

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO REITORIA DE PESQUISA E POS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELAÇÃO ENTRE O ESTRESSE OXIDATIVO E PARAMETROS
CLÍNICOS DO LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

Bolsista: Yenly González Pérez, FAPEAM

MANAUS

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO REITORIA DE PESQUISA E POS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB – S /0022/2008

RELAÇÃO ENTRE O ESTRESSE OXIDATIVO
E PARAMETROS CLÍNICOS DO LUPUS
ERITEMATOSO SISTEMICO

Bolsista: Yenly González Pérez, FAPEAM

Orientador: Prof. Dr. Domingos Sávio Nunes de Lima

Colaboradora: Lissett Caridad González Pérez

Colaborador: Prof.Dr. Emerson Silva Lima

MANAUS

2009

Resumo

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto-imune crônica de origem desconhecida associada ao estresse oxidativo. Este estudo procurou investigar a presença do estresse oxidativo nos pacientes com diagnóstico recente de LES, comparou-a com grupo controle normal e correlacionou às alterações clínicas da doença. Foi um estudo do tipo caso controle em que foram dosados compostos químicos relacionados ao estresse oxidativo a partir do plasma do grupo selecionado. O estudo selecionou 36 pacientes com LES e 28 controles pareados em sexo e idade. As amostras plasmáticas dos dois grupos foram sujeitas às análises plasmáticas de malondialdeído (MDA), grupo sulfidril e ácido úrico. Os níveis plasmáticos de MDA encontraram-se significativamente superiores nos pacientes ($p = 0,001$) quando comparados com os controles, mantendo correlação positiva com a atividade da doença ($p = 0,04$). Os níveis séricos do grupo sulfidril foram significativamente menores nos pacientes comparados aos controles ($p = 0,04$) assim como a relação com a atividade da doença ($p = 0,02$). Já o ácido úrico apresentou níveis superiores nos pacientes, contudo não houve diferença estatística ($p = 0,48$). Os três compostos quando relacionados a manifestações clínicas e comorbidades não mostraram relação significativa. O estresse oxidativo estava presente nos pacientes com lúpus (OR = 12,5; IC = 3,7 – 41,5). Esses resultados mostram evidências de estresse oxidativo em pacientes com lúpus, não entanto, não há como provar se o EO influencia na patogenia do lúpus ou se é conseqüente da doença.

Palavras chaves: LES, estresse oxidativo, radicais livres, antioxidantes.

Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease of unknown origin associated with oxidative stress. This study sought to investigate the presence of oxidative stress in patients with newly diagnosed SLE, compared with the normal control group and correlated with clinical disease. It was a case-control study, were dosed compounds related to oxidative stress from the plasma of the selected group. This study enrolled 36 patients with SLE and 28 controls matched for sex and age. Plasma samples from both groups were subjected to analysis of plasma malondialdehyde (MDA), sulfhydryl groups and uric acid. Plasma levels of MDA were found significantly higher in patients ($p = 0.001$) when compared with controls, while a positive correlation with disease activity ($p = 0.04$).

Serum levels of sulfhydryl group were significantly lower in patients compared to controls ($p = 0.04$) as well as the relationship with disease activity ($p = 0.02$). In the other hand, uric acid showed higher levels in patients, but there was no statistical difference ($p = 0.48$). Oxidative stress was present in patients with lupus (OR = 12.5, IC = 3.7 to 41.5). These results provide further evidence of oxidative stress in patients with lupus, however, there is no way to prove if the OS influences the pathogenesis of lupus or is a consequence of the disease.

Key words: SLE, oxidative stress, free radicals, antioxidants.

SUMÁRIO

1. Introdução	9
1.2 Revisão Bibliográfica	12
1.3 Tema	14
1.4 Justificativa	14
1.5 Objetivos	15
2. Metodologia	15
2.1 Casuística	15
2.2 Amostras biológicas	16
2.3 Dosagens sérica	16
2.4 Análise dos dados	18
3. Resultados e Discussões	19
4. Conclusões	25
5. Referências Bibliográficas	26
6. Cronograma de Atividade	31
7. Anexo	32

LISTA DE SIGLAS

LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
SH	Grupo sulfidrila
MDA	Malondialdeído
SLEDAI	Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index
EO	Estresse Oxidativo
ACR	Colégio Americano de Reumatologia (siglas em inglês).
RL	Radicais Livres
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
TB	Tuberculose
DNA	Ácido desoxirribonucléico
MHC	Major Histocompatibility Complex
AM	Amazonas
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Aparelho COBAS MIRA® usado para dosagem do Ácido Úrico.....16

Figura 2: Sistema cromatográfico HPLC usado para dosar o malondialdeído
(MDA).....17

LISTA DE TABELAS:

Tabela 1: Distribuição da Frequência dos Critérios do ACR nos 36 pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico estudados.....	19
Tabela 2: Distribuição da presença de Comorbidades na amostra de 36 pacientes e 28 controles.....	20
Tabela 3: Relação entre os valores plasmáticos de malondialdeído (MDA), grupo sulfidril (SH) e ácido úrico obtidos nos 36 pacientes e 28 controles durante o estudo.....	21

LISTA DE GRÁFICOS:

Gráfico 1: Níveis séricos de Malondialdeído (MDA) em 36 pacientes com diagnóstico de lúpus e em 28 controles.....	21
Gráfico 2: Níveis séricos do grupo sulfidril (SH) em pacientes com diagnóstico de lúpus e em controles.....	22
Gráfico 3: Níveis séricos de Ácido úrico em 36 pacientes com diagnóstico de lúpus e em 28 controles.....	23

1. Introdução:

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença auto-imune crônica, recorrente, multissistêmica e complexa, de origem desconhecida. É causada por um defeito nos mecanismos que mantêm a tolerância imunológica e com provável influência genética, hormonal, do meio ambiente (vírus, alimentos, dieta) (BAE, KIM & SUNG; GOLDMAN, AUSIELLO, 2005; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005). O estresse oxidativo e seus danos biológicos às células têm sido propostos como prováveis fatores envolvidos na patogenia da doença, assim como em outras doenças auto-imunes induzidas em ratos laboratoriais (BAE, KIM & SUNG).

Acomete principalmente mulheres em idade fértil, com uma proporção de 9-10:1 (LI & ISENBERG, 2006), é mais comum e mais grave em afro americanas, segundo GOLDMAN, AUSIELLO, 2005; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005; SIEGEL, 1964. A prevalência da doença varia de 14,6 a 122 casos por 100 mil habitantes (BEZERRA, 2005); no Brasil: a incidência foi de 8,7 casos por 100.000 habitantes/ano (VILAR et al., 2003). No Amazonas o LES foi a causa mais comum de glomerulonefrite secundária de um total de 239 biópsias renais, realizadas no serviço de nefrologia do HUGV (CARDOSO, 2002).

Clinicamente as manifestações do Lúpus são variadas. Pode apresentar diferentes formas e graus de severidade (KLEJNBERG, MORAES, 2006). Os critérios de atividade da doença e as provas laboratoriais diagnósticas baseiam-se na detecção dos auto-anticorpos, na deposição de imunocomplexos (SURITA, 1997) e no SLEDAI (Systemic Lupus Erytematous Disease Active Index), no qual também são considerados vários critérios clínicos.

A sua patogenia inclui a formação de auto-anticorpos nucleares, que são responsáveis pelas manifestações clínicas, associada à interação de fatores genéticos, ambientais e hormonais capazes de ativarem em conjunto os linfócitos T auxiliares e de favorecerem a hiperativação dos linfócitos B, produtores de anticorpos (GOLDMAN, AUSIELLO, 2005; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005).

A questão da tolerância imunológica é considerada a base imunológica para o desenvolvimento do LES. É fundamental que em todos os organismos os linfócitos T sejam selecionados no timo, de modo que somente as células com a capacidade de organizar pequenos antígenos peptídeos em suas moléculas de MHC (tipo I ou II) entrarão na circulação sistêmica, segundo explica SALMON, GORDON; 1999, e aquelas que não forem

selecionadas sofrerão apoptose. No entanto algumas células em pessoas propensas não são selecionadas por erro o que acarreta em doenças autoimunes.

Por outra parte, os pacientes com lúpus apresentam níveis séricos elevados de fragmentos de DNA, representando claramente a elevada taxa de apoptose celular nesses pacientes, provavelmente desencadeada pela exposição aos raios ultravioleta, infecções, estresse oxidativo, etc. Estes fragmentos celulares são considerados antígenos e associados à perda da tolerância imunológica promoverão ativação e desenvolvimento da resposta imune, (SALMON, GORDON; 1999).

Algumas citocinas são as responsáveis pela imuno-regulação no Lúpus e estão fortemente relacionadas a processos imunológicos e respostas inflamatórias. Segundo WASZCZYKOWSKA, *et al*, a Interleucina 6 (IL-6) e o Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) representam um importante papel na patogênese do LES, assim como a Interleucina 10.

Por outro lado, acredita-se que o estresse oxidativo esteja associado ao LES uma vez que o desequilíbrio entre radicais livres e antioxidantes pode estar envolvido no agravamento do estado da doença (ROCCO, 2002). Os poucos estudos que têm investigado a relação entre o LES e o estresse oxidativo, têm sugerido os danos causados pelos radicais livres de oxigênio e o baixo estado antioxidante como fatores de risco para o surgimento da doença (BAE, KIM, SUNG, 2002). De fato não foram realizados estudos com teorias explicativas de como ocorre o estado antioxidante.

Os efeitos dessas espécies reativas são amplos cuja maior relevância observa-se na lesão do DNA devido à ruptura de uma das hélices e à peroxidação lipídica das membranas (ROCCO, 2002). Esta forma de lesão é responsável pelo aparecimento de numerosas doenças, principalmente as auto-imunes (NUNES, OLIVEIRA, MORAIS, 2006).

Acredita-se que o estresse oxidativo não só é a causa sub-adjacente das doenças auto-imunes como também é capaz de estimular o sistema imune a se auto-agredir. Os níveis reduzidos de antioxidantes aumentam o risco de desenvolvimento de Lúpus e os indicadores clínicos do estresse oxidativo são também elevados nos indivíduos afetados, especialmente durante o período de atividade da doença (NUNES, OLIVEIRA, MORAIS, 2006). Durante o desenvolvimento do trabalho procurou-se avaliar a presença de marcadores indicativos de EO nos pacientes com LES, comparando-os ao grupo controle assim como correlacioná-los com a atividade da doença a fim de verificar as afirmações anteriores.

As espécies reativas provocadoras de todo o dano celular são difíceis de avaliar *in vivo*, motivo pelo qual marcadores sorológicos resultantes das reações envolvidas são usados para o estudo das mesmas. Os marcadores de estresse oxidativo ideais, medidos através do plasma sanguíneo, incluem o grupo sulfidril (-SH) que foi considerado o maior anti-oxidante plasmático *in vivo* e está presente em proteínas. A maioria dos grupos -SH encontram-se ligados à albumina e são os maiores redutores presentes nos fluidos corporais (KOLAGAL, et al, 2009). Outro critério usado para mensuração do EO é o produto da peroxidação lipídica cujo representante é o malonaldeído (MDA) o qual é considerado um marcador pela comunidade científica e atualmente é o mais utilizado (CÉSPEDES; CASTILLO, 2008; AMARA, et al, 1995). Um marcador também importante é o ácido úrico o qual é um anti-oxidante endógeno e representante da defesa natural dos tecidos contra o estresse oxidativo (FREIRE, et al, 2003).

Neste sentido o trabalho dosou a partir do soro dos voluntários o grupo sulfidril, ácido úrico, albumina e MDA, todos relacionados à presença de processos oxidativos. Foram coletadas 64 amostras, sendo 36 pacientes e 28 controles atendidos numa consulta no Ambulatório Araújo Lima, Manaus/AM.

1.2. Revisão Bibliográfica

A hipótese que o estresse oxidativo favorece as respostas flogísticas e induz processos autoimunes, principalmente os relacionados às doenças reumáticas encontra-se ainda em discussão e investigação. Alguns trabalhos tem sido desenvolvidos a fim de comprovar essa relação.

FILIPPIN *et al*, relacionou a geração dos radicais livres com o desenvolvimento da artrite reumatóide. Nesse trabalho é mostrado como a partir das reações intracelulares são geradas citocinas inflamatórias em excesso prorrogando os processos inflamatórios. Nesse artigo também mostra como o uso de biomarcadores de EO pode oferecer a mensuração do dano celular causado pelo mesmo, exemplo é o Malondialdeído (MDA) representa a peroxidação lipídica por via enzimática derivado da β -ruptura dos ácidos graxos poliinsaturados, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico objetivam avaliar esse produto final.

NUNES, OLIVEIRA & MORAIS defendem a influencia dos radicais livres para o desenvolvimento de doenças como câncer, aterosclerose, inflamação, Alzheimer, entre outros. Defendem ainda a teoria da auto-agressão induzido pelo estresse oxidativo ativando o sistema imunológico a perder sua auto-tolerância. Segundo eles [...] Os níveis reduzidos de antioxidantes aumentam o risco de desenvolvimento de artrite reumatóide ou lúpus. Os indicadores clínicos do estresse oxidativo são também muito altos nesses pacientes, especialmente durante o período de pico das doenças.

Num artigo de revisão FERREIRA & MATSUBARA descrevem as espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERMO) são capazes de produzir danos celulares, podendo ser causa ou conseqüência de doenças humanas associadas ao estresse oxidativo. Colocam como método de aferição indireta das lesões causadas pelas ERMO medindo a atividade enzimática (SOD, catalase, GSH-Px e GSH-Rd) e/ou a concentração de tripeptídeos (GSH, GSSG) e aldeídos (MDA). Estas medidas podem ser realizadas em tecidos, sangue e outros fluidos. A lipoperoxidação de membranas é habitualmente monitorada pelo método do MDA (malonaldeído) e o estresse oxidativo, por dosagens de GSSG e/ou pelo cálculo da razão GSSG/GSH.

DAVIES & GOLDBERG afirmam que ao expor os eritrócitos aos radicais de oxigênio podem induzir danos à hemoglobina e estimular a degradação protéica, peroxidação lipídica e hemólise, resultando em anemia crônica. Num artigo de revisão, publicado em 1997, DEAN *et al*, descreve as lesões causadas às células através dos danos às proteínas. Durante o trabalho eles realizaram testes biológicos onde se comprovou que as lesões protéicas são O_2^- dependente. Os produtos das reações sofrerão então, ação de variadas espécies reativas culminando em danos químicos importantes. As proteínas danificadas pela oxidação serão funcionalmente inativas, sendo suscetíveis às proteases e os fragmentos protéicos poderão servir como epítopos ativadores das respostas imunológicas.

MORGAN, *et al* estudaram a oxidação das proteínas séricas e estudos proteomicos em pacientes com lúpus com ou sem nefritis, nesse estudo concluíram que os pacientes nefríticos apresentavam níveis de apoCIII quando comparados ao grupo controle e não nefríticos significando que as complicações renais podem ser relacionadas ao estresse oxidativo.

Waszczykowska, E *et al* em 1999 estimaram a atividade do LES baseado nos níveis séricos de citocinas como IL6, TNF- α e IL10, além da geração de radicais superóxidos. Os resultados obtidos em 63 pacientes indicam a presença significativa das citocinas estudadas, assim como um incremento da geração do anion superóxido pelos granulócitos, comprovando a importância do metabolismo de oxigênio na patogênese do LES, assim como uma correlação positiva com a atividade da doença.

MORGAN, STURGESS & DAVIES estudaram o incremento dos níveis séricos da oxidação protéica e a correlação com a atividade da doença usando o SLEDAI cujo corte foi para doença severa ≥ 6 . Obtiveram marcadores séricos de oxidação protéica elevados quando comparados com controles, e esses valores estavam relacionados à atividade da doença. Esses resultados sugerem que a oxidação protéica pode estar relacionada na patogênese das lesões orgânicas presentes no LES.

Já um estudo realizado por BAE, KIM & SUNG, em 2002, comparou os níveis antioxidante e oxidante plasmático em pacientes com LES e grupo controle, e além os correlacionou com a dieta. Foram avaliados 97 pacientes e 97 controles, pareados em sexo e idade. a partir do soro dos participantes obtiveram a atividade plasmática do superóxido dismutase e da glutathione peroxidase foram significativamente diminuída quando comparado

ao controle, e o nível plasmático da malondialdeído foi significativamente elevado nos pacientes.

SUKKAR & ROSSI, no seu estudo realizado em 2003 correlacionou a influencia da dieta para prevenção das doenças reumáticas autoimunes. Neste trabalho eles defendem o uso de uma dieta antioxidante com o objetivo de prevenir as lesões ao organismo causado pelas substancias redox. Porem sugerem que estudos *in vivo* sejam realizados.

1.3 Tema

Relação entre o estresse oxidativo e o Lúpus eritematoso sistêmico

1.4 Justificativa

O LES é uma doença inflamatória crônica que pode ter curso grave e se caracteriza pela produção de anticorpos anti-nucleares, os quais são responsáveis pelas suas manifestações clinicas, uma vez que se depositam nos órgãos acometidos (GOLDMAN, AUSIELLO, 2005; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005). A etiologia continua desconhecida, porém alguns estudos têm mostrado a forte relação dos fatores genéticos, hormonais, imunológicos e ambientais na exacerbação da doença (GOLDMAN, AUSIELLO, 2005; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005; NUNES, OLIVEIRA, MORAIS, 2006).

O estresse oxidativo, causado pelo desequilíbrio entre radicais livres (RL) e antioxidantes, parece estar relacionado ao Lúpus, principalmente como possível fator etiológico (NUNES, OLIVEIRA, MORAIS, 2006). Além disso, os RL promovem vários danos nos diferentes tipos celulares e favorecem a perda de auto-tolerância imunológica (KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005; BARTELS, 2008).

O presente trabalho tentou relacionar o estresse oxidativo com a exacerbação da doença a fim de se obter um conhecimento maior sobre o desenvolvimento da mesma e de ajudar futuras pesquisas de intervenção para melhorar o sistema natural de defesa antioxidante do corpo, como também para fortalecer o sistema imunológico e controlar a resposta inflamatória (NUNES, OLIVEIRA, MORAIS, 2006).

1.5. Objetivos:

Gerais:

Verificar a presença de marcadores séricos do estresse oxidativo nos pacientes com LES.

Específicos:

- Identificar alterações de marcadores de estresse oxidativo em pacientes com LES.
- Comparar os níveis dos marcadores nos pacientes com lúpus e em indivíduos saudáveis.
- Correlacionar o estresse oxidativo com atividade clínica da doença (SLEDAI).

2. Metodologia

2.1 Casuística

Foram entrevistados 36 pacientes com diagnóstico de LES atendidos no Ambulatório Araújo Lima, do Hospital Universitário Getúlio Vargas, contendo 4 ou mais dos 11 critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) (SURITA, 1997), e 28 pessoas saudáveis pareados em sexo e idade. Cada paciente foi submetido a um questionário padronizado sobre dados pessoais, sintomas presentes, uso de medicamentos ou suplementos nutricionais e hábitos de vida.

Todos os voluntários assinaram um termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) sobre a sua participação no estudo após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amazonas. Os pacientes receberam uma cópia do TCLE como comprovante da sua participação em que constava o nome do projeto, o responsável pelo mesmo, bem como o número de telefone do pesquisador para possíveis ligações em casos de dúvidas a respeito do projeto.

O grupo de pacientes inclui os atendidos com diagnóstico recente da doença, sendo considerado o período de 12 meses de diagnóstico, sendo excluídos pacientes com tempo de evolução superior ao mesmo. A atividade da doença foi mensurada usando o SLEDAI. Este instrumento examina nove sistemas de órgãos e o escore é assegurado segundo a severidade da doença.

No grupo controle foram incluídas pessoas sadias escolhidas aleatoriamente entre a população que assinaram o termo de consentimento para participarem da pesquisa, pareadas por sexo e idade aos pacientes incluídos na pesquisa.

2.2 Amostras biológicas

As amostras de sangue foram coletadas (10 mL), por punção venosa periférica em sistema vacuum tainer. As coletas foram realizadas durante o atendimento ambulatorial e entrevista no Ambulatório. Os 10 mL de sangue coletados, sem anticoagulantes foram enviadas para o Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Farmácia (UFAM), onde foram realizados os testes laboratoriais.

O sangue foi centrifugados para obtenção do soro. A partir do soro foram analisadas as variáveis químicas relacionadas ao estresse oxidativo.

2.3 Dosagens sérica

2.3.1 Dosagem do ácido úrico

As dosagens do ácido úrico foram realizadas com Kits comerciais através de metodologia automatizada, utilizando o equipamento Cobas Mira® (Roche Instruments Inc).

Figura 1: Aparelho COBAS MIRA® usado para dosagem do Ácido Úrico.



2.3.2 Dosagem da capacidade antioxidante total (CAT) e capacidade oxidante total (COT).

Devido à falta de material para dosagem o CAT e COT não puderam ser avaliadas em todas as amostras coletadas.

2.3.3. Dosagem dos Grupos Sulfidrilas (SH)

Os grupos sulfidrilas de amostras de soro foram pesquisados de acordo com o método de Ellman modificado por Hu et al. Resumidamente, 1mL de tampão contendo Tris 0,1 M, EDTA 10mM em pH 8,2, 50 μ L de DTNB a 10 mM em metanol e 50 μ L de soro, foram adicionados a 1 tubo de ensaio, seguido de incubação a temperatura ambiente por 30 minutos. As absorbâncias das amostras foram lidas a 412 nm. A concentração de grupos sulfidrilas foi calculada usando-se uma solução de glutatona reduzida como padrão de grupo sulfidrilas livre e o resultado foi expresso em milimolar.

2.3.4. Dosagem do malondialdeído (MDA)

Para determinação dos níveis de MDA utilizou-se o sistema HPLC onde usou-se 100 μ L de soro adicionado a 1 mL de uma solução contendo ácido tricloroacético a 15 %, ácido tiobarbitúrico a 0,38 % em ácido clorídrico 0,25 N. Esta mistura foi aquecida em banho-maria por 30 minutos, e depois centrifugada. A absorbância do sobrenadante foi medida a 535 nm. A concentração das amostras foi determinada a partir da leitura de uma amostra com concentração conhecida (padrão) de malondialdeído a 10 nmol/L. Seguindo o protocolo químico de processamento. O valor considerado normal foi de 0,8 – 1,2 μ mol. Foi estipulado presença de estresse quando os valores foram superiores (NIELSEN, et al, 1997).

Figura 2: Sistema cromatográfico HPLC usado para dosar o malondialdeído (MDA).



2.4. Análise estatística dos Dados:

Os resultados obtidos foram analisados no programa Epi Info, version 3.5.1, 2008. As comparações das variáveis entre pares de grupos independentes foram feitas através dos testes não-paramétricos de Mann-Whitney ou *t* de Student. Para testes de correlação utilizaram-se os testes de Pearson ou Spearman, para dados paramétricos e não-paramétricos, respectivamente. As variáveis categóricas foram comparadas pelos testes Qui-quadrado e Fisher, quando necessário. Para a comparação de mais de duas médias, foi utilizada a Análise da Variância de um único fator (ANOVA one way). O nível de significância a ser considerado foi de $p < 0,05$.

3. Resultados e Discussões:

3.1. Dados Gerais:

Foram estudados 36 pacientes com diagnóstico recente de Lúpus Eritematoso Sistêmico e 28 controles saudáveis, pareados em sexo e idade. No grupo LES o sexo feminino perfaz 91,6% (n = 33) dos pacientes, representando uma proporção de 10/1 mulheres/homens, resultados condizentes com a proporção proposta pela literatura (LI & ISENBERG, 2006; GOLDMAN & AUSIELLO, 2005). A idade média dos pacientes na época do diagnóstico de LES foi de $28,2 \pm 13$ anos, variando de 10 e 61. Já o grupo controle foi formado exclusivamente pelo sexo feminino, cuja média de idade foi de $27,9 \pm 9,9$ anos.

Todos os pacientes incluídos no estudo apresentavam pelo menos 4 dos 11 critérios, com uma média de $5,3 \pm 1,1$. A ordem de frequência dos critérios esta representada na tabela 1, predominando o FAN como critério diagnóstico.

Quanto à atividade da doença medida pelo SLEDAI, alcançou-se uma média de $10,3 \pm 6,6$ pontos. Usamos como coorte, SLEDAI maior que 6 pontos, para considerar a doença em atividade (MORGAN, STURGESS & DAVIES, 2005) e obteve-se que 27 (75%) pacientes tinham doença ativa, no entanto o estresse oxidativo não influenciou no resultado, uma vez que não se obteve relação estatisticamente significativa.

Tabela 1: Distribuição da Frequência dos Critérios do ACR nos 36 pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico estudados.

	n	%
FAN POSITIVO	32	88,9
FOTOSENSIBILIDADE	28	77,8
ARTRITE	27	75
RASH MALAR	23	63,9
ÚLCERA ORAL	19	52,8
ACOMETIMENTO HEMATOLÓGICO	18	50
ACOMETIMENTO RENAL	14	38,9
ACOMETIMENTO IMUNOLÓGICO	10	27,8

SEROSITE	9	25
ACOMETIMENTO NEUROLÓGICO	8	22,2
RASH DISCÓIDE	5	13,9

Durante o estudo avaliamos a presença de comorbidades nos pacientes e controles, os dados obtidos estão listados na tabela 2.

Tabela 2: Distribuição da presença de Comorbidades na amostra de 36 pacientes e 28 controles.

Comorbidades	Pacientes (36)	Controles (28)
HAS	7	0
DISLIPIDEMIAS	4	0
OBESIDADE	0	1
OSTEOPOROSE	1	0
TUBERCULOSE	1	0
TOTAL	13	1

HAS = Hipertensão arterial/ TB = Tuberculose

Devido aos avanços no tratamento do lúpus os pacientes apresentam melhora na sobrevida tornando esta doença uma condição crônica. Não entanto, esta condição leva ao surgimento das comorbidades, as quais proporcionam uma queda na qualidade de vida dos pacientes. PINEAU, et al propõe como comorbidades mais freqüentemente as doenças cardiovasculares, a osteoporose e as malignidades (PINEAU, et al, 2007).

Observamos nesse estudo uma freqüência baixa de comorbidades, onde apenas 36% (n = 13) dos pacientes estavam acometidos. As doenças mais freqüentes no nosso meio foram a hipertensão arterial sistêmica e dislipidemias como mostra a tabela. Por outra parte, das pessoas pertencentes ao grupo controle apenas um apresentou comorbidade, sendo provavelmente a doença de base um fator de risco para o aparecimento das mesmas (OR = 11,8; IC = 1,4 – 98). Isso se deu provavelmente por ser a amostra constituída de pacientes com diagnostico recente de LES.

3.2. Análises Laboratoriais:

Inúmeros agravos físicos, químicos, ambientais e reações do metabolismo normal produzem mecanismos nos organismos capazes de gerar radicais livres. Muitos estudos associam a presença desses radicais fundamentais à patogênese de algumas doenças devido a sua capacidade de provocar lesões nas membranas celulares (peroxidação lipídica), às proteínas e ao próprio DNA (DAVIES & GOLDBERG, 1986).

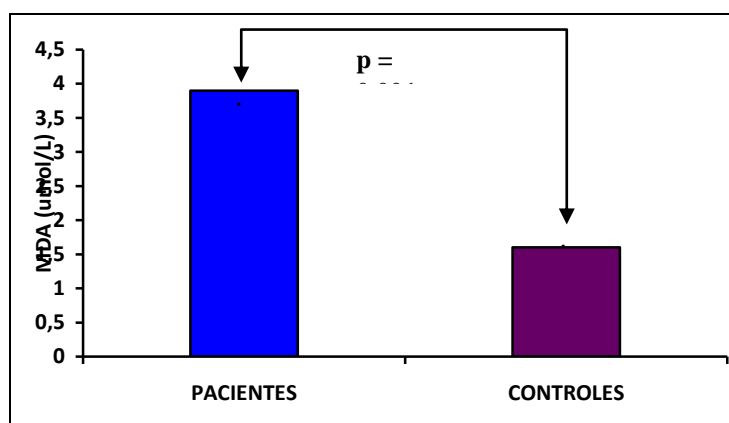
Nosso estudo procurou dosar produtos da presença de estresse oxidativo nos pacientes com lúpus e em seguida compará-los com os controles. Os dados obtidos estão listados na tabela 3.

Tabela 3: Relação entre os valores plasmáticos de malondialdeído (MDA), grupo sulfidril (SH) e ácido úrico obtidos nos 36 pacientes e 28 controles durante o estudo.

Mean	Cases (36)	Control (28)	P
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	$3,9 \pm 2,6$	$1,6 \pm 2,6$	0,001
SH group ($\mu\text{mol/L}$)	$260,2 \pm 182,7$	$339,4 \pm 104,3$	0,04
Uric acid (mg/dL)	$4,1 \pm 1,5$	$3,8 \pm 0,9$	0,48

Os níveis séricos de malondialdeído nos pacientes e nos controles foram [$(3,9 \pm 2,6)$ e $(1,6 \pm 2,6)$ $p = 0,001$] conforme mostra o gráfico 1. Dados semelhantes foram encontrados por BAE, KIG & SUNG, 2002, corroborando a teoria da presença de estresse oxidativo nos pacientes portadores de lúpus.

Gráfico 1: Níveis séricos de Malondialdeído (MDA) em 36 pacientes com diagnóstico de lúpus e em 28 controles.

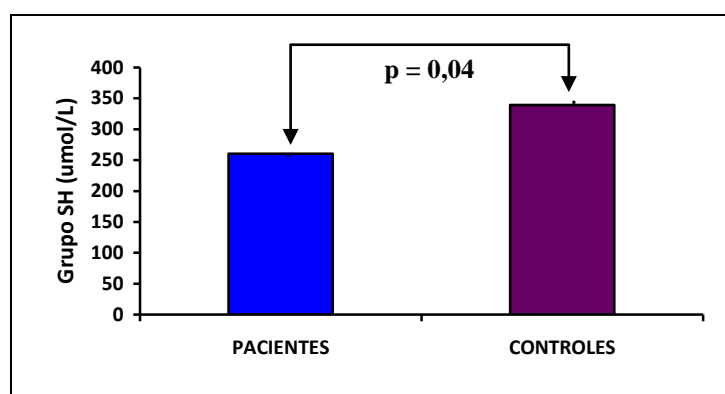


O malondialdeído é um dos produtos obtidos na peroxidação lipídica (ATUNES et al, 2008) e como seus níveis se encontram elevados em algumas patologias associadas ao estresse oxidativo é considerado um importante biomarcador para avaliação do estresse (ATUNES et al, 2008).

Quando comparamos os valores de MDA com a atividade da doença (SLEDAI ≥ 6), obtive-se relação estatística ($p = 0,04$) dado semelhante ao encontrado por TAYSI et al, onde níveis de MDA se mostraram superiores nos pacientes com doença ativa e mais grave.

O grupo sulfidril (SH) é um dos primeiros a ser convertidos em disulfidos e outras espécies oxidadas, durante os primeiros eventos de oxidação protéica (DEAN et al, 1997), de modo que seu consumo indica presença de eventos redox.

Gráfico 2: Níveis séricos do grupo sulfidril (SH) em pacientes com diagnóstico de lúpus e em controles.



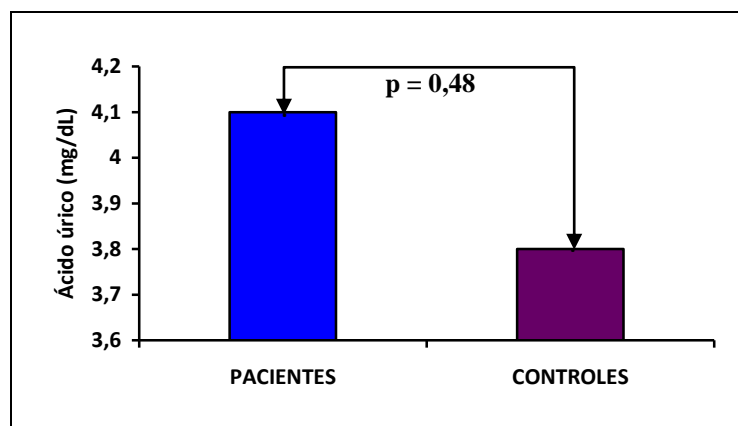
Os níveis séricos do grupo sulfidril encontrados foram de $260,2 \pm 182,7$ nos pacientes e de $339,4 \pm 104,3$ nos controles ($p = 0,04$). Quando comparados com a atividade da doença, mostraram relação significativa ($p = 0,02$).

Os resultados obtidos são consistentes com a presença de oxidação protéica nos pacientes com lúpus o que foi evidenciado pelo decréscimo dos níveis de SH (MORGAN, STURGESS & DAVIES, 2005). Na literatura a oxidação de proteínas tem sido demonstrada em outras doenças através do estresse oxidativo como em coronariopatias cujos valores menores sugeriam pior prognóstico (KADOTA et al, 1991), assim como estudos anteriores têm demonstrado a queda dos níveis de SH em pacientes com LES comparados aos controles e correlação com a atividade da doença (LORBER et al, 1964; LORBER, BOVY & CHANG, 1971).

O ácido úrico é considerado um ótimo antioxidante endógeno capaz de produzir compostos menos tóxicos para os tecidos (NAOUM, 2006). No entanto o papel do ácido úrico em associação com o estresse oxidativo não está claramente demonstrada (GLANTZOUNIS et al, 2005). Num estudo realizado por FREIRE et al, o ácido úrico contribuiu como monitor de estresse oxidativo após ser evidenciada a relação entre a queda dos níveis do mesmo e a presença de EO (FREIRE, et al, 2003).

Nosso estudo utilizou o ácido úrico como parâmetros antioxidantes do plasma nos pacientes com lúpus recente e nos controles [(4,1 ± 1,5) e (3,8 ± 0,9)], porém não se encontrou relação entre a doença e os níveis do mesmo (p = 0,48).

Gráfico 3: Níveis séricos de Ácido úrico em 36 pacientes com diagnóstico de lúpus e em 28 controles.



A literatura afirma que o estresse oxidativo é um dos principais fatores responsáveis pela redução desse elemento (NAOUM, 2006), porém, o ácido úrico não pode ser considerado um marcador seguro, pois já foi comprovado que muitas variações de seus níveis séricos ocorrem durante a evolução dos processos redox (STRAZZULLO & PUIG, 2007).

Vários autores consideram o acometimento renal como indicativo de casos mais graves da doença, considerada a nefrite lúpica a principal causa de internações e mortalidade nos pacientes com LES (MELO, et al, 2009; BASTIAN, et al, 2007). Devido às afirmativas dos autores, nosso estudo procurou relacionar os marcadores séricos obtidos ao acometimento renal não se encontrando correlação com MDA (p = 0,33), Grupo SH (p = 0,14) e ácido úrico (p = 0,09).

3.3. Mensuração do estresse oxidativo

Vários estudos associam o estresse oxidativo ao aparecimento de doenças reumáticas, principalmente as autoimunes (COOKE et al, 1997; SUKKAR & ROSSI, 2004). No estudo procurou a existência de EO em pacientes com lúpus e se comparou com os controles. Os resultados obtidos estão representados na tabela abaixo. (Tabela 4).

Tabela4: Relação da presença de estresse oxidativo nos pacientes com LES e controles.

	NO LES	YES LES	TOTAL
NO ESTRESSE	20	6	26
Row %	76,9	23,1	100
YES ESTRESSE	8	30	38
Row %	21,1	78,9	100
TOTAL	28	36	64
Row %	43,8	56,3	100

Evidenciou-se que 78,9% (n = 30) dos pacientes apresentavam estresse enquanto apenas 21,1% (n = 8) dos controles apresentavam EO, sendo este um provável fator de risco para o aparecimento do LES (OR = 12,5; IC = 3,7 – 41,5). Resultados semelhantes foram propostos por outros autores (WASZCZYKOWSKA et al, 1999; MORGAN, STURGESS & DAVIES, 2005).

O estresse oxidativo foi comparado a várias entidades clínicas, ao tempo de doença, comorbidades e ao número de critérios do ACR não evidenciando relação entre eles.

O acometimento renal nos pacientes lúpicos parece ser facilitado pelo estresse oxidativo (AGARWAL, 2003) assim como o da hipertensão arterial sistêmica (BARP, 2002).

Procurou-se correlacionar as afirmativas acima citadas ao EO em nosso estudo na tentativa de comprovar as mesmas, contudo não encontramos relação importante (p = 0,16 e p = 0,07, respectivamente).

4. Conclusões:

Com base nos resultados obtidos neste estudo podemos concluir que existem evidências de estresse oxidativo nos pacientes portadores de lúpus, não entanto verificamos que o EO não aumentou em função do tempo de doença e do número de SLEDAI.

Em termos de marcadores séricos conclui-se que níveis de malondialdeído e do grupo sulfidril são significativamente alterados quando comparados com o grupo controle, e estes valores se encontram relacionados com a atividade da doença (SLEDAI > 6). Por outra parte o ácido úrico não mostrou alterações significativas. Os três compostos quando comparado às manifestações clínicas da doença, comorbidades e outras variáveis não se relacionaram estatisticamente.

5. Referencias Bibliográficas

- AGARWAL, R. Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* Apr 2003, v. 284, n. 4, p. 863 – 69.
- ALVES, J. D; AMES, P. R. Atherosclerosis, oxidative stress and auto-antibodies in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Immunobiology*, 2003, v. 207, n. 1, p. 23 – 8.
- ANTUNES, M. V, et al. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. *Rev. Bras. Ciências farmacêuticas*, abr/jun 2008, v. 44, n. 2, p. 279 – 87.
- BAE, S. C; KIM, S. J; SUNG, M. K. Impaired antioxidant status and decreased dietary intake of antioxidants in patients with systemic lupus erythematosus. *Korea: Rheumatol. Int.* 2002, n. 22, p. 238 – 43.
- BARP, J. Avaliação do Estresse Oxidativo no desenvolvimento da Hipertensão Renovascular: Papel protetor dos estrogênios. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
- BARTELS, C.M, et al. Systemic Lupus Erythematosus. *eMedicine*, Feb 2008.
- BASTIAN, H. M, et al. Lupus nephritis remains a major cause of morbidity among patients with systemic lupus erythematosus. *MedScape*, 2007.
- BEZERRA, E, L, M, et al. Lúpus eritematoso sistêmico (LES): perfil clínico-laboratorial dos pacientes do Hospital Universitário Onofre Lopes (UFRN-Natal/Brasil) e índice de dano nos pacientes com diagnóstico recente. *Arq. Bras. Reumatol*, São Paulo, Nov/Dez 2005, v. 45, n. 6.
- CARDOSO, A.C.D. - Padrões histopatológicos em biópsias renais realizadas no Hospital Getúlio Vargas - Amazonas. São Paulo, 2002, 96p, Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Paulo.

- COSTA, C.M da; SANTOS, R.C.C dos; LIMA, E.S. A simple automated procedure for thiol measurement in human serum samples. *J. Bras. Patol. Med. Lab*, Rio de Janeiro, Oct 2006, v. 42, n. 5.
- DEAN, R.T, *et al.* Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Great Britain, Biochem. J.* 1997, n. 324, p. 1 – 18.
- DAVIES, K.J.A; GOLDBERG, A.L. Oxygen Radicals Stimulate Intracellular Proteolysis and Lipid Peroxidation by Independent Mechanisms in Erythrocytes. *The J. of Biol. Chemistry.* 1987, v. 262, n. 17, p. 8220 – 26.
- EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, v. 37, n. 4, 2004, p. 277 – 85.
- EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, Turkey, Dez 2005, v. 38, n. 12, p. 1103 - 111.
- FERREIRA, A.L.A; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil.* 1997, v. 43, n. 1, p. 61 – 8.
- FILIPPIN, L, I. *et al.* Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatóide. *Rev. Bras. Reumatol*, Jan /Feb 2008, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 17 – 24.
- FREIRE, S. T, *et al.* Uric acid as a monitor of oxidative stress in a random skin flap in rats. *Acta Círg. Brasil*, 2003, v. 18, n. 6, p. 534 – 36.
- GLANTZOUNIS, G. K, *et al.* Uric acid and oxidative stress. *Curr Pharm Des.* 2005, v. 11, n. 32, p. 4145 – 51.
- HA, H; ENDOU, H. Lipid peroxidation in isolated rat nephron segments. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*, 1992, v. 263, n. 2, p. 201 – 7.
- HUDSON, M, *et al.* Patients with systemic autoimmune diseases could not distinguish comorbidities from their index disease. *Journal of clinical epidemiology*, 2008, v. 61, n. 7, p. 654 – 62.

- KADOTA, K, et al. Decreased sulfhydryl groups of serum albumin in coronary artery disease. *Jpn. Circ. J*, 1991, n. 55, p. 937 – 41.
- KLEJNBERG, T; MORAES JR, H, V. Alterações oculares nos pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico em acompanhamento ambulatorial. *Arq. Bras. Oftalmol*, São Paulo, Mar/Abril 2006, v. 69, n. 2
- KUMAR, V; ABBAS, A. K; FAUSTO, N. Adaptação, dano e morte celular. In: KUMAR, V; ABBAS, A. K; FAUSTO, N. ROBBINS & COTRAN: Bases patológicas das Doenças. Rio de Janeiro: Elsevier 2005, 7 ed, p. 17 – 19.
- LI, C.K.,; ISENBERG, D.A. Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine*, 2006. v. 34, n. 11, p. 445 - 52.
- LIMA, D.S.; SANTOS, K.S.C. Perfil clínico e laboratorial de pacientes com LES. XV CONIC UFAM, 2006, p. 197.
- LORBER, A; BOVY, R. A; CHANG, C. C. Sulfhydryl deficiency in connective tissue disorders: correlation with disease activity and protein alterations. *Metabolism*, 1971, n. 20, p. 446 – 55.
- LORBER, A, et al. Serum sulfhydryl determinations and significance in connective tissue diseases. *Ann. Intern. Med*, 1964, n. 61, p. 423 – 34.
- MELO, A. K. G de, et al. Avaliação de 100 pacientes com nefrite lúpica acompanhados por dois anos. *Rev. Bras. Reumatol*, 2009, v. 49, n. 1.
- MORGAN, P.E; STURGESS, A.D; DAVIES, M.J. Increased levels of serum protein oxidation and correlation with disease activity in SLE. *Arthritis & Rheumatism*. 2005, v. 52, n. 7, p. 2069 – 79.
- MORGAN, P.E *et al.* Serum protein oxidation and proteomic studies in people with systemic lupus erythematosus with and without nephritis. Australia: *Arthritis & Rheumatism*.
- NAOUM, F. A. Sobrecarga de ferro e estresse oxidativo em pacientes submetidos a transplante de células precursoras hematopoiéticas. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, 2006.

- NIELSEN, F, et al. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*, 1997, v. 43, n. 7, p. 1209 – 14.
- NUNES, E; OLIVEIRA, S.C; MORAIS, R.N. Radicais livres: conceito, doenças, estresse oxidativo e antioxidantes. Faculdade Estácio de Sá - Campo Grande, 2006.
- PINEAU, C. A, et al. The second hit: comorbidities in systemic lupus erythematosus. *Future Rheumatology*, Oct 2007, v. 2, n. 5, p. 497 – 506.
- ROCCO, C.S. Peroxidação lipídica e antioxidantes no lúpus eritematoso sistêmico / Lipid peroxidation and antioxidants in Systemic Lupus Erythematosus. São Paulo, 2002, s.n, 131p.
- SALMON, M; GORDON, C. The role of apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 1999, n. 38, p. 1177 – 83.
- SCHUR, P.H. Lúpus eritematoso sistêmico. In: GOLDMAN, L; AUSIELLO, D. *CECIL: Tratado de Medicina Interna*. Rio de Janeiro: Elsevier 2005, 22 ed, p. 1937 – 947.
- SIEGEL, M, et al. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: time trend and racial differences. *Am J Public Health Nations Health*. Jan 1964, v. 54, n. 1.
- SOBKOWIAK, A, et al, Manganese superoxide dismutase Ala-9Val mitochondrial targeting sequence polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland. *Clinical Rheumatology*, 2007, v. 27, n. 7, p. 827 – 31.
- STEVANATO, F.B, et al. Aproveitamento de resíduos, valor nutricional e avaliação da degradação de pescado. *PUBVET*, Paraná, Nov 2003, v. 1, n. 7.
- STRAZZULLO, P; PUIG, J. G. Uric acid and oxidative stress: relative impact on cardiovascular risk? *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. Jul 2007, v. 17, n. 6, p. 409 – 14.
- SUKKAR, S.G; ROSSI, E. Oxidative stress and nutritional prevention in autoimmune rheumatic diseases. *Italy: Autoim. Rev*. 2004, n. 3, p. 199 – 206.
- SURITA, F.G.C, et al. Lúpus e gravidez. *Rev. Bras. de Ginec. e Obstetrícia*, 1997, v. 19, n. 6, p. 413 – 17.

WASZCZYKOWSKA, E; et al. Estimation of SLE activity based on the serum level of chosen cytokines and superoxide radical generation. *Mediators of Inflammation*, 1999, v. 8, n, 2, p. 93 – 100.

6. Cronograma de Atividades

No	Descrição	Ago 2008	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2009	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
2	Coleta de dados: inclusão de pacientes e controle, conforme protocolo.		X	X	X	X	X	X	X	X			
3	Ensaio bioquímicos e hematológicos		X	X	X	X	X	X	X	X			
4	Análise parcial de resultados					X	X	X					
5	Elaboração e entrega do relatório parcial					X	X	X					
6	Análise estatística dos resultados finais									X	X	X	
7	Elaboração do relatório final										X	X	
8	Preparação para apresentação final												X

7. Anexos

Anexo 1 – Critério de Classificação para o LES do colégio Americano de Reumatologia.

Critério	Definição
1. Erupção malar	Eritema fixo, plano e elevado sobre as eminências malares, que tendem
2. Erupção discóide	Placas eritematosas elevadas com cicatrização queratóticas e clavos foliculares com cicatrização atróficas nas lesões velhas.
3. Fotossensibilidade	Exantema cutâneo como resultado de uma reação não usual a luz solar, por relato do paciente e observação do medico.
4. Úlcera oral	Ulceração oral e nasofaríngea, usualmente sem dores, observadas por um médico.
5. Artrites	De tipo não erosiva comprometendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor à pressão, tumefação ou derrame.
6. Serosites	a) Pleurite, historia convincente de dor pleural ou atrito auscultado por médico ou evidencia de derrame pleural. b) Pericardite documentada por ECG ou atrito ou evidencia de derrame pericárdico.
7. Desordem renal	a) Proteinúria persistente superior a 0,5 g por dia ou superior a 3 + se não efetuar quantificação, ou b) Cilindros celulares, que podem ser glóbulos vermelhos, hemoglobina granulares, tubulares ou mistos.
8. Desordens neurológicas	a) Convulsões, em ausência de drogas que as provoquem ou desarranjos metabólicos conhecidos (Uremia, cetoacidose ou desequilíbrio hidroeletrólítico.
9. Desordens hematológicas	a) Anemia hemolítica com reticulócitos aumentados. b) Leucopenia menos que 4000 por mm ³ em duas ou mais ocasiões. c) Linfopenia menor que 1500 mm ³ em duas ou mais ocasiões. d) Trombocitopenia menor que 100.000 por mm ³ em ausência de drogas agressoras.
10. Desordens imunológicas	a) Células LE positivas. b) Anti- DNA positivo em titulo anormal contra o DNA nativo. c) Anti-Sm contra antígenos nucleares Sm. d) Provas sorológicas, falsamente positivas para sífilis pelo menos durante seis meses e confirmado com testes específicos para sífilis como ¹
11. Anticorpo antinuclear	Em titulo anormal por imunofluorescência e com um ensaio equivalente em qualquer momento e em ausência de drogas que provoquem síndrome símile-lúpus.

A classificação proposta está baseada sobre 11 critérios. Diz-se que uma pessoa tem LES, com o propósito de identificar um paciente em estudos clínicos, quando quatro quaisquer dos onze critérios estão presentes em forma seriada ou simultânea durante qualquer intervalo de observação. TAN, et al., em 1982.

¹FTA-ABS – reação com antígeno treponêmico ou TPHA – hemaglutinação passiva utilizando hemácias recobertas com antígenos treponêmicos.

Anexo 2 – Questionário para realização do SLEDAI

Escore	Resposta	Parâmetro
1	Sim	FEBRE 38 ^o , após exclusão de infecção.
4	Sim	ARTRITE Dores articulares e presença de sinais inflamatórios de duas ou mais articulações (inchaço, derrame, sensibilidade)
4	Sim	MIOSITE Fraqueza ou dor da musculatura proximal, associada a elevação de aldolase, alterações eletromiográficas ou biopsia muscular compatível com miosite.
2	Sim	ERITEMA MALAR Novo ou recorrente do tipo inflamatório.
2	Sim	ALOPECIA Padrão anormal de perda de cabelo.
2	Sim	MEMBRANA MUCOSA Ulcerações orais e/ou nasais, novas ou recorrentes.
2	Sim	PLEURISIA Dor torácica tipo pleural, com atrito, derrame ou espessamentos pleurais.
2	Sim	PERICARDITE Dor "pericárdica" com pelo menos um dos seguintes sinais: atrito, derrame, alterações eletrocardiográficas ou confirmação pelo Eco cardiograma.
8	Sim	CONVULSÃO De início recente, excluindo-se as causa metabólicas, infecciosas ou devido ao uso de drogas.
8	Sim	PSICOSE Incapacidade para exercer atividades normais, devido a severo distúrbio na percepção da realidade. Inclui: alucinações, incoerência marcante, pensamento ilógico, comportamento bizarro, desorganização ou catatônico, excluindo-se outras causas como uremia ou uso de drogas.
8	Sim	SÍNDROME ORGANICACEREBRAL Função mental alterada com deterioração de memória ou outras funções intelectuais, incluindo: 1) rebaixamento do nível de consciência com capacidade reduzida para concentração; 2) presença de 2 destes distúrbios de percepção: discurso incoerente, insônia sonolência diurna, aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Estas manifestações devem ser de início recente, oscilando com outras características clínicas (excluindo-se causa metabólica ou drogas).

Escore	Resposta	Parâmetro
8	Sim	OLHOS Alterações retinianas do LES: corpos citóides, hemorragias retinianas, exudato seroso ou hemorragia na coróide (não devida a HAS ou drogas).
8	Sim	NERVOS CRANIANOS Neuropatia acometendo nervos motores e sensitivos de início recente.
8	Sim	CEFALEIA DO LES Severa, persistente, podendo ser do tipo "enxaqueca" não responde a analgésicos narcóticos.
8	Sim	VASCULITE Petéquias, ulcerações, gangrena, nódulos digitais sensíveis e infarto periungueal.
8	Sim	AVC Acidente vascular cerebral de início recente, excluindo-se arteriosclerose.
4	Sim	CILINDRÚRIA Cilindros hemáticos e hemático -granular
4	Sim	HEMATÚRIA Mais que 5 hemácias/ campo ou 8000/mm ³ , excluindo cálculo e infecção.
4	Sim	PROTEINÚRIA > 0,5g/ 24h – início recente ou aumento recente da taxa.
4	Sim	PIÚRIA > 5 leucócitos/ campo ou 10.000/mm ³ , excluindo infecção.
2	Sim	COMPLEMENTO BAIXO CH50, C3 e C4 diminuídos.
2	Sim	Anti- DNA Positivo
1	Sim	TROMBOCITOPENIA Plaquetas < 100.000/mm ³
1	Sim	LEUCOPENIA Leucócitos < 3.000/mm ³