

COD. ACERVO: 71618

R1384.1950/05 21/06/05 BES

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA - CLÍNICA MÉDICA

ANTICORPOS ANTI-NUCLEOSSOMA EM PACIENTES COM

LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO:

ESTUDO LONGITUDINAL

OSWALDO AUGUSTO GUTIÉRREZ ADRIANZÉN

T63677

G 995a

FORTALEZA - CEARÁ

2002



OSWALDO AUGUSTO GUTIÉRREZ ADRIANZÉN

**ANTICORPOS ANTI-NUCLEOSSOMA EM PACIENTES COM
LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO:
ESTUDO LONGITUDINAL**

**Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Medicina –
Clínica Médica, do Departamento de
Medicina Clínica da Universidade
Federal do Ceará para obtenção do
título de Mestre em Clínica Médica**

**Orientador:
Prof. Dr. Henry de Holanda Campos**

**FORTALEZA – CEARÁ
2002**



FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Ceará
©reprodução autorizada pelo autor

G995a Gatiérrez-Adrianzen, Oswaldo Augusto.

Anticorpos anti-nucleossoma em pacientes com lupus eritematoso sistêmico: estudo longitudinal./ Oswaldo Augusto Gutiérrez Adrianzen. – Fortaleza, 2002.

186f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Henry de Holanda Campos

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina.

1. Lupus eritematoso sistêmico – diagnóstico. 2. Lupus eritematoso sistêmico – imunologia. 3. Anticorpos anti-dna. 4. Anticorpos antinucleares. I. Campos, Henry de Holanda. II. Título.

CDD 616.77



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DO
MESTRANDO OSWALDO AUGUSTO GUTIÉRREZ
ADRIANZÉN REALIZADA PELO MESTRADO EM
MEDICINA, NO AUDITÓRIO PAULO MARCELO DO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ, NO DIA NOVE DE AGOSTO DE
2002.

Aos nove dias do mês de agosto de dois mil e dois foi realizada no Auditório Paulo Marcelo do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal do Ceará, a defesa pública da Dissertação de Mestrado de autoria de Oswaldo Augusto Gutiérrez Adrianzén, intitulada: "ANTICORPOS ANTI-NUCLEOSSOMA EM PACIENTES COM LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: ESTUDO LONGITUDINAL" para obtenção do título de Mestre em Medicina. A Banca Examinadora foi composta pelos Professores Doutores: Henry de Holanda Campos, Aparecido Bernardo Pereira e Marta Maria das Chagas Medeiros. Após a apresentação e arguição da referida Dissertação, o mestrando foi considerado *aprovado com louvor*. A presente ata vai assinada pelo Coordenador do Curso e pela Banca Examinadora e, com base nas normas vigentes, o candidato faz jus ao Grau de Mestre em Medicina.

.COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Henry de Holanda Campos
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Aparecido Bernardo Pereira
Universidade Federal de São Paulo

Profª Dra. Marta Maria das Chagas Medeiros
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Pedro Felipe Carvalheiro de Bruin
COORDENADOR



A meus pais, Oswaldo e Consuelo,
que me deram a vida e alimentaram meus
sonhos de ser médico.

A meus sogros, Luciano e Angela, a
meus queridos Angela Maria, Oswaldo
Filho, Daniel, Angela Laís e Oswaldo
Neto, que me ensinam a viver e apóiam
minha dedicação ao exercício digno da
Medicina.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Henry de Holanda Campos com quem descobri os extraordinários caminhos da pesquisa médica, pelo apoio, pela dedicação incomum e, sobretudo pelo incentivo científico prestados durante todo o transcurso desta dissertação.

À Profa. Dra. Marta Maria das Chagas Medeiros, exemplo de ética, honradez e qualificação profissional pelos ensinamentos transmitidos durante a elaboração desta dissertação, sempre alicerçados no rigor científico que imprime à pesquisa na área médica.

À Dra. Sophie Koutouzov e a todos os técnicos do Laboratório 25 do *Institut Nationale de la Santé et de la Recherche Médicale -INSERM- Hôpital Necker*, Paris, particularmente à Sra Marie Françoise, pela paciente e diligente dedicação na realização da pesquisa dos anticorpos durante o estudo longitudinal.

À Prof. Rosa Maria Salani Mota, pelo eficiente apoio estatístico na análise estatística dos resultados aqui apresentados e pelo zelo profissional demonstrado durante a realização desta pesquisa.

A Andréa Eloy, Roberto Montenegro, Leonardo Beserra Landim, que atuaram como bolsistas nesta pesquisa, pela contribuição prestada na coleta de dados, com especialmente agradecimento a Leonardo pela dedicação demonstrada em outras atividades da pesquisa.

Aos colegas, Prof. Clayton M. Ribeiro, Dra Ana Paula Teixeira de Menezes, Dra Daniele Cabral de Lima, Dra Virginia A. L. Silveira, do Ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, pelo

proveitoso intercâmbio de experiências que tivemos na área de diagnóstico, tratamento e acompanhamento do Lupus Eritematoso Sistêmico.

À Direção do Hospital Universitário Walter Cantídio, particularmente ao Dr. Eugenio L. C. Maia pela possibilidade de incluir nesta pesquisa, pacientes internados e em seguimento ambulatorial, nessa instituição.

Ao Laboratório Central do Hospital Universitário Walter Cantídio, de modo especial à Dra. Zilmar Fontenele e Silva e à Sra. Maria de Fátima Castro e Silva, que demonstraram de forma extraordinária, interesse, disponibilidade e dedicação na coleta, classificação e estocagem das amostras de soro para congelamento, assim como, na realização de exames laboratoriais dos pacientes acompanhados ao longo do estudo longitudinal.

À Profa. Dra. Lília M. Carneiro Câmara, do Laboratório de Imunologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela eficiência na realização da pesquisa dos anticorpos anti-ENA dos pacientes incluídos no estudo.

Ao Prof. Dr. Ivo Castelo Branco, por ter permitido a estocagem das amostras de soro congeladas desta pesquisa, no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

À Profa. Dra. Lúcia Libanês Bessa Campelo Braga e ao Prof. Dr. Pedro Felipe Carvalhedeo de Bruin, respectivamente ex-Coordenadora e atual Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Medicina - Clínica Médica, pelo constante apoio na conclusão desta dissertação.

Aos colegas do Departamento de Medicina Clínica, em especial, aos da área de Nefrologia, pela compreensão durante o período do meu afastamento e, pelo incentivo que deles recebi e aos funcionários do mesmo Departamento, particularmente à Sra Vânia M. B. Gradvhol e Ivone M. F. Sousa, pelo apoio que me prestaram durante o período em que cursei a pós-graduação.

A meus companheiros de Mestrado pelo convívio, amizade e intercâmbio de conhecimentos, o que muito nos aproximou.

A Norma C. Linhares pela gentil e prestimosa colaboração na revisão das referências bibliográficas

Aos pacientes acometidos pelo Lupus Eritematoso Sistêmico por sua participação nesta pesquisa, que abre a possibilidade de ajudar outros pacientes no diagnóstico mais precoce desta doença.

“No matter how important are new discoveries and methods, they can not be considered to have reached fulfillment until generally applied to the sick”

William B. Castle

RESUMO

INTRODUÇÃO: O Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença de natureza autoimune, caracterizada pela formação de imunocomplexos. Embora estudos preliminares tenham apontado o DNA de hélice dupla (dsDNA) como o antígeno mais importante na patogenia do LES, vários estudos mais recentes têm demonstrado o papel central do nucleossoma como o antígeno gerador do repertório de antígenos nucleares, com o anticorpo anti-nucleossoma precedendo o aparecimento dos anticorpos anti-dsDNA e anti-histona.

OBJETIVOS: Determinar a prevalência do anti-nucleossoma no LES; avaliar prospectivamente o valor diagnóstico do anti-nucleossoma na atividade geral da doença e na nefrite lúpica; comparar os valores de prevalência, sensibilidade, especificidade e os valores preditivos positivos e negativos do anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona.

CASUÍSTICA E MÉTODOS: Pacientes com diagnóstico de LES, de acordo com o Colégio Americano de Reumatologia, atendidos no Hospital Universitário Walter Cantídio da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, foram avaliados seqüencialmente durante 12 meses. Em cada consulta, amostras de sangue e de urina foram colhidas para realização de hemograma completo, uréia, creatinina, sumário de urina, proteinúria de 24hs, albumina sérica, C3, C4, FAN, anti-Sm, anti-Ro anti-La, e anti-RNP. Os anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona foram pesquisados no Laboratório do *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM), Hôpital Necker, em Paris, França, através do método imunoenzimático (ELISA). A atividade da doença foi avaliada em cada consulta pelos critérios do LAAC e SLEDAI.

RESULTADOS: 113 pacientes foram avaliados inicialmente, mas somente 87 desses preencheram os critérios de, no mínimo, 8 consultas durante o período de 12 meses de acompanhamento e, portanto, foi a população considerada para o estudo prospectivo. As manifestações clínicas mais comuns da doença, na avaliação inicial, foram: artrite (69,0%), fotossensibilidade (63,2%), lesões cutâneas (59,8%) e nefrite (54,0%). 84 pacientes eram do sexo feminino e 3 do sexo masculino, com média de idade=33,15 (DP=10,90) anos e tempo médio de doença= 60,70 (DP=66,19) meses. A prevalência da nefrite durante as doze avaliações variou de 37 a 55,2%, com tendência à redução a partir da 2ª avaliação. A prevalência da atividade da doença diminuiu ao longo do seguimento, com 50,6% dos pacientes em atividade na 1ª avaliação e somente 29,1% na última avaliação. A prevalência dos anticorpos anti-nucleossomas, anti-dsDNA e de anti-histona variou nas doze avaliações de 40 a 58,6%, de 10,9 a 21,8%, e de 6,9 a 26,4%, respectivamente. Os valores da especificidade dos anticorpos antinucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona na atividade geral do LES variaram nas 12 avaliações de 66,7 a 83,7%, de 88,7 a 100% e de 84,3 a 98%, respectivamente. Os valores da sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona na atividade geral da doença variaram de 72,7 a 100%, de 31,3 a 54,8% e de 12,5 a 41,7%, respectivamente. A especificidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA na nefrite lúpica ativa variou de 46,2 a 67,3% e de 85,1 a 97,5%, respectivamente. A sensibilidade desses anticorpos variou de 32,0 a 67,5% e de 16 a 35,4%, respectivamente. Os valores preditivos positivos do anti-nucleossoma no que se refere ao diagnóstico da atividade do LES no mês subsequente mostraram bons percentuais de variação (56,7 a 71,8%) da 1ª à 7ª avaliação, decaindo nas últimas 5 avaliações até 22,7%.

CONCLUSÕES: O presente estudo demonstra que o anticorpo anti-nucleossoma apresenta maior sensibilidade que o anticorpo anti-dsDNA, seja para o diagnóstico da atividade geral da doença ou para a detecção da nefrite

lúpica. Embora menos específico quando comparado ao anticorpo anti-dsDNA, o conjunto de valores de especificidade obtidos para o anticorpo anti-nucleossoma durante as doze avaliações do estudo longitudinal permite concluir que ele pode ser considerado um marcador sorológico extremamente eficiente, em razão de suas comprovadas características de excelente sensibilidade e boa especificidade.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a disease of autoimmune nature, characterised by the formation of immune complexes. Although preliminary studies pointed out to the double-stranded DNA (dsDNA) as the most important antigen in the pathogenesis of SLE, most recent studies have demonstrated the central role of the nucleosome as the major antigen of the repertoire of nuclear antigens, with the anti-nucleosome antibody preceding the appearance of anti-dsDNA and anti-histone antibodies.

OBJECTIVES: To determine the prevalence of anti-nucleosome antibodies in SLE; to evaluate prospectively their diagnostic value in the general activity of the disease and in lupus nephritis; to compare prevalence, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of anti-nucleosome, anti-dsDNA and anti-histone antibodies.

PATIENTS AND METHODS: Patients with SLE diagnosis according to the American College of Rheumatology criteria, treated at Walter Cantídio University Hospital, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, Brazil, were sequentially evaluated for 12 months. In each evaluation, blood and urine samples were drawn for determination of whole blood count, urea, creatinine, albumin, C3, C4, ANA, anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-RNP, urinalysis, and proteinuria of 24 hours. Anti-nucleosome, anti-dsDNA and anti-histone antibodies titers were determined at the *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM), Necker Hospital, Paris, France, through an Enzyme-linked immuno absorbent assay method (ELISA). The activity of the disease was scored in each evaluation according to LAAC and SLEDAI criteria.

RESULTS: 113 patients were initially evaluated, but only 87 of them fulfilled the criteria of at least 8 evaluations during the 12-month period of follow-up, being thus the group considered for the prospective study. The most common clinical manifestations present when patients first seen were: arthritis (69.0%) photosensitivity (63.2%), skin lesions (59.8%) and nephritis (54.0%). 84 patients were female and 3 male, with an average age = 33.15 (SD = 10.90) years and average length of the disease = 60.70 (SD = 66.19%) months. The prevalence of nephritis varied from 37 to 55.2%, with a trend to reduction from the second evaluation. Disease activity decreased during the follow-up, as it was noticed in 50.6% of the patients in the first evaluation and in only 29.1% of them at the end of the observation period. The prevalence of anti-nucleosome, anti-dsDNA and anti-histone antibodies in the general activity of the SLE varied in the twelve evaluations from 66.7 to 83.7%, from 88.7 to 100% and from 84.3 to 98%, respectively. Sensitivity of anti-nucleosome, anti-dsDNA and anti-histone antibodies varied from 72.7 to 100%, from 31.3 to 54.8% and from 12.5 to 41.7%, respectively. Specificity of anti-nucleosome and anti-dsDNA antibodies in active lupus nephritis varied from 46.2 to 67.3% and from 85.1 to 97.5%, respectively. Sensitivity of these antibodies varied from 32.0 to 67.5% and from 16 to 35.4%, respectively. The positive predictive values of anti-nucleosome antibodies for the diagnosis of SLE activity in the next following month showed an acceptable variation (56.7% to 71.8%) from the first to the seventh evaluation, declining until 22.7% in the last five evaluations as the disease went under control in most patients.

CONCLUSIONS: The present study shows a larger sensitivity of anti-nucleosome antibody titers as compared to anti-dsDNA antibodies in the assessment of the general activity of the disease and of lupus nephritis. On the other hand, although it appears to be less specific in comparison to anti-dsDNA levels, specificity values of anti-nucleosome antibody titers obtained during the

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE GRÁFICOS

1	INTRODUÇÃO	32
1.1	Definição	32
1.2	Etiopatogenia.....	33
1.3	Quadro Clínico	42
1.4	Diagnóstico	47
1.4.1	Crterios para classificao do LES.....	47
1.4.2	Fator Anti Ncleo	49
1.4.3	Autoanticorpos no LES.....	50
1.4.4	Outras Provas Imunolgicas.....	52
1.5	Avaliao da Atividade Clinica.....	54
1.6	Tratamento	56
1.7	Autoanticorpos – Importncia dos Anti-Nucleossomas	59
2	OBJETIVOS	68
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	69
3.1	Populao de Estudo.....	69
3.2	Local de Estudo	69

3.3	Tipo de Estudo	69
3.4	Tempo de Estudo.....	70
3.5	Ética.....	70
3.6	Métodos	70
3.7	Técnica de dosagem dos auto-anticorpos	71
3.7.1	Obtenção do antígeno nucleossoma	71
3.7.1.1	Preparação da cromatina e de mononucleossomas.....	71
3.7.2	Outros antígenos.....	75
3.7.3	Pesquisa dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona..	75
3.7.4	Pesquisa dos anticorpos anti-ENA	77
3.8	Expressão dos resultados e análise estatística	78
3.8.1	Avaliação basal	78
3.8.2	Avaliação das variáveis durante o estudo longitudinal.....	79
3.8.3	Análise estatística.....	84
4	RESULTADOS.....	85
5	DISCUSSÃO.....	135
6	CONCLUSÕES.....	168
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	170

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS – Azinobis (3- etilbenzotiazolina ácido sulfônico)

ACR – American College of Rheumatology

Bcl 2 – proteína inibidora fisiológica da apoptose.

BILAG – *British Isles Lupus Assessment Group*

BWF1 – cepa de camundongo híbrido de duas cepas isogênicas(NZBxNZW)

BXSB – cepa de camundongo espontaneamente lúpico

CaCl₂ – cloreto de cálcio

D.O. – densidade óptica

DNA – ácido desoxiribonucléico

dsDNA – ácido desoxiribonucléico de dupla fita

EDTA – ácido etilenodiaminotetracético

ELISA – *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

FAN - fator anti-nuclear

Fas – receptor de superfície celular mediador de apoptose

gld – cepa de camundongo mutante da proteína Fas

HLA – *Human Leukocytes Antigens* – antígenos do sistema principal de histocompatibilidade

HUWC – Hospital Universitário Walter Cantídio

IFI – imunofluorescência indireta

IL-1 – interleucina 1

IL-10 – interleucina 10

IL-6 – interleucina 6

INF- γ – interferon gama



INSERM – *Institut Nationale de la Santé et de la Recherche Médicale*

KCl – cloreto de potássio

LACC – *The Lupus Activity Criteria Count*

LES – lupus eritematoso sistêmico

M – molar

µg – micrograma

µl - microlitro

ml – mililitro

MLR+/+ - cepa de camundongo espontaneamente lúpico

mM - milimol

MRL – cepa de camundongo espontaneamente lúpico

MRL/lpr – cepa de camundongo com *knock-out* para o gene fas

MRL/gld- cepa de camundongo com *knock-out* para o gene gld

NaCl – cloreto de sódio

NaOH – hidróxido de sódio

nm – nanômetro

NP40 – nonil fenoxipolietoxietanol

NZB – *New Zealand Black*

NZW – *New Zealand White*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PBS - salina tamponada com fosfato

Pmsf – fenilmetilsulfonil fluoreto

RPM I– solução de aminoácidos para cultura de células e tecidos

RNP – ribonucleoproteína

rpm – rotações por minuto

SLAM – *Systemic Lupus Activity Measure*

SLEDAI – *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*

SNF1 – cepa de camundongo lúpico, híbrido



snRPNs- anticorpo anti-snRPNs

Th – linfócitos T *helper*

TNFalfa- fator de necrose tumoral

TPTA – tempo parcial de tromboplastina ativada

Tris – trishidroximetimetilamino

Tween – polioxietilenosorbitam

VCAM- molécula de adesão de células vasculares

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** Critérios Revisados para a Classificação do Lupus Eritematoso Sistêmico
- Quadro 2** LACC (*The Lupus Activity Criteria Count*)
- Quadro 3** SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activit Index*)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura molecular do nucleossoma

Figura 2 Estrutura molecular do nucleossoma

Figura 3 Estrutura molecular do nucleossoma

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Freqüência de consultas dos 113 portadores de LES recrutados inicialmente para seguimento de 12 meses no HUWC.

Tabela 2: Freqüência de consultas de 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 3: Características demográficas, clínicas e laboratoriais (variáveis categóricas) de 113 pacientes com LES com e sem acompanhamento longitudinal no HUWC.

Tabela 4: Características demográficas, clínicas e laboratoriais (variáveis numéricas) de 113 pacientes com LES com e sem acompanhamento longitudinal no HUWC.

Tabela 5: Prevalência de nefrite lúpica e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 6: Prevalência de síndrome nefrótica e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 7: Prevalência de insuficiência renal e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 8: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de proteinúria de 24 horas em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 9: Prevalência de hematúria e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 10: Prevalência de leucocitúria e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 11: Prevalência de cilindrúria e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 12: Prevalência de células LE e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 13: Prevalência de FAN periférico e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 14: Prevalência de FAN salpicado e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 15: Prevalência de FAN homogêneo e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 16: Prevalência de complemento sérico reduzido (C3) e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 17: Prevalência de complemento sérico reduzido (C4) e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 18: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de albumina sérica em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 19: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de hematócrito em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 20: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de hemoglobina em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 21: Prevalência de atividade da doença definida através do LACC e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 22: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de SLEDAI em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 23: Análise de correlação de Pearson entre o escore SLEDAI e o escore LAAC em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 24: Distribuição da freqüência de grupos de atividade da doença, definida através do LACC, em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 25: Prevalência do anticorpo anti-nucleossoma ($\geq 0,167$ DO) e intervalo de confiança de 95% em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 26: Prevalência do anti-dsDNA ($\geq 0,195$) e Intervalo de Confiança de 95%) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 27: Prevalência do anti-histona ($\geq 0,090$) e Intervalo de Confiança de 95%) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 28: Especificidade , sensibilidade, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 29: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 30: Especificidade, sensibilidade, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Tabela 31: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 32: Valores de sensibilidade e especificidade dos três autoanticorpos como marcadores da atividade do LES.

Tabela 33: Valores preditivos positivos, negativos, falsos positivos e negativos dos três autoanticorpos para a detecção da atividade do LES.

Tabela 34: Especificidade, sensibilidade e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 35: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e

anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 36: Valores de sensibilidade e especificidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica.

Tabela 37: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA para o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica.

Tabela 38: Valores preditivos positivos e negativos e respectivos intervalos de confiança, do anticorpo anti-nucleossoma da avaliação anterior no diagnóstico da atividade do LES no mês subsequente, definida através do LACC.

Tabela 39: Distribuição de portadores de LES segundo as doses de prednisona em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Tabela 40: Distribuição de portadores de LES segundo o emprego ou não de imunossupressores em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Freqüência de consultas de 113 portadores de LES recrutados inicialmente para seguimento de 12 meses no HUWC.

Gráfico 2: Freqüência de consultas de 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 3: Prevalência de nefrite lúpica e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 4: Prevalência de síndrome nefrótica e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 5: Prevalência de insuficiência renal e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 6: Valores médios e erro padrão da média da proteinúria de 24 horas em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 7: Prevalência da hematúria e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 9: Prevalência da cilindrúria e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 10: Prevalência das células LE e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 11: Prevalência do padrão FAN periférico e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 12: Prevalência do padrão FAN salpicado e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 13: Prevalência do padrão FAN homogêneo e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 14: Prevalência do complemento sérico reduzido (C3) e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 15: Prevalência do complemento sérico reduzido (C4) e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 16: Média da albumina sérica e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 17: Média do hematócrito e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 18: Média da hemoglobina e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 19: Prevalência da atividade e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 20: Média do escore do SLEDAI e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 21: Distribuição da freqüência de grupos de atividade da doença, definida através do LACC, em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 22: Valores médios e erro padrão da média de títulos séricos dos anticorpos anti-nucleossoma segundo grupos de atividade (LACC) da doença em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 23: Valores médios e erro padrão da média de títulos séricos dos anticorpos anti-dsDNA segundo grupos de atividade (LACC) da doença em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 24: Valores médios e erro padrão da média de títulos séricos dos anticorpos anti-histona segundo grupos de atividade (LACC) da doença em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 25: Prevalência e erro padrão da média do anticorpo anti-nucleossoma ($\geq 0,167$ DO) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 26: Prevalência e erro padrão da média do anticorpo anti-dsDNA ($\geq 0,195$ DO) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 27: Prevalência e erro padrão da média do anticorpo anti-histona ($\geq 0,090$) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 28: Especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 29: Frequência de falsos positivos e negativos dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 30: Especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Gráfico 31: Frequência de falsos positivos e negativos, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 32: Especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 33: Frequência de falsos positivos e negativos, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA na detecção da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 34: Distribuição de portadores de LES segundo as doses de prednisona em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 35: Distribuição de portadores de LES segundo o emprego ou não de imunossupressores em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Gráfico 36: Doses cumulativas de ciclofosfamida endovenosa empregadas em 29 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição

O Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença sistêmica, de etiologia ainda desconhecida, que se caracteriza pela produção de auto-anticorpos patogênicos contra vários antígenos nucleares. Sob a influência de fatores ambientais, hormonais e de predisposições genéticas, surgem anormalidades imunológicas que levam à formação de imunocomplexos que, ao se depositarem nos diversos tecidos dos órgãos e sistemas do organismo, provocam lesões de caráter inflamatório que se expressam através das mais variadas manifestações clínicas e laboratoriais. Esta entidade, paradigma das doenças autoimunes, apresenta evolução crônica e, dependendo do acometimento orgânico, variados cursos evolutivos. Enquanto acomete preferencialmente mulheres jovens, em idade fértil, raramente se manifesta em homens. Na população dos Estados Unidos da América do Norte, há evidências de maior prevalência de LES em população afro-americana, hispano-americana e asiático-americana, quando comparada à branca-caucasiana (SYMMONS, 1989). O diagnóstico, desta doença, às vezes difícil, pode ser facilitado quando constatada a presença de quatro ou mais critérios estabelecidos, desde 1982, pelo Colégio Americano de Reumatologia (TAN et al., 1982). Na maioria dos casos de LES, o tratamento com antiinflamatórios, antimaláricos, corticosteróides e imunossupressores permite o controle da atividade da doença. O prognóstico depende principalmente do comprometimento renal, da magnitude da afetação do sistema nervoso central e do eventual surgimento de intercorrências infecciosas,

vinculadas não somente à imunodeficiência da própria doença como também aos efeitos colaterais das drogas utilizadas no tratamento do LES.

Um aspecto que sempre deve ser lembrado pelos pesquisadores clínicos que lidam com esta doença é a sua imprevisibilidade prognóstica. A prática clínica ensina que duante o acompanhamento da evolução de um paciente com LES, mesmo durante os períodos de remissão, deve-se estar atento para a possibilidade de o paciente desenvolver, em qualquer momento, sintomas e sinais que caracterizem uma atividade da doença. Esse comportamento evolutivo é uma das peculiaridades do LES, configurando-se na alternância de períodos de remissão e aparecimento súbito de surtos de atividade. A persistência ou o desaparecimento desses períodos de atividade e, por conseqüência, a melhora ou piora clínica dos pacientes acometidos por LES depende, na grande maioria dos casos, do acompanhamento freqüente dos pacientes, alicerçado em cuidadoso monitoramento clínico e laboratorial, aliado a um tratamento eficiente da doença.

1.2 Etiopatogenia

Embora a etiologia do LES seja desconhecida, múltiplos fatores estão implicados na sua patogenia: ambientais, hormonais, alterações genéticas e distúrbios imunológicos.

1.2.1 Fatores Genéticos

Registros da literatura médica comprovam o relevante papel da genética na patogênese do LES. Pesquisas demonstram elevado índice de concordância (14 a 57%) de LES em gêmeos monozigotos (DEAPEN et al.,

1992) e risco (5 a 12%) dos familiares de pacientes com LES de contraírem a doença (ARNETT., et al 1984).

Acredita-se que a predisposição genética desta doença autoimune estaria condicionada à existência de genes em regiões específicas dos cromossomas. Tem-se demonstrado a presença desses genes em regiões específicas do cromossoma 1, tanto em modelos experimentais murinos como em humanos (TSAO et al., 1997). Assim, a propensão para desenvolver LES estaria vinculada a cinco marcadores da região 1 do cromossoma. Apesar de publicações iniciais terem mostrado que a polimerase ADP-ribose seria o principal gene localizado nesta área, estudos posteriores não confirmaram esse achado (RISCH, 2000). Por outro lado, confirmam-se, na literatura médica, evidências de maior frequência de marcadores genéticos específicos — HLA-B8, HLA-DR2, HDL-DR3, DQW1 — nos pacientes com LES do que na população em geral. É interessante observar que esses marcadores genéticos ocorrem mais freqüentemente em certos grupos raciais e étnicos (SCHUR et al., 1995). Calcula-se que quatro a oito genes estariam presentes nos indivíduos predispostos a LES (KONO et al., 1994) e que combinações desses genes poderiam causar diferentes tipos de respostas anormais, o que resultaria no aparecimento de distintos processos patológicos e variadas manifestações clínicas. Cada gene afetaria algum aspecto da regulação do sistema imunológico, da apoptose, da fagocitose, como também da regulação das imunoglobulinas, do complemento e dos hormônios sexuais (THEOFILOPOULOS, 1995). De tal forma que indivíduos portadores desses genes, diante de outros fatores desencadeantes, ficariam condicionados a desenvolver o LES.

1.2.2 Fatores Imunológicos

Experimentos, principalmente desenvolvidos em camundongos lúpicos de diferentes classes de fenótipos e genótipos, tornaram possível identificar uma variedade de aberrações imunológicas que contribuíram para alguns esclarecimentos acerca da patogenia do LES. Entretanto, os mecanismos iniciais que participam no desencadeamento dos distúrbios imunológicos do LES continuam em processo de investigação, sem que se afirme, até hoje, de modo absolutamente preciso, quais são os defeitos considerados primários e quais os que apareceriam secundariamente. Sabe-se que essa doença tem características próprias, do ponto de vista imunológico, que favorecem uma perda de tolerância ao *self*, no caso, uma incapacidade de reconhecer seus próprios antígenos, gerando, assim, uma resposta autoimune (KLINMAN; STEINBERG, 1995).

Embora várias anormalidades imunológicas tenham sido descritas no LES, dentre elas há quatro mecanismos que caracterizam especificamente esta doença:

- Presença de anticorpos anti-dsDNA e formação de imunocomplexos que induzem à lesão renal;
- Linfócitos B que produzem anticorpos anti-dsDNA patogênicos;
- Linfócitos T *helper* que dirigem e estimulam linfócitos B;
- Concentrações aumentadas e apresentações anormais de nucleossomas.

Esses quatro eventos imunológicos têm uma participação ativa na patogenia do LES e fazem pressupor que são vários os mecanismos que permitiriam explicá-la (MOHAN; DATTA, 1995). A formação de anticorpos anti-dsDNA constitui-se numa das características mais importantes do LES, fato bem demonstrado tanto em camundongos lúpicos como em pacientes portadores

desta doença. Numerosos estudos clínicos têm enfatizado a correlação entre os níveis séricos dos anticorpos anti-dsDNA e a atividade da doença. A deposição desses anticorpos dar-se-ia através da ligação direta com estruturas nucleares como histonas, ácidos nucléicos, nucleossomas, DNA, presentes nas diversas células e tecidos do organismo, *in situ*, ou através, da formação de imunocomplexos circulantes ligados a nucleossomas. No que concerne à nefrite lúpica, esta estrutura da cromatina nuclear possibilitaria, por intermédio de suas cargas catiônicas localizadas nas terminações NH₂ das histonas, a ligação do anticorpo anti-dsDNA não apenas com constituintes nucleares, como também com estruturas componentes da membrana basal do glomérulo renal, como sulfato de heparan e laminina. Neste momento teria início a ativação da cascata do complemento sérico que desencadearia as lesões inflamatórias presentes nos pacientes com nefrite lúpica. Por outro lado, tem-se verificado que situações em que há um excesso de antígenos de pequeno peso molecular, como acontece nos pacientes lúpicos, possibilitaria a formação de imunocomplexos circulantes que, ao não serem rapidamente depurados, iriam acumular-se, contribuindo para o aparecimento das lesões glomerulares.

Os anticorpos anti-dsDNA patogênicos são produzidos pelos linfócitos B. Estudos feitos em camundongos e pacientes lúpicos sugerem que as células B são ativadas através de uma resposta imune que teria características policlonais. Entretanto, a questão central a ser esclarecida é se estas células são hiperativas por um defeito intrínseco ou se elas se tornam hiperativas por algum estímulo excessivo proveniente de outras células, como linfócitos T *helper* ou interleucinas.

Apesar de se ter demonstrado, em culturas de células *in vitro* e em várias cepas de camundongos lúpicos (NZW, MRL/lpr e BXSB), a possibilidade de uma hiperatividade ligada intrinsecamente às células B, e que esta situação

imunológica deve acontecer em fases iniciais da doença, acumulam-se, por outro lado, evidências favoráveis à hipótese de que fatores extrínsecos podem influir na ativação das células B. A interleucina 6 (IL6) e a interleucina 10 (IL-10) são capazes de ativar policlonalmente os linfócitos B. O aumento da expressão da IL-6 pode estar vinculado a fatores genéticos ou ser secundário a infecções, hormônios e, até à elevação de níveis séricos de nucleossomas (GUERNE et al., 1990). Da mesma forma, a produção autócrina da IL-10 vem sendo correlacionada com a expansão dos linfócitos B. Isto pode ser comprovado por experiências *in vivo* que demonstram que a administração de anticorpos anti-IL-10 inibe a formação de anticorpos que seriam produzidos por linfócitos B de pacientes com LES (LLORENTE et al., 1995), assim como retarda o aparecimento da nefrite lúpica em camundongos da cepa BWF1 (ISHIDA et al., 1994). No que se refere às células T, alguns estudos demonstram claramente o papel fundamental dos linfócitos T *helper* CD4⁺ no estímulo proporcionado aos linfócitos B no momento da produção de anticorpos patogênicos no LES.

Experimentos com timectomia neonatal, como também tratamentos em que se usam anticorpos anti-CD4, têm mostrado inequivocamente o papel desempenhado pelos linfócitos CD4⁺ na patogenia do LES. Através de modelos de camundongos lúpicos — SNF1, BWF1, e MRL/lpr, assim como em pacientes lúpicos, tem-se evidenciado que os linfócitos T dirigem os linfócitos B na formação seletiva de anticorpos anti-dsDNA. É importante ressaltar que essas células *Th* são patogênicas *in vivo* e podem ser específicas para nucleossomas ou para outras proteínas ligadas ao DNA. Vários fatores são citados como responsáveis pela ativação dos linfócitos T: defeitos globais na tolerância dos linfócitos T, tanto a nível central como, principalmente, a nível periférico; perda seletiva da tolerância das células T a componentes da cromatina nuclear e, alterações genéticas vinculadas ao sistema HLA (*Human Leukocytes Antigens*)

A predominância das células T *helper* em modelos de camundongos lúpicos do tipo SNF1 e MRL/lpr e o aumento de produção do interferon gama (INF- γ) por parte dos linfócitos T CD4⁺ nos animais das cepas BXSB e lpr/lpr, evidenciam o importante papel exercido pelas células Th1 na liberação de citocinas envolvidas na patogenia do lupus. É importante destacar que essas células auxiliam na produção de anticorpos IgG2a, a maior subclasse de anticorpos anti-dsDNA patogênicos encontrados nos eluatos de lesões renais de animais lúpicos.

Embora a produção de anticorpos anti-dsDNA seja uma das características da resposta imune do LES, durante muito tempo achou-se que o DNA isoladamente não preenchia os atributos para ser considerado o principal imunógeno desta doença. Estas considerações ficaram demonstradas através de inúmeras tentativas infrutíferas de imunização utilizando análogos sintéticos ou naturais de DNA que, apesar de reproduzirem anticorpos contra o imunógeno, não conseguiam fazê-lo contra o DNA nativo (DESAI et al., 1993).

A presença concomitante de anticorpos anti-histona, anticorpos anti-dsDNA/histona, em pacientes lúpicos com anticorpos anti-dsDNA, sugere uma origem única do ponto de vista imunogênico (BURLINGAME et al., 1993). Este antígeno seria o nucleossoma, a unidade fundamental da cromatina nuclear. Vários epítomos situados nesta estrutura dariam origem a esses três tipos de anticorpos encontrados nos pacientes com LES. Os anticorpos anti-nucleossomas, tanto em animais lúpicos como em pacientes com LES, surgem em diferentes momentos da resposta autoimune. Seriam formados, inicialmente, contra epítomos conformacionais da cromatina nuclear, dando origem aos anticorpos anti-nucleossoma-restritos. Outros sítios localizados nas histonas H2A-H2B-DNA subnucleossomais propiciariam, em etapa posterior, o aparecimento seqüencial dos outros anticorpos específicos: anti-histona e

anti-DNA. Nucleossomas têm sido encontrados juntamente com complexos autoimunes que contêm anticorpos anti-dsDNA, e a maior parte do DNA sérico circulante existe na forma de oligonucleossomas oriundos de distúrbios da apoptose ocorridos em pacientes lúpicos. Por outro lado, a inoculação de nucleossomas em camundongos lúpicos autoimunes, pertencentes às cepas SNF1 ou BWF1, tanto aumentam a formação de anticorpos anti-dsDNA como provocam um aceleração da doença. Além disso, incitariam as células Th patogênicas a estimular as células B para a maior produção de IL-6, como também auxiliariam na deposição de imunocomplexos circulantes na membrana basal do glomérulo renal através dos terminais catiônicos presentes nas histonas. Estes fatos demonstram a importância do nucleossoma como principal antígeno do LES (BURLINGAME et al., 1993; MOHAN et al., 1993; AMOURA et al., 1994).

1.2.3 Fatores Hormonais

É fato inconteste no LES que o aumento da atividade estrogênica tem um papel importante na epidemiologia da doença. Isto explica a maior frequência da doença em mulheres jovens e uma incidência duas vezes maior em mulheres que recebem terapia de reposição hormonal a base de estrogênios durante a menopausa (SANCHES-GUERRERO et al., 1995). Algumas constatações na literatura médica vinculam anormalidades hormonais e LES:

- . produção inadequada de progesterona (ARNALICH et al., 1992).
- . diminuição de níveis de todos os andrógenos nas mulheres portadoras da doença (LAHITA, 1999).
- . casos de LES em homens portadores da síndrome de Klinefelter (LAHITA, 1999).

Apesar dessas evidências que relacionam os hormônios sexuais com o LES, verifica-se que as manifestações orgânicas da doença são as mesmas nos dois sexos. Cabe assinalar, entretanto, que, nos homens, o acometimento clínico parece ser mais severo, o que torna seu prognóstico mais grave (CALLAHAN; PINCUS, 1995).

Estudos realizados em camundongos acerca do papel desempenhado pelos estrógenos na etiologia do LES são conflitantes. Em camundongos híbridos, da cepa *New Zealand Black/White* (NZB/W), a doença costuma aparecer mais precocemente em fêmeas e tem um comportamento evolutivo mais grave (ROUBINIAN et al., 1978). Já nas cepas de camundongo BXSB, que desenvolvem a doença *lupus-like*, ela é mais freqüente em machos, enquanto nos camundongos MRL, observa-se freqüência igual tanto em machos como em fêmeas.

O papel dos hormônios na etiologia do lupus parece estar mais vinculado aos efeitos que eles podem provocar na resposta do sistema imunológico. Há, por exemplo, comprovações que demonstram que os estrógenos estimulam os timócitos, células T, CD8⁺ e CD4⁺, células B, macrófagos, e, que, por outro lado, provocam a liberação de citocinas, como a IL-1, a expressão de HLA e de moléculas de adesão celular do endotélio, como VCAM e ICAM (CUTOLO et al., 1995). Em relação aos andrógenos, verifica-se que os níveis séricos da dehidroepiandrosterona (DHEA), um composto intermediário que participa na síntese da testosterona, encontram-se diminuídos em quase todos os pacientes portadores de LES, provavelmente como resultado de uma produção diminuída de IL-2 (SUZUKI 1995 et al., 1995).

A progesterona, por sua vez, desregula a proliferação de células T, desencadeando um aumento do número de células CD8⁺ (KOTZIN, 1996). Tem-se comprovado também uma elevação da prolactina sérica durante os

períodos de atividade lúpica (BLANCO-FAVELA et al., 1999). Da mesma forma, concentrações séricas, tanto de progesterona como de estrógeno, promovem uma resposta de células Th2 (LAHITA, 1999).

Existem relatos de anormalidades do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal em pacientes com LES, caracterizadas por uma resposta anormal ao *stress* (GLUCK T et al., 2000).

Uma associação clínica interessante é o aumento da incidência de doenças tiroidianas nos pacientes com LES, comprovada pela verificação de maior freqüência de anticorpos antitiroidianos, de elevação dos níveis séricos de TSH, assim como de maior número de casos de tiroidite, hipertiroidismo e hipotiroidismo nesses pacientes (GOH; WANG, 1986).

1.2.4 Fatores Ambientais:

Descrevem-se na literatura médica as relações que existem entre vírus e LES (BLOMBERG et al., 1994) e de que forma esses microorganismos podem estimular as células específicas vinculadas à resposta autoimune nesta doença, como fazem, por exemplo, os retrovírus. Há também referências a títulos séricos elevados de anticorpos contra o vírus Epstein-Barr nos pacientes portadores de LES (JAMES et al., 1997). Tem-se observado a formação de anticorpos anti-dsDNA e a ocorrência de sintomas semelhantes ao lupus nas infecções provocadas por microbactérias e por tripanossomas (STEINBERG, 1995). Infecções bacterianas estão associadas a períodos de reatividade lúpica (STEINBERG, 1995).

De todos os fatores rotulados como ambientais e que vêm sendo associados com a etiopatogenia do lupus, o mais conhecido é a radiação solar, mais especificamente, os raios ultravioletas. Eles estimulam os queratinócitos a

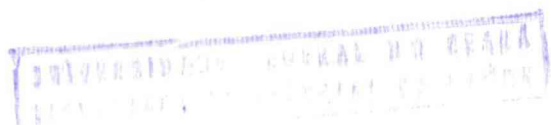
expressar mais snRNPs na superfície celular (LEHMAN et al., 1990) e a secretar mais interleucinas do tipo IL-1, IL-3, IL-6, GM-CSF e TNF-alfa, que, por sua vez, estimulam as células B a produzir mais anticorpos. Além disso, além dos efeitos locais na epiderme, a luz ultravioleta aumenta o grau de autoimunidade sistêmica pela interferência com células processadoras de antígenos e pela ativação de macrófagos. As células T, ao serem estimuladas pelos raios ultravioletas, podem tornar-se autoreativas e, assim, ficarem condicionadas a formar autoanticorpos (LEHMAN et al., 1990; CASCIOLA-ROSEN et al., 1994).

1.3 Quadro Clínico

Durante o curso evolutivo do LES é comum o acometimento específico de vários órgãos e sistemas, além do surgimento de sintomas e sinais constitucionais como febre, astenia e perda de peso, que ocorrem em 40 a 77% dos casos.

A febre pode aparecer associada a outras manifestações clínicas do LES, dentro de um surto de atividade da doença ou pode ser consequência de complicações infecciosas que se instalam em diferentes locais do organismo, especialmente na pele, no trato respiratório e no urinário.

A astenia é uma queixa bastante comum nos pacientes lúpicos e, em certas ocasiões, torna-se relevante para o diagnóstico, mesmo na ausência de outros sintomas. Entretanto, costuma aparecer com mais frequência associada a outras manifestações clínicas e laboratoriais que caracterizam os períodos de atividade da doença lúpica e também pode ser uma manifestação de fibromialgia, que ocorre frequentemente associada ao LES (MIDDLETON et al., 1995; MORAND et al., 1994).



A perda de peso, geralmente, está vinculada à falta de apetite, a doenças gastro-intestinais, a efeitos colaterais provocados por medicamentos e ao uso de diuréticos, mas pode fazer parte de uma síndrome consumptiva relacionada à liberação de citocinas inflamatórias. Já o ganho de peso nos pacientes lúpicos é decorrente da retenção de água e sal, muito comum nos casos de síndrome nefrótica, ou do aumento de apetite provocado pelo uso de corticosteróides.

Dentro do vasto cortejo sintomático do LES, as queixas articulares, constituem-se, freqüentemente, numas das primeiras manifestações destes pacientes. Artrite e /ou artralguas aparecem em 69 a 98% dos pacientes ao longo da evolução da doença (SATO et al., 1991; COSTALLAT, 1992; ROCHA et al., 2000). Durante a fase aguda, qualquer articulação pode ser atingida, mas a doença se caracteriza por afetar pequenas, médias e grandes articulações, predominantemente mãos, punhos e joelhos. Na maior parte dos casos, a poliartrite costuma ser migratória e assimétrica, atingindo principalmente as interfalangeanas proximais e metacarpo-falangeanas, não provocando erosão óssea, apesar de alguns pacientes no decurso da doença apresentarem deformidades, como a artropatia de Jaccoud.

As manifestações cutâneas são relatadas em 39 a 85% dos casos (SATO et al., 1991; COSTALLAT, 1992). O exame da pele do paciente lúpico revela algumas lesões características. A mais comum é o *rash* localizado na região naso-malar da face, e que aparece após exposição solar e costuma reaparecer na fase ativa da doença. Alguns doentes desenvolvem lesões discóides, de caráter inflamatório, e que mostram tendência a configurar cicatrizes.

A alopecia pode assumir formas difusas e localizadas, sendo estas últimas mais freqüentes. Fotossensibilidade e *livedo reticularis* também podem ser percebidos em áreas expostas à luz.

As úlceras orais, encontradas durante a realização do exame físico, adquirem uma importância significativa porque expressam a presença de vasculite. Não se pode deixar de citar o fenômeno de Raynaud, achado freqüente e que, muitas vezes, antecede o aparecimento de outros sintomas do lúpus.

Entre as manifestações mais importantes do quadro clínico do LES estão aquelas vinculadas às lesões renais que podem surgir em 32 a 46% dos pacientes (ROCHA et al., 2000). As manifestações renais podem ter apresentações clínicas severas - como nas situações de síndrome nefrótica, síndrome nefrítica, insuficiência renal, hipertensão arterial- e outras mais leves, como proteinúria isolada ou associada a hematúria microscópica. Essas anormalidades clínicas e laboratoriais dependem do tipo histopatológico da glomerulonefrite subjacente e são esclarecidas através da realização de biópsia renal. A glomerulonefrite proliferativa difusa, classe IV, da classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) é a mais freqüente e grave, sendo responsável pela maioria dos sintomas e sinais da nefrite lúpica, e pode provocar insuficiência renal crônica de diversa magnitude, inclusive terminal. Por outro lado, formas mais leves de nefrite são vistas no curso do LES, o que levou a OMS a caracterizar vários tipos histopatológicos dentro da sua conhecida classificação da doença. Há registros na literatura de mudanças histológicas das classes de glomerulonefrite, sendo possível encontrar-se transformações de formas leves para mais severas como também o inverso, neste caso, após tratamentos bem sucedidos com imunossupressores e corticosteróides. Torna-se, então, indispensável a avaliação criteriosa da nefrite lúpica em virtude da sua importância no prognóstico da doença.

O envolvimento cardíaco do LES consiste de pericardite, miocardite, endocardite e doença arterial coronariana. O setor mais acometido é o pericárdio, o que se traduz clinicamente por um quadro de pericardite, muitas vezes associado a derrame pericárdico. A endocardite verrucosa é infreqüente e costuma ser silenciosa, podendo, com o passar do tempo, originar insuficiência valvular. Pode também servir como fonte de êmbolos (QUISMORIO, 1993); recentemente tem sido associada à presença de anticorpos antifosfolipídios (LEUNG et al., 1988). Quanto aos achados clínicos pleuro-pulmonares do LES, observa-se pleurite e derrame pleural, como também quadros de pneumonia, doença pulmonar intersticial e hipertensão pulmonar.

Durante a fase aguda da doença, como também durante as infecções, pode ocorrer hemorragia pulmonar, constituindo-se numa situação clínica grave, muitas vezes fatal, mas que costuma responder satisfatoriamente à administração venosa de altas doses de metil-prednisolona (SCHWAB, 1993).

A hipoxemia reversível, que acomete principalmente adultos jovens, tem sido relatada pela literatura médica durante os períodos de atividade da doença, entretanto, apresenta usualmente, uma boa resposta ao tratamento instituído (ABRAMSON, 1991).

O quadro pulmonar mais bem descrito no LES é a alveolite fibrosante crônica, que tende a ser progressiva e apresenta resposta insatisfatória ao tratamento, levando, muitas vezes, o paciente à insuficiência respiratória crônica.

O envolvimento do sistema retículo endotelial no LES evidencia-se nos achados de esplenomegalia e linfadenopatias, que costumam estar presentes em aproximadamente um quarto dos pacientes. Em alguns casos, a atrofia esplênica tem sido descrita (DILLON et al., 1982).

As manifestações neuropsiquiátricas, quando presentes, são determinantes muito importantes de morbidade e mortalidade e, juntamente com

as manifestações renais, constituem parâmetros de prognóstico no LES. A ocorrência das manifestações neuropsiquiátricas situam-se em torno de 10 a 35%, devido aos diferentes critérios e métodos utilizados para investigar tais envolvimento (BOUMPAS et al., 1995; KOVACS et al., 1993; JENNEKENS; KATER, 2002). Distúrbios do comportamento, psicoses, síndromes cerebrais orgânicas — caracterizadas por delírio, perda da capacidade de concentração, labilidade emocional, perda transitória da memória — são parte integrante dos sintomas neuropsiquiátricos do LES. Outras situações clínicas como cefaléias severas, convulsões, neuropatias cranianas, hemorragias subaracnóides, mielites transversas, neuropatias periféricas, acidentes vasculares cerebrais também se situam dentro das síndromes neurológicas que fazem parte das manifestações neurológicas do LES. A patogenia, apesar de não esclarecida, é relacionada a anticorpos anti-neurônios; já as lesões vasculares são associadas a anticorpos antifosfolípidios. Isto poderia ser determinante de quadros focais e difusos de enfartes cerebrais.

As citopenias, incluindo a leucopenia, linfopenia, trombocitopenia e anemia, são relativamente freqüentes durante a fase ativa da doença. Vários tipos de anemia, com diferentes etiologias, secundárias à insuficiência renal, a perdas sanguíneas, ao uso de drogas, e, até às doenças reumáticas crônicas, também podem ser encontradas. Entretanto, a mais relevante, na fase aguda da doença, é a anemia hemolítica autoimune, resultado da produção de autoanticorpos contra antígenos hemácias.

Entre as queixas gastrointestinais relatadas pelos pacientes do LES, estão as náuseas e a dispepsia, durante os períodos de atividade da doença, sem uma clara evidência de comprometimento anatômico do trato digestivo. Essas queixas podem estar relacionadas a um baixo grau de inflamação peritoneal, outras vezes, a doença vascular do intestino, ou também a efeitos colaterais das

medicações prescritas. Os sintomas de maior significado são os derivados da vasculite mesentérica (ZIZIC et al., 1982) destacando-se a queixa de dor localizada no abdome inferior, que pode ser insidiosa ou intermitente e durar semanas ou meses. Durante a realização de colonoscopia, pode ser detectada hemorragia trans-retal, vista como consequência de ulcerações tanto no intestino delgado como no intestino grosso, decorrentes de vasculite mesentérica e que são bem evidenciadas no exame endoscópico. Neste caso, intervenções cirúrgicas se fazem necessárias com o propósito de evitar perfurações intestinais.

1.4 Diagnóstico

1.4.1 Critérios para classificação do LES

Quando o LES se apresenta na plenitude de suas manifestações clínicas e laboratoriais, seu diagnóstico é facilmente estabelecido. No entanto, quando se expressa através de formas oligossintomáticas, seu diagnóstico torna-se mais difícil. Diante dessa situação, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR- *American College of Rheumatology*), em 1982, estabeleceu onze critérios clínicos e laboratoriais que buscam facilitar a identificação da doença (Quadro 1).

Quadro 1 – Critérios Revisados para a Classificação do Lupus Eritematoso Sistêmico

1. *Rash* malar
2. *Rash* discóide
3. Fotossensibilidade
4. Úlceras Orais
5. Artrite não erosiva envolvendo 02 ou mais juntas periféricas
6. Serosite
Pleurite e ou pericardite
7. Alteração renal
Proteinúria > 0,5g/dia persistente ou cilindros hemáticos, granulares, tubulares ou mistos
8. Alteração Neurológica
Convulsão e ou psicose
9. Alteração hematológica
Anemia hemolítica, e ou leucopenia < 4000 leucócitos/mm³ em duas ou mais ocasiões, e ou linfopenia < 1500 linfócitos/mm³ em duas ou mais ocasiões e ou trombocitopenia menor que 100.000 plaquetas/mm³
10. Alteração Imunológica
Anticorpo anti-dsDNA nativo, ou anti-Sm e anticorpos antifosfolípidos reagentes
11. FAN reagente

Adaptado de Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25:1271-1277, 1982

O diagnóstico de LES é feito quando quatro ou mais desses critérios estão presentes, quer apareçam gradativamente ou surjam de uma vez, simultaneamente. Cabe mencionar que uma revisão recente desses critérios, feita pela ACR, substituiu o teste LE pela pesquisa de anticorpos antifosfolípidos (HOCHBERG et al., 1997).

Quando a literatura médica divulgou esses critérios, surgiram algumas restrições ao constatar-se que não haviam sido exclusivamente utilizados para diagnóstico do LES, mas para o diagnóstico diferencial do LES com outras doenças reumáticas. Outra restrição apontada foi o fato de terem sido elaborados a partir, unicamente, de populações caucasianas, embora, posteriormente já tenham

tenham sido usados para demonstrar a frequência de LES em outras etnias (MEYER, 1994).

1.4.2 Teste laboratorial de triagem: Fator Anti Núcleo

Diante da suspeita de um caso de LES, freqüentemente baseada em sintomas e sinais clínicos, usualmente é feita a solicitação de exames laboratoriais rotulados como testes de triagem ou de *screening*. Caso esses exames não forem suficientes para estabelecer o diagnóstico, solicita-se, em etapa posterior, outros exames que possam confirmar ou refutar a hipótese. Entre os primeiros, inclui-se a pesquisa de anticorpos antinucleares (FAN), realizada pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI), e que constitui o exame mais solicitado na prática clínica como teste de *screening* para o diagnóstico de LES. Embora não seja específico, é bastante útil, dada sua grande sensibilidade diagnóstica, que varia de 95 a 98%, dependendo se o substrato usado são células de fígado de camundongo ou células epiteliais humanas (Hep-2), respectivamente (TAN et al., 1989; Von MULHEN; TAN, 1995). Considerando que não é específico para o LES, pode estar associado a outras doenças reumáticas, como esclerose sistêmica progressiva, artrite reumatóide, síndrome de Sjögren, doenças linfoproliferativas e outras entidades como hepatite autoimune. O FAN também pode apresentar-se reagente em 6 a 12% das pessoas normais (MANOUSSAKIS et al., 1987). Descrevem-se, classicamente, quatro padrões de fluorescência. A interpretação visual desses padrões sugere a presença de vários anticorpos. O padrão periférico permite ser correlacionado com anticorpos anti-dsDNA de dupla hélice, quando a cromatina se situa na periferia do núcleo, e também com outras proteínas da membrana nuclear. O padrão homogêneo sugere a presença de anticorpos anti-dsDNA e anti-histona. O padrão salpicado sugere a presença de anticorpos contra antígenos

não histona, como anti-Sm, anti-U1- nRNP, anti-SS-A/Ro ou anti-SS-B/La. Já o padrão nucleolar é fortemente sugestivo de esclerose sistêmica progressiva, podendo também aparecer no LES e na artrite reumatóide.

Embora, na maioria dos centros laboratoriais, a técnica da imunofluorescência indireta predomine ainda como o teste de *screening* mais usado, recentemente, tem-se procurado introduzir ensaios imunoenzimáticos. A justificativa para sua aplicabilidade seria a simplicidade técnica, a rapidez na sua execução, a economia de custos e sua possibilidade de automatização. Entretanto, a diversidade de *kits* utilizados na prática laboratorial determina uma variação de sua positividade, podendo resultar em maior ou menor número de resultados falsos positivos, o que, por sua vez, implicaria numa maior ou menor capacidade do teste para detectar pacientes com diagnóstico clínico de LES.

Os testes de *screening*, como já vimos, podem sugerir mas são incapazes de identificar o anticorpo pesquisado. Entretanto, uma vez positivos, induzem à realização de testes mais específicos, ou seja, à pesquisa de anticorpos reconhecidamente mais vinculados ao LES, entre esses, o anti-dsDNA e o anti-Sm.

1.4.3 Autoanticorpos no LES

Os anticorpos anti-dsDNA foram descobertos em 1957, e, desde essa época, vários estudos têm mostrado sua correlação com a atividade da doença (ter BORG et al., 1990). Sua frequência no LES varia de 50 a 90%, dependendo da sensibilidade do teste usado para detectar o anticorpo. Entre os vários métodos laboratoriais utilizados para a identificação dos anticorpos anti-dsDNA, alguns são sensíveis para identificar anticorpos de alta avidéz, enquanto outros têm sua sensibilidade voltada para anticorpos de avidéz

intermediária ou baixa. Os mais usados são: imunodifusão, hemaglutinação, imunofluorescência indireta, radioimunoensaio, contra-imunoeletroforese e o ELISA. O teste mais específico para a identificação dos anticorpos anti-dsDNA é o que utiliza como substrato o homoflagelo *Critidia luciliae*. Este organismo possui um cinetoplasto que contém dsDNA não associado às proteínas da histona. As amostras são incubadas em lâminas de vidro, adicionando-se anticorpo anti-Ig conjugado à fluoresceína. A identificação do cinetoplasto fluorescente, através de um microscópio de fluorescência, indica a presença dos anticorpos anti-dsDNA. Embora não seja tão sensível como o ELISA, permite distinguir anticorpos com diferentes graus de avidéz antigênica.

A detecção de níveis séricos elevados de anticorpos anti-dsDNA tem-se mostrado útil no diagnóstico do LES e o aumento desses títulos séricos também tem sido associado aos períodos de atividade da doença (BOOTSMA et al., 1995).

Os anticorpos anti-Sm e anti-RNP, que coexistem em muitos pacientes com LES, ligam-se a diferentes antígenos. Em relação ao anticorpo anti-Sm, sabe-se que o antígeno ao qual se liga é constituído por proteína nuclear não histona e foi o primeiro a ser descrito no LES, em 1966. Este antígeno agrega proteínas nucleares e partículas de ribonucleoproteínas que são importantes no processamento do RNA e na transcrição do DNA. Apesar de a identificação destes anticorpos poder ser realizada por contra-imunoeletroforese, a maior parte dos laboratórios utiliza as técnicas de hemaglutinação e ELISA e, embora sejam consideradas pouco sensíveis, (10-30%) são altamente específicas para o LES. A aferição dos títulos séricos do anticorpo anti-Sm pode ser bastante útil no diagnóstico do lupus, particularmente quando os anticorpos anti-dsDNA são indetectáveis.

Existem outros anticorpos passíveis de serem encontrados no soro dos pacientes portadores de LES, embora não possuam a importância diagnóstica daqueles anteriormente mencionados:

. Os anticorpos anti-histona, encontrados freqüentemente no soro dos pacientes com LES, assim como em outras patologias autoimunes, apresentam menor especificidade, uma vez que sua prevalência varia de 21 a 85%. Há registros na literatura médica de associação desses anticorpos com a atividade da doença e seus sítios de ligação podem estar localizados em histonas individuais ou totais (COHEN et al., 1992);

. Os anticorpos anti-RNP não são específicos do lupus e podem ser encontrados em 10-30% dos pacientes e em outras doenças como doença mista do tecido conjuntivo e esclerose sistêmica progressiva;

. Os anticorpos anti-Ro/SSA e anti-La/SSB são identificados através de técnicas de hemaglutinação, imunodifusão e Westernblot, no soro dos pacientes lúpicos, com uma freqüência aproximada de 20-60% e 15-40%, respectivamente;

. Os anticorpos antifosfolípidios são detectados com uma freqüência que varia de 35 a 45% (STRATA et al., 1997; CABIEDES et al., 1995; JOHNS et al., 1994; McCarty-Farid, 1994) e são identificados pelo ELISA, utilizando como substrato a cardiolipina, e também através da pesquisa do anticoagulante lúpico, feita por meio dos testes de coagulação, onde se verifica aumento do TPTA (tempo parcial de tromboplastina ativada), que não é corrigido pela adição de plasma normal.

1.4.4 Outras Provas Imunológicas

Durante a avaliação laboratorial à qual são submetidos os pacientes com LES, além dos testes de triagem e de confirmação da doença, outras provas

imunológicas de utilidade para o acompanhamento clínico costumam ser solicitadas, como a pesquisa de células LE e os fatores do complemento sérico: C3, C4, CH50.

O fenômeno de células LE, que foi descrito por Hargraves et al em 1948, pode ser induzido *in vitro* por um fator solúvel presente no soro dos pacientes com LES (HASERICK et al., 1950), e consiste na fagocitose de material nuclear por leucócitos normais. Várias publicações médicas vinculam este antígeno nuclear ao complexo de DNA e histona (HOLMAN; DEICHER, 1959), acreditando-se que a ligação do fator solúvel (fator LE), identificada como uma gamaglobulina e presente no soro de pacientes lúpicos, necessita interagir com uma estrutura nucleossomal, o que sugere que a maior parte dos fatores LE séricos devem ser anticorpos que reconhecem nucleossomas e membranas plasmáticas. A pesquisa de células LE costuma apresentar-se positiva em 90% dos pacientes em atividade e em 65% dos que se encontram em remissão.

Os níveis de complemento sérico são freqüentemente usados para monitorar pacientes com LES. Estudos clínicos registram exacerbações da doença precedidas ou acompanhadas de diminuição dos níveis séricos das várias frações do complemento (SWAAK et al., 1986; LLOYD; SCHUR, 1981). As frações C3 e C4 são solicitadas com mais freqüência durante a investigação laboratorial do paciente lúpico. A fração C4 e o CH50 tendem a decrescer antes do aparecimento de sinais clínicos que denotem atividade da doença, enquanto o C3 permanece diminuído durante o auge da atividade da doença (SCHUR, 1997). Por outro lado, nas situações de vasculite e nefrite lúpica em atividade, os níveis séricos de C4 apresentam-se freqüentemente mais baixos que os níveis do C3; entretanto, esta última fração do complemento sérico quando se apresenta com valores normais tem um valor preditivo muito bom para indicar doença inativa (SCHUR, 1997; SWAAK et al., 1979).

Na prática clínica observamos que os resultados variam de paciente para paciente, quando os valores do complemento sérico são associados com a atividade da doença e que, portanto, devem ser analisados individualmente.

1.5 Avaliação da Atividade Clínica

Na prática clínica, uma das questões centrais do acompanhamento clínico e do planejamento terapêutico do paciente com LES é a determinação da atividade da doença. Ainda mais quando se sabe que essa avaliação da atividade do LES inclui o reconhecimento de alguns sintomas subjetivos de difícil mensuração, o que torna problemática sua identificação. Uma constatação das dificuldades encontradas nesta avaliação é a existência, na literatura médica, de diversos índices de atividade da doença, contendo diferentes dados clínicos e laboratoriais, o que dificulta que seja estabelecido um consenso que proporcione uma monitorização mais eficiente e objetiva do grau de atividade da doença. A tarefa não é fácil, dada a diversidade de sintomas, sinais e dados laboratoriais que fazem parte do conjunto da síndrome lúpica. Nos últimos 20 anos, têm sido elaborados cerca de 60 índices para avaliação clínica do LES (SILVESTRIS et al., 1999). Entre os mais divulgados na literatura médica, estão:

- . Sistema de Ropes, de exclusivo interesse histórico, baseado em 11 parâmetros clínicos e 9 laboratoriais.(ROPES, 1976);

- . Sistema do *National Institute of Health*, elaborado em 1982, após a realização de um importante ensaio clínico, com a finalidade de mensurar mais adequadamente a atividade clínica da doença. O sistema compreende 21 itens principais que avaliam a presença ou ausência das várias manifestações do LES (MORIMOTO et al., 1986);

- . *Lupus Activity Criteria Count* (LACC), proposto em 1984, após estudo conduzido por UROWIST et al, em 50 pacientes com LES, procura

avaliar exclusivamente se o paciente estava ou não em atividade, sem entretanto mensurar o grau de atividade da doença. Consta de 7 grupos de variáveis dotadas de significativa relevância clínica e laboratorial, abrangendo os diversos órgãos e sistemas comprometidos pelo LES. Consideram-se como inativos os pacientes que obtêm escore de 0 até 1, e como portadores de atividade lúpica, os pacientes com pontuação de 2 ou acima de 2. O total de pontuação das variáveis tem valor máximo de 7 pontos;

. *British Isles Assessment Group* (BILAG), baseado em sistema computadorizado, consiste na valoração de 8 grupos de sintomas, sinais e dados laboratoriais que incluem diversas manifestações da doença, subdivididos de acordo com o acometimento dos diversos órgãos e aparelhos (SYMMONS et al., 1988);

. *Systemic Lupus Activity Measure* (SLAM): aborda 25 parâmetros clínicos e 8 laboratoriais, divididos em 11 sistemas orgânicos. Esses índices avaliam a gravidade das variadas manifestações dentro de pontuação compreendida entre 0 e 3: 0 = ausente; 2 = moderada; 3 = severa, com valor máximo de 86 pontos;

. *SLE Disease Activity Index* (SLEDAI), bastante utilizado em pesquisas clínicas, consta de 24 sintomas, sinais, e dados laboratoriais aos quais são atribuídos diferentes pontuações, que oscilam entre 1 e 8, dependendo dos órgãos e sistemas comprometidos pela doença. A pontuação máxima é de 105. Através deste índice avalia-se a magnitude da atividade do LES, quantificando-a;

. Outro importante sistema de avaliação da atividade da doença surgiu por ocasião do *IXth Eular Workshop for Rheumatology Disease*, realizado em 1989, durante o qual foi instituído o *European Consensus Group*, com a finalidade de:

- 1) identificar parâmetros clínicos e laboratoriais que sugerissem a atividade da doença, permitindo a elaboração de um índice único de atividade;
- 2) criar um protocolo clínico que fosse um instrumento válido de avaliação.

O primeiro resultado deste encontro motivou um estudo multicêntrico desenvolvido entre 1990 e 1991, que constou do acompanhamento de 704 pacientes lúpicos provenientes de 29 centros especializados (14 países). Na primeira etapa do estudo, foram estabelecidas 15 variáveis clínicas e laboratoriais que tinham correlação significativa com a atividade global da doença, fundamentando-se a partir desses dados um índice que recebeu a denominação de ECLAM. Na segunda etapa foi elaborado um protocolo clínico que utilizou os principais índices de atividade do SLAM, BILAG, SLEDAI e ELAM.

Pela leitura dos índices anteriormente mencionados, pode-se depreender que, embora não haja consenso na utilização de um único paradigma de avaliação da atividade da doença lúpica, torna-se imprescindível a aplicação desses índices nas pesquisas clínicas, principalmente aquelas relacionadas a estudos longitudinais, por estabelecerem parâmetros analíticos mais precisos; do mesmo modo, na prática, esses índices proporcionam ao médico acompanhante um melhor equacionamento do estado clínico do paciente e, como conseqüência, uma melhor opção terapêutica.

1.6 Tratamento

Embora o LES seja considerado uma doença crônica, seu curso evolutivo caracteriza-se pela ocorrência de períodos de recidivas alternados com períodos de remissões. Assim sendo, o tratamento desta enfermidade

diferencia-se nos dois períodos: no de recidiva, objetiva tratar os surtos de atividade severa — que potencialmente são revestidos de gravidade — como os que ocorrem principalmente nos pacientes comprometidos por lesões renais e neurológicas, usando nesses casos, doses máximas de drogas antiinflamatórias e imunossupressoras; no de remissão da doença, utiliza doses menores das mesmas drogas antiinflamatórias e imunossupressoras.

As drogas comumente usadas no tratamento do LES visam a suprimir a resposta autoimune anormal e o processo inflamatório presente nos diferentes órgãos e sistemas comprometidos pela doença. O tratamento deve ser individualizado em virtude da diversidade das manifestações clínicas presentes e dos diferentes graus de severidade da doença em cada paciente. Entre as medicações administradas para o tratamento do paciente com LES, incluem-se as drogas antiinflamatórias, antimaláricas, corticosteróides e imunossupressoras.

Os antiinflamatórios não hormonais são eficientes quando administrados nos pacientes que se apresentam com queixas articulares, musculares e nos casos em que se evidenciam quadros leves de serosites.

Os antimaláricos são mais utilizados para o tratamento das manifestações cutâneas, articulares e musculares que não respondem satisfatoriamente aos antiinflamatórios não hormonais. Os mais prescritos são a hidroxicloroquina e a cloroquina, que costumam ser relativamente bem tolerados. Uma avaliação oftalmológica periódica deve ser feita nesses pacientes para detecção de toxicidade retiniana, possível efeito colateral dessas drogas.

Os corticosteróides continuam sendo as drogas mais prescritas no LES, sendo indicadas, principalmente, para o tratamento das manifestações agudas. Podem ser administradas por via oral ou via endovenosa, sendo a prednisona e a metil-prednisolona as mais utilizadas na prática clínica. O uso dessas medicações é baseado na sua grande potência antiinflamatória e na sua eficácia

imunossupressora. Os corticosteróides são administrados por via oral, em doses mais elevadas, (> 0.5 a 1.0 mg/kg/dia), nos períodos mais severos da atividade do LES e, em doses menores, ($< 0,5$ mg/kg/dia), durante os períodos em que a atividade se manifesta menos intensamente. A outra forma de administração da droga, por via venosa, é utilizada como pulsoterapia (metilprednisolona), na dose de 0.5 a 1.0 g durante três dias consecutivos, em situações clínicas como anemia hemolítica e trombocitopenia severas, pneumonia lúpica aguda acompanhada de alveolite hemorrágica (FESSEL et al., 1980).

A ciclofosfamida e a azatioprina estão entre os imunossupressores mais usados no LES. A ciclofosfamida tanto pode ser administrada por via oral como por via parenteral. Na Inglaterra, Cameron (1999) continua usando a via de administração oral no tratamento da nefrite lúpica, durante os dois ou três meses iniciais (fase de indução), prosseguindo com azatioprina por via oral como droga de manutenção. Entretanto a via endovenosa, a intervalos mensais, é a mais aceita universalmente. Existem estudos clássicos e controlados que demonstram que o uso concomitante desta droga juntamente com corticosteróides previne a deterioração da função renal (BALLOW et al., 1984).

A azatioprina usada por via oral tem várias aplicações clínicas. Há estudos documentando o sucesso terapêutico dessa droga em manifestações extrarrenais, assim como outros registrando redução da proteinúria e estabilização e melhora da função renal (COORLEY et al., 1966; ADAMS et al., 1967; MAHER et al., 1973).

A ciclosporina é conhecida por seu efeito inibitório na produção de IL2 e por sua eficácia na diminuição da expansão das células T *helper*. Limitada evidência sugere que a dose de 5 mg/kg/dia produz uma boa resposta terapêutica em alguns pacientes com nefrite lúpica, embora se constate recidiva freqüente após suspensão da droga.

Nos casos em que se verifica resistência terapêutica às drogas anteriormente mencionadas, são empregadas drogas como o mofetil micofenolato, potente inibidor da desidrogenase inosinomonofosfato. O metabólito ativo do mofetil micofenolato é o ácido micofenólico, que possui ação seletiva para as células T e B. Estudos recentes vêm mostrando a utilidade terapêutica desta droga no tratamento da nefrite lúpica, evidência verificada tanto em animais como em pacientes lúpicos (CORNA, 1997; DOOLEY, 1997).

Novas formas de tratamento para o LES estão sendo tentadas e outras continuam em investigação, como as que incluem imunoglobulina venosa, DHEA, anti-CD40, anti-IL-10 e transplante de medula óssea precedido de altas doses de quimioterapia. Esta última forma de tratamento tem como objetivo, por um período determinado, deixar o paciente com LES livre da influência da memória das células T, criando condições para a formação e maturação de novos linfócitos progenitores que ficariam isentos de atividade anti-*self*. A experiência inclui 7 pacientes com glomerulonefrite proliferativa difusa aguda, cerebrite, mielite e vasculite (TRAYNOR et al., 2000). Acreditamos que o melhor entendimento da patogenia do LES permitirá, no futuro próximo, modalidades terapêuticas mais eficientes e com menos efeitos colaterais indesejados ou, mesmo, deles isentos.

1.7 Autoanticorpos — Importância dos Anti-Nucleossomas

Os autoanticorpos são a pedra de toque das doenças autoimunes. A maior parte dessas doenças tem como característica fundamental a produção de autoanticorpos que, freqüentemente, são usados como seus marcadores sorológicos. Entretanto, a relação entre produção de autoanticorpos e patogênese, na maioria das doenças do tecido conjuntivo, não tem sido cabalmente elucidada. No LES, a associação entre os autoanticorpos produzidos e os achados patológicos não foi ainda definida, isto é, não há uma relação de

causa e efeito entre a produção desses autoanticorpos e as manifestações clínicas da doença.

O LES é associado a uma variedade de anormalidades imunológicas que contribuem para a produção de autoanticorpos. Estes, ao reagirem com vários antígenos nucleares e citoplasmáticos, formam imunocomplexos que se depositam nos tecidos, provocando fenômenos inflamatórios que dão origem às diversas manifestações clínicas da doença. Nas últimas décadas, o processo que leva à formação desses autoanticorpos assim como o esclarecimento dos principais antígenos implicados no desencadeamento da resposta imune inicial do LES mereceram a atenção de biólogos e médicos envolvidos nesta área da pesquisa imunológica.

O tema central desta pesquisa versa sobre alguns aspectos da patogenia do LES, principalmente os mecanismos iniciais que dão origem à formação de autoantígenos e autoanticorpos. Apesar de décadas de pesquisa, a patogenia do LES continua em debate, e o seu controvertido universo imunológico continua sendo exaustivamente estudado, a nível mundial, por diversos grupos de pesquisadores vinculados a essa área, motivando, como consequência, a realização de experiências científicas, tanto em animais como em seres humanos, à procura do esclarecimento das alterações iniciais que provocam o desencadeamento da resposta autoimune do LES. As experiências genéticas com animais, principalmente ratos e camundongos, propiciaram o desenvolvimento de camundongos lúpicos transgênicos. Isto permitiu, num primeiro momento, o aparecimento de cepas de animais predispostos à doença e, posteriormente, de outras cepas que tinham a capacidade de desenvolver a doença espontaneamente. Tal fato determinou, nas quatro últimas décadas, um progresso significativo na etiopatogenia do LES. Estes animais foram aproveitados para estudos das diversas anormalidades imunológicas e, ultimamente, para o melhor entendimento

dos distúrbios que acontecem durante o processo de apoptose dos linfócitos de animais lúpicos, sabida fonte geradora de partículas imunogênicas que participam ativamente na formação inicial dos principais anticorpos antinucleares do LES.

Os anticorpos antinucleares são imunoglobulinas secretadas por linfócitos B que agem de forma policlonal ou, o que é mais provável, sob o estímulo dos linfócitos T *helper*. Esses anticorpos seriam consequência de uma resposta imune dirigida por antígenos dessa classe de linfócitos. Existem anticorpos que se comportam como meros marcadores sorológicos do LES e outros que possuem capacidade patogênica. Entre os que auxiliam no diagnóstico, e cujo reconhecimento tem contribuído para alguns esclarecimentos da patogenia da doença, figuram o anti-Sm, o anti-RNA, o anti-RNP, o anti-Ro(SS-A), o anti-La(SS-B) o antifosfolípido e o anti-dsDNA.

O potencial dos anticorpos antinucleares depende de suas propriedades estruturais e moleculares — cadeias leves e pesadas de proteínas, cargas positivas ou negativas de aminoácidos, susceptibilidade genética que levam a mutações somáticas. Convém lembrar que esses anticorpos podem originar-se através da imunização de animais nos quais se utilizam complexos protéicos de DNA ou complexos de DNA livre de proteína.

O antígeno DNA e o anticorpo anti-dsDNA, através da formação de imunocomplexos, são considerados elementos essenciais na patogenia do LES. Em virtude desse papel central assumido pelo DNA, considerado como um dos antígenos mais importantes para a formação de anticorpos anti-dsDNA no LES em geral e, em particular na nefrite lúpica, várias tentativas têm sido empreendidas para comprovar sua capacidade imunogênica. Entretanto, evidências experimentais realizadas em animais e humanos conseguiram reproduzir os fenômenos inflamatórios que costumam ocorrer nos diversos órgãos e tecidos dos animais e pacientes lúpicos. Corroborando estas afirmações tem-se

tentado induzir a formação de anticorpos anti-dsDNA através de imunizações em que se procura infundir dsDNA, utilizado de várias fontes, isoladamente, ou associado a diferentes proteínas. Em geral, imunizações utilizando dsDNA de mamíferos não se mostraram capazes de provocar uma resposta imune específica mesmo quando se associa albumina sérica bovina à molécula anteriormente citada (MADAIO et al., 1984). Por outro lado, a imunização provocada com dsDNA de bactérias associadas a proteínas pode induzir a uma resposta imune em camundongos predispostos a desenvolver lupus (GILKESON et al., 1995). Entretanto, a especificidade desses tipos de resposta imune foram diferentes das que originaram a formação espontânea de autoanticorpos anti-dsDNA.

Outras situações intrigantes são a de não se ter conseguido identificar, através de algumas pesquisas experimentais, a presença da molécula livre do DNA na circulação periférica dos pacientes com LES (STEIMAN, 1975) e a constatação de que os complexos autoimunes constituídos por DNA/anti-DNA não reproduzem a característica seqüência do processo inflamatório que acontece nos órgãos e sistemas desses pacientes (JONES et al., 1986; EMLÉN., 1988). Apesar dessas dúvidas, o DNA vem sendo considerado como o principal autoantígeno no lupus, principalmente no desenvolvimento de uma das lesões mais importantes do LES, a nefrite lúpica, cuja patogenicidade vem baseada em duas teorias: reação cruzada ou ligação direta dos anticorpos anti-dsDNA com componentes da membrana basal glomerular (EILAT, 1985).

A busca para identificar partículas imunogênicas que esclarecessem os mecanismos iniciais que levam à formação de autoanticorpos no LES motivou grupos de pesquisas, principalmente franceses, holandeses e americanos a desenvolver experimentos em animais, o que permitiu verificar que o mecanismo de produção dos autoanticorpos no LES caracteriza-se por ser dirigido por antígenos e que a formação dos anticorpos anti-dsDNA, e anti-histona estaria

condicionada ao nucleossoma, unidade fundamental da cromatina nuclear (AMOURA et al., 2000; BRUNS et al., 2000; BERDEN et al., 1997). Recentemente, experiências realizadas em camundongos e pesquisas em pacientes lúpicos mostram que distúrbios da apoptose são a fonte de origem dos nucleossomas (EMLEN et al., 1994; Van HOUTEN; BUDD, 1992; LORENZ et al., 1997).

O nucleossoma é uma molécula constituída por uma partícula central composta por um octâmero da histona envolvido pelo DNA que serve para compactar o DNA. Este octâmero da histona tem quatro pares de bases, H2A, H2B, H3, e H4, enquanto o DNA tem 146.

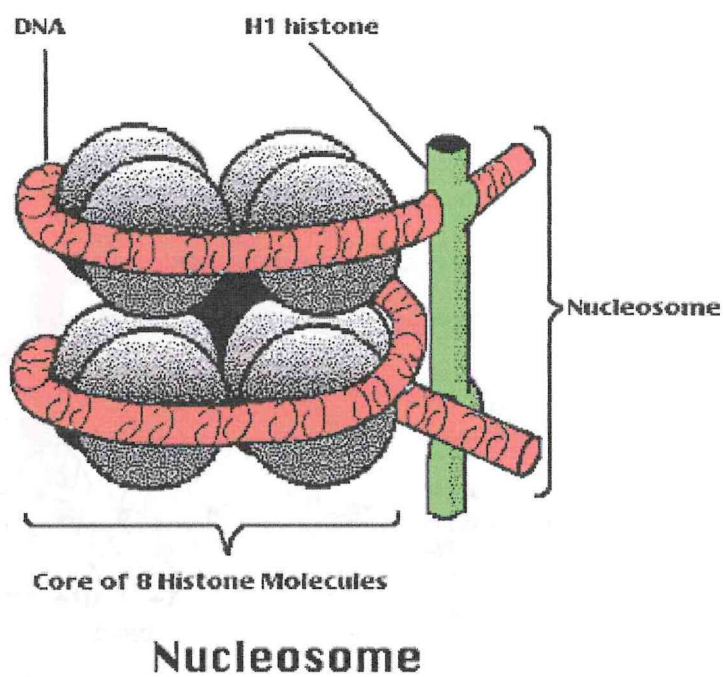


Fig. 1: Estrutura molecular do nucleossoma (www.average.org/~pruss/nucleosome.html)

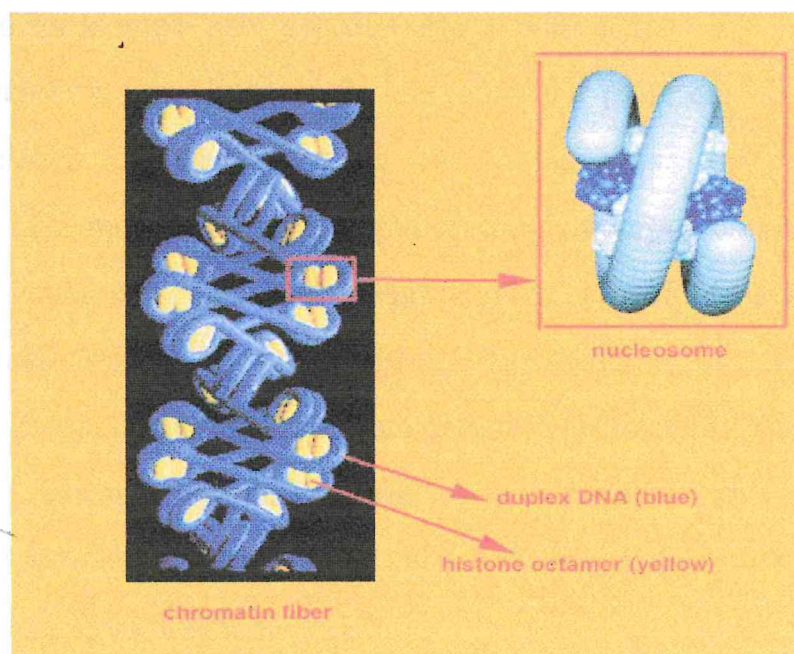


Fig. 2: Estrutura molecular do nucleossoma (www.average.org/~pruss/nucleosome.html)

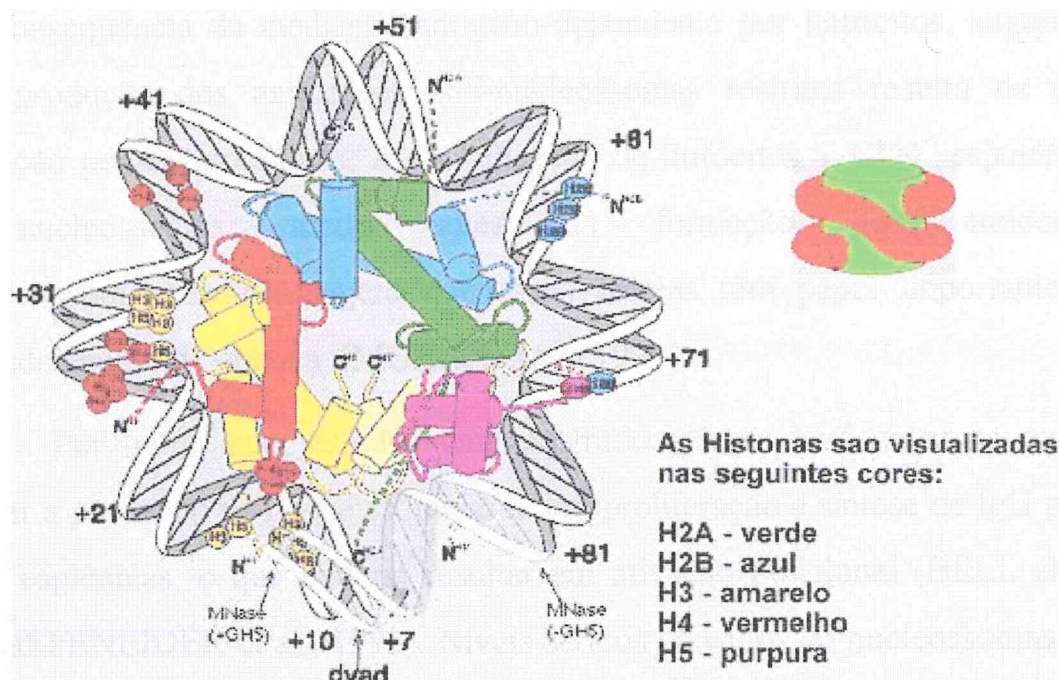


Fig. 3: Estrutura molecular do nucleossoma (www.average.org/~pruss/nucleosome.html)

Os nucleossomas são gerados em consequência do fenômeno da apoptose, sucedendo a uma clivagem da cromatina por parte das endonucleases. Estudos de cinética celular realizados em várias raças de camundongos predispostos ao LES mostraram a produção de autoanticorpos contra a estrutura nativa do nucleossoma sem, entretanto, reagirem com os componentes individuais da macromolécula, histona e DNA (BURLINGAME et al., 1993). Esses anticorpos específicos, que reagem contra a estrutura do nucleossoma, recebem a denominação de anti-nucleossomas restritos e surgem antes da ocorrência de anticorpos anti-dsDNA e anti-histona e persistem durante todo o curso da doença, juntamente com os outros dois anticorpos.

Pesquisas sobre a cinética de surgimento dos anticorpos antinucleares em animais espontaneamente lúpicos, assim como a constatação da participação de imunoglobulinas da classe IgG demonstram que esses fenômenos imunológicos são semelhantes àqueles observados nos anticorpos que surgem

como consequência da mediação antígeno-dependente por linfócitos, sugerindo que a produção dos anticorpos anti-nucleossomas restritos resulta de uma imunização por nucleossomas. A identificação de linfócitos T CD4⁺ específicos para nucleossomas, muito antes da formação dos anticorpos antinucleossoma-restritos, sugere que essas células têm papel importante no desencadeamento da doença (MOHAN et al., 1993).

Por outro lado, estudos têm mostrado que os nucleossomas podem provocar a produção de IL-6 e estimular a linfoproliferação e síntese de IgG pelas células esplênicas, o que poderia resultar em ativação policlonal (BELL et al., 1990; HEFENEIDER et al., 1992). Níveis séricos elevados de nucleossomas têm sido detectados em pacientes com LES, o que faz aumentar a possibilidade de que essas partículas imunogênicas possam gerar tanto a formação de anticorpos específicos como produzir anticorpos não específicos. Experiências em camundongos e pesquisas em pacientes lúpicos têm atribuído a origem dos nucleossomas a um aumento na apoptose dos linfócitos, determinando uma maior liberação destas estruturas.

Outra teoria que tenta explicar a presença de elevadas concentrações séricas de nucleossomas circulantes é a que atribui esse achado a defeitos na fagocitose das células apoptóticas. Essas condições determinariam uma maior exposição de antígenos no meio circulante, o que propiciaria que populações de linfócitos Th específicos se tornassem autoreativas e passassem a estimular linfócitos B. Estes, por sua vez, com a secreção de imunoglobulinas, iniciariam a formação da família dos anticorpos anti-nucleossoma que incluiria os anticorpos específicos para nucleossoma (anticorpos anti-nucleossoma sem reatividade anti-histona e anti-dsDNA), anticorpos anti-nucleossoma com reatividade anti-dsDNA (anticorpos anti-dsDNA *bona fide*) e anticorpos anti-nucleossoma com reatividade anti-histona (anticorpos anti-histona *bona fide*).

O papel patogênico dos anticorpos anti-nucleossoma pôde ser demonstrado quando foram utilizados sistemas de perfusão em rim de rato e constatou-se que as histonas podem mediar a ligação de perfusões subseqüentes de DNA e anti-dsDNA, através da formação de imunocomplexos *in situ* com a mediação de antígenos nucleossomais plantados no glomérulo renal (TERMAAT et al., 1992). Esta hipótese confirmou que a ligação do anticorpo anti-dsDNA não era direta e sim indireta, mediada pelo nucleossoma. Por outro lado, a evidência de que anticorpos anti-nucleossoma estão presentes juntamente com anticorpos anti-dsDNA em rins de camundongos lúpicos proteinúricos (AMOURA et al., 1993) tem permitido atribuir um potencial papel nefritogênico não apenas aos anticorpos anti-dsDNA como também aos anticorpos anti-nucleossoma específicos. Confirmando estes experimentos, a literatura registra que oligonucleossomas infundidos ligam-se a rim de camundongos normais e que a presença de nucleossomas tem sido detectada em rins de pacientes lúpicos (VAN BRUGGEN et al., 1997). Embora os mecanismos precisos que expliquem a deposição dos anticorpos nos tecidos alvos dos pacientes lúpicos continuem sem esclarecimento, acumulam-se evidências mostrando que os nucleossomas contribuem para o desenvolvimento da nefrite lúpica através da ligação dos anticorpos antinucleares na membrana basal do glomérulo renal.

Conclui-se, diante de todas as evidências anteriormente mencionadas, que os antígenos nucleossomas assim como os anticorpos anti-nucleossoma vêm adquirindo grande importância na patogenia do lupus, contribuindo significativamente no diagnóstico e manejo do LES. Por outro lado, a identificação do nucleossoma como o antígeno mais importante na resposta autoimune desta doença abre novas perspectivas de um melhor entendimento dos mecanismos imunológicos iniciais e, como conseqüência, o desenvolvimento de novas terapias para o LES.

2 OBJETIVOS

- 2.1 Determinar a prevalência de atividade do LES em avaliações seqüenciais realizadas durante um período de seguimento de 12 meses.
- 2.2 Determinar a prevalência dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona em pacientes com diagnóstico de LES em avaliações seqüenciais realizadas durante um período de seguimento de 12 meses.
- 2.3 Analisar a distribuição dos níveis séricos dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona, de acordo com a freqüência dos períodos de atividade do LES durante o estudo longitudinal.
- 2.4 Determinar sensibilidade, especificidade, desses autoanticorpos no diagnóstico da atividade do LES durante um período de seguimento de 12 meses.
- 2.5 Determinar sensibilidade, especificidade, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da nefrite lúpica durante um período de seguimento de 12 meses.
- 2.6 Determinar valores preditivos do anti-nucleossoma da avaliação anterior para atividade do LES na consulta subsequente.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 População de Estudo

Pacientes com LES, diagnosticados de acordo com critérios estabelecidos pelo Colégio Americano de Reumatologia (American College of Rheumatology), atendidos nos ambulatórios e enfermarias do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC-UFC), durante o período de estudo.

3.2 Local de Estudo

Para o desenvolvimento do estudo e seguimento dos pacientes foi criado um ambulatório, especificamente destinado a esse fim, no Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará (HUWC-UFC). O atendimento dos pacientes foi realizado pelo pesquisador principal do estudo, com a colaboração de internos e residentes do serviço de Clínica Médica do HUWC-UFC, por ele supervisionados. Além do recrutamento de pacientes ambulatoriais, pacientes internados também nas enfermarias dos Serviços de Reumatologia, Nefrologia, Clínica Médica e Unidade de Terapia Intensiva do HUWC- UFC foram incluídos no estudo.

3.3 Tipo de Estudo

Estudo Longitudinal.

3.4 Tempo de Estudo

Cada paciente foi acompanhado em um mínimo de 8 e um máximo de 12 consultas, a intervalos de 4 semanas (em média). O período de recrutamento dos pacientes foi de 22 meses, estendendo-se de abril de 1999 a fevereiro de 2001.

3.5 Ética

Atendendo às condições estabelecidas na resolução 196/6 do Conselho Nacional de Saúde, o estudo foi previamente apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Na primeira consulta, os pacientes com diagnóstico de LES eram convidados a participar da pesquisa e incluídos somente após assinarem o Termo de Consentimento Informado.

3.6 Métodos

Após o consentimento escrito dos pacientes para participarem do estudo, eram estes avaliados, através de questionário padronizado, contendo dados de identificação, história clínica e exame físico. Dados clínicos, resultados laboratoriais, e informações acerca do tratamento, obtidos durante as consultas, eram anotados e arquivados em prontuários individualizados para cada paciente. No mesmo dia de cada consulta, os pacientes eram submetidos a punção de veia periférica para retirada de 15 ml de sangue não heparinizado, destinados à pesquisa dos anticorpos anti nucleares — anti-nucleossoma, anti-dsDNA, anti-histona, anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro, anti-La —, pesquisa de células LE, pesquisa e determinação do padrão de FAN, determinação de níveis séricos de

C3, C4, creatinina, hemograma e albumina sérica. A análise laboratorial incluía também sumário de urina e proteinúria de 24 hs. As amostras de soro eram remetidas para o Laboratório Central para processamento e execução técnica dos exames acima citados. O soro destinado à pesquisa dos anticorpos anti nucleares — anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro, Anti-La — era encaminhado ao Laboratório de Imunologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFC, onde era estocado a -15°C até o dia de sua realização. Os soros utilizados para a pesquisa dos anticorpos antinucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona, eram estocados em tubos *Ependhorf* em *freezer* a -80°C . A pesquisa e titulação desses anticorpos foi realizada em Paris. As remessas dos soros para aquela cidade foram feitas por via aérea e acondicionadas em embalagens de isopor contendo gelo seco, procedimento que permitia a manutenção da temperatura necessária para a preservação das amostras devidamente congeladas até sua chegada. Antes de proceder-se à titulação dos anticorpos, a eliminação do complemento sérico era feita por aquecimento a 56°C , no momento da realização do teste, no Laboratório do *Institut Nationale de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM) 25, Hôpital Necker, Paris, França.

3.7 Técnica de dosagem dos auto-anticorpos

3.7.1 Obtenção do antígeno nucleossoma

3.7.1.1 Preparação da cromatina e de mononucleossomas

A cromatina foi preparada em um dos laboratórios da Unidade 25 do *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM), Hôpital Necker, Paris, França, utilizando células eritroleucêmicas de camundongos da linhagem 1210, cultivadas em RPMI diluído em soro fetal bovino a 10%,

juntamente com penicilina, estreptomicina (GIBCO) 10.000 UI/ml e glutamina. As seguintes etapas foram seguidas a partir de um volume de 4 litros de suspensão dessas células, numa concentração de 1×10^9 células/L:

- 1) A suspensão de células foi colocada dentro de recipientes de 500ml e centrifugada durante 20 minutos a 3000 rpm;
- 2) O precipitado foi recuperado com uma pipeta de vidro e rediluído em 200ml de PBS (sem Ca^{2+} ou Mg^{2+}) pH 7,4, a 4°C e posteriormente distribuído em 06 tubos policarbonados de 40ml;
- 3) Nova centrifugação por 10 minutos a 1500 rpm;

Para a lise da membrana citoplasmática das células, foi utilizado um tampão composto de:

Tris 15mM

KCl 60mM

NaCl 15mM

Espermina 0,15mM

Espermidina 0,5mM

NP40 0.65% – 26 ml

Pmsf 0,17mM – 68 μ l de pmsf 50 mM

Beta mercaptoetanol 14,3Mm –200 μ l

Sucrose 8% - 16g

H₂O qsp – 200ml

- 4) O precipitado foi rediluído a seguir com 200ml do tampão, distribuídos em tubos e submetidos a agitação a 4°C durante 10 minutos em banho de gelo;
- 5) Nova centrifugação por 10 minutos a 2000rpm;

- 6) Procedeu-se à recuperação dos núcleos com micropipetas de 1000 μ l e lavagem com 150 ml de um tampão de sucrose:

Tampão de sucrose:

Sucrose 0,34 M – 23,27g

Tris 15mM

KCl 60mM

NaCl 30mM

Espermina 0,15mM

Espermidina 0,5mM

Beta mercaptoetanol 14,3mM – 200 μ l

H₂O qsp 200 ml

- 7) Centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm;
- 8) Nova recuperação do precipitado em pelo menos 20ml do tampão de sucrose, de forma a se obter uma concentração de cromatina em torno de 1000 μ g/ml;
- 9) Adição de 10 μ l dos núcleos a 990 μ l de PBS 50mM, NaCl 2M (diluição 1/100) para a leitura em densidade óptica (D.O). D.O na faixa (0,300 a 0,260nm) correspondente a uma concentração de 10 μ l/ml. Se a D.O estiver acima de 0,300nm, os núcleos são rediluídos para uma melhor ação da nuclease que será utilizada posteriormente. Realiza-se uma contagem dos núcleos em azul trypan numa diluição 1/20 (10 μ l dos núcleos em 190 μ l do azul). A concentração final a ser obtida é 1000 μ g/ml = 1×10^8 núcleos/ml;
- 10) Digestão dos núcleos com utilização de nuclease proveniente de *Staphylococcus aureus* (Boehringer Mannheim GmbH, Alemanha). Para cada 10 μ l de núcleos são adicionados 250 μ l de CaCl₂ 0.05M, durante 5 minutos a 37°C;

11) Adição da nuclease, cujo volume é calculado através da fórmula:

$$\frac{166,66 \times 10\text{ml}(\text{volume núcleos}) \times [\text{cromatina segundo DO}]}{5 \times 1000\mu\text{l}}$$

a adição da nuclease foi feita durante 5 minutos a 37°C, com agitação a cada 30 segundos. A enzima foi provavelmente tamponada com solução de Tris 10 mM e NaCl 10mM, pH = 7,7 e passagem através de filtro milipore de 0,4μ a 4°C, havendo sido a nuclease diluída na concentração de 15000 UI/ml e conservada a -20°C;

12) Interrupção da reação com 500 μl de EDTA 0,1M, pH 7,0 a 4°C para cada 10ml de núcleo;

13) Centrifugação por 10 minutos a 5000 rpm; para expulsão da cromatina nuclear, recupera-se o precipitado com 1,8ml de EDTA 1mM, pH = 7,0, para cada 10ml de núcleo e, através de pipeta, com movimentos repetitivos de aspiração e liberação nos tubos, inicia-se a quebra dos núcleos, que é obtida quando se observa uma coloração ligeiramente azul do conteúdo dos tubos;

14) Centrifugação por 10 minutos a 5000 rpm;

15) Recuperação do sobrenadante e determinação precisa do volume.

Determinação da D.O a 260nm com 10μl do sobrenadante adicionados a 990 ul de EDTA 1 mM (diluição 1/100) e realização do seguinte cálculo:

$$\text{valor final da D.O} = \text{D.O a 260nm} \times 100 (\text{diluição}) \times \text{volume (ml)}$$

16) Eliminação da Histona H1 com NaCl 0,55 M, adicionado gota a gota sob agitação;

17) Conservação do material nuclear a 4°C até o dia seguinte;

18) Lavagem dos núcleos com 1 litro da solução: Tris 10mM-EDTA 1mM final; Pmsf 0,2mM final ; NaCl 0,55M ; pH 7,5.

- 19) Separação dos mononucleossomas através de coluna de sefarose, utilizando bomba com débito de 0,8ml/min, registrador de 1mm/min e 20mV, leitura de 254nm, escala 1 e coletor extremo 60. X 1.
- 20) Três horas e trinta minutos após a deposição na coluna de sefarose inicia-se a recuperação dos mononucleossomas. As frações obtidas são dialisadas em solução de 2 litros de Tris 10mM; EDTA 1mM final; Pmsf 0,2mM final; pH 4.
- 21) Concentração através de filtro Amicon; comprovação da pureza da preparação dos mononucleossomas através da extração de DNA e teste em gel de poliacrilamida.

3.7.2 Outros antígenos

O DNA de dupla hélice e as histonas totais foram comercialmente adquiridos do Laboratório Boehringer Mannheim (Mannheim, Alemanha).

3.7.3 Pesquisa dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona.

Os soros foram testados por método imunoenzimático (ELISA), obedecendo às seguintes etapas:

- 1) Os antígenos – nucleossoma, DNA e histonas totais foram depositados em placas de Microtest Luxlon de 96 orifícios (Nemours, França) e deixados a 4°C por 12 horas.

Antes dessa incubação, a placa de DNA havia sido preenchida com 100ul de poli-L- lisina (concentração: 100 µl/ml, conservada a -20°C) na diluição 1/10 em H₂O destilada com permanência de 2 horas em temperatura ambiente.

Em seguida o excesso de poli-L lisina era desprezado sem lavagem, adicionando-se 100 μ l do DNA numa concentração de 5 μ g/ml em PBS, seguida por nova incubação por 2 horas em temperatura ambiente.

- 2) Placas semelhantes foram preenchidas separadamente com os nucleossomas e histonas, ambos na concentração de 5 μ g/ml, através de diluição em PBS, pH = 7,2, sendo colocados 100 μ l em cada orifício. As placas eram, em seguida incubadas a 4°C, durante 12 horas.
- 3) Na etapa seguinte, procedia-se a lavagem das placas com solução de Tween 0,05% diluído em PBS com pH = 7,2, por 3 vezes, seguida de uma saturação com soro fetal bovino diluído a 10% em PBS, pH = 7,2, durante 2 horas em temperatura ambiente, desprezando-se o conteúdo dos orifícios, sem lavagem.
- 4) Diluição dos soros a serem testados em solução de PBS contendo soro fetal bovino a 10%, Tween a 0,05% em concentração de 1/100 a 1/500. Incubação por 2 horas a temperatura ambiente e três lavagens com solução de Tween 0,05% em PBS, pH = 7,2. Cada soro foi testado em duplicata, sendo adicionado um controle positivo e um negativo em cada teste.
- 5) Imunoglobulinas humanas do tipo anti-IgG marcadas com peroxidase (Biossys, Compiègne, França) foram adicionadas, após diluição 1/1000 em solução de PBS contendo soro fetal bovino a 10%, Tween a 0,05%. Após incubação por 1h e 30min em temperatura ambiente eram realizadas três lavagens com solução de Tween a 0,05% em PBS, pH = 7,2.

- 6) Para revelação utiliza-se uma solução contendo 200 μ l de ABTS, 15mg/ml (Southern Biotechnology, Birmingham, AL); 10ml de ácido cítrico 0.05M (525mg em 50ml de H₂O, pH = 4, NaOH) e 10 μ l de H₂O₂. Após a adição de 100 μ l da solução de ABTS a cada orifício a placa é incubada por 5 minutos em compartimento escuro. Em seguida, a reação era interrompida pela adição de 50 μ l/orifício de uma solução de ácido cítrico 0,05M e azida sódica 0,01%.

Leitura em espectrofotômetro automatizado, 405nm (Dynatech, Alexandria, VA).

3.7.4 Pesquisa dos anticorpos anti-ENA

Para a dosagem de anticorpos anti-ENA (SSA/Ro, SSB/La, RNP-Sm), foi utilizado o conjunto diagnóstico comercial da HEMAGEN, que utiliza a técnica da hemaglutinação. Essa técnica possui altos níveis de sensibilidade e especificidade na detecção daqueles anticorpos. Para a reação, revestem-se as hemácias com antígenos purificados, obtendo-se 4 diferentes suspensões que são colocadas para reagir com o soro dos pacientes diluídos em solução tampão (PBS 0,01 M com timerosal como conservante) nas concentrações 1:50 e 1:100, em duplicata, conforme as instruções do fabricante. Após um período de incubação de 120 minutos, à temperatura ambiente, cada suspensão de hemácias é sensibilizada com um único antígeno ou complexo antigênico. Quando a suspensão reage com o anticorpo presente no soro de um paciente, os eritrócitos aglutinam. Na ausência desta reação antígeno- anticorpo, os eritrócitos sedimentam no fundo do orifício, em volta das placas de microtitulação. Sumariamente, os resultados obtidos por observação visual da sedimentação do reagente celular obedecem aos seguintes critérios:

. Reação negativa - na ausência de anticorpos aglutinantes, os eritrócitos sedimentam no fundo da cavidade, formando um botão compacto em um meio claro.

. Reação positiva - a aglutinação das células por anticorpos presentes no soro do paciente resulta na formação de um manto que se visualiza ou não. O fenômeno de aglutinação nas duas diluições é expresso como positividade ou negatividade para a presença dos anticorpos. O resultado é semiquantitativo.

3.8 Expressão dos resultados e análise estatística

3.8.1 Avaliação basal

Na etapa inicial do estudo, (avaliação basal), pesquisamos 29 variáveis categóricas (sexo, cor da pele, artrite, fotossensibilidade, manifestação cutânea, lesão mucosa, nefrite, insuficiência renal, insuficiência renal crônica, biópsia renal, anemia hemolítica, serosite, envolvimento do sistema nervoso central, plaquetopenia, linfopenia, leucopenia, anti-Sm, anti-Ro, anti-RNP, anti-La, células LE, FAN periférico, FAN salpicado, FAN homogêneo, FAN nucleolar, atividade, uso de prednisona, uso de imunossupressor, uso de antimalárico) e 7 variáveis numéricas (idade, tempo de doença, valor do anti-nucleossoma, valor do anti-dsDNA, valor do anti-histona, escore do LAAC, escore do SLEDAI).

Para determinação dos níveis de normalidade dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona, na avaliação basal e longitudinal, foi utilizado um grupo controle constituído de 26 doadores voluntários de sangue cadastrados no Centro de Hemoterapia do Ceará (HEMOCE). Estes valores foram obtidos num estudo transversal prévio, realizado em Fortaleza por (JERÔNIMO et al., 2000). A determinação do ponto de corte (*cut-off*) foi obtida pela média dos títulos de anticorpos do grupo controle acrescida de mais ou

menos três desvios padrões. Os pontos de corte para os anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona foram 0.167 DO, 0.195 DO e 0.090 DO, respectivamente.

A atividade da doença foi determinada na avaliação inicial e nas consultas subseqüentes através de dois índices validados na literatura, LAAC (*Lupus Activity Criteria Count*) e SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), detalhados nos Quadros 2 e 3.

3.8.2 Avaliação das variáveis durante o estudo longitudinal

Durante o estudo longitudinal, em cada consulta (total de 8 a 12), os pacientes se submeteram a anamnese, exame físico e avaliação da atividade da doença, através dos dois índices anteriormente citados.

A identificação da atividade ou remissão da doença foi feita segundo os critérios estabelecidos pelo LAAC (Quadro 2). A presença de qualquer manifestação de cada quadro de variáveis recebe a pontuação de 1, podendo perfazer um total de 7 pontos. Considera-se que o paciente está em atividade da doença quando atinge uma pontuação igual ou superior a 2, e inativo quando a pontuação está entre 0 e 1. Portanto, este critério de atividade identifica a atividade da doença ou sua remissão, não sendo quantitativo na avaliação.

Outro sistema de avaliação escolhido para o estudo com a finalidade de quantificar a atividade foi o *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI) (Quadro 3). São 24 manifestações, com valores entre 1 e 8 pontos, perfazendo um total de 105 pontos.

Quadro 2 – LACC (The Lupus Activity Criteria Count)

VARIÁVEIS	DEFINIÇÕES
1. artrite	Artrite não erosiva envolvendo 02 ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor, edema ou efusão
2. testes laboratoriais anormais célula LE leucopenia < 4000/mm ³ complemento CH50 reduzido complemento C3 reduzido anticorpo anti-dsDNA	CH50 e C3 reduzidos apresentam menos que 02 desvios padrões abaixo da média do valor normal Anti-dsDNA medido pela técnica de Farr com uma ligação maior que 25% do normal
3. <i>Rash</i> , úlceras mucosas, alopecia	Aparecimento de um novo rash, novas úlceras ou alopecia, ou piora já dos existentes
4. Pleurite e pericardite	Pleurite – história convincente de dor pleurítica ou atrito pleural identificado por um médico. Evidência de derrame pleural. Pericardite – atrito detectado por um médico ou alterações sugestivas no ECG ou evidências de derrame pericárdico
5. Convulsões, psicose, síndrome cerebral orgânica, cefaléia lúpica	Convulsões, psicoses e síndrome cerebral orgânica na ausência de drogas ou distúrbios metabólicos Cefaléia lúpica – cefaléia severa não usual, intratável e não responsiva aos analgésicos comuns.
6. Vasculite	Vasculite – ulceração de pele ou de dedos ou biópsia mostrando vasculite
7. Hematúria	Hematúria ≥ 5 hemácias/campo

*doença ativa – 02 ou mais variáveis

Quadro 3 – SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index)

PESO	DESCRIPTOR	DEFINIÇÃO
8	Convulsão	Recente aparecimento. Excluídas causas metabólicas, infecciosa ou medicamentosa
8	Psicose	Distúrbio da percepção da realidade, alucinações, incoerência, perda de associações, pensamento ilógico, desorganizado ou catatônico. Excluir uremia ou drogas
8	Síndrome cerebral orgânica	Alteração da função mental com distúrbio da orientação, memória ou outras funções intelectuais.
8	Distúrbio visual	Alterações retinianas. Corpos citóides, hemorragias, exsudatos, hemorragia na coróide ou neurite óptica. Excluir hipertensão, infecção ou outras causas.
8	Desordem de nervo craniano	Neuropatia sensorial ou motora de nervos cranianos de aparecimento recente.
8	Cefaléia lúpica	Cefaléia persistente, severa, enxaquecosa mas não responsiva a analgesia com narcóticos
8	AVC	Acidente cerebrovascular recente. Excluir arteriosclerose
8	Vasculite	Úlceras, gangrenas, nódulos digitais dolorosos, infarto periungueais, <i>splinter</i> , biópsia ou angiografia compatível com vasculite
4	Artrite	Mais que 02 articulações com sinais de inflamação
4	Miosite	Fraqueza de mialgia de músculos proximais com elevação de CPK e ou aldolase ou alterações eletromiográficas ou biópsia mostrando miosite.
4	Cilindros urinários	Cilindros hemáticos
4	Hematúria	Mas que 5 hemácias por campo. Excluir cálculos, infecção ou outra causa
4	Proteinúria	Maior que 500mg/24h. Aparecimento recente ou elevação de mais de 500mg/24h
4	Piúria	Maior que 5 piócitos/campo. Excluir infecção.
2	Novo <i>rash</i>	Aparecimento recente ou recorrência do rash inflamatório
2	Alopecia	Aparecimento recente ou recorrência de queda de cabelo em placa ou difusa.
2	Úlceras mucosas	Úlceras orais ou nasais de aparecimento recente ou recorrente
2	Pleurite	Dor torácica pleurítica com atrito ou derrame pleural ou espessamento de pleura.
2	Pericardite	Dor com pelo menos 1 dos seguintes achados: atrito, derrame ou confirmação eletrocardiográfica / ecocardiográfica
2	Redução do complemento	Diminuição do CH50, C3 ou C4 abaixo do limite normal
2	Títulos elevados de anti-dsDNA	Ligação maior que 25% pela técnica de Farr ou títulos acima do normal para o teste laboratorial empregado
1	Febre	Maior que 38°C. Excluir infecção.
1	Trombocitopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³
1	Leucopenia	< 3000 leucócitos/mm ³ . Excluir outras causas.

As alterações laboratoriais incluídas na determinação dos índices de atividade, SLEDAI e LAAC, foram assim definidas:

Leucopenia: $< 4000/\text{mm}^3$ (para LAAC) e $< 3000/\text{mm}^3$ (para SLEDAI)

Plaquetopenia: $< 100.000/\text{mm}^3$

Proteinúria: proteínas $> 500\text{mg}$ em urina de 24hs

Hematúria: hemácias ≥ 5 por campo

Leucocitúria: leucócitos ≥ 5 por campo

Complemento sérico reduzido: C3 $< 64\text{mg/dL}$ (homens)

$< 66\text{mg/dL}$ (mulheres)

C4 $< 14\text{mg/dL}$ (homens)

$< 19\text{mg/dL}$ (mulheres).

. Ao longo do estudo longitudinal, os pacientes foram categorizados de acordo com a frequência dos períodos de atividade da doença definida pelo LAAC, em quatro grupos de atividade:

ausente: sem nenhum período de atividade

leve: até dois períodos de atividade

moderada: de dois a cinco períodos de atividade

forte: com mais de seis períodos de atividade

. As variáveis vinculadas a alterações renais foram assim definidas:

Nefrite: presença de hematúria microscópica (≥ 5 hemácias por campo) e/ou leucocitúria (≥ 5 leucócitos por campo) e/ou cilindrúria (presença de cilindro hemático) e proteinúria acima de 500mg/dL ;

Síndrome nefrótica: proteinúria superior a $3.5\text{g}/24\text{hs}$; albumina sérica inferior a 3g/dL e hipercolesterolemia, associadas ou não a edema generalizado;

Insuficiência renal: valores séricos de creatinina superiores a 1.2mg/dL ;

Insuficiência renal crônica terminal: valores séricos de creatinina superiores a 10mg/dL .

. As variáveis imunológicas foram assim consideradas:

Células LE: positivas quando presentes no esfregaço sanguíneo periférico;

FAN: pesquisa realizada pela técnica da imunofluorescência indireta (IFI), utilizando como substrato, fígado de camundongo e considerada positiva quando apresentava títulos acima de 1: 80. Os padrões observados na IFI foram: periférico, salpicado, homogêneo e nucleolar.

Complemento C3 e C4: técnica da turbidimetria; kit: Sera-Pak-Imuno C3®, Bayer; equipamento: RA-XT-Bayer. Os resultados de C3 foram considerados anormais quando os valores séricos eram inferiores a 64mg/dL (homens) e 66mg/dl (mulheres) e os de C4, quando os valores séricos eram inferiores a 14mg/dL (homens) e 19mg/dL (mulheres);

. Albumina sérica: considerada anormal quando se encontravam valores inferiores a 3gr/dL. O método utilizado foi o verde de bromocresol em equipamento RAXT-Bayer.

. Hemoglobina e o hematócrito: considerados anormais quando as taxas séricas expressavam resultados inferiores a 11,5g/dL para hemoglobina e 36% para hematócrito em mulheres e inferiores a 13,5g/dL para hemoglobina e 40% de hematócrito para homens. O método utilizado foi o da automação ADVIA 160, Bayer.

. As drogas utilizadas durante o estudo foram:

Ciclofosfamida endovenosa, em dose inicial de 0.75 g/m², seguida de 1.0 g/m² mensal durante 6 meses; doses seqüenciais eram administradas a intervalos de 3 meses, devendo assim continuar até completar 2 anos de inatividade da doença;

Prednisona por via oral, com pacientes separados em dois grupos, dose diária < 0.5 mg/kg e dose diária > 0.5 mg/kg, associada ou não a outras drogas;

Azatioprina, por via oral, foi utilizada para manter a remissão da doença na dose de 2.0 mg/kg/dia;

Micofenolato mofetil, administrado a um único paciente, foi usado na dose de 1.0 gm/dia;

3.8.3 Análise estatística

Para análise de associação entre variáveis categorizadas foram utilizados os testes: teste exato de Fisher, qui-quadrado de Pearson e o teste do qui-quadrado.

Para verificação de normalidade das variáveis contínuas foi empregado o teste de Kolmogorov-Smirnow.

O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para verificação de correlação linear entre duas variáveis contínuas.

Para verificar a igualdade de duas médias de populações independentes foi utilizado o teste t de Student. O teste de Mac Nilman foi aplicado para verificar a igualdade de marginais.

Para cálculos de sensibilidade e especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, falsos positivos e falsos negativos, foram usados testes de estimativas de proporções e intervalo de confiança.

A significância estatística foi sempre definida por um valor de $p < 0.05$.

Os programas para microcomputadores — Microsoft Excel, Microsoft Word, SPSS_8,0_para Windows — foram utilizados para armazenamento de dados, análise dos resultados e execução de tabelas e gráficos.

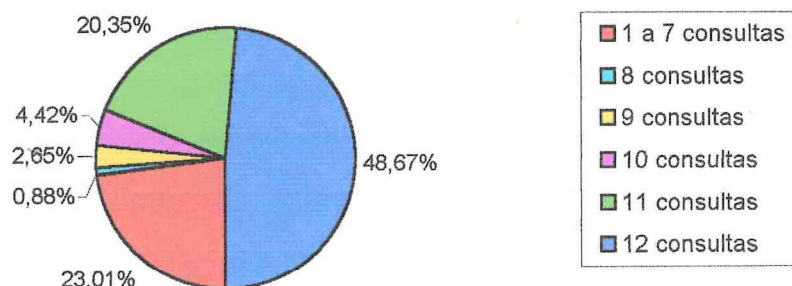
4 RESULTADOS

O estudo longitudinal, objeto desta pesquisa, iniciou-se com 113 pacientes com diagnóstico de LES. Entre estes, 26 (23,1%) foram excluídos da análise longitudinal por não terem completado o mínimo de 8 consultas, critério estabelecido no desenho do estudo (Tabela 1 e Gráfico 1).

Tabela 1: Frequência de consultas dos 113 portadores de LES recrutados inicialmente para seguimento de 12 meses no HUWC

Nº de Consultas	Pacientes	Percentual
1 a 7	26	23,01%
8	1	0,88%
9	3	2,65%
10	5	4,42%
11	23	20,35%
12	55	48,67%
Total	113	100,00%

Gráfico 1: Frequência de consultas de 113 portadores de LES recrutados inicialmente para seguimento de 12 meses no HUWC.

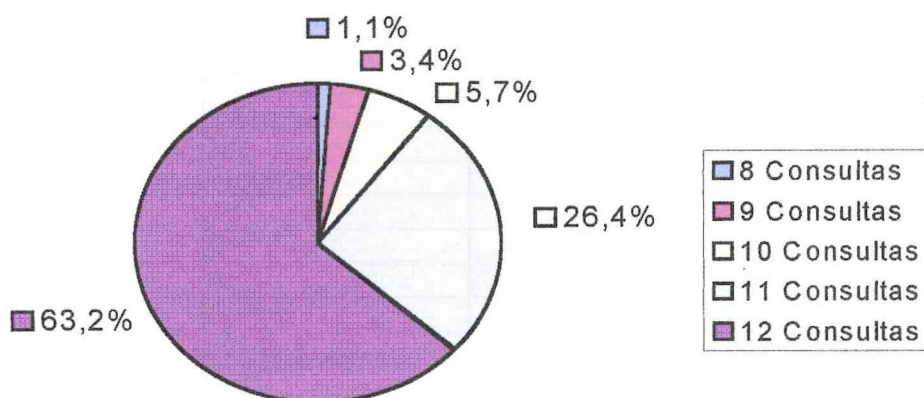


Oitenta e sete pacientes (76,9%) foram, então, acompanhados durante 12 meses, com uma freqüência de consultas que variou de 8 a 12 (Tabela 2 e Gráfico 2). Esta foi a população, de fato, analisada no estudo.

Tabela 2: Freqüência de consultas de 87 portadores de LES durante período de de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Nº. de Consultas	Nº. de Pacientes	Percentual
8	1	1,1%
9	3	3,4%
10	5	5,7%
11	23	26,4%
12	55	63,2%

Gráfico 2: : Freqüência de consultas de 87 portadores de LES durante período de de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



Comparando os dados iniciais dos 87 pacientes que participaram do estudo longitudinal com os 26 pacientes que foram excluídos por não preencherem o critério de inclusão relativo ao número de consultas, podemos concluir que não havia diferenças estatisticamente significantes entre a maioria das variáveis (Tabelas 3 e 4). Apenas a freqüência de serosite, da positividade do anticorpo anti-Ro e do uso de imunossupressor foram diferentes entre os grupos estudados.

Tabela 3: Características demográficas, clínicas e laboratoriais (variáveis categóricas) de 113 pacientes com LES com e sem acompanhamento longitudinal no HUWC.

VARIÁVEL	CATEGORIA	GRUPO				p	TOTAL (n=113)	
		Sem acompanhamento (n=26)		com acompanhamento (n=87)			numero pacientes	%
		numero pacientes	%	numero pacientes	%			
Sexo	Feminino	26	100	84	96,6	1	110	97,3
Cor da Pele	Branca	4	15,4	30	34,5	0,087	34	30,1
Artrite	Sim	15	57,7	60	69	0,346	75	66,4
Fotossensibilidade	Sim	14	53,8	55	63,2	0,492	69	61,1
Manifestação cutânea	Sim	16	61,5	52	59,8	1	68	60,2
Lesão mucosa	Sim	3	11,5	15	17,2	0,76	18	15,9
Nefrite	Sim	11	42,3	47	49,4	0,372	58	51,3
Biópsia Renal	Gn mesangial	1	3,8		0		1	0,9
	Gn proliferativa focal	1	3,8	5	5,7		6	5,3
	Gn proliferativa difusa	8	30,8	29	33,3		37	32,7
	Gn membranosa		0	1	1,1		1	0,9
IRC***	Sim	1	3,8	10	11,5	0,452	11	9,7
IRCT****	Sim		0	3	3,4	1	3	2,7
Anemia hemolítica	Sim	2	7,7	2	2,3	0,226	4	3,5
Serosite	Sim	6	23,1	2	2,3	0,002 (*)	8	7,1
Envolvimento SNC	Sim	1	3,8	5	5,7	1	6	5,3
Plaquetopenia	Sim	4	15,4	4	4,6	0,08	8	7,1
Linfopenia	Sim	13	50	25	28,7	0,059	38	33,6
Leucopenia	Sim	5	19,2	20	23	0,793	25	22,1
anti – Sm	Reagente	7	26,9	18	20,7	0,591	25	22,1
anti-Ro**	Sim	5	19,2	38	43,7	0,037 (*)	43	38,1
anti-RNP*	Sim	10	38,5	29	33,3	0,644	39	34,5
anti-La**	Sim		0	10	11,5	0,113	10	8,8
Células LE	Positiva	10	38,5	46	52,9	0,264	56	49,6
Padrão FAN	Periférico	6	24,0 ⁽¹⁾	30	34,9 ⁽²⁾	0,343	36	32,4
	Salpicado	14	56,0 ⁽¹⁾	54	63,5 ⁽²⁾	0,494	68	61,8
	Homogêneo	4	16,0 ⁽¹⁾	6	7,0 ⁽²⁾	0,228	10	9
	Nucleolar	Sim		0	1	1,2	1	1
Atividade	Sim	14	56	44	50,6	0,657	58	51,8
Uso de Prednisona	Sim	25	96,2	83	95,4	1	108	95,6
Uso de Imunossupressor	Ciclofosfamida	3	11,5	28	32,2	0,011 (*)	31	27,4
	Azatioprina		0	6	6,9		6	5,3
Uso de Antimalárico	Sim	2	7,7	35	40,2	0,002	37	32,7

Legenda:

(*) p < 0.05

(1) n=25

(2) n=86

Gn = glomerulonefrite

IRC = insuficiência renal crônica

IRCT = insuficiência renal crônica terminal

SNC = sistema nervoso central

Anti-Sm = autoanticorpo anti- Sm

Anti-RNP = autoanticorpo anti-ribonucleoproteína

Anti-Ro = autoanticorpo anti-Ro

Anti-LA = auto anticorpo anti-La

Tabela 4: Características demográficas, clínicas e laboratoriais (variáveis numéricas) de 113 pacientes com LES com e sem acompanhamento longitudinal no HUWC.

VARIÁVEIS		GRUPO		P	Total
		sem acompanhamento	com acompanhamento		
IDADE (ANOS)	N	26	87		113
	Média	33,08	33,15	0,977	33,13
	DP	12,01	10,90		11,11
TEMPO DE DOENÇA (MESES)	N	26	87		113
	Média	54,77	60,70	0,668	59,34
	DP	42,59	66,19		61,44
VALOR DO ANTI-NUCLEOSSOMA	N	26	87		113
	Média	0,272	0,264	0,910	0,266
	DP	0,293	0,307		0,302
VALOR DO ANTI-dsDNA	N	26	87		113
	Média	0,158	0,185	0,645	0,179
	DP	0,236	0,276		0,266
VALOR DO ANTI-HISTONA	N	26	87		113
	Média	0,050	0,046	0,693	0,047
	DP	0,039	0,050		0,048
ESCORE DO LACC	N	25	87		112
	Média	1,60	1,51	0,736	1,53
	DP	1,12	1,26		1,22
ESCORE DO SLEDAI	N	25	87		112
	Média	8,80	8,22	0,754	8,35
	DP	7,69	8,28		8,12

Todos os resultados apresentados a partir deste ponto serão referentes aos 87 pacientes que completaram o seguimento. A quase totalidade dos pacientes, 96,6%, era do sexo feminino e 34,5% eram de cor branca, com média de idade de 33,1 anos e tempo médio de doença de 60,7 meses. As manifestações clínicas mais comuns da doença foram: artrite (69,0%), fotossensibilidade (63,2%) e lesões cutâneas (59,8%). A presença de nefrite ocorreu em 49,4% dos pacientes, com insuficiência renal em 11,5% deles, sendo que 3 pacientes necessitaram de tratamento com hemodiálise. Dos 35 pacientes submetidos a biópsia renal, 29 (33,3%) apresentaram glomerulonefrite proliferativa difusa, 5 (5,7%) apresentaram glomerulonefrite focal e 1 (1,1%) glomerulonefrite membranosa. Nenhum paciente apresentou a forma mesangial.

As manifestações menos comuns foram: anemia hemolítica (2,3%), serosite (2,3%), plaquetopenia (4,6%) e envolvimento do sistema nervoso central (5,7%).

A presença de células LE foi observada em 52,9% dos pacientes. O padrão de FAN salpicado foi predominante, sendo observado em 63,5% dos pacientes. Os autoanticorpos anti-Sm, anti-Ro, anti-La e anti-RNP tiveram uma frequência de 20%, 43,7%, 11,5% e 33,3%, respectivamente. Aproximadamente metade dos pacientes (50,6%) encontrava-se em atividade da doença na primeira avaliação.

Os títulos médios dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona, na primeira avaliação, foram de $0,264 \pm 0,307$; $0,185 \pm 0,276$; e $0,046 \pm 0,050$ unidades respectivamente, expressos em densidade ótica. Os escores médios dos índices de atividade, na primeira avaliação, medidos pelo LAAC e SLEDAI foram de 1,51 e 8,22, respectivamente.

A prevalência da nefrite durante as doze avaliações variou de 37% a 55,2% (Tabela 5), com tendência à redução a partir da segunda avaliação (Gráfico 3). A síndrome nefrótica esteve presente em até 9,2% dos pacientes, durante as doze avaliações (Tabela 6), com redução gradativa na frequência durante o período do estudo (Gráfico 4). A ocorrência da insuficiência renal foi registrada em 10,9% a 32,2% das doze avaliações, sendo mais freqüente na primeira avaliação (Tabela 7). A prevalência da insuficiência renal também diminuiu gradativamente ao longo das doze avaliações (Gráfico 5), com frequência de 32,2% na primeira, passando a 10,9% na última.

Tabela 5: Prevalência de nefrite lúpica e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	49,4%	(38,7% - 60,1%)
2	87	55,2%	(44,5% - 65,8%)
3	87	54,0%	(43,3% - 64,7%)
4	87	48,3%	(37,6% - 59,0%)
5	87	46,0%	(35,3% - 56,7%)
6	87	46,0%	(35,3% - 56,7%)
7	87	41,4%	(30,8% - 51,9%)
8	87	40,2%	(29,7% - 50,7%)
9	86	44,2%	(33,5% - 54,9%)
10	83	41,0%	(30,2% - 51,8%)
11	78	37,0%	(26,2% - 48,2%)
12	55	45,5%	(31,9% - 59,0%)

Gráfico 3: Prevalência de nefrite lúpica e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

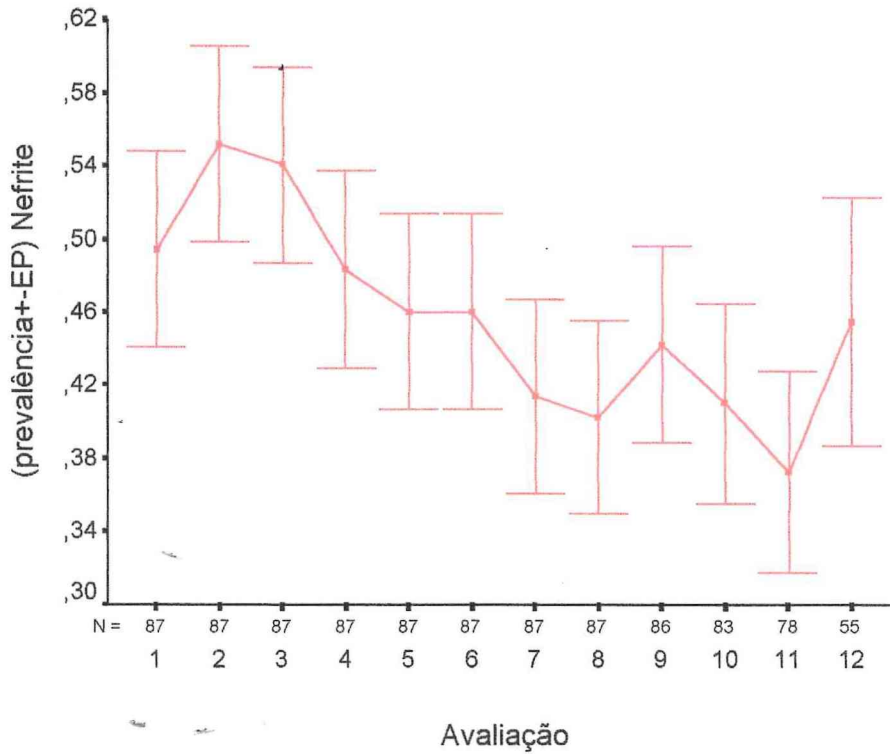


Tabela 6: Prevalência de síndrome nefrótica e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	9,2%	(3,0% - 15,4%)
2	87	4,6%	(0,1% - 9,1%)
3	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
4	87	1,2%	(0,0% - 3,4%)
5	87	3,5%	(0,0% - 7,4%)
6	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
7	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
8	87	1,2%	(0,0% - 3,4%)
9	86	2,3%	(0,0% - 5,6%)
10	83	1,2%	(0,0% - 3,6%)
11	78	0,0%	
12	55	0,0%	

Gráfico 4: Prevalência de síndrome nefrótica e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

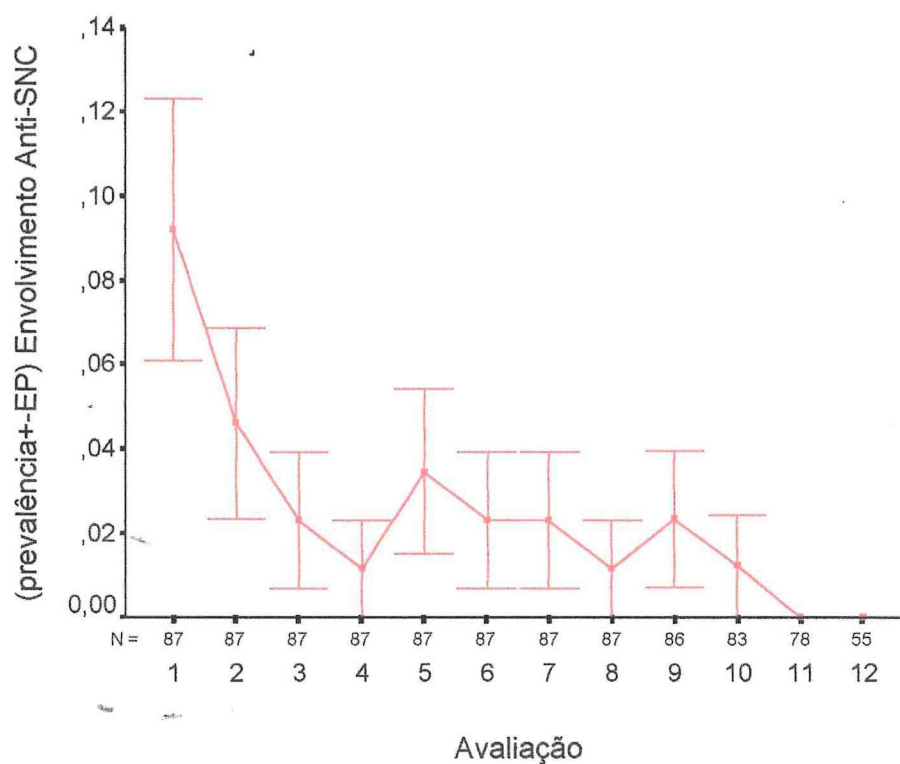
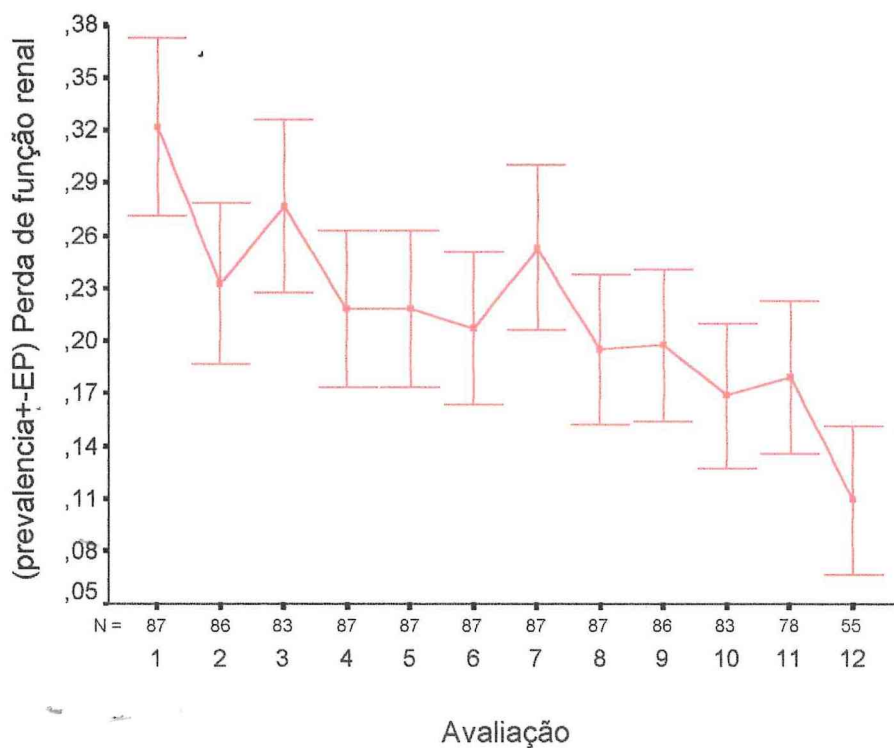


Tabela 7: Prevalência de insuficiência renal e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	32,2%	(22,2% - 42,2%)
2	86	23,3%	(14,2% - 32,4%)
3	83	27,7%	(17,9% - 37,5%)
4	87	21,8%	(13,0% - 30,7%)
5	87	21,8%	(13,0% - 30,7%)
6	87	20,7%	(12,0% - 29,4%)
7	87	25,3%	(16,0% - 34,6%)
8	87	19,5%	(11,0% - 28,0%)
9	86	19,8%	(11,2% - 28,4%)
10	83	16,9%	(8,6% - 25,1%)
11	78	18,0%	(9,2% - 26,7%)
12	55	10,9%	(2,4% - 19,4%)

Gráfico 5: Prevalência de insuficiência renal e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

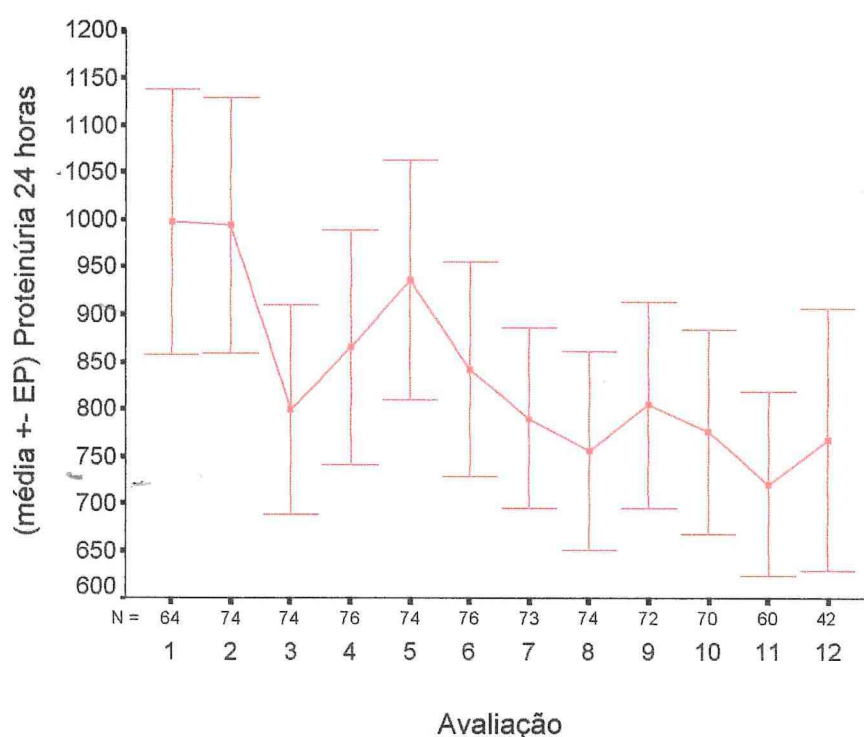


A proteinúria de 24 horas durante o acompanhamento dos pacientes mostrou uma tendência à diminuição, evoluindo de uma média de 997,3 mg para 767,1 mg (Tabela 8), sendo os maiores valores na 1,^a 2^a e 5^a avaliações com tendência à queda, posteriormente (Gráfico 6).

Tabela 8: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de proteinúria de 24 horas em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	máximo
1	64	997,30	1118,87	28	500,0	4156
2	74	994,41	1162,84	28	539,5	6431
3	74	799,36	952,29	22	495,0	4135
4	76	864,93	1084,30	26	422,5	5510
5	74	936,32	1095,94	14	460,0	4600
6	76	842,08	983,98	50	476,5	4354
7	73	789,73	814,84	53	388,0	3337
8	74	755,51	906,55	36	323,0	3682
9	72	803,67	928,31	18	325,0	3468
10	70	775,29	902,65	18	380,0	3729
11	60	720,52	754,65	15	332,5	2800
12	42	767,17	897,68	34	462,0	4100

Gráfico 6: Valores médios e erro padrão da média da proteinúria de 24 horas em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .



Com relação à sedimentoscopia urinária, a prevalência da hematúria variou de 19,2% a 32,2% (Tabela 9), observando-se a mesma tendência de redução ao longo do período de seguimento (Gráfico 7). A leucocitúria, cuja prevalência variou de 9,6% a 25,3% (Tabela 10), tornou-se também menos freqüente ao longo do estudo (Gráfico 8), o mesmo acontecendo com a cilindrúria, que variou de zero a 6,9% (Tabela 11 e Gráfico 9).

Tabela 9: Prevalência de hematúria e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	32,2%	(22,3% - 42,1%)
2	87	34,5%	(24,4% - 44,5%)
3	87	29,9%	(20,2% - 39,6%)
4	87	31,0%	(21,3% - 40,8%)
5	87	27,6%	(18,1% - 37,0%)
6	87	23,0%	(14,1% - 31,9%)
7	87	21,8%	(13,1% - 30,6%)
8	87	20,7%	(12,1% - 29,3%)
9	86	26,7%	(17,3% - 36,2%)
10	83	21,7%	(12,8% - 30,6%)
11	78	19,2%	(10,4% - 28,0%)
12	55	27,3%	(15,4% - 39,2%)

Gráfico 7: Prevalência da hematúria e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

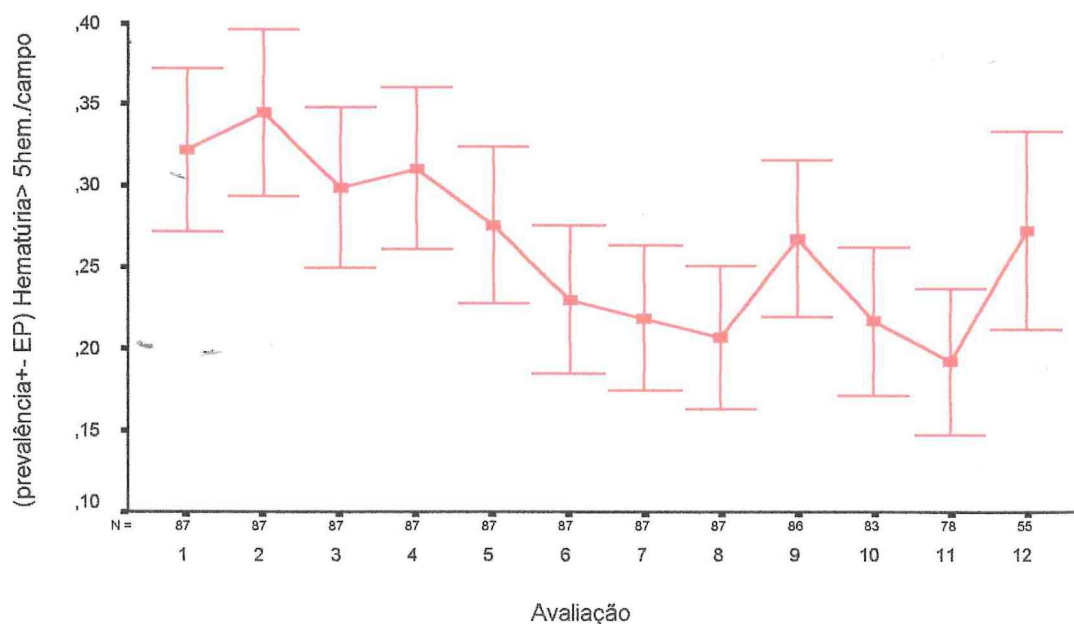


Tabela 10: Prevalência de leucocitúria e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	21,8%	(13,0% - 30,7%)
2	87	25,3%	(16,0% - 34,6%)
3	87	16,1%	(8,2% - 24,0%)
4	87	19,5%	(11,0% - 28,0%)
5	87	17,2%	(9,1% - 25,3%)
6	87	14,9%	(7,3% - 22,6%)
7	87	14,9%	(7,3% - 22,6%)
8	87	12,6%	(5,5% - 19,8%)
9	86	14,0%	(6,5% - 21,4%)
10	83	9,6%	(3,2% - 16,1%)
11	78	10,0%	(3,4% - 17,1%)
12	55	12,7%	(3,6% - 21,8%)

Gráfico 8: Prevalência da leucocitúria e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

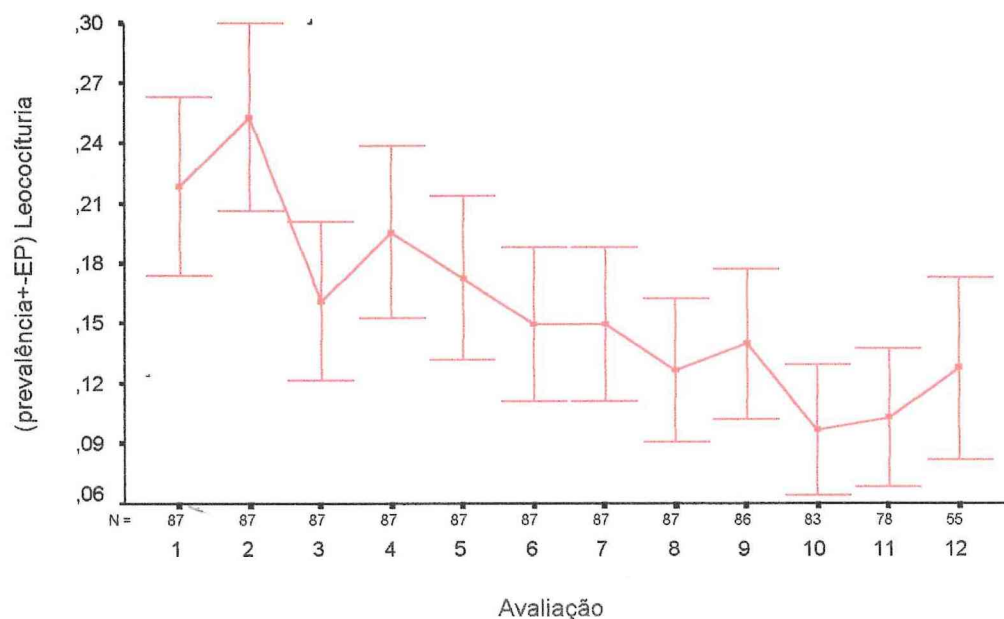
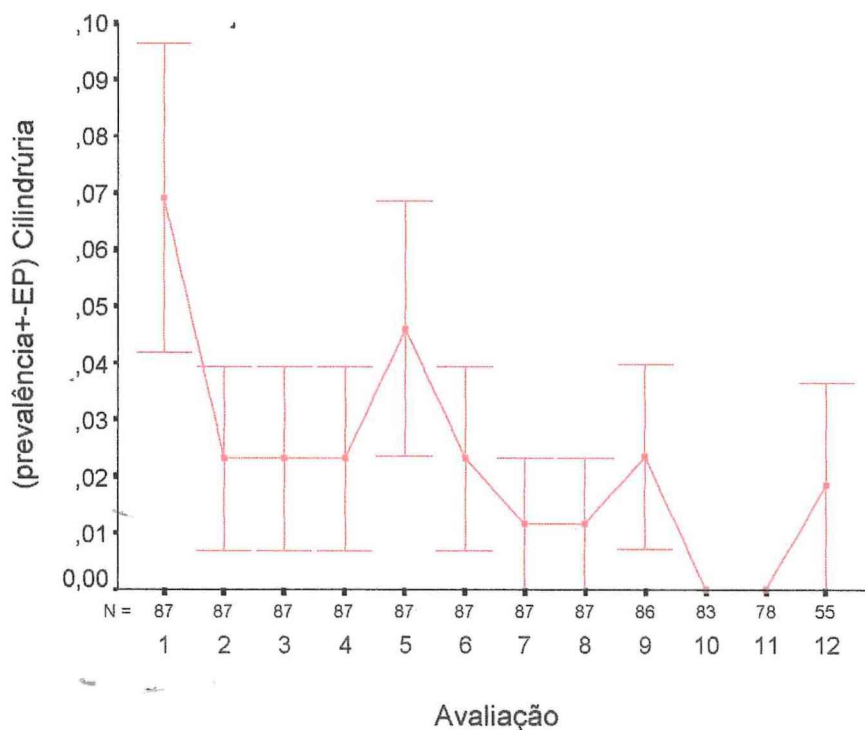


Tabela 11: Prevalência de cilindrúria e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	6,9%	(1,5% - 12,3%)
2	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
3	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
4	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
5	87	4,6%	(0,1% - 9,1%)
6	87	2,3%	(0,0% - 5,5%)
7	87	1,2%	(0,0% - 3,4%)
8	87	1,2%	(0,0% - 3,4%)
9	86	2,3%	(0,0% - 5,6%)
10	83	0,0%	
11	78	0,0%	
12	55	1,8%	(0,0% - 5,5%)

Gráfico 9: Prevalência da cilindrúria e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

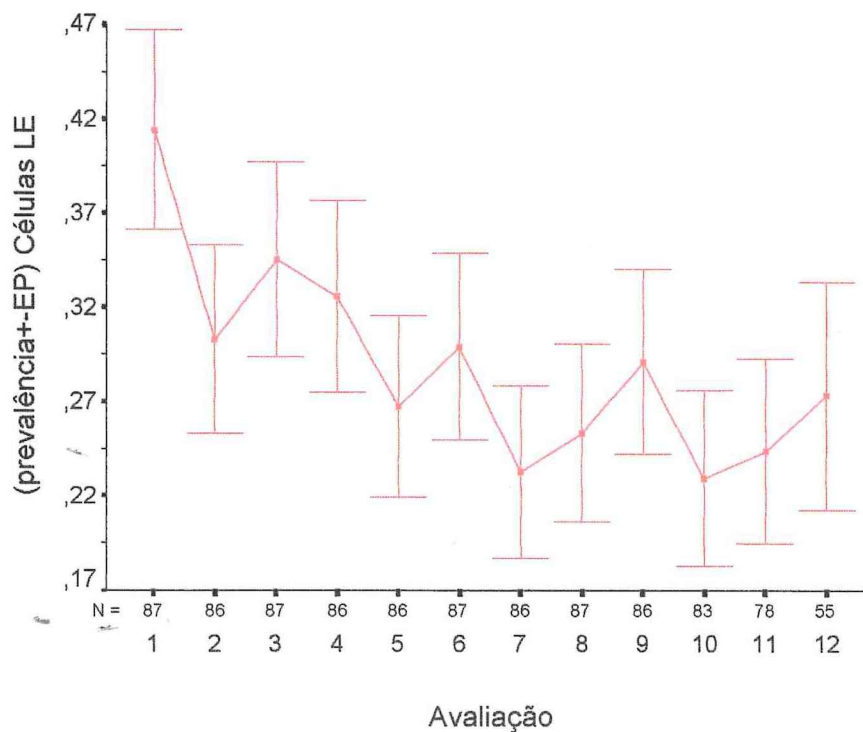


A prevalência das células LE variou de 22,9% a 41,4% (Tabela 12), reduzindo-se durante o transcurso das 12 avaliações (Gráfico 9).

Tabela 12: Prevalência de células LE e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	41,4%	(30,8% - 51,9%)
2	86	30,2%	(20,3% - 40,1%)
3	87	34,5%	(24,3% - 44,7%)
4	86	32,6%	(22,5% - 42,7%)
5	86	26,7%	(17,2% - 36,3%)
6	87	29,9%	(20,1% - 39,7%)
7	86	23,3%	(14,2% - 32,4%)
8	87	25,3%	(16,0% - 34,6%)
9	86	29,1%	(19,3% - 38,9%)
10	83	22,9%	(13,7% - 32,1%)
11	78	24,0%	(14,6% - 34,1%)
12	55	27,3%	(15,1% - 39,4%)

Gráfico 10: Prevalência das células LE e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



As prevalências dos padrões de FAN periférico, salpicado e homogêneo, são mostradas nas Tabelas 13, 14 e 15 e nos Gráficos 11, 12 e 13. Enquanto a positividade do FAN periférico e do FAN homogêneo reduziu-se ao longo das doze avaliações, a frequência do FAN salpicado apresentou uma tendência para a elevação. O padrão nucleolar só foi observado em um paciente, na primeira e na 10ª avaliação.

Tabela 13: Prevalência de FAN periférico e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	34,5%	(24,3% - 44,7%)
2	86	32,6%	(22,5% - 42,7%)
3	87	19,5%	(11,0% - 28,0%)
4	87	13,8%	(6,4% - 21,2%)
5	86	19,8%	(11,2% - 28,4%)
6	87	13,8%	(6,4% - 21,2%)
7	87	27,6%	(18,0% - 37,2%)
8	87	13,8%	(6,4% - 21,2%)
9	85	15,3%	(7,5% - 23,1%)
10	83	10,8%	(4,0% - 17,7%)
11	78	10,0%	(3,4% - 17,1%)
12	55	9,1%	(1,3% - 16,9%)

Gráfico 11: Prevalência do padrão FAN periférico e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

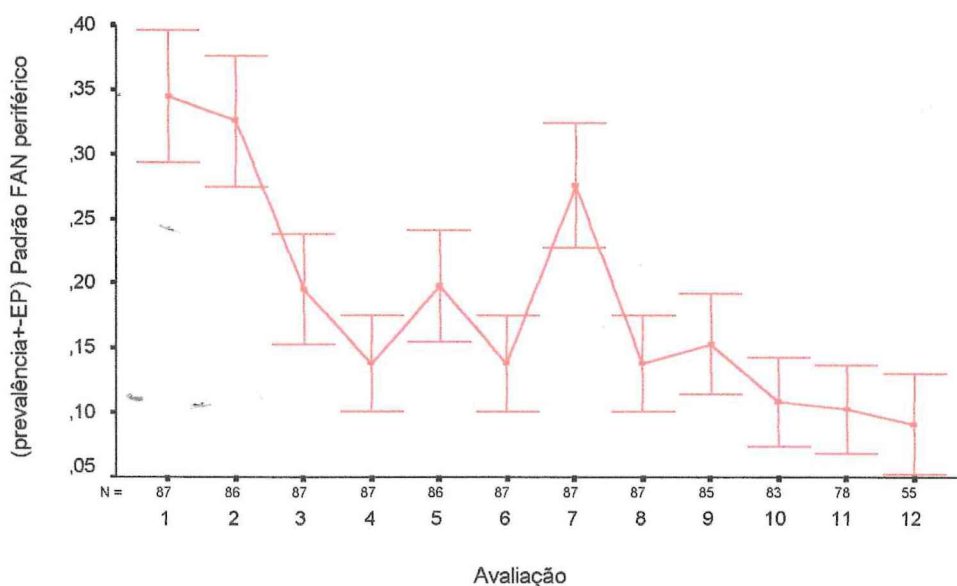


Tabela 14: Prevalência de FAN salpicado e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	62,1%	(51,7% - 72,5%)
2	86	58,1%	(47,5% - 68,8%)
3	87	62,1%	(51,7% - 72,5%)
4	87	65,5%	(55,3% - 75,7%)
5	86	66,3%	(56,1% - 76,5%)
6	87	71,3%	(61,6% - 81,0%)
7	87	71,3%	(61,6% - 81,0%)
8	87	73,6%	(64,1% - 83,0%)
9	85	68,2%	(58,1% - 78,3%)
10	83	73,5%	(63,8% - 83,2%)
11	78	56,0%	(45,2% - 67,7%)
12	55	67,3%	(54,5% - 80,1%)

Gráfico 12: Prevalência do padrão FAN salpicado e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

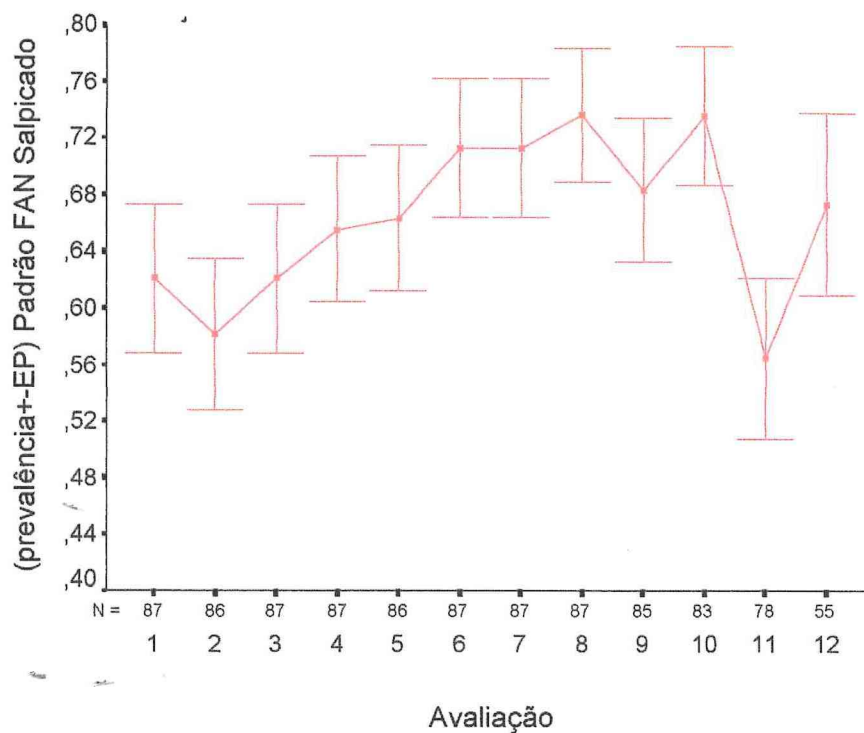
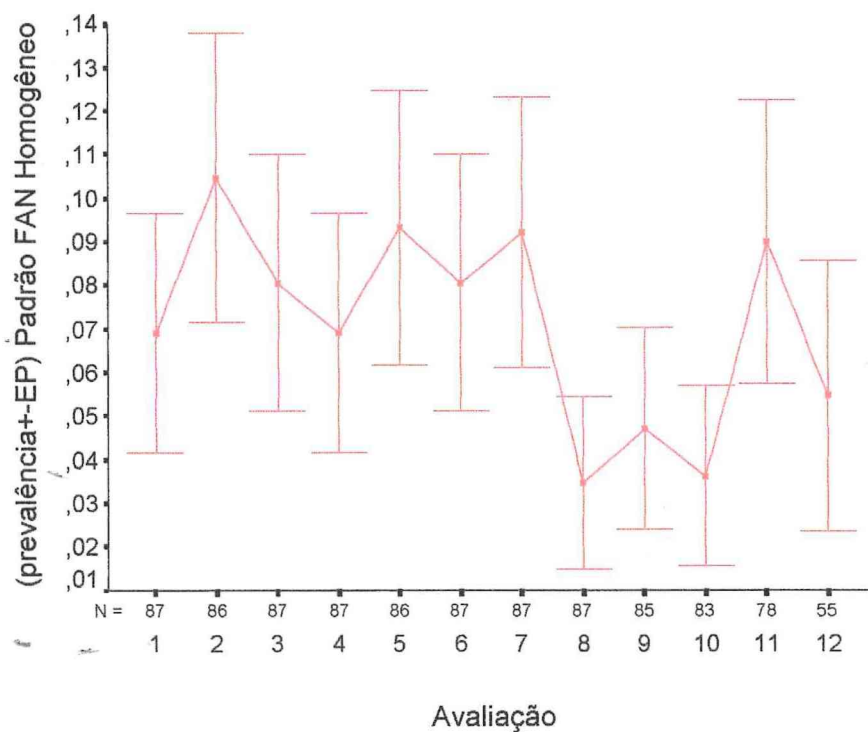


Tabela 15: Prevalência de FAN homogêneo e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	6,9%	(1,5% - 12,3%)
2	86	10,5%	(3,9% - 17,1%)
3	87	8,1%	(2,2% - 13,9%)
4	87	6,9%	(1,5% - 12,3%)
5	86	9,3%	(3,0% - 15,6%)
6	87	8,1%	(2,2% - 13,9%)
7	87	9,2%	(3,0% - 15,4%)
8	87	3,5%	(0,0% - 7,4%)
9	85	4,7%	(0,1% - 9,3%)
10	83	3,6%	(0,0% - 7,7%)
11	78	9,0%	(2,5% - 15,5%)
12	55	5,5%	(0,0% - 11,7%)

Gráfico 13: Prevalência do padrão FAN homogêneo e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

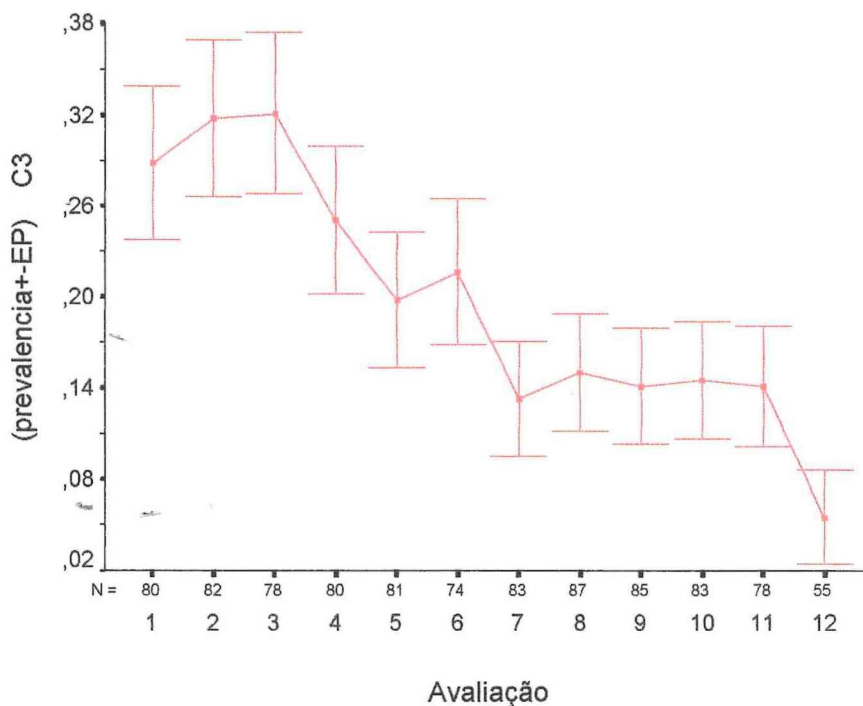


A redução dos níveis séricos de C3 foi mais freqüente nas quatro primeiras avaliações, diminuindo a seguir, ao longo do acompanhamento (Tabela 16), o que pode ser bem evidenciado quando se compara a 12^a (5,5%) e a 3^a (32,1%) avaliação (Gráfico 14).

Tabela 16: Prevalência de complemento sérico reduzido (C3) e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	80	28,8%	(18,6% - 38,9%)
2	82	31,7%	(21,4% - 42,0%)
3	78	32,1%	(21,5% - 42,6%)
4	80	25,0%	(15,3% - 34,7%)
5	81	19,8%	(10,9% - 28,6%)
6	74	21,6%	(12,0% - 31,2%)
7	83	13,3%	(5,8% - 20,7%)
8	87	14,9%	(7,3% - 22,6%)
9	85	14,1%	(6,6% - 21,7%)
10	83	14,5%	(6,7% - 22,2%)
11	78	14,1%	(6,2% - 22,0%)
12	55	5,5%	(0,0% - 11,7%)

Gráfico 14: Prevalência do complemento sérico reduzido (C3) e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

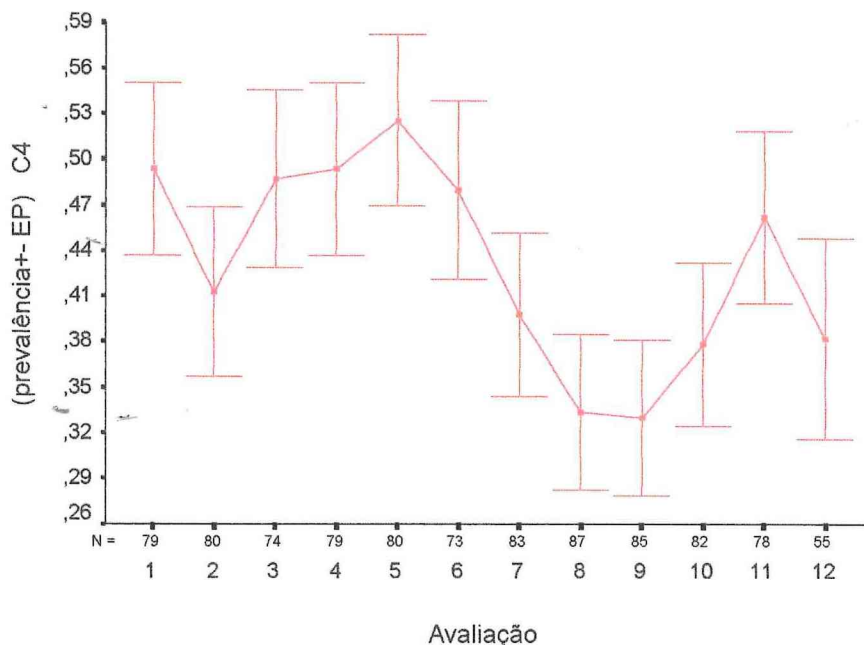


A redução dos níveis séricos da fração C4 do complemento ocorreu com maior frequência que a redução dos níveis da fração C3, persistindo ao longo de praticamente todo o período do estudo, como mostram a Tabela 17 e o Gráfico 15.

Tabela 17: Prevalência de complemento sérico reduzido (C4) e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	79	49,4%	(38,1% - 60,6%)
2	80	41,3%	(30,2% - 52,3%)
3	74	48,7%	(37,0% - 60,3%)
4	79	49,4%	(38,1% - 60,6%)
5	80	52,5%	(41,3% - 63,7%)
6	73	48,0%	(36,2% - 59,7%)
7	83	39,8%	(29,0% - 50,5%)
8	87	33,3%	(23,2% - 43,4%)
9	85	32,9%	(22,7% - 43,1%)
10	82	37,8%	(27,1% - 48,5%)
11	78	46,2%	(34,8% - 57,5%)
12	55	38,1%	(32,0% - 45,0%)

Gráfico 15: Prevalência do complemento sérico reduzido (C4) e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



Outros parâmetros laboratoriais, como a dosagem de albumina sérica, os valores de hematócrito e hemoglobina, mostraram, contrariamente aos parâmetros anteriores, tendência à elevação gradativa durante as doze avaliações (Tabelas 18 a 20 e Gráficos 16 a 18).

Tabela 18: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de albumina sérica em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	média	DP	mínimo	mediana	máximo
1	87	3,21	0,75	2,0	3,30	4,4
2	87	3,41	0,69	1,4	3,60	4,7
3	87	3,41	0,65	1,2	3,50	4,9
4	87	3,46	0,60	1,6	3,50	4,5
5	87	3,52	0,56	2,0	3,50	4,9
6	87	3,58	0,55	2,0	3,70	4,9
7	87	3,56	0,58	1,5	3,70	4,6
8	87	3,55	0,58	1,4	3,60	4,7
9	86	3,52	0,54	1,8	3,60	4,7
10	83	3,60	0,50	2,3	3,60	4,6
11	78	3,70	0,54	2,0	3,75	4,6
12	55	3,67	0,48	2,5	3,60	4,9

Gráfico 16: Média da albumina sérica e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

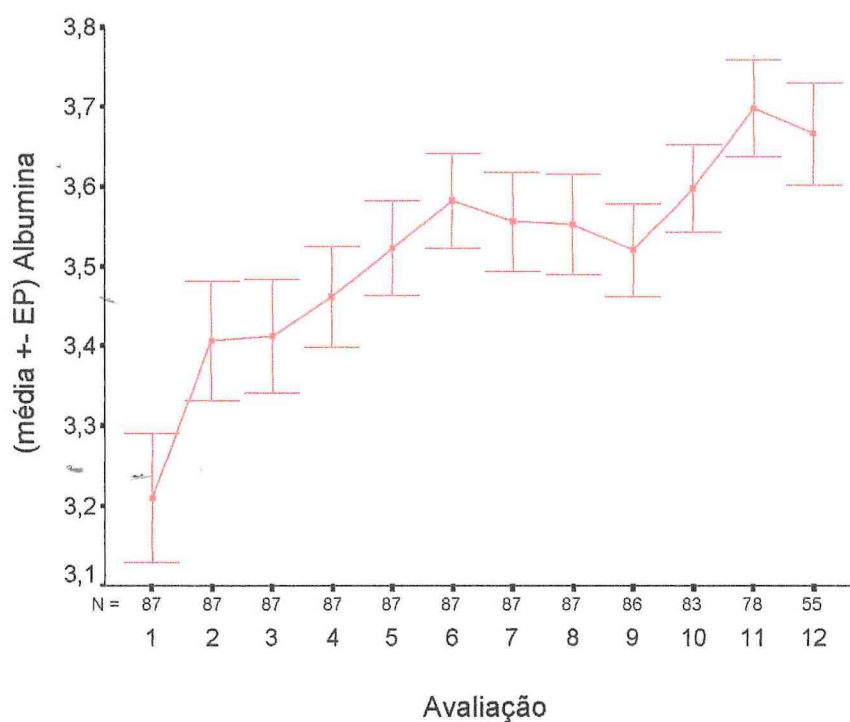


Tabela 19: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de hematócrito em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	média	DP	mínimo	mediana	máximo
1	87	33,57	6,27	16,5	34,80	47,3
2	87	34,70	5,44	14,7	35,10	48,6
3	87	35,46	5,46	15,1	35,60	45,3
4	87	35,38	5,17	18,7	35,90	45,3
5	87	35,25	4,95	20,1	35,70	45,1
6	87	34,72	5,01	18,0	35,40	44,6
7	87	34,57	4,76	17,1	34,40	45,3
8	87	34,79	4,47	22,0	35,30	45,0
9	86	34,78	4,44	22,6	34,95	45,4
10	83	34,85	4,90	11,7	35,10	45,8
11	77	35,37	4,49	25,0	34,90	47,3
12	55	35,73	3,92	26,2	35,70	47,0

Gráfico 17: Média do hematócrito e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

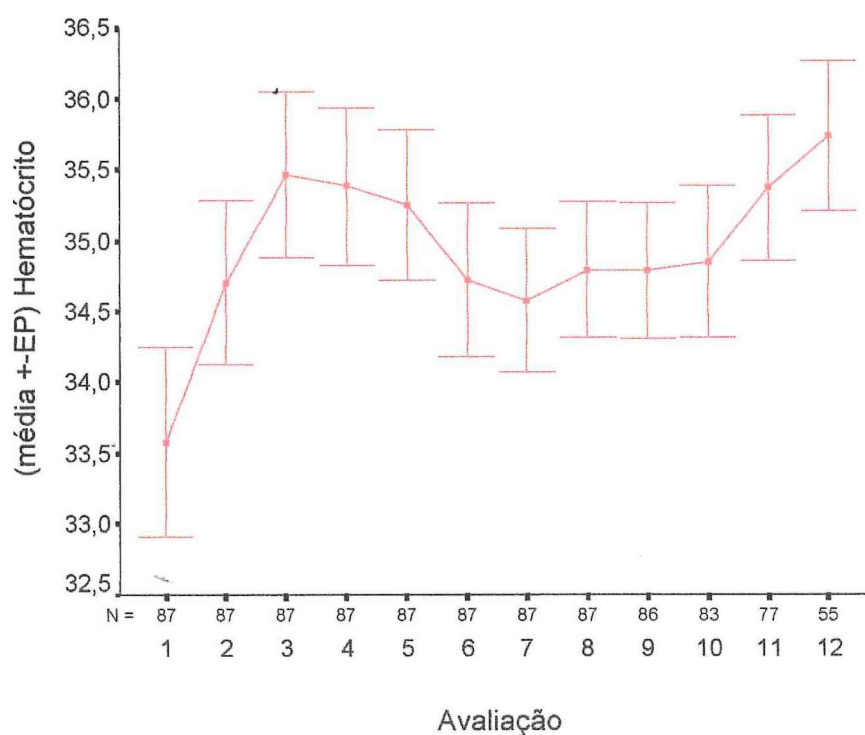
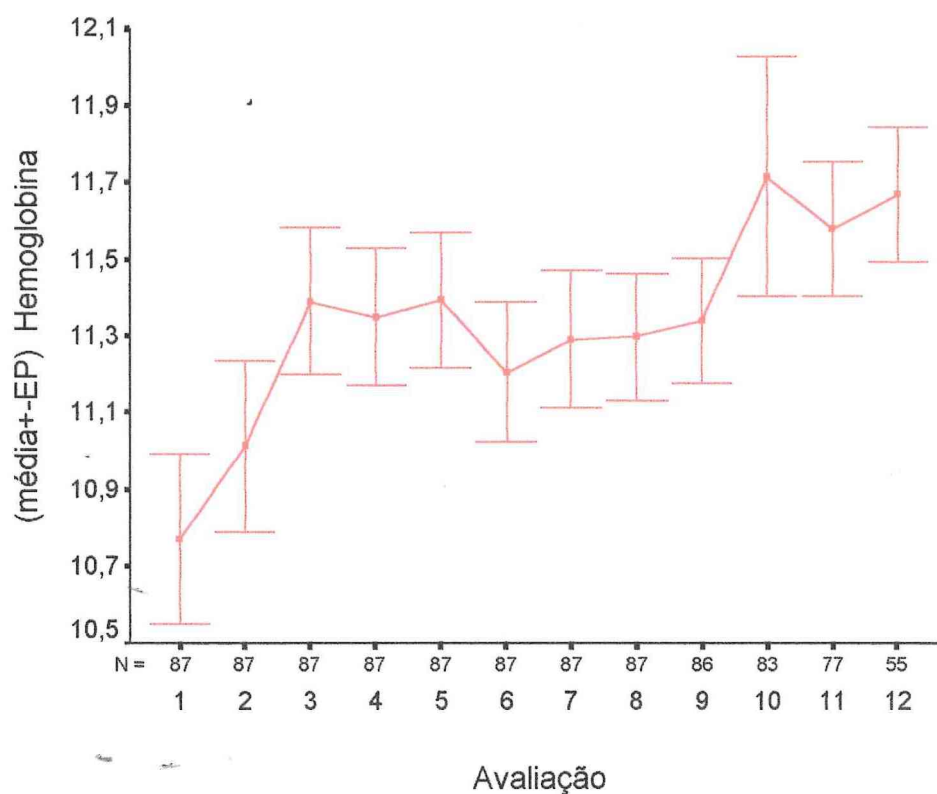


Tabela 20: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de hemoglobina em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	média	DP	mínimo	mediana	máximo
1	87	10,77	2,05	5,4	11,1	14,9
2	87	11,01	2,09	1,0	11,2	14,7
3	87	11,39	1,77	5,1	11,4	14,3
4	87	11,35	1,64	6,1	11,6	15,1
5	87	11,39	1,63	6,2	11,4	14,7
6	87	11,20	1,71	6,0	11,3	15,4
7	87	11,29	1,67	5,7	11,3	16,0
8	87	11,30	1,53	7,0	11,4	14,8
9	86	11,34	1,50	7,2	11,4	14,5
10	83	11,71	2,84	7,5	11,5	34,0
11	77	11,58	1,54	7,1	11,6	15,5
12	55	11,67	1,31	7,0	11,7	14,2

Gráfico 18: Média da hemoglobina e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

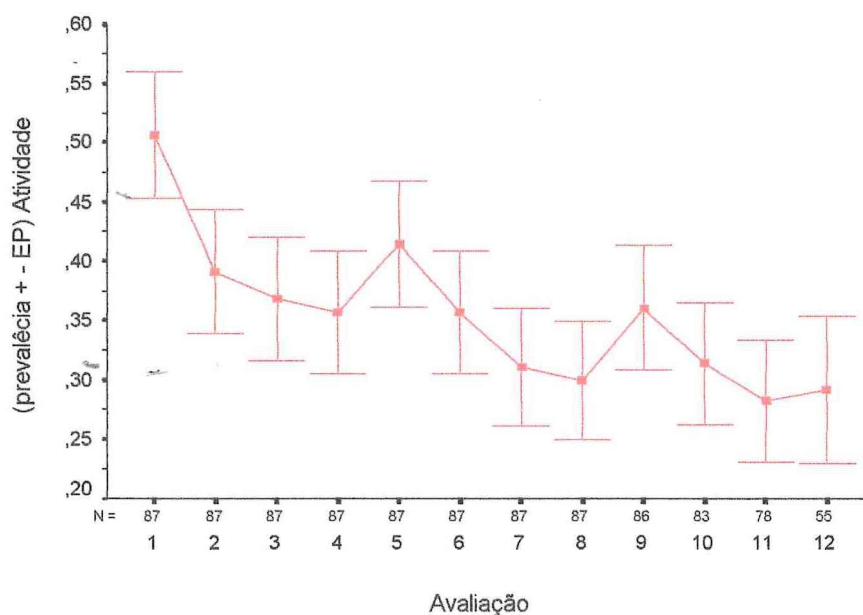


A identificação da atividade da doença foi estabelecida através do *Lupus Activity Criteria Count* (LAAC). Nota-se importante redução da prevalência da atividade ao longo do seguimento, com 50,6% dos pacientes em atividade na 1ª avaliação e somente 29,1% na última avaliação (Tabela 21 e Gráfico 19).

Tabela 21: Prevalência de atividade da doença definida através do LACC e intervalo de confiança de 95% em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	n	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	50,6%	(39,9% - 61,3%)
2	87	39,1%	(28,6% - 49,5%)
3	87	36,8%	(26,4% - 47,1%)
4	87	35,6%	(25,4% - 45,9%)
5	87	41,4%	(30,8% - 51,9%)
6	87	35,6%	(25,4% - 45,9%)
7	87	31,0%	(21,1% - 41,0%)
8	87	29,9%	(20,1% - 39,7%)
9	86	36,1%	(25,7% - 46,4%)
10	83	31,3%	(21,1% - 41,5%)
11	78	28,0%	(18,0% - 38,4%)
12	55	29,1%	(16,7% - 41,5%)

Gráfico 19: Prevalência da atividade e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

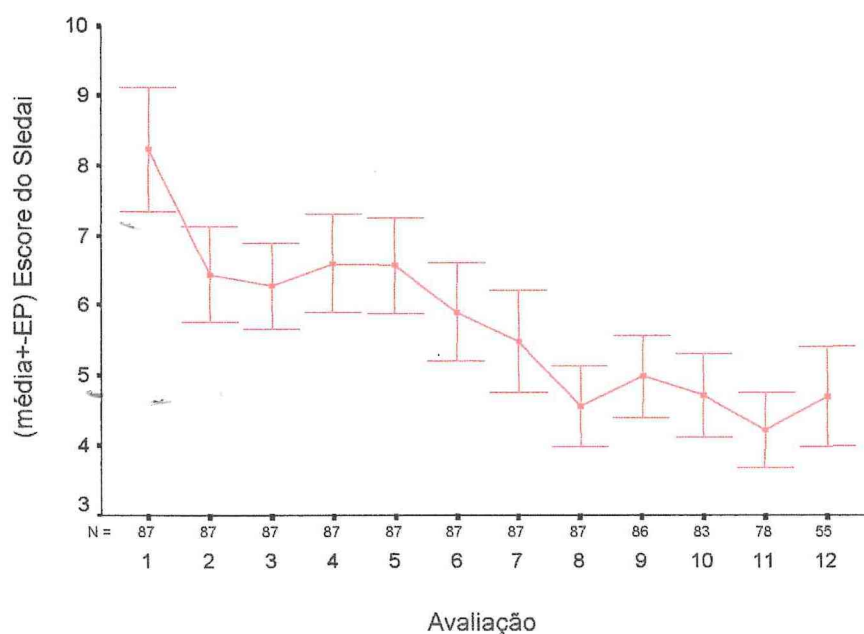


A quantificação da atividade da doença pelo *SLE Disease Activity Index* (SLEDAI) mostra também uma redução gradativa dos escores médios ao longo do estudo, com a primeira avaliação apresentando um escore médio de 8,22 (DP = 8,28) e a última, um valor médio de 4,69 (DP = 5,28) (Tabela 22 e Gráfico 20).

Tabela 22: Média, desvio padrão, valor mínimo, mediana e valor máximo de SLEDAI em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	média	DP	mínimo	mediana	máximo
1	87	8,22	8,28	0	6,0	28
2	87	6,44	6,33	0	4,0	33
3	87	6,26	5,71	0	4,0	21
4	87	6,60	6,58	0	4,0	27
5	87	6,56	6,35	0	4,0	30
6	87	5,91	6,57	0	4,0	26
7	87	5,48	6,87	0	4,0	42
8	87	4,55	5,32	0	4,0	21
9	86	4,99	5,38	0	4,0	22
10	83	4,72	5,41	0	4,0	22
11	78	4,22	4,78	0	3,5	18
12	55	4,69	5,28	0	4,0	24

Gráfico 20: Média do escore do SLEDAI e erro padrão da média em 87 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



Para comparar a eficácia dos dois sistemas utilizados na avaliação da atividade da doença foi investigada a existência de correlação linear entre os dois índices de atividade do LES. O teste de Pearson mostrou que a correlação entre os dois índices variou de 65,5 a 86,5% nas doze avaliações, sendo que em 11 delas a correlação linear foi considerada ótima ou boa. Apenas na segunda avaliação a correlação foi regular, 65,5% (Tabela 23).

Tabela 23: Análise de correlação de Pearson entre o escore SLEDAI e o escore LAAC em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	Correlação	p
1	87	84,8% ⁽¹⁾	<0,0001
2	87	65,5% ⁽³⁾	<0,0001
3	87	79,7% ⁽²⁾	<0,0001
4	87	82,8% ⁽¹⁾	<0,0001
5	87	86,5% ⁽¹⁾	<0,0001
6	87	85,1% ⁽¹⁾	<0,0001
7	87	84,3% ⁽¹⁾	<0,0001
8	87	75,9% ⁽¹⁾	<0,0001
9	86	83,1% ⁽¹⁾	<0,0001
10	83	79,7% ⁽²⁾	<0,0001
11	78	84,0% ⁽¹⁾	<0,0001
12	55	71,4% ⁽²⁾	<0,0001

(1) – ótima correlação

(2) – boa correlação

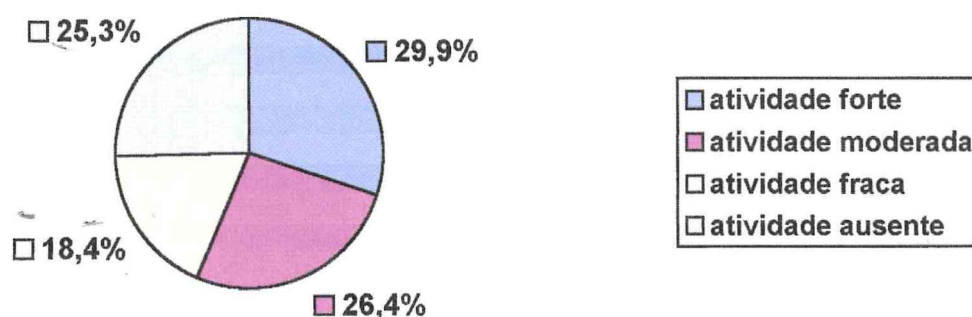
(3) – correlação regular

Atividade do LES foi evidenciada em 74,7% dos pacientes em algum momento do estudo. Como especificado no “Capítulo 3 - Casuística e Métodos”, os pacientes foram classificados em quatro grupos, de acordo com a frequência com que apresentavam atividade da doença (LAAC) ao longo do período de observação. Como pode ser visto na Tabela 24 e representado no Gráfico 21, 56,3% dos pacientes apresentaram, segundo essa definição, atividade moderada a forte do LES durante o período de observação. Apenas 25,3% dos pacientes não exibiam atividade da doença.

Tabela 24: Distribuição da frequência de grupos de atividade da doença, definida através do LACC, em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

	Frequência	%	% Acumulado
atividade forte	26	29,9	100,0
atividade moderada	23	26,4	70,1
atividade fraca	16	18,4	43,7
atividade ausente	22	25,3	25,3
Total	87	100,0	-

Gráfico 21: Distribuição da frequência de grupos de atividade da doença, definida através do LACC, em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .



A presença de anticorpos anti-nucleossoma (títulos acima de 0,167 DO) foi observada com frequências significativamente superiores, ao longo de todo o período de estudo, em comparação à frequência de anticorpos anti-dsDNA (títulos acima de 0,195 DO) e anti-histona (títulos acima de 0,090 DO). A distribuição dos níveis séricos dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona, segundo os diferentes graus de atividade do LES, pode ser vista nos gráficos 22, 23 e 24. Pode-se observar que, enquanto os anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA guardam relação com os períodos de atividade e remissão da doença, o mesmo não acontece com o anticorpo anti-histona.

Gráfico 22: Valores médios e erro padrão da média de títulos séricos dos anticorpos anti-nucleossoma segundo grupos de atividade (LACC) da doença em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

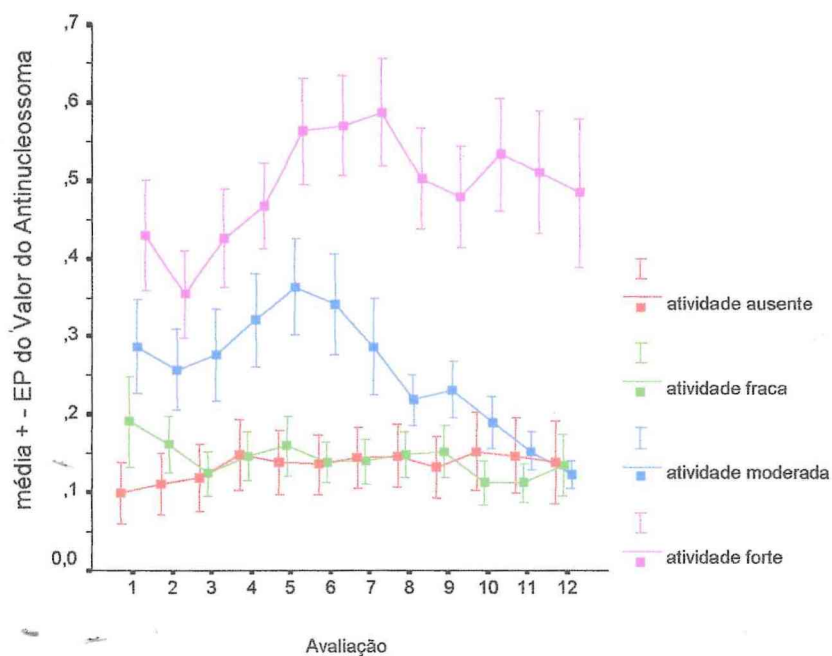


Gráfico 23: Valores médios e erro padrão da média de títulos séricos dos anticorpos anti-dsDNA segundo grupos de atividade (LACC) da doença em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

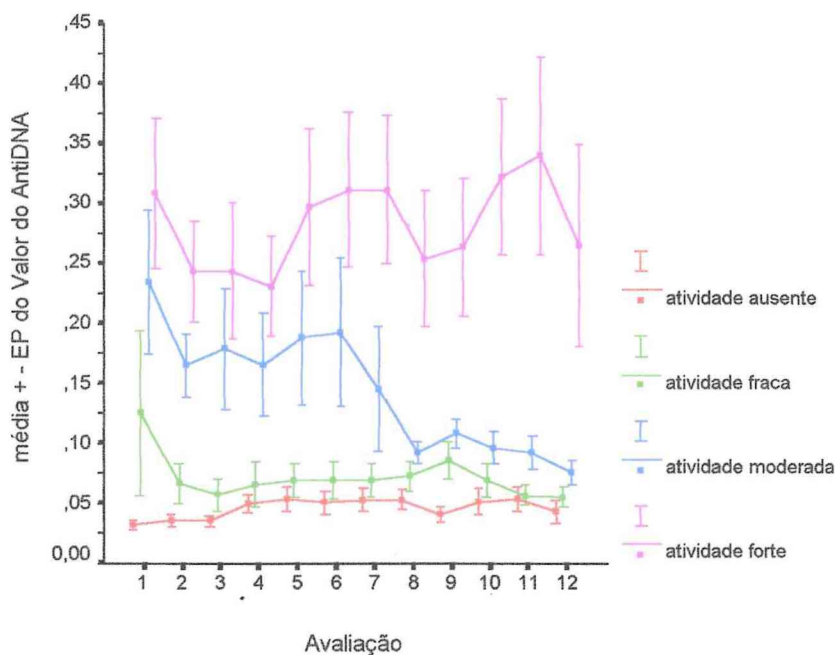
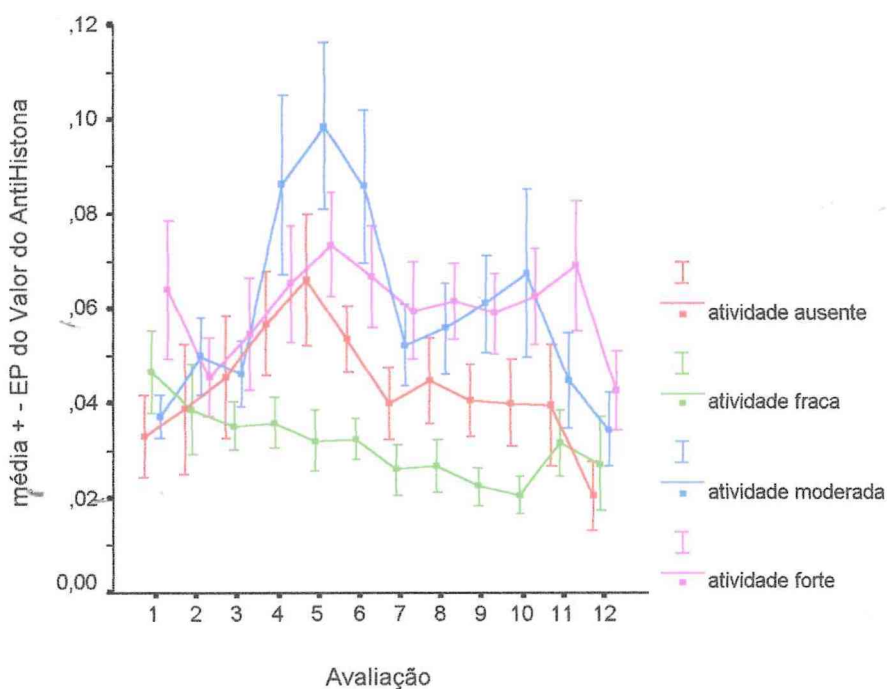


Gráfico 24: Valores médios e erro padrão da média de títulos séricos dos anticorpos anti-histona segundo grupos de atividade (LACC) da doença em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



As prevalências dos anticorpos anti-nucleossoma, anti-dsDNA e anti-histona variaram, nas doze avaliações, de 40 a 58,6%, de 10,9 a 21,8% e de 6,9 a 26,4%, respectivamente (Tabelas 25, 26, 27 e Gráficos 25, 26 e 27).

Tabela 25: Prevalência do anticorpo anti-nucleossoma ($\geq 0,167$ DO) e intervalo de confiança de 95% em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	44,8%	(34,2% - 55,5%)
2	87	50,6%	(39,9% - 61,3%)
3	87	44,8%	(34,2% - 55,5%)
4	87	51,7%	(41,0% - 62,4%)
5	87	58,6%	(48,1% - 69,2%)
6	87	52,9%	(42,2% - 63,6%)
7	87	54,0%	(43,3% - 64,7%)
8	87	49,4%	(38,7% - 60,1%)
9	86	51,2%	(40,4% - 61,9%)
10	83	47,0%	(36,0% - 58,0%)
11	78	40,0%	(28,6% - 50,9%)
12	55	40,0%	(26,6% - 53,4%)

Gráfico 25: Prevalência e erro padrão da média do anticorpo anti-nucleossoma ($\geq 0,167$ DO) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

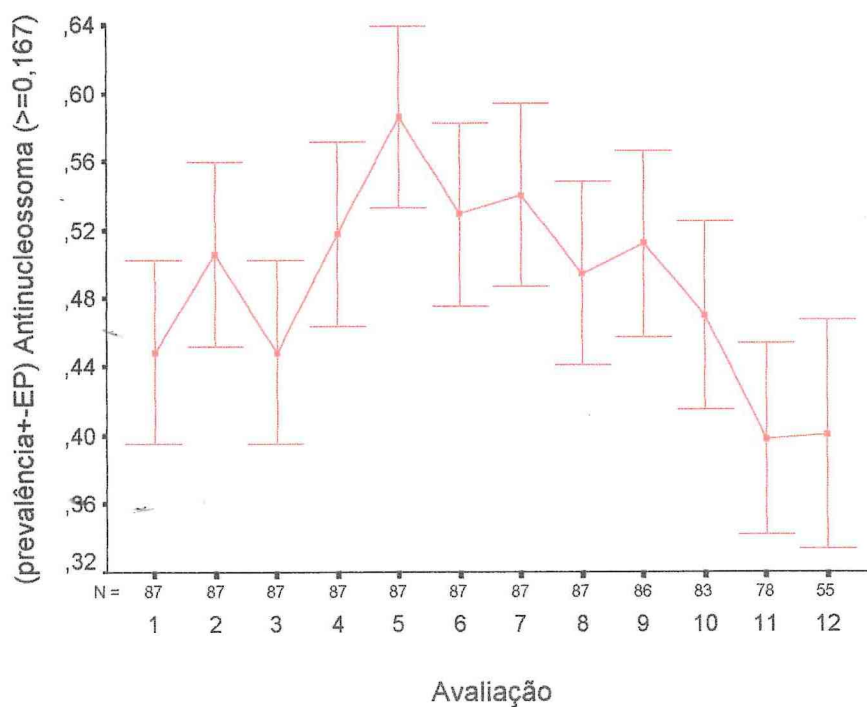


Tabela 26: Prevalência do anti-dsDNA ($\geq 0,195$) e Intervalo de Confiança (a 95%) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	21,8%	(13,0% - 30,7%)
2	87	21,8%	(13,0% - 30,7%)
3	87	18,4%	(10,1% - 26,7%)
4	87	16,1%	(8,2% - 24,0%)
5	87	20,7%	(12,0% - 29,4%)
6	87	20,7%	(12,0% - 29,4%)
7	87	18,4%	(10,1% - 26,7%)
8	87	12,6%	(5,5% - 19,8%)
9	86	16,3%	(8,3% - 24,2%)
10	83	16,9%	(8,6% - 25,1%)
11	78	13,0%	(5,2% - 20,4%)
12	55	10,9%	(2,4% - 19,4%)

Gráfico 26: Prevalência e erro padrão da média do anticorpo anti-dsDNA ($\geq 0,195$ DO) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

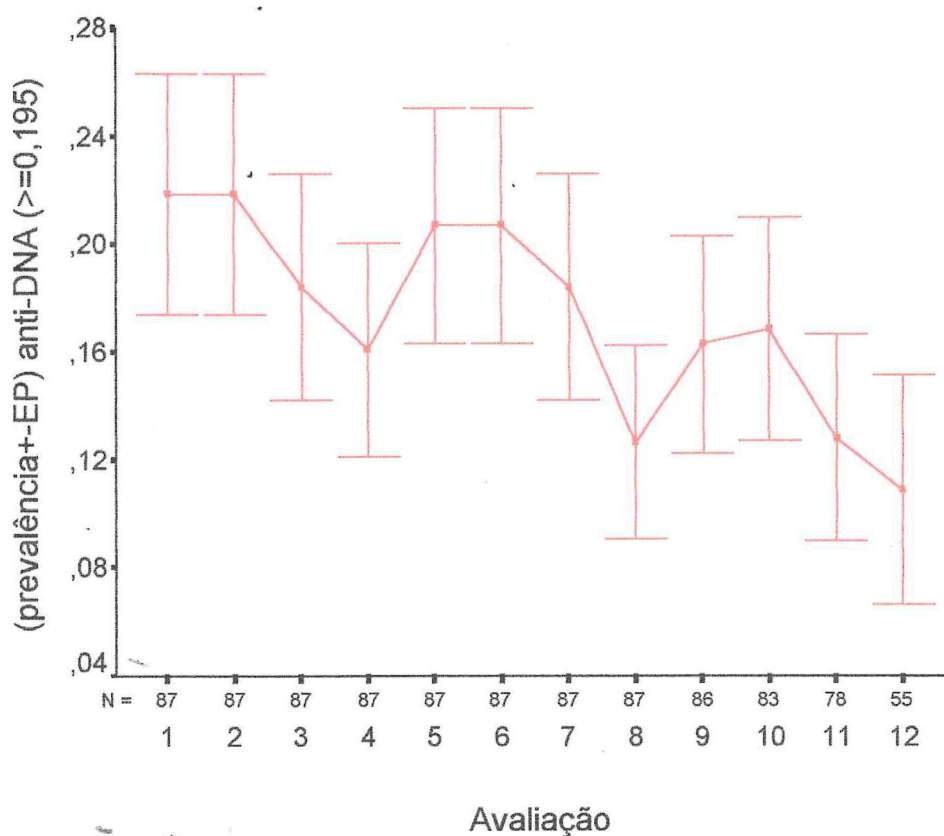
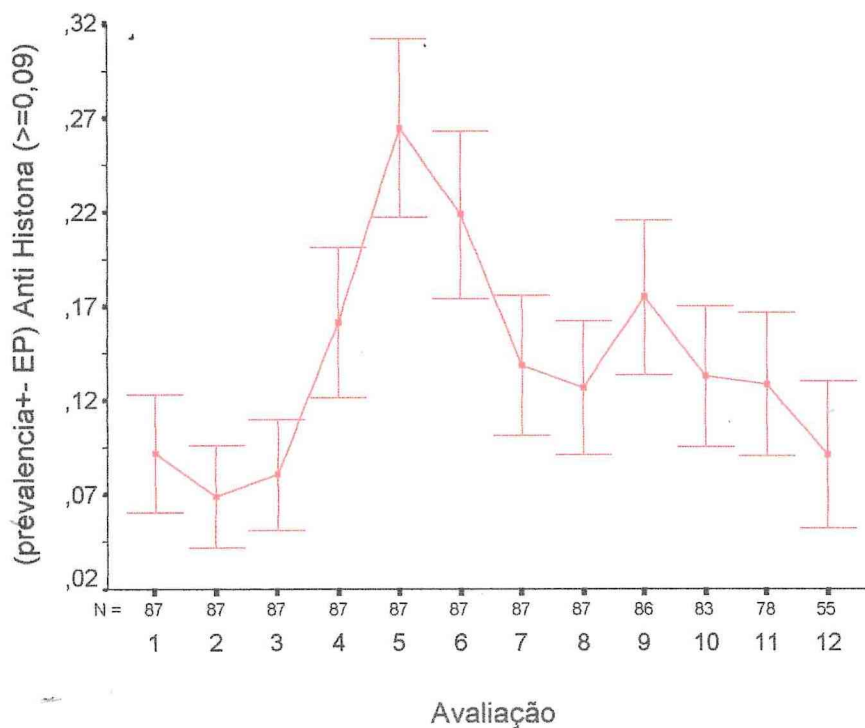


Tabela 27: Prevalência do anti-histona ($\geq 0,090$) e Intervalo de Confiança (a 95%) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

Avaliação	N	prevalência	Intervalo de Confiança
1	87	9,2%	(3,0% - 15,4%)
2	87	6,9%	(1,5% - 12,3%)
3	87	8,1%	(2,2% - 13,9%)
4	87	16,1%	(8,2% - 24,0%)
5	87	26,4%	(17,0% - 35,9%)
6	87	21,8%	(13,0% - 30,7%)
7	87	13,8%	(6,4% - 21,2%)
8	87	12,6%	(5,5% - 19,8%)
9	86	17,4%	(9,3% - 25,6%)
10	83	13,3%	(5,8% - 20,7%)
11	78	13,0%	(5,2% - 20,4%)
12	55	9,1%	(1,3% - 16,9%)

Gráfico 27: Prevalência e erro padrão da média do anticorpo anti-histona ($\geq 0,090$) em portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .



A detecção de anticorpos anti-nucleossoma apresentou maior frequência na 5ª avaliação (Tabela 25), com tendência à redução gradativa ao longo do acompanhamento, tendo atingido o nível mais baixo na 11ª e 12ª avaliações (Gráfico 25).

A frequência de detecção do anticorpo anti-dsDNA, maior nas duas primeiras avaliações (21,8%), reduziu-se também ao longo do período de seguimento (Tabela 26 e Gráfico 26).

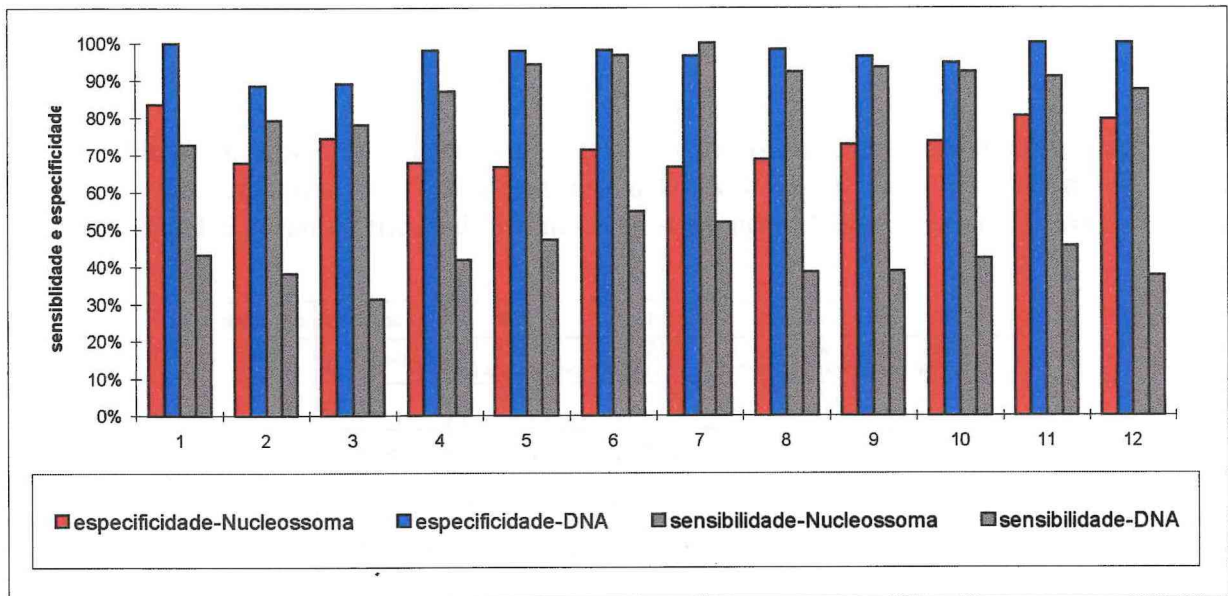
A positividade de anticorpos anti-histona, a exemplo dos anticorpos anti-nucleossoma, também foi maior na 5ª avaliação (26,4%), com redução gradativa durante o seguimento dos pacientes (Tabela 27 e Gráfico 27).

A especificidade e a sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA na atividade do LES foram calculadas para cada uma das doze avaliações. Os valores relativos ao anti-nucleossoma e anti-dsDNA são mostrados na Tabela 28 e representados no Gráfico 28. A especificidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA variou de 66,7 a 83,7% e de 88,7 a 100%, respectivamente. A sensibilidade desses anticorpos variou de 72,7 a 100% para o anti-nucleossoma e de 31,3 a 54,8% para o anti-dsDNA. Portanto, os anticorpos anti-nucleossoma mostraram muito maior sensibilidade para a detecção da atividade do LES nas doze avaliações praticadas que os anticorpos anti-dsDNA. Já os anticorpos anti-dsDNA revelaram maior especificidade que os anticorpos anti-nucleossoma, em 11 das 12 avaliações.

Tabela 28: Especificidade, sensibilidade, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC .

avaliação	Anticorpo	especificidade	p	sensibilidade	P
1	Nucleossoma	83,7% (72,2% - 95,2%)	0,0156	72,7% (59,0% - 86,4%)	0,0023
	DNA	100,0% (sem avaliação)		43,2% (27,9% - 58,4%)	
2	Nucleossoma	67,9% (54,9%- 80,9%)	0,0074	79z,4% (65,1%- 93,7%)	0,0026
	DNA	88,7% (79,9%-97,5%)		38,2% (21,0%- 55,4%)	
3	Nucleossoma	74,5% (62,7% - 86,4%)	0,0768	78,1% (63,0% - 93,3%)	0,0007
	DNA	89,1% (80,6% - 97,6%)		31,3% (14,3% - 48,2%)	
4	Nucleossoma	67,9% (55,2 %-80,5%)	<0,0001	87,1% (74,6%-99,6%)	0,0013
	DNA	98,2% (94,6%-100,0%)		41,9% (23,5%- 60,3%)	
5	Nucleossoma	66,7% (53,3%- 80,1%)	<0,0001	94,4% (86,6%-100,0%)	<0,0001
	DNA	98,0% (94,1%-100,0%)		47,2% (30,1%- 64,4%)	
6	Nucleossoma	71,4% (59,2%- 83,6%)	0,0003	96,8% (90,2%-100,0%)	0,0002
	DNA	98,2% (94,6%- 100,0%)		54,8% (36,3%- 73,4%)	
7	Nucleossoma	66,7% (54,4% - 78,9%)	<0,0001	100,0% (sem avaliação)	0,0002
	DNA	96,7% (92,0% - 100,0%)		51,9% (31,7% - 72,0%)	
8	Nucleossoma	68,9% (56,9%- 80,8%)	<0,0001	92,3% (81,3% - 100,0%)	0,0001
	DNA	98,4% (95,1%-100,0%)		38,5% (18,4%- 58,5%)	
9	Nucleossoma	72,7% (60,6% -84,9%)	0,0023	93,5% (84,4%- 100,0%)	0,0001
	DNA	96,4% (91,3% - 100,0%)		38,7% (20,5% - 56,9%)	
10	Nucleossoma	73,7% (61,9% - 85,5%)	0,0018	92,3% (81,3% - 100,0%)	0,0010
	DNA	94,7% (88,8% - 100,0%)		42,3% (22,0%- 62,7%)	
11	Nucleossoma	80,4% (69,6% - 91,1%)	0,0010	90,9% (77,9% - 100,0%)	0,0020
	DNA	100,0% (sem avaliação)		45,5% (22,9% - 68,1%)	
12	Nucleossoma	79,5% (66,2% - 92,7%)	0,0078	87,5% (69,3% - 100,0%)	0,0078
	DNA	100,0% (sem avaliação)		37,5% (10,9% - 64,1%)	

Gráfico 28: Especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

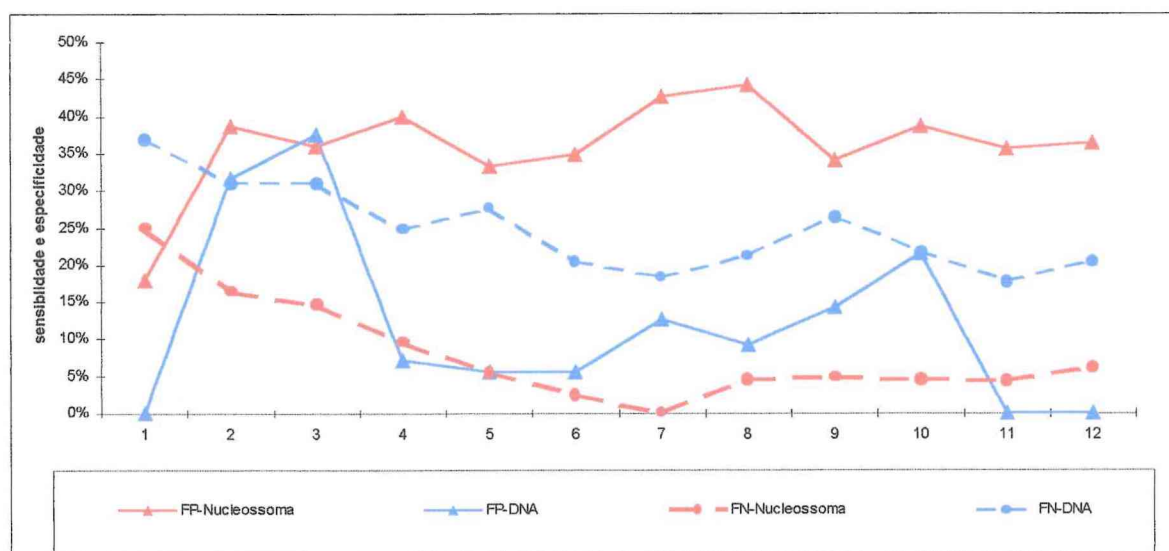


Os valores preditivos positivos, os valores preditivos negativos, os falsos positivos e os falsos negativos para a atividade da doença foram calculados para cada uma das doze avaliações e são mostrados na Tabelas 29 e 30 e Gráficos 29 e 30.

Tabela 29: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

avaliação	Anticorpo	VPP	FP	VPN	FN
1	Nucleossoma	82,1% (69,4% - 94,7%)	17,9% (5,3% - 30,6%)	75,0% (62,3% - 87,7%)	25,0% (12,3% - 37,7%)
	DNA	100,0% (sem avaliação)	0,0% (sem avaliação)	63,2% (51,5% - 75,0%)	36,8% (25,0% - 48,5%)
2	Nucleossoma	61,4% (46,4% - 76,3%)	38,6% (23,7% - 53,6%)	83,7% (72,2% - 95,2%)	16,3% (4,8% - 27,8%)
	DNA	68,4% (45,4% - 91,4%)	31,6% (8,6% - 54,6%)	69,1% (57,9% - 80,4%)	30,9% (19,6% - 42,1%)
3	Nucleossoma	64,1% (48,3% - 79,9%)	35,9% (20,1% - 51,7%)	85,4% (75,1% - 95,8%)	14,6% (4,2% - 24,9%)
	DNA	62,5% (35,9% - 89,1%)	37,5% (10,9% - 64,1%)	69,0% (58,0% - 80,0%)	31,0% (20,0% - 42,0%)
4	Nucleossoma	60,0% (45,1% - 74,9%)	40,0% (25,1% - 54,9%)	90,5% (81,2% - 99,7%)	9,5% (0,3% - 18,8%)
	DNA	92,9% (77,4% - 100,0%)	7,1% (0,0% - 22,6%)	75,3% (65,2% - 85,5%)	24,7% (14,5% - 34,8%)
5	Nucleossoma	66,7% (53,3% - 80,1%)	33,3% (19,9% - 46,7%)	94,4% (86,6% - 100,0%)	5,6% (0,0% - 13,4%)
	DNA	94,4% (82,7% - 100,0%)	5,6% (0,0% - 17,3%)	72,5% (61,7% - 83,3%)	27,5% (16,7% - 38,3%)
6	Nucleossoma	65,2% (50,9% - 79,5%)	34,8% (20,5% - 49,1%)	97,6% (92,6% - 100,0%)	2,4% (0,0% - 7,4%)
	DNA	94,4% (82,7% - 100,0%)	5,6% (0,0% - 17,3%)	79,7% (70,0% - 89,4%)	20,3% (10,6% - 30,0%)
7	Nucleossoma	57,4% (42,8% - 72,1%)	42,6% (27,9% - 57,2%)	100,0% (sem avaliação)	0,0% (sem avaliação)
	DNA	87,5% (69,3% - 100,0%)	12,5% (0,0% - 30,7%)	81,7% (72,5% - 90,9%)	18,3% (9,1% - 27,5%)
8	Nucleossoma	55,8% (40,3% - 71,3%)	44,2% (28,7% - 59,7%)	95,5% (89,0% - 100,0%)	4,5% (0,0% - 11,0%)
	DNA	90,9% (70,7% - 100,0%)	9,1% (0,0% - 29,3%)	78,9% (69,6% - 88,3%)	21,1% (11,7% - 30,4%)
9	Nucleossoma	65,9% (51,3% - 80,5%)	34,1% (19,5% - 48,7%)	95,2% (88,5% - 100,0%)	4,8% (0,0% - 11,5%)
	DNA	85,7% (64,7% - 100,0%)	14,3% (0,0% - 35,3%)	73,6% (63,2% - 84,0%)	26,4% (16,0% - 36,8%)
10	Nucleossoma	61,5% (45,6% - 77,5%)	38,5% (22,5% - 54,4%)	95,5% (89,0% - 100,0%)	4,5% (0,0% - 11,0%)
	DNA	78,6% (54,0% - 100,0%)	21,4% (0,0% - 46,0%)	78,3% (68,3% - 88,2%)	21,7% (11,8% - 31,7%)
11	Nucleossoma	64,5% (46,7% - 82,4%)	35,5% (17,6% - 53,3%)	95,7% (89,8% - 100,0%)	4,3% (0,0% - 10,2%)
	DNA	100,0% (sem avaliação)	0,0% (sem avaliação)	82,4% (73,1% - 91,6%)	17,6% (8,4% - 26,9%)
12	Nucleossoma	63,6% (41,8% - 85,5%)	36,4% (14,5% - 58,2%)	93,9% (85,3% - 100,0%)	6,1% (0,0% - 14,7%)
	DNA	100,0% (sem avaliação)	0,0% (sem avaliação)	79,6% (67,9% - 91,3%)	20,4% (8,7% - 32,1%)

Gráfico 29: Frequência de falsos positivos e negativos dos anticorpos anti-dsDNA e anti-nucleossoma na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



Os valores preditivos positivos (VPP) do anticorpo anti-nucleossoma para a atividade da doença variaram de 55,8 a 82,1%, e os do anticorpo anti-dsDNA, de 62,5 a 94,4%. Portanto, a positividade do anticorpo anti-dsDNA prediz com maior frequência a atividade do LES.

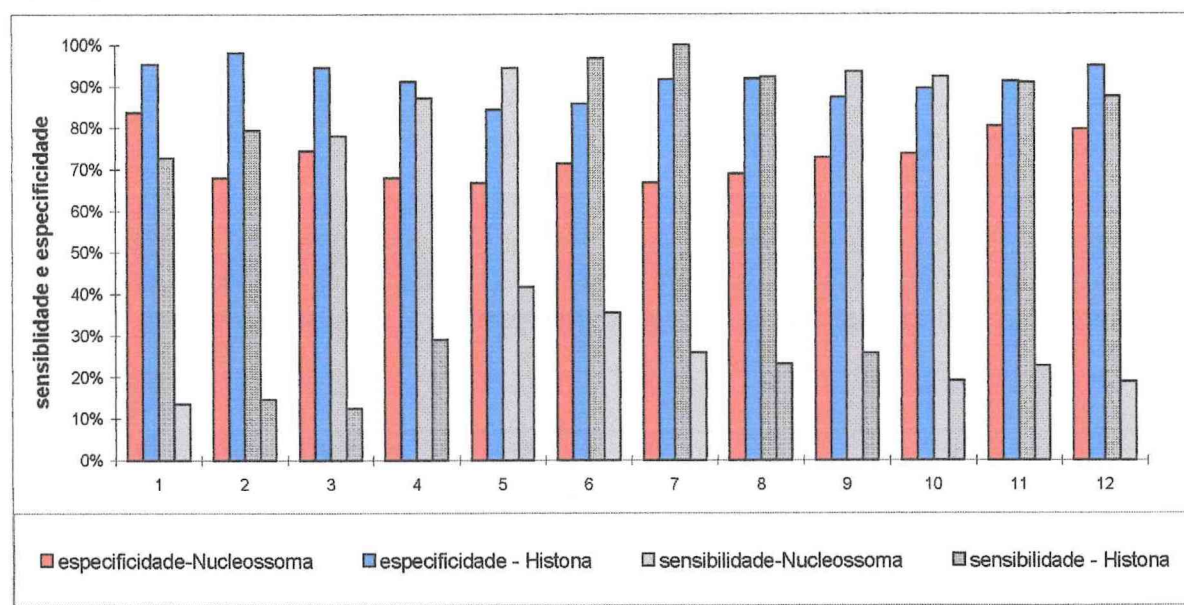
Os valores preditivos negativos (VPN) dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA para a atividade do LES variaram de 75 a 100% e de 63,2 a 82,4%, respectivamente. Ou seja, dado que o resultado do teste seja negativo, a chance do paciente não estar em atividade é maior quando se trata do anti-nucleossoma do que do anti-dsDNA. Os falsos positivos, ou seja, resultado do teste positivo e atividade do LES ausente, foram mais frequentes com o anticorpo anti-nucleossoma (17,9% a 44,2%) do que com o anti-dsDNA (0 a 37,5%). Os falsos negativos, ou seja, resultado do teste negativo e atividade do LES presente, foram mais frequentes com o anti-dsDNA do que com o anti-nucleossoma.

Quando se comparam a especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e antihistona para a detecção da atividade do LES (Tabela 30 e Gráfico 30), observa-se que o anticorpo antinucleossoma preserva a sua maior sensibilidade (72,7 a 100% versus 12,5 a 41,7%). Entretanto, foi maior a especificidade do anticorpo anti-histona.

Tabela 30: Especificidade, sensibilidade, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

avaliação	Anticorpo	especificidade	p	sensibilidade	P
1	Nucleossoma	83,7% (72,2% - 95,2%)	0,059	72,7% (59,0% - 86,4%)	<0,001
	Histona	95,3% (89,0% - 100,0%)		13,6% (3,1% - 24,0%)	
2	Nucleossoma	67,9% (54,9% - 80,9%)	0,000	79,4% (65,1% - 93,7%)	<0,001
	Histona	98,1% (94,3% - 100,0%)		14,7% (2,2% - 27,0%)	
3	Nucleossoma	74,5% (62,7% - 86,4%)	0,013	78,1% (63,0% - 93,3%)	<0,001
	Histona	94,5% (88,0% - 100,0%)		12,5% (0,4% - 25,0%)	
4	Nucleossoma	67,9% (55,2% - 80,5%)	0,007	87,1% (74,6% - 99,6%)	<0,001
	Histona	91,1% (83,0% - 98,8%)		29,0% (12,0% - 46,0%)	
5	Nucleossoma	66,7% (53,3% - 80,1%)	0,035	94,4% (86,6% - 100,0%)	<0,001
	Histona	84,3% (74,0% - 94,6%)		41,7% (25,0% - 59,0%)	
6	Nucleossoma	71,4% (59,2% - 83,6%)	0,046	96,8% (90,2% - 100,0%)	<0,001
	Histona	85,7% (76,0% - 95,2%)		35,5% (18,0% - 53,0%)	
7	Nucleossoma	66,7% (54,4% - 78,9%)	0,001	100,0% (sem avaliação)	<0,001
	Histona	91,7% (84,0% - 98,9%)		25,9% (8,3% - 44,0%)	
8	Nucleossoma	68,9% (56,9% - 80,8%)	0,003	92,3% (81,3% - 100,0%)	<0,001
	Histona	91,8% (85,0% - 98,9%)		23,1% (5,7% - 40,0%)	
9	Nucleossoma	72,7% (60,6% - 84,9%)	0,046	93,5% (84,4% - 100,0%)	<0,001
	Histona	87,3% (78,0% - 96,4%)		25,8% (9,5% - 42,0%)	
10	Nucleossoma	73,7% (61,9% - 85,5%)	0,022	92,3% (81,3% - 100,0%)	<0,001
	Histona	89,5% (81,0% - 97,7%)		19,2% (3,0% - 35,0%)	
11	Nucleossoma	80,4% (69,6% - 91,1%)	0,058	90,9% (77,9% - 100,0%)	<0,001
	Histona	91,1% (83,0% - 98,8%)		22,7% (3,7% - 42,0%)	
12	Nucleossoma	79,5% (66,2% - 92,7%)	0,058	87,5% (69,3% - 100,0%)	<0,001
	Histona	94,9% (88,0% - 100,0%)		18,8% (0,0% - 40,0%)	

Gráfico 30: Especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

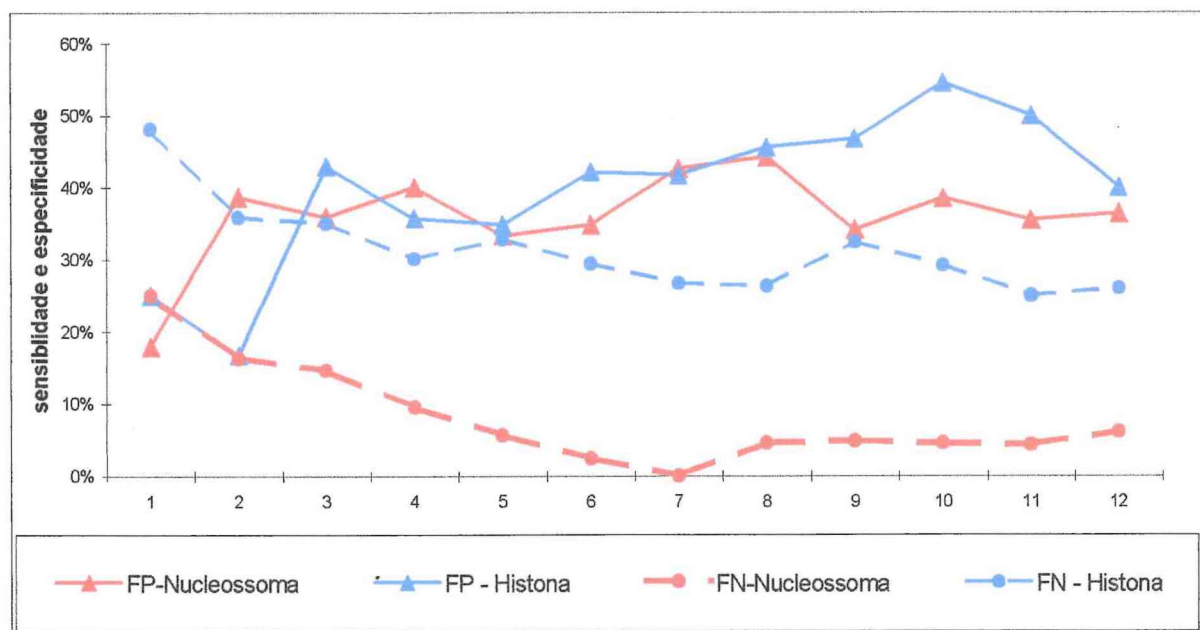


Os valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona para a detecção da atividade da doença foram calculados para cada uma das doze avaliações e são mostrados na Tabela 31 e Gráfico 31.

Tabela 31: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos, e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

avaliação	Anticorpo	VPP	FP	VPN	FN
1	Nucleossoma	82,1% (69,4% - 94,7%)	17,9% (5,3% - 30,6%)	75,0% (62,3% - 87,7%)	25,0% (12,3% - 37,7%)
	Histona	75,0% (36,3% - 100,0%)	25,0% (0,0% - 63,7%)	51,9% (40,6% - 63,2%)	48,1% (36,8% - 59,4%)
2	Nucleossoma	61,4% (46,4% - 76,3%)	38,6% (23,7% - 53,6%)	83,7% (72,2% - 95,2%)	16,3% (4,8% - 27,8%)
	Histona	83,3% (40,5% - 100,0%)	16,7% (0,0% - 59,5%)	64,2% (53,5% - 74,9%)	35,8% (25,1% - 46,5%)
3	Nucleossoma	64,1% (48,3% - 79,9%)	35,9% (20,1% - 51,7%)	85,4% (75,1% - 95,8%)	14,6% (4,2% - 24,9%)
	Histona	57,1% (7,7% - 100,0%)	42,9% (0,0% - 92,3%)	65,0% (54,3% - 75,7%)	35,0% (24,3% - 45,7%)
4	Nucleossoma	60,0% (45,1% - 74,9%)	40,0% (25,1% - 54,9%)	90,5% (81,2% - 99,7%)	9,5% (0,3% - 18,8%)
	Histona	64,3% (35,6% - 93,0%)	35,7% (7,0% - 64,4%)	69,9% (59,1% - 80,6%)	30,1% (19,4% - 40,9%)
5	Nucleossoma	66,7% (53,3% - 80,1%)	33,3% (19,9% - 46,7%)	94,4% (86,6% - 100,0%)	5,6% (0,0% - 13,4%)
	Histona	65,2% (44,2% - 86,3%)	34,8% (13,7% - 55,8%)	67,2% (55,4% - 79,0%)	32,8% (21,0% - 44,6%)
6	Nucleossoma	65,2% (50,9% - 79,5%)	34,8% (20,5% - 49,1%)	97,6% (92,6% - 100,0%)	2,4% (0,0% - 7,4%)
	Histona	57,9% (33,5% - 82,3%)	42,1% (17,7% - 66,6%)	70,6% (59,5% - 81,7%)	29,4% (18,3% - 40,5%)
7	Nucleossoma	57,4% (42,8% - 72,1%)	42,6% (27,9% - 57,2%)	100,0% (sem avaliação)	0,0% (sem avaliação)
	Histona	58,3% (25,6% - 91,1%)	41,7% (9,0% - 74,4%)	73,3% (63,1% - 83,6%)	26,7% (16,4% - 36,9%)
8	Nucleossoma	55,8% (40,3% - 71,3%)	44,2% (28,7% - 59,7%)	95,5% (89,0% - 100,0%)	4,5% (0,0% - 11,0%)
	Histona	54,5% (19,5% - 89,6%)	45,5% (10,4% - 80,5%)	73,7% (63,6% - 83,8%)	26,3% (16,2% - 36,5%)
9	Nucleossoma	65,9% (51,3% - 80,5%)	34,1% (19,5% - 48,7%)	95,2% (88,5% - 100,0%)	4,8% (0,0% - 11,5%)
	Histona	53,3% (24,7% - 81,9%)	46,7% (18,1% - 75,3%)	67,6% (56,5% - 78,8%)	32,4% (21,2% - 43,6%)
10	Nucleossoma	61,5% (45,6% - 77,5%)	38,5% (22,5% - 54,4%)	95,5% (89,0% - 100,0%)	4,5% (0,0% - 11,0%)
	Histona	45,5% (10,4% - 80,5%)	54,5% (19,5% - 89,6%)	70,8% (60,1% - 81,6%)	29,2% (18,4% - 39,9%)
11	Nucleossoma	64,5% (46,7% - 82,4%)	35,5% (17,6% - 53,3%)	95,7% (89,8% - 100,0%)	4,3% (0,0% - 10,2%)
	Histona	50,0% (12,3% - 87,7%)	50,0% (12,3% - 87,7%)	75,0% (64,4% - 85,6%)	25,0% (14,4% - 35,6%)
12	Nucleossoma	63,6% (41,8% - 85,5%)	36,4% (14,5% - 58,2%)	93,9% (85,3% - 100,0%)	6,1% (0,0% - 14,7%)
	Histona	60,0% (0,0% - 100,0%)	40,0% (0,0% - 100,0%)	74,0% (61,4% - 86,6%)	26,0% (13,4% - 38,6%)

Gráfico 31: Frequência de falsos positivos e negativos, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na detecção da atividade do LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



Os valores preditivos positivos (VPP) do anticorpo anti-nucleossoma para detecção da atividade da doença variaram de 55,8 a 82,1%, e do anti-histona, de 45,5 a 83,3%. Portanto, a positividade do anticorpo anti-nucleossoma prediz com maior frequência a atividade do LES.

Os valores preditivos negativos (VPN) dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-histona na atividade do LES variaram de 75 a 100% e de 51,9 a 75%, respectivamente. Ou seja, dado que o exame resulta negativo, a chance do paciente não exibir atividade da doença é maior quando se trata do anti-nucleossoma. Os falsos positivos para esses dois anticorpos foram muito semelhantes, variando de 17,9 a 44,2% e de 16,7 a 54,5%, respectivamente. Os falsos negativos variaram de 0 a 25% e de 25 a 48,1%, respectivamente.

A comparação dos valores de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, FP e FN entre os três autoanticorpos podem ser visualizados nas tabelas 32 e 33.

Tabela 32: Valores de sensibilidade e especificidade dos três autoanticorpos como marcadores da atividade do LES.

	Sensibilidade	Especificidade
Anti-Nucleossoma	72,7 – 100%	66,7 – 83,7%
Anti-dsDNA	31,3 – 54,8%	88,7 – 100%
Anti-Histona	12,5 – 41,7%	84,3 – 98,1%

Tabela 33: Valores preditivos positivos, negativos, falsos positivos e negativos dos três autoanticorpos para a detecção da atividade do LES.

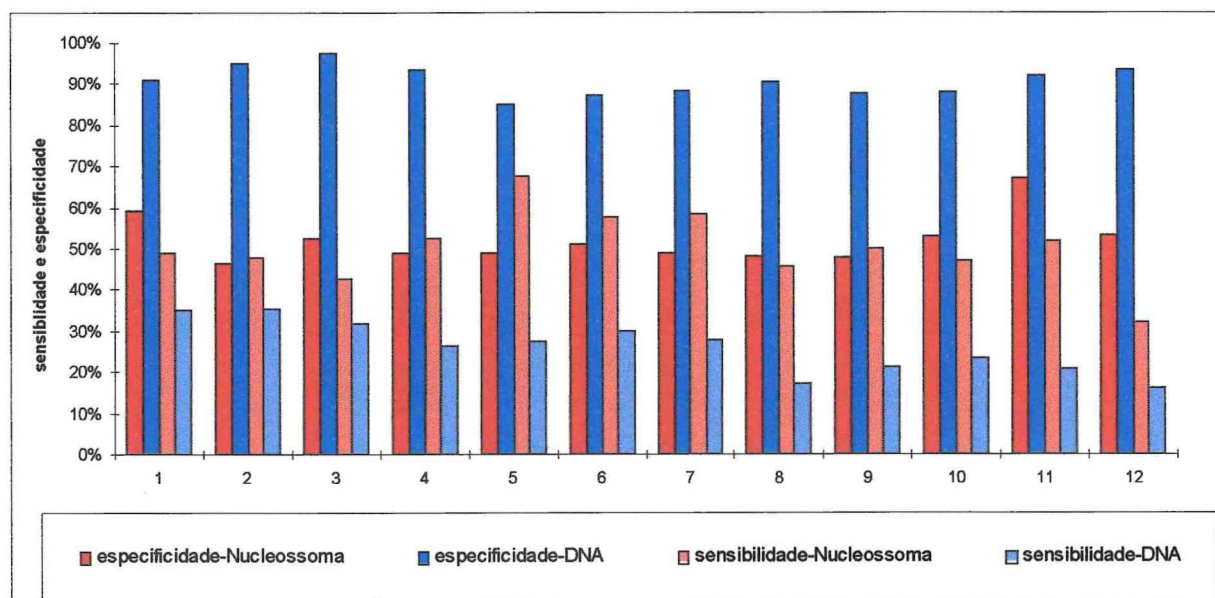
	VPP	VPN	FP	FN
Anti-Nucleossoma	55,8 – 82,1%	75,0 – 100%	17,9 – 44,2%	0 – 25%
Anti-dsDNA	62,5 – 94,4%	63,2 – 82,4%	0 – 37,5%	17,6 – 36,8%
Anti-Histona	45,5 – 83,3%	51,9 – 75%	16,7 – 54,5%	25,0 – 48,1%

A especificidade e a sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico de atividade da nefrite lúpica, calculadas para cada uma das doze avaliações realizadas, são mostradas na Tabela 34 e no Gráfico 32.

Tabela 34: Especificidade, sensibilidade e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

avaliação	Anticorpo	especificidade	p	sensibilidade	P
1	Nucleossoma	59,1% (44,4% - 73,8%)	<0,001	48,8% (33,7% - 64,0%)	0,109
	DNA	90,9% (82,3% - 99,5%)		34,9% (20,5% - 49,3%)	
2	Nucleossoma	46,2% (30,3% - 62,0%)	<0,001	47,9% (33,6% - 62,2%)	0,210
	DNA	94,9% (87,9% - 100,0%)		35,4% (21,7% - 49,1%)	
3	Nucleossoma	52,5% (36,8% - 68,2%)	<0,001	42,6% (28,3% - 56,8%)	0,302
	DNA	97,5% (92,6% - 100,0%)		31,9% (18,4% - 45,4%)	
4	Nucleossoma	48,9% (34,1% - 63,7%)	<0,001	52,4% (37,1% - 67,7%)	0,007
	DNA	93,3% (86,0% - 100,0%)		26,2% (12,7% - 39,6%)	
5	Nucleossoma	48,9% (34,5% - 63,4%)	<0,001	67,5% (52,8% - 82,2%)	<0,001
	DNA	85,1% (74,8% - 95,4%)		27,5% (13,5% - 41,5%)	
6	Nucleossoma	51,1% (36,6% - 65,5%)	<0,001	57,5% (42,0% - 73,0%)	0,001
	DNA	87,2% (77,6% - 96,9%)		30,0% (15,6% - 44,4%)	
7	Nucleossoma	49,0% (35,2% - 62,9%)	<0,001	58,3% (42,0% - 74,7%)	0,001
	DNA	88,2% (79,3% - 97,2%)		27,8% (12,9% - 42,6%)	
8	Nucleossoma	48,1% (34,4% - 61,8%)	<0,001	45,7% (29,0% - 62,5%)	0,002
	DNA	90,4% (82,3% - 98,5%)		17,1% (4,5% - 29,8%)	
9	Nucleossoma	47,9% (33,6% - 62,2%)	<0,001	50,0% (33,9% - 66,1%)	0,003
	DNA	87,5% (78,0% - 97,0%)		21,1% (7,9% - 34,2%)	
10	Nucleossoma	53,1% (38,9% - 67,2%)	<0,001	47,1% (30,0% - 64,1%)	0,039
	DNA	87,8% (78,5% - 97,0%)		23,5% (9,1% - 38,0%)	
11	Nucleossoma	67,3% (54,1% - 80,6%)	<0,001	51,7% (33,2% - 70,2%)	0,004
	DNA	91,8% (84,1% - 99,6%)		20,7% (5,7% - 35,7%)	
12	Nucleossoma	53,3% (35,2% - 71,5%)	<0,001	32,0% (13,3% - 50,7%)	0,046
	DNA	93,3% (84,3% - 100,0%)		16,0% (1,3% - 30,7%)	

Gráfico 32: Especificidade e sensibilidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



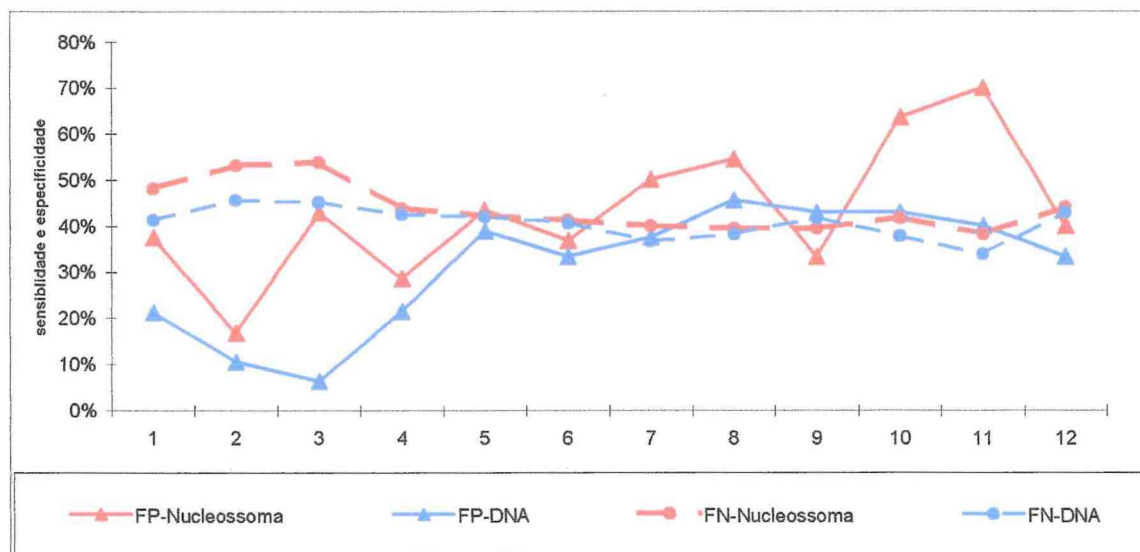
A especificidade do anticorpo anti-nucleossoma variou de 46,2 a 67,3% e a sua sensibilidade, de 32 a 67,5%. Já o anti-dsDNA mostrou especificidade que variou de 85,1% a 97,5%, e sensibilidade entre 16% e 35,4%. Portanto, o anticorpo anti-nucleossoma foi mais sensível para a detecção da atividade da nefrite lúpica que o anti-dsDNA, apresentando diferenças estatisticamente significantes em nove das doze avaliações. Já os anticorpos anti-dsDNA mostraram maior especificidade que o anti-nucleossoma nas doze avaliações realizadas.

Os valores preditivos positivos (VPP), valores preditivos negativos (VPN), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN), dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA para o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica, calculados para cada uma das doze avaliações, são mostrados na Tabela 35 e no Gráfico 33.

Tabela 35: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos e respectivos intervalos de confiança, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

avaliação	Anticorpo	VPP	FP	VPN	FN
1	Nucleossoma	62,5% (26,6% - 98,4%)	37,5% (1,6% - 73,4%)	51,9% (40,8% - 63,0%)	48,1% (37,0% - 59,2%)
	DNA	78,9% (60,1% - 97,8%)	21,1% (2,2% - 39,9%)	58,8% (47,0% - 70,6%)	41,2% (29,4% - 53,0%)
2	Nucleossoma	83,3% (50,7% - 100,0%)	16,7% (0,0% - 49,3%)	46,9% (36,0% - 57,8%)	53,1% (42,2% - 64,0%)
	DNA	89,5% (75,3% - 100,0%)	10,5% (0,0% - 24,7%)	54,4% (42,5% - 66,3%)	45,6% (33,7% - 57,5%)
3	Nucleossoma	57,1% (17,5% - 96,7%)	42,9% (3,3% - 82,5%)	46,3% (35,3% - 57,2%)	53,8% (42,8% - 64,7%)
	DNA	93,8% (81,5% - 100,0%)	6,3% (0,0% - 18,5%)	54,9% (43,3% - 66,6%)	45,1% (33,4% - 56,7%)
4	Nucleossoma	71,4% (46,9% - 96,0%)	28,6% (4,0% - 53,1%)	56,2% (44,7% - 67,6%)	43,8% (32,4% - 55,3%)
	DNA	78,6% (56,3% - 100,0%)	21,4% (0,0% - 43,7%)	57,5% (46,1% - 69,0%)	42,5% (31,0% - 53,9%)
5	Nucleossoma	56,5% (35,8% - 77,2%)	43,5% (22,8% - 64,2%)	57,8% (45,6% - 70,0%)	42,2% (30,0% - 54,4%)
	DNA	61,1% (37,9% - 84,3%)	38,9% (15,7% - 62,1%)	58,0% (46,2% - 69,7%)	42,0% (30,3% - 53,8%)
6	Nucleossoma	63,2% (40,9% - 85,4%)	36,8% (14,6% - 59,1%)	58,8% (47,0% - 70,6%)	41,2% (29,4% - 53,0%)
	DNA	66,7% (44,3% - 89,1%)	33,3% (10,9% - 55,7%)	59,4% (47,7% - 71,1%)	40,6% (28,9% - 52,3%)
7	Nucleossoma	50,0% (20,5% - 79,5%)	50,0% (20,5% - 79,5%)	60,0% (48,8% - 71,2%)	40,0% (28,8% - 51,2%)
	DNA	62,5% (38,0% - 87,0%)	37,5% (13,0% - 62,0%)	63,4% (52,1% - 74,7%)	36,6% (25,3% - 47,9%)
8	Nucleossoma	45,5% (14,6% - 76,3%)	54,5% (23,7% - 85,4%)	60,5% (49,5% - 71,6%)	39,5% (28,4% - 50,5%)
	DNA	54,5% (23,7% - 85,4%)	45,5% (14,6% - 76,3%)	61,8% (50,8% - 72,8%)	38,2% (27,2% - 49,2%)
9	Nucleossoma	66,7% (42,0% - 91,4%)	33,3% (8,6% - 58,0%)	60,6% (49,1% - 72,0%)	39,4% (28,0% - 50,9%)
	DNA	57,1% (30,2% - 84,0%)	42,9% (16,0% - 69,8%)	58,3% (46,9% - 69,8%)	41,7% (30,2% - 53,1%)
10	Nucleossoma	36,4% (6,5% - 66,2%)	63,6% (33,8% - 93,5%)	58,3% (46,9% - 69,8%)	41,7% (30,2% - 53,1%)
	DNA	57,1% (30,2% - 84,0%)	42,9% (16,0% - 69,8%)	62,3% (50,8% - 73,8%)	37,7% (26,2% - 49,2%)
11	Nucleossoma	30,0% (0,1% - 59,9%)	70,0% (40,1% - 99,9%)	61,8% (50,1% - 73,4%)	38,2% (26,6% - 49,9%)
	DNA	60,0% (28,0% - 92,0%)	40,0% (8,0% - 72,0%)	66,2% (54,8% - 77,5%)	33,8% (22,5% - 45,2%)
12	Nucleossoma	60,0% (12,0% - 100,0%)	40,0% (0,0% - 88,0%)	56,0% (42,1% - 69,9%)	44,0% (30,1% - 57,9%)
	DNA	66,7% (25,3% - 100,0%)	33,3% (0,0% - 74,7%)	57,1% (43,1% - 71,1%)	42,9% (28,9% - 56,9%)

Gráfico 33: Frequência de falsos positivos e negativos, dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA na detecção da atividade da nefrite lúpica durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC



Os valores preditivos positivos (VPP) do anticorpo anti-nucleossoma no diagnóstico da atividade da nefrite do LES variaram de 30 a 83,3%, e os do anti-dsDNA, de 54,5 a 93,8%. Portanto, a positividade do anti-dsDNA prediz com maior frequência o diagnóstico da atividade da nefrite do LES.

Os valores preditivos negativos (VPN) desses anticorpos no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica variaram de 46,3 a 61,8% e de 54,4 a 66,2%, respectivamente. Ou seja, dado que o resultado do teste é negativo, a chance do paciente não estar com o diagnóstico de atividade da nefrite lúpica é levemente maior quando se trata do anti-dsDNA do que do anti-nucleossoma.

Os falsos positivos foram mais frequentes quando se aferiam os anticorpos anti-nucleossoma (16,7 a 70%) do que quando se investigavam os anticorpos anti-dsDNA (6,3 a 45,5%). Já os falsos negativos, mostraram uma variação de 38,2 a 53,8% para o anticorpo anti-nucleossoma e de 33,8 a 45,6% para o anticorpo anti-dsDNA.

A comparação dos valores diagnósticos dos dois autoanticorpos pode ser vista nas tabelas 36 e 37.

Tabela 36: Valores de sensibilidade e especificidade dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA no diagnóstico da atividade da nefrite lúpica.

	Sensibilidade	Especificidade
Anti-Nucleossoma	32,0 – 67,5%	46,2 – 67,3%
Anti-dsDNA	16,0 – 35,4%	85,1 – 97,5%

Tabela 37: Valores preditivos positivos e negativos, falsos positivos e negativos dos anticorpos anti-nucleossoma e anti-dsDNA para o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica.

	VPP	VPN	FP	FN
Anti-Nucleossoma	30,0 – 83,3	46,3 – 61,8%	16,7 – 70%	38,2 – 53,8%
Anti-dsDNA	54,5 – 93,8	54,4 – 66,2%	6,3 – 45,5%	33,8 – 45,6%

Com o objetivo de avaliar o valor do anti-nucleossoma para prever a atividade do LES na consulta subsequente, calculamos os VPP e VPN, a partir da 2ª avaliação, utilizando o LAAC para categorizar atividade ou não da doença.

Os valores preditivos positivos (VPP) do anti-nucleossoma da avaliação anterior, no que se refere ao diagnóstico da atividade do LES no mês subsequente, variaram de 22,7 a 71,8%. Interessante ressaltar que, da 1ª à 7ª avaliação, observa-se um VPP, que pode ser considerado bom, já que esteve presente entre percentuais de 56,5 e 71,8% (Tabela 38).

Tabela 38: Valores preditivos positivos e negativos e respectivos intervalos de confiança, do anticorpo anti-nucleossoma da avaliação anterior no diagnóstico da atividade do LES no mês subsequente, definida através do LACC.

avaliação	VPP	VPN
2	71,8% (57,5%- 86,1%)	87,5% (78,0%- 97,0%)
3	59,1% (44,4%- 73,8%)	86,0% (75,6%- 96,5%)
4	64,1% (48,9%- 79,4%)	87,5% (78,0%- 97,0%)
5	64,4% (50,3%- 78,6%)	83,3% (71,9%- 94,7%)
6	56,9% (43,1%- 70,6%)	94,4% (86,9%-100,0%)
7	56,5% (42,0%- 71,0%)	97,6% (92,8%-100,0%)
8	25,5% (12,9%- 38,1%)	65,0% (50,0% - 80,0%)
9	29,5% (15,9%- 43,2%)	57,1% (42,0% - 72,3%)
10	27,3% (14,0%- 40,6%)	64,1% (48,9% - 79,4%)
11.	16,7% (4,3% - 29,0%)	61,9% (47,0% - 76,8%)
12	22,7% (4,8% - 40,7%)	66,7% (50,3% - 83,0%)

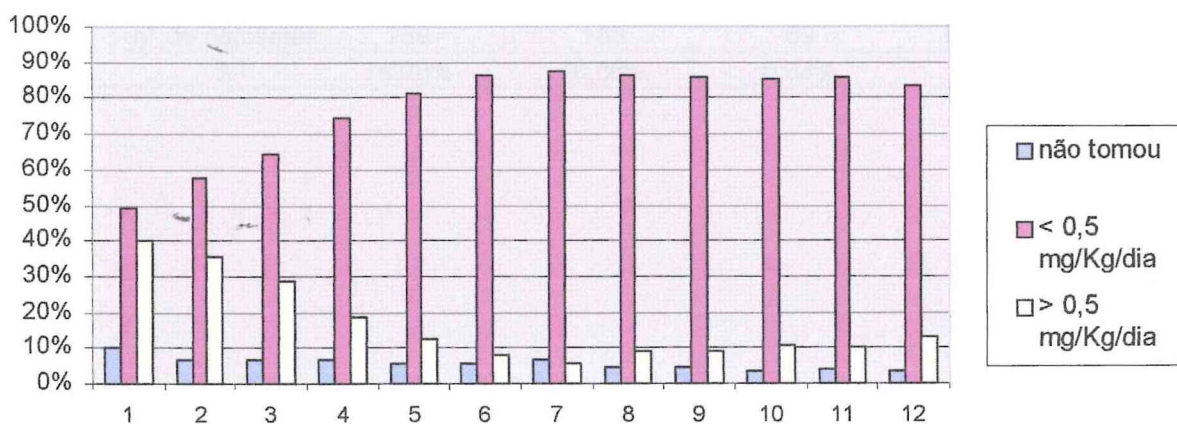
Os valores preditivos negativos (VPN) do anti-nucleossoma, no que se refere ao diagnóstico da atividade do LES no mês subsequente, variaram de 57,1 a 97,6%. Importa observar que, da 1^a à 7^a avaliação, o VPN do anti-nucleossoma foi ótimo, uma vez que apresentou uma variação de 83,3 a 97,6%.

A Tabela 39 e o Gráfico 34 mostram a dose de prednisona utilizada durante as doze avaliações. Os pacientes foram separados em dois grupos a cada avaliação: o dos que recebiam dose inferior a 0,5mg/kg/dia, e o outro, cuja dose era superior a 0.5mg/kg.dia. Ao longo do seguimento verificou-se um aumento gradativo dos pacientes com dose de prednisona inferior a 0,5mg/kg.dia, passando de 49,43% na 1^a avaliação a 83,6% na última avaliação. Portanto, ao longo das avaliações consecutivas, houve uma necessidade menor de doses elevadas de corticóides. Já o segundo grupo finalizou o acompanhamento prospectivo constituindo um percentual de apenas 12,7%.

Tabela 39: Distribuição de portadores de LES segundo as doses de prednisona em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

		Prednisona			Total
		não tomou	< 0,5 mg/Kg/dia	> 0,5 mg/Kg/dia	
1	n° de pacientes	9	43	35	87
	%	10,34%	49,43%	40,23%	100,00%
2	n° de pacientes	6	50	31	87
	%	6,90%	57,47%	35,63%	100,00%
3	n° de pacientes	6	56	25	87
	%	6,90%	64,37%	28,74%	100,00%
4	n° de pacientes	6	65	16	87
	%	6,90%	74,71%	18,39%	100,00%
5	n° de pacientes	5	71	11	87
	%	5,75%	81,61%	12,64%	100,00%
6	n° de pacientes	5	75	7	87
	%	5,75%	86,21%	8,05%	100,00%
7	n° de pacientes	6	76	5	87
	%	6,90%	87,36%	5,75%	100,00%
8	n° de pacientes	4	75	8	87
	%	4,60%	86,21%	9,20%	100,00%
9	n° de pacientes	4	74	8	86
	%	4,65%	86,05%	9,30%	100,00%
10	n° de pacientes	3	71	9	83
	%	3,61%	85,54%	10,84%	100,00%
11	n° de pacientes	3	67	8	78
	%	3,85%	85,90%	10,26%	100,00%
12	n° de pacientes	2	46	7	55
	%	3,64%	83,64%	12,73%	100,00%
Total	n° de pacientes	59	769	170	998
	%	5,91%	77,05%	17,03%	100,00%

Gráfico 34: Distribuição de portadores de LES segundo as doses de prednisona em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

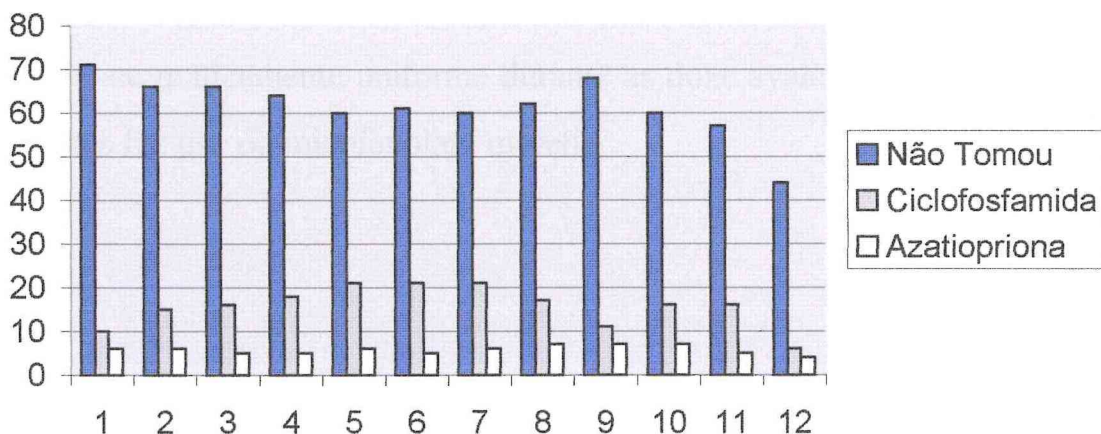


A Tabela 40 e o Gráfico 35 mostram a distribuição de pacientes que receberam drogas imunossupressoras (ciclofosfamida endovenosa e azatioprina oral) durante o acompanhamento longitudinal.

Tabela 40: Distribuição de portadores de LES segundo o emprego ou não de imunossupressores em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.

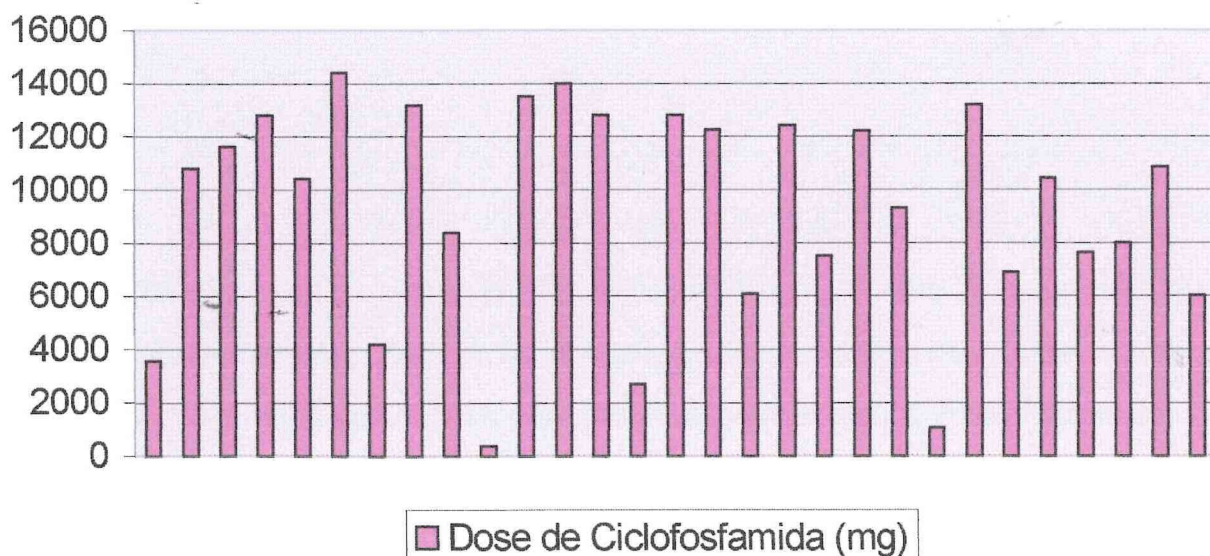
		Imunossupressor			Total
		não tomou	Ciclofosfamida	Azatioprina	
1	n° de pacientes	71	10	6	87
	%	81,61%	11,49%	6,90%	100,00%
2	n° de pacientes	66	15	6	87
	%	75,86%	17,24%	6,90%	100,00%
3	n° de pacientes	66	16	5	87
	%	75,86%	18,39%	5,75%	100,00%
4	n° de pacientes	64	18	5	87
	%	73,56%	20,69%	5,75%	100,00%
5	n° de pacientes	60	21	6	87
	%	68,97%	24,14%	6,90%	100,00%
6	n° de pacientes	61	21	5	87
	%	70,11%	24,14%	5,75%	100,00%
7	n° de pacientes	60	21	6	87
	%	68,97%	24,14%	6,90%	100,00%
8	n° de pacientes	62	17	7	86
	%	72,09%	19,77%	8,14%	100,00%
9	n° de pacientes	68	11	7	86
	%	79,07%	12,79%	8,14%	100,00%
10	n° de pacientes	60	16	7	83
	%	72,29%	19,28%	8,43%	100,00%
11	n° de pacientes	57	16	5	78
	%	73,08%	20,51%	6,41%	100,00%
12	n° de pacientes	44	6	4	54
	%	81,48%	11,11%	7,41%	100,00%
Total	n° de pacientes	739	188	69	996
	%	74,20%	18,88%	6,93%	100,00%

Gráfico 35: Distribuição de portadores de LES segundo o emprego ou não de imunossupressores em cada avaliação, durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC.



Na primeira avaliação, a ciclofosfamida, por via endovenosa, foi administrada a 11,5% dos pacientes; na 5^a, 6^a e 7^a avaliações, a prescrição desta droga atingiu sua máxima percentagem: 24,1% dos pacientes. Posteriormente, seu uso decresceu, terminando por ser utilizada em 10,9% dos pacientes na 12^a avaliação. O gráfico 36 mostra as doses cumulativas de ciclofosfamida endovenosa prescritas durante as doze avaliações. A grande maioria dos pacientes recebeu doses que variaram aproximadamente de 8000 a 14000 mg.

Gráfico 36: Doses cumulativas de ciclofosfamida endovenosa empregadas em 29 portadores de LES durante período de 12 meses de seguimento longitudinal no HUWC



A azatioprina, por via oral, foi prescrita a um número menor de pacientes. O grupo de pacientes que tomou essa medicação variou de 6,9% na 1ª avaliação a 7,3% na 12ª avaliação. O percentual de administração da droga manteve-se praticamente uniforme durante as doze avaliações. Apenas 1,1% dos pacientes fez uso do micofenolato mofetil.

5 DISCUSSÃO

Apesar dos avanços da genética e do melhor conhecimento dos fatores ambientais e hormonais que influenciam no surgimento do LES, a etiologia da doença ainda não foi completamente esclarecida, por não se saber ainda, de maneira precisa, quais são os autoantígenos primários implicados na patogenia desta enfermidade. Atribuem-se a vários componentes nucleares — como histona, complexos de ribonucleoproteínas, ácidos nucleicos e, principalmente, DNA — propriedades imunogênicas capazes de desencadear a resposta autoimune inicial do LES, que se caracteriza primordialmente por ser antígeno-dirigida e dependente de linfócitos T *helper*.

Nos últimos anos, vêm-se acumulando evidências de que o nucleossoma constitui o principal autoantígeno do LES. Pesquisas em animais que desenvolvem espontaneamente esta doença revelam que os anticorpos anti-nucleossoma são detectados mais precocemente que os anticorpos anti-dsDNA e anti-histona, dando a entender que a perda da tolerância ao nucleossoma precede a perda de tolerância a essas duas outras partículas imunogênicas, no caso DNA e histona (BURLINGAME et al., 1993; AMOURA et al., 1994).

Por outro lado, questiona-se o destaque dado ao DNA como o principal antígeno do LES, pois há evidências que colocam em dúvida a capacidade imunogênica do DNA. Não se tem conseguido demonstrar que essa molécula circule livre e isoladamente no sangue periférico dos pacientes lúpicos. A presença de complexos DNA/anti-dsDNA na circulação é controversa (IZUI et al., 1977; LAMBERT; MIESCHER, 1977) e complexos construídos de DNA e anti-dsDNA, quando injetados em animais, não chegam a localizar-se nos

glomérulos (EMLEN; MANNIK, 1992). Diante dessas discrepâncias, começou-se a especular de que forma os anticorpos anti-DNA poderiam provocar efeitos inflamatórios quando se depositassem nos tecidos. Estudos desenvolvidos por Rumore e Steiman (1990) comprovam que o DNA está associado às histonas na forma de oligonucleossomas (LI; STEINMAN, 1989). Certamente o material nuclear encontrado na circulação dos pacientes portadores de LES está de fato presente, na forma de oligo-nucleossomas que teriam origem em alterações ocorridas no processo fisiológico conhecido como apoptose.

A apoptose é um processo que começou a ser citado na literatura médica no ano de 1972 para descrever várias alterações celulares, primordialmente a condensação e fragmentação do núcleo celular sem ruptura da membrana plasmática. Portanto, é um evento fisiológico de morte celular programada que tem a finalidade precípua de remover as células indesejáveis. Inicia-se com a ativação da nuclease endógena e posterior clivagem internucleossomal da cromatina nuclear (COHEN, 1993). Há indícios de que distúrbios na apoptose levariam a mudanças na liberação e composição dos nucleossomas. Essas alterações foram demonstradas em modelos de animais que desenvolvem lupus espontaneamente (MRL/lpr/lpr e MRL/gld/gld) e, também, em pacientes lúpicos (TAX et al., 1995). Ainda em referência a distúrbios da apoptose no lupus, surge, em 1992, importante publicação que tenta relacionar alterações genéticas a esses distúrbios (WATANABE-FUKUNAGA et al., 1990). Estudando camundongos MRL/lpr, esses autores constataram ausência na expressão da molécula Fas (APO-1, CD95). A importância deste defeito do Fas na patogênese do LES é bem ilustrada quando se realiza sua correção transgênica, evitando-se o desenvolvimento de autoimunidade (WU et al., 1994). Da mesma forma, o ligante natural do Fas também não se expressa nas cepas de camundongos gld, fato relatado por Takahasi et al., em 1994. Fica evidente, com

essas observações experimentais, a notória vinculação da etiopatogenia do LES aos distúrbios de apoptose que ocorrem nos linfócitos desses animais lúpicos.

Em virtude da apoptose ser considerada o principal mecanismo que elimina as células T autoreativas, poder-se-ia esperar que este distúrbio fosse responsável pela produção anormal de células T no timo. Surpreendentemente, este processo é normal nos camundongos MRL (HERRON et al., 1993). Entretanto, há indicações de que, nesses modelos de camundongos *lpr* e *gld*, os defeitos na indução à tolerância periférica sejam mais importantes (RUSSELL et al., 1993). Por outro lado, uma diminuição da apoptose nesses animais também contribui para a persistência das células B autoimunes.

Outro fato interessante é que modelos de camundongos, como MRL^{+/+} e o (NZBxNZW)F1, desenvolvem lupus sem apresentar defeitos na expressão do Fas, o que permite concluir que os distúrbios da apoptose que acontecem nesses animais, em vez de causar autoimunidade, determinam seu aceleração.

Em pacientes portadores de LES, não têm sido encontrados defeitos na expressão do Fas (MYSLER et al., 1994). Isto não quer dizer que a apoptose seja completamente normal nesses pacientes. Encontram-se, na literatura médica, relatos de fenômenos imuno-patológicos que evidenciam a existência de distúrbios da apoptose em LES humano, como o de Cheng, et al em 1994, em que os níveis séricos do Fas solúvel apresentam-se aumentados. Entretanto, estudos recentes não confirmaram o aumento dos níveis séricos do Fas solúvel (KNIPPING et al., 1995). Assim, é questionável se a presença do Fas exerce um papel decisivo na etiopatogenia do LES.

Outra alteração encontrada em linfócitos T de pacientes lúpicos é uma maior expressão da proteína *bcl 2* (ARINGER et al., 1994), um inibidor fisiológico da apoptose. Estudos em camundongos transgênicos têm demonstrado que a proteína *bcl 2* inibe a eliminação clonal das células B autoreativas que

atuam na periferia, porém não a nível de medula óssea (NISITANI et al., 1993). Recentes pesquisas têm revelado que o gene *bcl 2* pertence a uma família de genes similares, alguns dos quais têm um efeito semelhante ao *bcl 2*, ou seja, um efeito inibitório sobre a apoptose enquanto outros, como a proteína *bax*, aumentam a sensibilidade para a apoptose (OLTVAI et al., 1993). Menciona-se que a proteína *bax* pode formar um heterodímero com a proteína *bcl 2* e, assim, neutralizá-la. Apesar da existência de relatos na literatura médica desses dois quadros relacionados com efeitos inibitórios na apoptose, tem-se verificado que linfócitos de pacientes lúpicos apresentam uma freqüência aumentada no nível de apoptose quando cultivados *in vitro* (EMLEN et al., 1994). As situações imunológicas acima mencionadas sugerem que as anormalidades observadas na apoptose poderiam ser causa e não consequência da doença.

Esses distúrbios na apoptose – como já dissemos - acarretam situações imunes anormais, como a persistência das células T autoreativas e, simultaneamente, a liberação de material nuclear, como nucleossomas qualitativa e quantitativamente alterados, dando início à fase de indução da resposta autoimune do LES. Em 1996, em outra publicação relevante (KALIYAPERUMAL et al., 1996), foram identificadas, nas histonas H2B e H4, três regiões que se comportam como epítopos para linfócitos T *helper* patogênicos. Isto permitiria o surgimento de anticorpos que passariam a identificar epítopos nessas estruturas nucleossomais, principalmente nas histonas H3 e H4, fazendo crer que a degradação que ocorre nessas histonas permite a exposição de peptídios que passam a não ser reconhecidos como próprios pelo sistema imunológico (CABRESPINES et al., 1998). Deduz-se de tudo que foi relatado que a formação de anticorpos específicos contra nucleossomas constitui prova inequívoca de que essas estruturas são, de fato, partículas imunogênicas. Esses anticorpos passaram a ser denominados anti-nucleossomas restritos, por reagirem com a estrutura complexada de histona e DNA.

No lupus de animais que desenvolvem espontaneamente a doença, esses anticorpos foram identificados por intermédio de anticorpos monoclonais em camundongos lúpicos (LOSMAN et al., 1992) e o mesmo verifica-se em humanos (JACOB et al., 1985). Há registros estatísticos que informam terem sido encontrados títulos séricos desses anticorpos num percentual de 80%, não só em camundongos lúpicos (CHABRE, 1995) como também em pacientes portadores de LES. Desde então, especula-se sobre quais locais, nesses antígenos, seriam alvo de auto anticorpos. Alguns fatos mostram a dificuldade de localizar epítomos nessas estruturas subnucleossomais. A produção de anticorpos exclusivamente contra o nucleossoma intacto, numa proporção maior que outras estruturas nucleossomais, sugere que há outras regiões onde também haveria epítomos desconhecidos (KRAMERS et al., 1996). É relevante notar que os sítios antigênicos localizados dentro da estrutura do nucleossoma — onde se estabelece a ligação dos anticorpos anti-nucleossomas específicos — também contêm características que permitem ligação dos anticorpos anti-dsDNA e anti-histona. Assim, descreve-se a presença de aminoácidos catiônicos na região CDR3, que permitiriam a ligação dos anticorpos dirigidos contra o DNA e, noutra região, como CDR2, haveria uma boa quantidade de resíduos aniônicos, que seriam propícios para a ligação dos anticorpos dirigidos contra as histonas (ONESTIER; NOVICK, 1996). Conclui-se que o nucleossoma seria a principal partícula imunogênica a suscitar a formação de anticorpos anti-nucleossomas restritos, em momento inicial da resposta imune do LES, como também participaria, em etapa posterior, da formação de anticorpos anti-dsDNA e anti-histona.

Diante desses postulados teóricos, tão bem consubstanciados experimentalmente em animais e humanos, diversos grupos de pesquisadores começaram a desenvolver métodos que permitissem elaborar técnicas laboratoriais para a identificação dos anticorpos anti-nucleossomas, o que propiciaria uma melhor avaliação de sua prevalência na prática clínica. Além

disso, esses anticorpos, atualmente, constituem-se em fonte de interesse muito grande no meio científico, em virtude do relevante papel que exercem na patogenia e, conseqüentemente, na formação dos vários autoanticorpos antinucleares encontrados no LES.

Até pouco tempo não era possível viabilizar um teste imunológico específico para detectar anticorpos específicos para nucleossomas porque o material usado como substrato na prática clínica diária só permitia a identificação isolada, tanto do anticorpo anti-dsDNA como do anticorpo anti-histona, não havendo condições de identificar a presença de anticorpos contra epítomos conformacionais do nucleossoma. O método tradicional, através de técnicas de adsorção, é demorado e difícil de ser realizado rotineiramente. Como resultado da dificuldade para implantá-lo como teste de rotina, tornava-se difícil avaliar a incidência dos anticorpos anti-nucleossomas específicos. Por esta razão, a utilidade clínica dos autoanticorpos específicos para nucleossomas continuava indefinida, já que sua sensibilidade e sua especificidade em relação à atividade da doença, bem como sua associação com manifestações específicas do LES - como a nefrite lúpica - permaneciam também indefinidas.

Recentemente, através de técnicas imunoenzimáticas (ELISA), onde o nucleossoma é utilizado como substrato, tem-se conseguido detectar esses anticorpos, o que possibilitará sem dúvida encontrar novos caminhos para a compreensão mais adequada da patogenia do LES.

Desse modo, na busca incessante de novos marcadores sorológicos que avaliem de uma forma fidedigna os períodos de atividade e de remissão da doença e, levando em consideração os novos conceitos atribuídos ao nucleossoma como principal autoantígeno do lupus e, sobretudo, com a finalidade de avaliar o verdadeiro significado clínico desses anticorpos, delineamos uma pesquisa clínica — com características de estudo longitudinal — num grupo de

pacientes portadores de LES, com a intenção de estabelecer uma prevalência da doença, assim como também buscar uma relação de caráter prospectivo entre os anticorpos anti-nucleossomas e os períodos de atividade e de remissão da doença lúpica. Acreditamos tratar-se de uma avaliação inédita, já que não temos conhecimento de estudo semelhante relatado em publicação nacional ou internacional.

O estudo teve início com 113 pacientes com o diagnóstico estabelecido de LES, 87 dos quais (76,9%) foram acompanhados durante doze meses, com um número de consultas que variou de 8 a 12, sendo que a maioria deles compareceu a um total de 12 consultas. Os 26 pacientes que não foram seguidos durante todo o transcurso do estudo longitudinal, foram vistos com uma frequência que variou de 1 a 5 consultas.

A análise comparativa das características demográficas, clínicas e laboratoriais dos 87 pacientes que tiveram acompanhamento longitudinal e dos 26 que não fizeram o acompanhamento prospectivo mostrou que as duas populações eram semelhantes, ficando então evidente que não havíamos praticado vícios de seleção.

Dos 87 pacientes da população que se submeteu ao estudo longitudinal, apenas 3 eram do sexo masculino, fato que comprova a prevalência da doença em pacientes do sexo feminino (96,6%). Da mesma forma, houve uma predominância dos pacientes com pele de cor não branca (65,5%), o que é corroborado por estudos realizados nos Estados Unidos da América do Norte, que mostram uma frequência maior de LES nas populações constituídas por afro-americanos, hispano-americanos e asiático-americanos, quando comparados com pacientes caucasianos (LAWRENCE et al., 1989). É conveniente lembrar que a prevalência das manifestações clínicas da doença foi calculada com base na avaliação inicial. Portanto, é de se esperar uma frequência menor que a registrada na literatura, que

leva em consideração o surgimento das manifestações em qualquer época da doença e não apenas numa única avaliação. O objetivo dessa avaliação inicial foi o de determinar as características basais da população que entraria em estudo. As manifestações clínicas mais comuns do grupo de 87 pacientes que participou da 1ª avaliação foram articulares (69%) e cutâneas (59,8%).

As queixas articulares são as manifestações mais comuns do LES, ocorrendo em 76-100% dos pacientes (CRONIN, 1988). A frequência encontrada no presente estudo (69%), menor da que é atribuída pela literatura, pode ser explicada pela realização de uma única avaliação inicial; geralmente os registros de incidência das queixas articulares resultam de avaliações realizadas durante a evolução da doença.

A maioria dos pacientes portadores de LES apresenta lesões cutâneas durante o curso evolutivo de sua doença, sendo a mais característica a chamada lesão em asa de borboleta, situada sobre a região naso-malar, que se torna mais nítida após exposição solar. Registros da literatura mostram que as manifestações cutâneas são relatadas em 39 a 85% dos pacientes (SATO et al., 1991); (COSTALLAT, 1992). No presente estudo, as manifestações cutâneas e a fotossensibilidade estiveram presentes em 59,8% e 63,2%, respectivamente, dos pacientes avaliados. A lesão de mucosa mais frequentemente encontrada é constituída por úlceras localizadas nos palatos mole e duro, também descritas no nariz. Essa alteração foi observada em apenas 17,2% dos pacientes. A menor prevalência da fotossensibilidade, das manifestações cutâneas e das lesões de mucosa encontrada nesta pesquisa decorre de não ter sido feita ao longo do estudo longitudinal, e sim, apenas, na avaliação inicial.

A incidência de doença renal no LES pode depender dos critérios que se utilizam para caracterizar o comprometimento renal e da forma como são selecionados os pacientes. Se forem usados parâmetros clínicos, a incidência

varia entre 45 a 75% (DUBROIS; WALLACE, 1987). Os critérios usados na caracterização da nefrite dos pacientes estudados na avaliação basal e nas outras avaliações do acompanhamento longitudinal foram: a presença de hematúria, leucocitúria e cilindrúria, quando da análise do sedimento urinário, assim como proteinúria acima de 500mg na urina de 24hs. Em consonância com esses critérios, a presença da nefrite lúpica ocorreu em 49,4% (Tabela 3) dos 87 pacientes que se submeteram à primeira avaliação.

Estudos de biópsias renais realizadas sistematicamente em pacientes com diagnóstico de LES mostram alterações histopatológicas em quase 100% dos pacientes. Entre os pacientes que se submeteram à biópsia renal no presente estudo, constatou-se que o tipo histológico mais observado foi a glomerulonefrite proliferativa difusa classe IV, confirmando dados de outros autores que mencionam essa glomerulonefrite como a mais freqüentemente encontrada em suas séries (CAMERON, 1999). Cabe informar que os pacientes com LES e nefrite lúpica associada, encaminhados ao H.U.W.C., estão entre aqueles que requerem investigação diagnóstica mais acurada e necessidade mais freqüente de realização de biópsias renais percutâneas. Trata-se de um hospital terciário que, além da parte assistencial, destina-se ao ensino médico.

Sabemos que o prognóstico do LES depende primordialmente, do acometimento renal. Cita-se na literatura que as glomerulonefrites classes III e IV, principalmente esta última, podem provocar deterioração da função renal desde o começo de suas manifestações clínicas, expressando-se usualmente com aumento da creatinina sérica e apresentando paralelamente sedimento urinário ativo, traduzido pela presença de hematúria, leucocitúria, cilindrúria e proteinúria. Esta última anormalidade urinária pode chegar a configurar quadro de síndrome nefrótica. A creatinina sérica acima de 1,2mg/dL foi o parâmetro laboratorial utilizado para designar a situação de insuficiência renal nos 11,5% — avaliação

basal — do grupo de pacientes acompanhados longitudinalmente. Por outro lado, relatos na literatura fazem menção ao fato de que ao redor de 20 a 30% dos casos de nefrite lúpica não respondem inicialmente, de forma satisfatória, à instituição do tratamento conservador — que consta basicamente de corticóides e imunossupressores —, de tal modo que esses pacientes evoluem para quadros de insuficiência renal que os leva para tratamentos transitórios ou permanentes de substituição da função renal, como diálise e, posteriormente, transplante renal. Desde a primeira avaliação, constatou-se que 3 dos pacientes que tiveram acompanhamento prospectivo submetiam-se a tratamento dialítico, na forma de hemodiálise.

Nesta pesquisa, ao analisar, as manifestações hematológicas apresentadas na avaliação inicial, pelo grupo dos 87 pacientes em estudo, constatamos que a anemia hemolítica foi a menos freqüente (2,3%). A literatura médica tem mostrado a raridade e severidade deste evento como forma inicial de apresentação clínica do LES, tendo-se verificado que menos de 10% destes pacientes desenvolvem anemia hemolítica clinicamente importante no decurso de sua doença (WEENS; SCHWARTZ, 1974). Podemos acrescentar que a baixa prevalência de anemia hemolítica, observada no grupo de pacientes estudados, pode ser explicada por ter sido aferida numa única avaliação.

A plaquetopenia foi outra manifestação pouco freqüente no início da pesquisa (4,6%). Atribuímos essa baixa freqüência provavelmente à circunstância de quase todos os pacientes estarem fazendo uso de corticosteróides. Embora os anticorpos antiplaquetas sejam achados freqüentes no LES, isso não significa que estejam associados com trombocitopenia, podendo esta anormalidade hematológica ser um dado laboratorial isolado ou fazer parte de um quadro clínico severo.

As baixas taxas de leucopenia (23%) e linfopenia (28,7%) decorrem da presença — na avaliação basal — de um percentual próximo aos 25% de pacientes inativos e, ainda, ao fato de os dados serem referentes a uma única avaliação. Estas duas anormalidades laboratoriais são relatadas durante os períodos de atividade da doença em percentuais que atingem 60% (ESTES; CHRISTIAN, 1971) no caso da leucopenia, e 84% quando se trata da linfocitopenia (DUBOIS, 1976).

Outro achado clínico pouco freqüente na avaliação inicial do grupo que prosseguiu o estudo longitudinal foi serosite (2,3%), ao contrário do grupo de pacientes que não completou o seguimento, onde a incidência foi de 21,3%. Ressalte-se que neste último grupo ocorreram 7 óbitos e alguns casos de pericardite, derrame pericárdico, derrame pleural e um caso de peritonite, que explicam a maior severidade da doença nesses pacientes e, por isso, a maior freqüência da serosite.

Manifestações pleurais têm sido reportadas em 30 a 60% dos pacientes com LES durante todo o curso da doença. Derrame pleural quase sempre bilateral ocorre mais freqüentemente em pacientes idosos e em lupus induzido por drogas, sendo que sua identificação é mais precisa quando se encontra FAN positivo no líquido pleural (SEGAL et al., 1985).

Uma das manifestações clínicas mais severas do LES é o envolvimento do sistema nervoso central. Pode-se afirmar que este participa decisivamente no prognóstico da doença, juntamente com a nefrite lúpica. Com certa freqüência, o reconhecimento das manifestações neuro-psiquiátricas do LES apresenta dificuldades diagnósticas. Há um espectro de manifestações clínicas que incluem alterações na área cognitiva, quadros psicóticos, convulsões e neuropatias (BRUYN, 1995). Às vezes, essas situações acontecem simultaneamente, o que dificulta sua identificação. Foi caracterizado envolvimento do sistema nervoso

central em 5,7% dos pacientes pesquisados neste estudo, constituindo, assim, uma das manifestações clínicas menos frequentes da avaliação basal.

Dentro das anormalidades laboratoriais pesquisadas nos pacientes lúpicos em estudo, o fenômeno de células LE esteve presente inicialmente em 52,9% dos casos estudados. A pesquisa de células LE pode ser positiva em 90% dos pacientes em atividade e em 65% dos que se encontram em remissão. Considerando que a maioria dos pacientes em estudo apresentava doença em atividade e que 25% encontravam-se em remissão no início da avaliação prospectiva, registramos uma incidência de células LE pouco abaixo daquela relatada na literatura.

A identificação dos títulos e padrões do fator antinuclear (FAN), através de técnicas de imunofluorescência indireta (onde se utiliza como substrato, cortes de fígado de camundongo ou células epiteliais de linhagem tumoral), constitui um bom teste de triagem para algumas doenças autoimunes, especialmente quando se investiga LES. No estudo que procedemos, na avaliação inicial, entre os diversos padrões do fator anti-nuclear (FAN), o padrão do FAN salpicado foi o de maior prevalência, com 63,5%. Este tipo de padrão de imunofluorescência está relacionado com a presença de anticorpos anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro e anti-La. Outro padrão pesquisado, o FAN periférico, sugere a presença de anticorpos contra proteínas da membrana nuclear ou de anticorpos anti-dsDNA (quando a cromatina se situa na periferia do núcleo), e esteve presente em 34,9% dos pacientes em estudo. Já o padrão homogêneo sugestivo da presença de anticorpos anti-histona e ou anti-dsDNA teve prevalência de 7%.

Com a finalidade de uniformizar a nomenclatura dos laudos emitidos para utilização clínica do teste, foi realizado em Goiânia (GO), em agosto de 2000, com a presença de diversos especialistas de todo o Brasil o I Consenso para Padronização de Laudos de FAN em células Hep-2. Nesta ocasião foram

emitidos pareceres de consenso, em língua portuguesa, para os distintos padrões nucleares, nucleolares, citoplasmáticos e da divisão celular que podem ser definidos pela técnica. Recomendações sobre diluições de triagem, último título de leitura e critérios morfológicos também foram determinados (PFRIMER et al., 2001).

O FAN, como teste de triagem, tem uma alta sensibilidade - 97 a 100% - porém uma baixa especificidade - 10 a 40% - (WIJK, 1987). Na prática clínica, quando o paciente se apresenta reagente negativo, o FAN é usado para excluir o diagnóstico de LES e, por outro lado, quando seu resultado é positivo, induz à solicitação de testes mais específicos para confirmação da doença. Diante disso, investigamos a presença de outros anticorpos antinucleares reconhecidamente vinculados ao LES, como anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro e anti-La. A positividade do anti-Sm no grupo dos 87 pacientes foi de 20,7% e no grupo dos 26 pacientes não acompanhados, de 26,9%, o que está de acordo com a literatura, que registra prevalência variando de 20 a 30%. Os demais autoanticorpos também estiveram presentes dentro das faixas encontradas na literatura médica. É importante salientar que a grande variabilidade na positividade dos autoanticorpos reflete a utilização de diversas técnicas laboratoriais e características populacionais diferentes.

Na avaliação da atividade da doença no início do estudo, utilizando o índice *Lupus Activity Criteria Count* (LAAC), constatamos que 50,6% dos pacientes encontravam-se com lupus em atividade. No grupo de pacientes estudados, o escore médio foi de 1,51+-1,26, pontos, com mínimo de 0 e máximo de 4 pontos. Registros da literatura atestam a acurácia e validade deste índice quando se trata de avaliar prospectivamente a atividade do LES (UROWITZ et al., 1984).

O outro sistema de avaliação usado para definir a atividade da doença, desta vez com a finalidade de mensurá-la, foi o *SLE Disease Activity Index* (SLEDAI). Este sistema quantifica a atividade do LES, perfazendo um total de 105 pontos como resultado da soma de valores de 24 variáveis. É praticamente impossível atingir esse número máximo de pontos dada a magnitude do quadro e conseqüente mortalidade que caberia aos pacientes que o apresentassem, sendo então incomum encontrar-se pontuações acima de 50 (BOMBARDIER et al., 1992). Em nossos pacientes, no momento inicial do estudo, essa pontuação esteve entre 1 e 28 pontos com uma média de $8,22 \pm 8,28$. Esses resultados proporcionam uma idéia da magnitude da atividade da doença, no início do período de avaliação dos pacientes.

Observamos que a média de idade da população estudada (Tabela 4) foi compatível com a que é descrita na maioria das publicações encontradas na literatura médica, onde se constata uma predominância da doença em mulheres jovens.

No início do período de seguimento do estudo, os pacientes tinham em média $60,70 \pm 66,19$ meses de doença (Tabela 4).

Um dos grandes problemas na realização de pesquisas clínicas planejadas como estudos longitudinais é o de recrutar pacientes sem qualquer tipo de tratamento medicamentoso prévio. Esta situação se aplica às doenças autoimunes, particularmente ao LES, em que, independente da maior ou menor severidade da doença, ou seja, quer se encontrem os pacientes com um maior ou menor número de órgãos comprometidos, portanto em fase de maior ou menor atividade, estão sempre sendo medicados com drogas anti-inflamatórias e imunossupressoras, sob pena de progressão da doença. Assim, apesar de nossos esforços para recrutamento de portadores de LES virgens de tratamento, a maioria dos pacientes selecionados para acompanhamento longitudinal, no início

do estudo, já havia recebido tratamentos anteriores, alternando períodos de remissão e períodos de atividade, com diferentes graus de intensidade da doença (Tabela 3).

Ao lado de estratégias que tratem de caracterizar, através de índices de atividade da doença, o estado clínico e laboratorial do paciente portador de LES, buscam-se marcadores sorológicos que possam detectar precocemente essa atividade, com o intuito de oferecer melhores condições de diagnóstico e tratamento. Entre os autoanticorpos, como já relatamos, destacam-se o anti-Sm e o anti-dsDNA: o primeiro, por sua especificidade, e o segundo, por sua relação com a atividade geral da doença, assim como por sua vinculação com situações clínicas como a nefrite lúpica. Entretanto, devido ao anti-Sm ser pouco sensível e a o anti-dsDNA apresentar-se não reagente em situações clínicas que indicam atividade da doença, como também apresentar positividade em períodos inativos, torna-se imperiosa a identificação de novos marcadores que possam estar melhor associados com as fases ativas e inativas do LES.

Conhecendo, nos últimos anos, através de relatos mencionados na literatura, a importância atribuída à molécula do nucleossoma como principal autoantígeno do LES, buscamos identificar em nosso meio a prevalência inicial dos anticorpos dirigidos contra a unidade fundamental da cromatina nuclear. Esta avaliação foi feita de modo seqüencial no grupo dos pacientes que tiveram um acompanhamento longitudinal. Concomitantemente determinaram-se os anticorpos contra o DNA (anti-dsDNA) e histona (anti-histona). Observamos que, já no momento inicial, entre esses anticorpos, os maiores valores foram do anti-nucleossoma, com níveis séricos entre 1,508 e 0,009 DO, e uma média de 0,264 DO (acima do ponto de corte: 0,167 DO), enquanto o anti-dsDNA teve valores séricos entre 1,145 e 0,011 DO, com uma média de 0.185 DO (abaixo do ponto de corte: 0,195 D). Já o anticorpo anti-histona foi detectado com níveis

séricos entre 0,389 e 0,007 DO com uma média de 0,046 DO (abaixo do ponto de corte: 0,090 DO).

Partindo do princípio de que os seguimentos longitudinais dos pacientes lúpicos devem ter como objetivo precípua o monitoramento da atividade da doença, ao idealizar esse tipo de estudo, tínhamos como finalidade principal avaliar de forma prospectiva a prevalência do anticorpo anti-nucleossoma e investigar seu valor na atividade do LES e na nefrite lúpica.

Por outro lado, além das variáveis relacionadas ao já citado objetivo principal da pesquisa, ou seja, análise da prevalência sequencial da atividade da doença, do anti-nucleossoma e da nefrite, decidimos estudar, também, prospectivamente, a prevalência de outros exames laboratoriais que costumam ser solicitados na complementação diagnóstica, no acompanhamento do resultado terapêutico e, no prognóstico do LES. Os testes laboratoriais aludidos são provas imunológicas disponíveis na clínica diária: células LE, fator antinuclear (FAN), frações do complemento C3 e C4, anticorpo anti-dsDNA e anticorpo anti-histona. Outros exames laboratoriais analisados ao longo do acompanhamento longitudinal foram: creatinina sérica, exame de urina (sedimento urinário), proteinúria de 24hs, albumina sérica e hemograma. Acreditamos que, ao lado da vigilância clínica, aferida através da história e do exame físico do paciente, os exames acima citados auxiliaram, com suas mudanças no decorrer da avaliação prospectiva, a complementar a detecção da atividade da doença lúpica assim como a avaliar sua evolução. Há registros na literatura mostrando que os resultados desses exames podem ser decisivos na identificação da atividade do LES, trazendo benefícios relacionados ao controle da doença e a melhores opções de tratamento (CORZILIUS; LIANG, 1999).

A prevalência da nefrite durante o acompanhamento longitudinal variou de 37 a 55,2%, observando-se que houve uma tendência de declínio a partir da 3^a

avaliação. A propósito, cabe registrar que a mesma tendência à queda da prevalência foi registrada em algumas das situações clínicas e laboratoriais estudadas ao longo do acompanhamento prospectivo, como: síndrome nefrótica, insuficiência renal, positividade de células LE, redução dos padrões periférico e homogêneo do FAN, diminuição dos valores séricos de C3 e C4, dos anticorpos anti-dsDNA, anti-histona e da própria atividade da doença. Retornando ao estudo da nefrite, verificamos que a maior parte dos pacientes portadores desta complicação clínica do LES tinha, como forma de apresentação da doença: proteinúria, hematúria microscópica, leucocitúria e, numa proporção menor, cilindúria. A menor frequência de cilindúria pode ser explicada pela exigência de cilindro hemático como único critério de cilindúria. Diferentemente de outros relatos da literatura, não pesquisamos outros cilindros no sedimento urinário por acreditarmos que os cilindros largos, céreos, hialinos e granulosos não detectariam sinais ativos agudos da nefrite lúpica. Ressalte-se que, em todas as avaliações feitas para o conjunto de 87 pacientes, houve a presença de pacientes com quadros de síndrome nefrótica, de insuficiência renal e das anormalidades urinárias acima citadas, o que evidencia a variedade de manifestações renais presentes durante o acompanhamento longitudinal, assim como a severidade da nefrite. A maior prevalência da glomerulonefrite proliferativa difusa, classe IV, da O.M.S., nos pacientes em estudo, explica claramente a presença das anormalidades clínicas e laboratoriais já mencionadas. Os cuidados adotados em relação à determinação da atividade da doença e ao tratamento durante o acompanhamento dos pacientes permitiram reduzir a prevalência dessas anormalidades. Isto somente foi possível pelo comparecimento mensal dos pacientes, o que possibilitava a detecção e o ajuste de tratamento dessas manifestações renais. O acompanhamento prospectivo e mensal dos pacientes também foi importante para o controle gradativo das outras manifestações clínicas e laboratoriais relacionadas à atividade do lupus. Os pacientes evoluíram

satisfatoriamente, inclusive os que se submeteram a terapêuticas de substituição renal, tanto transitoriamente como definitivamente. Aliás, o surgimento das modalidades dialíticas e do transplante renal modificaram a história natural da nefropatia lúpica e, por sua vez, do LES. Pacientes lúpicos transplantados têm uma sobrevida do rim transplantado comparável à dos pacientes não lúpicos. Considerando os bons resultados deste tipo de terapêutica, requer tirocínio clínico e sabedoria encontrar o momento adequado de sustar as medicações imunossupressoras comumente usadas no tratamento dos pacientes lúpicos portadores de insuficiência renal crônica avançada para, desse modo, não provocar graves efeitos colaterais que, via de regra, levam esses pacientes a elevados índices de morbidade e mortalidade, ocasionados principalmente por situações de ordem infecciosa. A não adoção desse tipo de conduta terapêutica – diálise e transplante renal – pode ocasionar óbitos de pacientes que teriam condições de continuar sobrevivendo com as modalidades terapêuticas acima mencionadas.

O estudo de prevalência seqüencial dos testes imunológicos solicitados durante todo o acompanhamento longitudinal mostrou que, em nossos pacientes, da mesma forma como foi observado quando da análise das manifestações renais, houve também uma redução da prevalência desses testes, com exceção do FAN padrão salpicado que teve uma tendência de elevação no transcurso do estudo prospectivo. Isto pode ser comprovado quando se visualizam as tabelas e gráficos correspondentes, mostrados durante a elaboração dos resultados. Convém mencionar que a prevalência das células LE, do FAN periférico e do número de pacientes com complemento sérico reduzido (C3) teve um declínio maior em relação aos outros parâmetros imunológicos, acompanhando nesse mesmo sentido, paralelamente, a redução concomitante da prevalência dos autoanticorpos anti-nucleossomas e anti-DNA, como será visto mais adiante. É consabido que existe uma relação dos períodos de atividade e remissão da doença

lúpica com a diminuição ou normalização dos valores séricos do C3 e a concomitante positividade ou não do anti-DNA. Tendo-se observado entre nossos pacientes uma diminuição na frequência daqueles com complemento sérico reduzido e, concomitantemente, uma redução dos níveis séricos dos anticorpos anti-nucleossomas, é possível sugerir a existência de uma correlação inversa entre os valores séricos do C3 e níveis séricos dos anticorpos anti-nucleossoma, com redução mais acentuada de C3 nos períodos em que foram detectados títulos mais elevados do anticorpo antinucleossoma. Já quando se analisa a diminuição da frequência do complemento sérico reduzido (C4), observa-se a mesma tendência de redução dos títulos do anticorpo anti-nucleossoma, porém não tão marcante como a observada com o C3.

Ao contrário das manifestações clínicas e laboratoriais já relatadas, houve uma tendência, como já dissemos, à elevação das taxas séricas de hematócrito, hemoglobina e albumina sérica que serviu para avaliar o componente nutricional e hematológico dos pacientes portadores de LES, tendo-se revelado também, como um sinal indireto da atividade da doença. O controle da atividade geral e renal do lupus associa-se frequentemente à melhora do hemograma e dos níveis de albumina sérica. Portanto, a elevação gradativa desses valores nos pacientes que foram acompanhados expressa a melhora clínica ocorrida nesses setores. Quanto à albumina sérica, ressaltamos que houve valores abaixo do normal em quase todas as avaliações feitas seqüencialmente durante o acompanhamento longitudinal — variação de 1,2 mg/dL a 2,5 mg/dL. Apesar disso, constatamos, ao final do estudo, a normalização desses valores na maioria dos pacientes acompanhados. Atribuimos os índices da hipoalbuminemia sérica, em grande parte, à presença da síndrome nefrótica. O tratamento oportuno da nefrite lúpica propiciou uma reversão da hipoalbuminemia no final do acompanhamento. Da mesma forma, o hematócrito e a hemoglobina mostraram, em quaisquer das avaliações realizadas seqüencialmente, valores abaixo do

normal, o que evidenciou presença de anemia em alguns dos pacientes acompanhados. Com a normalização desses parâmetros hematológicos — no final do acompanhamento prospectivo — podemos inferir que a melhora que ocorreu é decorrente do controle geral da doença e conseqüente normalização da anemia vinculada às doenças reumáticas crônicas.

Todos os dados acima expostos, relativos às situações clínicas e parâmetros laboratoriais analisados durante o estudo longitudinal, são reflexos prováveis do monitoramento clínico, laboratorial e terapêutico que realizamos com esses pacientes.

O diagnóstico da atividade do LES envolve a aferição de sintomas, sinais clínicos e exames laboratoriais, alguns bastante objetivos e outros muito subjetivos o que, às vezes, torna difícil sua detecção. Isto levou estudiosos do LES a estabelecer critérios clínicos e laboratoriais para avaliar a atividade da doença. Dentre os mais de 60 sistemas que tentam caracterizar a atividade desta doença autoimune, utilizamos, no nosso estudo, o LAAC e SLEDAI validados em registros da literatura como sistemas possuidores de critérios eficientes para detectar a atividade do LES (GUZMAN et al., 1992). Um dos objetivos de nosso estudo foi avaliar prospectivamente os períodos de atividade e remissão dos 87 pacientes.

Com o sistema de avaliação denominado LAAC, verificamos que, no ponto zero da pesquisa, aproximadamente a metade dos pacientes estava em atividade e a outra metade em inatividade. Esta avaliação inicial nos propiciou acompanhar mudanças que ocorreram durante o transcurso das consultas do estudo longitudinal. Assim, houve pacientes inativos que se transformaram em ativos e vice-versa, ou seja, pacientes que estavam em atividade e que evoluíram para períodos de remissão. O que ficou visível durante o acompanhamento prospectivo foi a redução geral na atividade da doença (de 50,6% na 1ª avaliação

a 28,0% na 11^a avaliação), mostrando a influência que teve a avaliação clínico-laboratorial durante o desenvolvimento da pesquisa, ao lado de uma compreensível eficácia da medicação que foi instituída ao longo do acompanhamento.

Quando utilizamos o critério de atividade SLEDAI para avaliar a magnitude da atividade pesquisada, observamos, também, uma redução gradativa dos valores médios ao longo das avaliações. A primeira avaliação apresentou uma média dos escores de 8,22 e a última de 4,69.

Ficou demonstrado, ao se fazer uma análise de correlação de Pearson entre os dois sistemas que foram usados para avaliar a atividade da doença em cada uma das doze avaliações, que seria viável utilizar tanto o sistema LAAC como o SLEDAI, quando se quisesse proceder à identificação desta atividade. A correlação variou de 65,5% a 86,5% nas doze avaliações realizadas, sendo que em 11 foi considerada de boa a ótima. Detalhando mais esta análise, observamos que, na 3^a e 10^a avaliação, os escores são aproximadamente iguais a 80%, totalizando então 9 correlações consideradas ótimas dentre as 12 que foram analisadas. A observação dos dois gráficos que mostram os valores do LAAC e SLEDAI, ao longo das 12 observações, reforça a excelente correlação entre os dois índices. Em ambos, houve um aumento da atividade na 5^a e 9^a avaliações. Esta excelente correlação trouxe uma definição importante na nossa pesquisa, já que nos permitiu escolher como padrão ouro o sistema LAAC. A escolha, como veremos mais adiante, foi definida levando-se em consideração algumas dificuldades que se apresentariam com o sistema SLEDAI quando se tentasse associar atividade da doença e níveis séricos dos autoanticorpos: anti-nucleossomas, anti-DNA, anti-histona. Observamos que a pontuação atribuída aos vários sintomas do sistema SLEDAI eram diferentes quando se correlacionava a magnitude dos sintomas ao prognóstico da doença. Isto ficou

bem evidente quando tentamos confrontar alguns sintomas de pior prognóstico — como convulsões, psicose, vasculite —, com outros de melhor prognóstico — como artrite, alopecia, *rash* cutâneo. Verificamos, então, que os sintomas de bom prognóstico recebiam escores semelhantes aos de mau prognóstico, impossibilitando ao pesquisador estabelecer uma correlação da gravidade desses sintomas com os valores séricos dos anticorpos estudados. Da mesma forma, para calcular as características diagnósticas dos autoanticorpos (sensibilidade, especificidade, valor preditivo) na atividade da doença, não pudemos categorizar essa mesma atividade utilizando o SLEDAI; optamos, assim, pelo uso do LAAC.

Levando em consideração a frequência de períodos de atividade ao longo das 12 avaliações, distribuimos os pacientes em 4 categorias: forte, moderada, fraca e ausente, segundo os critérios por nós estabelecidos e descritos no item “Casuística e Métodos”. Houve uma preponderância de 56,3% dos pacientes classificados dentro das categorias forte e moderada (ver tabelas correspondentes em “Resultados”). Neste tipo de avaliação, pode-se também comprovar (visualizar gráficos no item “Resultados”) que, enquanto os níveis séricos dos anticorpos anti-nucleossomas e anti-dsDNA guardaram relação com os diferentes graus de atividade nos grupos de pacientes estudados, o mesmo não aconteceu com o anticorpo anti-histona.

Na avaliação inicial dos 87 pacientes seguidos longitudinalmente, o anti-nucleossoma foi positivo em aproximadamente 45% deles, portanto, com prevalência superior à dos anticorpos anti-dsDNA e anti-histona, 21,8% e 9,2%, respectivamente. Importa observar que, na literatura nacional e internacional, não se faz menção a estudo prospectivo semelhante, podendo portanto ser este considerado o primeiro estudo longitudinal que visa a estudar as propriedades diagnósticas dos anti-nucleossomas na atividade geral da doença e na nefrite lúpica. Existe, em nível nacional, um estudo transversal (JERÔNIMO, 1999) e

dois outros relatos internacionais, também transversais, sobre prevalência, sensibilidade e especificidade dos anticorpos anti-nucleossoma, analisando doenças do tecido conjuntivo e LES (AMOURA et al., 2000); BRUNS et al., 2000). No estudo de Jerônimo, verifica-se prevalência de 71,8%, maior do que a registrada por nosso grupo, que teve uma variação de 40 a 58,6%, o que pode ser explicado pelo número expressivo de pacientes com nefrite lúpica naquele estudo (77,4%), bem maior do que o alcançado em nosso grupo durante as doze avaliações, onde a variação foi de 37,0 a 54%. Por outro lado, ao longo do nosso acompanhamento longitudinal constatou-se um grupo de pacientes inativos (25,3%) e, paralelamente, observou-se um declínio da atividade geral da doença, o que contribuiu para a menor prevalência na positividade do anticorpo antinucleossoma observada em nossa casuística. No que diz respeito a publicações internacionais e em referência aos relatos anteriormente mencionados, inicialmente ao grupo alemão (BRUNS et al., 2000), verifica-se que ele apresenta uma prevalência de 56% de anticorpos anti-nucleossoma no lupus, muito próximo da faixa encontrada em nosso estudo, e conclui que os antinucleossomas são altamente específicos para a doença e que se mostraram superiores ao anti-dsDNA para o diagnóstico do LES. Na pesquisa do grupo francês (AMOURA et al., 2000) foi encontrada prevalência de 71,7% para os anticorpos anti-nucleossomas IgG, o que leva à conclusão de que este novo marcador pode ser útil no diagnóstico diferencial das doenças do tecido conjuntivo, particularmente o isotipo IgG3, um marcador biológico seletivo da atividade do LES, particularmente da nefrite lúpica. É importante ressaltar que, em nosso estudo, a prevalência do anti-nucleossoma atinge um valor máximo na 5ª avaliação (58,6%) para, a partir daí, decrescer gradativamente até chegar em 40% nas duas últimas avaliações. Outro aspecto a enfatizar é a seguinte constatação, observada na 5ª avaliação do estudo: simultaneamente ao maior aumento da prevalência dos anticorpos anti-nucleossomas verificou-se também

uma prevalência elevada da atividade da doença e de outros parâmetros laboratoriais, como proteinúria de 24hs, síndrome nefrótica, cilindrúria e níveis séricos reduzidos de C4.

A freqüência do anti DNA foi maior nas duas primeiras avaliações (21,8%) e menor na última avaliação (10,9%). Em nova comparação com a pesquisa desenvolvida por Jerônimo, em Fortaleza, 1999, atinente à freqüência do anti-dsDNA, observamos que ela foi maior (43,7%) do que a obtida no nosso estudo. A provável explicação decorre do maior número de pacientes com nefrite lúpica no estudo anteriormente mencionado. Enquanto isso, observamos que a maior freqüência na positividade do anti-histona coincidiu com a maior freqüência para positividade do anti-nucleossoma, na 5ª avaliação, apresentando logo a seguir, uma tendência à redução progressiva nas sucessivas avaliações realizadas com ambos autoanticorpos. A prevalência do anti-DNA varia de acordo com a técnica utilizada. Pelo método imuno-enzimático (ELISA), identificam-se anticorpos de avidéz intermediária e está em torno de aproximadamente 70%, na literatura médica (AVINA – ZUBIETA et al., 1995). A técnica usada no presente estudo foi a imuno-enzimática descrita no ítem “Casuística e Métodos”. A baixa prevalência deste anticorpo na população estudada pode ser explicada pelo uso continuado de medicação antiinflamatória (corticosteróides) e de imunossupressores (ciclofosfamida e azatioprina) assim como à circunstância de haver neste grupo pacientes crônicos, e dentre estes, um percentual de aproximadamente 25% em remissão, durante todo o transcurso do estudo longitudinal.

Na prática clínica, o aumento dos níveis séricos de anti-dsDNA é comumente associado com os períodos de atividade do LES e, particularmente, com a presença de nefrite lúpica (BOOTSMA et al., 1997). Portanto, o anti-DNA é tido como um bom marcador sorológico da atividade da doença

lúpica, sobretudo quando se associa a uma diminuição dos níveis séricos do complemento (C3, C4) (LLOYD; SCHUR, 1981). Por outro lado, alguns pacientes com sinais evidentes de atividade da doença não apresentam anormalidades com esses marcadores séricos, assim como tem sido evidenciado que, às vezes, esses mesmos marcadores sorológicos não predizem a atividade da doença (ESDAILE et al., 1996). Para confirmar esta assertiva, cabe mencionar um estudo em que 12% dos pacientes com hipocomplementemia e, simultaneamente, títulos elevados de anticorpos anti-dsDNA, não apresentaram evidência clínica de doença ativa (WALZ LE BLANC et al., 1994). Diante de alguns relatos da literatura médica que demonstram a normalidade dos títulos séricos do anticorpo anti-dsDNA durante os períodos de atividade clínica da doença, fazem-se necessárias novas pesquisas que permitam o surgimento de novos marcadores sorológicos que possam detectar melhor esses períodos. Dentro dessa perspectiva, uma das motivações que nos levou a delinear este estudo longitudinal foi a de avaliar o papel do anti-nucleossoma na atividade do LES e no diagnóstico da nefrite lúpica. Planejamos, então, realizar esta avaliação estabelecendo comparação com o anti-histona e principalmente com o anti-dsDNA, considerado atualmente, o padrão ouro dentro dos marcadores sorológicos do LES, principalmente no tocante à sensibilidade e especificidade da doença.

Com relação ao valor dos três anticorpos na atividade da doença, constatamos um fato inédito e extremamente relevante. O anti-nucleossoma mostrou-se o mais sensível (72,7 a 100%) de todos, muito mais do que o anti-dsDNA (31,4 a 54,8%), apresentando diferença estatisticamente significativa em todas as doze avaliações. Portanto, durante os períodos de atividade da doença, a probabilidade do anti-nucleossoma ser positivo é muito maior do que o anti-dsDNA ou anti-histona. A relação entre a sensibilidade do anti-nucleossoma e anti-dsDNA variou de 1,683 a 2,495 a favor do antinucleossoma. Por outro

lado, considerando que um teste sensível é mais útil ao clínico quando o resultado do teste é negativo, conclui-se que, quando o anticorpo anti-nucleossoma for negativo, a possibilidade do paciente portador de LES estar em remissão é muito alta. O complemento da sensibilidade é o falso negativo. No caso do anti-nucleossoma, os valores de falsos negativos variaram de 0 a 25%, enquanto para o anti-dsDNA, variaram de 17,6 a 36,8%. É importante também observar que os valores maiores do anti-nucleossoma aumentam a partir da 5ª avaliação, em que também foi constatada maior frequência de atividade clínica. Quando analisamos a especificidade do anti-nucleossoma e a comparamos com a especificidade do anti-DNA, constatamos que o anti-DNA foi mais específico que o anti-nucleossoma, apresentando diferença estatisticamente significativa em 11 das 12 avaliações. A relação de especificidade entre o anti-dsDNA e o anti-nucleossoma variou de 1,195 a 1,469, sendo favorável ao DNA. Isto vem confirmar o fato de que testes diagnósticos altamente sensíveis não possuem alta especificidade, já que existe um contrabalanço entre a sensibilidade e a especificidade de um teste. Embora seja desejável dispor de um teste ao mesmo tempo altamente sensível e altamente específico, infelizmente, com frequência isso não é possível. Entretanto, podemos considerar que a especificidade do anti-nucleossoma para com a atividade do LES no grupo estudado longitudinalmente é boa em 9 das 12 avaliações, e excelente em 3 das 12 avaliações. De tal forma que a positividade do anti-nucleossoma oferece as características de um marcador sorológico com excelente sensibilidade e uma boa especificidade perante a atividade clínica da doença.

Comparando-se o anti-nucleossoma com o anti-histona, o primeiro apresentou-se mais sensível que o segundo. Cabe mencionar que a relação entre a sensibilidade do anti-nucleossoma e a do antihistona variou de 2,264 a 6,248 durante as 12 avaliações. Essa diferença pode ser evidenciada na Tabela 29 e no Gráfico 28, onde se percebe que a sensibilidade para o diagnóstico da atividade

da doença mostrou-se mais marcante quando foram comparados estes dois anticorpos do que a observada quando se estabeleceu comparação entre o anti-nucleossoma e o anti-dsDNA. Os anticorpos formados contra um dos componentes nucleares, as histonas, costumam ser induzidos por diferentes drogas como hidralazina, procainamida. Possivelmente seja esta a explicação para as baixas taxas de sensibilidade encontradas no nosso grupo populacional para este anticorpo quando usado para detectar a atividade da doença, pois não houve casos de LES induzido por medicamentos. Por outro lado, estudos de associação dos anticorpos anti-histona com a atividade e severidade da doença e com quadros clínicos específicos são inconsistentes. Alguns relatos mostram que não há associação entre a presença de anticorpos ant-histona e qualquer sistema de mensuração da atividade clínica da doença (FRITZLER et al., 1982). Quando se comparam os valores das especificidades do anti-nucleossoma e anti-histona para a atividade da doença no grupo de pacientes portadores de LES, observa-se que a especificidade do anti-nucleossoma (66,7 a 83,7%), é menor que a do anti-histona (84,3 a 98,1%). A relação de especificidade entre o antihistona e o anti-nucleossoma variou de 1.133 a 1.445.

Os valores preditivos positivos (VPP) do anti-nucleossoma em relação à atividade da doença foram inferiores aos do anti-DNA, isto quer dizer que quando o anti-DNA está positivo, prediz com maior freqüência a atividade do lupus do que o anti-nucleossoma. Já com relação ao anti-histona, os valores preditivos positivos (45,5-83,3%) foram muito semelhantes aos do anti-nucleossoma (55,8-82,1%).

Quando se analisam as probabilidades de o paciente lúpico não estar em atividade da doença, através do valor preditivo negativo do anti-nucleossoma, verifica-se que os valores obtidos com este anticorpo são mais precisos que o anti-DNA, confirmando-se o que a literatura relata: os testes de alta sensibilidade

quando apresentam resultados negativos são capazes de excluir a situação clínica pesquisada. No caso de nossos pacientes, o anti-nucleossoma confirmou essa situação diante da atividade da doença.

Os valores preditivos negativos (VPN) do anti-nucleossoma para a atividade da doença variaram de 75,0 a 100% e do antihistona de 51,9 a 75%, portanto o anti-nucleossoma, quando se apresenta negativo, tem mais possibilidades de excluir a atividade da doença do que o anti-histona. Estes resultados vêm comprovar o que a literatura médica tem relatado em relação aos anticorpos anti-histona, ou seja, que não são bons marcadores sorológicos quando analisados isoladamente diante da atividade da doença, contrariamente ao que acontece com o anti-nucleossoma e o anti-dsDNA.

Na prática geral, a positividade bem como a titulação (níveis séricos elevados) do anti-dsDNA têm sido associadas com o diagnóstico e a atividade da nefrite lúpica, sendo o marcador mais forte dessa manifestação. Este estudo, mais uma vez, encontrou um resultado inédito, que permite concluir que o anticorpo anti-nucleossoma é mais sensível do que o anti-dsDNA para o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica, apesar das taxas de sensibilidade terem sido inferiores àquelas obtidas quando se analisou a atividade geral da doença. Estes resultados são de grande importância do ponto de vista clínico. Sabe-se, por relatos na literatura, que títulos elevados de anti-dsDNA podem ocorrer com casos de nefrite lúpica leve, assim como casos de nefrite lúpica severa podem ocorrer com títulos baixos de anti-dsDNA. Dessa forma, a descoberta da maior sensibilidade do anti-nucleossoma permitirá que a pesquisa desse anticorpo seja útil para complementar o diagnóstico da nefrite lúpica nos casos em que o anti-dsDNA não o faça. Já quando se analisa a especificidade do antinucleossoma e simultaneamente a do anti-dsDNA para o diagnóstico da nefrite lúpica, verifica-se — como ocorreu quando se correlacionou a sensibilidade do

anti-nucleossoma com a atividade geral da doença — que o anti-dsDNA teve uma maior especificidade. A relação de especificidade entre os dois anticorpos foi favorável ao antidsDNA, na proporção de 1,364 a 2,054 vezes mais.

O valor preditivo positivo do anti-dsDNA prediz com maior frequência o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica do que o anti-nucleossoma. O valor preditivo negativo do anti-dsDNA e o valor preditivo negativo do anti-nucleossoma são praticamente semelhantes.

Uma questão de grande importância e que permanece sem resposta refere-se à possibilidade de o anticorpo anti-nucleossoma ser capaz de prever a atividade da doença antes que aconteçam as manifestações clínicas. Experimentos realizados em camundongos lúpicos comprovam que os anticorpos anti-nucleossomas surgem antes do aparecimento dos anticorpos anti DNA; este fato imunológico merece uma comprovação clínica. Neste sentido, em nossa pesquisa, foi feita uma correlação dos resultados dos valores séricos do anti-nucleossoma das avaliações anteriores como preditores do diagnóstico da atividade dos meses subsequentes.

O valor preditivo positivo do anti-nucleossoma da avaliação anterior como preditor da atividade do mês subsequente, usando o LAAC como teste ouro, variou de 71,8% (1ª avaliação) a 22,7% (12ª avaliação), evidenciando uma diminuição gradativa no decorrer das avaliações do estudo longitudinal. Cabe ressaltar que, da 1ª à 7ª avaliação, a positividade do anti-nucleossoma da avaliação anterior em relação à atividade do mês subsequente mostrou ser boa (71,8 a 56,5%), para decair da 8ª à 12ª avaliação (29,5 a 16,7%). Esta queda do VPP pode ser explicada pelo fato desta característica diagnóstica depender da prevalência da doença. No estudo em questão, a atividade do lupus decaiu ao longo do acompanhamento. Portanto, é óbvio esperar que o VPP do anti-nucleossoma para a atividade do LES também diminuísse.

Outro fato interessante, observado durante o acompanhamento prospectivo, diz respeito aos resultados obtidos com o valor preditivo negativo, ou seja, a possibilidade de não haver atividade da doença no mês subsequente toda vez que o anti-nucleossoma da avaliação anterior estiver normal. Como pode ser visto na Tabela 38, o VPN variou, com valores considerados ótimos da 1ª à 7ª avaliação (97,6% a 83,3%), declinando para valores que podem ser considerados como bons (66,7 a 57,1%) da 8ª à 12ª avaliação.

Os resultados registrados, tanto dos valores preditivos positivos como negativos, sugerem algumas aplicações práticas de interesse clínico. Assim, quando o valor sérico do anti-nucleossoma da avaliação anterior esteve acima do ponto de corte (positividade), o que ocorreu em 7 das 12 avaliações, com valores considerados bons (ver Tabela 38), seria possível detectar com antecedência de aproximadamente de um mês, o diagnóstico da atividade da doença. Por outro lado, quando analisamos o valor preditivo negativo do anti-nucleossoma sérico da avaliação anterior com o diagnóstico da atividade na avaliação posterior, registramos valores ótimos e valores bons (ver Tabela 38), significando que as chances do paciente com LES estar em remissão 30 dias após é maior quando o valor sérico do anti-nucleossoma da avaliação anterior está negativo, portanto abaixo do ponto de corte.

As drogas utilizadas ao longo do estudo longitudinal tinham propriedades antiinflamatórias e imunossupressoras, tendo sido estabelecidos parâmetros clínicos e laboratoriais para sua administração. Os medicamentos usados, por via oral ou endovenosa, visavam a controlar a atividade da doença, e, uma vez obtido este controle, manter a remissão. Os corticosteróides foram os medicamentos mais prescritos e apenas 5,9% dos pacientes não os receberam. Dentre os doentes de LES que necessitaram usar imunossupressores, a ciclofosfamida, via endovenosa, foi a droga mais usada, com percentuais de 24,1

a 10,9% durante as doze avaliações. Já a azatioprina, por via oral, alcançou, durante o mesmo período de avaliação, percentuais de utilização de 8,4 a 5,7%.

Um fato positivo foi a diminuição das doses de corticosteróides, quando se considera o início e o fim do estudo. Na primeira avaliação, 40,2% dos pacientes recebiam mais de 0.5mg/kg dia de prednisona, enquanto que apenas 12,7% ainda recebiam aquela dose na 12^a avaliação. Esta situação, ou seja, um maior grupo de pacientes tomando doses menores de prednisona no final do estudo, reflete a melhora clínica dos pacientes acompanhados longitudinalmente. Por outro lado, os doentes que faziam uso de menos de 0,5mg/kg/dia de prednisona, e que eram, 49,4% na primeira avaliação, chegaram a atingir 83,6% na 12^a avaliação. Este fato confirma que o número de pacientes com um melhor controle da atividade da doença na fase final era maior, o que possibilitava a utilização de doses menores de prednisona oral.

Quanto à azatioprina, a outra droga utilizada durante o estudo, foi administrada a 7 pacientes com LES, de uma maneira uniforme e contínua, em doses de 2mg/kg/dia, via oral, com o objetivo de manter a remissão da doença.

A ciclofosfamida constituiu-se na droga de utilidade prática mais importante durante a fase de indução e manutenção do tratamento. Foi aplicada, por via endovenosa a um grupo de pacientes — na grande maioria com nefrite lúpica — cujo número, durante o estudo, representou de 24,1 a 10,9% do total de pacientes. Foi usada, a intervalos mensais, em doses de 1g/m², durante 6 a 7 meses após uma dose inicial de 0,75g/m², e, posteriormente, na dose de 1g/m², trimestralmente, para o período de manutenção da remissão da doença até que se completassem 2 anos de inatividade. Mais uma vez, verifica-se na Tabela 40 e no Gráfico 35 que, na 5^a avaliação, que expressa, durante o estudo, o momento de maior prevalência do anti-nucleossoma, assim como por outro lado, o segundo momento de maior atividade da doença, coincide também com o maior

percentual de administração da ciclofosfamida por via endovenosa (24,1%), sugerindo coerência dos resultados clínicos, laboratoriais, imunológicos e terapêuticos.

Uma relevante constatação desta pesquisa refere-se à redução dos níveis de prevalência das principais variáveis analisadas no transcurso do estudo longitudinal, fato que atribuímos ao monitoramento clínico-laboratorial dos pacientes acompanhados. Um dos principais fatores determinantes desses resultados foi, sem dúvida, o comparecimento mensal dos pacientes às consultas realizadas durante o estudo longitudinal. Isto vem demonstrar que a vigilância clínica periódica - através de métodos propedêuticos que utilizem anamnese, exame físico e exames laboratoriais que auxiliem no diagnóstico da atividade da doença - torna possível a adoção de medidas preventivas eficientes do ponto de vista terapêutico em benefício do paciente portador de LES.

A discussão dos resultados do nosso estudo longitudinal nos permite concluir que os anticorpos anti-nucleossoma são marcadores mais sensíveis do que os outros anticorpos antinucleares relatados anteriormente na literatura médica. No presente estudo prospectivo, a sua comparação com os anticorpos anti-dsDNA (considerado o padrão ouro dos autoanticorpos no LES) e com os anticorpos anti-histona, quando analisados diante da atividade da doença e da nefrite lúpica, comprova nossa inédita afirmação conclusiva em estudo longitudinal. A relevância desta conclusão exige e urgência a necessidade de dar continuação às avaliações preliminares que já estabelecemos nesta pesquisa quanto à capacidade dos anticorpos anti-nucleossomas serem utilizados como marcadores sorológicos preditores da atividade do LES, assim como sua relação com algumas das manifestações clínicas do LES, particularmente com a nefrite lúpica. Acreditamos que, se os anticorpos anti-nucleossomas forem confirmados como bons preditores da atividade da doença, será possível conhecer mais de

perto sua vinculação com a apoptose e com outras anormalidades imunológicas, o que permitirá novos esclarecimentos acerca da etiopatogenia do LES. Por outro lado, ao se antecipar, quando positivo, ao aparecimento das manifestações clínicas da atividade da doença, poderá propiciar o surgimento de novas modalidades terapêuticas que permitam induzir à tolerância imunológica dos peptídios nucleossomais. Desta forma, estaremos abrindo caminho para novas opções de tratamento medicamentoso mais eficazes e com menos efeitos colaterais do que aquelas que existem atualmente no cenário terapêutico dos pacientes portadores de LES.

6 CONCLUSÕES

1. A prevalência da atividade do LES, definida através do LAAC, avaliada em 87 pacientes, variou de 28 a 50,6% ao longo de um período de 12 meses de acompanhamento longitudinal. A média do escore obtido através do índice SLEDAI, variou, nas doze avaliações realizadas, de 4.22 a 8.22 pontos.
2. A prevalência dos anticorpos anti-nucleossoma, nessa mesma população, variou de 40 a 58,6% e foi superior à prevalência dos anticorpos anti-dsDNA (10,0 - 20,7%) e anti-histona (6,9 - 26,4%), nas doze avaliações realizadas durante o estudo longitudinal.
3. Títulos séricos mais elevados dos anticorpos antinucleossoma e anti-dsDNA foram observados em pacientes com atividade do LES descrita como forte ou moderada.
4. O anticorpo anti-nucleossoma, quando avaliado para o diagnóstico da atividade do LES, apresentou maior sensibilidade (72,7% - 100%) que os anticorpos anti-dsDNA (31,3 - 54,8%) e anti-histona (12,5 - 41,7%), em todas as doze avaliações do acompanhamento longitudinal.
5. O anticorpo anti-nucleossoma, quando avaliado para o diagnóstico da atividade do LES, apresentou menor especificidade (66,7 - 83,7%) que os anticorpos anti-dsDNA (88,7 - 100%) e anti-histona (84,3 - 98,1%) em todas as doze avaliações do acompanhamento longitudinal.

6. O anticorpo anti-nucleossoma, quando avaliado para o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica, apresentou maior sensibilidade (32 – 67,5%) que o anticorpo anti-dsDNA (16 – 35,4%) em todas as doze avaliações do acompanhamento longitudinal.
7. O anticorpo anti-nucleossoma, quando avaliado para o diagnóstico da atividade da nefrite lúpica, apresentou menor especificidade (46,2 – 67,3%) que o anticorpo anti-dsDNA (85,1 – 97,5%) em todas as doze avaliações do acompanhamento longitudinal.
8. O anticorpo anti-nucleossoma apresentou valores preditivos positivos no diagnóstico da atividade do LES no mês subsequente que variaram de 56,5 a 71,8% nas sete primeiras avaliações do estudo longitudinal e valores preditivos negativos que variaram de 83,3 a 97,6%.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBU-SAHKRA, M.; UROWITZ, M. B.; GLADMAN, D. D.; GOUGH, J.; Mortality studies in SLE: results from a single center: II. Predictor variables for mortality. **J. Rheumatol**, v. 22, p.1265, 1995.

ABRAMSON, S. B.; DOBRO, J.; EEBERLE, M. Acute reversible hypoxemia in systemic lupus erythematosus. **Ann. Inter. Med.**, v. 114, p. 941-947, 1991.

ADAMS, D. A.; GORDON, A.; MAZWELL, M. H. Azathioprine treatment fo immunological renal disease. **JAMA**, v. 199, p. 459, 1967.

AMOURA, Z.; CHABRE, H.; KOUTOUZOV, S.; CABRESPINES, A.; BACH, J-F.; JACOB, L. Nucleosome restricted antibodies are detected before anti-dsDNA and / or antihistones antibodies in serum of MRL-Mp lpr/lpr and+ / +mice and are present in kidney eluates of lupus mice with proteinuria. **Arthritis Rheum.**, v. 37, p.1684-1688, 1994.

AMOURA, Z.; KOUTOUZOV, S.; CHABRE, H.; CACOUB, P.; AMOURA, I.; MUSSET, L.; BACH, F. J.; PIETTE, C. J. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases. **Arthritis Rheum.**, v. 43, p. 76-84, 2000.

ARINGER, M.; WINTERSBERGER, W.; STEINER, C. W.; KIENER, H.; PRESTERL, E.; JALGER, V.; SMOLEN, J. S.; GRANINGER, W. B. High levels of bcl 2 protein in circulating T lymphocytes, but not in B lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 37, p.1423-1430, 1994.

ARNALICH, F.; BENITO-URBINA, S.; GONZALES GANCEDO, P.; IGLESIAS, E.; de MIGUEL, E.; GYON-BANOS, J. Inadequate production of progesterona in women with SLE. **Br. J. Rheumatol.**, v. 31, p. 247-251, 1992.

ARNETT, F. C.; REVEILLE, J. D.; WILSON, R. W. Systemic lupus erythematosus: current state of the genetic hypothesis. **Semin. Arthritis Rheum.**, v. 14, p. 24-35, 1984.

AVINA-ZUBIETA, J.; GALINDO-RODRIGUES, G. KWAR-YEUNG, L. Clinical evaluation of various selected ELISA kits for the detection of anti-dsDNA antibodies. **Lupus**, v. 4, p.370, 1995.

BALLOW, J. E.; AUSTIN, H. A. III.; MUENZ, L. R.; JOYCE, R. M.; ANTONOVICH, T. T.; KLIPPEL, J. H.; STEINBERG, A. D.; PLOTZ, P. H.; DECKER, J. L. Effect of treatment on the evolution of renal abnormalities in lupus nephritis. **N. Engl. J. Med.**, v. 311, p. 491-495, 1984.

BELL, D. A.; MORRISON, V.; Van den BYGAART, P. Immunogenic DNA related factors: nucleosomes spontaneously released from normal murine lymphoid cells stimulate proliferation and immunoglobulin synthesis of normal mouse lymphocytes. **J. Clin. Invest.**, v. 85, p. 1487-1496, 1990.

BERDEN, J. H. M. Lupus nephritis. *Nephrology Forum.* **Kydney Int.**, v. 52, p.538-558, 1997.

BLANCO-FAVELA, F.; ALVAREZ, G.; LEANOS-MIRANDA, A. Association between prolactin and disease activity in systemic lupus erythematosus. Influence of estatiscal power. **J. Rheumatol.**, v. 26, p.55-59, 1999.

BLOMBERG, J.; NIVED, O.; PIPKORN, R.; BENGTSSON, A.; ERLINGE, D.; STURFELT, G. Increased anti- retroviral antibody reactivity in sera from a defined populations of patients with SLE: Correlation with antibodies and clinical manifestations. **Arthritis Rheum.**, v. 37, p. 57-66, 1994.

BOMBARDIER, C.; GLADMAN, D. D.; UROWITZ, B. M.; CARON, D.; CHANG, H. C. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on prognosis studies in SLE. **Arthritis Rheum.**, v. 35, p. 630-640, 1992.

BOOTSMA, H.; SPRONK, T.; DERKSEN, R.; De BOER, G.; WOLTERS-DICKE, H.; HERMANS, J.; LIMBURG, P.; GMELIG-MEYLING, F.; KATER, L.; KALLENBERG, C. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus **Lancet**, v. 345, p. 1595-1599, 1995.

BOOTSMA, H.; SPRONK, P. E.; TER BORG, T. J. The predictive value of fluctuations in IgM and IgG class antidsDNA antibodies for relapses in systemic lupus erythematosus. A prospective long term observation. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 56, p. 661, 1997.

BRUNS, A.; BLASS, S.; HAUSDORF, G.; BURMESTER, R. G.; HIEPE, F. Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 43, p. 2307-2315, 2000.

BRUYN, G. A Controversies in lupus: nervous system involvement. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 54, p.159, 1995.

BURLINGAME, R. W.; RUBIN, R. L.; BALDERAS, R. S.; THEOFILOPOULOS, A. N. Genesis and evolution of antichromatin autoantibodies in murine lupus implicates T-dependent immunization with self antigen. **J. Clin. Invest.**, v. 91, p. 1687-1696, 1993.

CABRESPINES, A.; LADERACH, D.; LEBOSSÉ, C.; BACH, J. F.; KOUTOUZOV, S. Isolation and characterization of apoptotic nucleosomes, free and complexed with lupus autoantibody generated during hybridoma B cell apoptosis. **J. Autoimm.**, v. 11, p. 19-27, 1998.

CALLAHAN, L. F.; PINCUS, T. Mortality in the rheumatic diseases. **Arth. Care Res.**, v. 8, p.229, 1995.

CAMERON, S. J. Lupus nephritis. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 10, p. 413-424, 1999.

CASCIOLA-ROSEN, L.; ANHALT, G.; ROSEN, A. Autoantigens targeted in SLE are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. **J. Exp. Med.**, v. 179, p.1317, 1994.

CHABRE, H.; AMOURA, Z.; PIETTE, J. C.; GODEAU, P.; BACH, J. F.; KOUTOUZOV, S. Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 38, p. 1481-1491, 1995.

CHENG, J.; ZHOU, T.; LIU, C.; SHAPIRO, J. P.; BRAUER, M-J.; KIEFER, M. C.; BARR, P. J.; MOUNTZ, J. D. Protection from Fas mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. **Science**, v, 263, p. 1759-1762, 1994.

COHEN, M. G.; POLLARD, K. M.; WEBB, J. Antibodies to histones in systemic lupus erythematosus: prevalence, specificity, and relationship to clinical and laboratory features. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 51, p. 61-66, 1992.

COHEN, J. Apoptosis. **Immunol. Today**, v. 14, p. 126-130, 1993.

CORLEY, C. C.; LESSNER, H. E.; LARSEN, H. E.; LARSEN, W. E. Azathioprine therapy of "autoimmune" disease. **JAMA**, v. 41, p. 404, 1966.

CORNA, D.; MORIGI, M.; FACCHINETTI, D.; BERTANI, T.; ZOJA, C.; REMUZZI, G. Mycophenolate mofetil limits renal damage and prolongs life in murine lupus autoimmune disease. **Kidney Int.**, v. 51, p. 1583-1589, 1997.

CORZILIUS, M.; LIANG, H. M. Monitoring patients with SLE. In: LAHITA, R. (Ed.) **Systemic lupus erythematosus**. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1999.

COSTALLAT, L. T. L. **Contribuição ao estudo do LES. Análise clínica-laboratorial de 272 casos (1973-1992).** Campinas, 1992. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Médicas de Campinas.

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

CUTOLO, M.; SULLI, A.; SERIOLO, B.; ACCARDO, S.; MAIS, A. T. Estrogens, the immune response and autoimmunity. **Clin. Exp. Rheumatol.**, v. 13, p. 217-226, 1995.

DEAPEN, D.; ESCALATE, A.; WEINRIB, L. A revised estimate of twin concordance in SLE: A survey of 138 pairs. **Arthritis Rheum.**, v. 35, p. 311, 1992.

DESAI, D. D.; KRISHNAN, M. R.; SWINDLE, J. T.; MARION, T. N. Antigen-specific induction of antibodies against native mammalian DNA in noautoimmune mice. **J. Immunol.**, v. 26, p. 1614, 1993.

DILLON, A. M.; STEIN, H. B.; ENGLISH, R. A. Splenic atrophy in SLE. **Ann. Inter. Med.**, v. 96, p. 40-43, 1982.

DOOLEY, M. A.; NACHMAN, P. H.; SATTERLY, K. K.; et al. Mycophenylate mofetil therapy in resistant or relapsing diffuse proliferative lupus nephritis (SLE- DPGN) following cyclophosphamide (CyP) therapy. **Arthritis Rheum.**, v. 40, p. S58, 1997.

DUBOIS, E. L. (Ed). **Lupus erythematosus systemic.** Los Angeles: University of Southern California Press, 1976.

EILAT, D. Crossreactions of anti-DNA antibodies and the central dogma of lupus nephritis. **Immunol. Today**, v. 6, p. 123-127, 1985.

EMLLEN, W.; BURDICK, G. Clearance and organ localization of small DNA anti-DNA autoimmune complexes in mice. **J. Immunol.**, v. 140, p. 1816-1822, 1988.

EMLLEN, W.; NIEBUR, J.; KADERA, R. Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. **J. Immunol.**, v. 152, p. 3685-3692, 1994.

EMLLEN, W.; MANNIK, M. Clearance of circulating DNA/antiDNA immune complexes in mice. **J. Exp. Méd.**, v. 155, p. 1210-1217, 1982.

ESDAILE, J. M.; ABRAHAMOVICZ, M.; JOSEPH, L. Laboratory tests as predictors of disease exacerbations in SLE. **Arthritis Rheum.**, v. 39, p. 370, 1996.

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

FESSEL, W. J. Megadose corticosteroid therapy in systemic lupus erythematosus. **J. Rheumatol.**, v. 7, p. 486, 1980.

FRITZLER, M.; RYAN, P.; KINSELA, T. D. Clinical features of systemic lupus erythematosus patients with antihistona antibodies. **J. Rheumatol.** v. 9, p. 46, 1982.

GILKESON, G. S.; PIPPEN, A. M. M.; PISETSKY, D. S. Induction of cross-reactive anti ds DNA antibodies in pre autoimmune NZWxNZB by immunization with bacterial DNA. **J. Clin. Invest.**, v. 95, p.1398-1402, 1995.

GLUCK, T.; OERTEL, M.; REBER, T.; ZIETZ, B.; SCHULMERICH, J.; STRAUB, R. H. Altered function of hypothalamic stress axes I in patients with moderate active systemic lupus erythematosus. The hypothalamus-autonomic nervous system axis. **J. Rheumatol.**, v. 27, p.903-910, 2000.

- GOH, K. L.; WANG, F. Thyroid disorders in SLE. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 45, p. 579, 1986.
- GOOD, J. T.; KING, T. E.; ANTONY, V. B.; SAHN, S. A. Clinical features and pleural fluid characteristics with special references to pleural fluid antinuclear antibodies. **Chest**, v. 84, p. 714-718, 1983.
- GUERNE, P. A.; CARSON, D. A.; LOTZ, M. IL-6 production by human articular chondrocytes. Modulations of its synthesis by cytokines, growth factors, and hormones in vitro. **J. Immunol.**, v. 144, p. 499-505, 1990.
- GUZMAN, J.; CARDIEL, M. H.; ARCE-SALINAS, A.; SANCHES-GUERRERO, J.; ALARCON SEGOVIA, D. Measurement of disease activity in systemic lupus erythematosus. Prospective validation of the 3 clinical indices. **J Rheumatol.**, v. 19, p.1551-1558, 1992.
- HASERICK, J. R.; LEWIS, L. A.; BORTZ, D. W. Blood factor in acute disseminated lupus erythematosus. Determination of the γ -globulin as specific plasma fraction. **Am. J. Med. Sci.**, v. 219, p. 660, 1950.
- HEFENEIDER, S. H.; CORNELL, K. A.; BROWN, L. E.; BAKKE, A. C.; McCOY, S. L.; BENNETT, R. M. Nucleosomes and DNA bind to specific cell-surface molecules on murine cells and induce cytokine production. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v. 63, p. 245-251, 1992.
- HERRON, L. R.; EISENBERG, R.; ROPER, E.; KAKKANAIHAH, V. N.; COHEN, P. L.; KOTZIN, B. L. Selection of the cell receptor repertoire in Lpr mice. **J. Immunol.**, v. 151, p. 3450-3459, 1993.
- HOCHBERG, M.-C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 40, p.1725, 1997.

HOLMAN, H.; DEICHER, H. R.; KUNKEL, H. G. The LE cell and the LE serum factors. **Bull. N. Y. Acad. Med.**, v. 35, p. 409, 1959.

ISHIDA, H.; MUCHAMUEL, T.; SAKAGUCHI, S.; ANDRADRE, S.; MENON, S.; HOWARD, M. Continuous administration of anti-interleukin 10 antibodies delays onset of autoantimmunity in NZB/W F1 mice. **J. Exp. Med.**, v. 179, p. 305-310, 1994.

IZUI, S.; LAMBERT, P. H.; MIESCHER, P. A. Failure to detect circulating DNA/anti-dsDNA complexes by four radioimmunological methods in patients with systemic lupus erythematosus. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 30, p.384-392, 1977.

JACOB, L.; LETY, M. A.; LOUVARD, D.; BACH, J. Binding of a monoclonal anti-DNA autoantibody to identical protein(s) present at the surface of several human cells types involved in lupus pathogenesis. **J. Clin. Invest.**, v. 75, p. 315-317, 1985.

JERONIMO, A. L. C.; KOUTOUSOV, S.; BACH, J. F.; CAMPOS, H. H. Antinucleossomas: seu relevante papel na etiopatogenia da nefrite lúpica. In: CRUZ, J.; BARROS, R. T.; CRUZ, H. M. M. **Atualidades em Nefrologia**, 6. São Paulo: Sarvier, 2000. cap. 14.

JOMES, E.S.; PISETSKY, D, S.; KERLANDER, R. J. The clearance of a monoclonal anti-DNA antibody following administration of DNA in normal and autoimmune mice. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v. 39, p. 49-60, 1986.

LOPES-OSA, A.; JIMENES-ALONSO, J.; GARCIA-SANCHES, A.; SANCHES-TAPIA, C.; PERES, M.; PERALTA, M. I.; GUTIERREZ-CABELLO, F.; MORENTE, G. Fibromyalgia in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 7, p. 475-478, 1998.

LORENZ, H. M.; GRUNKE, M.; HYERONIMUS, T.; HERMANN, M.; KUHNEL, A.; MANGER, B.; KALDEN, J. R. In vitro apoptosis and expression of apoptosis related- molecules in lymphocytes form patients with systemis lupus erythematosus and other autoimmune diseases. **Arthritis Rheum.**, v. 40, p.306-317, 1997.

MAHER, J. F.; SCHREINER, G. E. Treatment of lupus nephritis with azathioprine. **Arch. Intern. Med.**, v. 125, p. 293, 1973.

MANOUSSAKIS, M. N.; TZIOFAS, A. G.; SILIS, M. P.; PANGE, P. G. E.; GOUDEVENOS, J.; MOUTSOPOLS, H. M. High prevalence of anticardiolipin and other antibodies in a healthy elderly population. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 69, p. 557-565,1987.

MIDDLETON, G. D.; McFFARLIN, J. E.; LIPSKY, P. E. The prevalence and clinical impact of fybromyalgia in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 37, p. 1181-1188, 1994.

MOHAN, C.; ADAMS, S.; STANIK, V. Nucleosome a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. **J. Exp. Med.**, v. 177, p. 1367-1381, 1993.

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

JERONIMO, A. L. **Anticorpos anti-nucleossomas em portadores de Lupus Eritematoso-Sistêmico.** Fortaleza, 1999. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Medicina Clínica, Universidade Federal do Ceará.

KALIYAPERUMAL, A.; MOHAN, C.; WU, W.; DATTA, S. Nucleosome peptide epitopes for nephritis-inducing T helper cells of murine lupus. **J. Exp. Méd.**, v. 183, p. 2459-2469, 1996.

KLINMAN, D. M.; STEINBERG, A. D. Inquiry into murine and human lupus. **Immunol. Rev.**, v. 144, p.157, 1995.

KNIPPING, E.; KRAMMER, P. H.; ONEL, K. B.; LEHMAN, T. J. A.; MYSLER, E.; ELKON, K. Levels of soluble Fas/APO-1CD 95 in systemic lupus erythematosus and juvenile rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 38, p. 1735-1737, 1995.

KONO, D. H.; BURLINGAME, R. W.; OWENS, D. G. Lupus susceptibility loci in new Zealand mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 91, p.101-168, 1994.

KOTZIN, B. L. Systemic lupus erythematosus. **Cell**, v. 85, p. 303-306, 1996.

KRAMERS, C.; STEMMER, C.; MONESTIER, M.; Van BRUGEN, M. C.; RIJKE, G. P. M.; HYLKEMA, M. N., et al. Specificity of monoclonal anti-nucleosome auto-antibodies derived from lupus mice. **J. Autoimmun**, v. 9, p. 723-729, 1996.

LAHITA, R. G. The role of sex hormones in systemic lupus erythematosus. **Curr. Opin. Rheumatol.**, v. 11, p. 352-356, 1999.

LAWRENCE, R. C.; HOCHBERG, M. C.; KELSLEY, J. L. Estimates of the prevalence of selected arthritic and musculoskeletal diseases in the United States. **J. Rheumatol.**, v. 14, p. 427, 1989.

LEHMAN, P.; HOLZLE, E.; KIND, P.; et al. Experimental reproduction of skin lesions in lupus erythematosus by UVA and UVB radiations. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 22, n. 2 pt. 1, p. 181, 1990.

LEUNG, W. H.; WING, K. L.; LAU, C. P.; WONG, C. K.; LIU, H. W. Association between anti phospholipid antibodies and cardiac abnormalities in patients with systemic lupus erythematosus. **Am. J. Med.**, v. 89, p. 411-419, 1990.

LEWIS, J. E.; SCHWARTZ, M. M.; KORBET, M. S. **Lupus nephritis**. New York: Oxford University Press, 1999. cap. 6, p.182.

LI, J. Z.; STEIMAN, C. R. Plasma DNA in systemic lupus erythematosus-characterization of cloned base sequences. **Arthritis Rheum.**, v.32, p. 726-733, 1989.

LLORENTE, L.; ZOU, W.; RICHARD PATIN, Y.; WIJDENES, J.; ALCOCER-VARELA, J.; MOREL-FOURRIER, B.; BROUET, J. C.; ALARCON-SEGOVIA, D.; GALANAUD, P.; EMILIE, D. P. Role of interleukin 10 in the B lymphocyte hyperactivity and autoantibody production of human systemic lupus erythematosus. **J. Exp. Méd.**, v. 181, p. 839-844, 1995.

LLOYD, W.; SCHUR, P. H. Immune complexes, complement, and antiDNA in exacerbations of SLE. **Medicine**, v. 60, p. 201, 1981.

LOSMAN, F. J.; FASY, T. M.; NOVICK, K. E.; MONESTIER, M. Monoclonal autoantibodies to subnucleosomes from a MRL/Mp(-)/+ mouse. Oligoclonality of the antibody response and recognition of a determinant composed of histones H2A,H2B, andDNA. **J. Immunol.**, v. 148, p. 1561-1569, 1992.

MADAIO, M. P.; HODDER, S.; SCHWARTZ, R. S.; STOLLAR, B. D. Responsiveness of autoimmune and normal mice to nucleic acid antigens. **J Immunol.**, v. 132, p. 872-876, 1984.

MOHAN, C.; ADAMS, S.; STANIC, V.; DATTA, S. K. Nucleosome a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. **J. Exp. Med.**, v. 177, p. 1367-1381, 1993.

MOHAN, C.; DATTA, S. K. Lupus: key pathogenic mechanisms and contributing factors. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v. 77, p. 209-220, 1995.

MONESTIER, M.; NOVICK, K. E. Specificities and genetic characteristics of nucleosome-reactive antibodies from autoimmune mice. **Mol. Immunol.**, v. 33, p. 89-99, 1996.

MORAND, E. F.; MILLER, M. H.; WHITTINGHAN, S.; LITTLEJONH, G.O. Fibromyalgia syndrome and disease activity in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 3, p. 187-191, 1994.

MORIMOTO, C.; SANO, H.; ABE, T.; HOMMA, M.; STEINBERG, A. D. Correlation between clinical activity of systemic lupus Erythematosus and the amounts of DNA/anti-dsDNA antibody imune complexes. **J. Immunol.**, v.129, p. 1960-1965, 1982.

MYSLER, E.; BINI, P.; DRAPPA, J.; RAMOS, P.; FRIEDMAN, S. M.; KRAMMER, P. H.; ELKON, K. B. The apoptosis-1/Fas protein in human systemic lupus erythematosus. **J. Clin. Invest.**, v. 93, p. 1029-1034, 1994.

NISITANIS, S.; TSUBATA, T.; MURAKAMI, M.; OKAMOTO, M.; ONJO, T. The bcl 2 gene product inhibits clonal deletion of self reactive B lymphocytes in the periphery but not in the bone marrow. **J. Exp. Med.**, v. 178, p. 1247-1254, 1993.

OLLTVAI, Z. N.; MILLIMAN, C. L.; KORSMEYER, S. J. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax that accelerates prograded cell death. **Cell**, v. 74, p. 609-619, 1993.

PFRIMER, H.-I. A.; FRANCESCANTÔNIO, L. P.; Von MÜHLEN, C. A. I Consenso Nacional para a Padronização dos Laudos de FAN em células Hep2. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 41, p. 267-273, 2001.

QUISMORIO, F. P. apud LEWIS, J. E.; SCHWARTZ, M. M.; KORBET, M. S. **Lupus nephritis**. New York: Oxford University Press, 1999. cap. 6, p.182.

RISCH, N. Searching for genes in complex disease: lessons from systemic lupus erythematosus. **J. Clin. Invest.**, v. 105, p.11, 2000.

ROPES, M. W. **Systemic lupus erythematosus**. Boston: Harvard University Press, 1976.

ROUBINIAN, J. R.; TALAL, N.; GREESPANS, J. S.; GOODMAN, J. R.; SIITERI, P. K. Effect of castration and sex hormones treatment on survival antinucleic acid antibodies and glomerulonephritis in NZB/NZW F1 mice. **J. Exp. Med.**, v.147, p. 1568-1583, 1978.

RUMORE, P. M.; STEIMAN, C. R. Endogenous circulating DNA in systemic lupus erythematosus: occurrence as multimeric complexes bound to histones. **J. Clin. Invest.**, v. 86, p. 471-477, 1990.

RUSSELL, J. H.; RUSH, B.; WEAVER, C.; WANG, R. Mature T cells of autoimmune lpr/lpr mice have a defect in antigen stimulated suicide. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 90, p. 4409-4413, 1993.

SANCHES-GUERRERO, J.; LIANG, M.; KARLSON, E. Postmenopausal estrogen therapy and the risk for developing S.L.E. **Ann. Intern. Med.**, v. 122, p. 430, 1995.

SCHUR, P. Complement and systemic lupus erythematosus. pp 245-261. In: WALLACE, D.J.; HANNAHS, H. (Ed.) **Dubois lupus erythematosus**. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997.

SCHUR, P. H. Genetics of systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 4, p. 425, 1995.

SCHWAB, E. P.; SHUMACHER, H. R. Jr.; FRENDLICH, B.; CALLEGARI, E. Pulmonary hemorrhage in systemic lupus erythematosus. **Sem. Arthritis Rheum**, v. 23, p. 8-15, 1994.

SEGAL, A. M.; CALABRESE, L. H.; AHMAD, M.; TUBBS, R. R.; WHITE, C. S. The pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. **Semin. Arthritis Rheum.**, v. 14, p. 202-224, 1985.

SILVESTRIS, N.; LUCARELLI, A.; D'ELIA, F.; TARANTINO, G.; FATA, L. Indici di attività di malattia nel Lupus Eritematoso Sistemico. **Minerva Méd**, v. 90, p. 165-174, 1999.

SLATER, C. A. Antinuclear antibody testing. A study of clinical utility. **Arch. Intern. Med.**, v.156, p.1421, 1996.

STEINBERG, A. D. Insights into the basis of systemic lupus. **J. Autoimm.**, v. 8, p. 771, 1995.

SUZUKI, T.; SUZUKI, N.; ENGLEMAN, E. G.; MIZUSHIMA, Y.; SAKANE, T. Low serum levels of dehydroepiandrosterone may cause deficient IL2 production by lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus SLE. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 99, p. 251-255, 1995.

SWAAK, A. J. G.; GROENWOLD, J.; BRONSVELD, W. Predictive value of complement profiles and anti-dsDNA in systemic lupus erythematosus. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 33, p. 359, 1986.

SWAAK, A. J.; AARDEN, L. A.; STATIUS van Eps, L. W.; FELTKAMP, T. E. Anti-dsDNA and complement profiles as prognostic guides in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.**, v. 22, p. 226-235, 1979.

SYMMONS, D. P. M.; COPOCK, J. S.; BACON, P. A.; BRESNIHAN, B.; ISENBERG, D. A.; MADDISON, P. et al. Development and assessment of a

computerized index of clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. **Quart. J. Med.**, v. 11, p. 927-937, 1998.

SYMMONS, D. P. M. Lupus around the world. Frequency of people of African origin. **Lupus**, v. 4, p.176, 1995.

TAKAHASHI, T.; TANAKA, M.; BRANAN, C. I.; JENKINS, N. A.; COPELAND, N. G.; SUDA, T., et al. Generalized lymphoproliferative disease in mice, caused by a point mutation in the Fas ligand. **Cell**, v. 76, p. 969-976, 1994.

TAN, E. M. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for all biology. **Adv. Immunol.**, v. 44, p. 93-151, 1989.

TAX, W. J. M.; KRAMERS, C.; Van BRUGEN, M. C. J.; BERDEN, J. H. M. Apoptosis, nucleosomes, and nephritis in systemic lupus erythematosus. **Kidney Int.**, v. 48, p. 666-673, 1995.

Ter BORG, E. J.; HORTZ, G.; HUMMEL, E. J.; LIMBURG, P. C.; KALLEMBERG, C. G. M. Measurement of increase in anti-double stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus: a long term, prospective study. **Arthritis Rheum.**, v. 33, p. 634-643, 1990.

TERMAAT, R. M.; ASSMANN, K. J.; DIJKMAN, H. B.; Van GOMPEL, F.; SMEENK, R. J.; BERDEN, J. H. Anti-dsDNA antibodies can bind to the glomerulus via two distinct mechanisms. **Kidney Int.**, v. 42, p. 1363-1371, 1992.

THEOFILOPOULOS, N. A. The basis of autoimmunity 2. Genetic predisposition. **Immunol. Today**, v. 18, p. 150, 1995.

TRAYNOR, A. E.; SCHRIEDER, J.; ROSA, R. M.; CHENG, D.; STEFKA, J.; MUJAIS, S.; BAKER, S.; BURT, R. K. Treatment of severe systemic lupus erythematosus with high-dose chemotherapy and haematopoietic stem cell transplantation : a phase I study. **Lancet**, v. 356, p. 701-707, 2000.

TSAO, B. P.; CANTOR, R. M.; KALUNIAN, K. C. Evidence for linkage of a candidate chromosoma 1 region to human systemic lupus erythematosus. **J. Clin. Invest.**, v. 99, p. 725, 1997.

UROWITZ, M. B.; GLADMAN, D. D.; TOZMAN, E. C. S.; GOLDSMITH, C. H. The Lupus activity criteria count. **J. Rheumatol.**, v. 11, p. 783-787, 1984.

Van BRUGEN, M. C. J.; KRAMERS, C.; WALGREEN, B.; ELENA, J. D.; KALLENBERG, C. G. M.; SMEENK, R. J. T.; ASMANN, K. J. M.; MULLER, S.; MONESTIER, M.; BERDEN, J. H. M. Nucleosomes and histonas are present in glomerular deposits in human lupus nephritis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 12, p. 57-66, 1997.

Van HOUTEN, N.; BUDD, R. Accelerated programmed cell death of MRL-lpr-lpr T lymphocytes. **J. Immunol.**, v. 149, p. 2513-2517, 1992.

Van MULHEN, C.; TAN, E. M. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. **Sem. Arthritis Rheum.**, v. 24, p.323-358, 1995.

WALLACE, D. J.; DUBOIS, E. L. Clinical and laboratory manifestations of systemic lupus erythematosus. In: **Dubois lupus erythematosus**. 3th ed. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 317-449.

WALZ LeBLANC, B. A.; UROWITZ, M. B; GLADMAN, D. D. Serologically active clinically quiescent systemic lupus erythematosus- predictors of clinical flares. **J. Rheumatol.**, v. 21, p. 2239-2241, 1994.

WATANABE-FUKUNAGA, R.; BRANAN, C. I.; COPELAND, N. G.; JENKINS, N.; NAGATE, S. Lymphoploriferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. **Nature**, v. 356, p. 314-317, 1992.

WEENS, J. H.; SCHWARTZ, R. S. Etiological factors in hemolytic anemia. **Sem. Hematol.**, v. 7, p. 303, 1974.

WIIK. The value of specific ANA determination in rheumatology, Update 1986. *Allergy*, v. 42, p. 241, 1987.

ZIZIC, T. M.; CLASSEN, J. N.; STEVENS, M. B. Acute abdominal complications of systemic lupus erythematosus and polyarteritis nodosa. *Am. J. Méd.*, v. 73, p. 525-531, 1982.