



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VALESKA QUEIROZ DE CASTRO

**INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL EM
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ATENDIDOS EM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE FORTALEZA - CEARÁ**

FORTALEZA

2021

VALESKA QUEIROZ DE CASTRO

**INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL EM
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ATENDIDOS EM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE FORTALEZA - CEARÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Junior

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C353i Castro, Valeska Queiroz de.
Investigação de Novos Biomarcadores de Lesão Renal em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Atendidos em um Hospital Universitário de Fortaleza - Ceará / Valeska Queiroz de Castro. – 2021. 56 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Junior.
1. Lúpus Eritematoso Sistêmico, 2. Biomarcadores. 3. Injúria Renal Aguda. I. Título.

CDD 615

VALESKA QUEIROZ DE CASTRO

**INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL EM
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ATENDIDOS EM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE FORTALEZA - CEARÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia Clínica.

Aprovada em ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Geraldo Bezerra Silva Junior (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Alice Maria Costa Martins
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Paula Frassinetti Castelo Branco Camurça Fernandes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por permitir que mais este sonho se realize em minha vida, por todas as bênçãos e força durante toda minha caminhada.

Agradeço aos meus pais, Gildenor Castro e Maria Aldira, que sempre estiveram ao meu lado, acreditando em mim e me incentivando.

Aos meus irmãos, Jalles Queiroz e Veruska Castro, pelo amor, torcida e companheirismo a mim ofertados durante toda minha vida.

Gostaria de agradecer a minha família que sempre acreditou em mim. Ao meu marido, ao meu filho Matheus, e às minhas filhas Mirella e Millena que sofreram junto comigo, que ofereceram toda ajuda necessária, que seguraram minha mão e que me apoiaram em tudo, o tempo todo.

Ao meu orientador pela paciência e por todos os ensinamentos, e ao Dr. Gdayllon, que esteve durante todo o tempo sempre pronto e disposto a colaborar, e que sei que muito do que consegui foi por ajuda dele.

Ao meu amigo Pacelli que iniciou essa jornada no Mestrado comigo e que esteve ao meu lado em todos os momentos, bons e ruins, oferecendo seu ombro amigo e suas palavras de incentivo.

A todos os outros amigos e colegas de profissão pela paciência e apoio, bem como a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho.

RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune que pode levar ao comprometimento de múltiplos órgãos, incluindo os rins. O diagnóstico precoce de lesão renal pode evitar agravos à saúde do paciente além de proporcionar uma melhor conduta clínica. O presente estudo teve como objetivo avaliar novos biomarcadores e biomarcadores já conhecidos de lesão renal em pacientes com LES a fim de prever precocemente disfunção renal nesses pacientes. **Metodologia:** Foi realizado um estudo do tipo transversal, no período de agosto de 2018 a julho de 2020, no ambulatório de reumatologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, localizado na cidade de Fortaleza-CE. Foram colhidas amostras de sangue e urina de pacientes com diagnósticos de LES, bem como realizada a aplicação de questionário sociodemográfico específico. Pacientes com diagnóstico de LES maiores de 18 anos de ambos os sexos e sem doença renal prévia foram incluídos. A função renal foi avaliada usando creatinina sérica, ureia e taxa de filtração glomerular estimada (TFG). A nefrina urinária e os biomarcadores vasculares VCAM-1, angiotensina-2 e syndecan-1 foram quantificados por ELISA. **Resultados:** Em relação aos biomarcadores VCAM-1 e Syndecan-1, pacientes com nefrina detectável, apresentaram maior valor médio (1.151,58; $p = 0,002$ e 87,5; $p > 0,001$, respectivamente). Os demais parâmetros laboratoriais avaliados apresentaram valores de normalidade, inclusive os resultados de ureia e creatinina, considerados como marcadores tradicionais de comprometimento renal. **Conclusão:** Não foi observada associação entre nefrinúria e proteinúria, TFG e creatinina sérica em pacientes com LES sem nefrite lúpica. Porém, o estudo apresentou associação entre nefrinúria e os biomarcadores VCAM-1 e syndecan-1, que são biomarcadores vasculares envolvidos na disfunção endotelial. O uso de novos biomarcadores de lesão renal precoce na prática clínica, de modo associado a outros parâmetros envolvidos na fisiopatologia e no prognóstico do LES, podem facilitar o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de tratamento e monitoramento de nefropatias associadas ao LES, bem como contribuir para a prevenção de agravos ao quadro clínico dos pacientes.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico. Biomarcadores. Lesão Renal Aguda.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that can lead to the involvement of multiple organs, including the kidneys. Early diagnosis of kidney injury can prevent health problems in addition to providing better clinical management. The present study aimed to evaluate new biomarkers and biomarkers already known for kidney injury in patients with SLE in order to predict kidney dysfunction early in these patients. **Methods:** A cross-sectional study was carried out, from August 2018 to July 2020, at the rheumatology outpatient clinic of the University Hospital Walter Cantídio, in Fortaleza-CE. Blood and urine samples were collected from patients diagnosed with SLE, as well as the application of a specific sociodemographic questionnaire. Patients diagnosed with SLE older than 18 years of both sexes and without previous kidney disease were included. Renal function was assessed using serum creatinine, urea and estimated glomerular filtration rate (eGFR). Urinary nephrin and vascular biomarkers VCAM-1, angiotensin-2 and syndecan-1 were quantified by ELISA. **Results:** Regarding the VCAM-1 and Syndecan-1 biomarkers, patients with detectable nephrin had a higher mean value (1,151.58; $p = 0.002$ and 87.5; $p > 0.001$, respectively). The other laboratory parameters evaluated showed normal values, including the results of urea and creatinine, considered as traditional markers of kidney injury. **Conclusion:** There was no association between nephrinuria and proteinuria, GFR and serum creatinine in SLE patients without lupus nephritis. However, the study showed an association between nephrinuria and the biomarkers VCAM-1 and syndecan-1, which are vascular biomarkers involved in endothelial dysfunction. The use of new biomarkers of early kidney injury in clinical practice, in association with other parameters involved in the pathophysiology and prognosis of SLE, can facilitate the development of more effective strategies for the treatment and monitoring of SLE-associated nephropathies, as well as contributing to the prevention of injuries to the patients' clinical condition.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. Biomarkers. Acute Kidney Injury.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Evolução temporal da associação entre a avaliação do risco e a detecção precoce da injúria renal aguda	23
Figura 2 – Interior do glomérulo, evidenciando endotélio, membrana basal e podócitos	26
Figura 3- Estrutura do podócitos, proteínas no seu interior e nefrina no diafragma de filtração glomerular	27
Figura 4 - Correlação de Pearson entre os níveis de biomarcadores dos pacientes acompanhados (n=58)	38
Figura 5 - Correlações significativas entre nefrina detectável e indetectável versus VCAM-1 e Syndecan-1	39
Quadro 1- Biomarcadores de lesão renal	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da glomerulonefrite do lúpus eritematoso sistêmico segundo a International Society of Nephrology/Renal Pathology Society 2003	20
Tabela 2 – Dados sociodemográficos e econômicos dos pacientes acompanhados (n=58)	34
Tabela 3 – Avaliação laboratorial, da função renal e dos biomarcadores dos pacientes (n=58)	36
Tabela 4 - Pesquisa de nefrina urinária nos pacientes acompanhados (n=58)	37
Tabela 5 - Correlação de Pearson entre os níveis de nefrina urinária e outros biomarcadores nos pacientes acompanhados (n=58)	38

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	American College of Rheumatology
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CAM	Moléculas de adesão celular
DRC	Doença renal crônica
FAN	Fator anti-núcleo
FOXP3	Forkhead box P3
GN	Glomerulonefrite
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
ICAM1	Molécula de adesão intercelular 1
IFI	Imunofluorescência indireta
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-18	Interleucina 18
IRA	Injúria renal aguda
ISN	International Society of Nephrology
ISKDC	International Study of Kidney Diseases in Children
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LFABP	Liver fatty acid binding protein
LRA	Lesão renal aguda
MCP1	Monocyte chemoattractant protein 1
NGAL	Neutrophil gelatinase associated lipocalin
OMS	Organização Mundial da Saúde
PECAM1	Molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias-1
RPS	Renal Pathology Society
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF α	Fator de Necrose Tumoral alfa
VCAM1	Molécula de adesão vascular 1
VEus	Vesículas extracelulares urinárias.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Lúpus Eritematoso Sistêmico	12
1.2	Comprometimento renal	18
2	JUSTIFICATIVA	28
3	OBJETIVOS	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	Desenho e período do estudo	29
4.2	Local do estudo	29
4.3	Critérios de inclusão	30
4.4	Critérios de exclusão	30
4.5	Protocolo do estudo	30
4.6	Análise estatística	33
4.7	Aspectos éticos	34
5	RESULTADOS	34
5.1	Dados demográficos dos participantes do estudo	34
5.2	Avaliação laboratorial dos participantes do estudo	36
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	45
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	52
	ANEXO B – QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO E ECONÔMICO	54
	ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DO HUWC	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune, inflamatória, sistêmica e crônica, caracterizada pela ativação do sistema imunológico com respostas exageradas de células B e células T e perda de tolerância imunológica contra autoantígenos. A produção e a eliminação defeituosa de anticorpos, a circulação e a deposição de imunocomplexos nos tecidos e a ativação do complemento e das citocinas contribuem para as manifestações clínicas que variam de fadiga leve e dor nas articulações a lesões graves em órgãos com risco de vida (GALINDO; VEIGA, 2010; KIRIAKIDOU; CHING, 2020).

Sua etiopatogenia é multifatorial e está associada a fatores genéticos, epigenéticos, hormonais, ambientais e imunológicos, que contribuem para o desequilíbrio do sistema imune, acarretando a produção de autoanticorpos contra proteínas nucleares, que podem potencializar a gravidade da doença (SKARE *et al.*, 2016).

O LES é uma doença polimórfica com ampla variabilidade de fenótipos, níveis de gravidade e curso clínico, podendo apresentar períodos de atividade e de remissão. A maioria dos acometidos tem um curso benigno, porém a sobrevivência global é menor quando comparada à da população geral, com razão de mortalidade padronizada de 2,4 a 6,4 (KLUMB *et al.*, 2015).

Sua etiopatogenia ainda não foi totalmente elucidada, mas sabe-se que diferentes eventos imunológicos podem culminar numa via final comum - a produção de autoanticorpos dirigidos a antígenos nucleares - resultando em manifestações clínicas e o envolvimento de múltiplos órgãos e sistemas, podendo cursar com sintomas constitucionais, como: artrite, serosite (pleurite e pericardite, particularmente), nefrite, vasculite, miosite, manifestações mucocutâneas, hemocitopenias imunológicas, quadros neuropsiquiátricos, hiperatividade reticuloendotelial e pneumonite (ADLER; COHEN; GLASSOCK, 1996; CAMERON, 1997; WALLACE; GLADMAN, 2019).

1.1.1 Epidemiologia

O LES afeta homens e mulheres de todas as raças e em qualquer idade, mas é predominante em mulheres durante a fase reprodutiva e na população negra e mestiça. A incidência estimada em diferentes locais do mundo é de aproximadamente 1 a 22 casos para

cada 100.000 pessoas por ano, e a prevalência pode variar de 7 a 160 casos para cada 100.000 pessoas. No Brasil, estima-se uma incidência de LES em torno de 8,7 casos para cada 100.000 pessoas por ano, de acordo com um estudo epidemiológico realizado na região Nordeste (VILAR, SATO, 2002; BORBA, BRENOL, LATORRE, 2008; VARGAS, ROMANO, 2009; PONS-ESTEL, ALARCON, SCOFIELD, 2010).

A mortalidade dos pacientes com LES está relacionada a atividade inflamatória da doença, especialmente quando há acometimento renal e do sistema nervoso central, e pode ocorrer em diferentes estágios conforme a evolução da doença. Quando no início, os óbitos são relacionados ao risco maior de infecções graves decorrentes da imunossupressão. Já nos estágios mais avançados, a mortalidade está relacionada às complicações da própria doença e do tratamento, sendo as desordens cardiovasculares um importante fator. No Brasil, foi identificada uma taxa de mortalidade de 4,76 mortes a cada 105 habitantes, sendo a região Nordeste a que apresentou a menor taxa, com 3,69/105 habitantes (COSTI *et al.*, 2017).

1.1.2 Patogênese

O LES é caracterizado por vários defeitos no sistema imune por perda da autotolerância, que resultam em um processo que começa na quebra da homeostasia celular e culmina com a produção anormal de autoanticorpos, cujo aparecimento precede em anos os primeiros sintomas da doença (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Do ponto de vista genético, é bem conhecida uma alta prevalência de LES entre gêmeos monozigóticos (29 vezes maior que a da população geral) e nos parentes de primeiro grau (risco 17 vezes maior de desenvolver a doença). A associação entre LES e deficiência de algumas proteínas do sistema complemento, especialmente C1q e C4, é bem determinada. Estudos recentes de avaliação genômica identificaram cerca de 50 *loci* com polimorfismos relacionados a uma maior predisposição (TSOKOS *et al.*, 2016).

O papel patogênico dos hormônios baseia-se na hipótese de imunomodulação. Os estrógenos têm papel estimulador de várias células imunes, como macrófagos, linfócitos T e B, favorecendo a adesão dos mononucleares ao endotélio vascular, estimulando a secreção de algumas citocinas, como interleucinas-1 e expressão de moléculas de adesão e MHC (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Entre os fatores ambientais, destaca-se o papel da luz ultravioleta, uma vez que a exposição solar determina a apoptose de queratinócitos com subsequente expressão de fosfolipídeos, citocinas, macrófagos e o processamento de antígenos, que desencadeiam uma

resposta imune inflamatória (TSOKOS *et al.*, 2016).

Entre os distúrbios da regulação imune, destacam-se: aumento da expressão de INF α , especialmente durante os períodos de atividade inflamatória; redução das células T citotóxicas; aumento dos linfócitos T CD4+ e ativação policlonal de células B autorreativas (SILVARIÑO *et al.*, 2015; TSOKOS *et al.*, 2016).

1.1.3 Diagnóstico

O diagnóstico de LES baseia-se na combinação de manifestações clínicas e alterações laboratoriais, desde que outras doenças, como infecções virais (citomegalovírus, Epstein-Barr, hepatites), outras doenças autoimunes (artrite reumatoide, síndrome de Sjögren) e hematológicas (púrpura trombocitopênica) sejam excluídas (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Para o diagnóstico de LES, é fundamental a realização de anamnese e exame físico completos e de alguns exames laboratoriais, que são importantes não só para o diagnóstico mas, também, para o acompanhamento dos pacientes, propiciando a identificação de anormalidades imunológicas, acometimento de órgãos/sistemas e alterações inflamatórias, a saber: hemograma; contagem de reticulócitos; teste de Coombs direto (detecção de autoanticorpos); velocidade de hemossedimentação (VHS); proteína C reativa; eletroforese de proteínas; fator antinuclear (FAN); investigação de autoanticorpos (anti-dsDNA, anti-Sm, anti-P, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB e anticorpos antifosfolípídeos SAF) e do complemento (C3, C4 e hemolítico total) (BRASIL, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

O exame do sedimento urinário (proteinúria, hematúria, leucocitúria, cilindrúria), biópsia renal (classe histológica da nefrite), enzimas musculares (miosite) e hepáticas (hepatite, toxicidade medicamentosa), ressonância magnética (atividade do sistema nervoso central e infecção) e eletroneuromiografia (neuropatia periférica) são exames que refletem o envolvimento de órgãos/sistemas (GALINDO, VEIGA, 2010; BRASIL, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Quanto às manifestações clínicas, o diagnóstico do LES é estabelecido pelos critérios de classificação propostos pelo American College of Rheumatology (ACR) em 1982 e revisados em 1997, aceitos universalmente, que se baseia na presença de pelo menos 4 dos 11 critérios de classificação, em qualquer momento da vida dos pacientes, conforme descritos abaixo (HOCHBERG, 1997; BRASIL, 2013):

1. Eritema malar: eritema fixo, plano ou elevado nas eminências malares, tendendo a poupar a região nasolabial.

2. Lesão discoide: lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia.

3. Fotossensibilidade: eritema cutâneo resultante de reação incomum ao sol, por história do paciente ou observação do médico

4. Úlcera ou nasofaríngea: geralmente não dolorosa, observada pelo médico.

5. Artrite: artrite não erosiva envolvendo 2 ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor à palpação, edema ou derrame.

6. Serosite: pleurite – história convincente de dor pleurítica ou atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural; ou pericardite – documentada por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico.

7. Alteração renal: proteinúria persistente ($> 0,5$ g/dia ou acima de 3+, se não quantificada); ou cilindúria anormal.

8. Alteração neurológica: convulsão ou psicose. Considerar a ausência de fármacos implicados ou alterações metabólicas conhecidas (por exemplo, uremia, cetoacidose, distúrbios hidroeletrólíticos).

9. Alterações hematológicas: anemia hemolítica com reticulocitose ou leucopenia ($< 4.000/\text{mm}^3$ em duas ou mais ocasiões) ou linfopenia ($< 1.500/\text{mm}^3$ em duas ou mais ocasiões); ou trombocitopenia ($< 100.000/\text{mm}^3$ na ausência de uso de fármacos causadores).

10. Alterações imunológicas: presença de anti-DNA nativo ou de anti-Sm ou achados positivos de anticorpos antifosfolípídios baseados em concentração sérica anormal de anticardiolipina IgG ou IgM, em teste positivo para anticoagulante lúpico, usando teste-padrão ou em VDRL falso-positivo, por pelo menos 6 meses e confirmado por FTA-Abs negativo.

11. Anticorpo/fator antinuclear (FAN): título anormal de FAN por imunofluorescência ou método equivalente em qualquer momento, na ausência de fármacos sabidamente associados ao lúpus induzido por fármacos.

A maioria dos pacientes ($> 98\%$) tem o teste de FAN positivo em títulos altos, em particular durante os períodos de atividade da doença. Ressalta-se que a positividade desse exame não é específica do LES e pode ocorrer em outras doenças autoimunes, infecciosas e neoplásicas. Dessa forma, o teste é relevante pelo seu alto valor preditivo negativo (VARGAS, ROMANO, 2009; BRASIL, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

1.1.4 Tratamento

Em decorrência da grande variabilidade fenotípica e das manifestações clínicas, o tratamento de pessoas com LES requer, inicialmente, a definição da extensão e gravidade da doença. Assim, é recomendado que o tratamento envolva a participação de uma equipe multidisciplinar, com diversas especialidades médicas, psicólogos, fisioterapeutas e farmacêuticos, além de uma estrutura de apoio hospitalar e de investigação complementar (BRASIL, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Os benefícios esperados com o tratamento são o controle da atividade da doença (rápido e persistente), que pode ser avaliada pelo SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), e o controle e impedimento do surgimento de fatores de risco para complicações crônicas do LES (BRASIL, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Além da avaliação da atividade da doença, deve-se considerar a identificação de fatores associados à reativação, como a exposição à irradiação UV, infecções superpostas, distúrbios emocionais, que deverão ser evitados. Outro fator que deve ser constantemente avaliado é a adesão ao tratamento, sendo uma importante causa do não controle da doença. Nesse contexto, é importante a educação do paciente e da família sobre a provável evolução natural da doença e potencial gravidade dos acometidos, além da presença de comorbidades e danos associados ao LES e/ou tratamento (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Segundo o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o LES (BRASIL, 2013), medidas terapêuticas não medicamentosas devem ser enfatizadas para melhora dos distúrbios imunológicos da doença, redução das comorbidades e da mortalidade, tais como:

- realizar orientação dietética para prevenção e controle de osteoporose, dislipidemia, obesidade e hipertensão arterial sistêmica (estimular uma dieta balanceada, com baixo teor de sódio, carboidratos e lipídios, especialmente aos usuários crônicos de glicocorticóides; considerar a suplementação de cálcio e vitamina D para todos os pacientes);

- estimular a realização de atividade física regular, objetivando a redução da fadiga e do risco cardiovascular, e proteção da massa óssea;

- orientar sobre proteção contra luz solar e outras formas de irradiação ultravioleta, por meio de barreiras físicas, como roupas adequadas e uso de chapéus, e evitar exposição direta ou indireta ao sol e a lâmpadas fluorescentes ou halógenas;

- indicar avaliação oftalmológica a cada 6 a 12 meses, especialmente para pacientes em uso de antimaláricos;

- realizar orientação e estimular a atualização do calendário de vacinação anual. Especialmente quando em uso de imunossupressores, devem-se evitar vacinas com vírus vivos atenuados;

-prestar orientações sobre anticoncepção. Recomendar evitar a concepção nos períodos de atividade da doença ou durante o tratamento com medicamentos contraindicados na gestação.

O tratamento medicamentoso requer a definição de que os sintomas apresentados são exclusivos do LES e não de complicações associadas, como infecções. O planejamento terapêutico e o estabelecimento do prognóstico da doença deve ser feito de modo específico, ou seja, para cada paciente, individualmente, podendo o LES ser classificado em leve, moderado e grave, cuja divisão, ainda que imprecisa, permite a decisão da terapia medicamentosa a ser utilizada (BRASIL, 2013; GORDON *et al.*, 2018).

Entre os medicamentos utilizados podem ser citados os antimaláricos (preferencialmente, a hidroxicloroquina), que deve ser prescrita desde o diagnóstico independente da gravidade da doença, e os glicocorticóides, independentemente do órgão ou sistema afetado pela doença. Os benefícios da hidroxicloroquina incluem a melhora clínica consistente, redução da atividade da doença, reativações menos frequentes e redução das doses de corticosteróides (BORBA *et al.*, 2008; SHINJO *et al.*, 2010).

Além dos antimaláricos, os glicocorticóides são os fármacos mais utilizadas no tratamento do LES, e as doses diárias variam de acordo com a gravidade de cada caso, devendo serem utilizados na menor dose efetiva para o controle da atividade da doença e, assim que possível, reduzidos gradualmente até a suspensão, uma vez que seu uso é o principal determinante de dano orgânico permanente a longo prazo, sendo evidenciado o aparecimento de catarata, osteoporose, osteonecrose e aterosclerose acelerada (BRASIL, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Para manifestações leves e/ou moderadas, além da hidroxicloroquina, está indicada a prednisona, em associação com metotrexato, leflunomida e azatioprina, se necessário. Para os casos refratários, outros agentes imunossupressores e/ou imunomoduladores podem ser indicados, como micofenolato de mofetila ou sódico, ciclofosfamida, dapsona e talidomida. Os imunossupressores são bastante utilizados no tratamento de LES grave, principalmente quando há comprometimento renal, no qual sua função é inibir a replicação de células efectoras do sistema imune (BRASIL, 2013; COSTA, COIMBRA, 2014; TUNNICLIFFE *et al.*, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

A glomerulonefrite (GN) é a consequência mais relacionada ao uso de doses elevadas de corticoides e imunossupressores, sendo a condição que mais requer internação hospitalar e o principal fator relacionado ao aumento da mortalidade. A progressão para doença renal crônica (DRC) estabelecida ocorre em 10% a 30% dos pacientes, principalmente nos que

apresentam glomerulonefrite proliferativa (NIVED *et al.*, 2013; KLUMB *et al.*, 2015).

1.2 Comprometimento renal no Lúpus Eritematoso Sistêmico

Até 74% dos pacientes com LES apresentarão alguma manifestação renal durante o curso de sua doença, seja síndrome nefrítica ou nefrótica, com alterações tubulares, intersticiais, vasculares e glomerulares, cuja gravidade depende dos critérios clínicos de diagnóstico, indicações de biópsia e/ou padrão histopatológico e do seguimento dos pacientes (KLUMB *et al.*, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

O envolvimento renal é uma manifestação comum de órgão-alvo e pode ter um prognóstico ruim devido ao alto risco de falência de órgãos. A doença renal em estágio terminal de lúpus está associada a pior sobrevida entre pacientes em diálise e transplante em comparação com outras causas de doença renal terminal (ZHANG *et al.*, 2016; ALMAANI, MEARA, ROVIN, 2017; KIRIAKIDOU, CHING, 2020).

O comprometimento renal em portadores de LES é considerado causa de agravamento de morbidade e mortalidade, uma vez que complicações como hipertensão arterial, síndrome nefrótica e insuficiência renal podem estar associados ao quadro clínico (WOOLF *et al.*, 1979; KLUMB *et al.*, 2015). O envolvimento renal pode simular o padrão de qualquer glomerulonefrite primária, podendo serem observadas lesões inter-glomérulos ou mesmo intra-glomérulos dentro de uma amostra. As lesões glomerulares podem, ainda, estar acompanhadas de lesões túbulo-intersticiais e vasculares (SILVA, 1983; ANTONOVICH, 1995; APPEL, D'AGATI, 1995; D'AGATI, 1998; FERLUGA *et al.*, 2000; GLASSOCK, 2004).

De fato, o envolvimento glomerular é determinante da maior parte dos sinais e sintomas da nefrite lúpica, cuja prevalência é de 28% a 74%. À semelhança das manifestações em outros sistemas, a nefrite lúpica também apresenta graus distintos de gravidade, com períodos de atividade e remissão, que determinam a escolha dos agentes terapêuticos a serem empregados (CERVERA, KHAMASHTAMA, HUGHES, 2009; HOUSSIAU, LAUWERYS, 2013; SILVARIÑO, OTTATI, NOBOA, 2015; KLUMB *et al.*, 2015).

Quanto à patogenia da nefrite lúpica, a deposição de imunocomplexos, a ativação do complemento, linfócitos B e T e de múltiplas citocinas estão envolvidos, podendo se manifestar clinicamente com qualquer síndrome nefrológica, desde alterações mínimas do sedimento urinário até doença renal crônica extrema. Uma coorte prospectiva latino-americana que incluiu 1214 pacientes com LES, observou envolvimento renal em 51,7% destes, evidenciado como

proteinúria persistente e/ou alterações do sedimento urinário (46%), síndrome nefrótica (6,7%), insuficiência renal aguda (3,2%) e insuficiência renal crônica (1,7%) (SILVARIÑO, OTTATI, NOBOA, 2015; PONS-ESTEL *et al.*, 2004).

O maior desafio para o tratamento da nefrite lúpica é sua identificação precoce e de suas reativações, aspectos claramente associados à maior chance de remissão. Para os pacientes que não tiverem obtido resposta completa ou parcial em 6 meses da indução com algum esquema de ciclofosfamida ou micofenolato de mofetila, deve-se considerar a troca de um pelo outro ou a substituição por um inibidor de calcineurina ou, ainda, pelo rituximabe. Os inibidores da enzima conversora da angiotensina e/ou bloqueadores dos receptores de angiotensina são recomendados como antiproteinúricos para todos os pacientes, exceto quando há contraindicações (KLUMB *et al.*, 2015).

Quanto ao diagnóstico da nefrite lúpica, na prática clínica, nem sempre é possível fazer a avaliação histopatológica/biópsia renal, que permite o reconhecimento de marcadores diagnósticos e prognósticos que podem influenciar a escolha terapêutica. Para os pacientes não submetidos à biópsia renal, e para todos ao longo da evolução, recomenda-se o uso de marcadores clínicos e laboratoriais que auxiliam a caracterização da gravidade e atividade do quadro, inferindo uma provável classe histopatológica, e que podem orientar o uso dos agentes imunomoduladores e/ou imunossupressores. O objetivo principal do tratamento é alcançar a remissão completa, que está associada a bom prognóstico em longo prazo. No entanto, apesar dos esquemas terapêuticos atuais, menos de 50% dos pacientes com nefrite lúpica obtém remissão completa após os primeiros seis meses de tratamento (NIVED *et al.*, 2013; KLUMB *et al.*, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Na maioria dos casos de nefrite lúpica, a clínica, a sorologia e os testes laboratoriais não conseguem prever, de forma precisa, os achados histológicos e nem diferenciar outras possíveis causas de doença renal. Por outro lado, esse conjunto de dados pode ser muito útil no acompanhamento clínico da nefrite e, em especial, pode auxiliar no diagnóstico de atividade renal (HAHN *et al.*, 2012; BERTSIAS *et al.*, 2012).

Pacientes com LES devem ser monitorizados com exames para avaliação de envolvimento renal em intervalos regulares de tempo. O diagnóstico de NL deve ser suscitado na presença de alterações em exame de análise urinária (sedimento com hematuria, leucocitúria ou cilindros celulares), na presença de proteinúria, alterações da creatinina sérica ou da estimativa da taxa de filtração glomerular (GASPARIN, 2019).

O sedimento urinário ativo, definido pela presença de hematuria (especialmente se com dismorfismo de padrão glomerular), leucocitúria e cilindros celulares, é um dos parâmetros

mais importantes para caracterização de glomerulonefrite em atividade. A proteinúria, medida em 24 horas ou inferida pela relação proteinúria/creatininúria (R P/C), em uma amostra isolada de urina, também pode indicar atividade inflamatória. A redução da filtração glomerular, a proteinúria nefrótica e a presença de hipertensão arterial sistêmica sugerem maior gravidade e pior prognóstico (KLUMB *et al.*, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

A classificação histológica da nefrite lúpica seguida atualmente é a proposta pela International Society of Nephrology e pela Renal Pathology Society - ISN/RPS 2003 (Tabela 1). Segundo essa normatização, devem ser avaliados o glomérulo e a região túbulo-intersticial, com descrições de atividade e cronicidade, além do componente vascular, que habitualmente está associado à síndrome do anticorpo antifosfolípido. Uma amostra é considerada adequada quando tiver mais de oito glomérulos e recomenda-se imunofluorescência ou imunohistoquímica para a identificação de depósitos de imunoglobulinas e complemento. Se possível, a microscopia eletrônica também deve ser feita, pois facilita a avaliação de lesões proliferativas e membranosas (HAHN *et al.*, 2012; BERTSIAS *et al.*, 2012; WEENING *et al.*, 2004a; WEENING *et al.*, 2004b; SOARES; TELLES; MOURA, 2005).

De acordo com a classificação ISN/RPS 2003, as classes I e II abrangem as glomerulonefrites cujo depósito de imunocomplexos atinge o mesângio, sem ou com hiper celularidade mesangial, respectivamente. A glomerulonefrite focal (Classe III) compromete menos de 50% do total de glomérulos enquanto a classe IV envolve $\geq 50\%$ de todos os glomérulos e é ainda subdividida em acometimento segmentar ou global. A classe V compreende a glomerulonefrite membranosa, que pode ocorrer em combinação às classes III ou IV e evidenciar esclerose, e a classe VI, a esclerose glomerular. As classes de glomerulonefrite devem ser identificadas quanto ao predomínio de lesões ativas e/ou crônicas (WEENING *et al.*, 2004a; WEENING *et al.*, 2004b).

Tabela 1 - Classificação da glomerulonefrite do lúpus eritematoso sistêmico segundo a International Society of Nephrology/Renal Pathology Society 2003

Classe I – Nefrite lúpica mesangial mínima	Glomérulos normais à microscopia ótica (MO), mas com depósitos imunes à imunofluorescência (IF)
Classe II – Nefrite lúpica mesangial proliferativa	Hiper celularidade mesangial pura em qualquer grau ou expansão da matriz mesangial à MO, com depósitos imunes mesangiais. Pode haver alguns depósitos subepiteliais ou subendoteliais isolados, visíveis à IF ou à microscopia eletrônica (ME), mas não à MO.
Classe III – Nefrite lúpica focal	GN endo ou extracapilar; segmentar ou global; ativa ou inativa, tipicamente com depósitos imunes subendoteliais focais, com ou sem alterações mesangiais.
Classe IV – Nefrite lúpica difusa	GN endo ou extracapilar; segmentar ou global; ativa ou inativa, tipicamente com depósitos imunes subendoteliais com ou sem alterações mesangiais. Subdividida em classes IV S (nefrite lúpica segmentar difusa) ou IV G (nefrite lúpica global difusa).
Classe V – Nefrite lúpica membranosa	Depósitos imunes subepiteliais globais ou segmentares ou suas sequelas morfológicas à MO e à IF ou à ME, com ou sem alterações mesangiais.
Classe VI – Nefrite lúpica com esclerose avançada	Esclerose glomerular global em $\geq 90\%$, sem atividade residual.

GN, glomerulonefrite; MO, microscopia ótica; IF, imunofluorescência; ME, microscopia eletrônica.
 Fonte: WEENING et al., 2004a; WEENING *et al.*, 2004b

1.2.1 Diagnóstico de Lesão Renal no Lúpus Eritematoso Sistêmico – perspectivas

Atualmente, a investigação de envolvimento renal no LES é baseada nos níveis de creatinina sérica, na taxa de filtração glomerular e nos níveis de albumina urinária. No entanto um vasto número de condições renais agudas pode existir sem indução do aumento significativo nos níveis de creatinina sérica, havendo evidências da necessidade de prejuízo de 50% da função renal para que seja identificado o aumento desta. De maneira semelhante, há estudos que indicam que a albuminúria, embora seja considerada padrão ouro na avaliação de lesão renal, pode apresentar-se inalterada mesmo após o acometimento da estrutura glomerular (GASPARIN *et al.*, 2019).

O LES é uma doença complexa cujo diagnóstico molecular é limitado e a patogênese ainda não é claramente compreendida. Nesse contexto, evidências sobre a identificação de alvos terapêuticos mais específicos, por meio da definição de novos mecanismos celulares da doença, e de marcadores confiáveis, não invasivos e quantificáveis para a detecção de início precoce de complicações específicas mostram-se importantes. Esses marcadores podem permitir que o tratamento seja administrado de forma mais efetiva, podendo ser modificado ou interrompido em tempo hábil para melhor gerenciar os efeitos colaterais e adversos (KORTE, GAFFNEY, POWELL, 2012).

A comunidade científica busca ativamente a descoberta de novas estratégias diagnósticas na expectativa de identificar melhor os indivíduos suscetíveis à manifestações renais em estágios iniciais do LES. Estudos abrangentes têm sido conduzidos em vários níveis biológicos, incluindo: DNA (genômica), mRNA (transcriptômica), proteína (proteômica) e metabólitos (ou metabolômica), permitindo estudar a doença em maior grau de resolução molecular e, assim, possibilitar o monitoramento da sua evolução com maior sensibilidade e especificidade (ARRIENS, MOHAN, 2013).

As moléculas de adesão celular (CAM) são glicoproteínas de membrana, com função de mediar adesão intercelular ou entre células e a matriz extracelular, de recrutamento e de migração seletiva de células inflamatórias dos vasos até o local da lesão. O processo de adesão é essencial e ocorre em vários eventos biológicos. As CAM funcionam ainda como moléculas sinalizadoras e exercem importante papel na regulação da inflamação e da resposta imune, podendo serem reguladas positivamente por citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), as quais desempenham um importante papel na adesão, rolamento e migração de leucócitos ao longo das superfícies das células endoteliais nos tecidos inflamados (GUMBINER, 1996; LODISH *et al.*, 2000; SKEOCH *et al.*, 2014). Podem ser agrupadas em quatro tipos, dependendo das características moleculares: imunoglobulinas (Ig), selectinas, integrinas e caderinas. Destas, merecem destaque as seguintes imunoglobulinas: PECAM-1 (molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias-1), VCAM-1 (molécula de adesão vascular-1) e a ICAM-1 (molécula de adesão intercelular-1) (FRANCISCHETTI *et al.*, 2010; DA ROSA FRANCHI SANTOS, COSTA, MAES, 2020).

A molécula VCAM-1 regula a diapedese dos leucócitos, estando, portanto, envolvida em processos que necessitam de recrutamento leucocitário para determinados sítios de inflamação. Níveis aumentados de CAM podem não só contribuir para a fisiopatologia do LES, mas também serem usados como biomarcadores. Além de seu papel como marcadores de ativação imune, esses biomarcadores apontam um processo de contínua inflamação, sendo

indicador preditivo de lesão renal mesmo em baixos níveis, sinalizando um melhor prognóstico de lesão renal (LAUCELLA *et al.*, 1999; KLIMEK *et al.*, 2018; LEWIS *et al.*, 2016; ATEHORTÚA *et al.*, 2017).

Estudos de investigação proteômica estão sendo utilizados para determinar o perfil de diferentes proteínas envolvidas nas fases iniciais da lesão renal. A identificação de novas proteínas pode permitir a identificação de novos biomarcadores associados à fase inicial ou funcional de lesões renais isquêmicas e nefrotóxicas (HEWITT; DEAR; STAR, 2004).

Algumas proteínas têm sido encaradas como potenciais candidatas a biomarcadores de nefropatia lúpica (Quadro 1). Dentre elas, destacam-se proteínas capazes de prever surto de atividade renal (MCP-1, NGAL, transferrina, hepcidina e anti-C1q), determinar a gravidade do envolvimento inflamatório renal (IL-18 sérica), prever evolução para doença renal crônica (L-FABP, FOXP3) ou mesmo identificar o padrão histológico (painel de glicoproteínas e CXCL10) (ROVIN; ZHANG, 2009).

Quadro 1- Biomarcadores de lesão renal

Biomarcador	Função
Proteína urinária/mRNA	
MCP-1	Preditor de surto de nefrite iminente
Proteína urinária	
NGAL	Preditor de surto de nefrite iminente
Transferrina	Preditor de surto de nefrite iminente
Hepcidina	Preditor de surto de nefrite iminente, recuperação
L-FABP	Preditor de doença renal crônica
Painel de glicoproteínas	Preditor de doença renal
Proteína sérica	
Anti-C1q	Preditor de surto de nefrite iminente
Marcador de superfície endotelial	
mEPCR	Preditor de doença renal crônica
mRNA urinário	
FOXP3	Preditor de doença renal crônica
CXCL10	Preditor de doença renal
Marcador de superfície de células T	
CD29	Preditor de doença renal

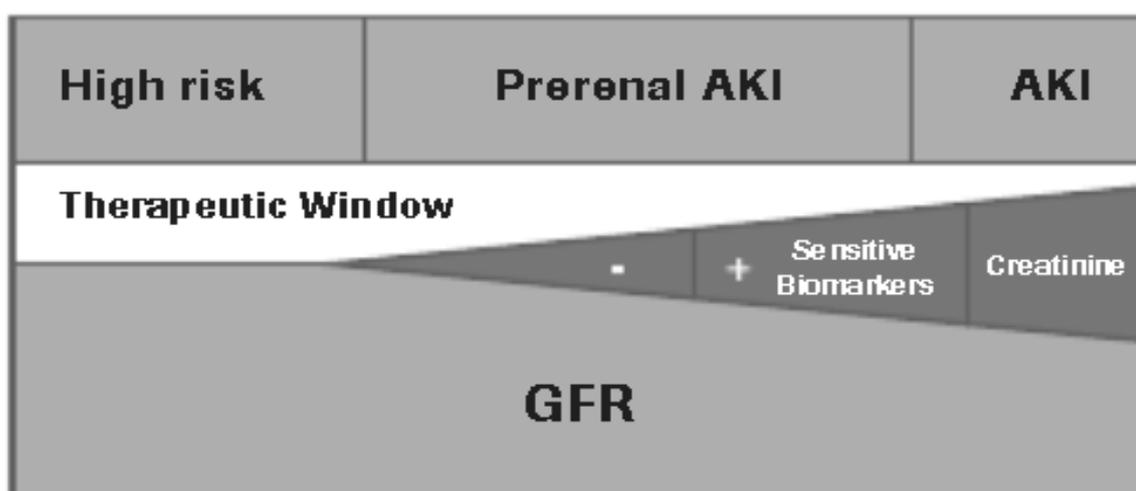
Fonte: ROVIN, ZHANG, 2009

Dentre os biomarcadores preditivos de lesão renal, NGAL e LFABP são encontrados precocemente, sendo NGAL o mais utilizado em estudos clínicos; KIM-1 e IL-18 são biomarcadores detectados tardiamente, mas com melhor especificidade. A combinação de marcadores metabólicos mostra-se promissora devido à sua estabilidade, que é superior em comparação à maioria das proteínas, e à disponibilidade de melhores métodos de validação e quantificação (PERES *et al.*, 2013).

1.2.2 Novos biomarcadores de Lesão Renal

A maioria dos estudos de novos biomarcadores de nefropatia lúpica é voltada à investigação da capacidade de diagnóstico precoce em relação aos parâmetros clínicos e laboratoriais clássicos. No entanto, esses biomarcadores também podem ser úteis para monitorar o curso/evolução da injúria renal e, possivelmente, prever o prognóstico a curto e longo prazo (Figura 1) (MEHTA, 2010).

Figura 1 - Evolução temporal da associação entre a avaliação do risco e a detecção precoce da injúria renal aguda



AKI, injúria renal aguda; GFR, taxa de filtração glomerular
 Fonte: HIMMELFARB *et al.*, 2008.

1.2.2.1 Syndecan-1

Syndecans são proteoglicanos heparano-sulfatos (PHS), compostos de um esqueleto protéico modificado por cadeias de heparano-sulfato (HS) e condroitina-sulfato (CS). A

presença das cadeias de HS permite interação com um grande número de moléculas (ALEXOPOULOU; MULTHAAPT; COUCHMAN, 2007).

Syndecan-1 é uma proteína transmembrana encontrada na superfície de células epiteliais e endoteliais, é responsável por regular uma variedade de comportamentos celulares, incluindo adesão, proliferação, sinais intracelulares, fatores de crescimento, ligação de macromoléculas à superfície celular, internalização de moléculas, angiogênese, metabolismo lipídico, cicatrização de feridas, regulação da migração de leucócitos e resposta endotelial (QIN *et al.*, 2020).

O glicocálix endotelial atua como uma barreira de permeabilidade competente, no qual o dano a essa estrutura provoca o aumento da permeabilidade capilar e o recrutamento de leucócitos e plaquetas, levando a edema tecidual e inflamação acentuada, aumentando o estado pró-coagulante. Embora o syndecan-1 não seja um biomarcador específico de lesão renal, quando mensurado no plasma sanguíneo, pode ser considerado um biomarcador de dano ao glicocálix endotelial, uma vez que, frequentemente, quando há dano renal há também injúria endotelial (ALPHONSUS; RODSETH, 2014; CAVALCANTE *et al.*, 2016).

Clinicamente, ainda não existe um método disponível para quantificar o dano endotelial, mas alguns estudos têm mostrado uma forte associação entre o extravasamento de componentes do glicocálix endotelial, principalmente syndecan-1, e a ocorrência de coagulopatia, edema e mortalidade, tornando este um biomarcador de lesão ao glicocálix endotelial (HAYWOOD-WATSON *et al.*, 2011; JOHANSSON, STENSBALLE, RASMUSSEN, 2011; RAHBAR *et al.*, 2015).

1.2.2.2 VCAM-1

VCAM-1 (molécula de adesão vascular-1) é uma glicoproteína transmembrana que tem importante participação na migração de células inflamatórias, nas funções efectoras de leucócitos e na adesão de células apresentadoras de antígenos. A inflamação é um processo que altera a função endotelial, modificando a expressão de moléculas de adesão (ICAM-1 - molécula de adesão intercelular 1 e VCAM-1 - molécula de adesão vascular-1) e, assim, favorecendo a lesão. Portanto, o VCAM-1 é um mediador pró-inflamatório expresso em vasos renais durante inflamação, que facilita a migração trans endotelial de leucócitos. Na lesão renal aguda está relacionado diretamente ao dano vascular e endotelial precoce (KIRAN; PATRICK, 1997).

Lesões ao endotélio renal aumentam a expressão de diferentes moléculas de adesão, como a de VCAM-1, promovendo interações leucócito-endotélio. Nesse contexto, VCAM-1

pode ser utilizada como um biomarcador de ativação celular endotelial na injúria renal (CAVALCANTE *et al.*, 2016).

1.2.2.3 Angiopietina

As angiopoietinas são proteínas com papel importante no desenvolvimento vascular e na angiogênese. Todas elas se ligam com afinidade semelhante a um receptor de tirosina-cinase (proteína específica da célula endotelial). As angiopoietinas mais bem caracterizadas são a angiopoietina 1 (Ang 1), que está associada com uma vasculatura estável, e angiopoietina 2 (Ang 2), que está associada com atividade angiogênica patológica (FAGIANI; CHRISTOFORI, 2013).

A Ang 1 é responsável por promover a reorganização das células endoteliais, manter a estrutura dos vasos sanguíneos íntegra, por meio do recrutamento e interação com células periendothelias, inibir a ativação da barreira endotelial vascular e reduzir o vazamento e a migração de leucócitos para tecidos que estejam passando por algum processo inflamatório. A Ang 2, por sua vez, atua como uma antagonista da Ang 1, através do rompimento das ligações entre o endotélio e células perivasculares, promoção da morte celular e regressão vascular (MACHADO, 2018).

1.2.2.4 Podocina e Nefrina

Os glomérulos são estruturas que compõem os néfrons, unidades funcionais do rim onde ocorre a filtração sanguínea, sendo suas células endoteliais interconectadas com células especializadas, chamadas podócitos, e com células mesangiais. Nessa região do rim há duas proteínas muito importantes, a podocina e a nefrina, que juntas formam uma fenda na barreira de filtração glomerular, onde ocorre a filtração do sangue. A integridade desta estrutura permite que algumas proteínas, como a albumina, principal proteína presente no sangue, fiquem retidas no sangue dentro dos capilares presentes nos glomérulos. Se essa barreira sofrer alguma lesão, haverá então a perda de proteínas pela urina (proteinúria), caracterizando a albumina como um marcador de doença renal (SOUZA, 2019).

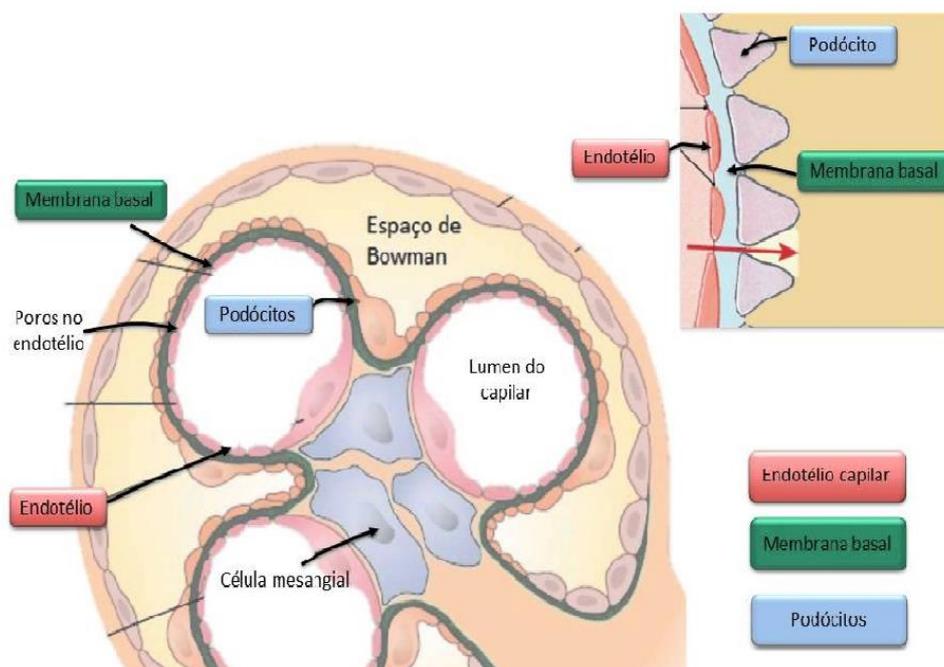
A lesão glomerular tem como uma de suas principais características a perda de podócitos e proteínas relacionadas a eles - nefrina e podocina - que podem ser biomarcadores específicos e não invasivos de lesão glomerular precoce. Sendo assim, avaliar o aumento da expressão

proteica de nefrina e podocina como preditores de lesão glomerular inicial quando comparado à medida tradicional de relação albumina/creatinina é bastante promissor (SOUZA, 2019).

Alguns estudos mostram que podócitos viáveis estão presentes na urina de pacientes com diversas doenças glomerulares proteinúricas (Figura 2). A podocitúria (perda de podócitos na urina) parece ser limitada à fase de atividade da doença, ao contrário da proteinúria, que está presente tanto na fase ativa quanto na fase crônica do dano glomerular. Assim, a podocitúria não seria um reflexo da proteinúria e poderia servir como um marcador sensível e precoce da atividade da lesão glomerular. Sabe-se também que o número de podócitos perdidos por indivíduos saudáveis e pacientes com doença inativa é significativamente menor que aquele detectado em pacientes com doença glomerular ativa (PETERMANN; FLOEGE, 2007).

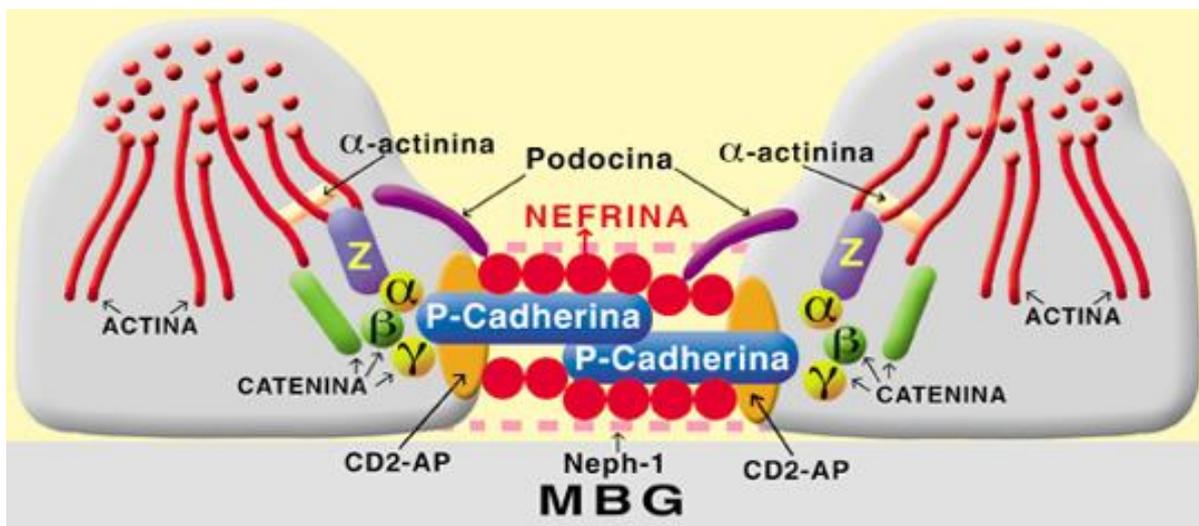
Considerando a perda de podócitos um importante mecanismo que leva à lesão glomerular, pode-se inferir que biomarcadores dessas células se tornam potenciais ferramentas de avaliação das alterações renais. Nesse contexto, o presente estudo sugere que as proteínas relacionadas aos podócitos, como a nefrina e a podocina, encontradas em vesículas extracelulares urinárias (VEus), podem ser biomarcadores mais específicos e não-invasivos de lesão glomerular, justificando sua quantificação (Figura 3) (SOUZA, 2019).

Figura 2 – Interior do glomérulo, evidenciando endotélio, membrana basal e podócitos



Fonte: BONEGIO; SALANT, 2011

Figura 3- Estrutura do podócitos, proteínas no seu interior e nefrina no diafragma de filtração glomerular



Fonte: REISER *et al.*, 2000.

2. JUSTIFICATIVA

Quanto ao diagnóstico da nefropatia lúpica, o rastreamento de pacientes com acometimento renal pelo LES através da urinálise não demonstra a real frequência de doença renal, pois são comuns as alterações histopatológicas renais em pacientes com urinálise normal (falso negativa) e com níveis séricos de creatinina dentro dos limites da normalidade (RASOULPOUR *et al.*, 1996).

A procura de biomarcadores sensíveis capazes de detectar precocemente a lesão renal antes do desenvolvimento de LRA tem sido um grande desafio para os pesquisadores. Estudos mostram que lesão renal é uma complicação que frequentemente aparece em pacientes com LES. Portanto, o uso de biomarcadores que possam detectá-la de forma precoce, são de suma importância para um melhor prognóstico e conduta clínica. Sendo assim, este estudo buscou avaliar se Syndecan 1, VCAM-1, angiopoietina e nefrina são capazes de predizer lesão renal em pacientes com diagnóstico de LES (MCCULLOUGH *et al.*, 2013).

Segundo o Instituto Nacional de Saúde Norte Americano (2004), biomarcadores são definidos como indicadores quantitativos de processos biológicos ou patológicos empregados para fins de diagnóstico ou de monitoração da terapêutica. Um dos biomarcadores usados na doença renal crônica (DRC) e na LRA é a creatinina, porém sabe-se que é um marcador que se eleva tardiamente no sangue de pacientes portadores dessas condições. Biomarcadores são

importantes para um diagnóstico precoce em relação aos parâmetros clássicos, para prever o curso da LRA e possivelmente para prever o prognóstico a curto e longo prazo, além prover informações a respeito da etiologia da LRA e ajudar a distinguir alterações funcionais de dano renal estrutural (HAAN; HOORN; DE GEUS, 2017).

Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo identificar novos biomarcadores e biomarcadores tradicionais, já conhecidos de lesão renal, e correlacioná-los, a fim de verificar a possibilidade de diagnosticar precocemente disfunção renal e, com isso, obter um melhor prognóstico e conduta clínica em pacientes com LES.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Identificar novos biomarcadores e biomarcadores tradicionais, já conhecidos de lesão renal, a fim de verificar a possibilidade de diagnosticar precocemente disfunção renal e, com isso, obter um melhor prognóstico e conduta clínica em pacientes com LES.

3.2 Específico

Correlacionar biomarcadores tradicionais e novos quanto à detecção de uma possível disfunção renal.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho e período do estudo

Foi realizado estudo transversal no período de agosto de 2018 a novembro de 2020.

4.2 Local do estudo

O estudo foi realizado no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará (HUWC/UFC), que se configura como um hospital geral, terciário, de grande porte e possui 1386 leitos ativos. O HUWC/UFC é referência

no atendimento de reumatologia e nefrologia para todo o estado e possui cerca de quinhentos pacientes com LES sendo assistidos através de consultas médicas periódicas de monitoramento no referido ambulatório e, também, através da Farmácia Ambulatorial, que presta serviços farmacêuticos junto aos pacientes atendidos nos ambulatórios desta instituição, os quais são cadastrados nos programas de alta complexidade e estratégicos do Governo Federal.

No geral, a Farmácia Ambulatorial é composta por uma equipe de farmacêuticos que fazem o monitoramento e avaliação das terapias medicamentosas, por meio do serviço de dispensação de especialidades farmacêuticas, incluindo os medicamentos para LES, conforme a legislação vigente, como as Portaria nº 4283/2010 e a Portaria nº 100/2013 do Ministério da Saúde, que apresenta o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) do Lúpus Eritematoso Sistêmico (BRASIL, 2010; BRASIL, 2013).

4.3 Critérios de inclusão

- Pacientes com diagnóstico de LES;
- Maiores de 18 anos;
- Ambos os sexos;
- Pacientes que aceitaram participar do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), conforme Anexo A.

4.4 Critérios de exclusão

- Pacientes com déficit cognitivo grave, que impeça o completo entendimento dos objetivos do estudo;
- Presença de doença renal grave, em tratamento dialítico ou transplantados renais;
- Presença de cardiopatia grave, incluindo insuficiência cardíaca descompensada e revascularização miocárdica, segundo dados do prontuário;
- Idosos > 65 anos de idade.

4.5 Protocolo do estudo

4.5.1 Recrutamento dos pacientes

Pacientes foram recrutados, através de demanda espontânea, obedecendo os critérios de inclusão e exclusão, ao se cadastrarem no serviço de dispensação da Farmácia Ambulatorial, ocasião na qual foram convidados a participar da pesquisa. Os pacientes que aceitaram participar assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

O cadastro é realizado periodicamente, conforme as normas de execução do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica e de acordo com as exigências para inclusão e monitorização do paciente quanto ao tratamento do LES expressas no PCDT (BRASIL, 2010; BRASIL, 2013).

4.5.2 Entrevista inicial

Um questionário sobre dados sociodemográficos e econômicos foi aplicado aos pacientes (Anexo B).

4.5.3 Coleta de exames

Os exames necessários à pesquisa foram coletados na mesma data em que os pacientes foram ao laboratório realizar os exames periódicos de monitorização do LES solicitados pelos médicos do Ambulatório de Reumatologia ou nos dias de consulta médica dos pacientes. Na ocasião, foi aplicado o TCLE, com breve autorização. Foram coletados, também, exames de avaliação da função renal e exames complementares através de pesquisa nos prontuários dos pacientes.

4.5.4 Dados clínicos

As características clínicas dos participantes foram obtidas através da revisão dos prontuários, a avaliação laboratorial geral foi obtida dos laudos de exames dos pacientes, os quais foram coletados diretamente do sistema informatizado do HUWC, e a avaliação da função glomerular e dos novos biomarcadores foi obtida mediante a detecção laboratorial, conforme descrição detalhada a seguir.

4.5.5 Método analítico laboratorial

Foram coletadas aleatoriamente e processadas as seguintes amostras biológicas dos pacientes:

-Urina: as amostras foram centrifugadas a 1000g por 15 minutos à temperatura ambiente para remover o sedimento urinário como células e outros fragmentos. O sobrenadante da urina foi alíquotado em parte com inibidor de protease para análise de exossomas e as outras alíquotas foram usadas para análise dos demais biomarcadores urinários, depois, foram imediatamente armazenadas a -80°C .

-Sangue venoso: foram coletadas e, após 15 minutos, centrifugadas para a obtenção do soro. Em seguida, o soro foi alíquotado especificamente para cada análise e, também, congelado a -80°C .

As 9 alíquotas do soro e urina foram mantidas à -80°C , apenas para fim dessa pesquisa, não se caracterizando biobanco, apenas biorrepositório.

4.5.6 Parâmetros estudados

- Características clínicas: diagnóstico; Tempo da doença, exame físico (pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca, peso, estatura) e medicamentos em uso.
- Avaliação laboratorial geral: hemograma completo; velocidade de hemossedimentação; glicemia de jejum; uréia; creatinina; sódio (PNa+), potássio (PK+), cloro (PCl-), cálcio (PCa++), fósforo (PPO4-) e magnésio (PMg+) plasmáticos; gasometria venosa; aspartato aminotransferase (AST); alanina aminotransferase (ALT); bilirrubinas totais e frações; ácido úrico; proteínas totais; albumina; globulinas; fosfatase alcalina e sumário de urina.
- Avaliação da função glomerular da amostra sanguínea foi quantificada a creatinina plasmática (PCr) e a taxa de filtração glomerular foi estimada através do *clearance* de creatinina (CICr), utilizando a equação MDRD (LEVEY et al., 1999). Da amostra de urina foram mensuradas a proteinúria, pelo método colorimétrico do vermelho de pirogalol, e a albuminúria, por ensaio de imunoturbidimetria. As concentrações de proteínas totais urinárias e de albuminúria foram corrigidas pelos níveis de creatinina urinária com os valores expressos em mg/g-creatinina. O equipamento usado para as análises foi o Cobas C111®, da Roche.
- Avaliação dos novos biomarcadores renais, biomarcadores endoteliais e dos mediadores inflamatórios:

Os novos biomarcadores renais (nefrina), biomarcadores endoteliais (VCAM-1, Syndecan-1 e angiopoietina) e os mediadores inflamatórios (IL-17, TGF- β e IFN- γ) foram quantificados de alíquotas específicas separadas na data da coleta das amostras. Para essas análises foi utilizada a técnica do ELISA (tipo sanduíche), um ensaio imunoenzimático de alta sensibilidade e especificidade, cujos kits comerciais foram adquiridos da marca R&D Systems (Minneapolis, MN, USA), com etapas da análise descritas a seguir (NEVES *et al.*,2019):

- Adição do anticorpo primário específico ao biomarcador humano a ser quantificado na placa de 96 poços;
- Adição da amostra biológica do paciente com consequente ligação do biomarcador presente na amostra ao anticorpo primário previamente fixado na placa;
- Adição e ligação do anticorpo secundário (conjugado a biotina) ao biomarcador fixado pelo anticorpo de captura;
- Adição da estreptavidina (ligada à peroxidase), que se liga à biotina conjugada ao anticorpo secundário;
- Quantificação do complexo imobilizado (anticorpo-biotina-estreptavidina-peroxidase) através do monitoramento da atividade da peroxidase na presença de um substrato (3,3',5,5'-tetra-metilbenzidina).
- Por fim, a atividade enzimática foi medida usando um espectrofotômetro a 450 nm, considerando o aumento da absorbância diretamente proporcional à concentração do biomarcador quantificado.

4.6 Análise estatística

Os dados categóricos foram expressos como contagem absoluta e frequência relativa em porcentagem e, então, foram comparados com o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Todas as variáveis quantitativas foram exploradas para distribuição normal, utilizando o teste de normalidade Shapiro-Wilk e a avaliação de histogramas para verificar a assimetria dos dados. As variáveis com distribuição normal foram expressas como média \pm desvio padrão e os dados não normais foram apresentados como mediana e intervalo interquartil. Para comparações dos dados quantitativos entre dois grupos, o teste de Student ou o teste de Mann-Whitney foram usados conforme apropriado. Além disso, correlações de Spearman foram aplicadas para avaliar a associação entre dados quantitativos. A significância de $p < 0,05$ foi

considerada (2 lados) e todas as análises e gráficos foram realizados usando o software SPSS versão 23.0 para Macintosh (IBM, Armonk, NY, EUA).

4.7 Aspectos éticos

4.7.1 Riscos

- Os riscos aos quais os pacientes foram submetidos foram mínimos, como um possível acesso mal punccionado, mesmo as coletas tendo sido realizadas por profissionais capacitados, orientados sobre o estudo e seus objetivos.
- Paciente ter se sentido constrangido ao responder o questionário, mesmo tendo sido conduzido por participantes da pesquisa que foram treinados quanto a aplicação do questionário de forma a trazer conforto ao paciente durante a aplicação.

4.7.2 Benefícios

Paciente foi monitorado mais criteriosamente, quanto a sua terapia, e os possíveis eventos renais, durante o estudo, propiciando assim uma mudança de conduta medicamentosa ou clínica, caso necessário.

4.7.3 Comitê de Ética

O protocolo desse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Walter Cantídio – HUWC/UFC (Nº do parecer: 3.442.037 e CAAE: 95492718600005045 (Anexo C) (BRASIL, 2012).

5 RESULTADOS

5.1 Dados demográficas dos participantes do estudo

Durante o período de realização da pesquisa, foram recrutados 58 pacientes atendidos no Ambulatório de Reumatologia do HUWC, os quais foram acompanhados na Farmácia Ambulatorial, onde os farmacêuticos realizaram a dispensação dos medicamentos prescritos e

a monitorização periódica do tratamento quanto a sua efetividade e segurança. Nenhum dos pacientes recrutados foi excluído do estudo.

Os participantes tinham uma média de idade de 41 anos, sendo a maioria do sexo feminino. Em relação à escolaridade, 37,5% tinham nível médio. Houve predomínio de não fumantes (80%), a maioria fazia uso de outros medicamentos e 53,7% provinham do interior ou regiões metropolitanas do Ceará (Tabela 2).

Tabela 2 – Dados sociodemográficos e econômicos dos pacientes acompanhados (n=58)

Variáveis	% (N)
Idade, anos*	41,55 ± 11,65
Gênero	
Masculino	3,60 (2)
Feminino	96,40 (54)
Escolaridade	
Analfabeto	0
Fundamental incompleto	14,28 (8)
Fundamental completo	16,07 (9)
Médio incompleto	8,09 (5)
Médio completo	37,05 (21)
Superior incompleto	8,09 (5)
Superior completo	14,28 (8)
Não informado	0
Uso de outros medicamentos	
Sim	100 (58)
Renda salarial	
Até 1 salário mínimo	48,21 (27)
De 1 a 2 salários	42,85 (24)
> 2 salários	7,14 (4)
Não informado	1,78 (1)
Localização de residência	
Fortaleza	42,85 (24)
Interior de Fortaleza ou região metropolitana	53,57 (30)
Não informado	3,57 (2)

*média ± desvio padrão

Fonte: Elaborada pela autora.

5.2 Avaliação laboratorial dos participantes do estudo

Os níveis séricos de marcadores hepáticos (AST/ALT) detectados nas análises das amostras dos participantes estavam dentro da normalidade, a ureia e a creatinina também apresentaram valores normais, abaixo de 40 mg/dL e 1 mg/dL, respectivamente. A dosagem de glicemia e de colesterol de todos os participantes ficou abaixo de 100 mg/dl e 190 mg/dl, respectivamente. A taxa de filtração glomerular apresentou um valor médio de 102.89 ± 29.12 mL/min/1,73m (Tabela 3).

Não houve diferença estatística na comparação de idade e gênero. Na avaliação da nefrina urinária, a comparação entre detectáveis e indetectáveis não mostrou interação entre este biomarcador e idade e gênero nos parâmetros laboratoriais. Não havendo significância estatística entre os detectáveis e indetectáveis ($p < 0,05$). O mesmo foi observado com parâmetros renais (Tabela 3).

Tabela 3 – Avaliação laboratorial, da função renal e dos biomarcadores dos pacientes acompanhados (n=58)

Variáveis	Resultados
Idade, anos	41.55 ± 11.65
Gênero, feminino	93,1 (54)
Parâmetros laboratoriais	
Glicemia de jejum (mg/dL)	94.9 ± 18.22
Colesterol total (mg/dL)	189.68 ± 53.36
Hemoglobina (g/dL)	12.68 ± 1.35
Plaqueta/mm ³	221599.11 ± 93033
Uréia Sérica (mg/dL)	30.24 ± 9.33
AST (U/L)	24.44 ± 10.93
ALT (U/L)	24.2 ± 14.89
Albumina Sérica (g/dL)	3.95 (3.65 - 4.35)
Proteína C reativa (mg/dL)	0.31 (0.14 - 0.82)
Parâmetros renais	
Creatinina Sérica (mg/dL)	0.9 (0.7 - 5)
TFGe (mL/min)	102.89 ± 29.12
Proteinúria (mg/dL)	104.66 (41.94 - 215)
Nefrina urinária	
Indetectável	42 (72.4)
Detectável	16 (27.6)
Níveis de nefrina (pg/mL)	29.15 (17.53 - 99.83)
Biomarcadores vasculares	
Angiopietina-2 (ng/ml)	1.32 ± 0.78
VCAM-1	890.19 ± 422.46
Syndecan-1	43.48 (17.3 - 66.19)

Legenda: TFGe, taxa de filtração glomerular estimada. Os resultados quantitativos foram expressos como média ± desvio padrão (DP) ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. Os dados categóricos foram expressos como contagens absolutas e percentuais entre parênteses.

Fonte: elaborada pela autora.

Quanto a avaliação do biomarcador VCAM-1, apresentou maior valor médio dentre os detectáveis (1151,58; p=0,002). O Syndecan-1 também apresentou significância estatística na comparação entre os grupos (p > 0,001), na qual o grupo indetectável apresentou maior média (Tabela 4).

Tabela 4 - Pesquisa de nefrina urinária nos pacientes acompanhados (n=58)

Variáveis	Nefrina Urinária		
	Indetectável (n=42)	Detectável (n=16)	p
Idade, anos	41.23 ± 11.82	41.36 ± 10.97	0.972
Gênero, feminino	37 (94.9)	14 (100)	0.895
Parâmetros laboratoriais			
Glicemia (mg/dL)	93.42 ± 17.32	100.25 ± 22.1	0.284
Colesterol (mg/dL)	193 ± 47.69	186.27 ± 65.83	0.715
Hemoglobina (g/dL)	12.71 ± 1.22	12.76 ± 1.74	0.892
Plaquetas/mm ³	227090.51 ± 94121.79	207422.86 ± 96898.89	0.509
Uréia Sérica (mg/dL)	30.08 ± 10.29	31 ± 6.93	0.76
TGO (U/L)	22.76 ± 9.88	29.21 ± 13.33	0.065
TGP (U/L)	23.92 ± 15.37	25.57 ± 13.57	0.725
Albumina Sérica (g/dL)	4 (3.7 - 4.3)	3.9 (3.6 - 4.3)	0.146
Proteína C reativa	0.37 (0.14 - 0.86)	0.27 (0.18 - 0.61)	0.243
Parâmetros renais			
Creatina Sérica (mg/dL)			0.859
TFGe (mL/min)	103.61 ± 29.38	102.39 ± 29.51	0.896
Proteinúria (mg/dL)	104.66 (33.76 - 173.08)	184.73 (77.5 - 1016.19)	0.873
Biomarcadores vasculares			
Angiopietina-2 (ng/ml)	1.25 ± 0.76	1.45 ± 0.77	0.363
VCAM-1	795.34 ± 400.67	1151.58 ± 388.43	0.002
Syndecan-1	33.16 (15.63 - 48.02)	87.5 (56.28 - 120)	<0.001

Legenda: TFGe, taxa de filtração glomerular estimada. Os dados quantitativos foram expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. Os dados categóricos foram expressos como contagens absolutas e percentuais entre parênteses.

Fonte: elaborada pela autora

Na análise de correlação dos níveis de nefrina urinária verificou-se interação com os biomarcadores Syndecan-1 e VCAM-1, $r=0,586$ e $r=0,613$, respectivamente. Pacientes com LES apresentaram um aumento significativo de VCAM-1 e Syndecan-1 (Tabela 5, Figuras 4 e 5).

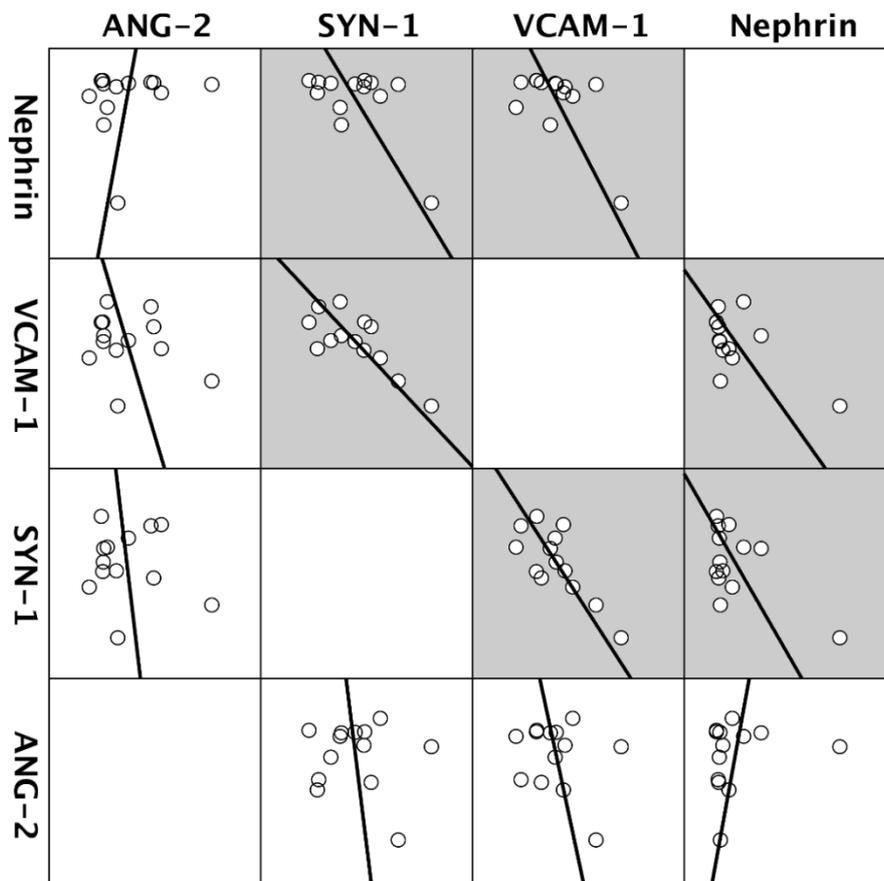
Tabela 5 - Correlação de Pearson entre os níveis de nefrina urinária e outros biomarcadores nos pacientes acompanhados (n=58)

Variáveis	Nefrina Urinária		
	n	r	p
Parâmetros laboratoriais (sangue)			
Glicose	12	-0.077	0.813
Hemoglobina	14	-0.166	0.57
Plaquetas	14	0.138	0.638
Parâmetros renais			
Creatinina Sérica	14	-0.248	0.392
Uréia Sérica	14	0.509	0.063
Proteinúria	12	-0.07	0.828
TFGe	14	-0.231	0.428
Biomarcadores vasculares			
VCAM-1	15	0.613	0.015
Syndecam-1	13	0.586	0.035
Angiopietina-2	16	-0.225	0.403

Legenda: TFGe, taxa de filtração glomerular estimada.

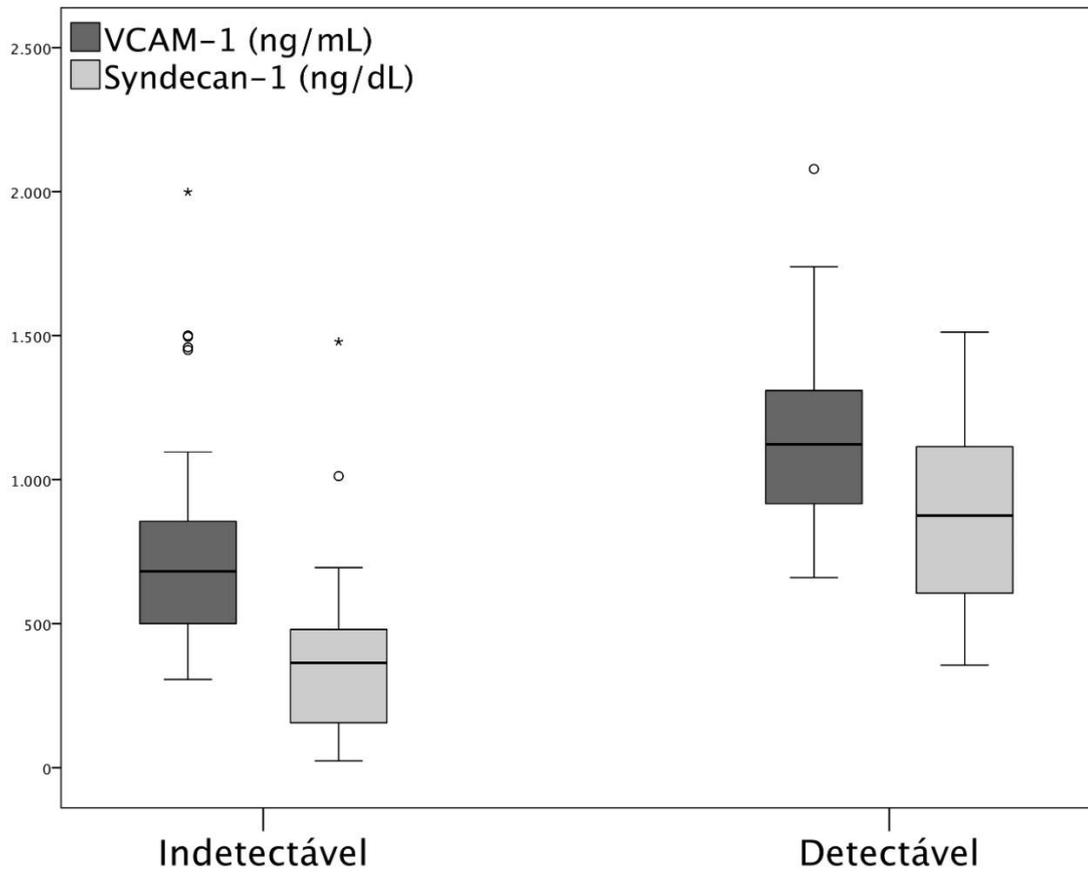
Fonte: elaborada pela autora

Figura 4 - Correlação de Pearson entre os níveis de biomarcadores dos pacientes (n=58)



Fonte: elaborada pela autora.

Figura 5 - Correlações significativas entre nefrina detectável e indetectável versus VCAM-1 e Syndecan-1



Fonte: elaborada pela autora.

6 DISCUSSÃO

O LES é uma doença autoimune, com inflamação em diferentes órgãos, apresentando anticorpos reativos a antígenos nucleares, citoplasmáticos e de membrana celular, afetando com maior frequência mulheres em idade fértil. O diagnóstico do LES é considerado difícil, uma vez que os processos etiológicos e fisiopatológicos da doença não são ainda bem elucidados. Como pode acometer vários órgãos, o tratamento deve ser feito de forma cautelosa, requerendo a monitorização através de exames laboratoriais para prevenir sua progressão e avaliar a efetividade e segurança dos medicamentos em uso. Mesmo se observando uma carência de biomarcadores específicos para o diagnóstico da doença, bem como para a avaliação de outros órgãos que possam ser comprometidos, pode-se relatar avanços no prognóstico devido os estudos científicos promissores. Os pacientes com LES dispõem hoje de considerável arsenal para tratamento de sua doença, incluindo antiinflamatórios não-hormonais, corticóides, antimaláricos, imunossupressores, imunoglobulina endovenosa, anticorpos anti-CD20, além de transplante de medula óssea (GALINDO; VEIGA, 2010).

Este é o primeiro estudo que encontrou associação entre dano endotelial com perda de nefrina na urina, molécula importante envolvida na manutenção da função de barreira glomerular, mesmo no LES sem nefrite lúpica. O diagnóstico precoce da lesão renal melhora as estratégias preventivas para diminuir o pior prognóstico, como doença renal crônica, e aumenta a expectativa de vida.

No presente estudo, pacientes com LES apresentaram um quadro sugestivo de lesões no sistema endotelial e lesão glomerular. O diafragma de filtração, estrutura pertencente ao glomérulo renal, é onde estão presentes os podócitos e a nefrina, uma glicoproteína transmembrana que fica entre os pés citoplasmáticos dos podócitos, sendo essencial para manter a barreira física glomerular, local onde são filtrados os componentes sanguíneos. Então quando há lesão glomerular, por consequência é esperado a presença de nefrina e podocina na urina, e com os avanços recentes da proteômica e metabolômica, a quantificação dessa glicoproteína tem se tornado possível (ARRIENS, MOHAN, 2013).

Na lesão renal aguda, o diagnóstico precoce está diretamente associado a melhor resposta terapêutica. A inexistência de um biomarcador renal precoce, sensível e acessível levou ao considerável aumento de pesquisas nesta área nos últimos anos. Estudos proteômicos têm sido empregados para identificar novos biomarcadores de comprometimento renal em diversos

contextos clínicos, pois a creatinina sérica, como ferramenta para estimar alterações na taxa de filtração glomerular, atua predominantemente em fases tardias de lesão renal.

Apesar da melhora no atendimento aos pacientes com LES, a nefrite lúpica continua sendo uma complicação importante, principalmente no diagnóstico tardio, quando se correlaciona com maior frequência de progressão da doença renal (SOLIMAN, MOHAN, 2017). Assim, novos biomarcadores foram estudados para melhorar o diagnóstico. Biomarcadores convencionais para avaliar a função renal em nefrite lúpica, incluem proteinúria, taxa de filtração glomerular e creatinina sérica. Porém, seu uso tem um diagnóstico inespecífico e tardio (KASHANI, CHEUNG, PASITPORN, RONCO, 2017; GASPARIN *et al.*, 2019).

No presente estudo, a perda de nefrina na urina, importante molécula específica da função de barreira glomerular, não teve associação com proteinúria, TFG e creatinina sérica em pacientes com LES sem nefrite lúpica, sendo considerado como um indicativo da falta de sensibilidade diagnóstica. Além disso, a biópsia renal, considerado um método invasivo, continua sendo o padrão-ouro para o diagnóstico (BAJEMA *et al.*, 2018).

A nefrite lúpica afeta principalmente os glomérulos, cujas células endoteliais estão interconectadas com os podócitos, que são células altamente especializadas que revestem a superfície urinária do tufo capilar glomerular e que, juntamente com as células endoteliais e a membrana basal, constituem a barreira de filtração glomerular, assegurando sua permeabilidade seletiva (PETERMANN, FLOEGE, 2007; HARALDSSON, NYSTRÖM, 2012; SABINO *et al.*, 2013; BROSIUS, COWARD, 2014). A lesão dos podócitos pode causar perda de nefrina e, conseqüentemente, elevação da proteinúria, albuminúria e perda de células sanguíneas na urina. Antes desses biomarcadores convencionais, a nefrinúria pode ser biomarcador específico e não invasivo de lesão glomerular precoce (GORRIZ, MARTINEZ-CASTELAO, 2012; SANTOS *et al.*, 2015).

A expressão gênica de proteínas do podócito (como nefrina e podocina, entre outras) está reduzida no tecido renal em diferentes glomerulopatias, inclusive na nefrite lúpica. Em paralelo, existem evidências de excreção urinária aumentada destes marcadores, por descolamento dos podócitos da membrana basal glomerular e/ou por apoptose. Além disso, estudos experimentais têm demonstrado que a expressão de nefrina e podocina correlaciona-se com a classe histológica de nefrite lúpica (WANG *et al.*, 2007; PERYSINAKI, MOYSIADIS, BERTSIAS, 2011).

O presente estudo mostrou que pacientes com LES sem doença renal clínica tiveram associação de perda de nefrina na urina com VCAM-1 e Syndecan-1, que são ambos

biomarcadores vasculares envolvidos na disfunção endotelial. No lúpus, assim como em algumas outras doenças autoimunes, a vasculite pode ser uma manifestação importante, ocorrendo principalmente durante surtos de piora do LES (SALMON *et al.*, 2012; CALLEBOTERO, ABRIL, 2020). A vasculite é a inflamação dos vasos sanguíneos com invasão das células imunes, causando estenose, oclusão, formação de aneurisma, seguida ou não de hemorragia (BARILE-FABRIS; HERNÁNDEZ-CABRERA; BARRAGAN-GARFIAS, 2014). A poliartrite nodosa é o tipo de vasculite mais prevalente no LES. Na vasculite de pequenos vasos, uma poliangeíte microscópica afeta os vasos renais, causando lesão renal e nefrite lúpica (SOLIMAN, MOHAN, 2017; DAVIDSON, ARANOW, MACKAY, 2019).

Estudos recentes têm demonstrado que níveis elevados de VCAM-1 contribuem para a fisiopatologia do LES e também podem ser usados como biomarcador (LEWIS *et al.*, 2016; GASPARIN *et al.*, 2019). Além de seu papel como biomarcadores de ativação imune, estudos demonstram a associação dos biomarcadores aqui avaliados – VCAM-1, Syndecan-1 e Ang-2 - a um processo contínuo de inflamação, sendo um indicador preditivo de complicações da vasculite, como lesão renal, sinalizando melhor prognóstico da lesão renal (NEVES *et al.*, 2019). Em outras doenças glomerulares semelhantes, como a nefropatia diabética, foi observado o importante papel dos níveis sistêmicos do VCAM-1 para um melhor diagnóstico com associação de marcadores de disfunção glomerular (BRUNO *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2011).

Por meio do presente estudo, observou-se que os níveis de Syndecan-1 associados ao dano glomerular no LES revelam ~~novos insights~~ novas perspectivas no contexto do diagnóstico precoce da nefrite lúpica. Além disso, alguns estudos mostram a associação do syndecan-1 com doença renal crônica e seu papel como um biomarcador para o diagnóstico de outras doenças renais em diferentes contextos, incluindo lesão renal aguda em doenças infecciosas, após cirurgia cardíaca e em pacientes críticos (NEVES *et al.*, 2019; PADBERG *et al.*, 2014).

7 CONCLUSÃO

Através desta pesquisa foi possível observar que o uso de novos biomarcadores de lesão renal precoce na prática clínica, de modo associado a outros parâmetros envolvidos na fisiopatologia e no prognóstico do LES, podem facilitar o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de tratamento e monitoramento de nefropatias associadas ao LES, bem como contribuir para a prevenção de agravos ao quadro clínico dos pacientes. Vale destacar que para a implementação de protocolos institucionais que envolvam o uso de novos biomarcadores de

lesão renal no LES, torna-se necessário a realização de estudos de validação que assegurem sua aplicabilidade.

Embora não tenha sido observada associação entre nefrinúria e proteinúria, TFG e creatinina sérica em pacientes com LES sem nefrite lúpica, o estudo apresentou associação entre nefrinúria e os biomarcadores VCAM-1 e Syndecan-1, que são biomarcadores vasculares envolvidos na disfunção endotelial.

As limitações da pesquisa incluem o reduzido tamanho da amostra, que pode ter evitado a detecção de mais efeitos associados à nefrinúria. No entanto, foi evidenciada associação com biomarcadores endoteliais específicos. Assim, mais estudos são necessários para estabelecer o papel dos novos biomarcadores de lesão renal no LES e sua aplicação na prática clínica.

REFERÊNCIAS

ADLER, S.G; COHEN, A.H.; GLASSOCK, R.J. Secondary Glomerular Diseases. In: BRENNER, B.M. **The Kidney**. 5. ed. Philadelphia: PA Saunders, p. 1498-596, 1996.

ALEXOPOULOU, A.N.; MULTHAUPT, H.A.B.; COUCHMAN, J.R. Syndecans in wound healing, inflammation and vascular biology. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, n. 3, p. 505–28, 2007.

ALPHONSUS, C.S.; RODSETH, R.N. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier. **Anaesthesia**, v. 69, n.7, p.777-84, 2014.

ALMAANI, S.; MEARA, A.; ROVIN, B.H. Update on lupus nephritis. **Clin J Am Soc Nephrol.**, v. 12, p. 825-35, 2017. [PMID: 27821390]

ANTONOVICH, T.T. **Pathology of Systemic Lupus Erythematosus**. Armed Forces Institute of Pathology and American Registry of Pathology, Washington, DC: 1995.

APPEL, G.B; D'AGATI, V. Lupus Nephritis. In: MASSRY, S.G; GLASSOCK, R.J. **Textbook of Nephrology**. 3. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1995. p. 787-796.

ARRIENS, C.; MOHAN, C. Systemic Lupus erythematosus diagnostics in the “omics” era. **Int. J. Clin. Rheumatol.**, v. 8, n. 6, p. 671-87, 2013.

ATEHORTÚA, L. *et al.* Endothelial alterations in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: potential effect of monocyte interaction. **Mediators. Inflamm.**, ID 9680729, 2017. doi: 10.1155/2017/9680729. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28546658/> Acesso em: 12 out. 2020.

BAJEMA, I.M. *et al.* Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. **Kidney Int.**, v. 93, n. 4, p. 789-796, 2018.

BARILE-FABRIS, L; HERNÁNDEZ-CABRERA, M.F.; BARRAGAN-GARFIAS J.A. Vasculitis in Systemic Lupus Erythematosus. **Curr. Rheumatol. Rep.**, v. 16, n. 9, p. 440, 2014.

BERTSIAS, G.K. *et al.* Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 71, n. 11, p. 1771-82, 2012. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201940. Epub 2012 Jul 31. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3465859/> Acesso em: 1 mai 2021.

BORBA, E.F. *et al.* Consenso brasileiro para o tratamento do lúpus eritematoso sistêmico. **Rev. Bras. Reum.**, v. 48, n. 4, p. 196-207, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012.** Aprovar as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília (DF): Diário Oficial da União, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 4283 de 30 de dezembro de 2010.** Aprova as diretrizes e estratégias para organização, fortalecimento e aprimoramento das ações e serviços de farmácia no âmbito dos hospitais.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Portaria nº 100/SAS/MS, de 7 de fevereiro de 2013.** Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Lúpus Eritematoso Sistêmico.

BROSIUS, F.C.; COWARD, R.J. Podocytes, signaling pathways, and vascular factors in diabetic kidney disease. **Adv. Chronic. Kidney Dis.**, v. 21, n. 3, p. 304-310, 2014.

BRUNO, C.M. *et al.* Plasma ICAM-1 and VCAM-1 levels in type 2 diabetic patients with and without microalbuminuria. **Minerva Med.**, v. 99, n. 1, p. 1-5, 2008.

CALLE-BOTERO, E.; ABRIL, A. Lupus Vasculitis. **Curr. Rheumatol. Rep.**, v. 22, n. 10, p. 71, 2020.

CAMERON, J.S. Lupus Erythematosus. In: NEILSON, E.G; COUSER, W.G. **Immunologic Renal Diseases.** Philadelphia: Lippincott-Raven, p. 1055-98, 1997.

CAVALCANTE, C.T. *et al.* Syndecan-1 improves severe acute kidney injury prediction after pediatric cardiac surgery. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v. 152, n. 1, p. 178-86, 2016.

CERVERA, R.; KHAMASHTA, M.A.; HUGHES, G.R. The Euro-lupus project: epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe. **Lupus.**, v. 18, n.10, p. 869-74, 2009.

COSTA, L.M.; COIMBRA, C.C. Lúpus Eritematoso Sistêmico: incidência e tratamento em mulheres. **Revista Uningá Review**, v. 20, n. 1, p. 81-86, 2014.

COSTI, L.R. *et al.* Mortality from systemic erythematosus lupus in Brazil: evaluation of causes according to the government health database. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 57, n. 6, p. 574-82, 2017.

DAVIDSON, A.; ARANOW, C.; MACKAY, M. Lupus nephritis: challenges and progress. **Curr Opin Rheumatol.**, v. 31, n. 6, p. 682-688, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31389814/> Acesso em: 8 set. 2020.

DA ROSA FRANCHI SANTOS, LF; COSTA, NT; MAES, M. *et al.* Influence of treatments on cell adhesion molecules in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: a review. **Inflammopharmacol**, v. 28, p. 363–84, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00674-6> Acesso em: 14 mai. 2021.

D'AGATI, V. Renal diseases in systemic lupus erythematosus, mixed connective tissue disease, Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. In: JENNETTE, J.C. *et al.* **Heptinstall's Pathology of the Kidney.** 5.ed, Philadelphia, New York: Lippicott-Raven, 1998. p. 541-624.

- FAGIANI, E.; CHRISTOFORI, G. Angiopoietins in angiogenesis. **Cancer Lett.**, v. 28, n. 1, p. 18-26, 2013.
- FERLUGA, D. *et al.* Correlation among WHO classes, histomorphologic patterns of glomerulonephritis and glomerular immune deposits in SLE. **Wien. Klin. Wochenschr.**, v. 112, n. 15-16, p. 692-701, 2000.
- FRANCISCHETTI, I. *et al.* Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. **Revista Brasileira Cirurgia Cardiovascular**, v. 25, n. 4, p. 575-84, 2010.
- GALINDO, C.V.; VEIGA, R.K. Características clínicas e diagnósticas do Lúpus Eritematoso Sistêmico: uma revisão. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 7, n. 4, p. 46-58, 2010.
- GASPARIN, A.A. *et al.* Urinary biomarkers for lupus nephritis: the role of the vascular cell adhesion molecule-1. **Lupus.**, v. 28, n. 3, p. 265-272, 2019.
- GLASSOCK, R.J. Reclassification of Lupus Glomerulonephritis: Back to the Future. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, p. 501-3, 2004.
- GORDON, C. *et al.* The British Society for Rheumatology Guideline for the Management of Systemic Lupus Erythematosus in adults. **Rheumatology (Oxford)**, v. 57, n. 1, e1 – e45, 2018.
- GORRIZ, J.L.; MARTINEZ-CASTELAO, A. Proteinuria: detection and role in native renal disease progression. **Transplant. Rev. (Orlando)**, v. 26, n. 1, p. 3-13, 2012.
- GUMBINER, B.M. Cell adhesion: The molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. **Cell**, v. 84, n. 3, p. 345-357, 1996.
- HAAN, J.E.; HOORN, E.J.; DE GEUS, H.R. Acute Kidney Injury after Liver transplantation: recent insights and future perspectives. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 31, n. 2, p. 161-169, 2017.
- HAHN, B.H. *et al.* American College of Rheumatology. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. **Arthritis Care Res (Hoboken)**, v. 64, n. 6, p. 797-808, 2012. doi: 10.1002/acr.21664. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3437757/> Acesso em: 1 mai. 2021.
- HARALDSSON, B.; NYSTRÖM, J. The glomerular endothelium: new insights on function and structure. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v. 21, n. 3, p. 258-63, 2012.
- HAYWOOD-WATSON, R.J. *et al.* Modulation of Syndecan-1 Shedding after Hemorrhagic Shock and Resuscitation. **PLOS ONE**, v. 6, n. 8, e23530, 2011. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0023530> Acesso em: 15 out. 2020.
- HEWITT, S.M.; DEAR, J.; STAR, R.A. Discovery of protein biomarkers for renal diseases. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 15, n. 7, p. 1677-89, 2004.

HIMMELFARB, J. *et al.* Evaluation and initial management of acute kidney injury. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 3, n. 4, p. 962-67, 2008.

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

HOUSSIAU, F.A.; LAUWERYS, B.R. Current management of lupus nephritis. **Best Pract Res Clin Rheumatol.**, v. 27, n. 3, p. 319-28, 2013.

JOHANSSON, P.I. *et al.* A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. **Ann Surg.** v. 254, n. 2, p. 194-200, 2011. doi: 10.1097/SLA.0b013e318226113d. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21772125/> Acesso em: 12 out. 2020.

KASHANI, K; CHEUNGASITPORN, W.; RONCO, C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 55, n. 8, p. 1074-89, 2017.

KIRAN, B.; PATRICK, V. Inflammatory Cytokines Impair Endothelium-Dependent Dilatation in Human Veins In Vivo. **Circulation**, v. 96, n. 9, p. 3042-47, 1997.

KIRIAKIDOU, M.; CHING, C.L. Systemic Lupus Erythematosus. **Ann Intern Med.**, v. 172, n. 11, p. ITC81-96, 2020. doi: 10.7326/AITC202006020. PMID: 32479157.

KLIMEK, C. *et al.* Are Injuries More Common with Crossfit Training than other Forms of Exercise? **J. Sport Rehabil.**, v. 27, n. 3, p. 295-99, 2018. doi: 10.1123/jsr.2016-0040.

KLUMB, E.M. *et al.* Consenso da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o diagnóstico, manejo e tratamento da nefrite lúpica. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 55, n. 1, p. 1-21, 2015.

KORTE, E.A.; GAFFNEY, P.M.; POWELL, D.W. Contributions of mass spectrometry-based proteomics to defining cellular mechanisms and diagnostic markers for systemic lupus erythematosus. **Arthritis. Res. Ther.**, v. 14, n. 1, p. 204, 2012.

LAUCELLA, S. A. *et al.* Soluble platelet selectin (s-P-Selectin) and soluble vascular adhesion molecule-1 (s-VCAM-1). Decrease during therapy with benznidazole in children with Indeterminate form of Chagas' disease. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 118, n. 3, p. 423-27, 1999.

LEVEY A.S. *et al.* A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. **Ann Intern Med.**, v. 130, n. 6, p. 461-70, 1999. doi: 10.7326/0003-4819-130-6-199903160-00002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10075613/> Acesso em: 29 out. 2020.

LEWIS, M.J. *et al.* Improved monitoring of clinical response in Systemic Lupus Erythematosus by longitudinal trend in soluble vascular cell adhesion molecule-1. **Arthritis. Res. Ther.**, v. 18, n. 5, 2016. doi: 10.1186/s13075-015-0896-7.

LODISH, H. *et al.* **Molecular Cell Biology**. 4 ed. New York: W. H. Freeman; 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21475/> Acesso em: 1 mai. 2021.

MACHADO, M.S. **Avaliação da concentração plasmática de angiopoietina 1 e 2 na predição de pré-eclâmpsia**. 2018. 140 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

MCCULLOUGH, P.A. *et al.* Diagnosis of acute kidney injury using functional and injury biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. **Contrib Nephrol.** v. 182, p. 13-29, 2013. doi: 10.1159/000349963. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23689653/> Acesso em: 29 out. 2020.

MEHTA, R.L. Timed and targeted therapy for acute kidney injury: a glimpse of the future. **Kidney Int.**, v. 77, n. 11, p. 947-49, 2010.

NEVES F. M. *et al.* Fibroblast growth factor 23, endothelium biomarkers and acute kidney injury in critically-ill patients. **J. Transl. Med.**, v. 17, ID 121, 2019. Disponível em: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-019-1875-6> Acesso em: 8 set. 2020.

NIVED, O. *et al.* An observational study of outcome in SLE patients with biopsy-verified glomerulonephritis between 1986 and 2004 in a defined área of Southern Sweden: the clinical utility of the ACR renal response criteria and predictors for renal outcome. **Scand J Rheumatol.**, v. 42, n. 5, p. 383–9, 2013.

Padberg J.S. *et al.* Damage of the endothelial glycocalyx in chronic kidney disease. **Atherosclerosis.**, v. 234, n. 2, p. 335-43, 2014. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24727235/> Acesso em: 9 set. 2020.

PERES, L.A.B. *et al.* Biomarcadores da injúria renal aguda. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 229-36, 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-28002013000300010&script=sci_abstract&tlng=pt Acesso em: 12 out. 2020.

PERYSINAKI, G.S. *et al.* Podocyte main slit diaphragm proteins, nephrin and podocin, are affected at early stages of lupus nephritis and correlate with disease histology. **Lupus.** v. 20, p. 781-91, 2011.

PETERMANN, A.; FLOEGE, J. Podocyte damage resulting in podocyturia: a potential diagnostic marker to assess glomerular disease activity. **Nephron Clin Pract**, v. 106, c61-6, 2007.

PONS-ESTEL, B.A. *et al.* Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus. The GLADEL multinational Latin American prospective inception cohort of 1,214 patients with systemic lupus erythematosus: ethnic and disease heterogeneity among “Hispanics”. **Medicine** (Baltimore), v. 83, n. 1, p. 1-17, 2004.

PONS-ESTEL, G.J. *et al.* Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. **Semin Arthritis Rheum.**, v. 39, n. 4, p. 257-68, 2010.

- QIN, L.L. *et al.* Expression of syndecan-1, PKC and VEGF in rats with acute kidney injury and correlation between syndecan-1 and renal function. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, v. 24, n. 24, p. 12794-801, 2020.
- RAHBAR, E. *et al.* Endothelial glycocalyx shedding and vascular permeability in severely injured trauma patients. **J Transl Med**, v. 13, n. 117, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0481-5> Acesso em: 12 out. 2020.
- RASOULPOUR, M. *et al.* Inability of community-based laboratories to identify pathological casts in urine samples. **Arch. Pediatr. Adolesc. Med.**, v. 150, n. 11, p. 1201-04, 1996.
- REISER, J. *et al.* The Glomerular Slit Diaphragm is a modified adherens junction. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2000.
- ROVIN, B.H.; ZHANG, X. Biomarkers for lupus nephritis: the quest continues. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 4, n. 11, p. 1858-65, 2009.
- SABINO, ARP *et al.* Detecção de podocitúria em pacientes com nefrite lúpica. **J. Bras. Nefrol.**, v. 35, n. 4, p. 252-58, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-28002013000400004&lng=en&nrm=iso Acesso em: 3 jan. 2021.
- SALMON, A.H. *et al.* Loss of the endothelial glycocalyx links albuminuria and vascular dysfunction. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 23, n. 8, p. 1339-50, 2012.
- SANTOS, M. *et al.* Podocyte-associated mRNA profiles in kidney tissue and in urine of patients with active lupus nephritis. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 5, p. 4600-4613, 2015.
- SHINJO, S.K. *et al.* Antimalarial treatment may have a time-dependent effect on lupus survival: data from a multinational Latin American inception cohort. **Arthritis Rheum**, v. 62, n. 3, p. 855 – 62, 2010.
- SILVA, F.G. The nephropathies of systemic lupus erithematosus. *In*: ROSEN S. **Pathology of glomerular disease**. New York: Churchill-Livingstone. 1983. p. 79-124.
- SILVARIÑO, R; OTTATI, G; NOBOA, Ó. Nefropatía lúpica. **Rev. Méd. Urug.**, v. 31, n. 1, p. 64-78, 2015.
- SKARE, T.L.; DAGOSTINI, J.S.; ZANARDI, P.I.; NISIHARA, R.M. Infecções e lúpus eritematoso sistêmico. *Einstein*, v. 14, n. 1, p. 47-51, 2016.
- SKEOCH, S. *et al.* Cell adhesion molecules as potential biomarkers of nephritis, damage and accelerated atherosclerosis in patients with SLE. **Lupus.**, v. 23, n. 8, p. 819-24, 2014.
- SOARES, M.F.; TELLES, J.E.; MOURA, L. A. Classificações da Nefrite Lúpica: metanálise e proposta atual da Sociedade Internacional de Nefrologia e da Sociedade de Patologia Renal. **J. Bras. Nefrol.**, v. 27, n. 3, p. 157-162, 2005.
- SOLIMAN, S.; MOHAN, C. Lupus nephritis biomarkers. **Clin. Immunol**, v. 185, p. 10-20, 2017.

SOUZA, A.A. *et al.* Mortalidade e perfil de vítimas de insuficiência renal aguda e crônica, no período de 2008 a 2016, no Brasil. **Congresso Internacional de Enfermagem**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2019.

TSOKOS, G.C; LO, M.S; COSTA REIS, P.; SULLIVAN, K.E. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus Erythematosus. **Nat Ver Rheumatol.**, v. 12, n. 12, p. 716-30, 2016.

TUNNICLIFFE, D.J. *et al.* Diagnosis, monitoring, and treatment of systemic lupus erythematosus: a systemic review of clinical practice guidelines. **Arthritis Care Res (Hoboken)**, v. 67, n. 10, p. 1440 – 52, 2015.

VARGAS, K.S., ROMANO M.A. Lúpus eritematoso sistêmico: aspectos epidemiológicos e diagnóstico. **Revista Salus-Guarapuava**, v. 3, n. 1, p. 79-94, 2009.

VASCONCELOS, J.T.S *et al.* Livro da Sociedade Brasileira de Reumatologia. 1 ed. Barueri [SP]: Manole, 2019.

VILAR, M.J; SATO, E.I. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). **Lupus.**, v. 11, n. 8, p. 528-32, 2002.

WALLACE, D.J; GLADMAN, D.D. Clinical manifestations and diagnosis of systemic lupus erythematosus in adults. **UpToDate** [Internet]. 2019. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults>. Acesso em: 4 mai. 2021.

WANG, G. *et al.* Messenger RNA expression of podocyte-associated molecules in urinary sediment of patients with lupus nephritis. **J Rheumatol.**, v. 34, p. 2358-64, 2007.

WEENING, J.J. *et al.* The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. **J Am Soc Nephrol.**, v. 15, n. 2, p. 241–50, 2004a.

WEENING, J.J. *et al.* The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. **Kidney Int.**, v. 65, n. 2, p. 521–30, 2004b.

WOOLF, A. *et al.* Nephritis in children and young adults with systemic lupus erythematosus and normal urinary sediment. **Pediatrics.**, v. 64, n. 5, p. 678-85, 1979.

ZHANG, L. *et al.* Long-term outcomes of end-stage kidney disease for patients with lupus nephritis. **Kidney Int.** v. 89, p. 1337-45, 2016. [PMID: 27165824]

ZHENG, M. *et al.* Urinary podocyte-associated mRNA profile in various stages of diabetic nephropathy. **PLoS One.** v. 6, p. e20431, 2011. doi: 10.1371/journal.pone.0020431. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21655212/> Acesso em: 9 set. 2020.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1 – Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa intitulado: INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL E DE PROGNOSTICO EM PACIENTES COM LUPUS ERITREMATOSO SISTEMICO ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO que tem por objetivo avaliar biomarcadores de lesão renal e endotelial em pacientes com lúpus.

2 – Procedimentos que serão realizados

Este projeto será desenvolvido na Farmácia ambulatorial do Hospital Universitário Walter Cantídio, onde você já recebe seus medicamentos ,não sendo necessário nenhum deslocamento fora do já usualmente feito para o seu tratamento,inicialmente .Para que você possa colaborar com nossa pesquisa serão coletadas amostras de sangue (5 ML) e urina (1 FRASCO DE COLETA), no dia da coleta programada pelo seu médico, para seus exames de rotina, tais como: Hemograma completo, creatinina, velocidade de hemossedimentação , taxa de filtração glomerular.

Estes exames já fazem parte da rotina do seu tratamento , mas caso você aceite participar será acrescentado apenas mais dois exames , sem que seja necessário realizar outra coleta.

No decorrer da pesquisa seus dados serão registrados e faremos o acompanhamento no período de seis meses a um ano , os dados registrados serão:

- a) Identificação: Nome, idade, sexo, cor, profissão, escolaridade, naturalidade, procedência.
- b) Diagnóstico.
- c) Tempo de doença – Tempo decorrido entre o primeiro sintoma e o diagnóstico.
- d) Medicções em uso: tratamento farmacológico utilizado

Será feita avaliação laboratorial geral e da função renal (pesquisa em prontuário):

Hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, glicemia de jejum, uréia, creatinina, taxa de filtração glomerular, sódio (P_{Na^+}), potássio (P_{K^+}), cálcio ($P_{Ca^{++}}$), fósforo (P_{PO_4}) e magnésio ($P_{Mg^{++}}$) plasmáticos, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), ácido úrico, proteínas totais, lipidograma

Os novos biomarcadores que serão estudados são:

FGF23, SYNDECAN- 1

4 – Riscos: A) Risco mínimo, como um possível acesso mal puncionado

Medidas de controle: Solicitaremos que outro profissional realize o procedimento e medidas de cuidados serão administrados, como gelo)

B). Possível constrangimento ao responder questionário

Medidas de controle: Paciente será encaminhado a uma sala restrita, para seu conforto ou não prosseguir com as perguntas);

5 – Benefícios: Você terá o acompanhamento das possíveis lesões renais e endoteliais, com marcadores mais sensíveis que os usuais, podendo assim detectar problemas relacionados sua terapia e prognóstico

mais rápido, e reverter suas possíveis complicações mais rapidamente;

6 – Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem prejuízo para seu tratamento no Hospital Universitário Walter Cantídio;

7 – Você tem direito de confidencialidade – “As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente”;

8 – Você tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

09 – Não há despesas pessoais para o você, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

10 – Eu, Valeska Queiroz de Castro, pesquisador do referente estudo, me comprometo a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

11 - Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Valeska Queiroz de Castro, que pode ser encontrado no endereço Av. Senador Virgílio Távora 2400 BL B apt 1002 Dionísio Torres tel: 85 996843361

“Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Capitão Francisco Pedro 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: cephuwc@huwc.ufc.br”

Caso você se sinta suficientemente informado a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se você concordar em participar solicitamos que assine no espaço abaixo.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha Data / /

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

ANEXO B - QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO E ECONÔMICO

QUESTIONÁRIO SÓCIO ECONÔMICO

Nome: _____
 Nome social: _____
 Data de nascimento: _____
 RG: _____ CPF: _____
 E-mail: _____

1. Sexo:

<input type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Feminino
------------------------------------	-----------------------------------

2. Idade: _____ Anos completos.

3. Estado Civil:

<input type="checkbox"/> Solteiro(a)	<input type="checkbox"/> Viúvo(a)
<input type="checkbox"/> Casado(a)	<input type="checkbox"/> Vivo com companheira
<input type="checkbox"/> Separado(a) / Divorciado(a)	<input type="checkbox"/> Vivo com companheiro

4. Naturalidade:

<input type="checkbox"/> Brasileiro(a)	<input type="checkbox"/> Estrangeiro Qual país? _____
--	---

5. Estado de origem: _____ e Município de origem: _____

6. Em relação à cor da pele, você se considera:

<input type="checkbox"/> Branco	<input type="checkbox"/> Amarelo (oriental)
<input type="checkbox"/> Pardo	<input type="checkbox"/> Vermelho (indígena)
<input type="checkbox"/> Preto	<input type="checkbox"/> Prefiro não declarar

7. Em seu município de origem você morava na região:

<input type="checkbox"/> Urbana (cidade)	<input type="checkbox"/> Rural (fazenda, sítio, chácara, aldeia, vila agrícola, etc.)
--	---

8. Município em que mora hoje: _____

9. Em que localidade da cidade seu domicílio se encontra?

<input type="checkbox"/> Bairro na periferia da cidade	<input type="checkbox"/> Favela / Cortiço
<input type="checkbox"/> Bairro na região central da cidade	<input type="checkbox"/> Região rural (chácara, sítio, fazenda, aldeia, etc.)
<input type="checkbox"/> Bairro no centro expandido da cidade	<input type="checkbox"/> Outro: _____
<input type="checkbox"/> Condomínio residencial fechado	
<input type="checkbox"/> Conjunto habitacional (CDHU, COHAB, BNH, etc.)	

10. Com quem você mora? (mais de uma opção poderá ser marcada)

<input type="checkbox"/> Pais	<input type="checkbox"/> Filhos
<input type="checkbox"/> Cônjuge	<input type="checkbox"/> Sogros
<input type="checkbox"/> Companheiro (a)	<input type="checkbox"/> Parentes
<input type="checkbox"/> Amigos	<input type="checkbox"/> Empregados domésticos
<input type="checkbox"/> (ou) Sozinho (a)	<input type="checkbox"/> Outros

11. Atualmente você:

- Apenas estuda
 Trabalha e estuda
 Apenas trabalha
 Está desempregado (a)
- Está de licença ou incapacitado de estudar / trabalhar
 Está aposentado (a)
 Não trabalha nem estuda

12. Qual é o seu trabalho ou ocupação principal?

13. Qual é a sua renda **individual** mensal?

- Menos de 1 salário mínimo
 De um a menos de dois salários mínimos
 De dois a menos de três salários mínimos
 De três a menos de quatro salários mínimos
 De quatro a menos de cinco salários mínimos
 De cinco a menos de seis salários mínimos
- De seis a menos de sete salários mínimos
 De sete a menos de oito salários mínimos
 De oito a menos de nove mínimos
 De nove a dez salários mínimos
 Acima de dez salários mínimos

14. Qual é renda **familiar** mensal (considerando a soma da renda daqueles que moram e contribuem para o sustento do lar)?

- Menos de 1 salário mínimo
 De um a menos de dois salários mínimos
 De dois a menos de três salários mínimos
 De três a menos de quatro salários mínimos
 De quatro a menos de cinco salários mínimos
 De cinco a menos de seis salários mínimos
- De seis a menos de sete salários mínimos
 De sete a menos de oito salários mínimos
 De oito a menos de nove mínimos
 De nove a dez salários mínimos
 Acima de dez salários mínimos

15. Qual a sua participação na vida econômica do grupo familiar?

- Não trabalho e sou sustentado por minha família ou outras pessoas
 Trabalho e sou sustentado parcialmente por minha família ou outras pessoas
 Trabalho e sou responsável apenas por meu próprio sustento
- Trabalho, sou responsável por meu próprio sustento e ainda contribuo parcialmente para o sustento da família
 Trabalho e sou o principal responsável pelo sustento da família
 Outra situação

16. No seu domicílio há (quantos?):

- Aparelho de Som? ____
 Televisão? ____
 Geladeira? ____
 Freezer independente? ____
 Máquina de lavar roupa? ____
 Computador (micro ou notebook)? ____
- Telefone fixo? ____
 Telefone celular? ____
 TV por assinatura? ____
 Automóvel? ____
 Motocicleta? ____

17. Você e/ou sua família tem convênio com plano de saúde (médico ou odontológico)?

- Sim
 Não

18. Qual o seu grau máximo de escolaridade?

- Ensino superior incompleto
 Ensino superior completo
 Especialização
 Primeiro grau completo
 Segundo grau completo
- Mestrado
 Doutorado
 Pós-Doutorado
 Primeiro grau incompleto
 Segundo grau incompleto

19. Você cursou ensino médio e fundamental em:

- escolas públicas em sua **totalidade**;
 a **maior parte** (mais de 55%) em escolas públicas;
 metade em escolas públicas, metade em escolas privadas
- a maior parte (mais de 55%) em escolas privadas;
 em escolas privadas inteiramente;

20. Você cursou ou cursa o ensino superior em universidade pública?

- Sim Não

21. Você cursa ou cursou ensino superior em Universidade privada?

- Sim, sem bolsa; Não
 Sim, com bolsa;

Se obtêm ou obteve bolsa, favor especificar o tipo de bolsa concedida:

22. Em relação à religião, você diria que é:

- Ateísta Espirita kardecista
 Agnóstico Praticante de religião afro-brasileira (umbanda, candomblé)
 Acredito em Deus mas não sigo nenhuma religião Budista
 Católico Muçulmano
 Católico não praticante Judeu
 Protestante (evangélico, batista, mórmon, calvinista, luterano, testemunha de Jeová ou outro) Tenho outra religião. Qual?
 Prefiro não declarar

_____, _____ de _____ de 2019.

PACIENTE

ANEXO C - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HUWC

UFC - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO WALTER
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL E DE PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO

Pesquisador: Valeska Queiroz de Castro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 06540918.4.0000.5045

Instituição Proponente: Hospital Universitário Walter Cantídio/ Universidade Federal do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.245.436

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto desenvolvido Valeska Queiroz de Castro, como dissertação de mestrado, sendo orientada pelo Prof Geraldo Bezerra da Silva Junior. Atualmente, a investigação de lesão renal é baseada nos níveis de creatinina sérica e taxa de filtração glomerular, que são marcadores usualmente empregados para avaliar a função renal, bem como nos níveis de albumina urinária. No entanto um vasto número de condições renais agudas pode existir sem induzir aumento significativo nos níveis de creatinina sérica. Já foi evidenciado que é necessário que ocorra prejuízo de 50% da função renal para que possa ser identificado o aumento de creatinina sérica. De maneira semelhante, há estudos que indicam que a albuminúria, mesmo sendo considerada como padrão ouro na avaliação de lesão renal, apresenta-se inalterada mesmo após o acometimento a estrutura glomerular. A análise proteômica está sendo utilizada para determinar o perfil de diferentes proteínas envolvidas nas fases iniciais da lesão renal. A identificação de novas proteínas permitiu a identificação de biomarcadores associados à fase inicial ou funcional de lesões renais isquêmicas e nefrotóxicas. A análise dessas proteínas pode ser feita por pela medida da expressão de RNA, 2-D DIGE (two-dimensional difference gel electrophoresis), SELDI (surface-enhanced laser desorption ionization), cromatografia, imunohistoquímica e SNP (single nucleotide polymorphism). A procura

Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro, 1290
Bairro: Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-370
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8589 **Fax:** (85)99267-4630 **E-mail:** cephuwc@huwc.ufc.br