



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**



JOÃO PAULO MACHADO MEDEIROS

**PRODUÇÃO DE IgE, ANTICORPOS IgE ANTI-AEROALÉRGENOS E
PERFIL DE CITOCINAS EM PACIENTES COM LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Salvador
2013

JOÃO PAULO MACHADO MEDEIROS

**ALERGIA RESPIRATÓRIA E ANTICORPOS IgE PARA
AEROALÉRGENOS EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO
SISTÊMICO DA BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ajax Mercês Atta

Salvador
2013

SISTEMA DE BIBLIOTECAS - UFBA

Medeiros, João Paulo Machado
Produção de IgE, anticorpos IgE anti-aeroalérgenos e perfil de
citocinas em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico/ João Paulo
Machado Medeiros.- 2014.
58 f.

Orientador : Prof. Dr. Ajax Mercês Atta

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de
Farmacia, 2014.

1. Lúpus eritematoso sistêmico. 2. Imunoglobulina. 3. Alergia. I. Atta,
Ajax Mercês. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU – 616.5-002.52

CDD – 616.772



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

TERMO DE APROVAÇÃO

JOÃO PAULO MACHADO MEDEIROS

PRODUÇÃO DE IgE, ANTICORPOS IgE ANTI-AEROALÉRGENOS E
PERFIL DE CITOCINAS EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO
SISTÊMICO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia (nível
Estrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia,
como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmácia.

Aprovada em 13 de novembro de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Ajax Mercês Atta
Universidade Federal da Bahia
Orientador

Dr^a. Luciana Santos Cardoso
Universidade Federal da Bahia

Dr. Régis de Albuquerque Campos
Universidade Federal da Bahia

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, Otávio Gomes Medeiros e Ana Nilza Machado (*in memoriam*), pela concepção e educação.

Ao Professor Ajax Mercês Atta e Professora Maria Luiza Brito de Souza Atta pela orientação e disposição do laboratório.

A todos do LAPIM/DILDA (laboratório de pesquisa em imunologia e diagnóstico laboratorial autoimune), Isabela Silva de Oliveira, Mariana Menezes Pereira, Milena Santana Cabral, Elisângela Novaes, pelo acolhimento, bons momentos de descontração e construção acadêmica. E principalmente a Rodrigo Carvalho de Oliveira e Atailza da Silva, os quais participaram ativamente na coleta das amostras.

Ao pessoal da ADAB (Ambulatório Docente – Assistencial da Bahiana) e ao Professor Mittermayer Barreto Santiago pela colaboração na seleção das pacientes portadoras de Lupus.

Às pacientes que permitiram a realização deste estudo.

A todos os professores do PPGFAR, que doaram parte de seu tempo e conhecimento para construção deste mestrado.

E às instituições financeiras CNPq e Capes, pelo apoio e estímulo à pesquisa.

MEDEIROS, João Paulo Machado; Alergia respiratória e anticorpos IgE para aeroalérgenos em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico da Bahia. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia - UFBA, Salvador, 2013.

RESUMO

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença autoimune caracterizada por profunda desregulação imune, produção descontrolada de autoanticorpos e manifestações clínicas variadas. A produção aumentada de IgE tem sido descrita nesta doença, porém existem ainda controvérsias sobre a presença de doenças alérgicas respiratórias nos pacientes acometidos pelo LES. **Objetivos:** Investigar a produção de IgE, presença de anticorpos contra aeroalérgenos em portadores de LES atendidos no Núcleo de Reumatologia do Hospital Santa Isabel – Salvador (BA) e a existência de possíveis mecanismos reguladores associados com a produção de citocinas séricas associadas com a resposta de anticorpos IgE para aeroalérgenos (IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10). **Pacientes, material e métodos:** Foram incluídas 81 pacientes do gênero feminino portadoras de LES, apresentando em média 8 anos de diagnóstico, a maioria com doença cuja atividade foi classificada pelo SLEDAI variando de moderada a muito alta. Laboratorialmente, foram pesquisados anticorpos antinucleares, IgE sérica total e específica para alérgenos da poeira domiciliar (HMx3), complemento C3 e C4 e os níveis das citocinas IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 no soro. Evidência de alergia respiratória (asma alérgica e rinite) foi investigada pelo questionário ISAAC. Como grupo controle, foram incluídas 34 mulheres saudáveis de idade equivalente. **Resultados:** Todas as pacientes tinham autoanticorpos antinucleares, com maior prevalência de anticorpos antinucleossomo e anti-dsDNA. Níveis aumentados de IgE ($> 100\text{UI/mL}$) foram encontrados em 63,0% e 41,3% das pacientes e controles, respectivamente, sendo mais altos no grupo com LES ($P = 0,004$), observando-se que a soropositividade para anticorpos IgE contra aeroalérgenos estava associada com níveis elevados desta imunoglobulina apenas nos controles ($P < 0,0001$). Foi verificada uma maior frequência de anticorpos para alérgenos de *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis* no grupo controle ($P = 0,012$ and $P = 0,002$, respectivamente). Os níveis de IL-2, IL-4 e IL-5 não foram diferentes comparando-se os dois grupos, inclusive quanto à soropositividade de anticorpos IgE para alérgenos domiciliares. Contudo, os níveis de IL-10 foram diferentes entre

os mesmos ($P = 0,030$), sendo, contudo similares quando os pacientes e controles foram classificados de acordo com o nível de IgE total. Adicionalmente, os níveis de IL-10 foram semelhantes nas pacientes lúpicas soropositivas para IgE contra *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis* ($P > 0,05$). De acordo com a pontuação alcançada no questionário ISAAC, existiria uma associação entre a presença de asma alérgica e o LES ($P = 0,015$). Contudo, tal associação não foi suportada pelos achados laboratoriais obtidos neste estudo. **Conclusão:** Pacientes com LES possuem níveis aumentados de IgE, os quais não estão associados com a produção de anticorpos IgE para aeroalérgenos. Por outro lado, existe a possibilidade de que a menor soropositividade observada nos pacientes lúpicos para anticorpos IgE para aeroalérgenos domiciliares resulte da modulação imune mediada por IL-10, uma citocina que se encontra elevada nestes indivíduos.

Palavras chaves: lúpus eritematoso sistêmico; IgE; alergia; modulação imune; citocina;

ABSTRACT

Introduction: Systemic lupus erythematosus is an autoimmune disease characterized by profound immune dysregulation, uncontrolled production of autoantibodies and several clinical manifestations. Increased production of IgE has been described in this disease, but there are still controversies about the presence of respiratory allergic diseases in patients affected by SLE. **Objectives:** To investigate the occurrence of respiratory allergies in patients with SLE treated at the Center for Rheumatology at Hospital Santa Izabel - Salvador (BA) and the existence of possible regulatory mechanisms associated with the production of cytokines associated with the IgE antibody response to allergens (IL-2, IL-4, IL-5 and IL-10). **Patients, material and methods:** The study included 81 female patients with SLE, with a median of 8 years of SLE diagnosis, whom disease activity was classified by SLEDAI ranging from moderate to very high. Laboratory tests were antinuclear antibodies, total serum IgE and IgE antibodies to house dust (HMx3) allergens. Serum levels of C3 and C4 and IL-2, IL-4, IL-5 and IL-10, were also determined. The presence of respiratory allergy was investigated by the ISAAC questionnaire. The control group included 34 age-matched healthy women. **Results:** All patients had antinuclear autoantibodies, with the highest prevalence of antibodies anti-nucleosome, whose levels were correlated with SLE activity. Increased IgE levels ($> 100\text{UI/ml}$) were found in 63.0% and 41.3% of patients and controls, respectively, being higher in the group with SLE ($P = 0.004$), noting that seropositivity for antibodies IgE against aeroallergens was associated with levels of this immunoglobulin only in the controls ($P < 0.0001$). It was observed a higher frequency of antibodies to allergens of *D. pteronyssinus* and *B. tropicalis* in the control group ($P = 0.012$ and $P = 0.002$, respectively). The levels of IL-2, IL-4 and IL-5 were not different comparing the two groups, despite the seropositivity of IgE antibodies to allergens. However, the levels of IL-10 were significantly different between these two groups ($P = 0.030$), but were similar when the patients and controls were classified according to their levels of total IgE. Additionally, the levels of IL-10 were higher in SLE patients that were seropositive for IgE against *D. pteronyssinus* ($P = 0.044$). According to the score achieved on the ISAAC questionnaire, there would be an association between the presence of asthma and SLE ($P = 0.015$). However, this association was not

supported by the laboratory findings obtained in this study. **Conclusion:** SLE patients have increased levels of total IgE, which are not associated with the production of IgE antibodies to indoor allergens. Moreover, the lower prevalence of these IgE antibodies in SLE patients could be caused by the immune modulation mediated by IL-10, an anti-inflammatory cytokine whose level is increased in these individuals.

Keywords: systemic lupus erythematosus; IgE; allergy; immune modulation; cytokine

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADAB	Ambulatório Docente – Assistencial da Bahiana
ANA	Anticorpo Antinúcleo
Anti-SSA	Autoanticorpo anti-SS-A/Ro
Anti-SSB	Autoanticorpo anti-SS-B/La
ACR	Colégio Americano de Reumatologia
BAFF	<i>B-cell activating fator</i>
Blys	<i>B lymphocyte stimulator</i>
C 2	Complemento 2
C 3	Complemento 3
C 4	Complemento 4
C1q	Complemento 1q
C1r	Complemento 1r
C1s	Complemento 1s
CD 3	<i>Cluster of differentiation 3</i>
CD 40	<i>Cluster of differentiation 40</i>
CD 40L	<i>Cluster of differentiation ligand 40</i>
CD 154	<i>Cluster of differentiation 154</i>
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
ds-DNA	DNA dupla hélice
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> ou Enzimaimunoensaio
FcεRI	Receptor Fc de alta afinidade para IgE
FcγR	Receptor Fc para IgG
HEp-2	Célula epitelial humana – linhagem 2
HLA	Antígenos Leucocitários Humanos
HMx3	Mix de poeira doméstica
HRP	do inglês <i>horseradish peroxidase</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFI	Imunofluorescência indireta
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-10	Interleucina 10
IL-17	Interleucina 17
IL-21	Interleucina 21
IL-22	Interleucina 22
INF- α	Interferon alfa
IFN- γ	Interferon gama
IQR	Intervalo interquartil
IRF	Fator de Transcrição 5 da produção de interferon- α
ISAAC	<i>International Study Of Asthma And Allergies In Childhood</i>
LAPIM	Laboratório de Pesquisa em Imunologia
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LID	Limite Inferior de Detecção
MHC-II	Complexo Principal de Histocompatibilidade Classe II
PBS	Salina Tamponada com Fosfato
<i>PTPN22</i>	Protein Tyrosine Phosphatase, Non Receptor Type 22
RNP	Ribonucleoproteína
SLAM	<i>Systemic Lupus Activity Measure</i>
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity</i>
Sm	<i>Small Nuclear Ribonuclear Protein</i>
STAT 4	Signal Transducer and Activator of Transcription 4
STAT 6	Signal Transducer and Activator of Transcription 6
TMB	Tetrametilbenzidina
TGF- β	Fator de Transformação do Crescimento β
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
UI	Unidade Internacional
USA	Estados Unidos da América

VHS	Velocidade de Hemossedimentação
VR	Valor de referência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO	13
1.2	EPIDEMIOLOGIA	14
1.3	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	15
1.4	PATOGENIA	16
1.5	REGULAÇÃO IMUNE	19
1.6	IMUNOGLOBULINA E (IgE)	22
1.7	ALERGIAS RESPIRATÓRIAS	24
1.8	DOENÇAS ALÉRGICAS E LES	24
1.9	ISAAC	25
2	RELEVÂNCIA	26
3	HIPÓTESES	26
4	OBJETIVOS	27
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
5	MATERIAIS E MÉTODOS	28
5.1	PACIENTES E CONTROLES	28
5.2	METODOLOGIA	29
5.2.1	Obtenção das amostras biológicas	29
5.2.2	Hemograma e Velocidade de Hemossedimentação	29
5.2.3	Avaliação de alergia respiratória	29
5.2.4	Níveis séricos de IgE	29
5.2.5	Complemento C3 e C4	30
5.2.6	Pesquisa de anticorpos antinucleares	30
5.2.7	Anticorpos IgE específicos	31
5.2.8	Dosagem de citocinas	31
6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
7.	RESULTADOS	33
7.1	CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS	33
7.2	AVALIAÇÃO LABORATORIAL	34
7.3	NÍVEL SÉRICO DE IGE TOTAL	36
7.4	ANTICORPOS IgE PARA AEROALÉRGENOS	38
7.5	NÍVEIS SÉRICOS DE IL-2, IL-4, IL-5 E IL-10	42

7.6	ALERGIA RESPIRATÓRIA.....	44
8	DISCUSSÃO.....	45
9	CONCLUSÕES.....	49
10	REFERÊNCIAS.....	50
11	APÊNDICE.....	56
11.1	ISAAC.....	56
11.2	SLEDAI.....	58

1. INTRODUÇÃO

1.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune caracterizada por inflamação crônica sistêmica, cuja imunopatogênese é representada principalmente pela ativação aumentada das células B e produção exacerbada de autoanticorpos com mais de 100 especificidades para autoantígenos celulares e extracelulares. Nesta enfermidade, existe a formação de complexos imunes circulantes persistentes que se depositam em diferentes órgãos e tecidos, constituindo-se em um dos aspectos mais importantes da imunopatogenia do LES. A etiologia do LES é desconhecida, no entanto está relacionada, principalmente, com a predisposição genética, aos hormônios sexuais, ao uso de certos medicamentos e a fatores ambientais como infecções, radiação UV, nutrição, entre outros (MOK e LAU, 2003; LI, 2005; TSOKOS, 2011; GRIMALDI, 2006; PETRI 2008; EDWARDS, 2005; LAU, 2006).

O diagnóstico do LES é suportado clinicamente por onze critérios clínicos e laboratoriais de classificação propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia, sendo necessário que o paciente apresente pelo menos quatro destes. Entre estes, estão: eritema malar, lesão discóide, fotossensibilidade, úlceras orais/nasais, artrite, serosite, comprometimento renal, alterações neurológicas, hematológicas e imunológicas com presença marcante de anticorpos antinucleares (HOCHBERG, 1997).

No entanto, o diagnóstico não é tão simples, existindo situações nas quais os sintomas são inespecíficos e os achados laboratoriais exigem experiência e formação especializada na área de doenças reumáticas para uma investigação mais minuciosa (GRIFFITHS, MOSCA e GORDON, 2005; O'NEILL e CERVERA, 2010).

O tratamento do LES está associado às manifestações clínicas presentes nos pacientes, sendo usado desde anti-inflamatórios não esteroides e antimaláricos, particularmente a hidroxicloroquina, até drogas imunossupressoras como metotrexato e azatioprina, entre outros. Entretanto, os corticosteroides são os mais utilizados para o controle do LES, particularmente nos pacientes com atividade do LES moderada e alta. A ciclofosfamida é o medicamento escolhido para o tratamento da nefrite lúpica, geralmente associada com a azatioprina. Mais

recentemente, o tratamento biológico voltado para a modulação das funções dos linfócitos T, B e seus produtos, principalmente citocinas, tem despertado o interesse de vários grupos de pesquisa (O'NEILL e SCHRIEBER, 2005; TSOKOS, 2011; CHAN, et al., 2013).

1.2 Epidemiologia

A incidência do LES no gênero feminino é superior àquela observada no gênero masculino, numa razão estimada de 2:1 em grupos jovens, antes puberdade, podendo atingir até a relação 12:1 na idade adulta. Indivíduos afrodescendentes apresentam uma maior prevalência do LES em comparação às populações caucasianas, contudo, estudos realizados na África mostram que neste continente o LES é uma doença considerada rara. Com exceção dos havaianos, as populações de etnia indígena, japonesa, chinesa, filipina, esquimó, dentre outras, apresentam maior incidência de LES em comparação à população caucasiana (BONGU, CHANG e RAMSEY-GOLDMAN, 2002; SÁNCHEZ, et al., 2012).

O LES apresenta alta morbidade e alta mortalidade, contudo, a sobrevida dos portadores desta doença aumentou significativamente nos últimos anos graças ao aumento do conhecimento sobre a mesma e possibilidade de diagnóstico precoce e tratamentos mais eficientes. Infelizmente a limitada situação, sócio econômica dos pacientes com LES é um fator que dificulta a obtenção melhores resultados, sendo observado que em populações economicamente menos favorecidas estes indivíduos apresentam menor sobrevida (BORCHERS, et al., 2004).

No Brasil, embora não exista um estudo epidemiológico a nível nacional, a Sociedade Brasileira de Reumatologia estima que uma a cada 1.700 mulheres tenha LES. Na Bahia, a população feminina corresponde a 51% da população geral, sendo a maior população do Nordeste e a quarta maior do Brasil. De acordo com o censo de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, atualizado em julho de 2012, a população feminina estimada no Estado da Bahia corresponderia a 7.229.423 mulheres, existindo, portanto, a possibilidade de 4.252 mulheres baianas terem LES atualmente. Tal estatística é preocupante, principalmente face à grande ancestralidade africana da população baiana, o que contribui para uma maior incidência desta doença na população feminina.

1.3 Manifestações clínicas

O LES é uma doença autoimune caracterizada por inflamação sistêmica crônica, que cursa com o comprometimento de diferentes tecidos e órgãos, resultando em múltiplas manifestações clínicas. Font e colaboradores (2004), com o objetivo de avaliar a prevalência das principais características clínicas, hematológicas e manifestações imunológicas do LES, realizaram na Espanha um trabalho de coorte entre 1980 a 2001 envolvendo 600 pacientes (89% mulheres e 11% homens). A manifestação clínica mais frequente neste estudo foi artrite, acometendo 83% dos pacientes, seguido de eritema malar em 54%, fotossensibilidade em 41% e disfunção renal em 34% dos indivíduos incluídos. A presença de anemia hemolítica foi identificada em 8% dos indivíduos participantes. Anticorpos antinucleares (ANA) foram detectados em 99,5% dos pacientes, sendo o anticorpo anti-dsDNA positivo em 90%, seguido de anticorpos com especificidade para os autoantígenos SSA/Ro (23%), SSB/La (8%) e Sm (13%). Muitas outras manifestações menos prevalentes foram também mostradas, comprovando a grande variabilidade clínica e laboratorial que o LES pode apresentar num determinado grupo étnico.

No Brasil, Rocha e colaboradores (2000) investigaram 100 pacientes (97 mulheres e 3 homens) com LES de um centro de referência de reumatologia em Salvador (Bahia), tendo verificado que as manifestações clínicas mais frequentes nos pacientes eram artralguas (97%), lesões mucocutâneas (87%), fotossensibilidade (77%), alterações hematológicas (57%), alterações renais (39%) e anemia hemolítica (4%). Autoanticorpos antinucleares foram detectados em todos os pacientes, com prevalência de 20% para anticorpos anti-SSA/Ro, 17% para anticorpos anti-dsDNA, 13% para anticorpos anti-Sm e 2% para anticorpos anti-SSB/La.

Um estudo retrospectivo realizado em Belém do Pará, com finalidade de caracterizar as manifestações clínicas e alterações laboratoriais em pacientes portadores de LES de atendidos em um serviço privado de medicina desta cidade, no período de 1990 a 1999, mostrou que de 104 pacientes identificados como portadores desta enfermidade, 91,3% eram mulheres, das quais 53,8% da raça branca, com maior prevalência da doença em mulheres entre 26 a 30 anos de idade. A presença de anticorpos antinucleares foi demonstrada em 83,8%, tendo sido a

artrite e/ou artralgia a manifestação clínica mais prevalente nos pacientes (77,9%). Contudo, uma baixa prevalência de fotossensibilidade (34,6%) foi observada neste estudo, apesar de Belém estar situada numa região de grande exposição à radiação ultravioleta (SAUMA, et al., 2004).

Nakashima e colaboradores (2011) em outro estudo brasileiro realizado na cidade de Cascavel (Paraná) identificaram de 2007 a 2008, em todos os serviços de saúde deste município, 14 pacientes com LES, e concluíram que a incidência nesta cidade era de 4,8 casos: 100.000 habitantes/ano. O grupo era formado apenas por mulheres, de idade média de 41,5 anos. A maioria das pacientes (85,7%) apresentou artrite, 64,3% manifestaram fotossensibilidade, 50% tinham distúrbios hematológicos, 28,6% apresentaram distúrbios renais e todas tinham a presença de autoanticorpos antinucleares.

Assim, os estudos acima mostram que apesar das múltiplas manifestações clínicas de LES nos pacientes acometidos em diferentes regiões geográficas, existe um padrão clínico que se mantém nos portadores desta doença autoimune, independente das suas etnias.

1.4 Patogenia

A patogenia do LES está fortemente associada a fatores genéticos, envolvendo múltiplos genes, sendo estimada a existência de mais de trinta associações. Entre estes, estão genes responsáveis pela transcrição de proteínas importantes para a imunidade inata e adaptativa, incluindo citocinas, quimiocinas e adesinas, além daquelas envolvidas no processo de apoptose e depuração de restos apoptóticos e complexos imunes (GATTO, et al., 2013).

Os genes da região do complexo principal de histocompatibilidade (major histocompatibility complex - MHC), principalmente aqueles que codificam os antígenos leucocitários da classe II, HLA-DR2 e HLA-DR3, têm sido fortemente associados com maior risco ao desenvolvimento do LES em pacientes, independente da sua etnia. Mais recentemente, outros genes HLA-II (*HLA-DRB1*, *DQA1* e *DQB1*), têm sido associados à susceptibilidade ao LES (GATTO, et al., 2013).. Genes da região MHC codificadores dos antígenos HLA-III, codificadores para o componente C4 do complemento (*C4A*) e TNF- α (ex. alelo (*TNF*) α -308),

também têm sido associados com o risco de LES. Entretanto, outros genes não HLA também podem estar envolvidos no desenvolvimento do LES, com maior prevalência em determinados grupos étnicos, mas as suas associações com a patogênia de LES são bem menos importantes que aquelas observadas com os genes da região MHC. Adicionalmente, polimorfismos em genes codificando o fator de transcrição 5 da produção de interferon- α (*IRF5*) constituem uma das mais importantes associações ao risco de LES, face ao importante papel desta citocina na patogênia do LES. Também existe documentação da presença em pacientes lúpicos de polimorfismos em genes como *STAT4*, que codifica o fator de transcrição *STAT4* (signal transducer and activator of transcription 4), *PTPN22* (protein tyrosine phosphatase, non receptor type 22) e *Fc γ R*, envolvido com a codificação dos receptores celulares de IgG *Fc γ RIIA* e *Fc γ RIIB*. Outro importante aspecto na patogênia do LES são as modificações epigenéticas que correspondem a trocas na expressão gênica causadas por metilação de DNA, modificações em histona e interferência microRNA (miR), sem afetar a sequência de DNA (GATTO, et al., 2013).

O LES é uma doença mais prevalente no gênero feminino, mostrando que os hormônios sexuais influenciam o desenvolvimento do mesmo em indivíduos predispostos. Os resultados das pesquisas para avaliar tal influência em pacientes com LES têm evidenciado que em ambos os gêneros a presença da doença está associada a baixos níveis de hormônios andrógenos e altos níveis de estrógenos, os quais mostram correlação com a ativação e curso da mesma, sendo o LES mais prevalente na população feminina em idade fértil, ou seja, entre a puberdade e a menopausa (GRIMALDI, 2008).

Entre os vários fatores que podem influenciar o desenvolvimento do LES estão as alterações imunológicas. Uma destas alterações é o defeito na remoção de restos nucleares apoptóticos, que persistem e são disponibilizados às células T autorreativas por células apresentadoras de antígeno. Após interação destas células com linfócitos B, estes são induzidos à produção de autoanticorpos contra epítomos presentes nos mesmos (TSOKOS, 2011; GATTO, et al., 2013).

Uma hipótese sobre a imunopatogênia do LES se apoia na deficiência de componentes do sistema complemento também poderia estar envolvida na patogênese do LES. A deficiência em C1q e C1r/C1s é associada com alto risco, enquanto as deficiências em C4 e C2 têm sido associadas com riscos menores de desenvolvimento desta enfermidade. As possíveis causas deste risco de LES estão

relacionadas com diminuição da depuração de complexos imunes, diminuída capacidade de promoção da retirada de restos apoptóticos, trocas na regulação de citocinas e tolerância imunológica modificada, esta última associada com o papel do complemento na eliminação de linfócitos autorreativos durante a maturação do sistema imune (CHEN, DAHA e KALLENBERG, 2010).

No LES, a principal característica da resposta imune humoral é a hiperatividade dos linfócitos B e diversificada produção de anticorpos contra antígenos celulares e proteínas solúveis, a qual está intimamente associada com a expressão aumentada de importantes mediadores imunológicos como Fator Estimulador de Linfócitos B (BAFF), interleucinas IL-6 e IL-10 (BECKER-MEROK, NIKOLAISEN e NOSSENT, 2006; KIROU e CROW, 1999; LLORENTE, et al., 1995).

Existem mais de 100 especificidades antigênicas de autoanticorpos descritos no LES. Entre os mais estudados e de importância clínica são os anticorpos anti-dsDNA, anti-Sm, anti-SSA/Ro, anti-SSB/La, anti-RNP e mais recentemente, os anticorpos antinucleossomo. Anticorpos anti-dsDNA têm sido implicados na nefrite lúpica e usados na monitoração da atividade desta doença, enquanto os anticorpos contra as ribonucleoproteínas SSA e SSB têm sido principalmente associados ao lúpus cutâneo (COOK, 1998).

Embora produzidos em grande número quando avaliada as suas especificidades, e precedendo em muitos anos as manifestações clínicas do LES, poucos autoanticorpos têm uma ação patogênica comprovada, pois nem sempre é possível mostrar o envolvimento dos mesmos na imunopatogenia do lúpus através de modelos experimentais. Assim, especial atenção tem sido dada aos autoanticorpos antiproteínas complexadas com fosfolípides negativos como a β 2-Glicoproteína I, que estariam envolvidos em eventos trombóticos no LES; anticorpos contra antígenos eritrocitários, mediadores da anemia hemolítica nesta doença e também autoanticorpos dirigidos para epítomos do ácido desoxirribonucléico com a configuração de dupla hélice ou nativa (WANDSTRAT, et al., 2006; ARBUCKLE, et al., 2003).

Anticorpos anti-dsDNA têm sido associados com a atividade do LES, em particular a nefrite lúpica, sendo objeto de intensa investigação e controvérsias. Contribuem para estas divergências da importância dos anticorpos anti-dsDNA: a detecção destas imunoglobulinas vários anos antes da manifestação clínica do LES, a ausência destes anticorpos em cerca de 40-50% dos portadores de LES, a

reatividade cruzada com diferentes autoantígenos e a falta de demonstração conclusiva do seu envolvimento na imunopatogenia do LES em modelos experimentais com camundongos. Contudo, estudos moleculares têm demonstrado que anticorpos anti-dsDNA que possuem 7 resíduos de arginina, asparagina e lisina na região variável da cadeia pesada estariam envolvidos na imunopatogênese do LES (ISENBERG, 2002; ISENBERG, 2004; YUNG e CHAN, 2008).

Recentemente, foi demonstrado no nosso laboratório que anticorpos anti-dsDNA de diferentes isotipos (IgA, IgE, IgG e IgM) podem ser encontrados em uma população de portadores de LES com forte afrodescendência, atendidos no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Santa Izabel, em Salvador-Bahia. Embora os anticorpos IgG fossem mais prevalentes nestes indivíduos, existiram pacientes que tinham até três diferentes isotipos de anticorpos anti-dsDNA simultaneamente, e outros que apenas reagiram no teste de ELISA para anticorpos IgG. Uma importante observação neste estudo foi a falta de associação entre os achados laboratoriais sugestivos de disfunção renal lúpica (proteinúria, hematúria e cilindrúria) e a presença de anticorpos anti-dsDNA (ATTA, et al., 2009).

1.5 Regulação imune

A desregulação na produção de citocinas nos pacientes com LES é um fator que contribui para desenvolvimento de inflamação nos tecidos e lesões nos órgãos. Entre as citocinas envolvidas neste processo, o interferon tipo I alfa ($IFN-\alpha$), cuja produção é principalmente realizada pelas células dendríticas plasmocitóides, é o principal responsável pela ativação, diferenciação e maturação de células imunocompetentes e efectoras da resposta imune. Além de exercer atividade supressora sobre as células T regulatórias, este interferon tipo I também inibe a apoptose de células T autorreativas e promove a expressão de autoantígenos e produção de anticorpos (GATTO, et al., 2013).

Outra citocina atualmente bastante investigada no LES é um membro da família de ligante do TNF conhecido como BLys (B lymphocyte stimulator) ou BAFF (B-cell activating fator), envolvida na ativação e sobrevivência dos linfócitos B. Os níveis séricos desta citocina estão aumentados nos pacientes com LES, existindo relatos da correlação dos seus níveis com os níveis de anticorpos anti-dsDNA. O

BAFF é normalmente produzido por células dendríticas e monócitos, contudo, células T de pacientes com LES são também capazes de produzi-lo, existindo a possibilidade que esta fonte extra de BAFF potencialize a ativação dos linfócitos B nesta doença (SU, et al., 2012).

Controvérsias ainda existem sobre o papel de várias citocinas associadas ao perfil Th1 ou Th2 na imunopatogenia do LES. Contudo, existem estudos apoiando uma produção deficiente de IL-2 nesta enfermidade, o que se refletiria em defeitos no processo de crescimento e diferenciação dos linfócitos T, na indução da morte celular, geração de células T regulatórias e maior susceptibilidade às infecções virais (RUS e VIA, 2007).

Outra importante citocina do perfil Th1, o interferon- γ , tem sido também investigada. Porém, tais estudos têm produzido resultados conflitantes, principalmente no que se relaciona à sua produção no LES e seu envolvimento na atividade desta doença. Entretanto, tem sido especulado que a propriedade que esta citocina possui de estimular a expressão de MHC-II pode ser um importante fator na quebra de tolerância imunológica, além de amplificar os mecanismos que participam do dano tecidual no LES. Por outro lado, tem sido relatado que células efectoras periféricas estimuladas simultaneamente com anticorpos anti-CD3 e anticorpos anti-CD28 expressam mais IFN- γ e induzem uma maior produção de BAFF por células mielóides, com consequente ativação e maturação de linfócitos B (DAVIS et al., 2011; HARIGAI et al., 2008).

A participação do TNF- α no LES tem sido objeto de relatos que mostram efeitos opostos de proteção ou ativação do LES em modelos experimentais murinos. Em pacientes portadores de LES, têm sido verificados tanto níveis séricos normais quanto aumentados de TNF- α , enquanto intracelularmente existem relatos de diminuição da sua expressão e baixos níveis desta citocina pró-inflamatória em sobrenadantes de cultivo de células mononucleares do sangue previamente estimuladas. Embora exista relato de um possível efeito protetor de TNF- α em pacientes colombianos lúpicos, cujos níveis desta citocina foram mais elevados em indivíduos com doença inativa, um estudo mais recente desenvolvido na Índia contraria tal possibilidade, sugerindo a provável existência de diferenças étnicas (RUS e VIA, 2007; JACOB e STOHL, 2011; GÓMEZ, et al., 2004; ARORA, et al., 2012).

Em relação às citocinas associadas ao perfil Th2, tanto a IL-4 como a IL-5 têm sido pouco investigadas e os poucos relatos existentes não são definitivos sobre o envolvimento destes mediadores na imunopatogenia e regulação imune do LES. Assim, existe a possibilidade de que a IL-4 poderia aumentar a produção de autoanticorpos através de efeitos diretos sobre os linfócitos B, mas poderia ter efeitos supressores sobre os linfócitos T. Menos informação está disponível neste tema sobre a participação da IL-5, a qual tem sido principalmente investigada no lúpus cutâneo, onde tem sido demonstrada a elevação do seu mRNA. Em trabalho recente desenvolvido no nosso laboratório foi verificado que os níveis séricos de IL-4 e IL-5 estão diminuídos em pacientes baianos com LES, o que poderia estar relacionado a uma diminuição da transcrição gênica destas citocinas causada pelo uso de corticosteroides (RUS e VIA, 2007; ATTA, et al., 2010).

Entre as citocinas com atividade imunorregulatória, a IL-10 é a citocina mais investigada no LES. Produzida por quase todos os tipos de leucócitos, a IL-10 tem como principais funções de regulação do sistema imune: a inibição da ativação das células apresentadoras de antígeno, atenuação da ativação de células T e a estimulação da secreção de TNF- α a partir da regulação negativa de moléculas co-estimulatórias (YAP e LAI, 2010).

Uma importante função da IL-10 é estimular a proliferação e diferenciação de linfócitos B, o que poderia explicar parcialmente sua participação na ativação do LES. Como seus níveis estão mais elevados em pacientes com LES que em controles saudáveis, a ativação dos linfócitos B ocorre de forma exacerbada levando a uma produção aumentada de imunoglobulinas (MOK e LAU, 2003).

Csiszar e colaboradores (2000), mostraram que havia uma significativa elevação na expressão de transcritos de mRNA de INF- γ e IL-10 em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com LES. Contrariamente, uma redução significativa na transcrição do mRNA de IL-4 para o grupo com LES em comparação ao grupo controle podia também ser observado.

Conforme anteriormente documentado, os níveis de citocinas associadas às alergias (IL-4 e IL-5) não se encontram aumentadas no LES, enquanto tem sido bem demonstrado um importante aumento de IL-10, uma citocina imunorregulatória que também modula negativamente a expressão clínica das doenças respiratórias mediadas por IgE. Tal influência de IL-10 sobre as alergias respiratórias tem sido bem demonstrada em infecções parasitárias que cursam com o aumento deste

mediador imunológico em trabalhos realizados com *S. mansoni*. Por outro lado, experimentos de imunoterapia sublingual com alérgenos têm demonstrado a importância de IL-10 na regulação negativa da resposta imune de IgE. Assim, é possível que no LES exista uma modulação imune negativa da síntese de IgE mediada por IL-10, incluindo anticorpos IgE para alérgenos envolvidos nas alergias respiratórias como asma e rinite, com consequente atenuação das suas manifestações clínicas (VAN DEN BIGGELAAR, et al., 2000; MEDEIROS, 2005; CIPRANDI, et al., 2006).

Mais recentemente, tem existido o interesse de diversos grupos no envolvimento de citocinas associadas à resposta imune Th17 (IL-17A, IL-17F, IL-21 e IL-22) na imunopatogenia do LES. Assim, tem sido verificado que pacientes portadores de LES possuem níveis séricos elevados de IL-17 e maior frequência de células produzindo esta citocina no sangue periférico. Contudo, parece existir um balanço homeostático entre células Th17a e células T regulatórias, o qual está comprometido na doença ativa. Por outro lado, a deficiência na produção de IL-2 observada nos pacientes com LES poderia contribuir para este desequilíbrio na doença ativa, face ao requerimento de IL-2 na geração de células T regulatórias (APOSTOLIDIS, et al., 2011).

O trabalho de Milonvanic e colaboradores (2010) veio pra corroborar com as hipóteses acima mostrando que a interleucina 17^a promove, sim a produção de IgE em linfócitos B humanos. Isso foi mostrado a partir de uma técnica de citometria de fluxo comparando as dosagens de IL-17a de pacientes alérgicos e doadores não alérgicos.

1.6 Imunoglobulina E (IgE)

A imunoglobulina E é uma imunoglobulina monomérica de peso molecular de 190 kDa que apresenta menor concentração sérica entre as imunoglobulinas humanas. Também, possui a menor meia-vida entre as imunoglobulinas desta espécie, aproximadamente dois dias, a qual é influenciada por fatores genéticos e estação sazonal. Na síntese da IgE, os linfócitos Th2 previamente ativados pelo antígeno apresentado por células apresentadoras de antígeno, incluindo linfócitos B com imunoglobulina de superfície específica para o mesmo, passam a expressar IL-

4, IL-13 e CD154 (CD40-L) e após ligação em receptores específicos nos linfócitos B, induzem o switch para que estas células produzam anticorpos IgE. O primeiro sinal neste switch é mediado por IL-4 ou IL-13 atuando sobre receptores através de STAT6 (transdutor e ativador de transcrição 6). Adicionalmente, um segundo sinal para este switch para produção de IgE é dado pela interação entre linfócitos T e linfócitos B, através da molécula de superfície CD40 do linfócito B com o ligante CD40-L localizado na superfície celular dos linfócitos T. Posteriormente, basófilos expressando IL-4 e IL-13 parecem amplificar a produção da IgE, além de sustentar a diferenciação de células Th2. Os níveis de IgE aumentam durante a infância, alcançando níveis definitivos na adolescência. Contudo, são influenciados por múltiplos genes, raça e fatores ambientais como infecções parasitárias e exposição a alérgenos. Contrariamente, a síntese de IgE é modulada negativamente por células T regulatórias Th3 (expressando TGF- β) e Tr1 (expressando IL-10), sendo também inibida na presença de algumas citocinas como IL-10, IFN- γ , TGF- β e IL-21 (STONE, PRUSSIN e METCALFE, 2010; PATE et al., 2010).

Pacientes portadores de LES podem apresentar níveis séricos elevados de imunoglobulina E, os quais têm sido associados com anticorpos contra autoantígenos nucleares, glomerulonefrite e atividade desta doença. Adicionalmente, além de existir aumento de IgE em portadores de LES, este aumento parece ser mais acentuado em pacientes do gênero masculino, o que foi associado à hipometilação de DNA (SEKIGAWA, 2003).

Nível aumentado de IgE sérica na ausência de alergia no LES foi inicialmente reportados por Elkayan e colaboradores (1995), os quais encontraram uma dissociação entre o aumento de IgE e de IgG nos pacientes lúpicos, além de associar a atividade do LES e a nefrite lúpica com este aumento de IgE. Mais recentemente, a importância de um ambiente Th2 na imunopatogenia do LES, especialmente na nefrite lúpica, com a participação de autoanticorpos IgE e basófilos tem sido demonstrada por diversos trabalhos (ELKAYAM, et al., 1995; ATTA, et al., 2004; ATTA, et al., 2010; CHARLES, et al., 2010; CHARLES E RIVERA, 2011; BOSCH, 2011).

1.7 Alergias respiratórias

A asma alérgica e a rinite alérgica são doenças respiratórias mediadas por anticorpos IgE após exposição a alérgenos ambientais, seguindo a sensibilização dos linfócitos T e B. A fase inicial de sensibilização se dá com a exposição ao alérgeno e apresentação do mesmo aos linfócitos Th2 que irão produzir IL-4 e IL-13 e interagir com os linfócitos B através de receptores específicos e também pela interação CD40/CD40L, resultando na produção de anticorpos IgE específicos, que irão se ligar ao receptor de alta afinidade FcεRI presentes em mastócitos e basófilos. Após uma segunda exposição alérgica, se dá a fase efetora desta reação representada pela reação imune do IgE complexado ao receptor de alta afinidade no mastócito e basófilos com o alérgeno e liberação de mediadores bioativos como histamina, leucotrienos, prostaglandinas, proteases, proteoglicanos e citocinas.

Em torno de 35% a 50% dos pacientes com rinite alérgica podem apresentar níveis normais de IgE, enquanto cerca de 20% dos indivíduos atópicos apresentam níveis elevados desta imunoglobulina. Aparentemente, existe uma relação íntima entre a rinite alérgica e a asma, pois embora sejam doenças alérgicas respiratórias diferentes, possuem em comum a mesma entidade nosológica. A partir de dados disponíveis na literatura, estima-se que em torno de 80% dos pacientes asmáticos podem apresentar rinite alérgica. Tal associação dificulta o controle eficiente da asma, e leva ao comprometimento da qualidade de vida dos indivíduos acometidos por estas enfermidades (FREW, 2008; DYKEWICZ, 2008; IBIAPINA, 2008).

1.8 Doenças alérgicas e LES

A prevalência de alergias em portadores de LES tem sido objeto de investigação por diferentes grupos. Morton e colaboradores (1998) demonstraram não haver diferença estatística significativa na ocorrência de desordens alérgicas (asma, rinite alérgica, urticária, entre outras) comparando um grupo de 49 pacientes portadores de LES com um grupo controle de 98 pessoas sadias de Nottingham, Reino Unido, concluindo não haver risco de uma pessoa desenvolver uma doença alérgica devido a presença de LES. Tal falta de associação entre LES e alergia foi também demonstrada por Wozniacka e colaboradores (2003) que demonstraram em

estudo realizado na Polônia que embora os níveis de IgE fossem mais elevados em pacientes com LES ativo, tal condição não estava associado com a presença de alergia (MORTON, et al., 1998; WOZNIACKA, et al., 2003).

No Brasil, Atta e colaboradores (2004) investigaram a presença de anticorpos IgE para aeroalérgenos e de autoanticorpos anti-IgE em portadores de LES encontrando muito baixa prevalência destas imunoglobulinas, o que sugeriu falta de associação entre LES e alergia. Contudo, apenas 21 indivíduos portadores de LES e 10 pacientes com doenças alérgicas respiratórias participaram deste estudo, recomendando um maior aprofundamento da investigação de alergia em pacientes portadores desta doença autoimune (ATTA, et al., 2004).

1.9 ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood)

O questionário ISAAC foi elaborado a partir de um projeto de duas grandes multinacionais da Nova Zelândia e Alemanha em 1990 com o intuito de conduzir um estudo de nível internacional para avaliar e comparar a gravidade da asma, rinite e eczema em crianças de diferentes populações. É um questionário dividido em três módulos, os quais avaliam três tipos de alergias: asma alérgica, rinite alérgica e eczema atópico. O módulo de asma é constituído de 8 perguntas e cada uma possui um valor atribuído, sendo a nota de corte igual a 6, (anexo 1). O módulo de rinite alérgica é composto de 6 questões, em que cada uma tem um valor atribuído, com nota de corte igual a 4 (anexo 1). A pontuação de cada questão está incluída no questionário em anexo (ASHER, et al., 1995; VANNA, 2001; WANDALSEN, 2009).

2. RELEVÂNCIA

Os estudos realizados até a presente data não tem demonstrado, em sua maioria, a presença de alergia mediada por anticorpos IgE em indivíduos com LES, existindo, contudo, poucos relatos sobre doenças alérgicas associadas a essa doença, principalmente no Brasil.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de conhecer a prevalência de doenças alérgicas respiratórias em uma população portadora de LES residente e assistida clinicamente em Salvador (BA), contribuindo para uma melhor compreensão da relação existente entre doenças alérgicas e o lúpus eritematoso sistêmico. Adicionalmente, uma investigação de algumas citocinas envolvidas nesta relação como IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10, poderá contribuir para a elucidação de alguns possíveis mecanismos que poderiam estar envolvidos na expressão das doenças alérgicas em portadores de LES.

3. HIPÓTESES

Hipótese nula, H0: Pacientes portadores de LES apresentam igual ou maior prevalência de anticorpos IgE para aeroalérgenos que controles sadios.

Hipótese alternativa, H1: A produção de anticorpos IgE para aeroalérgenos em portadores de LES é modulada negativamente pelo aumento de IL-10.

4. OBJETIVO GERAL

Investigar a ocorrência de alergias respiratórias em portadores de LES atendidos no Núcleo de Reumatologia do Hospital Santa Izabel – Salvador (BA).

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar através de questionário específico ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) a presença de doenças alérgicas respiratórias (asma e rinite) em pacientes com LES e controles;
2. Investigar o nível sérico de IgE total nestes dois grupos;
3. Determinar a resposta de IgE específica para aeroalérgenos nos portadores de LES e controles, usando proteínas alergênicas de ácaros, fungos, barata e epitélios de cão e gato;
4. Determinar os níveis séricos de IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 nos pacientes e controles;
5. Correlacionar a presença de alergia e níveis de anticorpos IgE específicos com os níveis das citocinas investigadas.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Pacientes e controles

Foram incluídos neste estudo 81 indivíduos do gênero feminino, de idade variável, sendo a média de $40,8 \pm 12,2$ anos (idade entre 17 – 70 anos, IC 95% = 38,1 – 43,5 anos,) (Tabela 1). Dentre os critérios de exclusão estavam possuir parasitoses, ser do sexo masculino e estado de gestação. Todas foram classificadas clinicamente como portadoras de LES no Núcleo de Reumatologia do Hospital Santa Izabel, de acordo com os critérios diagnósticos do Colégio Americano de Reumatologia (1997), pela equipe médica sob a supervisão do *Dr. Mittermayer B. Santiago*, no período de outubro de 2010 a dezembro de 2011. A atividade do LES foi determinada de acordo com o protocolo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity - SLEDAI 2K (anexo 2)* (GLADMAN, IBAÑEZ, UROWITZ, 2002; TOUMA, UROWITZ, GLADMAN, 2010). A maioria das pacientes estava em uso de prednisona. A coleta de sangue das mesmas para realização de exames pertinentes ao diagnóstico do LES e para dosagem das citocinas e imunoglobulinas relacionadas ao presente estudo foi realizada no ADAB (Ambulatório Docente – Assistencial da Bahiana).

Como controles, foram incluídas 34 mulheres saudáveis, com idade média de $31,6 \pm 10$ anos (idade entre 20 – 67 anos, IC 95% = 28,1 – 35,1 anos), também sem restrição de idade na inclusão, sendo os critérios para inclusão: inexistência de qualquer tipo de doença autoimune ou crônica, com exceção para as doenças alérgicas, e ausência de gestação. A coleta deste grupo foi realizada na Faculdade de Farmácia da UFBA, tendo sido também aplicado o questionário ISAAC a este grupo.

Todos os participantes do estudo foram previamente informados e esclarecidos sobre o mesmo e tiveram suas participações voluntárias confirmadas através das assinaturas no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme previsto na Res. CNS 196/96, e aprovação pelo Comitê de Bioética do Hospital Santa Izabel.

5.2 Metodologia

5.2.1 Obtenção das amostras biológicas

As amostras de sangue das pacientes e controles foram obtidas através da colheita a vácuo em tubo sem anticoagulante para a obtenção de soro e tubo com anticoagulante EDTA para obtenção de sangue total, nos serviços acima referidos. O sangue colhido com EDTA foi usado na determinação de velocidade de eritrossedimentação (VHS) e hemograma, enquanto aquele colhido sem anticoagulante foi centrifugado e após centrifugação e separação do coágulo, o soro obtido foi dividido em alíquotas, das quais uma foi processada imediatamente para a investigação de autoanticorpos e determinação de IgE total, enquanto as demais foram armazenadas congeladas a -70°C para a investigação de anticorpos IgE específicos para aeroalérgenos e determinação de citocinas séricas.

5.2.2 Hemograma e velocidade de eritrossedimentação

A velocidade de hemossedimentação é um teste de laboratório simples e de baixo custo utilizado como **marcador de resposta inflamatória**. Na realização do hemograma foi usado o analisador hematológico CELL-DYN[®] Ruby (Abbott Diagnostic, USA). Por sua vez, a determinação da velocidade de eritrossedimentação foi feita pela técnica de Wintrobe (1935).

5.2.3 Avaliação de alergia respiratória

A presença de alergia respiratória (ASMA) foi evidenciada pela história clínica das pacientes e controles documentada em questionário específico (ISAAC).

5.2.4 Níveis séricos de IgE

Os níveis séricos de IgE total foram determinados através de imunoensaio quantitativo de captura de antígeno, usando nesta determinação o imunoanalisador Access 2 (Beckman-Coulter, USA), com linearidade 0,25 – 3.000 UI/mL. Como valor de referência foi usado um nível de IgE ≤ 100 UI/ml.

5.2.5 Complemento C3 e C4

Os níveis séricos de complemento C3 e C4 foram determinados de forma automatizada pela técnica de nefelometria usando nestas determinações o sistema Immage (Beckman-Coulter, USA). Os valores de referência para C3 e C4 corresponderam a 79 – 152 mg/dL e 16 – 38 mg/dL, respectivamente.

5.2.6 Pesquisa de anticorpos antinucleares

A triagem para a presença de anticorpos IgG antinucleares foi realizada através do método de imunofluorescência indireta (IFI) usando conjunto comercial (Viro-Immun, Labor-Diagnostika GmbH, Alemanha), tendo como substrato antigênico células HEp-2, conjugado de anticorpos anti-IgG humano marcado com isotiocianato de fluoresceína e diluição inicial de 1/40 dos soros em solução salina tamponada (PBS, pH 7,4). Após montagem, a leitura das reações foi realizada em microscópio para epifluorescência (Opton), usando objetiva de 40x. As amostras positivas foram diluídas serialmente e tiveram o padrão de reatividade para ANA classificado conforme previamente preconizado (homogêneo, pontilhado grosso, pontilhado fino, nucleolar ou centromérico).

Os soros positivos e titulados por IFI foram subsequentemente testados para a presença de autoanticorpos anti-dsDNA (VR = 50 UI/mL), antinucleossomo (VR = 20UI/mL), antiproteínas ribossomais P (Rib-P, VR = 10 U/mL) e contra as ribonucleoproteínas Sm (VR = 25 U/mL), RNP (VR = 25 U/mL), SSA/Ro (VR = 25 U/mL) e SSB/La (VR = 25 U/mL). Nesta investigação de anticorpos IgG para antígenos nucleares específicos foram usados conjuntos comerciais de ELISA indireto (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Alemanha), cujas reações foram realizadas em micropoços de placas de poliestireno cobertos com estes antígenos, conjugado de anticorpos anti-IgG humano marcado com peroxidase e substrato de TMB + peróxido de hidrogênio. As absorvâncias das reações foram lidas em leitora de ELISA usando filtros de 450 e 620 nm.

5.2.7 Anticorpos IgE específicos

A presença de IgE anti-aeroalérgeno foi pesquisada inicialmente por teste de ELISA com um painel comercial de alérgenos (HMx3, House Mix 3) presentes na poeira doméstica constituído de alérgenos das seguintes fontes: ácaros *D. pteronyssinus* e *D. farinae*, barata *B. germanica*, epitélios de cão e gato e alérgenos e fungos *A. tenuis*, *C. albicans* e *A. fumigatus*. Os soros com testes de triagem positivos foram subsequentemente investigados para a presença de anticorpos IgE contra alérgenos de *D. pteronyssinus* e de *B. tropicalis*.

Os testes de anticorpos IgE foram realizados de acordo com o protocolo do fabricante (DR. FOOKE Laboratorien GmbH, Alemanha), usando a técnica de ELISA de detecção de anticorpos IgE com alérgenos biotinilados. Brevemente, micropoços de poliestireno cobertos com anticorpo monoclonal anti-IgE humano foram incubados com 50 µL dos calibradores, controles e das amostras de soros por uma hora em temperatura ambiente (22°C). Os poços foram lavados com 500 µL da solução de lavagem, num ciclo de três repetições, para que os componentes excedentes do soro fossem retirados. Logo em seguida foram adicionados 100 µL/poço do alérgeno biotinilado, seguindo-se nova incubação por 1h a 22°C. Após novo ciclo de lavagens, foram adicionados 100 µL/poço de conjugado estreptavidina/peroxidase HRP, seguindo-se nova incubação por 30 min na mesma temperatura anterior. Realizadas as lavagens finais como acima, as reações foram reveladas com substrato de tetrametilbenzidina+ peróxido de hidrogênio, 30 minutos ao abrigo da luz, na mesma temperatura ambiente. Após a adição de 100 µL de uma solução bloqueadora de ácido sulfúrico (H₂SO₄ 0,5M) as absorbâncias produzidas foram medidas a 450-620nm. Os calibradores com concentrações definidas de IgE geraram uma curva de calibração, a qual foi utilizada para calcular as concentrações de anticorpos IgE específicos das amostras.

5.2.8 Dosagem de citocinas

Os níveis séricos da citocina IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 foram determinados por ELISA de captura de antígeno com anticorpos monoclonais de captura e conjugados de anticorpos-biotina e avidina-peroxidase, usando conjuntos de reagentes imunológicos comerciais Ready-SET-Go! (Ebioscience, San Diego, CA, USA), de

acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante. Os seguintes limites inferiores de detecção (LID) e linearidade foram usados para estes imunoenaios: IL-2 (LID = 3,9 pg/mL, linearidade = 4,0 -250 pg/mL), IL-4 (LID = 1,6 pg/mL, linearidade = 2 – 200 pg/mL desta citocina), IL-5 (LID = 4 pg/mL, linearidade = 4 – 500 pg/mL) e IL-10 (LID = 2 pg/mL, linearidade = 2 – 300 pg/mL).

Todas as determinações foram realizadas em duplicata, consistindo inicialmente na incubação dos micropoços cobertos com anticorpos monoclonais com 100 µL dos soros, 18h a 4°C, seguindo-se as incubações com os conjugados. Entre as etapas de incubação dos micropoços com anticorpos biotinizados e conjugado de avidina-peroxidase, foram realizadas lavagens automatizadas dos micropoços com salina tamponada acrescida de Tween 20, de acordo com as recomendações do fabricante. Como substrato nestas reações foi usado solução contendo peróxido de hidrogênio/ tetrametilbenzidina (TMB), enquanto a solução de bloqueio foi uma solução de ácido sulfúrico 8N. As absorbâncias das reações foram determinadas a 450-620 nm em leitora de ELISA Thermo Plate e os níveis séricos das citocinas calculados através de curva padrão construída com concentrações conhecidas destes mediadores imunes.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição das variáveis contínuas foi avaliada pelo teste de D'Agostino e Pearson, sendo os resultados expressos como média + DP ou mediana e intervalo interquartil IQR (Q1 – Q3) a depender do resultado deste teste. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi usado para comparar as medianas de dois grupos. A análise de correlação foi realizada pelo teste de Spearman, enquanto a associação de dois grupos categóricos foi investigada pelo teste exato de Fisher. O nível de significância adotada nestes testes foi de $P < 0.05$. O programa estatístico GraphPad versão 6.0 foi usado na análise estatística dos resultados.

7. RESULTADOS

7.1 Características demográficas e clínicas

As características demográficas e clínicas das pacientes participantes do estudo são apresentadas na tabela 1. A partir da mesma, fica demonstrado que o diagnóstico de LES nestas mulheres apresentava uma mediana de 8 anos, sendo observado que as mesmas possuíam uma mediana de 6 critérios do ARC para classificação de LES. A atividade do LES correspondeu ao índice SLEDAI mediano de 6 (mínimo = 0, sem atividade e máximo = 27, atividade muito alta). Seis pacientes (7,4%) não tinham doença ativa (SLEDAI = 0), em 25 destas (30,9%) a atividade do LES foi leve (SLEDAI = 1 - 5), moderada atividade foi encontrada em 29 pacientes (35,8%) (SLEDAI = 6 – 10), 16 (19,8%) tinham alta atividade da doença (SLEDAI = 11 – 19) enquanto 5 pacientes (6,2%) possuíam atividade muito alta do LES (SLEDAI \geq 20). As manifestações clínicas mais prevalentes foram representadas por artrite, fotossensibilidade, eritema malar e disfunção renal.

Tabela 1 – Características demográficas e clínicas das pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico.

Características	Mediana (IQR)
Idade (anos)	40 (33 – 49,5)
Tempo de doença (anos)	8 (5 – 13,5)
Número de critérios SLEDAI	6 (4 – 9)
SLEDAI	6 (4 – 11,5)
Manifestações mais prevalentes	(N e %)
Artrite	80 (98,7%)
Fotossensibilidade	59 (72,8%)
Rash malar	49 (60,4%)
Disfunção renal	39 (48,1%)

Valores expressos em mediana e intervalo interquartilico entre 25 e 75%, com exceção das manifestações mais prevalentes que apresentam o número de pacientes e a porcentagem representante.

7.2 Avaliação laboratorial

A tabela 2 resume os resultados dos exames laboratoriais do grupo de pacientes com LES. Sessenta e sete pacientes (82,7%) tiveram resultados de VHS acima valor de referência (mulheres < 50 anos de idade = até 20mm/h e > 50 anos de idade = até 30 mm/h), indicando a presença de atividade inflamatória. Não foram detectadas alterações nos níveis de hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais e plaquetas no grupo com LES. Adicionalmente, não foram observadas alterações nos níveis séricos de creatinina.

Anticorpos antinucleares foram encontrados em todas as pacientes. Adicionalmente, existiu uma maior frequência de anticorpos antinucleossomo (88,9%), seguida daquelas de anticorpos anti-dsDNA (61,7%), anti-SSA/Ro e anti-RNP (38,3% ambos), anti-Sm (25,9%), anti-RibP (23,5%) e anti-SSB/La (13,6%) (figura 1). Os títulos destes anticorpos são apresentados na tabela 2.

Foi verificada uma correlação positiva entre os níveis de autoanticorpos antinucleossomo e os índices SLEDAI (teste de correlação de Spearman, $r = 0,380$, $P = 0,001$) e uma correlação negativa entre estes autoanticorpos e os níveis de C3 e de C4 (teste de correlação de Spearman, $r = - 0,327$, $P = 0,005$ e $r = - 0,260$, $P = 0,027$, respectivamente).

Tabela 2 – Características laboratoriais das pacientes com LES.

Exames laboratoriais	*	Valor de referência
VHS (mm/h)	45 (31 – 53,5)	**
Hemoglobina (g/dL)	12 (10,6 – 13)	11,3 – 16,3 g/dL
Hematócrito (%)	36,4 (31,4 – 38,9)	35,0 – 49,0%
Leucócitos	5.300/mm ³ (4.000 – 7.300)	3.700 – 10.000 U/mL
Plaquetas	255 ± 81 (10 ³)	150 – 450 mil/mL
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,8 – 1,0)	0,4 – 1,3 mg/dL
C3 (mg/dL)	91,6 ± 36,4	88 – 201mg/dL
C4 (mg/dL)	15,2 ± 8,4	16 – 47mg/dL

*Valores expressos em média ± DP ou mediana e IQR (25% - 75%.)

**Mulheres < 50 anos de idade = até 20mm/h e > 50 anos de idade = até 30 mm/h.

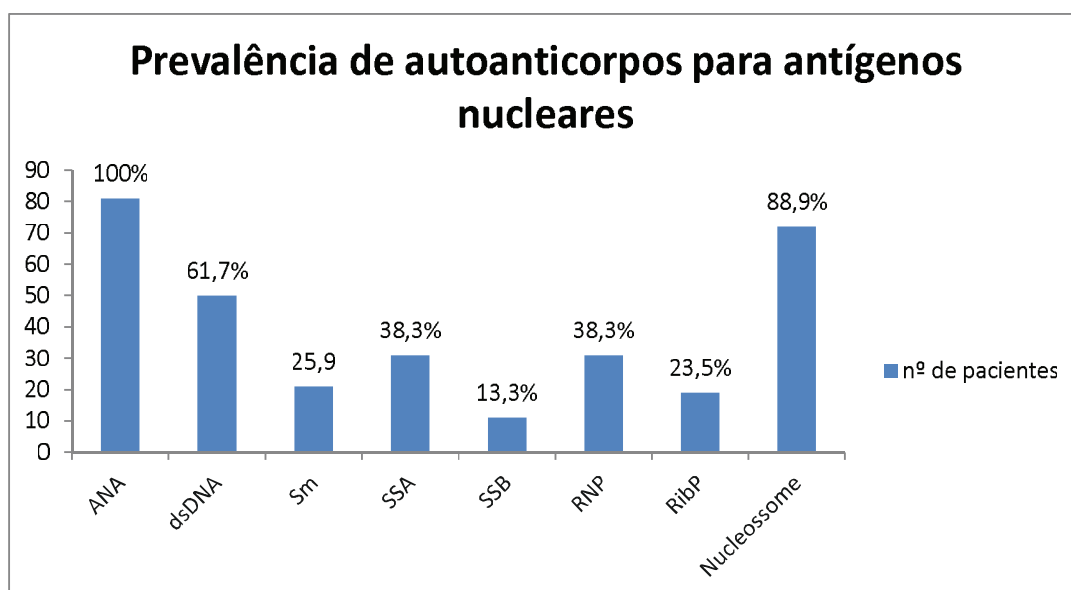


Figura 1 – Frequência de pacientes com autoanticorpos antinucleares de diferentes especificidades.

7.3 Nível sérico de IgE total

O nível sérico de IgE total nas pacientes com LES diferiu daquele apresentado pelos controles, sendo observado uma mediana de 143,0 UI/mL (IQR = 22,9 – 189,6 UI/mL) para o grupo com LES, enquanto no grupo controle apresentou a mediana de 77,2 UI/mL (IQR = 22,9 – 189,6 UI/mL; teste de Mann-Whitney, $P < 0,05$) (figura 2). Níveis aumentados de IgE total (> 100 UI/mL) foram encontrados em 51/81 (63,0%), enquanto 14/34 (41,2%) dos controles apresentaram aumento do nível sérico desta imunoglobulina. Não existiu correlação entre os níveis de IgE total e os índices de atividade do LES medidos através do SLEDAI (teste de correlação de Spearman, $P > 0,05$).

Adicionalmente foi avaliada a correlação que há entre os níveis de IgE total e atividade do LES a partir do teste de Spearman (Fig. 3), e não foi notada nenhuma significância estatística.

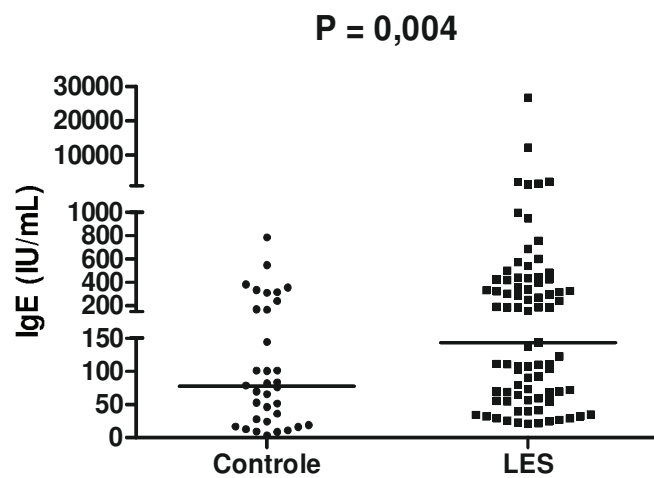


Figura 2 – Níveis de IgE nos grupos controle e com LES. As linhas horizontais representam as medianas dos níveis de IgE total nos dois grupos. A diferença entre as mesmas foi demonstrada pelo teste de Mann-Whitney.

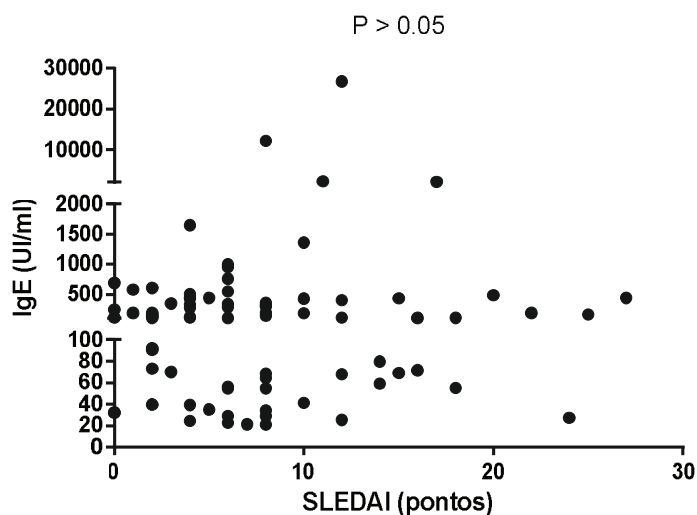


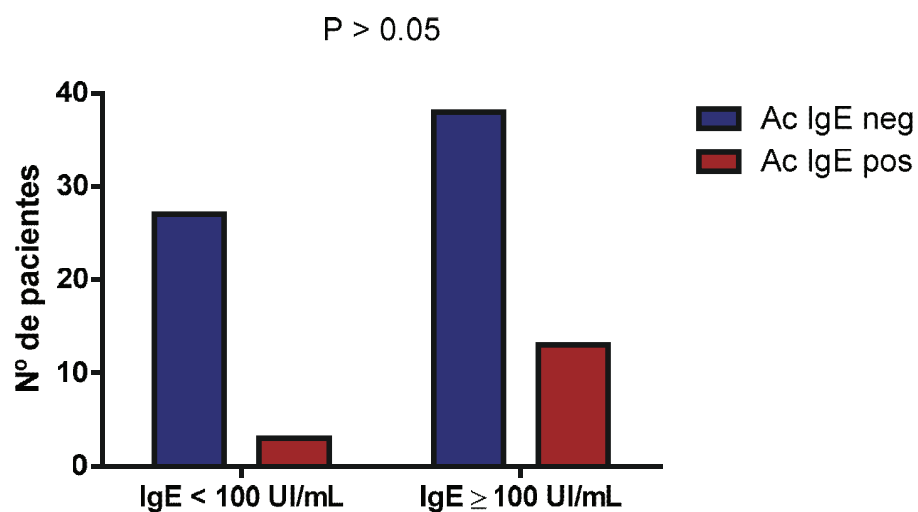
Figura 3 - Correlação entre níveis de IgE total e atividade do LES. Teste de Spearman.

7.4 Anticorpos IgE para aeroalérgenos

Anticorpos IgE específicos para alérgenos da poeira doméstica (HMx3) foram detectados em 16 (19,7%) pacientes, com mediana de 0,49 UI/mL (IQR = 0,45 – 2,46 UI/mL), enquanto no grupo controle 12 indivíduos (32,3%) apresentaram reatividade para este painel de alérgenos, com mediana de 0,67 UI/mL (IQR = 0,36 – 2,8 UI/mL). Assim, não existiu uma associação entre LES e níveis de IgE específico (teste exato de Fisher, $P > 0,05$), nem existiram diferenças entre os níveis de anticorpos para este painel de alérgenos quando os dois grupos, pacientes e controles, foram comparados ($P > 0,05$).

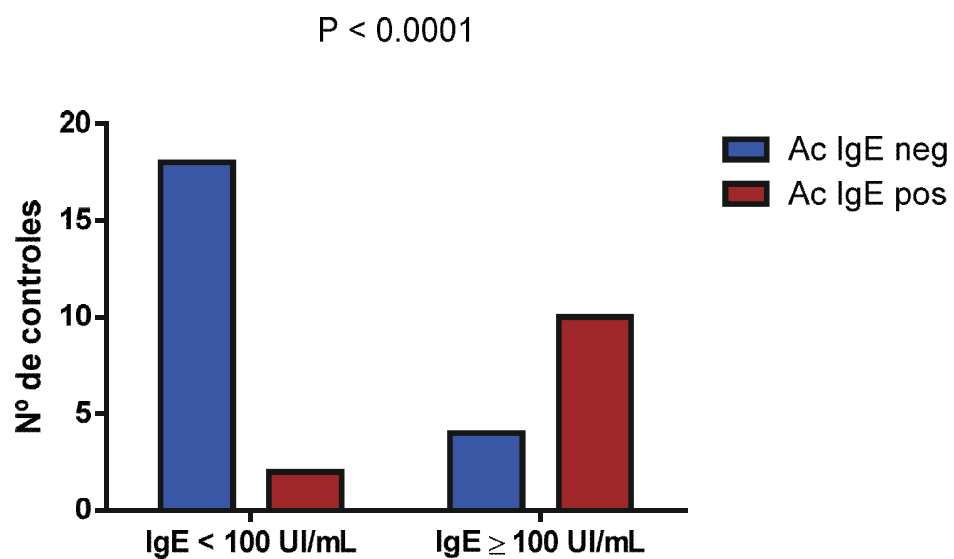
Dos 16 pacientes com LES que reagiram no teste acima, 6 apresentaram reatividade para alérgeno de *Dermatophagoide pteronyssinus*, com mediana de 3,12 UI/mL (IQR = 0,77 - 8,77 UI/mL), e 5 apresentaram reatividade para alérgeno de *Blomia tropicalis* com mediana de 0,97 UI/mL (IQR = 0,74 – 2,25 UI/mL). Dos 12 indivíduos do grupo controle que foram reativos aos antígenos de poeira doméstica, 8 apresentaram reatividade para alérgeno de *D. pteronyssinus* com mediana de 1,26 UI/mL (IQR = 0,42 – 4,42 UI/mL) e 10 apresentaram reatividade para *Blomia tropicalis* com mediana de 2,21 UI/mL (IQR = 0,65 – 4,5 UI/mL) (Figuras 5 e 6). Foi feito um teste de correlação entre títulos de IgE anti-HMx3 e atividade do LES (SLEDAI). Teste de Spearman (Figura 7)

Entre os 16 pacientes que apresentaram reação positiva no teste com poeira doméstica, três (18,8%) tiveram valores de IgE total inferiores a 100 UI/mL. No grupo controle, somente duas das 12 mulheres com anticorpos IgE contra alérgenos da poeira doméstica apresentaram níveis de IgE abaixo de 100 UI/mL. Ao avaliar a associação entre a presença de anticorpos IgE específicos e os níveis elevados de IgE total (> 100 UI/mL), a mesma foi inexistente nas pacientes com LES ($P > 0,05$), no entanto, uma forte associação existiu no grupo controle (teste de associação exato de Fisher, $P < 0,0001$, Figuras 4a e 4b). Adicionalmente, existiu uma maior frequência de anticorpos IgE contra *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis* no grupo controle em relação ao grupo com LES (teste de associação exato de Fisher, $P = 0,012$ e $P = 0,002$, respectivamente).



Dados analisados	Ac IgE neg	Ac IgE pos	Total
IgE < 100 UI/mL	27	3	30
IgE ≥ 100 UI/mL	38	13	51
Total	65	16	81

Figura 4a: Níveis de IgE sérica total e presença de anticorpos IgE contra alérgenos da poeira doméstica em pacientes com LES. Teste de associação exato de Fisher (P > 0,05).



Dados analisados	Ac IgE neg	Ac IgE pos	Total
IgE < 100 UI/mL	18	2	20
IgE ≥ 100 UI/mL	4	10	14
Total	22	12	34

Figura 4b: Níveis de IgE sérica total e presença de anticorpos IgE contra alérgenos da poeira doméstica em controles sadios. Teste de associação exato de Fisher ($P < 0.0001$)

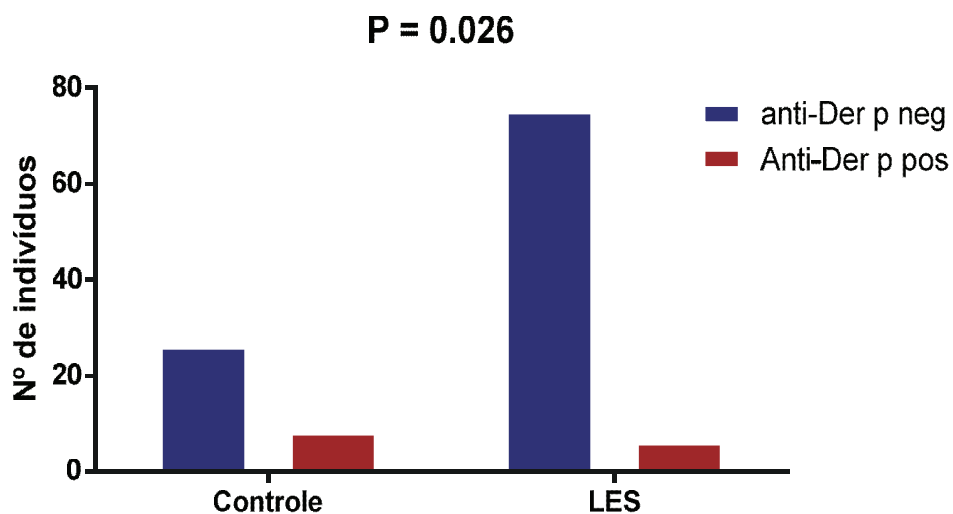


Figura 5 - Frequência de anticorpos IgE anti-*D. pteronyssinus* em controles saudáveis (n = 8) e pacientes lúpicas (n = 6). Teste exato de Fisher.

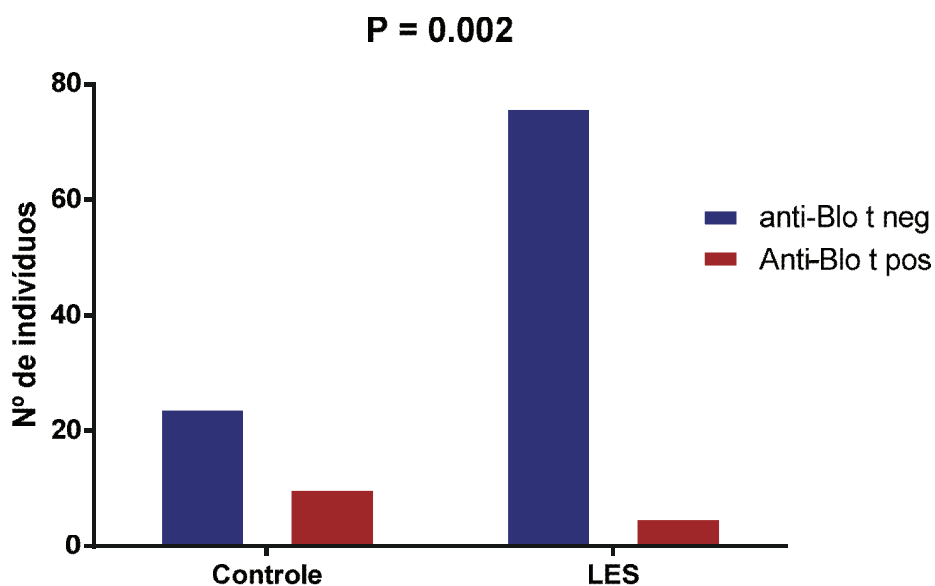


Figura 6 - Frequência de anticorpos IgE anti-*B. tropicalis* em controles saudáveis (n = 10) e pacientes lúpicas (n = 5). Teste exato de Fisher.

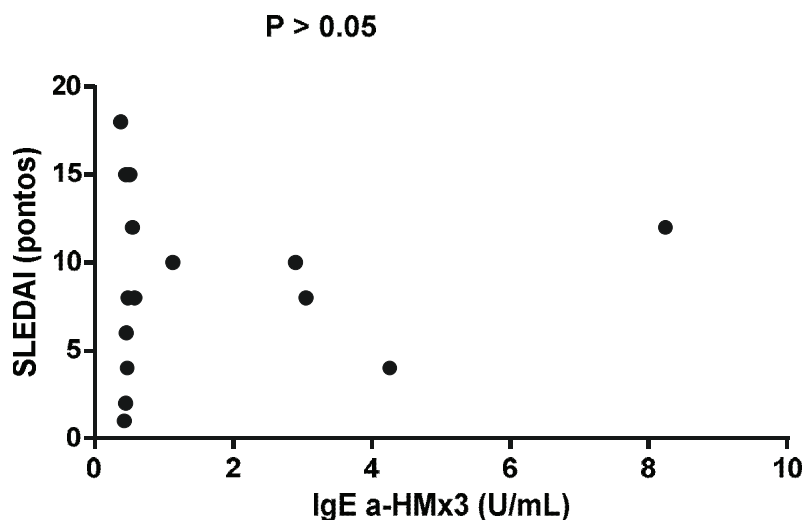


Figura 7 - Correlação entre títulos de IgE anti-HMx3 e atividade do LES (SLEDAI). Teste de Spearman.

7.5 Níveis séricos de IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10

Níveis séricos de IL-2 acima de 4 pg/mL foram encontrados em 34/81 (42,0%) pacientes lúpicos (mediana = 9,7 pg/mL, IQR = 5,9 – 14,2 pg/mL) e 21/34 (61,8%) controles saudáveis (mediana = 10,1 pg/mL, IQR = 7,3 – 18,4 pg/mL, teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$). A presença de anticorpos IgE contra aeroalérgenos não se refletiu em aumento dos níveis séricos de IL-2 os quais estiveram acima do LID em 5 das 16 pacientes lúpicas soropositivas para anticorpos IgE contra estes antígenos (mediana = 7,8 pg/mL, IQR = 4,7 – 10,4 pg/mL). Nos controles, 7 das 12 mulheres alérgicas tinham níveis de IL-2 acima do LID (mediana = 13,5 pg/mL, IQR = 8,2 – 20,1 pg/mL). Adicionalmente, não existiu diferença nos níveis de IL-2 entre estes dois grupos (teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$).

Níveis de IL-4 acima da sensibilidade analítica do imunoenensaio usado na mensuração desta citocina (2 pg/mL) foram encontrados em sete dos 34 controles (20,6%) e em 10 das 81 (12,3%) pacientes com LES. No grupo de pacientes com LES, a mediana dos níveis séricos de IL-4 foi igual a 1,9 pg/mL (IQR = 1,7 – 2,8 pg/mL), enquanto no grupo controle a mediana de IL-4 correspondeu à 2,5 pg/mL (IQR = 1,6 – 3,3 pg/mL; teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$). Em apenas uma paciente

lúpica e em um controle com anticorpos IgE contra aeroalérgenos foi possível medir o nível sérico de IL-4.

Vinte e três de 81 pacientes (28,4%) e 10 de 34 controles (29,4%) tinham níveis séricos de IL-5 igual ou acima de 4,0 pg/mL. No grupo de pacientes com LES, o nível mediano de IL-5 foi igual a 4,9 pg/mL (IQR = 4,1 – 6,6 pg/mL), apresentando os controles uma mediana de 4,8 pg/mL (IQR = 4,0 – 7,7 pg/mL; teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$). Quatro das 16 pacientes com anticorpos IgE contra aeroalérgenos (mediana = 6,1 pg/mL, IQR = 4,2 – 8,8 pg/mL) e 3 dos controles soropositivos para estes anticorpos tinham níveis mensuráveis de IL-5 (mediana = 8,6 pg/mL, IQR = 5,6 – 10,4 pg/mL, teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$).

A determinação dos níveis de IL-10 foi possível em todos os pacientes e controles, pois estavam acima do limite inferior de detecção (2,0 pg/mL). A mediana dos níveis séricos de IL-10 no grupo de pacientes foi 6,5 pg/mL (IQR = 5,0 – 9,8 pg/mL), enquanto que no grupo controle a mediana foi de 5,5 pg/mL (IQR = 4,9 – 6,0 pg/mL), existindo uma diferença significativa entre estes dois grupos (teste de Mann-Whitney, $P = 0,030$). A mediana do nível de IL-10 nas 6 pacientes lúpicas que tinham anticorpos IgE anti-*D. pteronyssinus* (mediana = 7,1 pg/mL, IQR = 5,9 – 16,7 pg/mL) foi semelhante àquela apresentada pelos 9 controles também soropositivos para estes anticorpos (mediana = 5,5 pg/mL, IQR = 4,6 – 7,8 pg/mL, teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$). Mesmo comportamento foi verificado para os níveis de IL-10 avaliando-se a soropositividade de anticorpos IgE anti-*B. tropicalis* nos dois grupos (teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$).

Os níveis de IL-10 nos controles sadios foram inversamente correlacionados com os níveis de IgE total ($r = -0,47$, $P = 0,005$), enquanto tal correlação não foi observada nas pacientes lúpicas.

7.6 Asma alérgica

A presença de asma alérgica foi sugerida pela pontuação alcançada no questionário ISAAC (≥ 6 pontos) em 5 das 34 mulheres controles avaliadas (14,7%) e em 31 das 81 pacientes lúpicas (38,3%), mostrando uma possível associação entre a presença de asma e o LES (teste de associação exato de Fisher, $P = 0,015$).

O nível mediano de IgE total no grupo de 31 pacientes com pontuação positiva para asma no questionário ISAAC foi 157,3 UI/mL (IQR = 54,6 – 422,3 UI/mL) não diferindo daquele apresentado pelo grupo de pacientes que tiveram 6 ou mais pontos neste instrumento de avaliação (mediana = 132,7 UI/mL, IQR = 66,2 - 438,3 UI/mL; teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$).

A presença de anticorpos contra aeroalérgenos foi documentada em cinco de 31 pacientes com sugestão de asma e em apenas uma das mulheres controles positivas no ISAAC.

Nível sérico de IL-4 acima do LID (1,6 pg/mL) foi encontrado em quatro destas 31 pacientes com LES, variando de 1,6 a 1,9 pg/mL, e em apenas uma das cinco mulheres controles (2,5 pg/mL). Por outro lado, as medianas dos níveis séricos de IL-10 destas 31 pacientes (6,4 pg/mL, IQR = 4,7 – 8,0 pg/mL) e das cinco mulheres controles também positivas para asma (5,2 pg/mL, IQR = 4,9 – 5,7 pg/mL) foram semelhantes (teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$).

O nível de IL-2 acima do LID, medido em 14 das 31 pacientes com LES e em 4 das 5 controles com 6 ou mais pontos no ISAAC, apresentou uma mediana igual a 7,5 pg/mL (IQR = 5,4 – 14,3 pg/mL) e de 18,4 pg/mL (IQR = 7,4 – 19,9 pg/mL), respectivamente (teste de Mann-Whitney, $P > 0,05$). Adicionalmente, apenas 3 das 31 pacientes lúpicas e duas das cinco mulheres com sugestão de asma tiveram níveis de IL-5 possíveis de serem medidos.

8. DISCUSSÃO

O presente estudo teve por objetivo investigar a ocorrência de doenças alérgicas respiratórias em mulheres portadoras de LES assistidas no Serviço de Reumatologia do Hospital Santa Izabel na cidade de Salvador – BA. Adicionalmente, foram procuradas possíveis associações entre estas doenças e a presença de anticorpos IgE para aeroalérgenos e níveis séricos das citocinas IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 nestas pessoas.

Em todos os trabalhos de prevalência de LES envolvendo os dois gêneros, o gênero feminino é o mais prevalente, podendo atingir uma relação entre pacientes femininos e masculinos de 12:1. Contudo, esta relação pode variar a depender da faixa etária e etnia, principalmente, e até mesmo da classe social (BONGU, CHANG e RAMSEY-GOLDMAN, 2002). Em nosso trabalho após a análise de proporção entre homens e mulheres afetados pelo LES, optamos por trabalhar somente com pacientes do gênero feminino, evitando o viés causado pela grande diferença na prevalência desta enfermidade entre os dois gêneros.

Em relação às manifestações clínicas, outros trabalhos já haviam mostrado que a artrite é a manifestação clínica mais prevalente em pacientes com LES, conforme observado por Font e colaboradores (2004). No presente estudo, a artrite foi também a mais prevalente das manifestações clínicas, seguida de rash malar, fotossensibilidade e disfunção renal, concordando com os relatos de Rocha e colaboradores (2000) em pacientes lúpicos baianos. No estudo conduzido por Nakashima e cols. (2011) no Sul do Brasil, resultados semelhantes foram também obtidos quanto à prevalência de artrite, fotossensibilidade, distúrbios hematológicos e disfunção renal. Assim, estes dados mostram que embora o LES seja uma doença com múltiplas manifestações clínicas, ela ainda apresenta alguns padrões na sua manifestação em diferentes populações, independente da etnia.

A maioria das pacientes incluídas no presente trabalho possuía atividade do LES entre leve e moderada, o que pode estar relacionado ao tratamento farmacológico a que estavam submetidas, representado principalmente pelo uso de prednisona. Contudo, níveis altos ou muito altos de atividade do LES foram observados em quase um terço das pacientes incluídas.

Neste estudo, também avaliamos a prevalência de autoanticorpos antinucleares e observamos a presença destes anticorpos em todas as pacientes

através da técnica de imunofluorescência indireta. Anticorpos anti-dsDNA foram detectados em importante proporção confirmando a alta prevalência desse marcador em pacientes com LES, o que auxilia no diagnóstico da doença e monitoração da atividade da mesma (FERNANDO e ISENBERG, 2005). Embora este resultado seja diferente daquele obtido anteriormente por Rocha e colaboradores (2000), mostrando a presença destes autoanticorpos em 17% dos pacientes baianos avaliados, ele confirma observações anteriores do nosso laboratório demonstrando a significativa prevalência de anticorpos anti-dsDNA em pacientes lúpicos residentes no nosso Estado (ATTA et al., 2009; ATTA, et al., 2010).

Um dado importante no presente estudo foi a demonstração da alta prevalência de anticorpos antinucleossomo, cuja importância como biomarcador de atividade do LES tem sido investigada e demonstrada consistentemente nos estudos laboratoriais desta doença, inclusive pelo nosso grupo. Assim, ficou demonstrada a correlação positiva entre os níveis destas imunoglobulinas e os índices SLEDAI, e também a correlação negativa entre os títulos de anticorpos antinucleossomo e os níveis dos componentes C3 e C4 do complemento, uma evidência laboratorial adicional de atividade desta doença (NG, et al., 2006; SOUZA, et al., 2009; ATTA, et al., 2010).

Embora os níveis de IgE total tenham sido maiores no grupo com LES em relação ao grupo controle, uma associação entre níveis elevados de IgE total e presença de anticorpos IgE para aeroalérgenos só foi observada no grupo controle. Tal achado corrobora com as observações anteriores do nosso laboratório e fortalece a sugestão de que o aumento nos níveis séricos de IgE total no LES está provavelmente relacionado com a presença de autoanticorpos IgE antinucleares (ATTA, et al., 2004; ATTA, et al., 2010).

A investigação dos níveis séricos de IL-2, IL-4 e IL-5 conduzida nas pacientes com LES mostrou a inexistência de alteração nos níveis destas citocinas, os quais foram similares àqueles apresentados pelo grupo controle, inclusive muito baixos na maioria dos pacientes, menores que os limites inferiores de detecção dos imunoensaios empregados. Tal resultado confirma os resultados anteriores da inexistência de elevação nos níveis destas citocinas no LES (VIALLARD, et al., 1999; NAGY, et al., 2000; RUS e Via, 2007; ATTA, et al., 2010).

Desta forma, a elevação do nível de IgE total sérica no LES não está associada ao aumento na concentração de IL-4 ou IL-5 no soro. Tal achado é muito

interessante face ao bem documentado papel destas citocinas na resposta imune mediada por anticorpos IgE nas reações de hipersensibilidade tipo I (WORM, 1997).

A possível existência de uma modulação negativa da IL-10 sobre a produção de anticorpos IgE para alérgenos de ácaros em portadores de LES foi sugerida neste estudo, pois diferenças nos níveis desta citocina só foram observadas comparando-se o grupo de pacientes com LES com o grupo controle saudável, confirmando relatos anteriores sobre o aumento dos níveis de IL-10 nesta doença autoimune. A ausência de diferenças nos níveis desta citocina, comparando-se os grupos de mulheres lúpicas e controles soropositivas para anticorpos IgE contra aeroalérgenos de *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis* sugere uma modulação negativa sobre a produção destes anticorpos durante o LES.

Assim, um possível efeito modulador negativo da IL-10 sobre a expressão das manifestações alérgicas em pacientes com níveis elevados desta citocina, a semelhança do que tem sido verificado com indivíduos alérgicos parasitados com *Schistosoma* ou em pacientes alérgicos tratados eficazmente com imunoterapia sublingual, poderia também ocorrer em pacientes portadores de LES (VAN DEN BIGGELAAR, 2000; MEDEIROS, 2005; CIPRANDI, et al., 2006).

Por outro lado, a falta de correlação entre os níveis séricos de IL-10 e os índices de atividade do LES medidos pelo SLEDAI aqui reportada contraria um relato anterior mostrando uma correlação positiva entre os níveis desta citocina e os índices da atividade desta enfermidade medidos pelo protocolo SLAM (systemic lupus activity measure), relatado em um estudo com mulheres polonesas portadoras desta doença autoimune (WASZCZYKOWSKA, et al., 1999). Entretanto, nosso achado confirma os resultados obtidos em outro estudo investigando os níveis desta citocina em sobrenadantes de cultivos de células mononucleares do sangue periférico de pacientes lúpicos estimuladas simultaneamente com lipopolissacarídeo e fitohemaglutinina (VIALLARD, et al., 1999). Provavelmente, a divergência entre os resultados acima pode ser causada por diferenças nos critérios de mensuração dos níveis da atividade de LES pelos dois procedimentos, por diferença na etnia dos pacientes incluídos nos estudos, ou então, pela subjetividade da avaliação clínica usada nos pacientes envolvidos nestes estudos.

No presente trabalho o questionário ISAAC foi apenas usado para avaliar a ocorrência de asma, pois a sua utilização como instrumento para investigar a possível presença de rinite em adultos no nossa população tem sido objeto de

controvérsias por médicos alergistas com comprovada experiência na pesquisa em alergias respiratórias (Araújo MI, comunicação pessoal). Adicionalmente, pudemos verificar a sua alta vulnerabilidade quando aplicado à população incluída neste estudo, evidenciada pela alta prevalência de rinite nos grupos de LES e controle.

Embora a presença de asma tenha sido sugerida em 38,0% das pacientes portadoras de LES após a aplicação do questionário ISAAC, a mesma não teve o necessário suporte laboratorial neste estudo para a sua comprovação. Tal possibilidade foi aparentemente desqualificada pela baixa prevalência de anticorpos contra aeroalérgenos nestas pacientes classificadas como prováveis portadoras de asma, pelos níveis baixos de IL-4 e IL-5 nas mesmas e também pela inexistência de diferenças nos níveis de IgE total entre possíveis asmáticas e não asmáticas. Adicionalmente, não foram encontrados registros de alergia respiratória nos prontuários das pacientes. Contudo, a maioria dos pacientes faziam uso de prednisona, uma medicação que pode influenciar o curso da asma.

A possível existência de uma regulação imune negativa mediada através de IL-10 na expressão de doenças alérgicas respiratórias como asma e rinite nestes indivíduos necessita de análises posteriores para avaliar a produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 por células mononucleares do sangue periférico de pacientes portadores de LES, estimuladas por estes antígenos, usando como controles células de indivíduos saudáveis e de pacientes alérgicos sem LES.

Finalmente, nossos achados demonstram claramente a dificuldade de aplicação do questionário ISAAC em pacientes lúpicos, cuja complexidade de manifestações clínicas decorrentes do LES são fatores que impedem a correta interpretação dos resultados obtidos neste instrumento.

Em conclusão, os resultados aqui apresentados confirmam observações anteriores de aumento nos níveis séricos de IgE em portadores de LES sem que exista uma maior prevalência de anticorpos IgE para alérgenos ambientais associados com alergia respiratória e, adicionalmente, mostram que o aumento de IgE total no LES não está associado à uma elevação nos níveis séricos de IL-4. Contudo, sugerem a possibilidade de que a resposta de anticorpos IgE para aeroalérgenos domiciliares como *D. pteronyssinus* seja modulado negativamente por IL-10 em pacientes lúpicos.

9. CONCLUSÕES

1. Pacientes portadoras de LES podem apresentar níveis aumentados de IgE, independente da presença de anticorpos IgE para aeroalérgenos.
2. O aumento nos níveis séricos de IgE total no LES não é regulado por IL-10.
3. Pacientes portadoras de LES soropositivos para anticorpos IgE contra alérgenos de ácaros possuem níveis de IL-10 semelhantes aos apresentados por mulheres controles sadias.
4. O questionário ISAAC é inaplicável à investigação da ocorrência de asma ou rinite em pacientes com LES devido à complexidade das manifestações clínicas nesta doença autoimune.
5. Existe uma menor prevalência de soropositividade para anticorpos IgE contra alérgenos de ácaros em pacientes com LES, provavelmente associada ao aumento nos níveis de IL-10 nestes indivíduos.

REFERÊNCIAS

- APOSTOLIDIS, S. A.; et al. The dysregulation of cytokine networks in systemic lupus erythematosus. *J Interferon Cytokine Res*, v. 31, n. 10, p. 769-79, 2011;
- ARBUCKLE, M. R.; et al. Development of Autoantibodies before the Clinical Onset of Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*; v. 349, p. 1526-1533, 2003;
- ARORA, V.; et al. Cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus: a study on northern Indian subjects. *Lupus*, v. 21, n. 6, p. 596-603, 2012;
- ASHER, M. I.; et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J*, v. 8, n. 3, p. 483-91, 1995;
- ATTA, A. M.; et al. Autoimmune response of IgE antibodies to cellular self-antigens in systemic Lupus Erythematosus. *Int Arch Allergy Immunol*. v. 152, n. 4, p. 401-6, 2010;
- ATTA, A. M.; PEREIRA, M. M.; SANTIAGO, M.; SOUSA-ATTA, M. L. Anti-dsDNA antibodies in Brazilian patients of mainly African descent with systemic lupus erythematosus: lack of association with lupus nephritis. *Clinical Rheumatology* v. 28, n. 6, p. 693-697, 2009;
- ATTA, A. M.; SOUSA, C. P.; CARVALHO, E. M.; SOUSA-ATTA, M. L. Immunoglobulin E and systemic lupus erythematosus. *Braz J Med Biol Res*. v. 37, n. 10, p. 1497-501, 2004;
- BECKER-MEROK, A.; NIKOLAISEN, C.; NOSSENT, H. C. B-lymphocyte activating factor in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in relation to autoantibody levels, disease measures and time. *Lupus*, v. 15, p. 570-6, 2006;
- BONGU, A.; CHANG, E.; RAMSEY-GOLDMAN, R. Can morbidity and mortality of SLE be improved? *Best Pract Res Clin Rheumatol*. v. 16, n. 2, p. 313-32, 2002;
- BORCHERS A. T.; KEEN, C. L.; SHOENFELD Y; GERSHWIN M. E. Surviving the butterfly and the wolf: mortality trends in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. v. 3, n. 6, p. 423-53, 2004;
- BOSCH, X.; et al.. Basophils, IgE, and autoantibody-mediated kidney disease. *J Immunol*. v.186, n. 11, p. 6083-90, 2011;
- CHARLES, N.; et al. Basophils and the T helper 2 environment can promote the development of lupus nephritis. *Nat Med*, v. 16, n. 6, p. 701-707, 2010;
- CHARLES, N.; RIVERA, J. Basophils and autoreactive IgE in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Allergy Asthma Rep*, v. 11, n. 5, p. 378-87, 2011;
- CHAN, V. S.; et al. B-cell-targeted therapies in systemic lupus erythematosus. *Cell Mol Immunol*. v. 10, n. 2, p. 133-42, 2013;

- CHEN, M.; DAHA, M. R.; KALLENBERG, C. G. The complement system in systemic autoimmune disease. *J Autoimmun.* v. 34, n. 3, p. J276-J86, 2010;
- CIPRANDI, G.; et al. Sublingual immunotherapy induces spirometric improvement associated with IL-10 production: preliminary reports. *Int Immunopharmacol*, v. 6, p. 1370–1373, 2006;
- COOK, L. New Methods for Detection of Anti-nuclear Antibodies. *Clinical Immunology And Immunopathology*. v. 88, n. 3, p. 211–220, 1998;
- CSISZÁR, A.; et al. Increased interferon-gamma (IFN-gamma), IL-10 and decreased IL-4 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol.* v. 122, n. 3, p. 464-70, 2000;
- DAVIS, L. S.; HUTCHESON, J.; MOHAN, C. The Role of Cytokines in the Pathogenesis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. V. 31, n. 10, 2011;
- DYKEWICZ, M. S. Rhinitis and sinusitis. In: Rich R (ed). *Clinical Immunology - Principles and Practice*, 3rd edn., Mosby Elsevier, Philadelphia, p. 627-639, 2008;
- EDWARDS, C. J. Environmental factors and lupus: are we looking too late? *Lupus*, v. 14, p. 423-425, 2005;
- ELKAYAM, O.; TAMIR, R.; PICK, A. I.; WYSENBECK, A. Serum IgE concentrations, disease activity, and atopic disorders in systemic lupus erythematosus. *Allergy*. v. 50, n. 1, p. 94-6, 1995;
- FERNANDO, M. M.; ISENBERG, D. A. How to monitor SLE in routine clinical practice. *Ann Rheum Dis*, v. 64, n. 4 p. 524-7, 2005;
- FONT J; et al. Clusters of clinical and immunologic features in systemic lupus erythematosus: analysis of 600 patients from a single center. *Semin Arthritis Rheum*. v. 33, n. 4, p. 217-30, 2004;
- FREW, A. J. Pathogenesis of asthma, In: Rich Pathogenesis of asthma, In: Rich R (ed). *Clinical Immunology - Principles and Practice*, 3rd edn., Mosby Elsevier, Philadelphia, p .597-606, 2008;
- GATTO, M. et al. Emerging and critical issues in the pathogenesis of lupus. *Autoimmun Rev*, v. 12, n. 4, p. 523-36, 2013;
- GLADMAN, D. D., IBAÑEZ, D., and UROWITZ, M. B. Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000. *The Journal of Rheumatology*; n. 2, v. :2, 2002.

- GÓMEZ, D.; et al. Th1/Th2 cytokines in patients with systemic lupus erythematosus: is tumor necrosis factor alpha protective? *Semin Arthritis Rheum.* v. 33, n. 6, p. 404-13, 2004;
- GRIFFITHS, B.; MOSCA, M.; GORDON, C. Assessment of patients with systemic lúpus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* v. 19, n. 5, p. 685-708, 2005;
- GRIMALDI C. M. Sex and systemic lupus erythematosus: the role of the sex hormones estrogen and prolactin on the regulation of autoreactive B cells. *Curr Opin Rheumatol,* v. 18, p. 456–461, 2006;
- HARIGAI, M.; et al. Excessive production of IFN-gamma in patients with systemic lupus erythematosus and its contribution to induction of B lymphocyte stimulator/B cell-activating factor/TNF ligand superfamily-13B. *J Immunol.* v. 181, n. 3, p. 2211-9, 2008;
- HOCHBERG M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus (letter). *Arthritis & Rheumatism;* v. 40, n. 9, p. 1725–1726, 1997;
- IBIAPINA, C. da C.; et al. Allergic rhinitis: epidemiological aspects, diagnosis and treatment. *J Bras Pneumol.* v. 34, n. 230-40, 2008;
- ISENBERG, D. Anti-dsDNA antibodies: still a useful criterion for patients with systemic lupus erythematosus? *Lupus,* v. 13, p. 881–885, 2004;
- ISENBERG, D.; SMEENK, R. Clinical laboratory assays for measuring anti-dsDNA antibodies. Where are we now? *Lupus,* v.11, p. 797–800, 2002;
- JACOB, N.; STOHL, W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther,* v. 13, n. 4, p. 228, 2011;
- KIROU, K. A.; CROW, M. K. New Pieces to the SLE Cytokine Puzzle. *Clinical Immunology,* v. 91, p. 1–5, 1999;
- LAU C. S.; GIN Y.; MOK C. C. Ethnic and geographical differences in systemic lupus erythematosus: an overview. *Lupus,* v. 15, p. 715–719, 2006;
- LI C. K.; ISENBERG D. A. Systemic lupus erythematosus. *Medicine,* v. 34, p. 445-45, 2005;
- LLORENTE, L.; et al. Role of interleukin 10 in the B lymphocyte hyperactivity and autoantibody production of human systemic lupus erythematosus. *J Exp Med,* v. 181, n. 3, p.:839-44, 1995;
- MEDEIROS, M. Jr. et al. Schistosoma mansoni infection is associated with a reduced course of asthma. *J Allergy Clin Immunol;* v. 25, p. 947 – 951, 2005;

- MILOVANOVIC M., et al. Interleukin-17A promotes IgE production in human B cell. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 130, p. 2621 – 2628, 2010.
- MOK C. C.; LAU I. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol*, v. 56, p. 481–490, 2003;
- MORTON, S.; PALMER, B.; MUIR, K.; POWELL, R. J. IgE and non-IgE mediated allergic disorders in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. v. 57, n. 11, p. 660-663, 1998;
- NAGY, G.; et al.. Measurement of intracellular interferon-gamma and interleukin-4 in whole blood T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *Immunol Lett*, v. 74, n. 3, p. 207-10, 2000;
- NAKASHIMA, C. A.; et al. Incidência e aspectos clínico-laboratoriais do Lúpus eritematoso sistêmico em cidade do Sul do Brasil. *Rev. Bras. Reumatol*. v. 51, n. 3, 2011;
- NG, K. P.; MANSON, J. J.; RAHMAN, A. ISENBERG, D. A. Association of antinucleosome antibodies with disease flare in serologically active clinically quiescent patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. v. 55, n. 6, p. 900-4, 2006;
- O'NEILL, S.; CERVERA R. Systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, v. 24, n. 6, p. 841-55, 2010;
- O'NEILL, S. G.; SCHRIEBER L. Immunotherapy of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun*. v. 4, n. 6, p. 395-402, 2005;
- PATE, M. B.; SMITH, J. K.; CHI, D. S.; Krishnaswamy G. Regulation and dysregulation of immunoglobulin E: a molecular and clinical perspective. *Clin Mol Allergy*. v. 23, p. 8-3, 2010
- PETRI M. Sex hormones and systemic lupus erythematosus. *Lupus*, v. 17, p. 412-415, 2008;
- ROCHA, M.C.B.T.; et al. Perfil demográfico, clínico e laboratorial de 100 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico no estado da Bahia. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 40, n. 5, p. 221-230, 2000;
- RUS, V.; VIA, C. S. Cytokines in systemic lupus erythematosus. In: Tsokos GC, Gordon C, Smolen JS (eds) *Systemic Lupus Erythematosus: a companion to Rheumatology*, 1st edn., Mosby Elsevier, Philadelphia, p. 109-120, 2007;
- SALMA, M. F. L. C.; NUNES, N. A. C.; LOPES, L. F. M.. Estudo retrospectivo das manifestações clínicas e laboratoriais de 104 pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), em Belém, PA, Brasil (1990-1999). *Rev. Bras. Reumatol*. [online], v. 44, n. 3, p. 192-197, 2004;

- STONE, K. D.; PRUSSIN, C.; METCALFE, D. D.; IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*, v. 125, n. 2, Suppl 2, p. 73-80, 2010;
- SEKIGAWA, I.; et al.. Allergic diseases in systemic lupus erythematosus: prevalence and immunological considerations. *Clin Exp Rheumatol*, v. 21, n. 1, p. 117-21, 2003;
- SÁNCHEZ, E.; et al. Impact of genetic ancestry and sociodemographic status on the clinical expression of systemic lupus erythematosus in American Indian-European populations. *Arthritis Rheum.* v. 64, n. 11, p. 3687-94, 2012;
- SOUZA, A.; et al Anti-nucleosome and anti-chromatin antibodies are present in active systemic lupus erythematosus but not in the cutaneous form of the disease. *Lupus*, v.18, n. 3, p. 223-9, 2009;
- SU, D. L.; et al. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *J Biomed Biotechnol*, v. 2012, 2012;
- TOUMA, Z., UROWITZ, M. B. and GLADMAN D. D. SLEDAI-2K for a 30-day window. *Lupus*, v. 19, p. 49–50, 2010.
- TSOKOS G. C. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*, v. 365, 22, p. 2110-21, 2011;
- WANDALSEN, N. F.; GONZALEZ, C.; WANDALSEN G. F.; SOLÉ, D. Evaluation of criteria for the diagnosis of asthma using an epidemiological questionnaire. *J Bras Pneumol*, v. 35, n. 3, p. 199-205, 2009;
- WANDSTRAT, A. E.; et al. Autoantibody profiling to identify individuals at risk for systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* v. 27, n. 3, p. 153-160, 2006;
- WASZCZYKOWSKA, E.; et al. Estimation of SLE activity based on the serum level of chosen cytokines and superoxide radical generation. *Mediators Inflamm.*, v. 8, n. 2, p. 93-100, 1999;
- WORM, M.; HENZ, B. M. Molecular regulation of human IgE synthesis. *J Mol Med*, v. 75 n. 6, p. 440-447, 1997;
- WOZNIACKA, A., et al. Allergic diseases, drug adverse reactions and total immunoglobulin E levels in lupus erythematosus patients. *Mediators Inflamm.* v. 12, n. 2, p. 95-9, 2003;
- VAN DEN BIGGELAAR, A. H.; et al. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet*, v. 18, n. 356, p. 1723-1727, 2000;
- VANNA, A. T.; et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood: validation of the rhinitis symptom questionnaire and prevalence of rhinitis in schoolchildren in São Paulo, Brazil. *Pediatr Allergy Immunol.* v. 12, n. 2, p. 95-101, 2001;

VIALARD, J. F.; et al.. Th1 (IL-2, interferon-gamma (IFN-gamma)) and Th2 (IL-10, IL-4) cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol*, v. 115, n. 1, p. 189-95, 1999;

YAP, D. Y. H.; LAI, K. N. Cytokines and Their Roles in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus: From Basics to Recent Advances. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*; v. 2010, 2010;

YUNG, S.; CHAN, T. M. Anti-DNA antibodies in the pathogenesis of lupus nephritis — The emerging mechanisms. *Autoimmun Rev.*, v. 7, p. 317-321, 2008.

11. APÊNDICE

11.1 Anexo 1



SERVIÇO DE IMUNOLOGIA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ISAAC



		<i>Família</i>		<i>Indivíduo</i>	
1. Nome: _____		Identificação:			
2. Comunidade: _____					
3. Data de Nascimento: ____/____/____			4. Idade: _____		
5. Gênero: () Masculino () Feminino					

QUESTIONÁRIO I

1. Alguma vez na vida teve chiado no peito ou falta de ar (cansaço)?
(2) Sim (0) Não
- caso a resposta seja NÃO, passe para a pergunta numero 6.**
2. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve chiado no peito ou falta de ar (cansaço)?
(2) Sim (0) Não
3. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve quantas crises de chiado no peito ou de falta de ar?
(0) nenhuma crise (1) 4 a 12 crises
(2) mais de 12 crises (2) 1 a 3 crises
4. Nos últimos 12 (doze) meses, você acordou a noite com chiado no peito ou com falta de ar?
(0) nenhuma
(1) menos de uma noite por semana
(2) uma ou mais noites por semana
5. Nos últimos 12 (doze) meses, seu chiado no peito ou falta de ar, foi tão forte, a ponto de impedir que você falasse normalmente?
(1) Sim (0) Não
6. Alguma vez na vida você já teve asma?
(1) Sim (0) Não
7. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve chiado no peito ou falta de ar, após exercícios físicos?
(2) Sim (0) Não

8. Nos últimos 12 (doze) meses, você tem tido crises de tosse seca, à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória? (2) Sim (0) Não

Família Indivíduo

--	--	--	--	--	--

QUESTIONÁRIO II

1. Qual a frequência de suas gripes ou resfriado?
- (0) uma ou duas por ano.
 (1) uma vez por mês.
 (2) mais de uma vez por mês
2. Alguma vez na vida você teve problema de espirros, coriza (corrimento nasal), coceira ou obstrução nasal, quando não estava resfriado ou gripado?
- (2) Sim (0) Não
3. Em qual dos últimos 12 (doze) meses este problema ocorreu? 0 = nenhuma resposta
- (2) Janeiro (1) Maio (1) Setembro
 (2) Fevereiro (1) Junho (2) Outubro
 (2) Março (1) Julho (2) Novembro
 (1) Abril (1) Agosto (2) Dezembro
4. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas vezes suas atividades diárias foram atrapalhadas por esses sintomas nasais (espirros, coriza, coceira ou entupimento)?
- (0) nenhuma
 (1) pouco (alguns minutos ou poucas horas do dia)
 (2) moderado (uma parte do dia – manhã, tarde ou noite)
 (2) muito (sintomas diários e constantes)
5. Quando você tem contato com poeira, mofo ou cheiro forte, você tem coceira, espirros ou coriza?
- (2) Sim (0) Não
6. Quando isso acontece você tem coceira nos olhos ou coceira na garganta?
- (2) Sim (0) Não

11. 2 Anexo 2

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

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

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