



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

LÍGIA GRECCO COSTA DALL'AQUA

**AVALIAÇÃO DE ADIPOCINAS E MOLÉCULAS DE ADESÃO  
CELULAR EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO  
SISTÊMICO, NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE SÍNDROME  
METABÓLICA**

---

Londrina  
2017

LÍGIA GRECCO COSTA DALL'AQUA

**AVALIAÇÃO DE ADIPOCINAS E MOLÉCULAS DE ADESÃO  
CELULAR EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO  
SISTÊMICO, NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE SÍNDROME  
METABÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção de título de Mestre em Patologia Experimental.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Andréa Name Colado Simão.

Londrina  
2017

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D144a	<p>Dall'Aqua, Lígia Grecco Costa. Avaliação de adipocinas e moléculas de adesão celular em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico, na presença ou ausência de Síndrome Metabólica. / Lígia Grecco Costa Dall'Aqua – Londrina, 2017. 108f. : il.</p> <p>Orientador: Andréa Name Colado Simão. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, 2017. Inclui bibliografia.</p> <p>1. Lúpus eritematoso sistêmico – Teses. 2. Síndrome metabólica – Teses. 3. Moléculas de adesão – Teses. 4. Adipocinas – Teses. I. Simão, Andréa Name Colado. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">616-092</p>
-------	--

LÍGIA GRECCO COSTA DALL'AQUA

**AVALIAÇÃO DE ADIPOCINAS E MOLÉCULAS DE ADESÃO  
CELULAR EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO  
SISTÊMICO, NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE SÍNDROME  
METABÓLICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção de título de Mestre em Patologia Experimental.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Andréa Name Colado  
Simão  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Isaias Dichi  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Marcell Alysson Batisti Lozovoy  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 07 de março de 2017.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeira instância a Deus, por seu amor incondicional que nunca falha, por seu zelo e cuidado incomparáveis, por estruturar cada um de meus dias em Sua presença: fazendo das quedas aprendizado e das vitórias momentos de adoração a Ele. Pai, Seu tempo é perfeito e agradeço por Tua fidelidade para com a minha vida.

Agradeço ao meu esposo Douglas, que esteve ao meu lado todos os dias, mesmo naqueles em que minha mente divagava nos estudos e a minha atenção não era voltada para “nós”. Obrigada por me amar e me apoiar, e sempre dizer – “Relaxa, já deu certo”.

Agradeço aos meus pais, Cleirie e Valner, por me suprirem em múltiplos sentidos, desde o aspecto material como ao psicológico, emocional e espiritual. Obrigada por me abençoarem diariamente, sem vocês minha caminhada, certamente, seria diferente.

Agradeço ao meu irmão Renan, que vivenciou de perto todas as lutas acadêmicas, mas também conquistas de sucesso. Obrigada por compreender, acreditar em mim e, de forma incondicional, incentivar a nunca desistir. Obrigada por jamais negar sua ajuda e conhecimento. Obrigada por abençoar e cuidar de mim.

Agradeço à Professora Doutora Andréa Name Colado Simão que, durante toda caminhada acadêmica, acreditou, apostou, lutou e investiu em meu futuro. Muitas das conquistas não teriam acontecido sem sua participação. Obrigada por ensinar valiosas lições que vão além do profissional, mas que levarei para toda a vida. Obrigada por toda paciência, carinho e dedicação.

Agradeço ao Professor Doutor Marcell Alysson Batisti Lozovoy pelo exemplo profissional, pelo entusiasmo e por acreditar em minha capacidade de chegar até aqui. Por ter se tornado um amigo dentro e fora dos bancos escolares.

Agradeço ao Professor Doutor Isaias Dichi pelo exemplo acadêmico de diplomacia, integridade e ética. Obrigada pelos ensinamentos.

Agradeço às Professoras Doutoras Edna Maria Vissoci Reiche e Elaine Regina Delicato de Almeida, que mesmo antes de me conhecer sempre estiveram a disposição para ensinar com carinho e competência.

Agradeço a todos os demais docentes que por longos ou breves

momentos nos ensinaram valiosas lições, nos permitiram crescer em múltiplas dimensões, de modo que hoje estejamos encorajados a continuar nossas caminhadas, muito mais preparados do que quando ingressamos.

Agradeço aos técnicos dos laboratórios e demais funcionários que com zelo, e seus conhecimentos multidisciplinares compartilharam inúmeras experiências, foram auxiliares da pesquisa e construção do conhecimento.

Agradeço a oportunidade de conhecer grandes amigos, pelas inúmeras boas risadas que tivemos, pelas lutas as quais vencemos juntos, e principalmente por toda contribuição neste trabalho, sem a qual não seria possível sua conclusão. Obrigada Bruna, Lorena, Daniela, Tamires, Nicole, Luana, Brunna, Pamela, Bruno, Fabiano, Marcelo, Tatiana, Sayonara, Poliana e Naiara, jamais esquecerei o que significam para mim, nos encontraremos pelos diversos caminhos.

E por fim agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a minha caminhada até aqui. Obrigada pelo apoio e compreensão.

DALL'AQUA, Lígia Grecco Costa. **Avaliação de adipocinas e moléculas de adesão celular em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, na presença ou ausência de síndrome metabólica.** 2017. 108 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune multifatorial, que exhibe distintas manifestações clínicas que variam segundo a gravidade e o curso clínico, sendo a inflamação crônica e a produção de autoanticorpos eventos característicos. Tem sido demonstrado que pacientes com LES apresentam maior prevalência de Síndrome Metabólica (SM), a qual é descrita como um conjunto de fatores de risco cardiovasculares que incluem: obesidade, resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão arterial. Estudos recentes demonstram o envolvimento de moléculas de adesão (MACs) e adipocinas com a fisiopatologia da SM e com a atividade da doença e manifestações clínicas do LES. No entanto, não há até o presente momento, estudos que tenham avaliado esses parâmetros em ambas as doenças concomitantemente. **OBJETIVO:** Dessa forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o envolvimento de MACs e adipocinas em pacientes com LES na presença ou não de SM. **SUJEITOS E MÉTODOS:** Neste estudo transversal, cento e vinte e seis pacientes com LES foram alocados em dois grupos: com SM (n=64) e sem SM (n=62). O diagnóstico de LES foi determinado de acordo com os critérios propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia. A presença de SM foi determinada de acordo com os critérios do *Adult Treatment Panel III* (ATP III), sendo necessária a presença de pelo menos três critérios dos seguintes: 1) circunferência da cintura com mais de 94 cm nos homens e 80 cm nas mulheres; 2) níveis de triglicérides, em jejum,  $\geq 150$  mg/dL; 3) lipoproteína de alta densidade (HDL)  $< 40$  mg/dL em homens ou  $< 50$  mg/dL em mulheres; 4) pressão arterial  $\geq 130/85$  mmHg (ou o uso de medicação anti-hipertensiva); e 5) níveis de glicose, em jejum,  $\geq 100$  mg/dL ou a utilização de medicamento antidiabético. A atividade da doença foi determinada utilizando o escore SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), sendo considerada doença ativa severa quando SLEDAI  $\geq 10$ . Os níveis de anticorpos anti-DNA de dupla fita (anti-dsDNA) foram determinados por enzima imunoensaio (ELISA). Os níveis de glicose, colesterol total e frações, e triglicérides (TG) foram dosados em um autoanalisador bioquímico; Os níveis séricos de insulina foram determinados por quimioluminescência em micropartículas; Os componentes séricos C3 e C4 do sistema complemento foram determinados por turbidimetria; As MACs PECAM-1 (Molécula-1 de Adesão Celular Endotelial a Plaquetas), VCAM-1 (Molécula-1 de Adesão de Célula Vascular), ICAM-1 (Molécula-1 de Adesão Intercelular), E-selectina e P-selectina e as adipocinas resistina, leptina, MCP-1 (Proteína Quimiotática de Monócitos-1), HGF (Fator de Crescimento de Hepatócitos), LCN2 (Lipocalina-2), TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral alfa), IL-1 (Interleucina-1), IL-6 (Interleucina-6), IL-8 (Interleucina-8), IL-10 (Interleucina-10), PAI-1 (Inibidor-1 do Ativador do Plasminogênio) e SAA (Proteína Amiloide A Sérica) foram determinadas por imunofluorimetria para plataforma *Luminex*<sup>®</sup> e os níveis de adiponectina por ELISA. Os dados categóricos foram analisados com o teste exato de *Fisher* ou qui-quadrado, quando necessário, e os resultados expressos por números absolutos. O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi

usado para avaliar a normalidade da distribuição. Utilizou-se a transformação de logaritmo natural (Ln) de dados contínuos quando as variáveis não foram normalmente distribuídas. Para a comparação entre os grupos aplicou-se o teste *t-Student*, sendo dos dados expressos em média ( $\pm$ SEM). As variáveis que apresentaram  $p < 0,10$  na análise univariada foram utilizadas como variáveis explanatórias na regressão logística binária para verificar associação com a presença de SM ou ainda com a atividade da doença. Todos os testes foram bicaudais e considerada a significância estatística de  $p$  como 0,05. As análises foram executadas com o *software IBM SPSS Statistic*, Versão 20.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA). **RESULTADOS:** A análise univariada indicou que pacientes com SM eram mais velhos ( $p=0,003$ ). Como esperado, o índice de massa corporal (IMC), pressão arterial, circunferência abdominal, insulina, glicose, HOMA-IR (Modelo de Avaliação de Homeostase – Resistência à Insulina) e TG estavam mais altos ( $p < 0,001$ ), enquanto os níveis de HDL mostraram-se mais baixos ( $p < 0,004$ ), nos pacientes com SM comparado aos pacientes sem SM. Não houve diferença entre a duração da doença e escore SLEDAI, bem como, quanto ao tratamento, exceto o uso de anti-hipertensivos que foram mais comumente utilizados no grupo com SM ( $p < 0,001$ ). Os pacientes com SM apresentaram níveis maiores de IL-8 ( $p=0,016$ ), IL-10 ( $p=0,008$ ), MCP-1 ( $p=0,002$ ) e HGF ( $p=0,004$ ) quando comparado com pacientes sem SM. As demais adipocinas avaliadas não diferiram entre os grupos. PAI-1 e as MACs PECAM-1, E-selectina e P-selectina foram significativamente maiores em pacientes com a presença de SM ( $p < 0,05$ ). A análise multivariada demonstrou que os níveis de IL-10 ( $p=0,043$ ) foram diretamente e E-selectina ( $p=0,012$ ) inversamente associados a presença de SM, independentemente de idade, gênero e etnia. Pselectina ( $p=0,049$ ) apresentou-se inversamente associada a presença de SM, enquanto IL-10 ( $p=0,059$ ) perdeu essa associação, quando o modelo que considerava o uso de terapia farmacológica foi avaliado. A frequência de positividade de anti-dsDNA ( $p=0,034$ ) estava aumentada em pacientes com SLEDAI  $\geq 10$ , enquanto os níveis séricos de C3 ( $p=0,006$ ) estavam diminuídos neste grupo. SLEDAI apresentou-se inversamente associado com ICAM-1 e LCN2 e, diretamente associado com IL-6 e MCP-1. A análise de regressão logística binária indicou que IL-6 ( $p=0,024$ ), MCP-1 ( $p=0,027$ ) e LCN2 ( $p=0,009$ ) foram associados com o escore SLEDAI independente de idade, gênero, etnia e terapia farmacológica. **CONCLUSÃO:** Nossos resultados demonstraram que a SM não está diretamente associada à atividade da doença determinada pelo escore SLEDAI, porém há diferença nos perfis inflamatórios entre LES e SM que indiretamente interferem na complexa rede inflamatória de adipocinas e MACs que podem favorecer a modificação da atividade da doença. Assim, são necessários novos estudos para analisar os efeitos a longo prazo destes diferentes perfis inflamatórios sobre a atividade da doença e os danos acumulativos decorrentes da SM em pacientes com LES.

**Palavras-chave:** Lúpus Eritematoso Sistêmico. Síndrome Metabólica. Moléculas de adesão. Adipocinas.

DALL'AQUA, Lígia Grecco Costa. **Evaluation of adipokines and cell adhesion molecules in patients with systemic lupus erythematosus, in the presence or absence of metabolic syndrome.** 2017. 93 f. Dissertation (Master's degree in Experimental Pathology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is a multifactorial autoimmune disease that exhibits distinct clinical manifestations that vary according to severity and clinical course, with chronic inflammation and the production of autoantibodies being characteristic events. It has been demonstrated that patients with SLE present a higher prevalence of Metabolic Syndrome (MetS), which is described as a set of cardiovascular risk factors that include: obesity, insulin resistance, dyslipidemia and hypertension. Recent studies demonstrate the involvement of adhesion molecules (CAMs) and adipokines with the pathophysiology of MetS and with the disease activity and clinical manifestations of SLE. However, there are to date no studies that have evaluated these parameters in both diseases concomitantly. **OBJECTIVE:** The objective of this study was to evaluate the involvement of CAMs and adipokines in patients with SLE in the presence or absence of MetS. **SUBJECTS AND METHODS:** In this cross-sectional study, one hundred and twenty-six patients with SLE were allocated to two groups: with MetS (n=64) and without MetS (n=62). The diagnosis of SLE was determined according to the criteria proposed by the American College of Rheumatology. The presence of MetS was determined according to the criteria of the Adult Treatment Panel III (ATP III), requiring at least three criteria of the following: 1) waist circumference >94 cm in men and >80 cm in women; 2) fasting triglyceride levels  $\geq 150$  mg/dL; 3) high-density lipoprotein (HDL) <40 mg/dL in men or <50 mg/dL in women; 4) blood pressure  $\geq 130/85$  mmHg or use of antihypertensive medication; and 5) fasting glucose levels  $\geq 100$  mg/dL or the use of antidiabetic medication. The activity of the disease was determined using the SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) score and was considered a severe active disease when SLEDAI  $\geq 10$ . Antidouble-stranded-DNA antibody (anti-dsDNA) levels were determined by enzyme immunoassay (ELISA); The levels of glucose, total cholesterol and fractions, and triglycerides (TG) were measured in a biochemical autoanalyzer; Serum insulin levels were determined by microparticle chemiluminescence; Serum components C3 and C4 from the complement system were determined by turbidimetry; The CAMs PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1), VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1), E-selectin and Pselectin and the adipokines resistin, leptin, MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1), HGF (Hepatocyte Growth Factor), LCN2 (Lipocalin 2), TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor Alpha), IL-1 (Interleukin-1), IL-6 (Interleukin-6), IL-8 (Interleukin-8), IL-10 (Interleukin-10), PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1) and SAA (Serum Amyloid A Protein) were determined by immunofluorimetry to *Luminex*<sup>®</sup> Platform and adiponectin levels by ELISA. The categorical data were analyzed using Fisher's exact test or chi-square test, when necessary, and the results were expressed by absolute numbers. The Kolmogorov-Smirnov test was used to evaluate the normality of the distribution. The natural logarithm transformation (Ln) of continuous data was used when the variables were not normally distributed. For the comparison between

the groups the t-Student test was applied, and the data were expressed as mean ( $\pm$  SEM). The variables that presented  $p < 0.10$  in the univariate analysis were used as explanatory variables in the binary logistic regression to verify association with the presence of MetS or with the disease activity. All tests were two-tailed and the statistical significance of  $p$  was considered as 0.05. Analyzes were performed with IBM SPSS Statistic, Version 20.0 software (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

**RESULTS:** The univariate analysis indicated that patients with MetS were older ( $p=0.003$ ). As expected, body mass index (BMI), blood pressure, waist circumference, insulin, glucose, HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance) and TG were higher ( $p < 0.001$ ), while HDL were found to be lower ( $p < 0.004$ ) in patients with MetS compared to patients without MetS. There was no difference between the duration of disease and SLEDAI score, as well as, regarding treatment, except the use of antihypertensives that were most commonly used in the MetS group ( $p < 0.001$ ). Patients with MetS had higher levels of IL-8 ( $p=0.016$ ), IL-10 ( $p=0.008$ ), MCP-1 ( $p=0.002$ ), and HGF ( $p=0.004$ ) when compared to patients without MetS. The other adipokines evaluated did not differ between groups. PAI-1 and CAMs PECAM-1, E-selectin and P-selectin were significantly higher in patients with MetS ( $p < 0.05$ ). Multivariate analysis showed that IL-10 levels ( $p=0.043$ ) were directly and E-selectin ( $p=0.012$ ) inversely associated with the presence of MetS, regardless of age, gender and ethnicity. P-selectin ( $p=0.049$ ) was inversely associated with the presence of MetS, whereas IL-10 ( $p=0.059$ ) lost this association when the model considering the use of pharmacological therapy was evaluated. The frequency of anti-dsDNA positivity ( $p=0.034$ ) was increased in patients with SLEDAI  $\geq 10$ , while serum C3 levels ( $p=0.006$ ) were decreased in this group. SLEDAI was inversely associated with ICAM-1 and LCN2 and directly associated with IL-6 and MCP-1. Binary logistic regression analysis indicated that IL-6 ( $p=0.024$ ), MCP-1 ( $p=0.027$ ) and LCN2 ( $p=0.009$ ) were associated with SLEDAI score regardless of age, gender, ethnicity and pharmacological therapy.

**CONCLUSION:** Overall, our results demonstrated that while MetS is not directly associated with disease activity measured by SLEDAI score, there is a difference in the inflammatory profiles between SLE and MetS that indirectly interferes in the complex inflammatory network of adipokines and CAMs that could favor the modification of the disease activity. Thus, more studies are warranted to analyze the long-term effects of these different inflammatory profiles on disease activity and cumulative damage arising from MetS in SLE patients.

**Keywords:** Systemic Lupus Erythematosus. Metabolic Syndrome. Adhesion molecules. Adipokines.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Moléculas de adesão: localização e funções .....	23
Figura 2 – Regulação e progressão da inflamação no decorrer do ganho de peso ..	32
Figura 3 – Perfis predominantes de células, adipocinas e outras moléculas no tecido adiposo de indivíduos eutrófico e obeso .....	36
Figura 4 – Lúpus Eritematoso Sistêmico e Síndrome Metabólica: envolvimento com adipocinas e moléculas de adesão .....	38

### Artigo

<b>Figure 1</b> – Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and Metabolic Syndrome (MetS): involvement with adipokines and adhesion molecules.....	61
<b>Figure 2</b> – Adhesion molecules and PAI-1 in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in presence or absence of Metabolic Syndrome (MetS) .....	64

## LISTA DE TABELAS

### Artigo

<b>Table 1</b> – Demographic, clinical, and laboratory characteristics of systemic lupus erythematosus (SLE) in the presence or absence Metabolic Syndrome (MetS) .....	62
<b>Table 2</b> – Adipocytokines in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients in the presence or absence of Metabolic Syndrome (MetS) .....	63
<b>Table 3</b> – Adipocytokines and cell adhesion molecules in SLE patients, considering the presence of Metabolic Syndrome.....	65
<b>Table 4</b> – Demographic, clinical and biological characteristics in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients considering SLEDAI score.....	66
<b>Table 5</b> – Cytokines, adipocytokines, and cell adhesion molecules in SLE patients, according to SLEDAI (<or ≥ 10) .....	67
<b>Table 6</b> – Adipocytokines and cell adhesion molecules in SLE patients, considering SLEDAI .....	68

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios do Colégio Americano de Reumatologia para o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico.....	18
Quadro 2 – Critérios para o diagnóstico de Síndrome Metabólica segundo <i>Adult Treatment Panel III</i> (ATP III) .....	20

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ANA	<i>Antinuclear antibody</i> – Anticorpo antinuclear
APCs	<i>Antigen-presenting cells</i> – Células apresentadoras de antígeno
ATP III	<i>Adult Treatment Panel III</i>
BILAG	<i>British Isles Lupus Assessment Group</i>
CCL2	<i>Chemokine Ligand 2</i> – Quimiocina ligante 2
CD	<i>Cluster of differentiation</i> – Grupamento de diferenciação
dsDNA	<i>Double stranded Deoxyribonucleic Acid</i> – Ácido desoxirribonucleico dupla-fita
eNOS	<i>Endothelial nitric oxide synthase</i> – óxido nítrico sintase endotelial (eNOS)
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de alta densidade
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i> – Fator de crescimento de hepatócitos
HOMA-IR	<i>Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance</i> – Modelo de avaliação da homeostase- Resistência à insulina
ICAM-1 or 2	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1 or 2</i> – Molécula 1 ou 2 de adesão intercelular
IFI	Imunofluorescência indireta
IFN- $\gamma$	<i>Interferon-gamma</i> – Interferon-gama
IL	<i>Interleukin</i> – Interleucina
IL-1RA	<i>Interleukin-1 receptor antagonist</i> – Antagonista do receptor da interleucina-1
IMC	Índice de massa corporal
iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i> - Óxido nítrico sintase induzida
LCN2	<i>Lipocalin 2</i> – Lipocalina 2
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de baixa densidade
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
MACs	Moléculas de adesão
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein 1</i> – Proteína quimiotática de monócito 1
NF- $\kappa$ B	<i>Nuclear Factor kappa B</i> – Fator nuclear kappa B

NO	Óxido nítrico
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI-1	<i>Plasminogen activator inhibitor 1</i> – Inibidor 1 do ativador do plasminogênio
PAF	<i>Platelet activating factor</i> – fator ativador de plaquetas
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C reativa
PECAM-1	<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule-1</i> - Molécula 1 de adesão celular endotelial a plaquetas
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> – Ácido ribonucleico
SLAM	<i>Systemic Lupus Activity Measure</i>
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i>
SM	Síndrome metabólica
SNC	Sistema nervoso central
SAA	<i>Serum amyloid A</i> – Proteína amiloide A sérica
TG	Triglicerídeos
TGF- $\beta$ 1	<i>Transforming Growth Factor beta</i> – Fator de crescimento transformador beta-1
Th	<i>T-helper</i> – células T auxiliares
TLR-4	<i>Toll-like receptor 4</i> – Receptor do tipo Toll 4
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> – Fator de necrose tumoral
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i> – Molécula 1 de adesão de célula vascular
VLDL	<i>Very-low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de muito baixa densidade

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1	LUPÚS ERITEMATOSO SISTÊMICO .....	16
1.2	EPIDEMIOLOGIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.....	17
1.3	ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO .	17
1.4	DIAGNÓSTICO E ATIVIDADE DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.....	18
1.5	SÍNDROME METABÓLICA EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO .....	20
1.6	MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR (MACS).....	22
1.6.1	Caderinas .....	23
1.6.2	Selectinas .....	24
1.6.3	Integrinas .....	24
1.6.4	Imunoglobulinas.....	25
1.7	MOLÉCULAS DE ADESÃO NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO .....	25
1.8	MOLÉCULAS DE ADESÃO NA SÍNDROME METABÓLICA.....	26
1.9	ADIPOCINAS CORRELATAS À INFLAMAÇÃO .....	27
1.9.1	Adiponectina .....	27
1.9.2	Leptina .....	28
1.9.3	Resistina .....	29
1.9.4	Proteína Quimiotática de Monócito (MCP-1).....	30
1.9.5	Fator de Crescimento de Hepatócitos (HGF).....	30
1.9.6	Lipocalina 2 (LCN2) .....	30
1.9.7	Citocinas .....	31
1.9.8	Proteína amiloide A sérica (SAA).....	33
1.9.9	Inibidor do Ativador de Plasminogênio-1 (PAI-1).....	33
1.10	ADIPOCINAS NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO .....	34
1.11	ADIPOCINAS NA SÍNDROME METABÓLICA.....	35
1.12	LES E SM: ENVOLVIMENTO COM ADIPOCINAS E MACS .....	37
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVAS</b> .....	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>40</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	40

3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
<b>4</b>	<b>SUJEITOS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1	MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS .....	41
4.2	EXAMES LABORATORIAIS .....	42
4.3	MOLÉCULAS DE ADESÃO E ADIPOCINAS.....	43
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>ARTIGO.....</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>69</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>70</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>82</b>
	APÊNDICE A – Principais adipocinas: células secretoras e funções.....	83
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	85
	APÊNDICE C – Ficha de avaliação dos pacientes.....	87
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>88</b>
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da Universidade Estadual de Londrina .....	89
	ANEXO B – Escore SLEDAI – Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index.....	92
	ANEXO C – Instruções para autores da revista Clinical Rheumatology.....	93
	ANEXO D – Comprovante de submissão de artigo.....	108

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 LUPÚS ERITEMATOSO SISTÊMICO

O LES é uma doença autoimune, inflamatória, crônica, cuja etiologia está associada a alterações genéticas, hormonais e ambientais que resultam em um desequilíbrio do sistema imunológico (VYSE; KOTZIM, 1998). Sendo uma doença pleomórfica exibe ampla variabilidade fenotípica apresentando, normalmente, períodos de atividade e outros de remissão (BERTSIAS et al., 2008; KLUMB et al., 2015).

O LES é caracterizado pela presença de autoanticorpos contra estruturas nucleares, denominados anticorpos antinucleares (ANAs) que podem ligar-se especificamente a: ácido desoxirribonucleico dupla-fita (anti-dsDNA), proteínas histonas, ácido ribonucleico (anti-RNA) e estruturas nucleolares (BRITO et al., 2014; KOTZIN; O'DELL, 1995).

Suas características clínicas são bastante polimórficas, tais como: artrite, serosite, nefrite, vasculite, miosite, alopecia, úlceras orais, alterações imunológicas e hematológicas e, em alguns casos, distúrbios neuropsíquicos (BENGTSSON; RONNBLOM, 2016; BRASIL, 2013).

As intervenções terapêuticas no LES baseiam-se na busca de proteger os órgãos da agressão inflamatória provocada pelo desequilíbrio imunológico, a fim de moderar o quadro de sintomas citados anteriormente, visto que exercem efeito apenas para remissão da doença, mas não proporcionam cura. Dentre os medicamentos comumente utilizados estão os corticoides, os antimaláricos e as drogas citotóxicas (BOSCH et al., 2006; LANNA; FERREIRA; TELLES, 2008).

Apesar dos benefícios e da necessidade do uso dessas terapias medicamentosas, diversos são os efeitos colaterais apresentados pelos pacientes como hipocalcemia, aumento da pressão arterial, distúrbios gastrointestinais, osteoporose, Diabetes Mellitus, obesidade, dislipidemias e susceptibilidade à infecções por microrganismos oportunistas (LANNA; FERREIRA; TELLES, 2008).

## 1.2 EPIDEMIOLOGIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

O LES manifesta-se principalmente em mulheres (9:1) na fase pré-menopausa, entre 20 a 40 anos de idade, sendo característico em grupos étnicos de afrodescendentes, asiáticos e hispânicos (CHEN et al., 2013). A incidência mundial é de aproximadamente 1 a 10 casos para cada 100.000 habitantes por ano, e a prevalência tem uma variação de 5 a 70 casos para cada 100.000 dependendo da região/população estudada (CHAKRAVARTY et al., 2007; D'CRUZ; KHAMASHTA; HUGHES, 2007; PONS-ESTEL et al., 2010; SATO et al., 2002).

No Brasil os dados epidemiológicos ainda são exíguos visto que as estimativas disponíveis têm sido baseadas em populações de algumas áreas geográficas, não refletindo a totalidade de casos no país. De acordo com um estudo realizado na região Nordeste, estima-se que a incidência de LES seja de 8,7 casos para cada 100.000 habitantes (VILAR; RODRIGUES; SATO, 2003). Já um estudo realizado na cidade de Cascavel-PR, entre agosto de 2007 e julho de 2008, verificou a incidência de 4,8 para cada 100.000 habitantes por ano (NAKASHIMA et al., 2011).

A mortalidade dos pacientes é cerca de 3 a 5 vezes maior do que a da população em geral, sendo os casos mais frequentes aqueles com acometimento renal e danos cardiovasculares, bem como os que apresentam atividade inflamatória intensa. Em seguida estão os indivíduos com danos no sistema nervoso central (SNC), e por fim aqueles relacionados às complicações causadas por tratamentos com imunossuppressores (BRASIL, 2013; PONS-ESTEL et al., 2010).

## 1.3 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

Os mecanismos que dão origem ao LES ainda permanecem sem uma total elucidação. Contudo, apesar de apresentar uma etiologia ainda incerta, sabe-se que fatores ambientais, hormonais, imunológicos e genéticos estão associados ao seu desenvolvimento (TALAAT et al., 2015).

A fisiopatologia da doença é caracterizada pela produção de autoanticorpos e deposição de imunocomplexos em órgãos e sistemas, evoluindo para um processo inflamatório crônico (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015a).

A presença de antígenos próprios vem sendo demonstrada como a principal

desencadeadora da doença. As lesões teciduais repetitivas fazem com que estruturas intracelulares sejam expostas às células apresentadoras de antígeno (APCs) que irão processar tais antígenos e apresentá-las aos linfócitos T (KOTZIN; O'DELL, 1995; TSOKOS; KAMMER, 2000).

Os padrões de resposta de células T auxiliares (*T-helper*, Th) do tipo 1 e 2 estão aumentadas no LES, sendo que a resposta Th1 associa-se à atividade da doença, enquanto que o padrão Th2 está envolvido principalmente quando há aumento de autoanticorpos (TALAAT et al., 2015).

Além dessas duas respostas bem caracterizadas, células T CD4<sup>+</sup> *naive* podem ser diferenciadas em Th-17: um subconjunto distinto de células, caracterizado por secretar um perfil de citocinas próinflamatórias como interleucina 17 (IL-17), interleucina 21 (IL-21), interleucina 22 (IL-22), bem como, TNF- $\alpha$  e IL-6. Estudos indicam que a IL-17 contribui para a contínua inflamação no LES e seus níveis estão aumentados em quadros de doenças autoimunes, desempenhando um papel de iniciação da doença (GARRETT-SINHA; JOHN; GAFFEN, 2008; LUBBERTS, 2008).

Linfócitos T reguladores (Treg) desempenham um importante papel na manutenção da autotolerância e no controle de doenças autoimunes, bem como, relacionam-se ao controle da homeostase e na modulação do sistema imune em repostas contra alérgenos, células cancerígenas e patógenos (SAKAGUCHI et al., 2001).

#### 1.4 DIAGNÓSTICO E ATIVIDADE DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

O diagnóstico da doença é estabelecido de acordo com os critérios propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia em 1972 e revisados em 1982 e 1997, registrados no Quadro 1 (HOCHBERG, 1997). São onze critérios, sendo que a presença de quatro deles indicará o diagnóstico de LES.

Quadro 1 – Critérios do Colégio Americano de Reumatologia para o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico

CRITÉRIOS	DEFINIÇÕES
1. Eritema malar	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo
2. Lesão discóide	Lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia
3. Fotossensibilidade	Exantema cutâneo como reação não-usual à exposição à luz solar, de acordo com a história do paciente ou observado pelo médico

4. Úlceras orais/ nasais	Úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico
5. Artrite	Não-erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular
6. Serosite	Pleuris (caracterizada por história convincente de dor pleurítica, atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentada por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico)
7. Comprometimento renal	Proteinúria persistente (> 0,5 g/dia ou 3+) ou cilindrúria anormal
8. Alterações neurológicas	Convulsão (na ausência de outra causa) ou psicose (na ausência de outra causa)
9. Alterações hematológicas	Anemia hemolítica ou leucopenia (menor que 4.000/mm <sup>3</sup> em duas ou mais ocasiões) ou linfopenia (menor que 1.500/mm <sup>3</sup> em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que 100.000/mm <sup>3</sup> na ausência de outra causa)
10. Alterações imunológicas	Anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm ou presença de anticorpo antifosfolípide com base em: a) níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina; b) teste positivo para anticoagulante lúpico; ou c) teste falso-positivo para sífilis, por, no mínimo, seis meses
11. Anticorpos antinucleares	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta ou método equivalente, em qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas

**Fonte:** Borba (2008).

A fim de promover e padronizar a avaliação do LES foram desenvolvidos índices de atividade da doença. Dentre eles, os que se destacam são SLAM (*Systemic Lupus Activity Measure*), o BILAG (*British Isles Lupus Assessment Group*) e o SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*) (GLADMAN et al., 1992).

O SLEDAI tem sido amplamente utilizado, tanto neste grupo de pesquisa (Ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário de Londrina), quanto em diversos centros, havendo bons resultados de reprodutibilidade (BOMBARDIER et al., 1992; SATO et al., 1991). Esse índice inclui parâmetros clínicos e laboratoriais, levando em consideração o órgão acometido, avaliando também a atividade da doença nos últimos 10 dias. É um índice global com 24 critérios de avaliação, podendo haver variação em uma escala de 0 a 105 pontos. Escores superiores a 6 indicam doença ativa e a disparidade de três pontos entre uma avaliação e outra é entendida como ativação da doença. Oscilações maiores ou iguais a 10 significam atividade grave (BARR et al., 1999; FREIRE; SOUTO; CICONELLI, 2011; MOSCA; BOMBARDIERI, 2006; PETRI et al., 1991; PETRI; BUYON; KIM, 1999).

Para acompanhamento da atividade da doença, comumente são solicitados, os valores séricos de componentes do sistema complemento, como C3 e C4

(BOMBARDIER et al., 1992). Durante a atividade da doença esses biomarcadores tendem a estar diminuídos devido ao seu consumo pela constante ativação da via clássica pelos complexos imunes (JOSEPH et al., 2010; KAVANAUGH et al., 2000).

Outro avaliador laboratorial para atividade do LES é o teste de pesquisa de anticorpos anti-dsDNA realizado comumente por imunofluorescência indireta (IFI) ou ELISA (FU et al., 2015).

## 1.5 SÍNDROME METABÓLICA EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

O aumento do risco de aterosclerose e morte por doenças cardiovasculares nos pacientes com LES foi descrito primeiramente por Urowitz et al. em 1976. Esse estudo demonstrou que o padrão de óbito nesses indivíduos segue um modelo bimodal, sendo que as mortes precoces se davam devido a alta atividade do LES, a necessidade de grandes doses de esteroides e a incidência de infecções, enquanto que as mortes tardias no curso da doença, estavam associadas ao LES inativo, longa duração das terapias esteroidais e incidência de infarto do miocárdio oriundo de aterosclerose (RUBIN; UROWITZ; GLADMAN, 1985; UROWITZ et al., 1976).

A SM é caracterizada pela presença de múltiplos fatores de risco para doenças cardiovasculares como obesidade, resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão arterial (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2006; REAVEN, 2006).

O diagnóstico da SM pode ser realizado de acordo com o proposto pelo ATP III, de modo que o paciente deverá apresentar pelo menos três das cinco alterações mostradas no Quadro 2 (REAVEN, 2006).

Quadro 2 – Critérios para o diagnóstico de Síndrome Metabólica segundo *Adult Treatment Panel III* (ATP III)

Fatores de risco	Níveis definidos
Obesidade Abdominal (circunferência abdominal) Homens Mulheres	>94 cm >80 cm
Triglicérides	≥150 mg/dL
Lipoproteína de alta densidade – HDL Homens Mulheres	<40 mg/dL <50 mg/dL
Pressão arterial	≥130/≥85 mmHg
Glicose em jejum	≥100 mg/dL

Fonte: adaptado de Reaven (2006).

Diversos autores relatam que a alta prevalência de SM em pacientes com LES que, decorrente de sua progressão, acarreta diversos danos aos pacientes, elevando a morbidade e a mortalidade (CHUNG et al., 2007; TELLES et al., 2010; ZONANA-NACACH et al., 2008).

A aterosclerose caracteriza-se pela presença de componentes inflamatórios que, por sua vez, contribuem para a dislipidemia típica associada com LES, caracterizada por elevações de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e TG, bem como redução de HDL. A patogênese das disfunções cardiovasculares no LES é multifatorial e os pacientes tendem a apresentar um aumento nesses eventos. Essa associação sugere um mecanismo patogênico comum, onde LES e aterosclerose são mediadas por complexos imunes (ESCÁRCEGA et al., 2006; ORMSETH et al., 2013).

Em um estudo comparativo entre pacientes com LES e controles, observa-se que a SM esteve presente em 32,4% dos pacientes e 10,9% dos controles. Os pacientes lúpicos tiveram aumento significativo de proteína C reativa (PCR) e maior prevalência de resistência à insulina, entretanto a atividade da doença não foi associada à SM (CHUNG et al., 2007). Outra pesquisa determinou a prevalência de dislipoproteinemias em um grupo de 185 mulheres do Rio de Janeiro com LES onde 89 (48,1%) apresentaram hipercolesterolemia, 55 (29,7%) hipertrigliceridemia e 109 (58,9%) ambas as alterações. Em análise multivariada a proteinúria de 24h e o aumento do IMC foram associados à hipercolesterolemia; a atividade da doença foi relacionada à diminuição do HDL e o uso de antimaláricos foi protetor para hipertrigliceridemia (CARDOSO et al., 2008).

A terapia com corticosteroides e a redução na prática de atividades físicas aumentam o acúmulo de gordura corporal, substancialmente de tecido adiposo visceral o qual eleva os níveis de citocinas próinflamatórias, que em conjunto, contribuem para a promoção de doenças cardiovasculares, Diabetes Mellitus, hipertensão arterial e o desenvolvimento de SM (LILLEBY et al., 2007; TAM et al., 2005; TURNER et al., 2005).

Um potente mecanismo inflamatório para controlar algumas das alterações lipídicas é a atividade reduzida da enzima lipoproteína lipase (LPL). Essa é modulada por mediadores inflamatórios, como TNF- $\alpha$  e IL-6, e anticorpos dirigidos contra LPL (anti-LPL). A LPL é responsável pelo catabolismo de quilomícrons e VLDL, assim a supressão da atividade da LPL resulta em um acúmulo de TG. Essas

mesmas citocinas estimulam a produção de PCR, contribuindo para a diminuição de HDL (TOMS; PANOULAS; KITAS, 2011).

A adiposidade e a resistência à insulina são os principais mecanismos fisiopatológicos associados à SM, sendo a obesidade considerada um dos determinantes mais importantes da inflamação crônica de baixo grau presente na SM (COSTA et al., 2015; KWON; PESSIN, 2013). Esses eventos têm sido comumente vistos em pacientes com LES.

Em estudo prévio, publicado por nosso grupo de pesquisa, pacientes com LES apresentaram aumento da prevalência de SM (LOZOVOY et al., 2014a) e níveis elevados de PCR (LOZOVOY et al., 2011). Além disso, houve correlação positiva do IMC e da circunferência abdominal com a atividade da doença determinada pelo escore SLEDAI (LOZOVOY et al., 2011). Em estudo posterior, nosso grupo demonstrou que pacientes com LES em atividade têm maior probabilidade de desenvolverem hipertensão do que indivíduos saudáveis ou pacientes com LES inativo. No mesmo trabalho houve aumento de IL-12, IL-10, interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e IL-4, demonstrando o predomínio de resposta Th1 (LOZOVOY et al., 2014b).

Por muito tempo o tecido adiposo foi considerado um órgão com basicamente funções de armazenamento de energia e produção de calor, entretanto, com o avanço das pesquisas, considera-se hoje como sendo um órgão endócrino responsável pela produção de citocinas e hormônios, como adiponectina, resistina, leptina, TNF- $\alpha$ , IL-6, PAI-1, angiotensinogênio, angiotensina II, estrogênio e outros (KWON; PESSIN, 2013; SKURK et al., 2007; TRAYHURN; WOOD, 2005).

Essas moléculas atuam de diversas formas em todo o organismo, sendo uma delas o controle da proliferação, da migração e da diferenciação celular, regulando as chamadas MACs. Compreende-se que para haver interação das células com os demais tecidos e todo o processo inflamatório ocorrer, é necessária a ativação do endotélio por moléculas inflamatórias que regularão a superfície das células endoteliais (BELMONT et al., 1994).

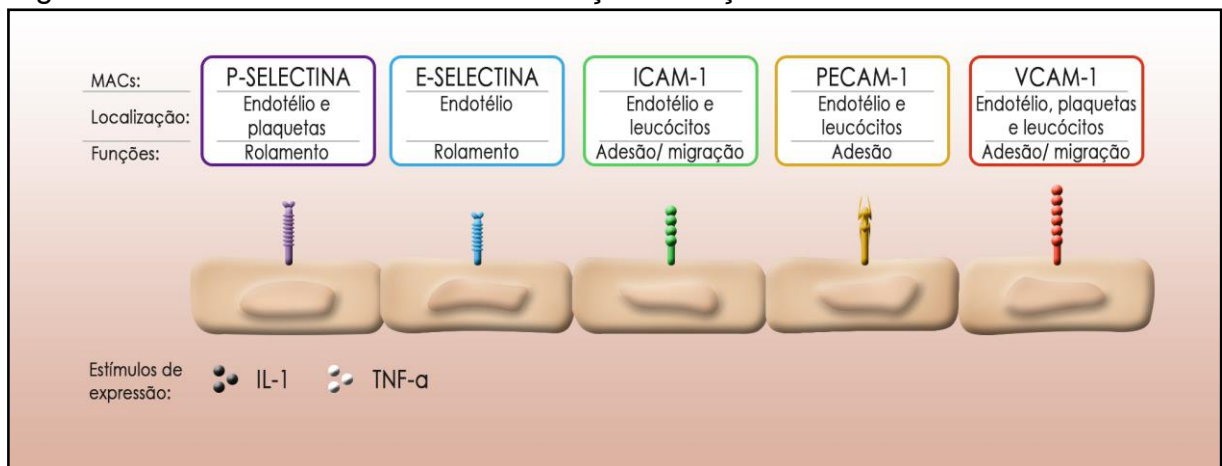
## 1.6 MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR (MACS)

As MACs são proteínas integrais de membrana que permitem a interação célula-célula (adesão direta) e célula-matriz extracelular (adesão indireta). Podem ser classificadas quanto a dependência de íons  $\text{Ca}^{2+}$  – caderinas, selectinas e

integrinas – e as imunoglobulinas que não dependem da presença desse cátion (YOSHIDA-NORO; SUZUKI; TAKEICHI, 1984). São expressas na superfície das células endoteliais e de leucócitos, desempenhando diversas funções celulares (MAHAYIDIN et al., 2016).

O papel das MACs na inflamação envolve vários processos biológicos – organogênese, homeostase tecidual, cicatrização, sinalização e controle da inflamação – os quais devem ser regulados a fim de garantir uma resposta eficaz e com o menor dano possível aos tecidos saudáveis. São ainda responsáveis por adesão intercelular, recrutamento e migração de células para o tecido acometido (ETZIONI, 1996). Tais moléculas atuam como marcadores de ativação e disfunção endotelial, podendo ser detectadas em soro ou outros fluídos, sendo reguladas por citocinas inflamatórias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (SKEOCH et al., 2014). A figura abaixo retrata as principais MACs, suas localizações e funções (Figura 1).

Figura 1 – Moléculas de adesão: localização e funções



Fonte:próprios autores (2017).

ICAM-1, molécula-1 de adesão intercelular; IL-1, interleucina-1; MACs, moléculas de adesão; PECAM-1, molécula-1 de adesão celular endotelial a plaquetas; TNF- $\alpha$ , fator de necrose tumoral alfa; VCAM-1, molécula-1 de adesão de célula vascular.

### 1.6.1 Caderinas

As caderinas são moléculas intracelulares que se comunicam com as cateninas. Um exemplo é a E-caderina, uma das primeiras moléculas de adesão no desenvolvimento embrionário. São encontradas principalmente nas junções intercelulares (zonas de aderência), promovendo interação célula-célula, necessária para garantir a integridade do tecido epitelial na homeostase, durante o

desenvolvimento e na reparação tecidual (ZAIDEL-BAR, 2013).

### 1.6.2 Selectinas

As selectinas são glicoproteínas transmembranas que podem ser expressas em células endoteliais (P e E-selectina), plaquetas (P-selectina) ou leucócitos (L-selectina). Todas as três estão envolvidas no recrutamento de leucócitos para sítios de lesão tecidual, mas há diferenças fundamentais na sua distribuição, ativação e modo de expressão (ETZIONI, 1996).

A E-selectina é exclusiva de células endoteliais, sua expressão é induzida por IL-1 ou TNF- $\alpha$ , sendo comum em condições inflamatórias e detectável no soro (COTRAN et al., 1986). A P-selectina é expressa tanto em células endoteliais quanto em plaquetas. Devido o fato de ser armazenada em grânulos secretores (corpos de Weibel-Palade) não necessita ser sintetizada todas as vezes, bem como, sofre reabsorção nas plaquetas após sua atividade, sendo mais rapidamente redistribuída para a superfície celular (GOTSCH et al., 1994). Contrastando com as demais, a L-selectina é constitutivamente expressa em leucócitos, sua ativação é rápida e transitória (SCHLEIFFENBAUM; SPERTINI; TEDDER, 1992). Os leucócitos expressam L-selectina ou carboidratos ligantes para P-selectina e E-selectina nas extremidades dos microvilos. As três selectinas, sendo ativadas principalmente pelas citocinas IL-1 e TNF- $\alpha$ , desempenham papel fundamental na aderência de leucócitos às células endoteliais (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015b; BELMONT et al., 1994).

### 1.6.3 Integrinas

As integrinas são proteínas transmembranas de células que se ligam às proteínas citoesqueléticas, fazendo interação com o meio extracelular. Uma importante característica é que, sob condições basais, são praticamente inativas. Tal fato permite, por exemplo, que leucócitos não adiram ao endotélio. A ativação se dá por uma variedade de mediadores como C5a, fator ativador de plaquetas (PAF), IL-8, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  resultando no aumento transitório de adesão (MARSHALL et al., 2003).

#### 1.6.4 Imunoglobulinas

As imunoglobulinas são expressas em células endoteliais, havendo dois domínios denominados V (quando liga-se à antígenos) e C (responsável por funções efetoras) (BARCLAY, 2003). São de grande importância para distintas funções vasculares; fazem parte dessa classe as moléculas ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 e PECAM-1 (ARICESCU; JONES, 2007).

ICAM-1 é uma glicoproteína transmembrana regulada por IL-1 e TNF- $\alpha$ , sendo expressa em células endoteliais, epiteliais, dendríticas, hematopoiéticas, linfócitos, monócitos, eosinófilos, hepatócitos, queratinócitos e fibroblastos. Comumente relatada em doenças autoimunes e distúrbios imunológicos do SNC. ICAM-2 é constitutiva, não sendo regulada por citocinas. Tal glicoproteína promove adesão entre as células e o endotélio vascular, estando largamente distribuída em células hematopoiéticas, desempenhando um papel na recirculação dos linfócitos, mediando a interação de adesão e a depuração de linfócitos *natural killer* (SMITH; BARKER; LEE, 1993).

VCAM-1 é uma glicoproteína de superfície, expressa em células endoteliais, dendríticas, macrófagos e fibroblastos, juntamente com ICAM-1 é observada em doenças renais (KENDALL, 1994). É regulada semelhantemente à ICAM-1, estando correlacionada com a atividade de doenças inflamatórias (ETZIONI, 1996).

PECAM-1 é uma glicoproteína constitutiva de plaquetas, neutrófilos e monócitos, de algumas células T e nas junções intercelulares de células endoteliais. Promove a migração de leucócitos através de integrinas, direcionando-os até a inflamação (BLANKENBERG; BARBAUX; TIRET, 2003).

### 1.7 MOLÉCULAS DE ADESÃO NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

A literatura demonstra o envolvimento das MACs na fisiopatogenia do LES. Em determinado estudo os pesquisadores observaram que os danos vasculares e epiteliais no LES foram caracterizados pela elevação dos níveis plasmáticos de C3 e expressão de integrinas (CD11 e CD18) (HOPKINS et al., 1988).

O aumento da expressão de E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1, também foi observado em pacientes com LES. A ativação das células endoteliais esteve mais acentuada nesses pacientes, contribuindo para um pior prognóstico da doença. Tais

eventos são relevantes para danos vasculares e do SNC (onde a barreira hematoencefálica busca impedir o acesso de complexos imunes), visto que com a ativação generalizada das células endoteliais e do complemento sistêmico, pode ocorrer a promoção de lesão microvascular difusa, que é comumente encontrada em pacientes com LES com danos neurológicos (BELMONT et al., 1994).

A MAC VCAM-1 parece estar correlacionada com a atividade do LES. Em pesquisa com pacientes lúpicos, níveis de C3, VCAM-1 e anti-C1q foram maiores na doença ativa, mas não C4 e ICAM-1 (MAHAYIDIN et al., 2016), bem como, em análise prospectiva, VCAM-1 associou-se com a atividade do LES, vindo a normalizar seus níveis na remissão. Os índices de E-selectina e ICAM-1 não refletiram a atividade da doença no referido estudo (JANSSEN et al., 1994).

Na China um grupo investigou a administração de anti-P-selectina monoclonal em animais previamente induzidos à nefrite lúpica. Os autores concluíram que esse pode ser um método terapêutico, visando que a lesão renal nos animais foi atenuada (LIU et al., 2016).

## 1.8 MOLÉCULAS DE ADESÃO NA SÍNDROME METABÓLICA

A aterosclerose é um dos eventos da SM e sua fisiopatogenia envolve o recrutamento de células inflamatórias e sua migração transendotelial. Tal processo é mediado por MACs em resposta aos vários estímulos inflamatórios, sendo que ICAMs, VCAM-1, PECAM-1 P, E e L-selectina participam desse processo (BLANKENBERG; BARBAUX; TIRET, 2003).

A relação entre ICAM-1 e SM ainda é controversa, de modo que alguns autores indicam diminuição (TABUR et al., 2016), aumento (BAE et al., 2013; TABUR et al., 2015;) ou falta de associação (AIZAWA et al. 2009; DALLMEIER et al., 2012), nos referidos aspectos.

Em pesquisa populacional foram avaliados os critérios clássicos de risco para doenças cardiovasculares em 2.341 indivíduos e, posteriormente, associados com os níveis de MACs. Foi destacado que P-selectina era positivamente associada com maior risco de doenças cardiovasculares (BERARDI et al., 2016).

Pacientes com doença arterial coronariana foram comparados com controles saudáveis. Os pesquisadores observaram que PECAM-1 e HGF estavam elevados nos pacientes e que esse aumento era mais significativo naqueles com a doença em

estágio mais grave (FANG et al., 2005).

## 1.9 ADIPOCINAS CORRELATAS À INFLAMAÇÃO

O tecido adiposo funciona como depósito de energia sendo constituído por diversas células, tais como adipócitos, células do sistema imune, endoteliais e fibroblastos. Em um estado de sobrecarga (processo reversível) ocorre hiperplasia e hipertrofia de adipócitos, o que resulta em estresse oxidativo e celular, culminando em resposta inflamatória local. Tal processo apresenta a capacidade de produzir e liberar, na circulação sistêmica, mediadores inflamatórios e adipocinas como IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$ , MCP-1, HGF, LCN2, adiponectina, leptina, resistina, SAA e PAI-1. Esses, por sua vez, permeiam a inflamação e mecanismos metabólicos como a resistência à insulina (ANTUNA-PUENTE et al., 2008; KWON; PESSIN, 2013).

Tais mediadores inflamatórios atuam de modo a promover a inflamação tanto local quanto sistemicamente; também afetam as funções endoteliais e vasculares, modulam a formação de óxido nítrico (NO) e a liberação de superóxido. Esses processos estão diretamente relacionados a distúrbios metabólicos, sendo o principal a obesidade, fazendo a ligação entre SM e inflamação (GUZIK; MANGALAT; KORBUT, 2006).

As adipocinas são de grande importância para a regulação do comportamento alimentar, de processos fisiológicos, da sensibilidade à insulina, da aterosclerose, do ajuste imune e inflamatório (BARBOSA; FRANCESCANTÔNIO; SILVA, 2015). A desregulação da liberação dessas moléculas, pelo tecido adiposo, leva a um estado subinfamatório crônico, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento de resistência à insulina, Diabetes Mellitus do tipo 2, aumentando o risco de doenças cardiovasculares associadas à obesidade e à inflamação (ANTUNA-PUENTE et al., 2008).

O Apêndice A apresenta um quadro que reúne achados da literatura quanto as principais funções e células secretoras de adipocinas.

### 1.9.1 Adiponectina

A adiponectina é um dos tipos mais frequentes de adipocinas, com uma concentração fisiológica entre 5 a 30  $\mu\text{g/mL}$ , tendo efeitos antidiabéticos,

antiaterogênicos e ação anti-inflamatória, inibindo a proliferação e ativação de linfócitos T e B (HUI et al., 2012; YAMAUCHI et al., 2001). Induz a secreção de mediadores anti-inflamatórios como IL-10 e antagonista do receptor da interleucina-1 (IL-1RA) por monócitos, macrófagos e células dendríticas e inibe INF- $\gamma$  por macrófagos. A regulação negativa da adiponectina pode ocorrer pelo aumento de citocinas próinflamatórias (WOLF et al., 2004).

Diferentemente de outras adipocinas, sua concentração é inversamente associada à adiposidade e ao tamanho dos adipócitos, bem como, à sensibilidade à insulina (BAMBACE et al., 2011; WOLF et al., 2004). A proteção conferida pela adiponectina se dá principalmente pela sua ação anti-inflamatória, devido a indução da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (HATTORI et al., 2003) e da inibição de espécies reativas de oxigênio (OUEDRAOGO et al., 2006; SIMÃO et al., 2012).

O aumento de ácidos graxos e, conseqüentemente, a diminuição da produção de adiponectina (que em níveis normais inibe a ativação da via NF- $\kappa$ B – Fator Nuclear kappa B) contribui para a expansão do processo inflamatório, tornando-se uma potente via para doenças auto-imunes e a inflamação crônica de baixo grau, verificada em pacientes com SM (GUSTAFSON, 2010).

Estudos que encontram aumento de adiponectina em pacientes com LES, procuram justificá-la como um efeito compensatório entretanto, a maioria dos trabalhos demonstram diminuição dessa adipocina em doenças com alta taxa de inflamação (COSTA et al., 2015).

### 1.9.2 Leptina

A leptina é um hormônio liberado, quase que exclusivamente, pelos adipócitos diferenciados. Seus receptores estão em grande parte no núcleo do hipotálamo exercendo ativação do sistema nervoso simpático que induz lipólise, eleva temporariamente os ácidos graxos livres, a termogênese e o metabolismo basal. Dessa forma, diminui os ácidos graxos armazenados, bem como, promove proteção ao receptor de insulina. Em células periféricas (como no pâncreas, osteoblastos e células imunológicas) a leptina tem uma ação análoga à adiponectina, aumentando a sensibilidade à insulina (ANTUNA-PUENTE et al., 2008).

Essa adipocina possui caráter próinflamatório o que promove proliferação e

ativação de linfócitos T, induzindo resposta Th1. Embora o principal efeito da leptina seja o controle da ingestão de alimentos e do gasto energético, há uma relação entre a hiperleptinemia e o estado subinflamatório crônico, estando diretamente relacionado à gravidade da obesidade (OTERO et al., 2005).

Os mecanismos envolvidos nesse processo ainda não são totalmente claros entretanto, já é estabelecido que a leptina é capaz de controlar a liberação do TNF- $\alpha$ , a produção e a ativação de macrófagos (LOFFREDA et al., 1998). Além disso, parece que o TNF- $\alpha$  e a IL-6 são capazes de estimular a produção da leptina (GUPTA et al., 2012). Tal molécula pode desencadear a síntese de endotelina-1 e NO, bem como, a produção de espécies reativas de oxigênio, a expressão de MCP-1, a proliferação e migração de células endoteliais e promover agregação plaquetária (COOKE; OKA, 2002).

O aumento do grau de obesidade parece correlacionar-se com a elevação das concentrações plasmáticas de leptina. Dessa forma estudos hipotetizam a presença de resistência à leptina nesses indivíduos (CONSIDINE et al., 1996; GUPTA et al., 2012).

Estudos demonstram níveis aumentados dessa adipocina em doenças autoimunes como LES, quando comparados ao controle, o que aparentemente contribui para o aumento da inflamação (COSTA et al., 2015).

### 1.9.3 Resistina

A resistina não é normalmente encontrada no plasma contudo, em pessoas obesas as quantidades séricas estão aumentadas. É produzida principalmente por macrófagos situados no tecido adiposo e, em menor quantidade, pelos próprios adipócitos hipertrofiados. Os últimos, liberam INF- $\gamma$  ativando macrófagos e induzindo a síntese e excreção de mais resistina que, por sua vez, estimula a produção de citocinas próinflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e MCP-1, culminando na redução das concentrações plasmáticas de proteína quinase ativada por AMP e ativação de proteínas quinases que podem fosforilar os receptores de insulina. Os mecanismos citados contribuem para o aumento da resistência à insulina, comum em obesos e indivíduos que apresentam SM (SINGH et al., 2012).

A resistina induz a síntese e secreção de endotelina-1 pelas células do endotélio; altera a expressão da molécula de adesão VCAM-1 e MCP-1, além de

estimular diretamente a proliferação das células musculares lisas na aorta humana, demonstrando relação dessa adipocina com doenças cardiovasculares (CALABRO et al., 2004; VERMA et al., 2003).

#### 1.9.4 Proteína Quimiotática de Monócito (MCP-1)

A MCP-1 ou CCL2 (*Chemokine Ligand 2*) é produzida por uma variedade de tipos de células, incluindo macrófagos, fibroblastos, células epiteliais, endoteliais e adipócitos. Estudos fornecem fortes evidências de seu papel no recrutamento de monócitos, em sítios de respostas inflamatórias, o que contribui para o desenvolvimento de distintas doenças, incluindo aterosclerose, fibrose pulmonar e esclerose múltipla (DESHMANE et al., 2009; TAKAHASHI et al., 2009). A MCP-1, cuja expressão se encontra aumentada em indivíduos obesos, está diretamente relacionada ao aumento do IMC (CANCELLO et al., 2005).

#### 1.9.5 Fator de Crescimento de Hepatócitos (HGF)

O HGF é uma molécula com efeitos angiogênicos e mitogênicos, sendo produzida por células do estroma hepático. Estimula a proliferação de células epiteliais e adipócitos em diversos órgãos, estando associada à motilidade, à morfogênese e à angiogênese. Além disso o HGF é necessário para a reparação de lesões, exercendo ações protetoras em órgãos epiteliais e não epiteliais (incluindo o coração e o cérebro) por meio de sinais antiapoptóticos e anti-inflamatórios (NAKAMURA; MIZUNO, 2010).

Estudos revelam que o HGF circulante em doenças cardiovasculares encontra-se elevado (BELL et al., 2006). Níveis séricos aumentados estão fortemente associados a componentes da SM em indivíduos livres de doença hepática e renal (HIRATSUKA et al., 2005).

#### 1.9.6 Lipocalina 2 (LCN2)

A LCN2, liberada por adipócitos e macrófagos, é uma glicoproteína que associa-se às pequenas substâncias lipofílicas, como esteroides e lipopolissacarídeos. Apresenta papéis na indução de apoptose de células

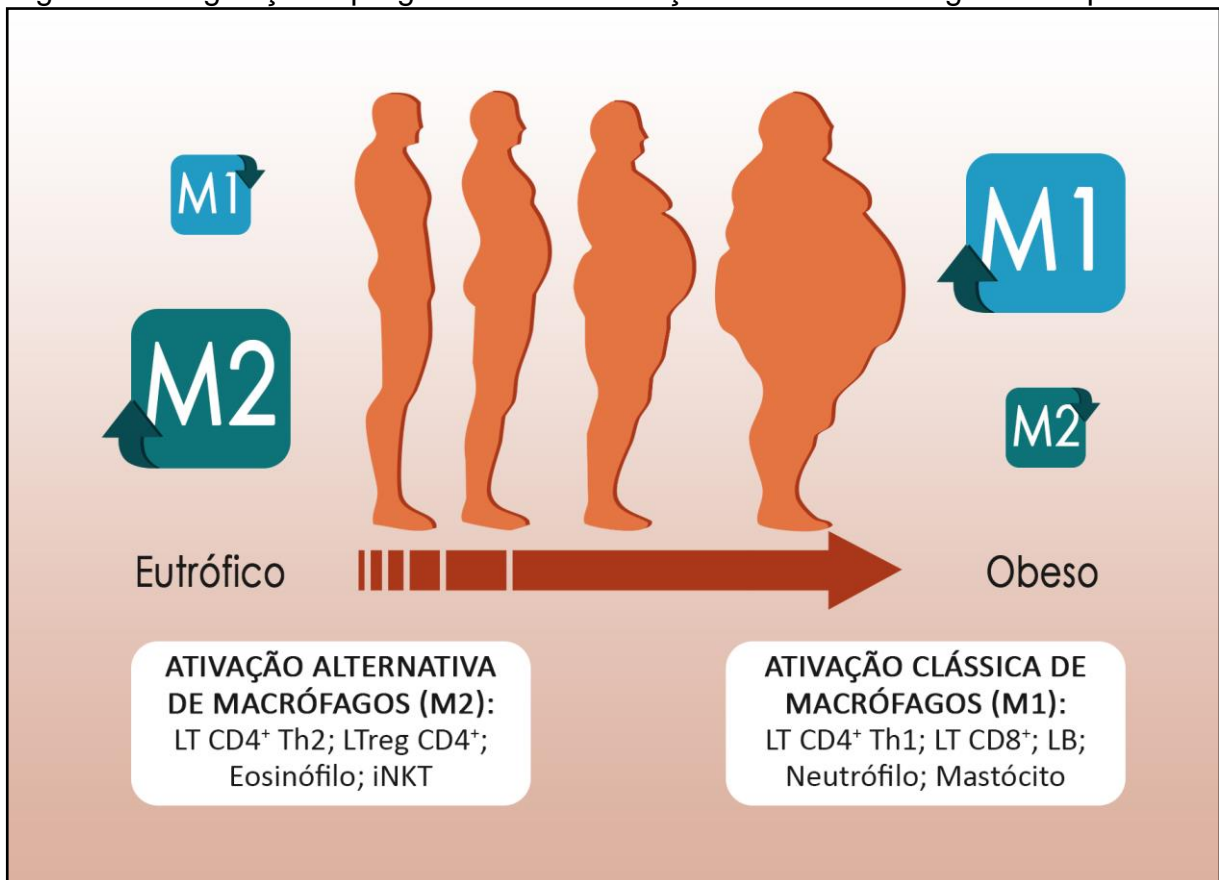
hematopoiéticas, no transporte de ácidos graxos, como moduladora da inflamação e da homeostase metabólica, no transporte e regulação do metabolismo do ferro (OUCHI et al., 2011). A expressão de LCN2 é alterada em diversas condições patológicas como anemia, hipóxia do tecido adiposo e obesidade, sendo regulada por TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (GÓMEZ et al., 2011).

#### 1.9.7 Citocinas

As respostas inflamatórias no tecido adiposo vêm sendo descritas como os principais mecanismos que medeiam a resistência à insulina e, as alterações decorrente desses processos, regulam a progressão da inflamação (KWON; PESSIN, 2013).

As respostas imunes inatas, principalmente mediadas por macrófagos, geram um processo inflamatório no tecido adiposo, resultando em distúrbios metabólicos. A citocina INF- $\gamma$  ativa a expressão de óxido nítrico sintase induzida (iNOS) em macrófagos ativados de forma clássica (M1). Esses segregam citocinas próinflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-1 $\beta$ . Citocinas de padrão Th2, como IL-4 e interleucina-13 (IL-13), induzem arginase-1 (ARG1) em macrófagos ativados alternativamente (M2), contudo tais células encontram-se em baixa concentração em indivíduos obesos e com doenças inflamatórias (Figura 2) (MANTOVANI et al., 2004; MARTINEZ; HELMING; GORDON, 2009).

Figura 2 – Regulação e progressão da inflamação no decorrer do ganho de peso



**Fonte:** próprios autores (2017).

iNKT, Linfócito T *Natural Killer* invariante; LB, Linfócitos B; LT CD4<sup>+</sup> Th1, Linfócitos T CD4<sup>+</sup> *t-helper* do tipo 1; LT CD4<sup>+</sup> Th2, Linfócitos T CD4<sup>+</sup> *t-helper* do tipo 2; LTreg CD4<sup>+</sup>, Linfócitos T reguladores CD4<sup>+</sup>; LT CD8<sup>+</sup>, Linfócitos T CD8<sup>+</sup>; M1, ativação clássica de macrófagos; M2, ativação alternativa de macrófagos.

O TNF- $\alpha$  aumenta de modo relevante a expressão de citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-6) em adipócitos, estando associado a intensificação do processo de aterosclerose, através da indução da expressão de MACs como VCAM-1, ICAM-1 e E-selectina, e também MCP-1 nas células endoteliais, resultando em vasodilatação alterada e promoção de apoptose dessas células (HOTAMISLIGIL, 2006).

A IL-6 é encontrada em grande quantidade no tecido adiposo e positivamente correlacionada com a obesidade, entretanto existem controvérsias nos estudos, quanto ao seu papel nessa condição. A administração periférica de IL-6 interrompe a sinalização da insulina, sugerindo que a expressão de IL-6, induzida pela obesidade, medeia a resistência à insulina (SENN et al., 2003). Em contraste, animais deficientes em IL-6 mostram obesidade e inflamação hepática e, conforme administra-se de forma central (hipotalâmica) essa interleucina, o gasto energético aumenta e a obesidade diminui, influenciando a sensibilidade à insulina através do

sistema nervoso central (MATTHEWS et al., 2010).

Em estudo prévio de nosso grupo com pacientes com SM, após a ingestão de kinako (produto à base de soja), houve aumento de adiponectina e IL-6, concomitantemente, a diminuição da circunferência abdominal (SIMÃO et al., 2012). Sendo assim, o papel da IL-6 na obesidade e resistência à insulina provavelmente depende dos locais específicos de expressão e a interação com outras citocinas e adipocinas (WALLENIUS et al., 2002).

O tecido adiposo visceral secreta IL-8, a qual também é estimulada pelo TNF- $\alpha$ , sendo uma citocina que contribui para a evolução da aterogênese em indivíduos obesos, promovendo quimiotaxia de neutrófilos, induzindo adesão e migração transendotelial desses (RAMALHO; GUIMARÃES, 2008).

Outra interleucina liberada pelo tecido adiposo visceral é a IL-1 $\beta$  que está intimamente relacionada com estimulação de linfócitos T, macrófagos e células endoteliais, contribuindo para as reações inflamatórias (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015a).

A IL-10, sendo anti-inflamatória, demonstra níveis circulantes diminuídos em indivíduos obesos e tendem a aumentar sua expressão após perda de peso, inibindo as citocinas próinflamatórias (CANCELLO et al., 2005).

#### 1.9.8 Proteína amiloide A sérica (SAA)

A SAA é uma proteína inflamatória de fase aguda associada à inflamação sistêmica e à aterosclerose. Assim como a PCR é utilizada como marcador preditivo em eventos cardiovasculares (JOHNSON et al., 2004). Os níveis circulantes de SAA estão significativamente correlacionados com a resistência à insulina e ao Diabetes Mellitus do tipo 2, estando aumentada na obesidade (LEINONEN et al., 2003).

Além disso a SAA pode participar de alterações metabólicas, promovendo a ligação de HDL à macrófagos, reduzindo o efeito de proteção cardiovascular dessa lipoproteína (ANTUNA-PUENTE et al., 2008).

#### 1.9.9 Inibidor do Ativador de Plasminogênio-1 (PAI-1)

O PAI-1, proteína sintetizada por plaquetas, hepatócitos, adipócitos, glomérulos, células epiteliais e musculares lisas, é o principal inibidor da fibrinólise,

atuando a nível de ativadores do plasminogênio. Esse processo quando desregulado contribui para o risco cardiovascular, principalmente em indivíduos obesos (FRANCO, 2001; HA; OH; LEE, 2009). Elevados níveis de PAI-1 têm sido associados com resistência à insulina e com acúmulo de gordura visceral, sugerindo o importante papel dessa molécula na SM (LIANG et al., 2006).

#### 1.10 ADIPOCINAS NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

O papel das adipocinas e mediadores inflamatórios liberados pelo tecido adiposo, na progressão do LES, ainda é controverso. O desequilíbrio de tais metabólitos pode ocasionar o agravamento do estado de pacientes com doenças autoimunes, como no LES (ANTUNA-PUENTE et al., 2008).

Os níveis aumentados de leptina e diminuídos de adiponectina vêm sendo associados ao LES, quando comparados a indivíduos saudáveis (BARBOSA; FRANCESCANTÔNIO; SILVA, 2015), mesmo após ajuste para hipertensão, hiperlipidemia e Diabetes Mellitus. Todavia não há correlação do aumento de leptina com a elevação do escore SLEDAI, duração da doença, idade ou dose de prednisona (GARCIA-GONZALEZ et al., 2002). Esse perfil de desregulação de adipocinas pode estar associado à resistência à insulina, ao aumento de IMC e de PCR em pacientes com LES (CHUNG et al., 2009).

Maiores valores de IMC foram correlacionados com altas concentrações de IL-6, IL-17 e leptina, sugerindo que o IMC pode interferir, independentemente, na atividade da doença, no perfil inflamatório de mulheres com LES (SANTOS et al., 2016). Pacientes lúpicos com danos renais e intensa atividade da doença, apresentam níveis elevados de adiponectina, independentemente de etnia e IMC, sugerindo um mecanismo compensatório (ROVIN et al., 2005a).

Sabe-se da importância da busca de bons biomarcadores para o LES. Em um estudo prospectivo foi avaliados níveis de MCP-1 e IL-8 com essa finalidade. MCP-1 foi maior em pacientes com danos renais e correlacionou-se com proteinúria, entretanto IL-8 não se alterou com a atividade da doença e não sofreu elevação na presença de danos renais, de modo que o primeiro veio a ser considerado como um possível biomarcador (ROVIN et al., 2005b). LCN2 foi correlacionada com nefrite lúpica, apesar de não ter sido associada à atividade da doença (SLEDAI), podendo ser um marcador de danos renais (PITASHNY et al., 2007). Outra molécula que vem

sendo correlacionada a progressão do LES é a SAA, estando positivamente associada com a atividade da doença (BIJL et al., 2004).

A molécula PAI-1 desempenha um importante papel na fibrinólise e na degradação de matriz extracelular. O aumento da síntese dessa pode resultar em um processo de desequilíbrio proteolítico extracelular, gerando lesões escleróticas em capilares, comumente visto em processos de inflamação exacerbado (KEETON et al., 1993). Os depósitos de fibrina lesionam e ocluem vasos, promovendo a migração de células inflamatórias. Tal aumento pode ser induzido por IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1 e angiotensina (WEISBERG et al., 2003). Tanto o processo inflamatório, responsável pela liberação dessas citocinas, quanto a sobrecarga do sistema renina-angiotensina-aldosterona (observado em processos patológicos como no LES) promove a superexpressão do gene PAI-1 (D'ELIA et al., 2016).

### 1.11 ADIPOCINAS NA SÍNDROME METABÓLICA

O tecido adiposo abriga grande quantidade de macrófagos e, na obesidade, esse infiltrado encontra-se aumentado e ativo. Dessa forma há maior liberação de fatores inflamatórios, tais como TNF- $\alpha$  e IL-6, bem como, de MCP-1, fazendo com que haja recrutamento de mais monócitos para o local da inflamação. Esse processo induz a lipólise e, conseqüentemente, leva ao aumento da disponibilidade de ácidos graxos, fator esse associado a resistência à insulina (WEISBERG et al., 2003).

O TNF- $\alpha$  também induz a lipólise e o aumento da expressão gênica de ICAM-1, IL-6 e de MCP-1; facilitando a migração e diferenciação de monócitos do sangue para o tecido adiposo (KEUPER et al., 2011; PERMANA; MENGE; REAVEN, 2006). Esse tecido ainda pode sofrer hipóxia, havendo expressão de fatores angiogênicos como PAI-1, um regulador da fibrinólise, que em níveis elevados gera hipercoagulação e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (SKURK et al., 2007).

A partir de adipócitos primários deficientes em PAI-1, os resultados de um estudo forneceram evidências de que essa carência promoveu a diferenciação de adipócitos e protegeu-os contra a desdiferenciação induzida por TNF- $\alpha$ , bem como, da resistência à insulina, visto que houve aumento da capacidade de captação de glicose nas células (LIANG et al., 2006).

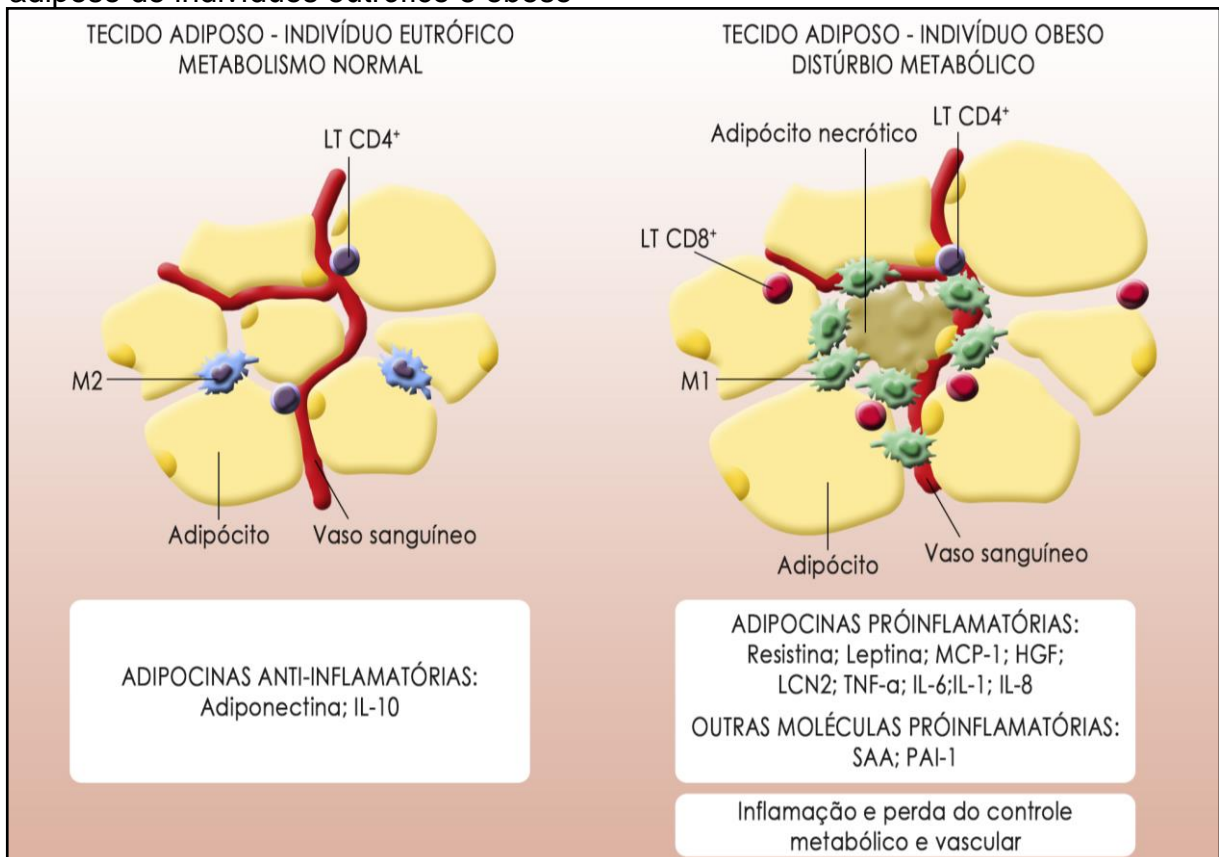
Em análise da diferença do perfil inflamatório entre homens e mulheres

obesos, foi observado que mulheres apresentavam maiores níveis de IL-6, IL-1 e leptina, caracterizando um quadro inflamatório mais intenso e dependente do sexo (ZARRATI et al., 2016).

Na busca de melhores intervenções terapêuticas, um grupo investigou animais com placa aterosclerótica, verificando que esses apresentaram obesidade, resistência à insulina, aumento de glicose, TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1, SAA e microalbumina urinária. Esses achados demonstram que distúrbios metabólicos estão intimamente relacionados com processos de inflamação exacerbada (HAN et al., 2016).

O papel da resistina na sensibilidade à insulina, no Diabetes Mellitus do tipo 2 e na obesidade foi estudado em animais através da administração de anti-resistina. O estudo indicou que houve diminuição da glicose plasmática e melhora no quadro de resistência à insulina (STEPPAN et al., 2001). A Figura 3 caracteriza os distintos perfis inflamatórios presentes no tecido adiposo eutrófico e obeso, com enfoque nas adipocinas predominantes.

Figura 3 – Perfis predominantes de células, adipocinas e outras moléculas no tecido adiposo de indivíduos eutrófico e obeso



Fonte: próprios autores (2017).

HGF, Fator de Crescimento de Hepatócitos; IL, interleucina; LCN2, Lipocalina-2; LT CD4+, Linfócitos

T CD4+; LT CD8+, Linfócitos T CD8+; M1, ativação clássica de macrófagos; M2, ativação alternativa de macrófagos; MCP-1, Proteína Quimiotática de Monócitos-1; PAI-1, Inibidor-1 do Ativador do Plasminogênio; SAA, Proteína Amilóide A Sérica; TNF- $\alpha$ , Fator de necrose tumoral alfa.

## 1.12 LES E SM: ENVOLVIMENTO COM ADIPOCINAS E MACS

Pacientes com LES apresentam frequentemente, como já mencionado, critérios da SM, desenvolvimento acelerado de aterosclerose e maior prevalência de resistência à insulina. Levando em consideração a importância das adipocinas e mediadores inflamatórios, liberados pelo tecido adiposo na indução desses distúrbios, percebe-se que esses geram impacto na progressão do LES (KRYSIK; HANDZLIK-ORLIK; OKOPIEN, 2012).

Com a obesidade, a biodisponibilidade de ácidos graxos é aumentada. Esses ligam-se facilmente a receptores de lipossacarídeos Toll-4 (TLR-4), ativando a via NF- $\kappa$ B, induzindo processo inflamatório (SUGANAMI et al., 2007).

A maior fonte de PAI-1 é o tecido adiposo visceral, tendo em vista que quanto maior o acúmulo de gordura, maior a expressão dessa molécula. Em estudo com adipócitos humanos, foi demonstrado que a insulina e glicocorticoides são importantes mediadores do metabolismo humano no tecido adiposo. Altas concentrações de insulina ocasionavam liberação elevada de PAI-1. No mesmo trabalho houve superexpressão de PAI-1 na presença da combinação de insulina com dexametasona. Os autores concluíram que a expressão de PAI-1, em tecido adiposo, é possivelmente controlada por esses dois metabólitos, explicando também o aumento de PAI-1 em indivíduos com SM e que fazem uso de glicocorticoides, como no LES (MORANGE et al., 1999).

Trabalhos que avaliam a concentração plasmática de leptina, em pacientes com LES, indicam que altos níveis séricos podem contribuir para a inflamação, bem como que níveis diminuídos de adiponectina associam-se com a resistência à insulina (GARCIA-GONZALEZ et al., 2002; SADA et al., 2006). Dessa forma, leptina pode modular o risco cardiovascular em pacientes com LES, induzindo aterosclerose (GÓMEZ et al., 2011).

Outra pesquisa associou aterosclerose prematura em pacientes com LES e disfunções endoteliais. Houve prevalência de placa carotídea entre os pacientes quando comparado ao controle, sendo que essa não estava associada ao



## 2 JUSTIFICATIVAS

A literatura demonstra que o aumento da morbidade e mortalidade em pacientes com LES, decorrente da instalação de SM ou alguns de seus componentes isoladamente, é alarmante e crescente em todo o mundo. Possivelmente a desregulação das MACs e das adipocinas estão intimamente relacionadas com o pior prognóstico nesses indivíduos, acarretando em aumento da inflamação e piora do quadro clínico. Entretanto não é de nosso conhecimento, até o presente momento, um estudo que tenha avaliado esses biomarcadores em pacientes com LES, concomitantemente, e que os correlacione com a presença de SM. Dessa forma, se faz necessário o presente estudo a fim de elucidar os mecanismos fisiopatológicos envolvidos e determinar se esses biomarcadores poderiam prever a atividade da doença. O melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento e progressão da doença poderá contribuir para novas intervenções terapêuticas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o envolvimento de adipocinas e MACs em pacientes com LES, na presença ou ausência de SM.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os níveis plasmáticos de MACs e adipocinas em pacientes com LES na presença ou não de SM;
- Verificar se há associação entre as MACs e as adipocinas com a presença de SM;
- Avaliar os níveis plasmáticos de MACs e adipocinas de acordo com a atividade ou não da doença;
- Analisar se há associação entre as MACs e as adipocinas com a atividade da doença;
- Determinar um modelo de preditores utilizando as MACs e adipocinas para atividade da doença.

## 4 SUJEITOS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (Paraná, Brasil) (CAAE 01865212.0.0000.5231, Parecer CEP/UEL nº 205.328, Anexo A). Todos os participantes assinaram termos de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndices B e C). Foram selecionados 126 pacientes com LES do Ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 69 anos, a fim de participarem desse estudo transversal.

Para diagnóstico do LES seguiu-se a última versão dos critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) de 1972 e revisados em 1982 e 1997. Os pacientes com LES foram divididos em dois grupos de acordo com a presença de SM (n=64) e ausência de SM (n=62). A atividade da doença foi determinada utilizando o escore SLEDAI (HOCHBERG, 1997) (Anexo B), sendo considerada doença em atividade quando SLEDAI  $\geq 10$  (PETRI et al., 1991).

As informações sobre o estilo de vida e o histórico médico foram obtidos e registrados em atendimento clínico. Os grupos foram comparados pelos aspectos idade, gênero, etnia, IMC, SLEDAI, duração da doença, uso de medicamentos, parâmetros de atividade da doença e de diagnóstico. Além disso foram registradas as manifestações clínicas características do LES e da presença de SM.

Os níveis séricos de citocinas, adipocinas, MACs, marcadores inflamatórios, pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial sistólica (PAS), uso de medicamentos, índices glicêmicos e lipêmicos também foram mensurados.

Nenhum dos participantes apresentou histórico de doenças hepáticas, gastrointestinais, tireoidianas, oncológicas, infecções clinicamente evidentes ou outras doenças autoimunes, não fazendo uso de reposição hormonal, sendo esses, critérios de exclusão.

### 4.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

A massa corporal foi mensurada, com precisão de 0,1 kg, utilizando balanças eletrônicas, com os indivíduos vestindo roupas leves, sem sapatos, no período da manhã; a altura foi medida, com precisão de 0,1 cm, usando um estadiômetro. O IMC foi obtido através do quociente da massa (kg) pela altura (m)

elevada ao quadrado.

$$IMC = \frac{\text{massa (kg)}}{[\text{altura(m)}]^2}$$

A circunferência da cintura foi medida com uma fita métrica na região entre a última costela e a crista ilíaca, com o indivíduo em pé. A pressão arterial (PA) foi aferida, com auxílio de um esfigmomanômetro calibrado, no braço esquerdo dos pacientes, sentados, com no mínimo 5 minutos de repouso (KURTZ et al., 2005). PA  $\geq 130/90$  mmHg ou o uso de anti-hipertensivos foram critérios utilizados para considerar o paciente com quadro de hipertensão.

Para diagnosticar a presença de SM foram utilizados os critérios do ATP III, caracterizando SM na presença de pelo menos três dos cinco critérios: 1) circunferência da cintura com mais de 94 cm nos homens e 80 cm nas mulheres; 2) níveis de TG, em jejum,  $\geq 150$  mg/dL; 3) HDL  $< 40$  mg/dL em homens ou  $< 50$  mg/dL em mulheres; 4) pressão arterial  $\geq 130/85$  mmHg (ou o uso de medicação anti-hipertensiva); e 5) níveis de glicose, em jejum,  $\geq 100$  mg/dL (ou a utilização de medicamento antidiabético) (REAVEN, 2006).

## 4.2 EXAMES LABORATORIAIS

Após jejum de 12h os pacientes foram submetidos à coleta de amostras sanguíneas em tubo de coleta a vácuo com e sem anticoagulante (EDTA). O material foi encaminhado ao laboratório para registro, processamento e armazenamento. Soro e plasma foram armazenados em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ , identificados por número a fim de garantir anonimato dos pacientes.

A determinação dos títulos de anti-dsDNA foi realizada por ELISA (*Orgentec Diagnostika*, GmbH, Germany), sendo considerados significativos quando os títulos foram  $\geq 20$  UI/mL.

Os níveis de glicose, colesterol total, HDL, LDL e TG foram determinados por autoanalisador bioquímico (*Dimension Dade AR Dade Behring*, Deerfield, Illinois, USA), utilizando *kits Dade Behring®*.

Os níveis plasmáticos de insulina foram determinados por imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA, *ARCHITECT; Abbott Laboratory*, Abbott Park, Illinois, USA). A avaliação do HOMA-IR foi utilizada como medida de substituição da sensibilidade à insulina. A resistência à insulina foi considerada

quando HOMA-IR  $\geq 2,114$ .

$$HOMA - IR = \frac{\text{insulina em jejum } (\mu U/mL) \times \text{glicose em jejum } (nmol/L)}{22,5}$$

Os fatores de complemento sérico C3 e C4 foram dosados utilizando um ensaio de turbidimetria (*ARCHITECT; Abbott Laboratory, Abbott Park, Illinois, USA*).

#### 4.3 MOLÉCULAS DE ADESÃO E ADIPOCINAS

Os níveis plasmáticos das MACs PECAM-1, VCAM-1, ICAM-1, E-selectina e P-selectina foram determinados por imunofluorimetria utilizando o *kit Human Adhesion 6-Plex Magnetic Panel (Novex Life Technologies, Frederick, USA)* para a plataforma *Luminex®*; As adipocinas resistina, leptina, MCP-1, HGF, LCN2, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 e IL-10, e das moléculas PAI-1 e SAA foram determinados por imunofluorimetria utilizando o *kit Human Adipokine 14-Plex Panel (Novex Life Technologies, Frederick, USA)* para a plataforma *Luminex®*.

Os níveis plasmáticos de adiponectina foram determinados por ELISA utilizando um imunoensaio comercial (*R & D System, Minneapolis, USA*).

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados categóricos foram analisados com o teste exato de *Fisher* ou qui-quadrado, quando necessário, e os resultados expressos por números absolutos. O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi usado para avaliar a normalidade da distribuição. Utilizou-se a transformação de logaritmo natural (Ln) de dados contínuos quando as variáveis não foram normalmente distribuídas. Para a comparação entre os grupos aplicou-se o teste *t-Student*, sendo os dados expressos em média ( $\pm$ SEM). As variáveis que apresentaram  $p < 0,10$  na análise univariada foram utilizadas como variáveis explanatórias na regressão logística binária para verificar associação com a presença de SM ou ainda com a atividade da doença. Todos os testes foram bicaudais e considerada a significância estatística de  $p$  como 0,05. As análises foram executadas com o *software IBM SPSS Statistic, Versão 20.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA)*.

## **5 RESULTADOS**

Os resultados obtidos neste trabalho foram apresentados e discutidos em um artigo científico intitulado: “Adhesion Molecule Levels and Adipokines in Systemic Lupus Erythematosus: Relationships with Severity of Illness, Autoimmunity and Metabolic Syndrome” e submetido à revista CLINICAL RHEUMATOLOGY, com fator de impacto 2,365.

## 6 ARTIGO

### **Adhesion Molecule Levels and Adipokines in Systemic Lupus Erythematosus: Relationships with Severity of Illness, Autoimmunity and Metabolic Syndrome.**

#### **Lupus: adipokines, adhesion molecules and metabolic syndrome**

Lígia Grecco Costa Dall'Aqua<sup>1</sup>, Bruna Miglioranza Scavuzzi<sup>2</sup>, Nicole Perugini Stadtlober<sup>1</sup>, Lorena Flor da Rosa Franchi Santos<sup>1</sup>, Poliana Macedo Guimarães<sup>2</sup>, Tamires Flauzino<sup>2</sup>, Marcell Alysson Batisti Lozovoy<sup>3</sup>, Tathiana Veiga Mayumi Iriyoda<sup>4</sup>, Neide Tomimura Costa<sup>4</sup>, Edna Maria Vissoci Reiche<sup>3</sup>, Isaias Dichi<sup>5</sup>, Andréa Name Colado Simão<sup>3\*</sup>.

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – University of Londrina, Brazil.

<sup>2</sup> Postgraduate Program in Health Sciences – University of Londrina, Brazil.

<sup>3</sup> Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – University of Londrina, Brazil.

<sup>4</sup> Department of Rheumatology – University of Londrina, Brazil.

<sup>5</sup> Department of Internal Medicine – University of Londrina, Brazil.

\* Corresponding author: Andréa Name Colado Simão.

Postal address: Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – Rua Robert Koch, n 60. University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil. CEP: 86038-440. Tel.: +55-43-3371-2321; Fax: +55-43-3371-2619.

E-mail address: deianame@yahoo.com.br

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of the present study was to assess whether the imbalance in adipokines and cell adhesion molecules (CAMs) determined by the presence of Metabolic Syndrome (MetS) could contribute to increase the disease activity in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients. **Methods:** This cross-sectional study included 126 patients with SLE. The patients were divided in two groups, with (n=64) and without MetS (n=62). Disease activity was determined using SLEDAI (SLE Disease Activity Index) considering the SLEDAI  $\geq 10$ , which is indicative of severe disease. The CAMs platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), E-selectin and P-selectin and the adipokines monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), hepatocyte growth factor (HGF), Lipocalin 2 (LCN2), adiponectin, leptin, resistin, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) and serum amyloid A protein (SAA) were evaluated. **Results:** MetS patients had higher IL-8 (p=0.016), IL-10 (p=0.008), MCP-1 (p=0.002) and HGF (p=0.004). The CAMs E-selectin (p=0.020) and P-selectin (p=0.049) were associated with the presence of MetS independently of age, sex, ethnicity and of drug treatment. MetS was not directly associated with disease activity measured by SLEDAI. ICAM-1 and LCN2 were lower and IL-6 and MCP-1 were higher in patients with SLEDAI  $\geq 10$ . After binary logistic regression analyses, IL-6 (p=0.024), MCP-1 (p=0.027) and LCN2 (p=0.009) were associated with SLEDAI independently of age, sex, ethnicity and of drug treatment. **Conclusion:** Our data demonstrated that although MetS was not directly associated with disease activity, measured by SLEDAI, there is a different inflammatory profile between SLE and MetS that indirectly interferes in the complex inflammatory network of adipokines and CAMs that could favor the modification of disease activity.

**Key words:** cell adhesion molecules; adipokines; metabolic syndrome; systemic lupus erythematosus.

## INTRODUCTION

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic inflammatory autoimmune disease characterized by autoantibody production especially directed against nuclear and cytoplasmic antigens, chronic widespread inflammation and tissue destruction (1,2). Although acute mortality rates have decreased in the first five years of treatment, premature and accelerated atherosclerosis are major comorbid conditions among SLE patients (3). The etiology of the increased risk of atherosclerosis has been attributed to a combination of predisponent factors such as chronically elevated inflammatory markers, endothelial dysfunction and, metabolic disturbance (4,5).

Metabolic Syndrome (MetS) is generally defined as a complex disorder represented by a combination of risk factors such as central obesity, dyslipidemia, hypertension, and disturbed glucose metabolism that leads to an increased risk of coronary heart disease, other types of cardiovascular atherosclerotic diseases, and type two diabetes (T2D) (6). Several components of MetS have been associated with endothelial dysfunction, increased levels of cell adhesion molecules (CAMs) (7) and adipokine deregulation (8). Our group has found in a previous study that SLE patients have a high prevalence of MetS, which directly contribute to increase their inflammatory state (9).

Adipokines are cell-signaling proteins synthesized in the adipose tissue. These proteins are mediators that regulate dietary behavior, physiological processes, insulin sensitivity, atherosclerosis, immune and inflammatory responses (10,11), and thus have been considered a link between adipose tissue, inflammation and immunity. Studies have demonstrated alterations in the levels of adipokines, such as leptin and adiponectin in SLE, however, how this increase affects autoimmunity and SLE remains inconclusive (10,11).

CAMs facilitate leucocyte-endothelial cell interactions and the transmigration of inflammatory cells to sites of inflammation and act as markers of endothelial activation and dysfunction (12). Elevated levels of CAMs (VCAM and ICAM) have been associated with clinical manifestations and disease activity in SLE (13).

Given the high prevalence of the MetS among SLE patients and the important role of CAMs and adipokines in the pathophysiology of SLE, premature atherosclerosis and disease activity, it is crucial to elucidate the possible components that could modulate these levels and profiles. It is of great clinical interest to

determine biomarkers that can help monitor disease activity. **Figure 1** seeks to gather the main findings of the literature, correlating them in order to construct a possible network of explanation for association between SLE and MetS with adipokines and CAMs. Thus, the aim of the present study was to assess whether the imbalance in adipokines and CAMs determined by the presence of MetS could contribute to increase the disease activity in SLE patients.

## **SUBJECTS AND METHODS**

### *Subjects*

One hundred and twenty-six patients with SLE (120 females and 6 males), aged from 18 to 69 years, were selected from the Rheumatology Ambulatory of the University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil to participate in this cross-sectional study. SLE patients were divided in two groups, with (n=64) and without MetS (n=62). The patients were paired by sex, age, ethnicity and body mass index (BMI). SLE was diagnosed using the American College of Rheumatology (ACR) criteria (1997) and the disease activity was determined using SLEDAI score (Hochberg, 1997). SLE patients were divided into two groups with mild or moderate activity disease (SLEDAI <10) (n=108) and severe activity disease (SLEDAI ≥10) (n=18) (14).

Information about lifestyle and medical history were obtained at clinical evaluation. Age, gender, ethnicity, serum levels of anti-dsDNA antibodies, cytokine levels and CAMs, presence of hypertension and/or MetS were reported for each patient. Use of medications such as immunosuppressants, anti-inflammatory, corticosteroids, statins, antimalarials and antidepressants were registered. None of the participants in the study presented renal, thyroid, heart, hepatic, gastrointestinal, oncological or other autoimmune disease and none had a clinically evident infection or was receiving estrogen replacement therapy. All participants gave written informed consent, and the study protocol was fully approved by the Ethical Committee of the University of Londrina (Paraná, Brazil).

### *Anthropometric measurements*

Body weight was measured to the nearest 0.1 kg using electronic scales, with individuals wearing light clothing, but no shoes, in the morning; height was measured to the nearest 0.1 cm by using a stadiometer. BMI was calculated as

weight (kg) divided by height (m) squared. The waist circumference was measured with a soft tape in the region between the last rib and the iliac crest, always in the standing position. Blood pressure (BP) was measured with a calibrated sphygmomanometer on the left arm of seated patients after 5 minutes of rest (15).

MetS was defined following the Adult Treatment Panel III criteria, where MetS is present if three or more of the following five criteria are met: 1) waist circumference over 94 cm in men and 80 cm in women, 2) fasting triglyceride levels greater than or equal to 150 mg/dL, 3) high density lipoprotein (HDL) lower than 40 mg/dL in men or 50 mg/dL in women; 4) blood pressure over 130/85 mmHg (or antihypertensive medication use), and 5) fasting glucose levels greater than or equal to 100 mg/dL (or the use of antidiabetic medication) (16, 17).

#### *Biochemical and Immunological Biomarkers*

After fasting for 12h, the patients underwent the following laboratory blood analysis. Total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), triacylglycerol (TG) and glucose, were evaluated by a biochemical auto-analyzer (Dimension Dade AR Dade Behring, Deerfield, IL, USA). Serum components C3 and C4 from the complement system were determined by turbidimetry (Architect; Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA). Plasma insulin level was determined by chemiluminescence microparticle immunoassay (Architect, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA). The homeostasis model assessment IR (HOMA-IR) was used as a surrogate measurement of insulin sensitivity.  $HOMA-IR = \text{fasting insulin } (\mu\text{U/mL}) \times \text{fasting glucose (nmol/L)} / 22.5$ . IR was considered when  $HOMA-IR \geq 2.114$  (18).

Anti-double-stranded DNA (anti-dsDNA) antibodies were quantified using enzyme-linked immunoassay (ELISA, anti-dsDNA, Orgentec Diagnostika, GmbH, Germany) and were considered significant when titers  $\geq 20$  IU/mL.

#### *Cell Adhesion Molecules, Adipokines, Plasminogen activator inhibitor type-1 and Serum amyloid A protein*

Plasma levels of the following CAMs: platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), endothelial selectin (E-selectin) and platelet selectin (P-selectin) were determined by Human Adhesion 6-Plex Magnetic Panel (Novex Life

Technologies, Frederick, USA) for Luminex® platform. Plasma levels of the adipokines monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), hepatocyte growth factor (HGF), Lipocalin 2 (LCN2), TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8, IL-6, IL-10, leptin, resistin, plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) and serum amyloid A protein (SAA) were determined by Human Adipokine 14-Plex Panel (Novex Life Technologies, Frederick, USA) for Luminex® platform. Plasma levels of adiponectin were measured using sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (eBioscience, San Diego, CA, USA).

### *Statistical Analysis*

Categorical data were analyzed with Fisher's exact test or chi-square test when appropriate. The results were expressed by absolute number. Kolmogorov-Smirnov test was used to assess normality of distribution. Natural logarithmic (Ln) transformation of continuous data was used in the analyses when the variables were not normally distributed. Comparisons between groups were performed using t Student test. Data were expressed as the mean ( $\pm$ SEM). The results of these univariate statistical analyses were used to delineate the significant explanatory variables to be used as determinants of independent association with the MetS or active disease in binary logistic regression analyses. All tests were 2-tailed and a p-value of 0.05 was used for statistical significance. All analyses were conducted with SPSS 20.0 software (SPSS, Chicago, IL, USA).

## **RESULTS**

**Table 1** shows the outcomes of the univariate analysis comparing clinical and biological characteristics of patients with SLE according to the presence of MetS. Patients with MetS were older (43.46 vs 36.30 years old,  $p=0.003$ ). As expected, BMI, hypertension, waist circumference, fasting insulin and glucose, HOMA-IR and triglycerides were higher ( $p<0.001$ ), while HDL-cholesterol levels were lower ( $p<0.004$ ) in patients with MetS compared to patients without MetS. No significant differences were observed regarding duration of the disease or SLEDAI score. No significant differences were observed according to drug treatments except for the use of antihypertensive, which was more common in the group with MetS ( $p<0.001$ ).

**Table 2** shows the outcomes of the univariate analysis comparing adipokines in patients with SLE according to the presence of MetS. Patients with MetS had

higher IL-8 ( $p=0.016$ ), IL-10 ( $p=0.008$ ), MCP-1 ( $p=0.002$ ) and HGF ( $p=0.004$ ) compared to patients without MetS, whereas other adipokines evaluated did not differ between the groups.

**Figure 2** shows the relationship between CAMs and PAI-1 in SLE with and without MetS. Our findings demonstrate that the CAMs PECAM-1, P-selectin and E-selectin, as well as PAI-1, were positively associated with the presence of MetS.

Binary logistic regression analyses were performed to elucidate which adipokines and CAMs showed association with the presence of MetS (**Table 3**). E-selectin was associated with the presence of MetS independently of age ( $p=0.011$ ), according to Model 1. E-selectin and IL-10 were associated with the presence of MetS independently of age, sex and ethnicity ( $p=0.012$  and  $p=0.043$ , respectively), according to Model 2. The CAMs E-selectin ( $p=0.020$ ) and P-selectin ( $p=0.049$ ) were associated with the presence of MetS independently of age, sex, ethnicity and immunosuppressive drug treatment (Model 3). IL-10 ( $p<0.043$ ) was associated to the presence of MetS independently of age, sex, and ethnicity and showed a tendency when immunosuppressive drug treatment was added ( $p=0.059$ ) (Model 3). On the other hand, PECAM-1 and PAI-1 lost significance when binary logistic regression was performed.

**Table 4** shows the demographic, clinical and biological data in SLE patients, considering the SLEDAI  $<$  or  $\geq 10$ . There was no significant difference in age, gender, ethnicity, BMI, presence of MetS, and use of medications between the study groups. The frequency of anti-dsDNA antibodies was higher ( $p=0.034$ ) and C3 levels were lower ( $p<0.006$ ) in patients with SLEDAI  $\geq 10$ . C4 had a tendency to be lower ( $p=0.095$ ) in patients with SLEDAI  $\geq 10$ .

**Table 5** shows the adipokines and CAMs in SLE patients, considering the SLEDAI  $<$  or  $\geq 10$ . ICAM-1 ( $p=0.031$ ) and LCN2 ( $p=0.019$ ) were lower, whereas MCP-1 ( $p=0.004$ ) was higher in patients with SLEDAI  $\geq 10$ . IL-6 showed a tendency to be higher ( $p=0.076$ ) with SLEDAI  $\geq 10$ , while other adipocytokines and CAMs analyzed did not differ between the groups.

Binary logistic regression analyses were performed to elucidate which adipokines and CAMs showed the more robust association with SLEDAI (**Table 6**). IL-6 ( $p=0.024$ ), MCP-1 ( $p=0.027$ ) and LCN2 ( $p=0.009$ ) were directly associated with SLEDAI independently of age, sex, ethnicity and immunosuppressive drug treatment.

## DISCUSSION

The main finding of the present study was that the adipokine IL-10 and the CAMs, E-selectin and P-selectin were associated with the MetS in SLE patients independently of age, sex and ethnicity. However, immunosuppressive treatment interfered in these associations, especially in IL-10 and P-selectin. In addition, SLE patients with severe disease activity had a different profile of adipokines and CAMs. Thus, MCP-1, LCN2 and IL-6 were associated with SLEDAI  $\geq 10$  independently of sex, age, ethnicity and immunosuppressive treatment. Although MetS causes imbalance in adipokines and CAMs, it was not associated with disease activity.

### *Metabolic Syndrome and Disease Activity in SLE*

The present study verified that the presence of MetS was not associated with disease activity assessed by SLEDAI score. Our group had previously demonstrated an association of SLEDAI with BMI and waist circumference (9). We therefore hypothesized that the presence of MetS would affect SLEDAI. However, we were unable to demonstrate a significant direct effect of the presence of MetS on SLEDAI. The effect of MetS on disease activity assessed by SLEDAI has yielded mixed results and was found in some (19–21) but not all studies (22,23).

### *Metabolic Syndrome and Cell Adhesion Molecules in SLE*

Our results show that the presence of MetS had significant effects on the CAMs E-selectin and P-selectin independently of age, sex, ethnicity and drug treatment. These findings are in agreement with several other studies that have consistently found associations between E-selectin and MetS parameters (24–27). Investigators have suggested that E-selectin levels may be regulated by the pro-inflammatory adipocytokine TNF- $\alpha$  and also by adiponectin, an adipocytokine with anti-inflammatory, anti-diabetogenic and anti-atherogenic properties and these adipocytokines would have the property to inhibit each other's production in adipose tissue (24,27). E-selectin is associated with increased total fat volume (27). Thus, plasma higher levels of this molecule were expected in SLE patients with MetS, when compared to the group without MetS, since BMI was significantly higher in the first group.

There are few studies associating P-selectin with SLE patients (4) or with the

MetS (28). In the current study, P-selectin levels were positively associated with MetS, which corroborates the findings of Straface et al. (2010) who have also associated increased P-selectin with MetS and inflammation (28). On the other hand, Mok et al. (2010) measured P-selectin levels using ELISA test, and differently from our study, found no significant differences in P-selectin levels in SLE patients with or without MetS ( $p=0,4$ ). The method used to quantify P-selectin in the present study was immunofluorescence by Luminex platform which has a sensitivity of  $<0.10$  ng/mL, while the ELISA kit used in the aforementioned study had a sensitivity of 0.5 ng/mL, thus the different findings may be due to the quantification method.

#### *Metabolic Syndrome and Adipokines in SLE*

High proinflammatory status in SLE disease has been consistently associated with increased prevalence of MetS in SLE patients, which is remarkably more prevalent amongst SLE patients than the general population (9). Accordingly, we found that MetS increases inflammatory process, measured by significant differences in adipokines that play a key role in the pathogenesis of SLE such as IL-8, IL-10, MCP-1 and HGF. However, only IL-10 remained significantly associated with MetS, independently of age, sex, and ethnicity, but not of drug treatment, when binary logistic regression was performed.

The increase in IL-10 caused by MetS is of particular interest as it has been proposed as a biomarker for disease activity in SLE (29). This cytokine is postulated to play a major role in SLE pathogenesis as it enhances antibody secretion, regulates growth and differentiation of B cells and blunts T cell activation and TNF- $\alpha$  secretion. While IL-10 plays an important role in autoantibody generation, it could also have an anti-inflammatory role (30,31), thereby attenuating the inflammatory response in SLE. More studies are needed to investigate the role of IL-10 in SLE patients with MetS.

The angiogenic factor HGF seems to be strongly correlated with disease activity, may be involved in SLE pathogenesis and contribute to the increase in serum levels of IL-10 (32–34). Of note, enhanced serum IL-10 levels were also verified in the present study. Additionally, increased HGF has been directly associated with an increased risk of cardiovascular disease (35).

IL-8 is a potent neutrophil chemokine secreted by the visceral adipose tissue and has been implicated in atherogenesis and various processes of organ damage in SLE. It has been associated with renal inflammation in glomerulonephritis (36) and

has been proposed as a biomarker of SLE activity and pulmonary fibrosis in SLE (37). In turn, MCP-1 plays an important role in the pathogenesis of lupus nephritis and has been regarded as a candidate for predicting renal flares (38, 39). Therefore, the lack of association between IL-8 and MCP-1 and MetS in this study may be due to the fact that our patients did not have lupus nephritis.

#### *SLEDAI and Cell Adhesion Molecules*

The CAMs, except for ICAM-1, did not show statistical differences when the groups were categorized based on SLEDAI. Association of serum ICAM-1 levels with SLE activity has led to conflicting results. While some authors demonstrated that ICAM-1 levels do not reflect disease activity (SLEDAI  $\geq 6$ ) (40,41), others have shown that this molecule is closely related to SLE activity (SLEDAI  $\geq 6$ ) and lupus nephritis (42,43). In the present study, when extrapolating the predicted severity score (SLEDAI  $\geq 10$ ), ICAM-1 levels were lower in the patients with increased disease activity. Interestingly, Tabur et al., 2016 found a significant decrease in ICAM-1 gene expression in the presence of MetS, which could help explain our findings (44).

#### *SLEDAI and Adipokines*

Binary logistic regression analyses showed that IL-6, MCP-1 and LCN2 were directly associated with SLEDAI independently of age, sex, ethnicity and drug treatment.

LCN2 is mainly secreted by the adipose tissue and has been considered an acute-phase protein. Higher levels of this molecule have been associated with obesity, insulin-resistance, hypertriglyceridemia, hyperglycemia, inflammation, atherosclerotic plaques and myocardial infarction (45). In addition, LCN2 also seems to exhibit anti-inflammatory function by modulating peroxisome proliferator-activator receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), which in turn inhibits nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) activity (46). Studies have shown that patients with lupus nephritis secrete a large quantity of this molecule in the urine and measures of urinary LCN2 correlates with disease activity. LCN2 may play a protective role in renal damage in SLE through the induction or prevention of apoptosis by an iron-transport dependent mechanism, however this increased urinary secretion does not seem to affect plasma concentrations of LCN2 (47). Chesnaye et al., 2015 found lower levels of LCN-2 in diabetic patients. The authors hypothesized that the ambivalent characteristic of LCN2 depends on the

organ damage, where it may act as a protective cytokine and the decreased concentrations may be due to specific mechanisms activated by the inflammatory condition (48). Therefore, the inverse association verified between LCN2 and SLEDAI in the present study allows suggesting the reduction of anti-inflammatory mechanisms with the evolution of the disease.

MCP-1 levels have frequently been associated with increased disease activity in SLE patients, with particular importance in nephritis and it has even been suggested with a biomarker for this condition (39, 49, 50). The data of this current report confirms those previous studies.

The current understanding of the role of IL-6 is ambivalent. IL-6 can be viewed as a pro inflammatory cytokine, which induces C-reactive protein secretion, but may also be regarded as an anti-inflammatory cytokine as it induces the synthesis of IL-1 receptor antagonist and the release of soluble TNF receptor, leading to reduced activity of proinflammatory cytokines (51). Altogether, the data of the present study seems to suggest that in SLE, at least in the patients with higher disease activity, the pro inflammatory role of IL-6 is prominent.

Some limitations must be considered in the present study. First, the cross-sectional design does not allow causal inferences. Second, the relative small number of patients with SLEDAI  $\geq 10$ . However, this study has strengths since to our knowledge no other study evaluated such number of CAMs and adipokines and their interactions.

## **CONCLUSION**

Overall, our results demonstrated that although MetS is not directly associated with disease activity measured by SLEDAI, there is a different inflammatory profile between SLE and MetS that indirectly interferes in the complex inflammatory network of adipokines and CAMs that could favor the modification of disease activity. In addition, the CAMs E-selectin and P-selectin were associated with the presence of MetS in SLE patients, which reinforces the state of hypercoagulability that is found in both MetS and SLE, favoring the development of atherosclerosis. More studies are warranted to analyze the long-term effects of these different inflammatory profiles on disease activity and cumulative damage arising from MetS in SLE patients.

## REFERENCES

1. Oates JC. The biology of reactive intermediates in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2010;43(1):56–63.
2. Tsokos GC. Systemic Lupus Erythematosus. *NEJM*. 2011;365(22):2110–21.
3. McMahon M, Hahn BH, Skaggs B. Systemic lupus erythematosus and cardiovascular disease: prediction and potential for therapeutic intervention. *Expert Rev Clin Immunol*. 2011;7(2):227–41.
4. Mok CC, Poon WL, Lai JPS, et al. Metabolic syndrome, endothelial injury, and subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol*. 2010;39(1):42–9.
5. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE. Age-specific Incidence Rates of Myocardial Infarction and Angina in Women with Systemic Lupus Erythematosus: Comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol*. 1997;145 (5):408–15.
6. Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. *Nutrition*. 1997;13(1):65; discussion 64, 66.
7. Scharam MT, Stehouwer CDA. Endothelial Dysfunction, Cellular Adhesion Molecules and the Metabolic Syndrome. *Horm Metab Res*. 2005;37(Suppl 1):49–55.
8. Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2010; 17(1):332-41.
9. Lozovoy MAB, Simão ANC, Hohmann MSN, et al. Inflammatory biomarkers and oxidative stress measurements in patients with systemic lupus erythematosus with or without metabolic syndrome. *Lupus*. 2011;20(13):1356–64.
10. Mattu HS, Randeve HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. *J Endocrinol*. 2013;216(1):17–36.
11. Kwon H, Pessin JE. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4(1):1–13.
12. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell*. 1994;76(2):301–14.
13. Lewis M, Vyse S, Shields A, et al. Improved monitoring of clinical response in Systemic Lupus Erythematosus by longitudinal trend in soluble vascular cell

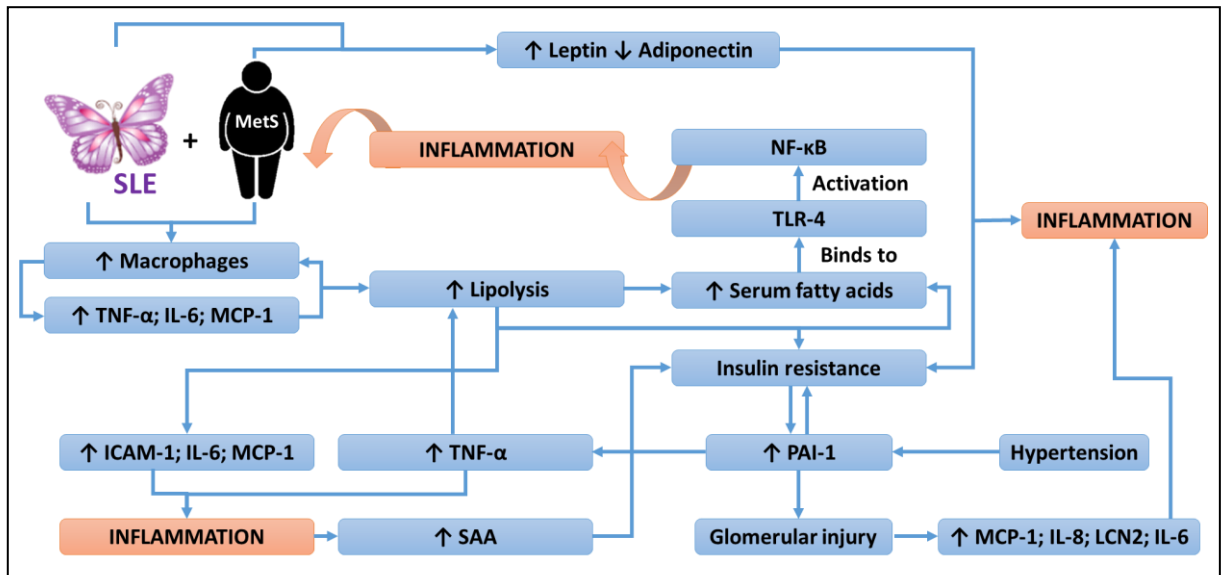
- adhesion molecule-1. *Arthritis Res Ther. Arthritis Research & Therapy*; 2016;18(5):1–11.
14. Petri M, Genovese M, Engle E, et al. Definition, incidence and clinical description of flare in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1991; 34(8): 937-44.
  15. James PA, Oparil S, Carter BL, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*. 2014;311(5):507–20.
  16. Reaven GM. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2006; 83(6): 1237–47.
  17. NCEP ATP III. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection. *Circulation*. 2002;106(1):3143–421.
  18. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care*. 1997;20(7):1087–92.
  19. Sabio J, Zamora-Pasadas M, Jiménez-Jáimez J, et al. Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus from South India. *Lupus*. 2008;17(1):849–59.
  20. Parker B, Ahmad Y, Shelmerdine J, et al. An analysis of the metabolic syndrome phenotype in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011;20(14):1459–65.
  21. Bellomio V, Spindler A, Lucero E, et al. Metabolic syndrome in Argentinean patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2009;18(11):1019–25.
  22. Negron A, Molina M, Mayor A, et al. Factors associated with metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus from Puerto Rico. *Lupus*. 2008;17(4):348–54.
  23. Muniz LF, Pereira RMR, Silva TF, et al. Impact of Therapy on Metabolic Syndrome in Young Adult Premenopausal Female Lupus Patients : Beneficial Effect of Antimalarials. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2015;67(9):1255–62.
  24. Trøseid M, Lapppegård KT, Mollnes TE, et al. Changes in serum levels of E-selectin correlate to improved glycaemic control and reduced obesity in

- subjects with the metabolic syndrome. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005;65(4):283–90.
25. Ito H, Ohshima A, Inoue M, et al. Weight reduction decreases soluble cellular adhesion molecules in obese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29(5-6):399–404.
  26. Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Nikołajuk A, et al. Relationships of serum soluble E-selectin concentration with insulin sensitivity and metabolic flexibility in lean and obese women. *Endocrine.* 2014;45(3):422–9.
  27. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, et al. High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2002;51(7):932–4.
  28. Straface E, Gambardella L, Canali E, et al. P-Selectin as a new gender associated biomarker in patients with metabolic syndrome. *Int J Cardiol.* 2010;145(3):570–1.
  29. Chun HY, Chung JW, Kim HA, et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as Biomarkers in Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Immunol.* Springer US; 2007;27(5):461–6.
  30. Talaat RM, Mohamed SF, Bassyouni IH, et al. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity. *Cytokine.* 2015;72(1):146–53.
  31. Yap DYH, Lai KN. Cytokines and their roles in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus: from basics to recent advances. *J Biomed Biotechnol.* Hindawi Publishing Corporation; 2010;2010(1). Cited in Pumed; PMID 20467470.
  32. Liu J, Wang X, Yang X, et al. Investigating the role of angiogenesis in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2015;24(6):621-7.
  33. Robak E, Woźniacka A, Sysa-Jedrzejska A, et al. Serum levels of angiogenic cytokines in systemic lupus erythematosus and their correlation with disease activity. *Eur Cytokine Netw.* 2001;12(3):445–52.
  34. Yang ZJ, Xu SL, Chen B, et al. Hepatocyte growth factor plays a critical role in the regulation of cytokine production and induction of endothelial progenitor cell mobilization: a pilot gene therapy study in patients with coronary heart disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2009;36(8):790–6.
  35. Berardi C, Wassel CL, Decker PA, et al. Elevated Levels of Adhesion

- Proteins Are Associated With Low Ankle–Brachial Index: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Angiology*. 2016; Cited in Pumed; PMID 27436494.
36. Rovin B, Lu L, Zhang X. A novel interleukin-8 polymorphism is associated with severe systemic lupus erythematosus nephritis. *Kidney Int*. 2002;62(1):261–5.
  37. Nielepkowicz-Goździńska A, Fendler W, Robak E, et al. Exhaled IL-8 in systemic lupus erythematosus with and without pulmonary fibrosis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2014;62(3):231–8.
  38. Liu CC, Kao AH, Manzi S, et al. Biomarkers in systemic lupus erythematosus challenges and prospects for the future. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2013;5(4):210–33.
  39. Gupta R, Yadav A, Aggarwal A. Longitudinal assessment of monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis as a biomarker of disease activity. *Clin Rheumatol*. 2016;35(11):2707–14.
  40. Spronk PE, Bootsma H, Huitema MG, et al. Levels of soluble VCAM-1, soluble ICAM-1, and soluble E-selectin during disease exacerbations in patients with systemic lupus erythematosus (SLE); a long term prospective study. *Clin Exp Immunol*. 1994;97(3):439–44.
  41. Mahayidin H, Yahya NK, Ghazali WSW, et al. The Usefulness of Endothelial Cell Adhesion Molecules and Anti-C1q Antibody in Monitoring Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity. *Int Sch Res Not*. 2014;2014(1):1–6.
  42. Belmont HM, Buyon J, Giorno R, et al. Up-regulation of endothelial cell adhesion molecules characterizes disease activity in systemic lupus erythematosus. The Shwartzman phenomenon revisited. *Arthritis Rheum*. 1994;37(3):376–83.
  43. Sabry A, Sheashaa H, El-Husseini A, et al. Intercellular adhesion molecules in systemic lupus erythematosus patients with lupus nephritis. *Clin Rheumatol*. 2007;26(11):1819–23.
  44. Tabur S, Oztuzcu S, Oguz E, et al. Evidence for elevated (LIMK2 and CFL1) and suppressed (ICAM1, EZR, MAP2K2, and NOS3) gene expressions in metabolic syndrome. *Endocrine*. 2016;53(2):465–70.
  45. Yan QW, Yang Q, Mody N, et al. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56(10):2533–40.
  46. Martins LM, Oliveira ARS, Cruz KJC, et al. Obesity, Inflammation, and Insulin

- Resistance. *Braz J Pharm Sci.* 2014;50(4):677-92.
47. Rubinstein T, Pitashny M, Putterman C. The novel role of neutrophil gelatinase-B associated lipocalin (NGAL)/Lipocalin-2 as a biomarker for lupus nephritis. *Autoimmun Rev.* 2008;7(3):229–34.
  48. De La Chesnaye E, Manuel-Apolinar L, Zarate A, et al. Lipocalin-2 plasmatic levels are reduced in patients with long-term type 2 diabetes mellitus. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(2):2853–9.
  49. Alzawawy A, Zohary M, Ablordiny M, et al. Estimation of monocyte-chemoattractantprotein-1 (Mcp-1) level in patients with lupus nephritis. *Int J Rheum Dis.* 2009;12(4):311–8.
  50. Barbado J, Martin D, Vega L, et al. MCP-1 in urine as biomarker of disease activity in Systemic Lupus Erythematosus. *Cytokine.* 2012;60(2):583–6.
  51. Ait-Oufella H, Taleb S, Mallat Z, et al. Recent advances on the role of cytokines en atherosclerosis. *Arterioscler Throm Vasc Biol.* 2011; 31(5):969-79.

**Figure 1** - Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and Metabolic Syndrome (MetS): involvement with adipokines and adhesion molecules



ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; IL, interleukin; LCN2, lipocalin-2; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; MetS, metabolic syndrome; NF- $\kappa$ B, nuclear factor kappa B; PAI-1, plasminogen activator inhibitor 1; SAA, serum amyloid A protein; SLE, systemic lupus erythematosus; TLR4, toll-like receptor 4; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor alpha.

The presence of SLE and MetS, concomitantly, culminates in exacerbation of the inflammatory process through the high activation of CAMs induced by deregulation of adipokines. In the inflammatory context, caused by the intense activity of SLE or obesity (low-grade inflammation), there is an increase in proinflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-6, recruiting macrophages to the site of inflammation by induction of MCP-1. These factors generate lipolysis releasing, at high concentrations, serum fatty acids that have the ability to bind to TLR-4 receptors by activating the NF- $\kappa$ B pathway. The latter, consequently, will generate more inflammation and release of inflammatory mediators, contributing to the "perpetuation" of this cycle. The lipolysis process also activates ICAM-1 and adipokines such as MCP-1 and IL-6, causing more inflammation and inducing the release of SAA which, together with increased fatty acids, results in insulin resistance. This metabolic disorder leads to the release of PAI-1 which, through extracellular proteolytic imbalance, generates sclerotic lesions in glomerular capillaries, releasing MCP-1, LCN2, IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$ , corroborating for more lipolysis and inflammation. PAI-1 can also be induced by hypertension itself, with disturbance in the renin-angiotensin-aldosterone system. Another aggravating factor for these patients is that the imbalance of leptin and adiponectin leads to increased inflammation and insulin resistance.

**Table 1** - Demographic, clinical, and laboratory characteristics of systemic lupus erythematosus (SLE) in the presence or absence Metabolic Syndrome (MetS)

	Absence of MetS (n=62)	Presence of MetS (n=64)	p
Age (Years)	36.30 (1.59)	43.46 (1.72)	<b>0.003</b>
Gender (Female/Male)	58/4	62/2	0.436
Ethnicity (Caucasian/Non-Caucasian)	40/22	37/27	0.852
Anti-dsDNA (Positive/negative)	33/29	36/28	0.733
SLEDAI	4.0 (0.48)	4.97 (0.62)	0.217
SLEDAI $\geq$ 10 (Yes/No)	6/56	12/52	0.146
Nephritis (Yes/No)	23/28	30/24	0.284
C3 ( $\mu$ U/mL)	107.03 (3.69)	115.15 (3.54)	0.115
C4 ( $\mu$ U/mL)	21.06 (1.57)	20.92 (1.31)	0.945
Duration (years)	9.13 (0.96)	10.77 (1.05)	0.253
Prednisone (mg/day)	9.14 (1.21)	11.98 (1.31)	0.153
Antimalarials (Yes/No)	47/15	51/13	0.600
Mycophenolate (Yes/No)	14/48	18/46	0.475
Others Immunossupresives (Yes/No)	24/38	31/33	0.271
Antihypertensives (Yes/No)	15/24	41/13	<b>&lt;0.001</b>
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	24.84 (0.70)	30.05 (0.76)	<b>&lt;0.001</b>
WC (cm)	84.99 (1.64)	99.10 (1.62)	<b>&lt;0.001</b>
SBP (mmHg)	115.01 (1.84)	127.01 (2.16)	<b>&lt;0.001</b>
DBP (mmHg)	74.65 (1.59)	83.27 (1.53)	<b>&lt;0.001</b>
Insulin (U/mL)	10.61 (0.91)	16.66 (1.04)	<b>&lt;0.001</b>
Fasting glucose (mg/dL)	80.64 (1.44)	91.86 (3.25)	<b>&lt;0.001</b>
HOMA-IR	1.88 (0.15)	3.34 (0.23)	<b>&lt;0.001</b>
Triacylglycerol (mg/dL)	98.68 (7.03)	155.64 (10.75)	<b>&lt;0.001</b>
Total cholesterol (mg/dL)	180.16 (5.20)	177.63 (4.70)	0.719
HDL-cholesterol (mg/dL)	55.29 (2.06)	47.63 (1.60)	<b>0.004</b>
LDL-cholesterol (mg/dL)	104.79 (4.01)	97.41 (4.05)	0.198

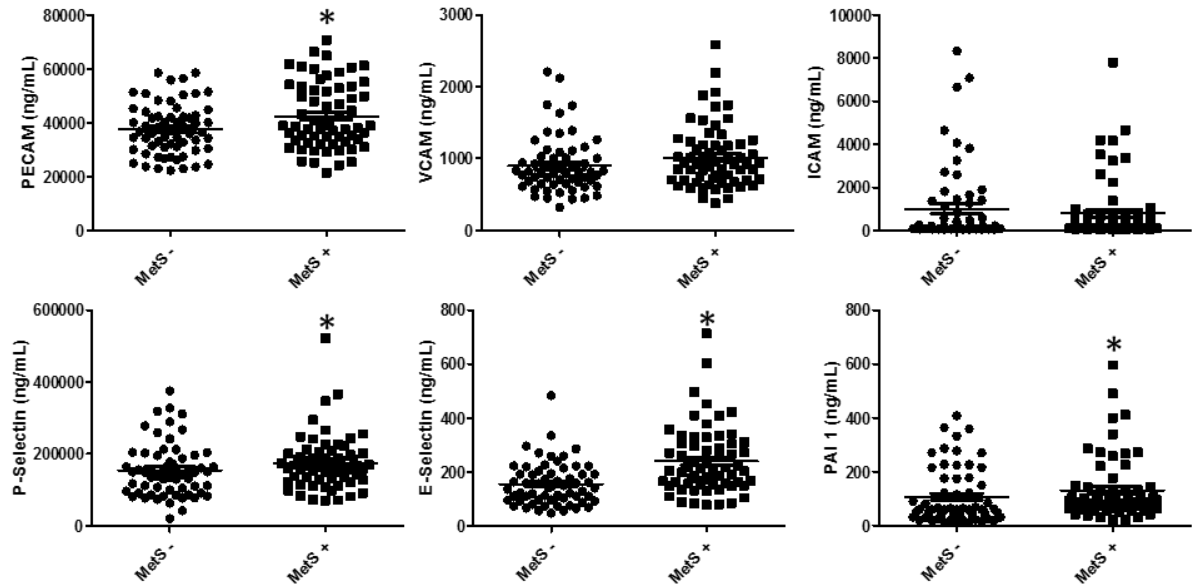
t Student test. Results are shown as mean ( $\pm$ SEM). Anti-dsDNA, anti-double-stranded DNA antibodies; SLEDAI, systemic lupus erythematosus disease activity index; BMI, body mass index; WC, waist circumference; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model of assessment insulin resistance; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein.

**Table 2** - Adipocytokines in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients in the presence or absence of Metabolic Syndrome (MetS)

	Absence of MetS (n=62)	Presence of MetS (n=64)	p
IL-1 (pg/mL)	64.56 (4.66)	71.04 (4.89)	0.339
IL-6 (pg/mL)	63.49 (16.94)	60.06 (3.75)	0.176
IL-8 (pg/mL)	71.05 (11.30)	100.20 (13.17)	<b>0.016</b>
IL-10 (pg/mL)	2.84 (0.76)	7.06 (1.93)	<b>0.008</b>
TNF (pg/mL)	68.99 (3.79)	81.66 (5.87)	0.130
MCP-1 (pg/mL)	288.60 (26.95)	490.98 (78.73)	<b>0.002</b>
Leptin (ng/mL)	11411.22 (1354.41)	15967.30 (2193.83)	0.210
Adiponectin (pg/mL)	3.06 (0.31)	3.07 (0.33)	0.984
SSA (pg/mL)	30013.80 (6998.30)	34975.14 (9204.73)	0.565
HGF (pg/mL)	455.46 (34.50)	596.20 (40.42)	<b>0.004</b>
Lipocalin 2 (pg/mL)	69703.00 (11382.15)	69157.75 (10765.84)	0.806
Resistin (pg/mL)	42258.43 (6186.76)	43904.81 (5329.55)	0.406

t Student test. Results are shown as mean ( $\pm$ SEM). IL, Interleukin; TNF, tumor necrosis factor; MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1; SAA, serum amyloid A; HGF, hepatocyte growth factor.

**Figure 2** – Adhesion molecules and PAI-1 in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in presence or absence of Metabolic Syndrome (MetS)



t Student test. Results are shown as mean ( $\pm$ SEM). ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; PAI-1, plasminogen activator inhibitor type-1; PECAM-1, platelet endothelial cell adhesion molecule-1; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1. \* $p < 0.05$ .

**Table 3** - Adipocytokines and cell adhesion molecules in SLE patients, considering the presence of Metabolic Syndrome

Parameters	Model 1	Model 2	Model 3
E-selectin (pg/mL)	<b>p=0.011</b> 0.075 (0.010-0.554)	<b>p=0.012</b> 0.051 (0.005-0.514)	<b>p=0.020</b> 0.047 (0.004-0.617)
P-selectin (pg/mL)	p=0.104 8.371 (0.644-108.8)	p=0.149 7.279 (0.490-108.06)	<b>p=0.049</b> 33.508 (1.000-1129.5)
PECAM (pg/mL)	p=0.621 2.021 (0.124-32.83)	p=0.567 2.313 (0.131-40.773)	p=0.939 1.148 (0.033-39.941)
PAI-1 (pg/mL)	p=0.180 0.460 (0.148-1.432)	p=0.138 0.395 (0.116-1.348)	p=0.121 0.339 (0.086-1.333)
MCP-1 (pg/mL)	p=0.518 0.638 (0.164-2.488)	p=0.624 0.690 (0.156-3.046)	p=0.810 0.793 (0.120-5.237)
IL-8 (pg/mL)	p=0.995 0.994 (0.181-5.463)	p=0.867 0.861 (0.149-4.969)	p=0.997 0.995 (0.105-9.460)
IL-10 (pg/mL)	p=0.060 0.644 (0.408-1.218)	<b>p=0.043</b> 0.618 (0.388-0.985)	p=0.059 0.570 (0.318-1.023)
HGF (pg/mL)	p=0.910 1.214 (0.042-35.21)	p=0.663 2.224 (0.061-80.907)	p=0.869 1.439 (0.019-108.7)

Model 1: Age

Model 2: Model 1 + Sex + Ethnicity

Model 3: Model 2 + Immunosuppressive Drug Treatment

t Student test. Results are shown as mean ( $\pm$ SEM). PECAM, platelet endothelial cell adhesion molecule, PAI-1, plasminogen activator inhibitor type-1; MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1; IL, Interleukin; SAA, serum amyloid A; HGF, hepatocyte growth factor.

**Table 4** – Demographic, clinical and biological characteristics in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients considering SLEDAI score

Parameters	SLEDAI < 10 (n=108)	SLEDAI ≥ 10 (n=18)	p
Age (Years)	39.8 (1.3)	40.6 (3.6)	0.814
Gender (Female/Male)	102/6	18/0	0.306
Ethnicity (Caucasian/Not-Caucasian)	68/40	9/9	0.296
SLEDAI	3.06 (0.24)	13.11 (0.80)	<b>&lt;0.001</b>
Anti-dsDNA (Positive/negative)	55/53	14/4	<b>0.034</b>
C3 (μU/mL)	113.99 (2.55)	94.09 (8.63)	<b>0.006</b>
C4 (μU/mL)	21.68 (1.10)	16.83 (2.46)	0.095
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	27.32 (0.60)	28.99 (1.73)	0.373
MetS (Yes/No)	52/56	12/6	0.146
Prednisone (mg/day)	9.74 (0.90)	16.03 (4.27)	0.167
Antimalarials (Yes/No)	79/27	16/2	0.238
Mycophenolate (Yes/No)	26/80	6/12	0.429
Other Immunossupresives (Yes/No)	50/56	5/12	0.198

t Student test. Results are shown as mean (±SEM). SLEDAI, systemic lupus erythematosus disease activity index; Anti-dsDNA, anti-double-stranded DNA antibodies; BMI, body mass index; MetS, Metabolic Syndrome.

**Table 5** - Cytokines, adipocytokines, and cell adhesion molecules in SLE patients, according to SLEDAI (<or ≥ 10)

Parameter	SLEDAI <10 (n=108)	SLEDAI ≥10 (n=18)	p
Adiponectin (pg/mL)	2.984 (0.225)	3.632 (0.899)	0.994
Leptin (ng/mL)	13895 (1483)	12420 (25069)	0.731
Resistin (pg/mL)	41701 (4125)	49273 (12924)	0.600
E-selectin (pg/mL)	197415 (10952)	197922 (25708)	0.968
P-selectin (pg/mL)	167013 (7372)	153659 (15127)	0.623
ICAM (pg/mL)	993774 (166559)	303659 (122675)	<b>0.031</b>
VCAM (pg/mL)	952650 (40740)	996456 (80901)	0.497
PECAM (pg/mL)	39800 (1044)	40830 (3005)	0.785
PAI-1 (pg/mL)	122175 (10732)	105141 (22798)	0.545
IL-1 (pg/mL)	68.88 (3.81)	62.39 (7.20)	0.561
IL-10 (pg/mL)	5.25 (1.21)	3.31 (1.72)	0.189
IL-6 (pg/mL)	52.38 (2.65)	104.99 (47.32)	0.076
IL-8 (pg/mL)	82.46 (9.05)	98.04 (26.36)	0.640
MCP-1 (pg/mL)	322.52 (22.49)	682.87 (197.73)	<b>0.004</b>
SSA (pg/mL)	30972 (5740)	39096 (18518)	0.221
HGF (pg/mL)	514,70 (28.32)	566.67 (83.71)	0.630
Lipocalin 2 (pg/mL)	74707 (8765)	45347 (15789)	<b>0.019</b>
TNF (pg/mL)	76.04 (4.02)	71.15 (6.87)	0.585

t Student test. Results are shown as mean ( $\pm$ SEM). ICAM, intercellular adhesion molecule; VCAM, vascular cell adhesion molecule; PECAM, platelet endothelial cell adhesion molecule, PAI-1, plasminogen activator inhibitor type-1; IL, Interleukin; MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1; SAA, serum amyloid A; HGF, hepatocyte growth factor; TNF, tumor necrosis factor.

**Table 6 – Adipocytokines and cell adhesion molecules in SLE patients, considering SLEDAI**

Parameters	Model 1	Model 2	Model 3
ICAM (pg/mL)	p=0.094 0.491 (0.214-1.128)	p=0.052 0.401 (0.160-1.009)	p=0.055 0.203 (0.040-1.033)
IL-6 (pg/mL)	<b>p=0.025</b> 8.058 (1.305-49.746)	<b>p=0.028</b> 8.574 (1.255-58.554)	<b>p=0.024</b> 13.723 (1.407-133.857)
MCP-1 (pg/mL)	<b>p=0.039</b> 7.105 (1.106-45.660)	<b>p=0.024</b> 10.309 (1.355-78.411)	<b>p=0.027</b> 23.508 (1.432-385.831)
Lipocalin 2 (pg/mL)	<b>p=0.005</b> 0.037 (0.004-0.361)	<b>p=0.004</b> 0.024 (0.002-0.303)	<b>p=0.009</b> 0.013 (0.000-0.332)

Model 1: Age

Model 2: Model 1 + Sex + Ethnicity

Model 3: Model 2 + Immunosuppressive Drug Treatment

t Student test. Results are shown as mean ( $\pm$ SEM). ICAM, intercellular adhesion molecule; IL, Interleukin; MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1.

## 7 CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu concluir que:

- E-selectina e P-selectina mostraram-se relacionadas com a presença de SM independente de idade, gênero, etnia e terapia farmacológica;
- Pacientes com SM exibiram níveis elevados de IL-8, IL-10, MCP-1 e HGF quando comparados aqueles sem a síndrome. As demais adipocinas mensuradas não diferiram entre os grupos;
- IL-10 foi associada com a presença de SM independente de idade, gênero e etnia;
- Ao considerar a divisão entre SLEDAI <10 ou ≥10 não observou-se diferença estatística entre os grupos para idade, gênero, etnia, IMC, presença de SM e uso de medicamento;
- Indivíduos com SLEDAI ≥10 exibiram maiores títulos de anticorpo anti-dsDNA e MCP-1 e menores níveis de C3, ICAM-1 e LCN2. As demais moléculas de adesão e adipocinas não diferiram segundo a divisão do SLEDAI;
- IL-6, MCP-1 e LCN2 foram associados com SLEDAI independente de idade, gênero, etnia e terapia farmacológica.

## 8 REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Tolerância Imunológica e Autoimunidade. In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Imunologia: Celular e Molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 319–344.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Circulação de Leucócitos e Migração para os Tecidos. In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Imunologia: Celular e Molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 35–50.

AIZAWA, K. et al. Metabolic syndrome, endotelial function and lifestyle modification. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 6, n. 3, p.181-189, 2009.

ANTUNA-PUENTE, B. et al. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. **Diabetes & Metabolism**, v. 34, n. 1, p. 2–11, 2008.

ARICESCU, A. R.; JONES, E. Y. Immunoglobulin superfamily cell adhesion molecules: zippers and signals. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 19, n. 5, p. 543–550, 2007.

BAE, Y. J. et al. Evaluation of Adiposity-Related Biomarkers as Metabolic Syndrome Indicators. **Clinical Nutrition Research**, v. 2, n. 2, p. 91-99, 2013.

BAMBACE, C. et al. Adiponectin gene expression and adipocyte diameter: A comparison between epicardial and subcutaneous adipose tissue in men. **Cardiovascular Pathology**, v. 20, n. 5, p. 153-156, 2011.

BARBOSA, V. S.; FRANCESCANTÔNIO, P. L.; SILVA, N. A. Leptina e adiponectina no lúpus eritematoso sistêmico: Correlações clínicas e laboratoriais. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 55, n. 2, p. 140–145, 2015.

BARCLAY, A. N. Membrane proteins with immunoglobulin-like domains - A master superfamily of interaction molecules. **Seminars in Immunology**, v. 15, n. 4, p. 215-223, 2003.

BARR, S. G. et al. Patterns of disease activity in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheumatology**, v. 42, n. 12, p. 2682–2688, 1999.

BELL, L. N. et al. Adipose tissue production of hepatocyte growth factor contributes to elevated serum HGF in obesity. **American Journal of Physiology**, v. 291, n. 4, p. 843-848, 2006.

BELMONT, H. M. et al. Up-regulation of endothelial cell adhesion molecules characterizes disease activity in systemic lupus erythematosus: The Schwartzman phenomenon revisited. **Arthritis and Rheumatism**, v. 37, n. 3, p. 376–383, 1994.

BENGTSSON, A. A.; RÖNNBLUM, L. Systemic lupus erythematosus: still a challenge for physicians. **Journal of Internal Medicine**, [Epub ahead of print]. 2016.

BERARDI, C. et al. Elevated Levels of Adhesion Proteins Are Associated With Low Ankle–Brachial Index: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **Angiology**, [Epub ahead of print]. 2016.

BERTSIAS, G. et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 67, n. 1, p. 195-205, 2008.

BLANKENBERG, S.; BARBAUX, S.; TIRET, L. Adhesion molecules and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 170, n. 2, p. 191-203, 2003.

BOMBARDIER, C. et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. **Arthritis and rheumatism**, v. 35, n. 6, p. 630-640, 1992. BORBA, E. F. et al. Consenso de Lúpus Eritematoso Sistêmico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, n. 4, p. 196–207, 2008.

BOSCH, X. et al. Infections in systemic lupus erythematosus: a prospective and controlled study of 110 patients. **Lupus**, v. 15, n. 1, p. 584–589, 2006.

BRASIL. Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria n. 100, de 7 de fevereiro de 2013. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Lúpus Eritematoso Sistêmico, **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 56, 22 mar. 2013, Seção I, p. 49.

BRITO, F. A. et al. Detecção de anticorpos antinucleares por imunofluorescência indireta em células HEp-2: definindo a diluição de triagem adequada para o diagnóstico das doenças reumáticas autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 54, n. 1, p. 13-20, 2014.

BIJL, M. et al. Serum amyloid P component levels are not decreased in patients with systemic lupus erythematosus and do not rise during an acute phase reaction. **Annals of Rheumatic Diseases**, v. 63, n. 1, p. 831-835, 2004.

CALABRO, P. et al. Resistin promotes smooth muscle cell proliferation through activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. **Circulation**, v. 110, n. 21, p. 3335–3340, 2004.

CANCELLO, R. et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery induced weight loss. **Diabetes**, v. 54, n. 8, p. 2277–2286, 2005.

CARDOSO, C. R. L. et al. Prevalence and factors associated with dyslipoproteinemias in Brazilian systemic lupus erythematosus patients. **Rheumatology International**, v. 28, n. 4, p. 323–327, 2008.

CHAKRAVARTY, E. F. et al. Prevalence of Adult Systemic Lupus Erythematosus in California and Pennsylvania in 2000: Estimates Using Hospitalization Data. **Arthritis Rheumatology**, v. 56, n. 6, p. 2092–2094, 2007.

CHEN, G.-M. et al. Lack of association between IL-23R gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in a Chinese population. **Inflammation Research**, v. 62, n. 1, p. 791–795, 2013.

CHUNG, C. P. et al. High prevalence of the metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with disease characteristics and cardiovascular risk factors. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 66, n. 2, p. 208–214, 2007.

CHUNG, C. P. et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. **Lupus**, v. 18, n. 9, p. 799–806, 2009.

CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **The New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 5, p. 292–295, 1996.

COOKE, J. P.; OKA, R. K. Does leptin cause vascular disease?. **Circulation**, v. 106, n. 15, p. 1904-1905, 2002.

COSTA, R. G. et al. Potential Influence of Adiponectin on Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis Therapy. **SM Journal of Food and Nutritional Disorders**, v. 1, n. 1, p. 1003–1006, 2015.

COTRAN, R. S. et al. Induction and detection of a human endothelial activation antigen in vivo. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 164, n. 1, p. 661–666, 1986.

DALLMEIER, D. et al. Metabolic syndrome and inflammatory biomarkers: a community-based cross-sectional study at the Framingham Heart Study. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 4, n. 1, p. 2-7, 2012.

D'CRUZ, D. P.; KHAMASHTA, M. A; HUGHES, G. R. V. Systemic lupus erythematosus. **Lancet**, v. 369, n. 9561, p. 587–596, 2007.

D'ELIA, J. A. et al. Cardiovascular-renal complications and the possible role of plasminogen activator inhibitor: a review. **Clinical Kidney Journal**, v. 9, n. 5, p. 705–712, 2016.

DESHMANE, S. L. et al. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 29, n. 6, p. 313–326, 2009.

- ESCÁRCEGA, R. O. et al. Insulin resistance, chronic inflammatory state and the link with systemic lupus erythematosus-related coronary disease. **Autoimmunity Reviews**, v. 6, n. 1, p. 48-53, 2006.
- ETZIONI, A. Adhesion Molecules-Their Role in Health and Disease. **Pediatric Research**, v. 39, n. 2, p. 191–198, 1996.
- FANG, L. et al. Association of Leu125Val polymorphism of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) gene & soluble level of PECAM-1 with coronary artery disease in Asian Indians. **Indian Journal of Medical Research**, v. 121, n. 2, p. 92–99, 2005.
- FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina**. (Ribeirão Preto), v. 34, n. 1, p. 229-237, 2001.
- FREIRE, E. A. M.; SOUTO, L. M.; CICONELLI, R. M. Assessment measures in systemic lupus erythematosus. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 1, p. 70–80, 2011.
- FU, S. M. et al. Anti-dsDNA Antibodies are one of the many autoantibodies in systemic lupus erythematosus. **F1000Research**, v. 4, n. 938, p. 1-7, [Published online], 2015.
- GARCIA-GONZALEZ, A. et al. Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus. **Rheumatology International**, v. 22, n. 4, p. 138–141, 2002.
- GARRETT-SINHA, L. A.; JOHN, S.; GAFFEN, S. L. IL-17 lineage in systemic lupus erythematosus. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 20, n. 1, p. 519-525, 2008.
- GLADMAN, D. D. et al. Crosscultural validation and reliability of three disease activity indices in systemic lupus erythematosus. **Journal Rheumatology**, v. 19, n. 4, p. 608–611, 1992.
- GÓMEZ, R. et al. What's new in our understanding of the role of adipokines in rheumatic diseases? **Nature Reviews Rheumatology**, v. 7, n. 9, p. 528–536, 2011.
- GOTSCH, U. et al. Expression of P-selectin on endothelial cells is upregulated by LPS and TNF-alpha in vivo. **Cell Adhesion and Communication**, v. 2, n. 1, p. 7–14, 1994.
- GUPTA, V. et al. Association of TNF-alpha promoter gene G-308A polymorphism with metabolic syndrome, insulin resistance, serum TNF-alpha and leptin levels in Indian adult women. **Cytokine**, v. 57, n. 1, p. 32–36, 2012.
- GUSTAFSON, B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, v. 17, n. 1, p. 332–341, 2010.

GUZIK, T. J.; MANGALAT, D.; KORBUT, R. Adipocytokines - Novel link between inflammation and vascular function? **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 505-528, 2006.

HA, H.; OH, E. Y.; LEE, H. B. The role of plasminogen activator inhibitor 1 in renal and cardiovascular diseases. **Nature Reviews Nephrology**, v. 5, n. 4, p. 203–211, 2009.

HAN, J. H. et al. The beneficial effects of empagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice fed a western diet. **Diabetologia**, [Epub ahead of print], 2016.

HATTORI, Y. et al. Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells. **Diabetologia**, v. 46, n. 11, p. 1543–1549, 2003.

HIRATSUKA, A. et al. Strong association between serum hepatocyte growth factor and metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 90, n. 5, p. 2927–31, 2005.

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

HOPKINS, P. et al. Increased levels of plasma anaphylatoxins in systemic lupus erythematosus predict flares of the disease and may elicit vascular injury in lupus cerebritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 31, n. 5, p. 632–641, 1988.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 860–867, 2006.

HUI, X. et al. Adiponectin and cardiovascular health: an update. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 3, p. 574-590, 2012.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome**. [Published online], 2006.

JANSSEN, B. A. et al. Correlation of blood levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 with disease activity in systemic lupus erythematosus and vasculitis. **British Journal of Rheumatology**, v. 33, n. 12, p. 1112–1116, 1994.

JOHNSON, B. D. et al. Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). **Circulation**, v. 109, n. 6, p. 726–732, 2004.

JOSEPH, A. et al. Immunologic rheumatic disorders. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 2, p. 204–215, 2010.

KAVANAUGH, A. et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 124, n. 1, p. 71–81, 2000.

KEETON, M. et al. Cellular localization of type 1 plasminogen activator inhibitor messenger RNA and protein in murine renal tissue. **The American Journal of Pathology**, v. 142, n. 1, p. 59–70, 1993.

KENDALL, K. Adhesion: molecules and mechanics. **Science**, v. 263, n. 5154, p. 1720–5, 1994.

KEUPER, M. et al. An inflammatory micro-environment promotes human adipocyte apoptosis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 339, n. 1–2, p. 105–113, 2011.

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

KOTZIN, A. L.; O'DELL, J. R. Systemic lúpus erythematosus. In: FRANK, M. M.; SAMTER, M. (Eds.). **Samter's Immunologic Disease**. Boston: Little Brown, 1995. p. 667-697.

KRYSIK, R.; HANDZLIK-ORLIK, G.; OKOPIEN, B. The role of adipokines in connective tissue diseases. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 5, p. 513- 528, 2012.

KURTZ, T. W. et al. Recommendations for blood pressure measurement in animals: Summary of an AHA scientific statement from the council on high blood pressure research, professional and public education subcommittee. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 3, p. 478–479, 2005.

KWON, H.; PESSIN, J. E. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. **Frontiers in Endocrinology**, v. 4, n. 71, [Published online], 2013.

LANNA, C. C. D.; FERREIRA, G. A.; TELLES, R. W. Lúpus Eritematoso Sistêmico. In: CARVALHO, M. A. P.; LANNA, C. C. D.; BÉRTOLO, M. B. (Eds.). **Reumatologia: diagnóstico e tratamento**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008, p. 364–385.

LEINONEN, E. et al. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. **Atherosclerosis**, v. 166, n. 2, p. 387–394, 2003.

LIANG, X. et al. Plasminogen activator inhibitor-1 modulates adipocyte differentiation. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 290, n. 1, p. 103–113, 2006.

LILLEBY, V. et al. Body composition, lipid and lipoprotein levels in childhood-onset systemic lupus erythematosus. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 36, n. 1, p. 40–47, 2007.

LIU, Y. et al. Effect of anti-P-selectin monoclonal antibody (mAb) on renal injury in experimental lupus nephritis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 31, n. 1, p. 106, 2016.

LOFFREDA, S. et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. **The FASEB Journal**, v. 12, n. 1, p. 57–65, 1998.

LOZOVOY, M. A. B. et al. Increased Insulin Resistance and Metabolic Syndrome Frequency in Brazilian Patients with Systemic Lupus Erythematosus: Comparison between Active and Inactive Disease. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 35, n. 1, p. 61–74, 2014a.

LOZOVOY, M. A. B. et al. Inflammatory biomarkers and oxidative stress measurements in patients with systemic lupus erythematosus with or without metabolic syndrome. **Lupus**, v. 20, n. 13, p. 1356–1364, 2011.

LOZOVOY, M. A. B. et al. Hypertension is associated with serologically active disease in patients with systemic lupus erythematosus: role of increased Th1/Th2 ratio and oxidative stress. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 43, n. 1, p. 59–62, 2014b.

LUBBERTS, E. IL-17/Th17 targeting: on the road to prevent chronic destructive arthritis? **Cytokine**, v. 41, n. 1, p. 84–91, 2008.

MAHAYIDIN, H. et al. Evaluation of endothelial cell adhesion molecules and anti-C1q antibody in discriminating between active and non-active systemic lupus erythematosus. **Malaysian Journal of Medical Sciences**, v. 23, n. 3, p. 22–31, 2016.

MANTOVANI, A. et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **Trends in Immunology**, v. 25, n. 12, p. 677–686, 2004.

MARSHALL, B. T. et al. Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules. **Nature**, v. 423, n. 6936, p. 190–3, 2003.

MARTINEZ, F. O.; HELMING, L.; GORDON, S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. **Annual Review of Immunology**, v. 27, n. 1, p. 451–483, 2009.

MATTHEWS, V. B. et al. Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. **Diabetologia**, v. 53, n. 11, p. 2431–2441, 2010.

MORANGE, P. E. et al. Glucocorticoids and insulin promote plasminogen activator inhibitor 1 production by human adipose tissue. **Diabetes**, v. 48, n. 4, p. 890–895, 1999.

MOSCA, M.; BOMBARDIERI, S. Assessing remission in systemic lupus erythematosus. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 24, n. 6 (Suppl 43), p. 99-104, 2006.

NAKAMURA, T.; MIZUNO, S. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. **Proceedings of the Japan Academy**, v. 86, n. 6, p. 588–610, 2010.

NAKASHIMA, C. A. K. et al. Incidência e aspectos clínico-laboratoriais do lúpus eritematoso sistêmico em cidade do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 3, p. 235–239, 2011.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **Archives of Internal Medicine**, n. 6, p. 284, 2002.

ORMSETH, M. J. et al. Free fatty acids are associated with metabolic syndrome and insulin resistance but not inflammation in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 22, n.1, p. 26–33, 2013.

OTERO, M. et al. Leptin, from fat to inflammation: Old questions and new insights. **FEBS Letters**, v. 579, n.2, p. 295-301, 2005.

OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature Review Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85–97, 2011.

OUEDRAOGO, R. et al. Adiponectin suppression of high-glucose-induced reactive oxygen species in vascular endothelial cells: evidence for involvement of a cAMP signaling pathway. **Diabetes**, v. 55, n. 6, p. 1840–1846, 2006.

PERMANA, P. A.; MENGE, C.; REAVEN, P. D. Macrophage-secreted factors induce adipocyte inflammation and insulin resistance. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 341, n. 2, p. 507–514, 2006.

PETRI, M. et al. Definition, incidence and clinical description of flare in systemic lupus erythematosus. **Arthritis & Rheumatology**, v. 34, n. 8, p. 937-944, 1991.

PETRI, M.; BUYON, J.; KIM, M. Classification and definition of major flares in SLE clinical trials. **LUPUS**, v. 8, n. 8, p. 685-691, 1999.

PITASHNY, M. et al. Urinary lipocalin-2 is associated with renal disease activity in human lupus nephritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 56, n. 6, p. 1894–1903, 2007.

PONS-ESTEL, G. J. et al. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. **Seminars in Arthritis & Rheumatism**, v. 39, n. 4, p. 257–268, 2010.

RAMALHO, R.; GUIMARÃES, C. The role of adipose tissue and macrophages in chronic inflammation associated with obesity: clinical implications. **Acta Médica Portuguesa**, v. 21, n. 5, p. 489–496, 2008.

REAVEN, G. M. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6, p. 1237–1247, 2006.

REYNOLDS, H. R. et al. Association of plasma soluble E-selectin and adiponectin with carotid plaque in patients with systemic lupus erythematosus. **Atherosclerosis**, v. 210, n. 2, p. 569–574, 2010.

ROVIN, B. H. et al. Plasma, urine, and renal expression of adiponectin in human systemic lupus erythematosus. **Kidney International**, v. 68, n. 4, p. 1825–1833, 2005a.

ROVIN, B. H. et al. Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 16, n. 1, p. 467–473, 2005b.

RUBIN, L. A.; UROWITZ, M. B.; GLADMAN, D. D. Mortality in systemic lupus erythematosus: The bimodal pattern revisited. **QJM**, v. 55, n. 1, p. 87–98, 1985.

SADA, K. E. et al. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. **The Journal of Rheumatology**, v. 33, n. 8, p. 1545–1552, 2006.

SAKAGUCHI, S. et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. **Immunological Reviews**, v. 182, n. 1, p. 18–32, 2001.

SANTOS, F. M. M. et al. Obesity Interferes with The inflammatory status in lupus patients. **Annals of Rheumatologic Disease**, v. 75, n. 2, p. 304, 2016.

SATO, E. I. et al. Consenso brasileiro para o tratamento do lúpus eritematoso sistêmico (LES). Brazilian consensus for the treatment of systemic erythematosus lupus. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 42, n. 6, p. 362–370, 2002.

SATO, E. I. et al. Estudo da reprodutibilidade e validade do índice de atividade do lupus eritematoso sistêmico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 31, n. 4, p. 133–136, 1991.

SCHLEIFFENBAUM, B.; SPERTINI, O.; TEDDER, T. F. Soluble L-selectin is present in human plasma at high levels and retains functional activity. **The Journal of Cell Biology**, v. 119, n. 1, p. 229–238, 1992.

SENN, J. J. et al. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 16, p. 13740–13746, 2003.

SIMÃO, A. N. C. et al. Blood pressure decrease with ingestion of a soya product (kinako) or fish oil in women with the metabolic syndrome: role of adiponectin and nitric oxide. **Jornal of Nutrition**, v. 108, n. 8, p. 1435-1442, 2012.

SINGH, A. K. et al. Association of resistin with metabolic syndrome in Indian subjects. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 10, n. 4, p. 286–291, 2012.

SKEOCH, S. et al. Cellular adhesion molecules as potential biomarkers of nephritis, damage and accelerated atherosclerosis in patients with SLE. **Lupus**, v. 23, n.8, p. 819-824, 2014.

SKURK, T. et al. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 92, n. 3, p. 1023–1033, 2007.

SMITH, C. H.; BARKER, J. N.; LEE, T. H. Adhesion molecules in allergic inflammation. **Americam Reveiw of Respiratory Disease**, v. 148, n. 6 pt 2, p. S75-S78, 1993.

STEPPAN, C. M. et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. **Nature**, v. 409, n. 6818, p. 307–312, 2001.

SUGANAMI, T. et al. Role of the Toll-like receptor 4/NF-κB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 27, n. 1, p. 84–91, 2007.

TABUR, S. et al. Association of Rho/Rho-kinase gene polymorphisms and expressions with obesity-related metabolic syndrome. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 19, n. 9, p. 1680-1688, 2015.

TABUR, S. et al. Evidence for elevated (LIMK2 and CFL1) and suppressed (ICAM1, EZR, MAP2K2, and NOS3) gene expressions in metabolic syndrome. *Endocrine*. 2016;53(2):465–70.

TAKAHASHI, M. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), not MCP-3, is the primary chemokine required for monocyte recruitment in mouse peritonitis

induced with thioglycollate or zymosan A. **Journal of Immunology**, v. 183, n. 5, p. 3463–3471, 2009.

TALAAT, R. M. et al. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity. **Cytokine**, v. 72, n.1, p. 146–153, 2015.

TAM, L. S. et al. Effects of vitamins C and E on oxidative stress markers and endothelial function in patients with systemic lupus erythematosus: a double blind, placebo controlled pilot study. **The Journal of Rheumatology**, v. 32, n. 2, p. 275–82, 2005.

TELLES, R. et al. Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with traditional risk factors for coronary heart disease and lupus characteristics. **Lupus**, v. 19, n. 1, p. 803–809, 2010.

TOMS, T. E.; PANOULAS, V. F.; KITAS, G. D. Dyslipidaemia in rheumatological autoimmune diseases. **The Open Cardiovascular Medicine Journal**, v. 5, n. 1, p. 64–75, 2011.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. **Biochemical Society Transactions**, v. 33, n. 5, p. 1078–1081, 2005.

TSOKOS, G. C.; KAMMER, G. M. Molecular aberrations in human systemic lupus erythematosus. **Molecular Medicine Today**, v. 6, n. 11, p. 418–424, 2000.

TURNER, E. et al. Endothelial function in systemic lupus erythematosus: relationship to disease activity, cardiovascular risk factors, corticosteroid therapy, and coronary calcification. **Vascular Health and Risk Management**, v. 1, n. 4, p. 357–360, 2005.

UROWITZ, M. B. et al. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. **American Journal of Medicine**, v. 60, n. 2, p. 221–225, 1976.

VERMA, S. et al. Resistin promotes endothelial cell activation: Further evidence of adipokine-endothelial interaction. **Circulation**, v. 108, n. 6, p. 736–740, 2003.

VILAR, M. J. P.; RODRIGUES, J. M.; SATO, E. I. Incidência de lúpus eritematoso sistêmico em Natal, RN – Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 43, n. 6, p. 347–351, 2003.

VYSE, T. J.; KOTZIN, B. L. Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus. **Annual Review of Immunology**, v. 16, n. 1, p. 261-292, 1998.

WALLENLIUS, V. et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. **Nature Medicine**, v. 8, n. 1, p. 75–79, 2002.

WEISBERG, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1796–1808, 2003.

WOLF, A. M. et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 323, n. 2, p. 630–635, 2004.

YAMAUCHI, T. et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. **Nature Medicine**, v. 7, n. 8, p. 941–946, 2001.

YOSHIDA-NORO, C.; SUZUKI, N.; TAKEICHI, M. Molecular nature of the calcium-dependent cell-cell adhesion system in mouse teratocarcinoma and embryonic cells studied with a monoclonal antibody. **Developmental Biology**, v. 101, n. 1, p. 19–27, 1984.

ZAIDEL-BAR, R. Cadherin adhesome at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 126, n. 2, p. 373–378, 2013.

ZARRATI, M. et al. Serum leptin, insulin, and inflammatory cytokines in overweight and obese individuals: an analysis based on gender differences. **Journal of Medical Physiology**, v. 1, n. 1, p. 17–24, 2016.

ZONANA-NACACH, A. et al. Prevalence and factors associated with metabolic syndrome in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **Journal of Clinical Rheumatology**, v. 14, n. 2, p. 74–77, 2008.

## **APÊNDICES**

APÊNDICE A – Principais adipocinas: células secretoras e funções

ADIPOCINAS	CÉLULAS SECRETORAS	PRINCIPAIS FUNÇÕES
Adiponectina	Adipócitos	<b>Inibe:</b> LT, LB, IFN- $\gamma$ , NF- $\kappa$ B, ERRO <b>Induz:</b> IL-10, IL-1RA, eNOS
<b>Fontes:</b> BAMBACE et al., 2011; BARBOSA; FRANCESCANTÔNIO; SILVA, 2015; CHUNG et al., 2009; COSTA et al., 2015; GARCIA-GONZALEZ et al., 2002; GÓMEZ et al., 2011; GUSTAFSON, 2010; HATTORI et al., 2003; HUI et al., 2012; OUEDRAOGO et al., 2006; REYNOLDS et al., 2010; ROVIN et al., 2005a; SADA et al., 2006; SIMÃO et al., 2012; WOLF et al., 2004; YAMAUCHI et al., 2001		
Leptina	Adipócitos	<b>Inibe:</b> armazenamento de AG nos adipócitos <b>Induz:</b> lipólise, sensibilidade à insulina, proliferação e ativação de LT e células endoteliais, endotelina-1, NO, TNF- $\alpha$ , MCP-1, agregação plaquetária
<b>Fontes:</b> ANTUNA-PUENTE et al., 2008; BARBOSA; FRANCESCANTÔNIO; SILVA, 2015; CHUNG et al., 2009; CONSIDINE et al., 1996; COOKE; OKA, 2002; COSTA et al., 2015; GARCIA-GONZALEZ et al., 2002; GÓMEZ et al., 2011; GUPTA et al., 2012; LOFFREDA et al., 1998; OTERO et al., 2005; SADA et al., 2006; SANTOS et al., 2016; ZARRATI et al., 2016;		
Resistina	Adipócitos e macrófagos do tecido adiposo	<b>Inibe:</b> AMPK <b>Induz:</b> IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, MCP-1, endotelina-1, VCAM-1, fosforilação de receptores de insulina
<b>Fontes:</b> CALABRO et al., 2004; SINGH et al., 2012; STEPPAN et al., 2001; VERMA et al., 2003;		
MCP-1	Adipócitos, leucócitos e células epiteliais	<b>Inibe:</b> captação de glicose, crescimento e diferenciação de adipócitos <b>Induz:</b> recrutamento de monócitos
<b>Fontes:</b> CANCELLO et al., 2005; DESHMANE et al., 2009; HAN et al., 2016; KEUPER et al., 2011; PERMANA; MENGE; REAVEN, 2006; ROVIN et al., 2005b; TAKAHASHI et al., 2009; WEISBERG et al., 2003;		
HGF	Adipócitos e hepatócitos	<b>Inibe:</b> apoptose e inflamação <b>Induz:</b> angiogênese, mitogênese, proliferação de células epiteliais e adipócitos
<b>Fontes:</b> BELL et al., 2006; GÓMEZ et al., 2011; HIRATSUKA et al., 2005; NAKAMURA; MIZUNO, 2010;		
LCN2	Adipócitos, macrófagos e neutrófilos	<b>Induz:</b> apoptose
<b>Fontes:</b> OUCHI et al., 2011; PITASHNY et al., 2007		
IL-1 $\beta$	Tecido adiposo visceral e macrófagos	<b>Induz:</b> LT, macrófagos, células endoteliais
<b>Fontes:</b> ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015a; MANTOVANI et al., 2004; MARTINEZ; HELMING; GORDON, 2009; ZARRATI et al., 2016		
IL-6	Adipócitos e células presentes do tecido adiposo	<b>Inibe:</b> sensibilidade à insulina <b>Induz:</b> secreção de TG pelo fígado (hipertrigliceridemia), lipólise, PCR, LB
<b>Fontes:</b> HAN et al., 2016; KEUPER et al., 2011; MANTOVANI et al., 2004; MARTINEZ; HELMING; GORDON, 2009; MATTHEWS et al., 2010; PERMANA; MENGE; REAVEN, 2006; SANTOS et al., 2016; SENN et al., 2003; SIMÃO et al. 2012; WALLENIOUS et al., 2002; WEISBERG et al., 2003; ZARRATI et al., 2016;		
IL-8	Tecido adiposo visceral, macrófagos e LT	<b>Induz:</b> quimiotaxia, adesão e migração de leucócitos
<b>Fontes:</b> MANTOVANI et al., 2004; MARTINEZ; HELMING; GORDON, 2009; RAMALHO; GUIMARÃES, 2008; ROVIN et al., 2005b		
IL-10	Adipócitos, LT CD8+ e LB	<b>Inibe:</b> IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , macrófagos <b>Induz:</b> LB
<b>Fontes:</b> CANCELLO et al., 2005;		
TNF- $\alpha$	Adipócitos e células presentes do tecido adiposo	<b>Induz:</b> E-selectina, P-selectina, IL-6, IL-8, + TNF- $\alpha$ , VCAM-1, ICAM-1, MCP-1
<b>Fontes:</b> HAN et al., 2016; HOTAMISLIGIL, 2006; KEUPER et al., 2011; MANTOVANI et al., 2004; MARTINEZ; HELMING; GORDON, 2009; PERMANA; MENGE; REAVEN, 2006; WEISBERG et al.,		

2003;		
SAA	Hepatócitos	<b>Induz:</b> Ligação de HDL à macrófagos, IL-6 e TNF- $\alpha$
<b>Fontes:</b> ANTUNA-PUENTE et al., 2008; BIJL et al., 2004; HAN et al., 2016; JOHNSON et al., 2004; LEINONEN et al., 2003;		
PAI-1	Adipócitos, plaquetas, glomérulos, células epiteliais e musculares lisas	<b>Inibe:</b> Fibrinólise <b>Induz:</b> Acúmulo de gordura visceral
<b>Fontes:</b> D'ELIA et al., 2016; FRANCO, 2001; HÁ; OH; LEE, 2009; KEETON et al., 1993; LIANG et al., 2006; MORANGE et al., 1999; SKURK et al., 2007.		

**Fonte:** próprios autores (2017).

AG, ácidos graxos; AMPK, proteína quinase ativada por AMP; eNOS, óxido nítrico sintase endotelial; ERO, espécie reativa de oxigênio; HDL, Lipoproteína de alta densidade; HGF, Fator de Crescimento de Hepatócitos; IFN- $\gamma$ , Interferon gama; IL, interleucina; IL-1RA, antagonista do receptor da interleucina-1; LCN2, Lipocalina-2; LB, Linfócitos B; LT, Linfócitos T; MCP-1, Proteína Quimiotática de Monócitos-1; NF- $\kappa$ B, fator nuclear kappa B; NO, óxido nítrico; PAI-1, Inibidor 1 do ativador do plasminogênio; SAA, Proteína amiloide A sérica; TNF- $\alpha$ , Fator de necrose tumoral alfa; VCAM-1, molécula 1 de adesão de célula vascular.

## APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**Título da pesquisa:**

**“Associação entre polimorfismos genéticos e a susceptibilidade ao Lúpus Eritematoso Sistêmico em pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná”**

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa **“Associação entre polimorfismos genéticos e a susceptibilidade ao Lúpus Eritematoso Sistêmico em pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná”** realizada no “Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UEL), Londrina, Paraná”. O objetivo da pesquisa é “Correlacionar o envolvimento das moléculas de adesão e das adipocinas em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), na presença de Síndrome Metabólica (SM) e na atividade da doença”. A sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: no momento da entrada no projeto de pesquisa, será realizada uma avaliação clínica e coleta de 20mL de sangue periférico para realização de exames laboratoriais relacionados ao LES e a SM, e uma entrevista para você fornecer informações sobre estilos de vida como dieta e exercícios físicos. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos, ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

As amostras de sangue coletadas serão identificadas por códigos com número garantindo o absoluto sigilo e confidencialidade dos resultados. Após sua utilização, as amostras serão armazenadas em freezer sob a responsabilidade do pesquisador responsável para outros estudos genéticos relacionados ao LES.

A participação no projeto não apresenta riscos ao (a) senhor (a) e a população poderá ser beneficiada com os resultados obtidos, caso a equipe de pesquisa determine fatores genéticos que possam estimar a chance de um indivíduo desenvolver a doença ou a chance de um indivíduo previamente com a doença em

desenvolver quadros clínicos mais graves como a Nefrite Lúpica.

Informamos que o(a) senhor(a) não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contatar: **Professora Dra. Andrea Name Colado Simão, no Setor de Imunologia Clínica do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UEL, fone 43-3371-2321, e-mail: deianame@yahoo.com.br**, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock, nº 60, ou no telefone 43-33712490.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2016.

**Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Andrea Name Colado Simão**

RG: 6226736-4

\_\_\_\_\_, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

Obs: Caso o participante da pesquisa seja menor de idade, deve ser incluído o campo para assinatura do menor e do responsável.

## APÊNDICE C – Ficha de avaliação dos pacientes

## FICHA DE AVALIAÇÃO - PROJETO LES

NOME:	PRONTUÁRIO:
DATA NASC:	CAUCASIANO ( ) NÃO CAUCAS ( )
END:	TEL:
MEDICAMENTOS PREDNISONA: HIDROXICLOROQUINA/CLOROQUINA: METOTREXATE: AZATIOPRINA: MICOFENOLATO MOFETIL: OUTROS IMUNOSSUPRESSORES: OUTROS:	
OUTRAS DOENÇAS: HAS SIM ( ) NÃO ( ) DIABETES SIM ( ) NÃO ( ) AVC/IAM SIM ( ) NÃO ( ) OUTROS:	
NL SIM ( ) NÃO ( ) OBS:	
TEMPO DE DOENÇA:	
ESCORE SLEDAI:	
TABAGISMO: SIM ( ) NÃO ( )	
ATIVIDADE FÍSICA: SIM ( ) NÃO ( )	

PESO	ALTURA	IMC	CIRC. ABDOMINAL	PRESSÃO ARTERIAL

## **ANEXOS**

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da  
Universidade Estadual de Londrina

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE  
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL  
REGIONAL DO NORTE DO



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Associação entre polimorfismos genéticos e a susceptibilidade ao Lúpus Eritematoso Sistêmico em pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná

**Pesquisador:** Andréa Name Colado Simão

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 01865212.0.0000.5231

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual de Londrina - UEL

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 210.328

**Data da Relatoria:** 19/12/2012

**Apresentação do Projeto:**

Estudos com famílias e gêmeos sugerem que os fatores genéticos desempenham um papel significativo na predisposição ao Lupus Eritematoso Sistêmico (LES). Assim, a hipótese levantada neste projeto é de que indivíduos que apresentam polimorfismo genético nos genes que codificam a Proteína C Reativa, o HLA e o TNF apresentam maior susceptibilidade ao desenvolvimento de LES e apresentam maior estresse oxidativo. Para isso, o sangue dos indivíduos selecionados será colhido para realização de investigação gênica e dosagem de Proteína C Reativa e TNF.

**Objetivo da Pesquisa:**

Este projeto objetiva determinar a associação de polimorfismos genéticos e a susceptibilidade ao LES e ao aumento do estresse oxidativo em pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital de Clínicas (AHC) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O projeto não apresenta riscos ao paciente e a população poderá ser beneficiada com os resultados obtidos, caso a equipe de pesquisa determine fatores genéticos que possam estimar a chance de um indivíduo desenvolver a doença ou a chance de um indivíduo previamente com a

**Endereço:** AVENIDA ROBERT KOCH, 60

**Bairro:** VILA OPERÁRIA

**UF:** PR

**Município:** LONDRINA

**Telefone:** (43)3371-2490

**CEP:** 86.038-440

**E-mail:** cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE  
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL  
REGIONAL DO NORTE DO



doença em desenvolver quadros clínicos mais graves como a nefrite lúpica. Além disso, os resultados obtidos neste estudo poderão, também, indicar uma possível relevância da inclusão na rotina laboratorial de testes de genotipagem dos genes indicados para indivíduos atendidos no AHC e no Hospital Universitário da UEL. Indivíduos que apresentarem um genótipo ou um conjunto de haplótipos associado ao LES poderão ser beneficiados com estratégias terapêuticas diferentes ou serem submetidos a um monitoramento clínico e laboratorial em intervalos menores de tempo, ou ambos procedimentos, o que poderá contribuir para uma melhor avaliação e monitorização clínica destes indivíduos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O Projeto está bem estruturado e é relevante para o avanço das investigações sobre LES.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todas as pendências foram respondidas adequadamente.

**Recomendações:**

Encaminhar relatório ao final do estudo.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Prezada Pesquisadora,

Favor retirar seu parecer de aprovação junto ao CEP/UEL.

**Endereço:** AVENIDA ROBERT KOCH, 60

**Bairro:** VILA OPERÁRIA

**CEP:** 86.038-440

**UF:** PR **Município:** LONDRINA

**Telefone:** (43)3371-2490

**E-mail:** cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE  
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL  
REGIONAL DO NORTE DO



LONDRINA, 04 de Março de 2013

---

**Assinador por:**

**Alexandrina Aparecida Maciel Cardelli  
(Coordenador)**

**Endereço:** AVENIDA ROBERT KOCH, 60

**Bairro:** VILA OPERÁRIA

**UF:** PR **Município:** LONDRINA

**Telefone:** (43)3371-2490

**CEP:** 86.038-440

**E-mail:** cep268@uel.br

## ANEXO B – Escore SLEDAI - Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

**A descrição deve estar presente na visita ou nos últimos 10 dias.**

**SLE Daily Activity Index: Data Collection Sheet**

SLEDAI Score	Descriptor	Definition
8	Seizures	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. Include clouding of consciousness with reduced capacity to focus, and 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, infection 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 infraction, splinter hemorrhages, or biopsy or angiogram proof of vasculitis.
4	Arthritis	More than 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 gm/24 hours. New onset or recent increase of more than 0.5 gm/24 hours.
4	Pyuria	>5 white blood cells/high power field. Exclude infection.
2	New rash	New onset or recurrence of inflammatory type rash.
2	Alopecia	New onset or recurrence of abnormal, patchy or diffuse loss of hair.
2	Mucosal ulcers	New onset or recurrence of 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	>25% binding by Farr assay or above normal range for testing laboratory.
1	Fever	>38°C. Exclude infectious cause.
1	Thrombocytopenia	<100,000 platelets/mm <sup>3</sup> .
1	Leukopenia	<3,000 white blood cells/mm <sup>3</sup> . Exclude drug causes.

TOTAL SLEDAI SCORE: \_\_\_\_\_

Reprinted, with permission, from Bombardier C[72]

## ANEXO C – Instruções para autores da revista Clinical Rheumatology

Medicine - Internal Medicine | Clinical Rheumatology - incl. option to publish open access



www.springer.com

Internal Medicine Home &gt; Medicine &gt; Internal Medicine

SUBDISCIPLINES JOURNALS BOOKS SERIES TEXTBOOKS REFERENCE WORKS



## Clinical Rheumatology

Journal of the International League of Associations for Rheumatology

Editor-in-Chief: Luis R. Espinoza

ISSN: 0770-3198 (print version)

ISSN: 1434-0949 (electronic version)

Journal no. 10067


**\$99.00** Personal Rate e-only for the Americas

[Get Subscription](#)

Online subscription, valid from January through December of current calendar year

Immediate access to this year's issues via SpringerLink

1 Volume(-s) with 12 issue(-s) per annual subscription

Automatic annual renewal

More information: &gt;&gt; FAQs // &gt;&gt; Policy

[ABOUT THIS JOURNAL](#)
[EDITORIAL BOARD](#)
[EDITOR'S HIGHLIGHTS](#)
[SOCIETY](#)
[INSTRUCTIONS FOR AUTHORS](#)

## Instructions for Authors

### TYPES OF PAPERS

**Original Research articles:** word limit 4000 words, 45 references, no more than 6 figures/tables; abstracts must be structured as specified below.

Please note:

It is mandatory that abstracts for Original Research articles adopt the below structure (150-250 words):

- **Introduction / objectives** – specify the context of the problem (optional), the research aim, question or purpose, and the tested hypothesis.
- **Method** – specify the design of the study, selection criteria of patients, main outcome variable and statistical approach used to test the primary hypothesis.
- **Results** – summarise the main results, present the results that support the hypothesis stated in Introduction providing results in numbers, not just p-values or interpretations, and other relevant results (optional).
- **Conclusions** – summarise what the findings might imply, and the implications and recommendations for future research; conclusions should be coherent with the objectives and the results presented in the abstract.

<sup>1</sup> **Review articles:** word limit 5000 words, 50 references, no more than 5 figures

- ▷ **Brief Report:** word limit 2000 words, 25 references, no more than 4 figures
- ▷ **Case Based Review:** a case report of extreme clinical interest incorporating a mini review in an area of new knowledge. Word limit 3500 words, 50 references, no more than 5 figures.
- ▷ **Letters to editor:** up to 600 words
- ▷ **Editorial:** up to 1500 words

**Please note:**

Case Reports are no longer accepted and instead authors are invited to submit a Case Based Review.

Translated questionnaires can only be included in Clinical Rheumatology articles if permission to use the questionnaire has been granted by the copyright holder.

**MANUSCRIPT SUBMISSION**

**Manuscript Submission**

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

**Permissions**

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

**Online Submission**

Please follow the hyperlink "Submit online" on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

**TITLE PAGE**

**Title Page**

The title page should include:

- ▷ The name(s) of the author(s)
- ▷ A concise and informative title
- ▷ The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- ▷ The e-mail address, and telephone number(s) of the corresponding author
- ▷ If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

**Abstract**

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

**Keywords**

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

**Specific Remark for Original Research articles**

It is mandatory that abstracts for Original Research articles adopt the below structure:

Introduction / objectives – specify the context of the problem (optional), the research aim, question or purpose, and the tested hypothesis.

Method – specify the design of the study, selection criteria of patients, main outcome variable and statistical approach used to test the primary hypothesis.

Results – summarise the main results, present the results that support the hypothesis stated in Introduction providing results in numbers, not just p-values or interpretations, and other relevant results (optional).

Conclusions – summarise what the findings might imply, and the implications and recommendations for future research; conclusions should be coherent with the objectives and the results presented in the abstract.

## TEXT

### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- The text of a research paper should be divided into Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, Conflict of Interest, and References.
- Materials and Methods must include statement of Human and Animal Rights.
- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 182 kB)

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

### Acknowledgments and Funding Information

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full. In addition, please

provide the funding information in a separate step of the submission process in the peer review system. Funder names should preferably be selected from the standardized list you will see during submission. If the funding institution you need is not listed, it can be entered as free text. Funding information will be published as searchable metadata for the accepted article, whereas acknowledgements are published within the paper.

#### SCIENTIFIC STYLE

Please always use internationally accepted signs and symbols for units (SI units).  
Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.

#### REFERENCES

##### Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

##### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

##### 1: Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of "et al" in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325-329

##### 2: Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000098

##### 3: Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

##### 4: Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

##### 5: Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 28 June 2007

##### 6: Dissertation

Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file spbasic.bst which is included in Springer's LaTeX macro package.

#### **TABLES**

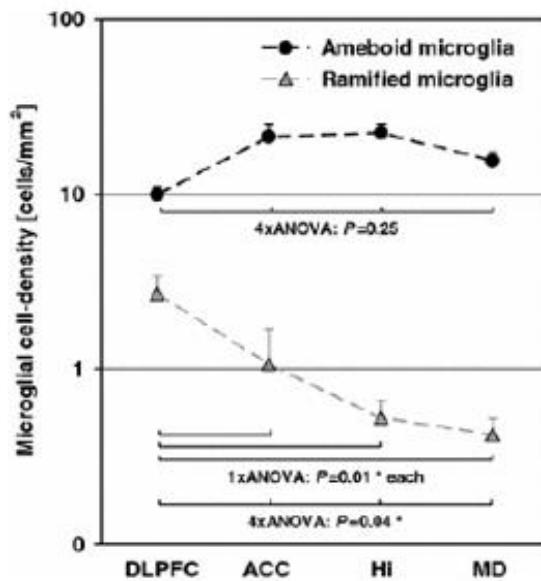
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

#### **ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES**

##### **Electronic Figure Submission**

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

##### **Line Art**



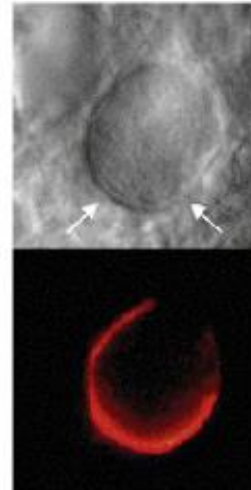
- 1: Definition: Black and white graphic with no shading.
- 1: Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- 1: All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- 1: Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- 1: Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

#### Halftone Art

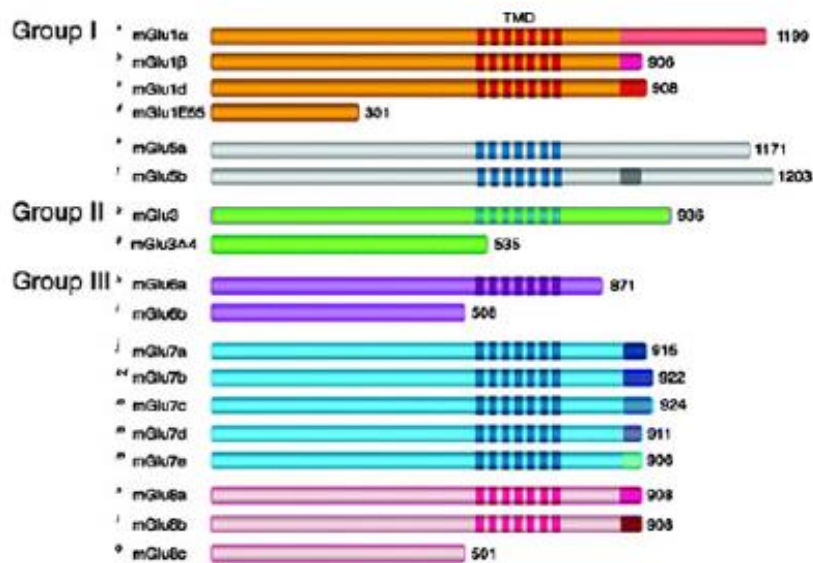
Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



#### Combination Art



Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

#### Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

#### Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

#### Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

#### Figure Captions

- 2: Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- 2: Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- 2: No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- 1: Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- 2: Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

#### Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

#### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

#### ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

#### Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

#### Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3  
Maximum file size: 25 GB  
Minimum video duration: 1 sec  
Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

#### Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.  
A collection of figures may also be combined in a PDF file.

#### Spreadsheets

Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

#### Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

#### Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

#### Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.  
Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".  
Name the files consecutively, e.g. "ESM\_3.mpg", "ESM\_4.pdf".

#### Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

#### Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material  
Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

#### INTEGRITY OF RESEARCH AND REPORTING

##### Ethical standards

Manuscripts submitted for publication must contain a statement to the effect that all human and animal studies have been approved by the appropriate ethics committee and have therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

It should also be stated clearly in the text that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study. Details that might disclose the identity of the subjects under study should be omitted.

These statements should be added in a separate section before the reference list. If these statements are not applicable, authors should state: The manuscript does not contain clinical studies or patient data.

The editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned requirements.

#### **Conflict of interest**

Authors must indicate whether or not they have a financial relationship with the organization that sponsored the research. They should also state that they have full control of all primary data and that they agree to allow the journal to review their data if requested.

Therefore the manuscript must be accompanied by the "Conflict of Interest Disclosure Form". To download this form, please follow the hyperlink on the right.

#### **ENGLISH LANGUAGE EDITING**

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

- Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.
- Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.
- Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts.

English language tutorial  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.

为便于编辑和评审专家准确评估您稿件中陈述的研究工作，您需要确保您的英语语言质量足以令人理解。如果您需要英文写作方面的帮助，您可以考虑：

- 请一位以英语为母语的同事审核您的稿件是否表意清晰。
- 查看一些有关英语写作中常见语言错误的教程。
- 使用专业语言编辑服务，编辑人员会对英语进行润色，以确保您的意思表达清晰，并识别需要您复核的问题。我们的附属机构 Nature Research Editing Service 和合作伙伴 American Journal Experts 即可提供此类服务。

教程  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

请注意，使用语言编辑服务并非在期刊上发表文章的必要条件，同时也并不意味或保证文章将被选中进行同行评议或被接受。

如果您的稿件被接受，在发表之前，我们的文字编辑会检查您的文稿拼写是否规范以及文体是否正式。

エディターと査読者があなたの論文を正しく評価するには、使用されている英語の質が十分に高いことが必要とされます。英語での論文執筆に際してサポートが必要な場合には、次のオプションがあります：

- ・英語を母国語とする同僚に、原稿で使用されている英語が明確であるかをチェックしてもらう。
- ・英語で執筆する際によくある間違いに関する英語のチュートリアルを参照する。
- ・プロの英文校正サービスを利用する。校正者が原稿の意味を明確にしたり、問題点を指摘し、英語を向上させます。Nature Research Editing Service とAmerican Journal Experts の2つは弊社と提携しているサービスです。

英語のチュートリアル  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

英文校正サービスの利用は、このジャーナルに掲載されるための条件ではないこと、また論文審査や受理を保証するものではないことに留意してください。

原稿が受理されますと、出版前に弊社のコピーエディターがスペルと体裁のチェックを行います。

영어 원고의 경우, 에디터 및 리뷰어들이 귀하의 원고에 실린 결과물을 정확하게 평가할 수 있도록, 그들이 충분히 이해할 수 있을 만한 수준으로 작성되어야 합니다. 만약 영작문과 관련하여 도움을 받기를 원하신다면 다음의 사항들을 고려하여 주십시오:

- ・ 귀하의 원고의 표현을 명확히 해줄 영어 원어민 동료들 찾아서 리뷰를 의뢰합니다.
- ・ 영어 튜토리얼 페이지에 방문하여 영어로 글을 쓸 때 자주하는 실수들을 확인합니다.
- ・ 리뷰에 대비하여, 원고의 의미를 명확하게 해주고 리뷰에서 요구하는 문제점들을 식별해서 영문 수준을 향상시켜주는 전문 영문 교정 서비스를 이용합니다. Nature Research Editing Service 와 American Journal Experts에서 저희와 협약을 통해 서비스를 제공하고 있습니다.

영어 튜토리얼 페이지  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

영문 교정 서비스는 게재를 위한 요구사항은 아니며, 해당 서비스의 이용이 피어 리뷰에 논문이 선택되거나 게재가 수락되는 것을 의미하거나 보장하지 않습니다.

원고가 수락될 경우, 출판 전 저희측 편집자에 의해 원고의 철자 및 문체를 검수하는 과정을 거치게 됩니다.

#### ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- 3: The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- 5: The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling ("self-plagiarism")).
- 5: A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. "salami-publishing").
- 1: No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- 2: No data, text, or theories by others are presented as if they were the author's own ("plagiarism"). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

**Important note:** the journal may use software to screen for plagiarism.

- 1: Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.
- 2: Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.
- 2: Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are not accepted after acceptance of a manuscript.
- 1: Adding and/or deleting authors at revision stage may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the role of the added and/or deleted author(s). Further documentation may be required to support your request.
- 2: Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.
- 2: Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:

If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author. If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is maintained on the platform, watermarked "retracted" and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article. The author's institution may be informed.

#### **RESEARCH DATA POLICY**

A submission to the journal implies that materials described in the manuscript, including all relevant raw data, will be freely available to any researcher wishing to use them for non-commercial purposes, without breaching participant confidentiality.

The journal strongly encourages that all datasets on which the conclusions of the paper rely should be available to readers. We encourage authors to ensure that their datasets are either deposited in publicly available repositories (where available and appropriate) or presented in the main manuscript or additional supporting files whenever possible. Please see Springer Nature's information on recommended repositories.

#### List of Repositories

#### Research Data Policy

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may be used where appropriate.

Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

#### DataCite

Where a widely established research community expectation for data archiving in public repositories exists, submission to a community-endorsed, public repository is mandatory. Persistent identifiers (such as DOIs and accession numbers) for relevant datasets must be provided in the paper

For the following types of data set, submission to a community-endorsed, public repository is mandatory:

Mandatory deposition	Suitable repositories
Protein sequences	Uniprot
DNA and RNA sequences	Genbank
	DNA DataBank of Japan (DDBJ)
	EMBL Nucleotide Sequence Database (ENA)
DNA and RNA sequencing data	NCBI Trace Archive
	NCBI Sequence Read Archive (SRA)
Genetic polymorphisms	dbSNP
	dbVar
	European Variation Archive (EVA)
Linked genotype and phenotype data	dbGAP
	The European Genome-phenome Archive (EGA)
Macromolecular structure	Worldwide Protein Data Bank (wwPDB)
	Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRB)
	Electron Microscopy Data Bank (EMDB)
Microarray data (must be MIAME compliant)	Gene Expression Omnibus (GEO) ArrayExpress
Crystallographic data for small molecules	Cambridge Structural Database

For more information:

#### Research Data Policy Frequently Asked Questions

#### Data availability

The journal encourages authors to provide a statement of Data availability in their article. Data availability statements should include information on where data supporting the results reported in the article can be found, including, where applicable, hyperlinks to publicly archived datasets analysed or generated during the study. Data availability statements can also indicate whether data are available on request from the authors and where no data are available, if appropriate.

Data Availability statements can take one of the following forms (or a combination of more than one if required for multiple datasets):

- 1. The datasets generated during and/or analysed during the current study are available in the [NAME] repository, [PERSISTENT WEB LINK TO DATASETS]
- 2. The datasets generated during and/or analysed during the current study are not publicly available due [REASON WHY DATA ARE NOT PUBLIC] but are available from the corresponding author on reasonable request.
- 3. The datasets generated during and/or analysed during the current study available from the corresponding author on reasonable request.
- 4. Data sharing not applicable to this article as no datasets were generated or analysed during the current study.
- 5. All data generated or analysed during this study are included in this published article [and its supplementary information files].

More examples of template data availability statements, which include examples of openly available and restricted access datasets, are available:

#### Data availability statements

This service provides advice on research data policy compliance and on finding research data repositories. It is independent of journal, book and conference proceedings editorial offices and does not advise on specific manuscripts.

#### Helpdesk

#### AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

#### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

#### Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

#### Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

#### Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

#### Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

#### Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

#### OPEN CHOICE

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

[Open Choice](#)

#### [Copyright and license term – CC BY](#)

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

[Find more about the license agreement](#)

#### READ THIS JOURNAL ON SPRINGERLINK

[Online First Articles](#)

[All Volumes & Issues](#)

#### FOR AUTHORS AND EDITORS

2016 Impact Factor

2.365

[Aims and Scope](#)

[Submit Online](#)

[Open Choice - Your Way to Open Access](#)

[Instructions for Authors](#)

[Authorship & Disclosure Form \(pdf, 451 k...](#)

#### SERVICES FOR THE JOURNAL

[Contacts](#)

[Download Product Flyer](#)

[Shipping Dates](#)

[Order Back Issues](#)

[Article Reprints](#)

[Bulk Orders](#)

[Advertising Rate Card 2016 \(pdf, 319 kB\)...](#)

#### ALERTS FOR THIS JOURNAL

## ANEXO D – Comprovante de submissão de artigo

Em sáb, 29/7/17, Editorial Office - Clinical Rheumatology <em@editorialmanager.com> escreveu:

De: Editorial Office - Clinical Rheumatology <em@editorialmanager.com>

Assunto: Clinical Rheumatology - Submission Confirmation Adhesion Molecule Levels and Adipokines in Systemic Lupus Erythematosus: Relationships with Severity of Illness, Autoimmunity and Metabolic Syndrome for author

Para: "Lígia Grecco Costa Dall'Aqua" <ligiadallaqua@hotmail.com>

Data: Sábado, 29 de Julho de 2017, 1:30

Re: "Adhesion Molecule Levels and Adipokines in Systemic Lupus Erythematosus: Relationships with Severity of Illness, Autoimmunity and Metabolic Syndrome"

Full author list: Lígia Grecco Costa Dall'Aqua, MSc; Bruna Miglioranza Scavuzzi, MSc; Nicole Perugini Stadtlober, MSc; Lorena Flor da Rosa Franchi Santos, MSc; Poliana Macedo Guimarães, MSc; Tamires Flauzino, MSc; Marcell Alysson Batisti Lozovoy, PhD; Tatiana Mayumi Veiga Iriyoda, MD; Neide Tomimura Costa, MD; Edna Maria Vissoci Reiche, PhD; Isaias Dichi, PhD; Andréa Name Colado Simão, PhD

Dear Mrs Lígia Grecco Costa Dall'Aqua,

We have just received the submission entitled: "Adhesion Molecule Levels and Adipokines in Systemic Lupus Erythematosus: Relationships with Severity of Illness, Autoimmunity and Metabolic Syndrome" for possible publication in Clinical Rheumatology, and you are listed as one of the authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr Andréa Name Colado Simão who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office Clinical Rheumatology.