANN; ANDRÉASSON; SMITH, 2023). Nas últimas duas décadas, os esforços concentraram-se no diagnóstico precoce para prevenir danos irreversíveis aos órgãos e permitir intervenções terapêuticas precoces, melhorando assim o prognóstico e a esperança de vida (DENTON; KHANNA, 2017; HUGHES; HERRICK, 2019). Os biomarcadores são uma ferramenta útil para diagnóstico, prognóstico e predição (ARONSON, 2005; ARONSON; FERNER, 2017). Os autoanticorpos são biomarcadores imunológicos intrínsecos amplamente utilizados na ES (ARONSON, 2005; MURUGANANDAM *et al.*, 2023). Aproximadamente 95% dos pacientes com ES apresentam anticorpos antinucleares (ANA) que são úteis para diagnóstico, classificação e prognóstico (MURUGANANDAM *et al.*, 2023; VOLKMANN; ANDRÉASSON; SMITH, 2023). Além disso, vários outros tipos de biomarcadores estão sob investigação no contexto da ES (ARRON, 2021; GRASSHOFF *et al.*, 2022; MURUGANANDAM *et al.*, 2023; SKAUG; ASSASSI, 2019). Como o diagnóstico precoce da ES ainda é um desafio devido à falta de sintomas típicos, os biomarcadores são

essenciais para ajudar os médicos a diagnosticarem e antecipar o tratamento para prevenir maiores danos (PAWLIK *et al.*, 2020).

Vários estudos demonstraram a relevância da família e dos receptores da IL-6 na patogênese da ES (DANTAS *et al.*, 2018; KAWAGUCHI, 2017; WOLF *et al.*, 2023). A OSM participa da ativação de fibroblastos, de vários estágios do processo fibrótico e da disfunção vascular (DEMARCO *et al.*, 2023; KAWAGUCHI, 2017; MARDEN *et al.*, 2020; STAWSKI; TROJANOWSKA, 2019; WEST; OWENS; HEGAZY, 2018). Em humanos, o resultado da resposta depende da concentração de OSM, da interação com o tipo de complexos receptores, do tipo de célula que receberá o sinal e das citocinas envolvidas na sinalização subsequente (LANTIERI; BACHETTI, 2022; STAWSKI; TROJANOWSKA, M., 2019). A OSM desempenha um papel fundamental na inflamação e no dano tecidual. Almeida *et al.* (2020) relataram níveis indetectáveis de OSM em soros de pacientes brasileiros com ES e controles saudáveis. No entanto, resultados de ensaios clínicos recentes revelaram que a inibição do OSM pelo GSK2330811 não apresentou resultados clínicos significativos em comparação ao placebo (DENTON *et al.*, 2022). Adicionalmente, a neutralização terapêutica da OSM com o anticorpo monoclonal GSK2330811 causa anemia e trombocitopenia (THORSTED *et al.*, 2024).

O OSMR é altamente expresso por diversas células mesenquimais, incluindo fibroblastos, adipócitos, células endoteliais e células epiteliais, entre outras. Algumas dessas células são precursoras de miofibroblastos e têm sido implicadas na patogênese da ES (DEMARCO *et al.*, 2023; WEST; OWENS; HEGAZY, 2018). A afinidade de ligação do OSM ao complexo gp130/LIFR $\beta$  tipo I é menor do que ao complexo gp130/OSMR $\beta$  tipo II, indicando que o eixo OSM-OSMR é mais relevante para a sinalização OSM (WOLF *et al.*, 2023). Níveis mais elevados de OSMRs em pacientes com ES em comparação com controles saudáveis foram relatados (ALMEIDA, *et al.*, 2020). Nossos resultados revelaram que os níveis séricos de OSMRs em pacientes com ES estão mais elevados do que em pacientes com AR, LES e controles saudáveis.

A acurácia do OSMRs foi boa para diferenciar pacientes com ES de controles saudáveis e doenças reumatológicas autoimunes não-ES (AR e LES). A comparação da ES com o grupo não-ES apresenta um cenário clínico onde um paciente está em observação para diagnóstico e apresenta sintomas comuns a essas doenças. Além disso, a precisão do subconjunto de EScl provou ser particularmente excelente na distinção entre controles saudáveis e doenças não-ES. Esse achado é interessante uma vez que os pacientes com EScl apresentam uma progressão mais lenta da doença do que a EScd. Assim, a medição do OSMRs poderia ser um biomarcador

para ambos os subtipos clínicos de ES, mas principalmente para EScl. Como nosso estudo não se concentrou no diagnóstico precoce da ES, estudos futuros são necessários para explorar a acurácia da OSMRs na ES muito precoce. Em consonância com Almeida *et al.* (2020), os níveis séricos do OSMRs foram maiores em pacientes com ES com úlceras digitais, mas não com disfunção esofágica (ALMEIDA *et al.*, 2020). Da mesma forma, Marden *et al.* (2020) sugeriram que o aumento da expressão de OSMR $\beta$  nas células endoteliais da pele poderia estar relacionado à vasculopatia associada à ES. Assim, esses achados sugerem que os níveis séricos do OSMRs podem estar associados ao envolvimento vascular. Outros estudos reportaram valor de acurácia semelhante. A proteína S100A8 apresentou AUC de 0,831 para o diagnóstico de LES, a copeptina apresentou AUC de 0,863 na discriminação entre pacientes com ES com e sem úlceras digitais, e a IL-32 apresentou AUC de 0,950 na predição de pacientes com HAP (BENEDETTO *et al.*, 2020; KIM, *et al.*, 2022; MACIEJEWSKA *et al.*, 2023).

A análise de correlação mostrou uma correlação fraca positiva dos níveis séricos do OSMRs em pacientes com ES com idade e duração da doença. Curiosamente, os grupos de pacientes em uso de azatioprina e metotrexato apresentaram diferença na concentração de OSMRs. Nossa hipótese é que o efeito imunossupressor do metotrexato pode reduzir direta ou indiretamente os níveis de OSMRs, enquanto, a azatioprina parece ser apenas um fator de confusão, uma vez que não foram encontradas outras correlações em pacientes azatioprina-positivos. Adicionalmente, foi encontrada uma acurácia moderada para HAP, contudo se faz necessário confirmar o diagnóstico de HAP pelo cateterismo, técnica padrão-ouro para diagnóstico deste acometimento.

O papel do OSMRs na patogênese da ES ainda não está totalmente compreendido, entretanto, a expressão gênica cutânea de OSMR $\beta$  foi recentemente identificada como um biomarcador prognóstico para a progressão de lesões cutâneas em pacientes com ESdc (STIFANO *et al.*, 2018). Marden *et al.* (2020) reportaram expressão aumentada de OSMR $\beta$  em vasos sanguíneos da pele, células endoteliais e fibroblastos de pacientes com ES.

Este estudo teve várias limitações. Em primeiro lugar, os participantes foram oriundos de um único centro, com um tamanho de amostra relativamente pequeno. Em segundo lugar, todos os pacientes estavam em tratamento medicamentoso uma vez que a ES afeta múltiplos sistemas e causa vários sintomas. Além disso, mais da metade deles estavam em uso de imunossupressores, o que pode ter impactado no curso da doença.

Por fim, um único marcador diagnóstico pode não ser realista devido à heterogeneidade da ES, todavia, testar biomarcadores em amostras de soro pode ser financeiramente mais

acessível além de ser um método minimamente invasivo. Alternativas para detecção de OSMRs no soro de pacientes com ES estão sendo exploradas atualmente (AVELINO *et al.*, 2023). Como alguns sintomas são comuns em pacientes com ES, AR e LES, o OSMRs pode ser um biomarcador preditivo para o diagnóstico diferencial entre ES, AR e LES. A validação em uma população diversificada e a investigação do mecanismo molecular do OSMRs na fisiopatologia da ES pode fornecer uma compreensão mais profunda sobre a doença. Mais pesquisas são cruciais para explorar o OSMRs nos estágios iniciais da ES e nos casos de síndrome de sobreposição. Além disso, estudos futuros podem avaliar os níveis de OSMRs em outros fluidos não invasivos, como urina e saliva, apesar de amostras de soro serem mais facilmente disponíveis na prática clínica. Parte dos resultados obtidos nesta pesquisa foi publicada em periódico internacional de acesso científico. O conteúdo completo do artigo encontra-se disponível no Anexo B.

## 7 CONCLUSÃO

- Os níveis séricos da OSM não foram detectáveis em soro de pacientes com ES e controles sadios pelo ensaio de ELISA.
- Por outro lado, os níveis de OSMRs foram detectados e observou-se que estes níveis séricos estavam maiores em pacientes com ES comparados aos pacientes com AR e LES, e controles sadios;
- Foram encontrados níveis séricos elevados do OSMRs em pacientes com úlceras digitais, e uma correlação fraca positiva os OSMRs foi encontrada para idade e tempo de doença;
- A acurácia do OSMRs mostrou boa sensibilidade e especificidade entre pacientes com ES e com controles sadios, bem como entre a ES, AR e LES sugerindo o OSMRs como potencial biomarcador;
- Levando em consideração a acurácia do OSMRs frente às características clínicas pôde-se observar uma acurácia moderada para HAP.

## **8 PERSPECTIVAS**

- Analisar a expressão de OSM e OSMR em linfócitos e monócitos de sangue periférico de pacientes com ES e controles saudáveis;
- Analisar as possíveis associações e correlações de células produtoras de OSM e OSMR com parâmetros clínico-laboratoriais de pacientes com ES.

## REFERÊNCIAS

ALETAHA, D. *et al.* 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Ann Rheum Dis**, v. 69, n. 9, p. 1580-8, 2010.

ALLANORE, Y. *et al.* Systemic sclerosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, 15053, 2015.

ALMEIDA, A. R. DE *et al.* Increased levels of the soluble oncostatin M receptor (sOSMR) and glycoprotein 130 (sgp130) in systemic sclerosis patients and associations with clinical parameters. **Immunobiology**, v. 225, n. 3, p. 151964, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32517886/>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

ALMEIDA, C.; ALMEIDA, I.; VASCONCELOS, C. Quality of life in systemic sclerosis. **Autoimmunity Reviews**, v. 14, n. 12, p. 1087–1096, 2015.

ANGIOLILLI, C. *et al.* New insights into the genetics and epigenetics of systemic sclerosis. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 14, n. 11, p. 657–673, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30305700/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

ARNETT, F. C. *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum**, v. 31, n. 3, p. 315-24, 1988. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3358796>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

ARNSON, Y. *et al.* The role of infections in the immunopathogenesis of systemic sclerosis-evidence from serological studies. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1173, p. 627–632, 2009.

ARONSON, J. K.; FERNER, R. E. Biomarkers-A General Review. **Current protocols in pharmacology**, v. 76, p. 9.23.1-9.23.17, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28306150/>>. Acesso em: 5 dez. 2023.

ARRON, J. R. Biomarkers in systemic sclerosis: mechanistic insights into pathogenesis and treatment. **Current opinion in rheumatology**, v. 33, n. 6, p. 480–485, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34420004/>>. Acesso em: 23 mar. 2024.

ASANO, Y. Systemic sclerosis. **The Journal of Dermatology**, v. 45, n. 2, p. 128–138, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1346-8138.14153>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

ASANO, Y. The Pathogenesis of Systemic Sclerosis: An Understanding Based on a Common Pathologic Cascade across Multiple Organs and Additional Organ-Specific Pathologies. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 9, p. 1–27, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32825112/>>. Acesso em: 25 out. 2022.

AVOUAC, J. *et al.* Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of a Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trials and Research Group.

**Annals of the rheumatic diseases**, v. 70, n. 3, p. 476–481, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21081523/>>. Acesso em: 19 mar. 2024.

BAIRKDAR, M. *et al.* Incidence and prevalence of systemic sclerosis globally: a comprehensive systematic review and meta-analysis. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 60, n. 7, p. 3121, 2021. Disponível em: <[pmc/articles/PMC8516513/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34816513/)>. Acesso em: 25 out. 2022. Acesso em: 30 nov. 2023.

BALANESCU, P. *et al.* IL-17, IL-6 and IFN-gamma in Systemic Sclerosis Patients. **Romanian journal of internal medicine = Revue roumaine de medecine interne**, v. 53, n. 1, p. 44–49, 2015.

BELLANDO-RANDONE, S.; MATUCCI-CERINIC, M. Very early systemic sclerosis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 33, n. 4, p. 101428, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S152169421930097X>>. Acesso em: 13 fev. 2020.

BELLOCCHI, C.; CHUNG, A.; VOLKMANN, E. R. Predicting the Progression of Very Early Systemic Sclerosis: Current Insights. **Open Access Rheumatology : Research and Reviews**, 2022. v. 14, p. 171. Disponível em: <[pmc/articles/PMC9484572/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39484572/)>. Acesso em: 5 dez. 2023.

BENEDETTO, P. DI *et al.* Interleukin-32 in systemic sclerosis, a potential new biomarker for pulmonary arterial hypertension. **Arthritis research & therapy**, 1 jun. 2020. v. 22, n. 1. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32487240/>>. Acesso em: 5 jul. 2024.

BENFAREMO, D. *et al.* Systemic Sclerosis: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Approaches. **Biomedicines**, v. 10, n. 1, p. 163, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35052842/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

BHATTACHARYYA, S.; WEI, J.; VARGA, J. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 8, n. 1, p. 42–54, 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/nrrheum.2011.149>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

BICIUSCA, V. *et al.* A Practical Multidisciplinary Approach to Identifying Interstitial Lung Disease in Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases: A Clinician’s Narrative Review. **Diagnostics**, v. 14, n. 23, p. 2674, 2024.

BROWN, M.; O’REILLY, S. The immunopathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis. **Clinical and experimental immunology**, v. 195, n. 3, p. 310–321, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30430560/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

BOSSINI-CASTILLO, L.; LÓPEZ-ISAC, E.; MARTÍN, J. Immunogenetics of systemic sclerosis: Defining heritability, functional variants and shared-autoimmunity pathways. **Journal of Autoimmunity**, v. 64, p. 53–65, 2015.

CAVAZZANA, I. *et al.* Systemic Sclerosis-Specific Antibodies: Novel and Classical Biomarkers. **Clinical reviews in allergy & immunology**, v. 64, n. 3, p. 412–430, 2023.

CHEN, D. R. *et al.* Expression of short-form oncostatin M receptor as a decoy receptor in lung adenocarcinomas. **The Journal of Pathology**, v. 215, n. 3, p. 290–299, 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.2361>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

CHIZZOLINI, C. *et al.* Polarized subsets of human T-helper cells induce distinct patterns of chemokine production by normal and systemic sclerosis dermal fibroblasts. **Arthritis research & therapy**, v. 8, n. 1, p. R10, 2006.

DANTAS, A. T. *et al.* Interferons and systemic sclerosis: correlation between interferon gamma and interferon-lambda 1 (IL-29). **Autoimmunity**, v. 48, n. 7, p. 429–433, 2015.

DENTON, C. P. *et al.* Biological and clinical insights from a randomized phase 2 study of an anti-oncostatin M monoclonal antibody in systemic sclerosis. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 62, n. 1, p. 234–242, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35583273/>>. Acesso em: 23 nov. 2023.

DENTON, C. P.; KHANNA, D. Systemic sclerosis. **The Lancet**, v. 6736, n. 17, p. 1–15, 2017. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30933-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30933-9)>. Acesso em: 30 nov. 2023.

DIOT, E. *et al.* Systemic sclerosis and occupational risk factors: a case-control study. **Occupational and environmental medicine**, v. 59, n. 8, p. 545–9, 2002. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1740346&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

ELHAI, M. *et al.* Mapping and predicting mortality from systemic sclerosis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 76, n. 11, p. 1897–1905, 2017. Disponível em: <[doi:10.1136/annrheumdis-2017-211448](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-211448)>. Acesso em: 30 nov. 2023.

FEENEY, M. *et al.* Oncostatin M As a Potential Molecular Target in Systemic Sclerosis [abstract]. **Arthritis Rheumatology**. 67 (supl. 10), 2015. Disponível em: <<https://acrabstracts.org/abstract/oncostatin-m-as-a-potential-molecular-target-in-systemic-sclerosis/>>. Acesso em: 24 jan. 2024.

FLORKOWSKI, C. M. Sensitivity, Specificity, Receiver-Operating Characteristic (ROC) Curves and Likelihood Ratios: Communicating the Performance of Diagnostic Tests. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 29, n. Supl 1, p. S83, 2008. Disponível em: <[pmc/articles/PMC2556590/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1942556590/)>. Acesso em: 1 jul. 2024.

FULLARD, N.; O'REILLY, S. Role of innate immune system in systemic sclerosis. **Seminars in immunopathology**, v. 37, n. 5, p. 511–517, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26159672/>>. Acesso em: 16 maio 2024.

FURST, D. E. *et al.* The modified Rodnan skin score is an accurate reflection of skin biopsy thickness in systemic sclerosis. **The Journal of Rheumatology**, v. 25, n. 1, p. 84–88, 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9458208/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

GABRIELLI, A.; AVVEDIMENTO, E. V.; KRIEG, T. Scleroderma. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 19, p. 1989–2003, 2009. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0806188>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

GOFF, B. LE *et al.* Oncostatin M acting via OSMR, augments the actions of IL-1 and TNF in synovial fibroblasts. **Cytokine**, v. 68, n. 2, p. 101–109, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24767864/>>. Acesso em: 24 jan. 2024.

GONÇALVES, R. S. G. *et al.* IL-17 and related cytokines involved in systemic sclerosis: Perspectives. **Autoimmunity**, v. 51, n. 1, p. 1–9, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29256263/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

HACHULLA, E.; LAUNAY, D. Diagnosis and classification of systemic sclerosis. **Clin Rev Allergy Immunol**, v. 40, n. 2, p. 78-83, 2011.

HAJIAN-TILAKI, K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. **Caspian Journal of Internal Medicine**, v. 4, n. 2, p. 627, 2013. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3755824/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24767864/)>. Acesso em: 3 jul. 2024.

HOCHBERG, M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 40, n. 9, p. 1725, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9324032>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

HOND, A. A. H. DE; STEYERBERG, E. W.; CALSTER, B. VAN. Interpreting area under the receiver operating characteristic curve. **The Lancet. Digital health**, v. 4, n. 12, p. e853–e855, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36270955/>>. Acesso em: 10 jun. 2024.

HORIMOTO, A. M. C. *et al.* Incidência e prevalência de esclerose sistêmica em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, n. 2, p. 107–114, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0482500416300729>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

HORIMOTO, A. M. C.; COSTA, I. P. Da. Overlap between systemic sclerosis and rheumatoid arthritis: a distinct clinical entity? **Revista brasileira de reumatologia**, v. 56, n. 4, p. 287–298, 2015.

HUDSON, M.; FRITZLER, M. J. Diagnostic criteria of systemic sclerosis. **Journal of Autoimmunity**, v. 48–49, p. 38–41, 2014.

HUGHES, M. *et al.* Raynaud phenomenon and digital ulcers in systemic sclerosis. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 16, n. 4, p. 208–221, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32099191/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

HUGHES, M.; HERRICK, A. L. Systemic sclerosis. **British Journal of Hospital Medicine**, v. 80, n. 9, p. 530–536, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.12968/hmed.2019.80.9.530>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

JERJEN, R. *et al.* Systemic sclerosis in adults. Part I: Clinical features and pathogenesis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 87, n. 5, p. 937–954, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35131402/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

KANG, E. H.; HA, Y. J.; LEE, Y. J. Autoantibody Biomarkers in Rheumatic Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1382, 2020. Disponível em: <[pmc/articles/PMC7073052/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37073052/)>. Acesso em: 5 dez. 2023.

KAWAGUCHI, Y. Contribution of interleukin-6 to the pathogenesis of systemic sclerosis. **Journal of Scleroderma and Related Disorders**, v. 2, p. S6–S12, 2017. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.5301/jsrd.5000258>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

KENDALL, R. T.; FEGHALI-BOSTWICK, C. A. Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators. **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, p. 123, 2014. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2014.00123>>.

KIM, J. W. *et al.* S100A8 in Serum, Urine, and Saliva as a Potential Biomarker for Systemic Lupus Erythematosus. **Frontiers in Immunology**, 22 abr. 2022. v. 13, p. 886209. Disponível em: <[www.frontiersin.org](https://www.frontiersin.org)>. Acesso em: 5 jul. 2024

KORMAN, B. Evolving insights into the cellular and molecular pathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis. **Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 209, p. 77–89, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30876809/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

KRIEG, T.; TAKEHARA, K. Skin disease: a cardinal feature of systemic sclerosis. **Rheumatology**, v. 48, n. 3, p. iii14–iii18, 2009. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kep108>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

LEPRI, G. *et al.* Systemic sclerosis: one year in review 2022. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 40, n. 10, p. 1911–1920, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36135958/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

LEROY, E. C. *et al.* Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. **Journal of Rheumatology**, v. 15, n. 2, p. 202–205, 1988.

LEROY, E. C.; MEDSGER, J. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. **Journal of Rheumatology**, v. 28, n. 7, p. 1573–1576, 2001.

LESCOAT, A. *et al.* The nosology of systemic sclerosis: how lessons from the past offer new challenges in reframing an idiopathic rheumatological disorder. **The Lancet Rheumatology**, v. 1, n. 4, p. e257–e264, 2019.

LIAKOULI, V. *et al.* Angiogenic cytokines and growth factors in systemic sclerosis. **Autoimmunity Reviews**. v. 10, n. 10, p. 590-594, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.04.019>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

MACIEJEWSKA, M. *et al.* Copeptin as a Biomarker of Microcirculation Alterations in Systemic Sclerosis. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**, 2023. v. 16, p. 1351–1361. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37255624/>>. Acesso em: 5 dez. 2023.

MANDREKAR, J. N. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 5, n. 9, p. 1315–1316, 2010.

MARDEN, G. *et al.* The role of the oncostatin M/OSM receptor  $\beta$  axis in activating dermal microvascular endothelial cells in systemic sclerosis. **Arthritis research & therapy**, v. 22, n. 1, p. 179, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32736577/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

MARTINIS, M. DE *et al.* An overview of environmental risk factors in systemic sclerosis. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 12, n. 4, p. 465–478, 2016. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/1744666X.2016.1125782>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

MASI, A. T. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). **Arthritis & Rheumatism**, v. 23, n. 5, p. 581–590, 1980. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.1780230510>>. Acesso em: 19 mar. 2024.

MOZAFFARIAN, A. *et al.* Mechanisms of oncostatin M-induced pulmonary inflammation and fibrosis. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 181, n. 10, p. 7243–7253, 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18981146/>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

MURUGANANDAM, M. *et al.* Biomarkers in the Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Systemic Sclerosis. **Journal of inflammation research**, v. 16, p. 4633–4660, 2023. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37868834/>>. Acesso em: 4 dez. 2023.

NIKPOUR, M.; BARON, M. Mortality in systemic sclerosis: lessons learned from population-based and observational cohort studies. **Current opinion in rheumatology**, v. 26, p. 131–7, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24441644>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

POUDEL, D. R.; DERK, C. T. Mortality and survival in systemic sclerosis: a review of recent literature. **Current opinion in rheumatology**, v. 30, n. 6, p. 588–593, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30148801/>>. Acesso em: 25 out. 2022.

POUDEL, D. R. *et al.* Determinants of mortality in systemic sclerosis: a focused review. **Rheumatology International**, v. 38, n. 10, p. 1847–1858, 2018.

RANQUE, B.; MOUTHON, L. Geoepidemiology of systemic sclerosis. **Autoimmunity Reviews**, v. 9, n. 5, p. A311–A318, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997209001815>>. Acesso em: 24 jan. 2024.

RAMOS, P. S.; SILVER, R. M.; FEGHALI-BOSTWICK, C. A. Genetics of systemic sclerosis: recent advances. **Current opinion in rheumatology**, v. 27, n. 6, p. 521–9, 2015.

RECH, T. F. *et al.* Matrix metalloproteinase gene polymorphisms and susceptibility to systemic sclerosis. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 4, 2016. Disponível em: <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2016/vol15-4/pdf/gmr-15-04-gmr.15049077.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

ROBAK, E *et al.* Circulating interleukin-6 type cytokines in patients with systemic lupus erythematosus. **European Cytokine Network**, v. 8, n. 3, p. 281-286, 1997.

ROSENDAHL, A. H.; SCHÖNBORN, K.; KRIEG, T. Pathophysiology of systemic sclerosis (scleroderma). **Kaohsiung Journal of Medical Sciences**, v. 38, n. 3, p. 187-195, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35234358/>>. Acesso em: 22 mar. 2024.

RUBIO-RIVAS, M. *et al.* Mortality and survival in systemic sclerosis: Systematic review and meta-analysis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 44, n. 2, p. 208-219, 2014.

SALAZAR, G.; MAYES, M. D. Genetics, Epigenetics, and Genomics of Systemic Sclerosis. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 41, n. 3, p. 345-366, 2015.

SCHERLINGER, M. *et al.* Systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis: All roads lead to platelets. **Autoimmunity Reviews**, v. 17, n. 6, p. 625-635, 2018.

SAMPAIO-BARROS, P. *et al.* Recommendations for the management and treatment of systemic sclerosis. **Recomendações sobre diagnóstico e tratamento da esclerose sistêmica. Revista Brasileira De Reumatologia**, v. 53, n. 3, p. 258-275, 2013. Disponível em: <[www.reumatologia.com.br](http://www.reumatologia.com.br)>. Acesso em: 30 nov. 2023.

SIERRA-SEPÚLVEDA, A. *et al.* Systemic Sclerosis Pathogenesis and Emerging Therapies, beyond the Fibroblast. **BioMed research international**, v. 2019, p. 4569826, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30809542/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

SOBOLEWSKI, P. *et al.* Systemic sclerosis - multidisciplinary disease: clinical features and treatment. **Reumatologia**, v. 57, n. 4, p. 221-233, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31548749/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

STAWSKI, L.; TROJANOWSKA, M. Oncostatin M and its role in fibrosis. **Connective tissue research**, v. 60, n. 1, p. 40-49, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30056769/>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

STERN, E. P.; DENTON, C. P. The Pathogenesis of Systemic Sclerosis. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 41, n. 3, p. 367-382, 2015.

STICHERLING, M. Systemic sclerosis - dermatological aspects. Part 1: Pathogenesis, epidemiology, clinical findings. **JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v. 10, n. 10, p. 705-716, 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1610-0387.2012.07999.x>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

STIFANO, G. *et al.* Skin Gene Expression Is Prognostic for the Trajectory of Skin Disease in Patients With Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis. **Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)**, v. 70, n. 6, p. 912-919, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29858547/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

STRIMBU, K.; TAVEL, J. A. What are Biomarkers? **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2010/06/01/PMC3078627/>>. Acesso em: 5 dez. 2023.

- THOREAU, B. *et al.* Pathophysiology of systemic sclerosis. **Presse medicale (Paris, France : 1983)**, v. 50, n. 1, p. 104087, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34718115/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.
- THOREAU, B.; CHAIGNE, B.; MOUTHON, L. Role of B-Cell in the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 933468, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35903091/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.
- UTSUNOMIYA, A.; OYAMA, N.; HASEGAWA, M. Potential Biomarkers in Systemic Sclerosis: A Literature Review and Update. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 11, p. 1–25, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33105647/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.
- VAN DEN HOOGEN, F. *et al.* 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. **Arthritis and Rheumatism**, v. 65, n. 11, p. 2737–2747, 2013.
- VARGA, J.; ABRAHAM, D. Systemic sclerosis: A prototypic multisystem fibrotic disorder. **Journal of Clinical Investigation**, 2007. v. 117, n. 3, p. 557–567, 2007.
- VERSTOCKT, S.; VERSTOCKT, B.; VERMEIRE, S. Oncostatin M as a new diagnostic, prognostic and therapeutic target in inflammatory bowel disease (IBD). **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 23, n. 11, p. 943–954, 2019. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14728222.2019.1677608>>. Acesso em: 21 nov. 2023.
- WEST, N. R.; OWENS, B. M. J.; HEGAZY, A. N. The oncostatin M-stromal cell axis in health and disease. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 88, n. 3, p. e12694, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/sji.12694>>. Acesso em: 21 nov. 2023.
- ZIMMERMANN, A. F.; PIZZICHINI, M. M. M. Update on the etiopathogenesis of systemic sclerosis. **Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)**, v. 53, n. 6, p. 516–524, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2255502113000102>>. Acesso em: 30 nov. 2023.
- ZUO, X. Xia *et al.* Systematic approach to understanding the pathogenesis of systemic sclerosis. **Clinical Genetics**, n. 4, p. 1–7, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27918067%5Cnhttp://doi.wiley.com/10.1111/cge.12946>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

## APÊNDICE A - DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS CLÍNICAS

- Classificação da doença: subtipos esclerose sistêmica cutâneo limitada (EScl) e esclerose sistêmica cutâneo difusa (EScd);
- Tempo de doença (meses): tempo desde o início do primeiro sintoma, excluindo-se o fenômeno de Raynaud (FRy);
- Comprometimento cutâneo: avaliação clínica quanto à presença de espessamento cutâneo (fibrose);
- Extensão do comprometimento cutâneo: fibrose cutânea avaliada pelo escore modificado de Rodnan;
- Fenômeno de Raynaud objetivo: presença do fenômeno de Raynaud avaliada pelo médico;
- Úlceras digitais: presença ou história de ulceração de polpas digitais ou superfícies extensoras ou história de necrose extensa e/ou amputação;
- Telangiectasias: presença de telangiectasia (pequenos vasos sanguíneos, menores que 1 milímetro de diâmetro, que aparecem abaixo da pele) avaliada pelo médico;
- Calcinose: presença de calcificação detectada clinicamente pelo médico ou através de radiografia simples;
- Artrite: Comprometimento articular com presença de artrite evidenciada no exame físico;
- Comprometimento muscular: fraqueza muscular acompanhada de elevação dos níveis das enzimas musculares;
- Comprometimento gastrointestinal: presença de dismotilidade esofageana avaliada pela cintilografia esofágica e/ou alteração na manometria esofageana;
- Fibrose pulmonar: presença de fibrose pulmonar (*doença pulmonar intersticial – DPI*) evidenciada na tomografia computadorizada de tórax;
- Hipertensão arterial pulmonar (HAP): pressão sistólica da artéria pulmonar  $\geq 35$  mmHg estimada pelo ecocardiograma transtorácico com doppler;
- Crise renal esclerodérmica: registro no prontuário de insuficiência renal, com ou sem elevação da pressão arterial, atribuída à ES;
- Medicamentos comumente utilizados pelo paciente: bloqueador de canal de cálcio (BCC), inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueador do receptor de angiotensina (BRA), ácido acetilsalicílico, pentoxifilina, cilostazol, sildenafil,

bosentana, corticosteroide, metotrexato, azatioprina, micofenolato mofetila, ciclofosfamida (oral ou endovenosa), inibidor da bomba de prótons (IBP), procinéticos e anti-inflamatórios não-hormonais;

- Perfil de autoanticorpos: positividade para anticorpos antinucleares (FAN), anticentrômero e/ou antitopoisomerase I (anti-Scl70), de acordo com registro na ficha clínica.

## APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA PARA PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA

### FICHA CLÍNICA ESCLEROSE SISTÊMICA

IDENTIFICAÇÃO			
Número da Ficha <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Data de preenchimento _____ / _____ / _____	Sexo 1. Masculino <input type="checkbox"/> 2. Feminino <input type="checkbox"/>	
Registro hospital	Telefone		
Nome do paciente			
Idade (anos) <input type="text"/> <input type="text"/>	Data de Nascimento: _____ / _____ / _____		
Início do Fenômeno de Raynaud: _____ / _____ / _____	Tempo FRy (meses): _____	Forma Clínica <input type="checkbox"/> 1. Cutânea Limitada 2. Cutânea Difusa 3. Sine Escleroderma 4. Overlap (EXCLUIR) 5. Localizada (EXCLUIR)	
Início do sintoma não-FRy: _____ / _____ / _____	Tempo não-FRy (meses): _____		
Data do diagnóstico: _____ / _____ / _____	Tempo diagnóstico (meses): _____		
CLASSIFICAÇÃO (paciente precisa preencher um dos 3 critérios)			
<b>ACR, 1980</b>			
CRITÉRIOS MAIORES ( ) Espessamento cutâneo proximal às MCF ou MTF		CRITÉRIOS MENORES ( ) Esclerodactilia ( ) Cicatrizes digitais ou perda da gordura subcutânea dos dedos ( ) Fibrose pulmonar bibasal	
1 maior OU 2 menores			
<b>ESCLEROSE SISTÊMICA PRECOCE</b>			
( ) Fenômeno de Raynaud <u>objetivo</u> + ( ) Capilaroscopia anormal OU ( ) Autoanticorpos específicos		( ) Fenômeno de Raynaud <u>subjetivo</u> + ( ) Capilaroscopia anormal E ( ) Autoanticorpos específicos	
<b>CRITÉRIOS EULAR</b>			
( ) Espessamento da pele dos dedos proximal às MCF			09
( ) Espessamento da pele dos dedos	( ) <i>Puffy fingers</i>		02
	( ) Esclerodactilia (distal às MCF mas proximal às IFPs)		04
( ) Lesão de polpa digital	( ) Úlceras digitais		02
	( ) Pitting scars		03
( ) Telangiectasia			02
( ) Capilaroscopia alterada			02
( ) HAP ou DPI	( ) HAP		02
	( ) Doença pulmonar intersticial		02
( ) Fenômeno de Raynaud			03
( ) Autoanticorpos	( ) Anticentrômero		03
	( ) Anti-SCI70		
	( ) Anti-RNA polimerase III		
TOTAL			
<b>Esclerose Sistêmica se ≥ 9</b>			
AUTOANTICORPOS 1. Positivo 2. Negativo 3. Não realizado			
FAN <input type="checkbox"/>	Anti-Sci70 <input type="checkbox"/>	Anti-centrômero <input type="checkbox"/>	Anti-RNA polimerase III <input type="checkbox"/>
Título: _____ Padrão: _____			

## FICHA CLÍNICA ESCLEROSE SISTÊMICA

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS (consultar definições)			
<b>Pele</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	<b>Fenômeno de Raynaud</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Úlceras digitais (prévias ou atuais)</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	<b>Doença pulmonar intersticial</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Hipertensão arterial pulmonar</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	<b>Artrite (prévia ou atual)</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Miopatia</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	<b>Comprometimento esofageano</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Crise renal</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	<b>Telangiectasias</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Calcinose</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	<b>Rodnan:</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		
<b>HAQ:</b>	<b>SHAQ:</b>		

MEDICAÇÕES (uso atual)			
1. Sim 2. Não 3. Não sabe informar			
<b>BCC</b> ( ) Nifedipina <input type="checkbox"/> ( ) Anlodipina <input type="checkbox"/> ( ) Diltiazem <input type="checkbox"/> ( ) Verapamil <input type="checkbox"/>	<b>IECA</b> ( ) Captopril <input type="checkbox"/> ( ) Enalapril <input type="checkbox"/>	<b>BRA</b> ( ) Losartan <input type="checkbox"/> ( ) Valsartan <input type="checkbox"/>	<b>AAS</b> <input type="checkbox"/>
<b>Pentoxifilina</b> <input type="checkbox"/>	<b>Sildenafil</b> <input type="checkbox"/>	<b>Bosentana</b> <input type="checkbox"/>	<b>Cilostazol</b> <input type="checkbox"/>
<b>Metotrexato</b> <input type="checkbox"/>	<b>Azatioprina</b> <input type="checkbox"/>	<b>Micofenolato</b> <input type="checkbox"/>	<b>Ciclofosfamida VO</b> <input type="checkbox"/>
<b>Ciclofosfamida EV</b> <input type="checkbox"/>	<b>IBP</b> ( ) Omeprazol <input type="checkbox"/> ( ) Pantoprazol <input type="checkbox"/>	<b>Procinético</b> ( ) Bromoprida <input type="checkbox"/> ( ) Domperidona <input type="checkbox"/>	<b>Corticoide</b> ( ) Prednisona <input type="checkbox"/> ( ) Prednisolona <input type="checkbox"/> ( ) <input type="checkbox"/>
<b>AINE</b> <input type="checkbox"/>	<b>Rituximabe</b> <input type="checkbox"/>	<b>Leflunomida</b> <input type="checkbox"/>	<b>Colecalciferol</b> <input type="checkbox"/>
<b>Outros</b>			

	DIREITO				ESQUERDO				
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Dedos									SCORE DE RODNAN:
Dorso das mãos									
Antebraço									
Braço									
Face									
Tórax anterior									
Abdome									
Coxa									
Perna									
Dorso dos pés									

## FICHA CLÍNICA ESCLEROSE SISTÊMICA

### HAQ – Health Assessment Questionnaire

Atividade	Sem dificuldade 0	Pouca dificuldade 1	Muita dificuldade 2	Não consegue 3	Maior valor
1. Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar as roupas					
2. Lavar sua cabeça e seus cabelos					
3. Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços					
4. Deitar-se e levantar-se da cama					
5. Cortar pedaços de carne					
6. Levantar à boca um copo ou xícara cheio de café, leite ou água					
7. Abrir um saco (caixa) de leite comum					
8. Caminhar em lugares planos					
9. Subir 5 degraus					
10. Lavar e secar seu corpo após o banho					
11. Tomar banho de chuveiro					
12. Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário					
13. Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5 quilos que está posicionado pouco acima da cabeça					
14. Curvar-se para pegar roupas no chão					
15. Segurar-se em pé no ônibus ou metrô					
16. Abrir potes ou vidros de conservas que tenham sido previamente abertos					
17. Abrir e fechar torneiras					
18. Fazer compras nas redondezas onde mora					
19. Entrar e sair de um ônibus					
20. Realizar tarefas tais como usar vassoura para varrer e ou rodo para a água					
<b>SOMATÓRIO</b>					
<b>SOMATÓRIO DIVIDIDO POR 8 (RESULTADO DO HAQ)</b>					

Na semana passada, quanto os seus problemas com o Fenômeno de Raynaud (dedos que alternam de cor entre roxo, pálido e vermelho pelo frio) interferiram nas suas atividades?

**Nenhum incômodo 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Gravidade extrema**

Na semana passada, quanto os seus problemas com as feridas nos dedos interferiram nas suas atividades?

**Nenhum gravidade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Gravidade extrema**

Na semana passada, quanto os seus problemas gastrointestinais interferiram nas suas atividades?

**Nenhum gravidade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Gravidade extrema**

Na semana passada, quanto os seus problemas com os pulmões interferiram nas suas atividades?

**Nenhuma dor 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Gravidade extrema**

Na semana passada, quanto o conjunto de seus problemas causados pela esclerodermia interferiram nas suas atividades?

**Nenhuma gravidade 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Gravidade extrema**

## APÊNDICE C – TCLEs PARA PACIENTES COM ESCLEROSE SISTÊMICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
NÚCLEO DE PESQUISA EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA – SUELY GALDINO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazofalimídicos na esclerose sistêmica**, que está sob a responsabilidade do pesquisador Eudes Gustavo Constantino Cunha, residente no endereço Rua Paulo Guerra, número 94, Chã de Cruz, Paudalho - PE, CEP 55.825-000, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: eudesgccunha@outlook.com. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Me. Anderson Rodrigues de Almeida, e-mail: andersonr.almeida@hotmail.com, Dra. Rafaela Silva Guimarães Golçanlves, e-mail: rafa\_agg@hotmail.com, Profa. Dra. Andréa Tavares Dantas, e-mail: andreatdantas@gmail.com, Profa. Dra. Angela Luzia Branco Pinto Duarte, e-mail: angelabduarte@hotmail.com, Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, e-mail: moacyroraculo@gmail.com, disponíveis no telefone: (81) 2126-8346. Está sob a orientação da Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: mgrpitta@gmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade. Esta solicitação deverá ser realizada por escrito e assinada.

#### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- A esclerose sistêmica é uma doença autoimune que acomete principalmente a pele, podendo comprometer também outros órgãos, como pulmão, coração e trato digestivo. Com o passar do tempo, os portadores de esclerose sistêmica podem desenvolver incapacidade para realização de suas atividades tanto de vida diária como profissional. Apesar de rara, a esclerose sistêmica é uma doença grave e ainda sem cura. Por esta razão, nosso objetivo é estudar a ação de novos fármacos em células do sangue e da pele (em caso de biópsia) de pacientes e indivíduos saudáveis.
- Nesta pesquisa serão realizados experimentos com as células presentes no seu sangue que é coletado da sua veia como uma coleta de sangue para exames laboratoriais no dia da consulta médica, sem a necessidade de deslocamento em dia adicional. A coleta de sangue é feita no braço e a quantidade coletada é equivalente a duas colheres de sopa (26 mL). O material coletado será processado para isolamento de células para pesquisa e separação do soro, que será armazenado adequadamente em freezers -80°C e poderá ser utilizado em pesquisas futuras, com prévia autorização do Comitê de Ética em Pesquisa, e/ou da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.  
As amostras de pele serão obtidas a partir de biópsias que se dará com a uma rápida retirada de 5 milímetros da pele do antebraço. As biópsias serão realizadas por um médico dermatologista. Nenhum medicamento será administrado para realização da pesquisa.
- As coletas serão feitas por profissionais treinados e competentes e orientados para reduzir os riscos. Os riscos envolvidos nesse projeto se referem à coleta de sangue, que pode ser desconfortável e o braço pode ficar um pouco dolorido e apresentar hematoma que é uma área arroxeadada no local da coleta. Em caso de danos ocasionados por quaisquer procedimentos envolvendo a pesquisa o paciente terá direito a assistência integral e gratuita.
- Com relação aos benefícios, você será submetido a uma avaliação clínica e, caso seja detectada alguma alteração sugestiva de doença autoimune, será encaminhado para um acompanhamento adequado, além de contribuir de maneira geral para a melhor compreensão do mecanismo da doença, favorecendo aos demais pacientes e guiando as equipes de saúde para maior sucesso no tratamento da doença.
- O paciente participante da pesquisa e o médico que o acompanha possui total acesso aos seus dados, bem como resultados de exames, os quais ficarão armazenados sob total sigilo e 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 (dados clínicos) ficarão armazenados em arquivos no serviço de Reumatologia, sob a responsabilidade da Dra. Andréa Dantas, no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE (Av. Prof. Moraes Rêgo, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901), pelo período de mínimo 5 anos.

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

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

\_\_\_\_\_  
(assinatura do pesquisador)

**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)**

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazofalimídicos na esclerose sistêmica**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data \_\_\_\_\_

Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

Impressão  
digital  
(opcional)

**Eu sei que posso concordar ou não com o armazenamento de minhas amostras biológicas para pesquisa futuras, sem que minha decisão interfira com meu tratamento. Assim sendo, minha decisão é:**

- Sim, eu concordo com o armazenamento proposto.  
 Não, eu não concordo com o armazenamento proposto.

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

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**NÚCLEO DE PESQUISA EM INOVAÇÃO TERAPÉUTICA – SUELY GALDINO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazotlímídicos na esclerose sistêmica**, que está sob a responsabilidade do pesquisador Eudes Gustavo Constantino Cunha, residente no endereço Rua Paulo Guerra, número 94, Chã de Cruz, Paudalho - PE, CEP 55.825-000, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: eudesgccunha@outlook.com. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Me. Anderson Rodrigues de Almeida, e-mail: andersonr.almeida@hotmail.com, Dra. Rafaela Silva Guimarães Golçanlves, e-mail: rafa\_agg@hotmail.com, Profa. Dra. Andréa Tavares Dantas, e-mail: andreatdantas@gmail.com, Profa. Dra. Angela Luzia Branco Pinto Duarte, e-mail: angelabduarte@hotmail.com, Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, e-mail: moacyroraculo@gmail.com, disponíveis no telefone: (81) 2126-8346. Está sob a orientação da Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: mgrpitta@gmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade. Esta solicitação deverá ser realizada por escrito e assinada.

**INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**

- A esclerose sistêmica é uma doença autoimune que acomete principalmente a pele, podendo comprometer também outros órgãos, como pulmão, coração e trato digestivo. Com o passar do tempo, os portadores de esclerose sistêmica podem desenvolver incapacidade para realização de suas atividades tanto de vida diária como profissional. Apesar de rara, a esclerose sistêmica é uma doença grave e ainda sem cura. Por esta razão, nosso objetivo é estudar a ação de novos fármacos em células do sangue e da pele (em caso de biópsia) de pacientes e indivíduos saudáveis.
- Nesta pesquisa serão realizados experimentos com as células presentes no seu sangue que é coletado da sua veia com uma coleta de sangue para exames laboratoriais. A coleta de sangue é feita no braço e a quantidade coletada é equivalente a duas colheres de sopa (26 mL). O material coletado será processado para isolamento de células para pesquisa e separação do soro, que será armazenado adequadamente em freezers -80°C e poderá ser utilizado em pesquisas futuras, com prévia autorização do Comitê de Ética em Pesquisa, e/ou da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. As amostras de pele serão obtidas a partir de biópsias que se dará com a uma rápida retirada de 5 milímetros da pele do antebraço. Nenhum medicamento será administrado para realização da pesquisa.
- As coletas serão feitas por profissionais treinados e competentes e orientados para reduzir os riscos. Os riscos envolvidos nesse projeto se referem à coleta de sangue, que pode ser desconfortável e o braço pode ficar um pouco dolorido e apresentar hematoma que é uma área arroxeadada no local da coleta. Em caso de danos ocasionados por quaisquer procedimentos envolvendo a pesquisa o paciente terá direito a assistência integral e gratuita.
- Com relação aos benefícios, você será submetido a uma avaliação clínica e, caso seja detectada alguma alteração sugestiva de doença autoimune, será encaminhado para um acompanhamento adequado, além de contribuir de maneira geral para a melhor compreensão do mecanismo da doença, favorecendo aos demais pacientes e guiando as equipes de saúde para maior sucesso no tratamento da doença.
- O paciente participante da pesquisa e o médico que o acompanha possui total acesso aos seus dados, bem como resultados de exames, os quais ficarão armazenados sob total sigilo e 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 (dados clínicos) ficarão armazenados em arquivos no serviço de Reumatologia, sob a responsabilidade da Dra. Andréa Dantas, no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE (Av. Prof. Moraes Rêgo, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901), pelo período de mínimo 5 anos.

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

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

\_\_\_\_\_  
(assinatura do pesquisador)

**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)**

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado pela pessoa por mim designada, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazofalimídicos na esclerose sistêmica**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

A rogo de \_\_\_\_\_, que é (deficiente visual ou está impossibilitado de assinar), eu \_\_\_\_\_ assino o presente documento que autoriza a sua participação neste estudo.  
Local e data \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura

**Eu sei que posso concordar ou não com o armazenamento de minhas amostras biológicas para pesquisas futuras, sem que minha decisão interfira com meu tratamento. Assim sendo, minha decisão é:**

- Sim, eu concordo com o armazenamento proposto.  
 Não, eu não concordo com o armazenamento proposto.

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

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

## APÊNDICE D – TCLEs PARA CONTROLES SAUDÁVEIS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
NÚCLEO DE PESQUISA EM INOVAÇÃO TERAPÉUTICA – SUELY GALDINO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazofalimídicos na esclerose sistêmica**, que está sob a responsabilidade do pesquisador Eudes Gustavo Constantino Cunha, residente no endereço Rua Paulo Guerra, número 94, Chã de Cruz, Paudalho - PE, CEP 55.825-000, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: eudesgccunha@outlook.com. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Me. Anderson Rodrigues de Almeida, e-mail: andersonr.almeida@hotmail.com, Dra. Rafaela Silva Guimarães Golçanlves, e-mail: rafa\_agg@hotmail.com, Profa. Dra. Andréa Tavares Dantas, e-mail: andreatdantas@gmail.com, Profa. Dra. Angela Luzia Branco Pinto Duarte, e-mail: angelabduarte@hotmail.com, Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Régo, e-mail: moacyroraculo@gmail.com, disponíveis no telefone: (81) 2126-8346. Está sob a orientação da Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: mgrpitta@gmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você 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.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade. Esta solicitação deverá ser realizada por escrito e assinada.

#### INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- A esclerose sistêmica é uma doença autoimune que acomete principalmente a pele, podendo comprometer também outros órgãos, como pulmão, coração e trato digestivo. Com o passar do tempo, os portadores de esclerose sistêmica podem desenvolver incapacidade para realização de suas atividades tanto de vida diária como profissional. Apesar de rara, a esclerose sistêmica é uma doença grave e ainda sem cura. Por esta razão, nosso objetivo é estudar a ação de novos fármacos em células do sangue e da pele (em caso de biópsia) de pacientes e indivíduos saudáveis não portadores desta doença;
- Como você não é portador de esclerose sistêmica e se enquadra nos critério de inclusão e exclusão da pesquisa, sua participação é importante para que seja possível a comparação entre os seus resultados clínicos e laboratoriais com os de pacientes;
- Nesta pesquisa serão realizados experimentos com as células presentes no seu sangue que é coletado da sua veia como uma coleta de sangue para exames laboratoriais no dia da consulta médica, sem a necessidade de deslocamento em dia adicional. A coleta de sangue é feita no braço e a quantidade coletada é equivalente a duas colheres de sopa (26 mL). O material coletado será processado para isolamento de células para pesquisa e separação do soro, que será armazenado adequadamente em freezers -80°C e poderá ser utilizado em pesquisas futuras, com prévia autorização do Comitê de Ética em Pesquisa, e/ou da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa; Para amostras de pele, serão utilizados restos de pele retirados na sua cirurgia plástica no Hospital das Clínicas, não havendo necessidade de nenhum procedimento adicional. Nenhum medicamento será administrado para realização da pesquisa;
- As coletas serão feitas por profissionais treinados e competentes e orientados para reduzir os riscos. Os riscos envolvidos nesse projeto se referem à coleta de sangue, que pode ser desconfortável e o braço pode ficar um pouco dolorido e apresentar hematoma que é uma área arroxeadada no local da coleta. Em caso de danos ocasionados por quaisquer procedimentos envolvendo a pesquisa o paciente terá direito a assistência integral e gratuita;
- Com relação aos benefícios na condição de grupo controle, você será submetido a uma avaliação clínica e, caso seja detectada alguma alteração sugestiva de doença autoimune, será encaminhado para um acompanhamento adequado, além de contribuir de maneira geral para a melhor compreensão do mecanismo da doença, favorecendo aos pacientes e guiando as equipes de saúde para maior sucesso no tratamento da doença.
- O participante da pesquisa e a equipe da pesquisa possui total acesso aos seus dados, bem como resultados de exames, os quais ficarão armazenados sob total sigilo e 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 (dados clínicos) ficarão armazenados em arquivos no serviço de Reumatologia, sob a responsabilidade da Dra. Andréa Dantas, no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE (Av. Prof. Moraes Régo, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901), pelo período de mínimo 5 anos.

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

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

(assinatura do pesquisador)

**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)**

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazofalimídicos na esclerose sistêmica**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data \_\_\_\_\_  
Assinatura do participante: \_\_\_\_\_

Impressão  
digital  
(opcional)

**Eu sei que posso concordar ou não com o armazenamento de minhas amostras biológicas para pesquisa futuras, sem que minha decisão interfira com meu tratamento. Assim sendo, minha decisão é:**

- Sim, eu concordo com o armazenamento proposto.  
 Não, eu não concordo com o armazenamento proposto.

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

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**NÚCLEO DE PESQUISA EM INOVAÇÃO TERAPÉUTICA – SUELY GALDINO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazotímídicos na esclerose sistêmica**, que está sob a responsabilidade do pesquisador Eudes Gustavo Constantino Cunha, residente no endereço Rua Paulo Guerra, número 94, Chã de Cruz, Paudalho - PE, CEP 55.825-000, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: eudesgccunha@outlook.com. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Me. Anderson Rodrigues de Almeida, e-mail: andersonr.almeida@hotmail.com, Dra. Rafaela Silva Guimarães Golçanlves, e-mail: rafa\_agg@hotmail.com, Profa. Dra. Andréa Tavares Dantas, e-mail: andreatdantas@gmail.com, Profa. Dra. Angela Luzia Branco Pinto Duarte, e-mail: angelabduarte@hotmail.com, Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, e-mail: moacyroraculo@gmail.com, disponíveis no telefone: (81) 2126-8346. Está sob a orientação da Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta, Telefone: (81) 99786-9635, e-mail: mgrpitta@gmail.com.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade. Esta solicitação deverá ser realizada por escrito e assinada.

**INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**

- A esclerose sistêmica é uma doença autoimune que acomete principalmente a pele, podendo comprometer também outros órgãos, como pulmão, coração e trato digestivo. Com o passar do tempo, os portadores de esclerose sistêmica podem desenvolver incapacidade para realização de suas atividades tanto de vida diária como profissional. Apesar de rara, a esclerose sistêmica é uma doença grave e ainda sem cura. Por esta razão, nosso objetivo é estudar a ação de novos fármacos em células do sangue e da pele (em caso de biópsia) de pacientes e indivíduos saudáveis não portadores desta doença;
- Como você não é portador de esclerose sistêmica e se enquadra nos critério de inclusão e exclusão da pesquisa, sua participação é importante para que seja possível a comparação entre os seus resultados clínicos e laboratoriais com os de pacientes;
- Nesta pesquisa serão realizados experimentos com as células presentes no seu sangue que é coletado da sua veia como uma coleta de sangue para exames laboratoriais no dia da consulta médica, sem a necessidade de deslocamento em dia adicional. A coleta de sangue é feita no braço e a quantidade coletada é equivalente a duas colheres de sopa (26 mL). O material coletado será processado para isolamento de células para pesquisa e separação do soro, que será armazenado adequadamente em freezers -80°C e poderá ser utilizado em pesquisas futuras, com prévia autorização do Comitê de Ética em Pesquisa, e/ou da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Para amostras de pele, serão utilizados restos de pele retirados na sua cirurgia plástica no Hospital das Clínicas, não havendo necessidade de nenhum procedimento adicional. Nenhum medicamento será administrado para realização da pesquisa;
- As coletas serão feitas por profissionais treinados e competentes e orientados para reduzir os riscos. Os riscos envolvidos nesse projeto se referem à coleta de sangue, que pode ser desconfortável e o braço pode ficar um pouco dolorido e apresentar hematoma que é uma área arroxeadada no local da coleta. Em caso de danos ocasionados por quaisquer procedimentos envolvendo a pesquisa o paciente terá direito a assistência integral e gratuita;
- Com relação aos benefícios na condição de grupo controle, você será submetido a uma avaliação clínica e, caso seja detectada alguma alteração sugestiva de doença autoimune, será encaminhado para um acompanhamento adequado, além de contribuir de maneira geral para a melhor compreensão do mecanismo da doença, favorecendo aos pacientes e guiando as equipes de saúde para maior sucesso no tratamento da doença.
- O participante da pesquisa e a equipe da pesquisa possui total acesso aos seus dados, bem como resultados de exames, os quais ficarão armazenados sob total sigilo e 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 (dados clínicos) ficarão armazenados em arquivos no serviço de Reumatologia, sob a responsabilidade da Dra. Andréa Dantas, no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE (Av. Prof. Moraes Rêgo, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901), pelo período de mínimo 5 anos.

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

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

\_\_\_\_\_  
(assinatura do pesquisador)

**CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)**

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado pela pessoa por mim designada, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **Avaliação da atividade imunomoduladora e antifibrótica de novos derivados tiazofalimídicos na esclerose sistêmica**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

A rogo de \_\_\_\_\_, que é (deficiente visual ou está impossibilitado de assinar), eu \_\_\_\_\_ assino o presente documento que autoriza a sua participação neste estudo.

Local e data \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura

**Eu sei que posso concordar ou não com o armazenamento de minhas amostras biológicas para pesquisas futuras, sem que minha decisão interfira com meu tratamento. Assim sendo, minha decisão é:**

- Sim, eu concordo com o armazenamento proposto.  
 Não, eu não concordo com o armazenamento proposto.

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

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

## ANEXO A – PARECERES DO COMITÊ DE ÉTICA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNOMODULADORA E ANTIFIBRÓTICA DE NOVOS DERIVADOS TIAZOFTALIMÍDICOS NA ESCLEROSE SISTÊMICA

**Pesquisador:** EUDES GUSTAVO CONSTANTINO CUNHA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 96111118.0.0000.5208

**Instituição Proponente:** CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Patrocinador Principal:** CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.466.217



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação e correlação dos níveis séricos da Oncostatina M (OSM), sOSMR e sgp130 com parâmetros clínicos em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico

**Pesquisador:** Maira Galdino da Rocha Pitta

**Área Temática:**

**Versão:** 2

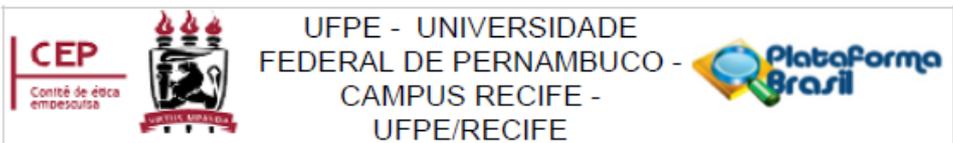
**CAAE:** 45371821.8.0000.5208

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.748.925



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação da Oncostatina M e seus receptores como possíveis biomarcadores para a artrite reumatoide

**Pesquisador:** Louise Fernandes Caetano

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 35411220.6.0000.5208

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.253.614

# ANEXO B – SOLUBLE ONCOSTATIN M RECEPTOR (SOSMR): A POTENTIAL BIOMARKER IN SYSTEMIC SCLEROSIS DIAGNOSIS

Clinica Chimica Acta 569 (2025) 120177



Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cca](http://www.elsevier.com/locate/cca)



## Soluble oncostatin M receptor (sOSMR): A potential biomarker in systemic sclerosis diagnosis

Eudes Gustavo Constantino Cunha<sup>a</sup>, Anderson Rodrigues de Almeida<sup>a,\*,</sup>,  
Andréa Tavares Dantas<sup>b</sup>, Maria Eduarda de Oliveira Gonçalves<sup>a</sup>, Michelly Cristiny Pereira<sup>a</sup>,  
Rafaela Silva Guimarães<sup>b</sup>, Angela Luzia Branco Pinto Duarte<sup>b</sup>,  
Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo<sup>a</sup>, Maira Galdino da Rocha Pitta<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas, Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

<sup>b</sup> Serviço de Reumatologia, Hospital das Clínicas de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Autoimmunity  
Diagnosis  
Fibrosis  
Connective tissue diseases  
Oncostatin M

### ABSTRACT

**Background:** Systemic sclerosis (SSc) is a complex disease whose diagnosis is based on clinical manifestations, serological testing for autoantibodies, and nailfold capillaroscopy. Although some proteins have been proposed as biomarkers, the diagnosis of SSc remains a challenge for clinicians. The soluble oncostatin M receptor (sOSMR) is a potential biomarker for the diagnosis of SSc, as it appears to act as an antagonist of oncostatin M (OSM)-mediated signaling, which is involved in biological and inflammatory processes, including tissue injury and fibrosis. Therefore, this study aimed to evaluate the diagnostic performance of sOSMR in systemic sclerosis. **Methodology:** Serum samples were collected from 105 patients with SSc, 50 with rheumatoid arthritis (RA), 64 with systemic lupus erythematosus (SLE), and 130 healthy controls (HC). The sOSMR levels were measured using an ELISA kit, and a receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the biomarker's potential for diagnosing SSc.

**Results:** sOSMR levels are significantly elevated in the serum of patients with SSc when compared to patients with RA and SLE, as well as healthy controls ( $p < 0.0001$  for all comparisons). The area under the curve (AUC) of ROC curve analysis revealed the ability of sOSMR serum levels to distinguish patients with SSc from those with RA (0.901 [95 % CI 0.842–0.943];  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 89.52 % and specificity of 78.00 %, and from patients with SLE (0.897 [95 % CI 0.841–0.938];  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 81.90 % and specificity of 89.06 %, as well as from healthy controls (0.876 [95 % CI 0.827 – 0.916];  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 82.86 % and specificity of 81.54 %. When comparing patients with SSc to patients with other diseases (RA and SLE combined), an AUC of 0.898 [95 % CI 0.851–0.935];  $p < 0.0001$  was found, with a sensitivity of 82.86 % and specificity of 85.09 %.

**Conclusion:** Serum sOSMR levels are elevated in patients with SSc and have shown a good ability to distinguish between SSc patients, patients with other autoimmune rheumatologic diseases (RA and SLE), and healthy controls. Thus, sOSMR is a promising marker for diagnosing SSc.

### 1. Introduction

Systemic sclerosis (SSc) is a complex rheumatologic autoimmune disease characterized by vasculopathy, immune dysregulation, and progressive tissue fibrosis [1]. Environmental and genetic factors contribute to the development of the disease. Although the onset of SSc

remains unclear, understanding these pathways has advanced [2–5]. Up to 20 % of SSc patients also show features of another connective tissue disease, such as Sjögren's syndrome, myositis, or rheumatoid arthritis, resulting in overlap syndrome [1,2,6].

Over the years, many questions about SSc have been answered, although many others remain unclear. The complex pathogenesis of SSc

\* Corresponding author at: Universidade Federal de Pernambuco, Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica Suely Galdino (NUPIT SG), Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT). Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife, PE CEP: 50670-901, Brazil.

E-mail address: [andersonr.almeida@hotmail.com](mailto:andersonr.almeida@hotmail.com) (A.R. de Almeida).

<https://doi.org/10.1016/j.cca.2025.120177>

Received 8 August 2024; Received in revised form 28 December 2024; Accepted 29 January 2025

Available online 31 January 2025

0009-8981/© 2025 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

involves multiple pathways that need to be considered simultaneously [7]. The pathophysiology appears to begin with microvascular dysfunction and autoimmunity, especially in early SSc, which involves oxidative stress, an imbalance of vasoconstrictors and vasodilators, and aberrant production of autoantibodies [1,2,8]. The fibrotic process begins with excessive production and deposition of extracellular matrix (ECM) by myofibroblasts, the active form of fibroblasts [1,2,5].

The diagnosis of SSc is based on clinical manifestations, serological testing for SSc-associated autoantibodies, and nailfold capillaroscopy [6,9]. Although some proteins have been proposed as biomarkers, diagnosing SSc remains a challenge for clinicians, particularly in developing countries [6]. Furthermore, rapidly progressing cases in SSc patients need to be considered [10]. The autoantibodies currently used to aid in the diagnosis of SSc, such as anti-topoisomerase I (anti-Scl70) and anticentromere, have limitations, such as low sensitivity, which varies from 20-40 % for anticentromere and is less than 25 % for anti-Scl70 [11,12]. In this context, new biomarkers that have greater sensitivity and specificity can provide alternatives and advances in the diagnosis of SSc.

Oncostatin M (OSM) is a pleiotropic cytokine, a member of the IL-6 family, involved in various biological and inflammatory processes, including tissue injury and fibrosis [13–18]. OSM binding occurs through two receptor complexes: type I, formed by the glycoprotein 130 and leukemia inhibitory factor receptor beta (gp130/LIFR $\beta$  complex), and type II, formed by the gp130 and the oncostatin M receptor beta (gp130/OSMR $\beta$  complex) [14–16].

The oncostatin M receptor (OSMR) is expressed in the cytoplasmic membrane of non-hematopoietic cells, including fibroblasts, epithelial, and endothelial cells, or in a soluble form [14]. In addition to the type II OSMR $\beta$  receptor, there is a short form (OSMRs) and a soluble form of OSMR (sOSMR). The short form of OSMR is a protein truncated by alternative splicing due to a stop codon with 1620 base pairs, comprising only 39 % of the full-length OSMR $\beta$ . On the other hand, sOSMR is the product of incomplete splicing between exon 8 and intron 8 junction, resulting in a truncated protein larger than OSMR $\beta$  by 53 amino acid residues [19]. In SSc, OSMR skin gene expression has been identified as a prognostic factor for skin lesion progression and changes in skin score over time in diffuse cutaneous systemic sclerosis (dcSSc) patients [20]. Furthermore, elevated serum levels of sOSMR were found in patients with SSc, suggesting it as a potential biomarker for the disease [21]. However, the performance of sOSMR as a biomarker for diagnosing systemic sclerosis has not yet been evaluated. Thus, this study aimed to evaluate sOSMR as a potential biomarker for SSc diagnosis.

## 2. Methodology

### 2.1. Study Design

A total of 105 SSc patients (96 female) were recruited from the Department of Rheumatology at the Hospital das Clínicas of the Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE). The SSc patients were classified according to the American College of Rheumatology (ACR) 1980 criteria or ACR/European League Against Rheumatism (EULAR) 2013 criteria [22,23]. In addition, 50 patients with rheumatoid arthritis (RA) and 64 with systemic lupus erythematosus (SLE), classified according to the American College of Rheumatology criteria, were included in the study [24,25]. Patients with overlap syndromes were excluded. We included 130 individuals as healthy controls (HC), if they did not have any rheumatologic or autoimmune diseases and were not undergoing immunosuppressive treatment. Peripheral blood samples were obtained from all patients and controls after obtaining informed consent. Demographic, clinical, and laboratory data of the SSc patients were collected from hospital records or by questionnaire (Table 1). The study was approved by the Ethics Committee of the Universidade Federal de Pernambuco (No. 96111118.0.0000.5208 and 63648616.0.0000.5208) in accordance with the Declaration of Helsinki.

**Table 1**

Demographic, clinical, and laboratory presentation of the patients with systemic sclerosis.

Characteristic	SSc (n = 105)	HC(n = 130)
<b>Age (years)</b>		
Mean $\pm$ SD	47.90 $\pm$ 12.69	48.16 $\pm$ 14.12
<b>Sex No. (%)</b>		
Female	96 (91.43)	118 (90.77)
<b>Disease duration (months)</b>		
Median (IQR)	108 (60–216)	
<b>Clinical subsets No. (%)</b>		
Diffuse cutaneous	54 (51.43)	
Limited cutaneous	51 (48.57)	
<b>Clinical manifestations No. (%)</b>		
Raynaud's phenomenon	103 (98.09)	
Esophageal dysfunction	91 (88.35)	
Interstitial lung disease	75 (71.43)	
Telangiectasias	61 (59.22)	
Digital ulcers	45 (48.86)	
Myopathy	18 (17.14)	
Pulmonary arterial hypertension	17 (16.19)	
Calcinosis	12 (11.65)	
Arthritis	19 (18.09)	
Renal crisis	2 (1.90)	
<b>Rodnan score median (IQR)</b>	16 (10–26)	
<b>Autoantibodies No. (%)</b>		
Positive ANA	80/86 (93.02)	
Positive Anti-Scl-70	23/56 (40.07)	
Positive Anticentromere	4/41 (9.76)	
<b>Treatment No. (%)</b>		
CCB	55 (52.38)	
ARB or ACE inhibitor	43 (41.35)	
Sildenafil	16 (15.24)	
Bosentan	7 (6.67)	
Glucocorticoids	41 (39.05)	
Immunosuppressant	62 (59.05)	
Azathioprine	29 (27.62)	
Methodretate	17 (16.19)	
Mycophenolate mofetil	9 (8.57)	
Cyclophosphamide	4 (3.81)	
Rituximab	3 (2.86)	

SSc, systemic sclerosis; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; HC, healthy controls; SD, standard deviation; IQR, interquartile range; ANA, antinuclear antibody; CCB, calcium channel blocker; ARB, angiotensin receptor blocker; ACE, angiotensin-converting enzyme.

### 2.2. Soluble oncostatin M receptor measurement

The sOSMR serum levels were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) commercial kit according to the manufacturer's recommendation (Cat. No. 88-50330, eBioscience/Invitrogen™). The lower limit of detection for the sOSMR ELISA kit was 156.25 pg/mL.

### 2.3. Statistical analysis

The normality of the samples was assessed with the Kolmogorov-Smirnov test. The normally distributed data were presented as the mean and standard deviation, whereas non-normally distributed data were presented as median and interquartile range (IQR, Q1 – Q3). Differences between sOSMR levels in groups of patients and controls were analyzed by the Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons or the Mann-Whitney *U* test. The clinical variables were analyzed with the Student's *t*-test. Correlation analysis was performed using the Spearman or Pearson test. A multivariate regression was conducted to analyze sOSMR, clinical and demographic variables. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis and the area under the curve (AUC) were used to evaluate the potential of the sOSMR to distinguish patients with SSc from RA, SLE, and HC, as well as in SSc clinical variables. Youden's index was used to determine the sensitivity and specificity (100-specificity) cutoff values for sOSMR levels. A *p*-value less than 0.05 (*p* < 0.05)

was considered statistically significant. Data were analyzed using GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA), IBM SPSS Statistic 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) and MedCalc 22.009 (MedCalc Software, Ostend, Belgium) software.

### 3. Results

#### 3.1. sOSMR serum levels in patients with SSc, RA, SLE and healthy controls

The sOSMR levels were significantly increased in SSc patients (372,750.00 [IQR 286,083.30 – 440,238.10] pg/mL;  $p < 0.0001$ ) compared to HC (201,666.70 [IQR 168,526.70 – 243,811.70] pg/mL), RA (172,542.85 [IQR 139,364.27 – 213,658.02] pg/mL) and SLE (195,971.45 [IQR 160,219.80 – 238,956.27] pg/mL). A significant difference was also found when comparing SSc levels with non-SSc diseases (RA and SLE combined) (180,257.15 [IQR 153,828.55 – 235,566.70] pg/mL;  $p < 0.0001$ ) and overall (non-SSc diseases and HC) (193,741.90 [IQR 159,217.82 – 240,150.42] pg/mL;  $p < 0.0001$ ) (Fig. 1). No difference was found between RA and HC, and SLE and HC.

We assessed the associations of sOSMR levels with clinical subsets of SSc, sex, and clinical manifestations, and found higher sOSMR serum levels in SSc patients with digital ulcers ( $392,247.00 \pm 117,681.00$  pg/mL;  $p = 0.0456$ ) compared to patients without this manifestation ( $347,247.00 \pm 108,965.00$  pg/mL) (Table 2). Additionally, we analyzed the correlation of sOSMR with age, disease duration and Rodnan score. A weak positive correlation of sOSMR was found for age ( $r = 0.2668$ ,  $p = 0.0059$ ) (Fig. 2). No significant correlation was observed for the other parameters.

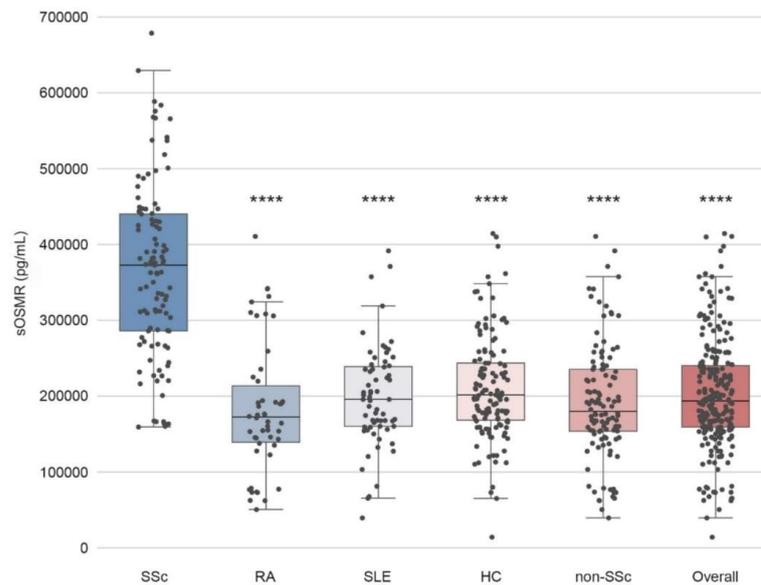
Considering current usage treatment, we found higher sOSMR levels for azathioprine ( $406,609.00 \pm 111,009.00$  pg/mL;  $p = 0.0259$ ), and

lower sOSMR levels in methotrexate ( $296,035.00 \pm 101,208.00$  pg/mL;  $p = 0.0050$ ) administration (Table S1). Moreover, a multivariate analysis was performed with clinical, laboratorial and demographic variables. The results of multivariate analysis shown that age, sex, digital ulcers, and MTX can predict sOSMR with a coefficient of determination of 0.239 (Table S2).

#### 3.2. Accuracy of sOSMR in patients with SSc, RA, SLE and healthy controls

Subsequently, analyses were performed to evaluate the ability of sOSMR to distinguish SSc patients from patients with other rheumatological autoimmune diseases (RA and SLE) and from healthy controls (Table 3). The analysis of the accuracy of sOSMR in SSc versus healthy controls showed an AUC (ROC curve) of 0.876 (95 % CI 0.827 – 0.916;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 82.86 % and specificity of 81.54 % (Fig. 3A). When comparing SSc with other rheumatologic diseases, we found an AUC of 0.901 (95 % CI 0.842–0.943;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 89.52 % and specificity of 78.00 % for RA; and 0.897 (95 % CI 0.841–0.938;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 81.90 % and specificity of 89.06 % for SLE. Considering non-SSc diseases together an AUC of 0.898 (95 % CI 0.851–0.935;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 82.86 % and specificity of 85.09 % was found (Fig. 3D). Next, we assessed SSc versus overall comparative groups including RA, SLE and healthy controls and found an AUC of 0.887 (95 % CI 0.849–0.918;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 82.86 % and specificity of 83.20 % (Table 3).

We evaluated the performance of sOSMR in distinguishing clinical SSc subsets from healthy control and non-SSc groups. The comparison with limited cutaneous systemic sclerosis (lcSSc) and healthy controls revealed an AUC of 0.925 (95 % CI 0.876–0.959;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 90.20 % and specificity of 81.54 %. For non-SSc, an AUC of



**Fig. 1.** Levels of sOSMR in serum of patients with systemic sclerosis (SSc), patients with other rheumatic non-SSc diseases and healthy controls. SSc, systemic sclerosis ( $n = 105$ ); RA, rheumatoid arthritis ( $n = 50$ ); SLE, systemic lupus erythematosus ( $n = 64$ ); HC, healthy controls ( $n = 130$ ); non-SSc, non-systemic sclerosis includes RA and SLE patients; The overall group includes RA, SLE and HC individuals ( $n = 244$ ). All comparisons were made with the SSc group. Data are presented as median, quartiles 1 and 3, and whiskers. Each point represents a single sOSMR serum level. Points above the top whisker and below the bottom whisker are outliers. \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

**Table 2**  
Difference of sOSMR serum levels in clinical manifestations and characteristics of patients with systemic sclerosis.

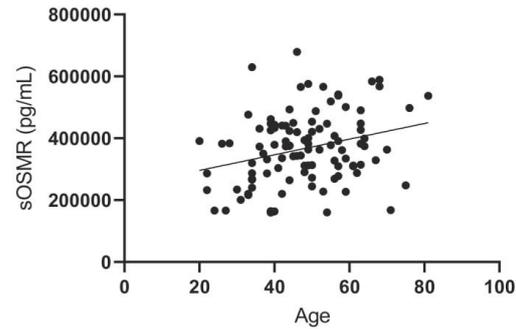
Characteristic		Groups (positive and negative)	Mean $\pm$ SD (pg/mL)	P-value
Clinical subset	lcSSc	51 (48.57 %)	385,277.00 $\pm$ 108,144.00	0.1043
	dcSSc	54 (51.43 %)	348,887.00 $\pm$ 118,368.00	
Sex	Male	9 (8.57 %)	304,482.00 $\pm$ 94,147.00	0.0909
	Female	96 (89.29 %)	372,316.00 $\pm$ 114,872.00	
Raynaud's phenomenon	Yes	103 (98.09 %)	368,242.00 $\pm$ 114,799.00	0.2741
	No	2 (1.91 %)	278,500.00 $\pm$ 43,841.00	
Calcinosis	Yes	12 (11.65 %)	384,249.00 $\pm$ 143,587.00	0.5908
	No	91 (88.35 %)	365,065.00 $\pm$ 111,986.00	
Telangiectasias	Yes	61 (59.22 %)	374,515.00 $\pm$ 119,804.00	0.4471
	No	42 (40.78 %)	356,821.00 $\pm$ 109,231.00	
Digital ulcers	Yes	45 (42.86 %)	392,247.00 $\pm$ 117,681.00	0.0456
	No	60 (57.14 %)	347,247.00 $\pm$ 108,965.00	
ILD	Yes	75 (71.43 %)	376,482.00 $\pm$ 108,264.00	0.1600
	No	30 (28.57 %)	341,661.00 $\pm$ 127,119.00	
PAH	Yes	17 (16.19 %)	415,087.00 $\pm$ 111,936.00	0.0556
	No	88 (83.81 %)	357,153.00 $\pm$ 113,140.00	
Esophageal dysfunction	Yes	91 (88.35 %)	357,964.00 $\pm$ 106,523.00	0.0825
	No	12 (11.65 %)	419,323.00 $\pm$ 162,227.00	
Myopathy	Yes	18 (17.14 %)	342,735.00 $\pm$ 122,897.00	0.3348
	No	87 (82.86 %)	371,456.00 $\pm$ 112,730.00	
Arthritis	Yes	19 (18.09 %)	341,065.00 $\pm$ 88,079.00	0.2859
	No	86 (81.91 %)	372,159.00 $\pm$ 119,177.00	
Renal crisis	Yes	2 (1.91 %)	389,881.00 $\pm$ 76,267.00	0.7724
	No	103 (98.09 %)	366,079.00 $\pm$ 115,259.00	

lcSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; ILD, interstitial lung disease; PAH, pulmonary arterial hypertension; SD, standard deviation.

0.937 (95 % CI 0.888–0.969;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 90.20 % and specificity of 85.09 % was observed (Fig. 3B, E). When comparing dcSSc, we found an AUC of 0.831 (95 % CI 0.768–0.882;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 75.93 % and specificity of 81.54 % for healthy controls; and an AUC of 0.862 (95 % CI 0.801–0.910;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 75.93 % and specificity of 85.96 % for non-SSc (Fig. 3C, F). Next, we compared lcSSc with the overall group and found an AUC of 0.930 (95 % CI 0.895–0.957;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 90.20 % and specificity of 83.20 %. For dcSSc, an AUC of 0.845 (95 % CI 0.799–0.885;  $p < 0.0001$ ), with a sensitivity of 75.93 % and specificity of 83.61 % for the overall group was found (Fig. S1).

#### 4. Discussion

Our findings confirm that sOSMR serum levels are significantly higher in SSc patients than in all other groups (RA, SLE, HC, non-SSc,



**Fig. 2.** Correlation of sOSMR levels in serum of patients with systemic sclerosis (SSc) with age.

**Table 3**

Accuracy of sOSMR in distinguishing patients with systemic sclerosis, from rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus patients, and healthy controls.

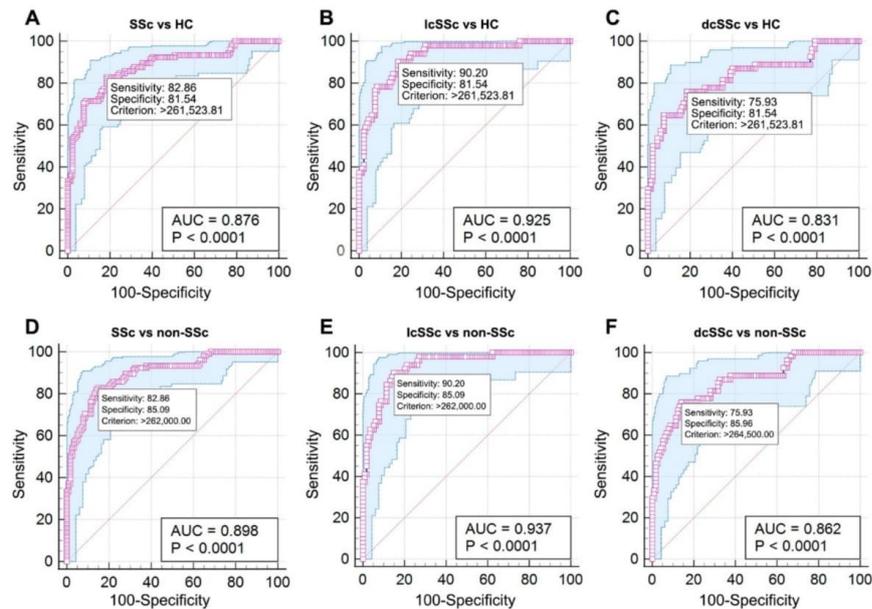
Group (number of subjects tested)	AUC (standard error [95 % CI])	Optimal cut-off values (pg/mL)	Sensitivity (95 % CI)	Specificity (95 % CI)	P-value
RA (50)	0.901 (0.0255 [0.842 – 0.943])	225,437.50	89.52 (82.0 – 94.7)	78.00 (64.0 – 88.5)	<0.0001
SLE (64)	0.897 (0.0241 [0.841 – 0.938])	264,500.00	81.90 (73.2 – 88.7)	89.06 (78.8–95.5)	<0.0001
Non-SSc (114)	0.898 (0.0208 [0.851 – 0.935])	262,000.00	82.86 (74.3 – 89.5)	85.09 (77.2 – 91.1)	<0.0001
HC (130)	0.876 (0.0235 [0.827 – 0.916])	261,523.81	82.86 (74.3 – 89.5)	81.54 (73.8 – 87.8)	<0.0001
Overall (244)	0.887 (0.0204 [0.849 – 0.918])	262,000.00	82.86 (74.3 – 89.5)	83.20 (77.9 – 87.7)	<0.0001

RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; HC, healthy controls; non-SSc, non-systemic sclerosis includes RA and SLE patients; The overall group includes RA, SLE and HC individuals; AUC, area under the curve; CI, confidence interval. All comparisons were made with the systemic sclerosis (SSc) group. The P-value indicates the difference between the AUC of the SSc group and each of the other groups.

and overall) and demonstrate strong accuracy through ROC curve analysis. To our knowledge, this is the first study to evaluate the accuracy of serum sOSMR as a potential biomarker for SSc diagnosis, distinguishing it from other autoimmune diseases.

Identifying SSc early is challenging due to the disease's heterogeneity and symptom similarity with other rheumatologic diseases. Diagnosis can be delayed due to late referrals to specialty hospitals and a lack of standardized, specific, and sensitive diagnostic tests [6,10]. Over the last two decades, efforts have been focused on early diagnosis to prevent irreversible organ damage and enable early therapeutic interventions, thereby improving prognosis and life expectancy [2,6].

To overcome the difficulty in having an early diagnosis and the lack of sensitivity for early SSc and limited cutaneous SSc, the ACR/EULAR published a new classification in 2013 including more accurate criteria



**Fig. 3.** Receiver operating characteristic (ROC) curve of sOSMR in serum of patients with limited cutaneous and diffuse cutaneous systemic sclerosis distinguishing from healthy controls and non-SSc patients. SSc, systemic sclerosis; lcSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; HC, healthy controls; non-SSc, non-systemic sclerosis includes rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE) patients; AUC, area under the curve.

for diagnoses than the ACR criteria from 1980, which maintained the criteria proposed in 1980 and added several additional cases to the SSc classification. According to the ACR/EULAR 2013 criteria individuals with a score of 9 or higher are classified as SSc patients. These criteria also include the three classes of clinical manifestations of the disease: vasculopathy, presence of specific autoantibodies, and fibrosis of the skin and internal organs [1,2,22,26–28].

However, to date, no single test or biomarker is able to diagnose individuals with SSc [6]. Biomarkers are a useful tool for diagnosis, prognosis, and prediction [29,30]. In addition, clinical features and radiographic examinations, laboratory analyses are necessary to aggregate information, especially in cases of clinically barely noticeable involvement [10].

Autoantibodies are immunological intrinsic biomarkers widely used in SSc [30,31]. Approximately 95 % of SSc patients present anti-nuclear antibodies (ANA) which are useful for diagnosis, classification, and prognosis [10,31]. Moreover, several other types of biomarkers are under investigation in the context of SSc [31–34]. Since early diagnosis of SSc is still a challenge due to the lack of typical symptoms, biomarkers are essential to help clinicians diagnose and anticipate treatment to prevent further damage [35]. Furthermore, some patients have symptoms similar to other autoimmune rheumatologic diseases such as Raynaud's phenomenon fatigue, muscle weakness, joint pain, and morning stiffness. However, each disease has distinct peculiarities and mechanisms.

Antinuclear autoantibodies such as anticentromere and anti-topoisomerase I (anti-Scl-70) are currently used as biomarkers and aid in the diagnosis of SSc. The sensitivity of anticentromere ranges from 20 % to 40 % and the specificity is greater than 90 % [11,12]. Depending on the immunoassay used for its detection, the specificity of anti-Scl-70 for SSc can be up to 99 %. However, the reported sensitivity of any single assay is generally less than 25 % [36,37,38]. By combining results

obtained by indirect immunofluorescence, ELISA and immunoblot, Tamby et al. reported that this autoantibody is detected in 36.9 % of patients with SSc, but in only 24.3 % by ELISA [39,40]. In parallel, our findings indicate superiority in the sensitivity value for measuring sOSMR levels by ELISA and specificity results that are similar to the biomarkers already used.

Several studies have demonstrated the relevance of the IL-6 family and receptors in SSc pathogenesis [13,15,41]. OSM participates in fibroblast activation, various stages of the fibrotic process, and vascular dysfunction [13–18]. In humans, the outcome of the response depends on the concentration of OSM, the interaction with the type of receptor complexes, the type of cell that will receive the signal, and the cytokines involved in subsequent signaling [16,42].

OSM plays a key role in inflammation and tissue damage. This cytokine is produced by several cells that are implicated in the pathogenesis of SSc, such as lymphocytes, activated macrophages and fibroblasts. After binding of OSM to its receptor, the OSMR complex has the ability to activate different signaling pathways, such as Janus-activated kinase/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK/STAT3) and c-Jun N-terminal Kinase (JNK) [43]. It is known that in biopsies of patients with SSc there is a notable activation of the JAK/STAT3 pathway and therapeutic approaches to inhibit this pathway can promote benefits in the treatment of the disease [44]. Furthermore, transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ), the main regulator of the fibrotic process, activates JNK [45].

De Almeida et al. reported undetectable levels of OSM in Brazilian SSc patients and healthy controls sera [21]. However, recent clinical trial outcomes revealed that OSM inhibition by GSK2330811 did not show significant clinical results compared to placebo [46]. Additionally, therapeutic neutralization of OSM with the monoclonal antibody GSK2330811 causes anemia and thrombocytopenia [47].

OSMR is highly expressed by several mesenchymal cells, including

fibroblasts, adipocytes, endothelial cells, and epithelial cells, among others. Some of these cells are precursors of myofibroblasts and have been implicated in the pathogenesis of SSc [14,17]. The affinity of OSM binding to the type I gp130/LIFR $\beta$  complex is lower than to the type II gp130/OSMR $\beta$  complex, indicating that the OSM-OSMR axis is most relevant for OSM signaling [15].

A previous study reported higher levels of sOSMR in patients with SSc compared to healthy controls [21]. Our results also show that serum sOSMR levels in SSc patients are higher than in patients with RA, SLE, and healthy controls. Although the median sOSMR levels in lcSSc patients are slightly higher than in dcSSc patients, this difference is not statistically significant. This finding remains consistent when comparing lcSSc and dcSSc subgroups with patients with RA, SLE, and healthy controls.

The accuracy of sOSMR was good when comparing SSc with healthy controls and non-SSc rheumatologic autoimmune diseases (RA and SLE). The comparison of SSc with the non-SSc group approaches a clinical scenario where a patient is under observation for diagnosis and presents symptoms common to these diseases. Furthermore, the accuracy for the lcSSc subset proved to be particularly excellent in distinguishing between healthy controls and non-SSc diseases. This phenomenon is interesting because patients with lcSSc have a slower disease progression than dcSSc. Thus, sOSMR measurement could be a biomarker for both clinical subtypes of SSc but mainly for lcSSc. Since our study did not focus on the early diagnosis of SSc, future studies are needed to explore the accuracy of sOSMR in very early SSc.

In line with De Almeida et al. findings, serum sOSMR levels were found to be higher in SSc patients with digital ulcers but not esophageal dysfunction [21]. Since sOSMR levels are higher in lcSSc patients, this finding suggests that serum sOSMR levels could be associated with vascular involvement. Similarly, Marden et al. suggested that increased expression of OSMR $\beta$  on skin endothelial cells could be related to SSc-associated vasculopathy [18].

Correlation analysis showed that serum sOSMR levels in SSc patients were weakly and positively associated with age. We hypothesized that the immunosuppressive effect of methotrexate may directly or indirectly decrease sOSMR levels, however this result would need to be confirmed in an appropriate study that allows the evaluation of sOSMR levels before and after MTX use, so we highlight the limitation of our study for this statement. On the other hand, azathioprine appears to be only a confounding factor, as no other correlations were found in azathioprine-positive patients. To better assess variables related to sOSMR a multivariate analysis with clinical, laboratory, and demographic variables was performed. These results show that age, sex, digital ulcers, and MTX can predict sOSMR, but with a weak coefficient of determination. Thus, the model confirms the association of these variables with sOSMR but the predictive ability of the model is weak. The other variables were not important for the model.

The role of sOSMR in the pathogenesis of SSc is not fully understood yet. However, skin gene expression of OSMR $\beta$  has recently been identified as a prognostic biomarker for the progression of skin injury in dcSSc patients [20]. Marden et al. found increased expression of OSMR $\beta$  in skin vessels, endothelial cells, and fibroblasts of SSc patients [18].

A single diagnostic marker may not be realistic due to the heterogeneity of SSc; however, testing serum samples may be more affordable and non-invasive. Alternatives for detecting sOSMR in the serum of SSc patients are currently being explored [48]. Since some symptoms are common in SSc, RA and SLE patients, sOSMR could be a predictive biomarker for the differential diagnosis between SSc, RA, and SLE.

Other studies reported similar accuracy values to our results. The S100A8 protein presented an AUC of 0.831 for the diagnosis of SLE, copeptin presented an AUC of 0.863 in the discrimination between SSc patients with and without digital ulcers, and IL-32 presented an AUC of 0.950 in the prediction of patients with PAH [49,50,51].

This study had several limitations. Firstly, the participants were from a single-center study with a relatively small sample size. Secondly, since

SSc affects multiple systems and causes various symptoms, all patients were on drug treatment, with over half using immunosuppressants, which could impact the course of the disease.

Validation in a diverse population and investigation of the molecular mechanism of sOSMR in SSc pathophysiology could provide deeper insights into the disease. Further research is crucial to explore sOSMR in early SSc stages and overlap syndrome cases. Additionally, future studies should assess sOSMR levels in other non-invasive fluids, such as urine and saliva, despite serum being the most readily available sample in clinical practice.

## 5. Conclusion

In summary, our study provides insight into the promising diagnostic role of sOSMR serum levels in SSc. The sOSMR is a potential biomarker to identify SSc cases distinguishing from RA, SLE, and healthy individuals. Further research is needed to validate and confirm the diagnostic potential of sOSMR in different populations.

## Funding sources

This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE); and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## CRediT authorship contribution statement

**Eudes Gustavo Constantino Cunha:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Anderson Rodrigues de Almeida:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Formal analysis, Data curation. **Andréa Tavares Dantas:** Writing – review & editing, Supervision, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Maria Eduarda de Oliveira Gonçalves:** Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Michelly Cristiny Pereira:** Writing – review & editing, Resources, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Rafaela Silva Guimarães Gonçalves:** Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis, Data curation. **Angela Luzia Branco Pinto Duarte:** Writing – review & editing, Supervision, Project administration, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Moacyr Jesus Barreto de Melo Rego:** Writing – review & editing, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation. **Maira Galdino da Rocha Pitta:** Writing – review & editing, Supervision, Resources, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation.

## Acknowledgements

The authors would like to express their sincere thanks to all the participants in this study.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.cca.2025.120177>.

## Data availability

Data will be made available on request.

## References

- [1] Y. Allanore, R. Simms, O. Distler, M. Trojanowska, J. Pope, C.P. Denton, J. Varga, Systemic sclerosis, *Nat. Rev. Dis. Primers* 1 (2015), <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.2>.

- [2] C.P. Denton, D. Khanna, Systemic sclerosis, *Lancet* 390 (2017) 1685–1699, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30933-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30933-9).
- [3] Y. Asano, Systemic sclerosis, *J. Dermatol.* 45 (2018) 128–138, <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14153>.
- [4] M. Di Battista, G. Lepri, V. Codullo, M. Da Rio, E. Fiorentini, A. Della Rossa, S. Guiducci, Systemic sclerosis: one year in review 2023, *Clin. Exp. Rheumatol.* 41 (2023) 1567–1574, <https://doi.org/10.55563/CLINEXPRHEUMATOL/KI7655>.
- [5] D. Benfaremo, S. Svegliati, C. Paolini, S. Agarbaty, G. Moroncini, Systemic sclerosis: from pathophysiology to novel therapeutic approaches, *Biomedicines* 10 (2022) 163, <https://doi.org/10.3390/BIMEDICINES10010163>.
- [6] M. Hughes, A.L. Herrick, Systemic sclerosis, *Br. J. Hosp. Med.* 80 (2019) 530–536, <https://doi.org/10.12968/HMED.2019.80.9.530>.
- [7] A. Sierra-Sepúlveda, A. Esquinca-González, S.A. Benavides-Suárez, D.E. Sordo-Lima, A.E. Caballero-Islas, A.R. Cabral-Castañeda, T.S. Rodríguez-Reyna, Systemic sclerosis pathogenesis and emerging therapies, beyond the fibroblast, *Biomed Res. Int.* 2019 (2019) 4569826, <https://doi.org/10.1155/2019/4569826>.
- [8] B. Thoreau, B. Chaigne, A. Renaud, L. Mouthon, Pathophysiology of systemic sclerosis, *Presse Medicale* 50 (2021), <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2021.104087>.
- [9] R. Jerjen, M. Nikpour, T. Krieg, C.P. Denton, A.M. Saracino, Systemic sclerosis in adults. Part I: Clinical features and pathogenesis, *J. Am. Acad. Dermatol.* 87 (2022) 937–954, <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2021.10.065>.
- [10] E.R. Volkman, K. Andréasson, V. Smith, Systemic sclerosis, *Lancet (London, England)* 401 (2023) 304–318, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01692-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01692-0).
- [11] J.G. Walker, M.J. Fritzler, Update on autoantibodies in systemic sclerosis, *Curr. Opin. Rheumatol.* 19 (2007) 580–591, <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e3282e7d8f9>.
- [12] V.D. Steen, Autoantibodies in systemic sclerosis, *Semin. Arthritis Rheum.* 35 (2005) 35–42, <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2005.03.005>.
- [13] Y. Kawaguchi, Contribution of interleukin-6 to the pathogenesis of systemic sclerosis, *Journal of Scleroderma and Related Disorders* 2 (2017) S6–S12, <https://doi.org/10.5301/jsrd.5000258>.
- [14] N.R. West, B.M.J. Owens, A.N. Hegazy, The oncostatin M-stromal cell axis in health and disease, *Scand. J. Immunol.* 88 (2018) 1–18, <https://doi.org/10.1111/sji.12694>.
- [15] C.L. Wolf, C. Pruet, D. Lighter, C.L. Jorczyk, The clinical relevance of OSM in inflammatory diseases: a comprehensive review, *Front. Immunol.* 14 (2023) 1239732, <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1239732/BIBTEX>.
- [16] L. Stawski, M. Trojanowska, Oncostatin M and its role in fibrosis, *Connect. Tissue Res.* 60 (2019) 40–49, <https://doi.org/10.1080/03008207.2018.1500558>.
- [17] N. DeMarco, V. Rai, D.R. Wilson, D.K. Agrawal, Oncostatin M, serpins, and oxidative stress in extracellular matrix remodeling and arteriovenous fistula maturation, *Cardiology and Cardiovascular Medicine* 7 (2023) 129–140, <https://doi.org/10.26502/FCCM.92920318>.
- [18] G. Marden, Q. Wan, J. Wilks, K. Nevin, M. Feeney, N. Wisniacki, M. Trojanowski, A. Bujor, L. Stawski, M. Trojanowska, The role of the oncostatin M/OSM receptor  $\beta$  axis in activating dermal microvascular endothelial cells in systemic sclerosis, *Arthritis Res. Ther.* 22 (2020) 179, <https://doi.org/10.1186/S13075-020-02266-0>.
- [19] D.R. Chen, C.Y. Chu, C.Y. Chen, H.C. Yang, Y.Y. Chiang, T.Y. Lin, I.P. Chiang, D. Y. Chuang, C.C. Yu, K.C. Chow, Expression of short-form oncostatin M receptor as a decoy receptor in lung adenocarcinomas, *J. Pathol.* 215 (2008) 290–299, <https://doi.org/10.1002/PATH.2361>.
- [20] G. Stifano, T. Sorrasse, L.M. Rice, L. Na, H. Chen-Harris, D. Khanna, A. Jahreis, Y. Zhang, J. Siegel, R. Lafayatis, Skin Gene Expression Is Prognostic for the Trajectory of Skin Disease in Patients With Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis, *Arthritis and Rheumatology* 70 (2018) 912–919, <https://doi.org/10.1002/art.40455>.
- [21] A.R. de Almeida, A.T. Dantas, M.C. Pereira, M.J.B. de Melo Rêgo, R.S. Guimarães Gonçalves, I. da R. Pitta, A.L. Branco Pinto Duarte, D.S. Parra Abdalla, M.G. da Rocha Pitta, Increased levels of the soluble oncostatin M receptor (sOSMR) and glycoprotein 130 (gp130) in systemic sclerosis patients and associations with clinical parameters, *Immunobiology* 225 (2020) 151964, <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.151964>.
- [22] F. Van Den Hoogen, D. Khanna, J. Fransen, S.R. Johnson, M. Baron, A. Tyndall, M. Matucci-Cerinic, R.P. Naden, T.A. Medsger, P.E. Carreira, G. Riemekasten, P. J. Clements, C.P. Denton, O. Distler, Y. Allanore, D.E. Furst, A. Gabrielli, M. D. Mayes, J.M. Van Laar, J.R. Seibold, L. Czirjak, V.D. Steen, M. Inanc, O. Kowal-Bielecka, U. Müller-Ladner, G. Valentini, D.J. Veale, M.C. Vonk, U.A. Walker, L. Chung, D.H. Collier, M.E. Csuka, B.J. Fessler, S. Guiducci, A. Herrick, V.M. Hsu, S. Jimenez, B. Kahaleh, P.A. Merkel, S. Sierakowski, R.M. Silver, R.W. Simms, J. Varga, J.E. Pope, classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative, *Arthritis Rheum.* 65 (2013) 2737–2747, <https://doi.org/10.1002/art.38098>.
- [23] A.T. Masi, Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma), *Arthritis Rheum.* 23 (1980) 581–590, <https://doi.org/10.1002/art.1780230510>.
- [24] M.C. Hochberg, Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 40 (1997) 1725, <https://doi.org/10.1002/ART.1780400928>.
- [25] F.C. Arnett, S.M. Edworthy, D.A. Bloch, D.J. Meshane, J.F. Fries, N.S. Cooper, L. A. Healey, S.R. Kaplan, M.H. Liang, H.S. Luthra, T.A. Medsger, D.M. Mitchell, D. H. Neustadt, R.S. Pinals, J.G. Schaller, J.T. Sharp, R.L. Wilder, G.G. Hunder, The american rheumatism association, revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.* 31 (1988) 315–324, <https://doi.org/10.1002/ART.1780310302>.
- [26] J. Tian, S. Kang, D. Zhang, Y. Huang, M. Zhao, X. Gui, X. Yao, Q. Lu, Global, regional, and national incidence and prevalence of systemic sclerosis, *Clin. Immunol.* 248 (2023) 109267, <https://doi.org/10.1016/J.CLIM.2023.109267>.
- [27] E.J. Kucharz, M. Kopeć-Medrek, Systemic sclerosis sine scleroderma, *Adv. Clin. Exp. Med.* 26 (2017) 875–880, <https://doi.org/10.17219/acem/64334>.
- [28] S. Bellando-Randome, M. Matucci-Cerinic, Very early systemic sclerosis, *Best Practice & Research. Clin. Rheumatol.* 33 (2019) 101428, <https://doi.org/10.1016/J.BERH.2019.101428>.
- [29] J.K. Aronson, R.E. Ferner, Biomarkers-A General Review, *Current Protocols in Pharmacology* 76 (2017) 9.23.1–9.23.17, <https://doi.org/10.1002/CPPH.19>.
- [30] J.K. Aronson, Biomarkers and surrogate endpoints, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 59 (2005) 491–494, <https://doi.org/10.1111/J.1365-2125.2005.02435.X>.
- [31] M. Muruganandam, A. Ariza-Hutchinson, R.A. Patel, W.L. Sibbitt, Biomarkers in the pathogenesis, diagnosis, and treatment of systemic sclerosis, *J. Inflamm. Res.* 16 (2023) 4633–4660, <https://doi.org/10.2147/JIR.S379815>.
- [32] H. Graßhoff, K. Fournalakis, S. Comdühr, G. Riemekasten, Autoantibodies as biomarker and therapeutic target in systemic sclerosis, *Biomedicines* 10 (2022) 2150, <https://doi.org/10.3390/BIMEDICINES10092150>.
- [33] J.R. Arron, Biomarkers in systemic sclerosis: mechanistic insights into pathogenesis and treatment, *Curr. Opin. Rheumatol.* 33 (2021) 480–485, <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000827>.
- [34] B. Skaug, S. Assasi, Biomarkers in systemic sclerosis, *Curr. Opin. Rheumatol.* 31 (2019) 595–602, <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000656>.
- [35] K.K. Pawlik, A. Bohdziewicz, M. Chrabaszcz, A. Stochmal, M. Sikora, R. Alda-Malicka, J. Czuwara, L. Rudnicka, Biomarkers of disease activity in systemic sclerosis, *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)* 73 (2020) 2300–2305, <https://doi.org/10.36740/WLEK202010137>.
- [36] M. Koenig, M. Dieudé, J.L. Senécal, Predictive value of antinuclear autoantibodies: The lessons of the systemic sclerosis autoantibodies, *Autoimmun. Rev.* 7 (2008) 588–593, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2008.06.010>.
- [37] J.D. Reveille, D.H. Solomon, P. Schur, A. Kavanaugh, Y.R.S. Sherrer, R. Lahita, Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies, *Arthritis Care Res.* 49 (2003) 399–412, <https://doi.org/10.1002/art.11113>.
- [38] M. Mahler, E.D. Silverman, J. Schulte-Pelkum, M.J. Fritzler, Anti-Scl-70 (topo-I) antibodies in SLE: Myth or reality? *Autoimmun. Rev.* 9 (2010) 756–760, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.06.005>.
- [39] M.C. Tamby, G. Bussone, L. Mouthon, Antitopoisomerase 1 antibodies in systemic sclerosis: How to improve the detection? *Ann. n. y. Acad. Sci.* 1109 (2007) 221–228, <https://doi.org/10.1196/annals.1398.026>.
- [40] M.C. Tamby, A. Servetaz, P. Guilpain, N. Tamas, A. Berezne, F. Batteux, J. Reinbolt, L. Guillevin, B. Weill, L. Mouthon, Immunoblotting on HEp-2 cells increases the detection of antitopoisomerase 1 antibodies in patients with systemic sclerosis, *Clin. Immunol.* 123 (2007) 82–88, <https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.12.003>.
- [41] A.T. Dantas, A.R. de Almeida, M.C.P.D. Sampaio, M.F. Cordeiro, P.S.S. de Oliveira, H. de A. Mariz, M.C. Pereira, M.J.B. de M. Rego, I. da R. Pitta, A.L.B.P. Duarte, M.G. da R. Pitta, Different profile of cytokine production in patients with systemic sclerosis and association with clinical manifestations, *Immunology Letters* 198 (2018) 12–16, <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.03.011>.
- [42] F. Lantieri, T. Bachetti, OSM/OSMR and interleukin 6 family cytokines in physiological and pathological condition, *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 11096, <https://doi.org/10.3390/IJMS231911096>.
- [43] C.L. Wolf, C. Pruet, D. Lighter, C.L. Jorczyk, The clinical relevance of OSM in inflammatory diseases: a comprehensive review, *Front. Immunol.* 14 (2023) 1–24, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1239732>.
- [44] W. Wang, S. Bhattacharyya, R.G. Marangoni, M. Carns, K. Dennis-Aren, A. Yeldandi, J. Wei, J. Varga, The JAK/STAT pathway is activated in systemic sclerosis and is effectively targeted by tofacitinib, *Journal of Scleroderma and Related Disorders* 5 (2020) 40–50, <https://doi.org/10.1177/2397198319865367>.
- [45] N. Reich, M. Tomeik, P. Zerr, V. Lang, C. Dees, J. Avouac, K. Palumbo, A. Horn, A. Akhmetshina, C. Beyer, W. Xie, B.L. Bennett, O. Distler, G. Schett, J.H.W. Distler, Jun N-terminal kinase as a potential molecular target for prevention and treatment of dermal fibrosis, *Ann. Rheum. Dis.* 71 (2012) 737–745, <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200412>.
- [46] C.P. Denton, F. Del Galdo, D. Khanna, M.C. Vonk, L. Chung, S.R. Johnson, J. Varga, D.E. Furst, J. Temple, C. Zecchin, E. Cosmor, A. Lee, N. Wisniacki, S.M. Flint, J. Reid, Biological and clinical insights from a randomized phase 2 study of an anti-oncostatin M monoclonal antibody in systemic sclerosis, *Rheumatology (Oxford)* 62 (2022) 234–242, <https://doi.org/10.1093/RHEUMATOLOGY/KEAC300>.
- [47] A. Thorsted, C. Zecchin, A. Berges, M.O. Karlsson, L.E. Friberg, Predicting the long-term effects of therapeutic neutralization of oncostatin M on human hematopoiesis, *Clin. Pharmacol. Ther.* (2024), <https://doi.org/10.1002/CPT.3246>.
- [48] K.Y.P.S. Avelino, A.G. Silva-Junior, M.G.R. Pitta, A. Errachid, M.D.L. Oliveira, C.A. S. Andrade, Nanoimmunosensor for the electrochemical detection of oncostatin M receptor and monoclonal autoantibodies in systemic sclerosis, *Talanta* 256 (2023) 124285, <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2023.124285>.
- [49] P. Di Benedetto, G. Guggino, G. Manzi, P. Ruscitti, O. Berardicurti, N. Panzera, N. Grazia, R. Badagliacca, V. Riccieri, C.D. Vizza, G. Radchenko, V. Liakouli, F. Ciccia, P. Cipriani, R. Giacomelli, Interleukin-32 in systemic sclerosis, a potential

- new biomarker for pulmonary arterial hypertension, *Arthritis Res. Ther.* 22 (2020) 1–9, <https://doi.org/10.1186/s13075-020-02218-8>.
- [50] J.W. Kim, J.Y. Jung, S.W. Lee, W.Y. Baek, H.A. Kim, C.H. Suh, S100A8 in Serum, Urine, and Saliva as a Potential Biomarker for Systemic Lupus Erythematosus, *Front. Immunol.* 13 (2022) 1–9, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.886209>.
- [51] M. Maciejewska, A. Stec, M. Zaremba, C. Maciejewski, L. Rudnicka, M. Sikora, Copeptin as a Biomarker of Microcirculation Alterations in Systemic Sclerosis, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 16 (2023) 1351–1361, <https://doi.org/10.2147/CCID.S409490>.