



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

SAMARA ROSA SEPRESSE

MANIFESTAÇÕES NEUROPSIQUIÁTRICAS NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO
JUVENIL: ASSOCIAÇÃO COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS,
SUBUNIDADE NR-2 DO RECEPTOR N-METIL-D-ASPARTATO, CITOCINAS E
ANTICORPO ANTI-P RIBOSSOMAL

CAMPINAS

2023

SAMARA ROSA SEPRESSE

MANIFESTAÇÕES NEUROPSIQUIÁTRICAS NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO
JUVENIL: ASSOCIAÇÃO COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS,
SUBUNIDADE NR2 DO RECEPTOR N-METIL-D-ASPARTATO, CITOCINAS E
ANTICORPO ANTI-P RIBOSSOMAL

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do
título de Mestra em Ciências na área de Saúde da Criança e do Adolescente.

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. SIMONE APPENZELLER
COORIENTADORA: DR^a. TAÍS NITSCH MAZZOLA

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA
ALUNA SAMARA ROSA SEPRESSE, E ORIENTADA PELA
PROF^a. DR^a. SIMONE APPENZELLER.

CAMPINAS

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Sepresse, Samara Rosa, 1991-
Se62m Manifestações neuropsiquiátricas no lúpus eritematoso sistêmico juvenil : associação com manifestações clínico-laboratoriais, subunidade NR-2 do receptor N-metil-D-aspartato, citocinas e anticorpo anti-P ribossomal / Samara Rosa Sepresse. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Simone Appenzeller.

Coorientador: Taís Nitsch Mazzola.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Lúpus eritematoso sistêmico juvenil. 2. Equilíbrio Th1-Th2. 3. Autoanticorpos anti-proteína P ribossomal. 4. Disfunção cognitiva. I. Appenzeller, Simone, 1974-. II. Mazzola, Taís Nitsch, 1982-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Neuropsychiatric manifestations in juvenile systemic lupus erythematosus : association with clinical-laboratory manifestations, NR-2 subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor, cytokines and anti-P ribosomal

Palavras-chave em inglês:

Lupus erythematosus, Juvenile systemic

Th1-Th2 balance

Anti-ribosomal P protein autoantibodies

Cognitive dysfunction

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Titulação: Mestra em Ciências

Banca examinadora:

Simone Appenzeller [Orientador]

Mara Sanches Guaragna

Taciana de Albuquerque Pedrosa Fernandes

Data de defesa: 15-09-2023

Programa de Pós-Graduação: Saúde da Criança e do Adolescente

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-3722-0301>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/1612994573282146>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

SAMARA ROSA SEPRESSE

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. SIMONE APPENZELLER

COORIENTADORA: DR^a. TAÍS NITSCH MAZZOLA

MEMBROS:

1. PROF^a. DR^a. SIMONE APPENZELLER

2. PROF^a. DR^a. MARA SANCHES GUARAGNA

3. PROF^a. DR^a. TACIANA DE ALBUQUERQUE PEDROSA FERNANDES

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 15/09/2023

DEDICATÓRIA

Aos meus amados sobrinhos.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ser a força que regozija o meu coração.

À minha família e noivo, pelo apoio e amor incondicional que sempre recebi para buscar meus sonhos.

À Prof^a. Dr^a. Simone Appenzeller e a Dra. Taís Nitsch Mazzola pela orientação, coorientação e incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos pacientes que tornaram possível este estudo, meus sinceros agradecimentos e admiração.

Aos funcionários e colegas do laboratório e ambulatório de Reumatologia pelo apoio, amizade e suporte técnico.

Ao programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, pelo admirável corpo docente e ensino oferecido.

À banca examinadora pela contribuição neste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Código de Financiamento 001 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Número de processo 13/07559-3.

RESUMO

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) é uma doença autoimune que pode causar comprometimento sistêmico, incluindo o sistema nervoso central (SNC). **Objetivos:** Avaliar se os níveis séricos de NR-2, (subunidade do receptor glutamatérgico N-metil-D-aspartato), citocinas e a presença de anticorpos anti-P estão associados a manifestações neuropsiquiátricas (MNP) em pacientes com LESj. **Métodos:** Foram incluídos pacientes consecutivos com diagnóstico de LESj acompanhados no ambulatório de reumatologia do Hospital de Clínicas – UNICAMP, sendo as MNP avaliadas de acordo com os critérios propostos pelo *American College of Rheumatology* (ACR). A avaliação de distúrbio cognitivo foi realizada pelo *Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics* (Ped-ANAM) e o *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA). Os sintomas de ansiedade e depressão foram avaliados pelo *Beck Anxiety Inventory* (BAI) e o *Beck's Depression Inventory* (BDI), respectivamente. A atividade da doença e o dano cumulativo foram avaliados pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI) e o *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index* (SLICC/ACR-DI), respectivamente. Os níveis séricos de NR-2 e a presença de anti-P ribossomal foram avaliados por ensaio de imunoabsorção enzimática, os níveis séricos de citocinas IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF e IFN- γ foram dosados pelo imunoensaio Luminex. **Resultados:** Foram incluídos 155 pacientes, separados em três grupos: MNP recente (com manifestação neuropsiquiátrica no momento de coleta do sangue venoso), MNP pregressa (sem MNP no momento de coleta do sangue venoso, contudo com MNP pregressa) e MNP ausente (sem a presença de MNP em nenhum momento desde o diagnóstico estabelecido). Não houve diferença quanto à idade, cor autodeclarada, escolaridade ou gênero entre os grupos. As MNP mais observadas foram sintomas de ansiedade (64,5%), depressão (45,2%), distúrbio cognitivo (27,4%) e cefaleia (11,3%). As concentrações séricas de IL-12 ($3,4 \times 3,0 \text{ pg/mL}$, $p=0,006$), IFN- γ ($12,0 \times 9,9 \text{ pg/mL}$, $p=0,012$) foram maiores no grupo MNP recente comparado ao grupo MNP ausente. Foram observadas maiores concentrações séricas de IL-4 ($36,0 \times 70,8 \text{ pg/mL}$, $p=0,036$) e IL-6 ($1,6 \times 4,4 \text{ pg/mL}$, $p=0,019$) nos pacientes sem distúrbio cognitivo. Os pacientes com distúrbio cognitivo apresentaram menor porcentagem de acerto nos subtestes do Ped-ANAM que avaliaram o tempo de reação simples ($p=0,014$) e processual ($p=0,003$), substituição de código – aprendizado ($p=0,001$), processamento espacial ($p=0,002$) e matemático ($p=0,009$), correspondendo à amostra ($p=0,014$) e pesquisa de memória ($p=0,002$), além de uma maior pontuação no *performance*

validity index (PVI), característico de distúrbio cognitivo ($p < 0,001$). Todas as dosagens de citocinas apresentaram uma correlação direta entre si. **Conclusão:** Algumas citocinas séricas, especialmente Th1, apresentaram associação em pacientes com envolvimento no SNC. Ainda, IL-12, IFN- γ e TNF podem ser considerados possíveis biomarcadores séricos para MNP no LESj.

Palavras-chave: Lúpus eritemato sistêmico juvenil; Equilíbrio Th1 e Th2; Autoanticorpos anti-proteína P ribossomal; disfunção cognitiva

ABSTRACT

Introduction: Childhood-onset systemic lupus erythematosus (cSLE) is an autoimmune disease, which causes systemic involvement, including within the central nervous system (CNS). Objective: To assess whether serum levels of the NR-2 (N-methyl-D-aspartate glutamatergic receptor subunit), cytokines and anti-ribosomal P antibodies are associated with neuropsychiatric manifestations (NPM) in patients with cSLE. **Methods:** Patients diagnosed with cSLE followed at the rheumatology outpatient clinic of the UNICAMP clinical hospital were included, with NPM being evaluated according to the criteria proposed by the American College of Rheumatology (ACR). Assessment of cognitive impairment was performed using the Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics (Ped-ANAM) and the Montreal Cognitive Assessment (MoCA). Anxiety and depression symptoms were assessed using the Beck Anxiety Inventory (BAI) and the Beck's Depression Inventory (BDI), respectively. Disease activity and cumulative damage were assessed by the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) and the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR Damage Index (SLICC/ACR-DI), respectively. Serum levels of NR-2 and the presence of ribosomal anti-P were evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, while serum levels of cytokines IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF and IFN- γ were measured by the Luminex immunoassay. **Results:** 155 patients were included, divided into three groups: recent NPM (with neuropsychiatric manifestations at the time of venous blood collection), previous NPM (without NPM during the time of venous blood collection, however with previous NPM) and absent NPM (without the presence of NPM at any time since the diagnosis of cSLE). There was no difference regarding age, self-declared color, schooling or gender between groups. The most observed NPM were anxiety (64.5%), depression (45.2%), cognitive impairment (27.4%) and headache (11.3%). Serum concentrations of IL-12 (3.4×3.0 pg/mL, $p=0.006$), IFN- γ (12.0×9.9 pg/mL, $p=0.012$) were higher in the recent NPM group when compared to the absent NPM group. Furthermore, higher serum concentrations of IL-4 (36.0×70.8 pg/mL, $p=0.036$) and IL-6 (1.6×4.4 pg/mL, $p=0.019$) in patients without cognitive impairment. Patients with cognitive disorders had lower percentages of correct answers in the ANAM subtests that assessed simple ($p=0.014$) and procedural ($p=0.003$) reaction time, code substitution - learning ($p=0.001$), spatial processing ($p=0.002$) and mathematical ($p=0.009$), corresponding to the sample ($p=0.014$) and memory research ($p=0.002$), in addition to the highest score in the performance validity index (PVI), characteristic of the cognitive disorder ($p<0.001$). All cytokine dosages showed a direct correlation with each other. **Conclusion:** Some

serum cytokines, especially Th1, were associated to cSLE patients with CNS involvement. Furthermore, IL-12, IFN- γ and TNF can be considered possible serum biomarkers for NPM in cSLE.

Keywords: Lupus erythematosus Juvenile Systemic; Th1-Th2 balance; Anti-ribosomal P protein autoantibodies; Cognitive dysfunction

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Critérios revisados para a classificação de LES (1997)	20
Quadro 2: Revisão dos critérios classificatórios para o diagnóstico de LES (2012)	21
Quadro 3: Revisão dos critérios classificatórios para o diagnóstico de LES (2019)	22
Quadro 4: Manifestações neuropsiquiátricas observadas no LES	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados sociodemográficos dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente	46
Tabela 2: Idade de início e tempo de doença, presença de atividade e dano dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente	47
Tabela 3: Manifestações clínico-laboratoriais e tratamento dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente	49
Tabela 4: Concentrações séricas de citocinas e NR-2 dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente	51
Tabela 5: Concentração de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de ansiedade e depressão nos pacientes com LESj	52
Tabela 6: Citocinas, NR-2, subtestes e índices de validade de desempenho do ANAM de acordo com a presença ou ausência de distúrbio cognitivo nos pacientes com LESj	54
Tabela 7: Correlação entre as concentrações séricas de citocinas nos pacientes com LESj ...	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aCL: Anticorpo anticardiolipina

ACR: Colégio Americano de Reumatologia (*American College of Rheumatology*)

aPL: Anticorpo antifosfolípide

Anti-dsDNA: Anticorpo anti-DNA de cadeia dupla

Anti-P: Anticorpo anti-P ribossomal

Aza: Azatioprina

LA: Anticorpo anticoagulante lúpico

Anti-Sm: Anticorpo anti-Smith

AVC: Acidente vascular cerebral

BAI: Inventário de Ansiedade de Beck (*Beck's Anxiety Inventory*)

BDI: Inventário de Depressão de Beck (*Beck's Depression Inventory*)

BHE: Barreira hematoencefálica

CFM: Ciclofosfamida

CPS: Pontuação do Desempenho Cognitivo (*Cognitive Performance Score*)

Csa: Ciclosporina

C3: Complemento C3

C3H/HeJ: Linhagem de camundongos isogênicos

C4: Complemento C4

CH50: Complemento CH50

DP: Desvio padrão

ELISA: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

FAN: Fator antinuclear

FCM: Faculdade de Ciências Médicas

GC: Glicocorticóide

HAS: Hipertensão arterial sistêmica

HC: Hospital de Clínicas

HCQ: Hidroxicloroquina

HRP: Enzima horseradish peroxidase

IL-4: Interleucina 4

IL-6: Interleucina 6

IL-10: Interleucina 10

IL-12: Interleucina 12

IFN-gama: Interferon gama

IgG: Imunoglobulina G

IgM: Imunoglobulina M

LES: Lúpus eritematoso sistêmico

LESa: Lúpus eritematoso sistêmico de início adulto

LESj: Lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil

LESNP: Lúpus eritematoso sistêmico neuropsiquiátrico

LUES: Exame laboratorial para pesquisa de neurosífilis

mmHg: Milímetros de mercúrio

MMF: Micofenolato de mofetila

MMS: Micofenolato de sódio

MNP: Manifestação neuropsiquiátrica (*Neuropsychiatric manifestation*)

MoCA: Avaliação Cognitiva de Montreal (*Montreal Cognitive Assessment*)

MTX: Metotrexato

NM: Nanômetro

NMDA: Receptor N-metil-D-aspartato

NR2: Subunidade 2 do NMDA

NR2-a: Subunidade 2-a do NMDA

NR2-b: Subunidade 2-b do NMDA

PBS: Tampão fosfato-salino (*Phosphate-buffered saline*)

Ped-ANAM: Métricas de Avaliação Neuropsicológica Automatizada Pediátrica (*Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics*)

Ped-ANAM-CPS_{logit}: Método de Regressão Logística (*Logistic Regression Method*)

Ped-ANAM-CPS_{multiscore}: Método de Regressão Logística Multiscore (*Multiscore Logistic Regression Method*)

Ped-ANAM-CPS_{pca}: Método de Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis Method*)

Ped-ANAM-CPS_{uwa}: Método de Média não ponderada (*Unweighted Average Method*)

PG: Picograma

PVI: Índice de Validade do Desempenho (*Performance Validity Index*)

RM: Ressonância magnética

SAM: Serviço de arquivo médico

SDI: *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index*

SLE: Lúpus Eritematoso Sistêmico (*Systemic lupus erythematosus*)

SLEDAI: Índice de Atividade da Doença Lúpus Eritematoso Sistêmico (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*)

SLICC/ACR (DI): Clínicas Colaboradoras Internacionais de Lúpus Sistêmico (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology Damage Index*)

SN: Sistema nervoso

SNC: Sistema nervoso central

SNP: Sistema nervoso periférico

SPSS: Soluções Estatísticas de Produtos e Serviços (*Statistical Product and Service Solutions*)

TALE: Termo de Assentimento livre e esclarecido

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

TMB: Tetrametilbenzidina

TNF: Fator de necrose tumoral

UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas

xMAP: Imunoensaio multiplex (*Luminex xMAP*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 Lúpus eritematoso sistêmico juvenil	19
1.2 Epidemiologia	19
1.3 Diagnóstico	19
1.3.1 Critérios classificatórios (1982 – 1997)	19
1.3.2 Nova proposta classificatória (2012)	20
1.3.3 Nova proposta classificatória (2019)	22
1.4 Manifestações laboratoriais no LESj	23
1.4.1 Avaliação de manifestações clínico-laboratoriais no LESj	26
1.4.2 Patogênese do lúpus neuropsiquiátrico	28
1.4.3 Tratamento do lúpus neuropsiquiátrico	30
1.5 Biomarcadores do lúpus neuropsiquiátrico	31
2. JUSTIFICATIVA	32
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Desenho do estudo	33
4.2 Seleção dos pacientes	33
4.3 Critérios de não inclusão	33
4.4 Aspectos éticos do estudo	33
4.5 Análise clínica-laboratorial	34
4.6 Análise de atividade de doença e dano cumulativo	35
4.7 Avaliação neurológica	35
4.7.1 Avaliação dos transtornos do humor e ansiedade	36
4.7.2 Avaliação cognitiva	36
4.8 Tratamento	38
4.9 Coleta de sangue venoso	38

4.10 Determinação dos níveis séricos de NR-2	38
4.10.1 <i>Técnica de ELISA</i>	39
4.10.1.1 <i>Preparo de reagentes</i>	39
4.10.1.2 <i>Procedimento</i>	39
4.10.1.3 <i>Obtenção de resultados</i>	40
4.11 Determinação dos níveis séricos das citocinas Th1 e Th2	40
4.11.1 <i>Técnica de Imunoensaio Luminex</i>	41
4.11.1.1 <i>Preparo de reagentes</i>	41
4.11.1.2 <i>Procedimento</i>	41
4.11.1.3 <i>Obtenção de resultados</i>	43
4.12 Determinação dos níveis séricos de anti-P	43
4.12.1 <i>Técnica de ELISA</i>	43
4.12.1.1 <i>Preparo de reagentes</i>	43
4.12.1.2 <i>Procedimento</i>	45
4.12.1.3 <i>Obtenção de resultados</i>	45
4.13 Análise estatística	45
5. RESULTADOS	45
5.1 Dados sociodemográficos	45
5.2 Idade de início e tempo de doença, pontuação de atividade e dano cumulativo	46
5.3 Manifestações clínico-laboratoriais e tratamento	48
5.4 Concentrações séricas de citocinas e NR-2	51
5.5 Concentrações séricas de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de ansiedade e depressão	51
5.6 Concentrações séricas de citocinas, NR-2, subtestes do ANAM e índices de validade de desempenho de acordo com a presença ou ausência de distúrbio cognitivo	53
5.7 Correlação de citocinas e NR-2 nos pacientes	56
6. DISCUSSÃO	58
7. CONCLUSÃO	65
8. REFERÊNCIAS	66
9. APÊNDICE	84
9.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (18 anos)	84
9.2 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (7 a 10 anos)	89

9.3 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (11 a 14 anos)	92
9.4 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (15 a 17 anos)	95
9.5 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (Responsável legal)	99
10. ANEXOS	104
10.1 Parecer Consubstanciado do CEP	104
10.2 Verificação de plágio	116
10.3 Índice de Atividade da Doença Lúpus Eritematoso Sistêmico (<i>SLEDAI 2K</i>)	117
10.4 Índice de Danos do Colégio Americano de Reumatologia (<i>ACR-DI</i>) (<i>SDI</i>)	119
10.5 Inventário de Depressão de Beck (<i>BDI</i>)	121
10.6 Inventário de Ansiedade de Beck (<i>BAI</i>)	123
10.7 Avaliação Cognitiva de Montreal (<i>MoCA</i>)	124

1. INTRODUÇÃO

As doenças reumáticas pediátricas, dentre as quais está o lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj), são consideradas raras; entretanto sua elevada morbidade e impacto sobre a qualidade de vida refletem nos pacientes e seus familiares¹.

1.1 Lúpus eritematoso sistêmico juvenil

O LESj é uma doença de natureza autoimune, multissistêmica, caracterizada por períodos de remissão e exacerbação, com intensa participação do sistema imunológico^{2,3}. Por tratar-se de uma doença de herança multifatorial, pode ser desencadeada por fatores genéticos, ambientais e hormonais³.

A maioria dos estudos define o LESj como todo caso cujo o diagnóstico tenha sido estabelecido até os 16 anos de idade^{4,5}. No ano de 2012 houve uma nova definição, instituindo o LESj para indivíduos com início dos sintomas em idade inferior a 18 anos de idade^{6,7}.

1.2 Epidemiologia

Assim como no lúpus de início adulto, relata-se uma frequência maior de LESj em populações não-brancas, especialmente hispânicos, afro-americanos, afro-caribenhos, nativos americanos e asiáticos comparando-se a populações brancas⁸.

A incidência estimada é de 0,36-2,5 por 100.000 crianças/ano com prevalência de 1,89-34,1 por 100.000 crianças, variando de acordo com a região estudada^{8,9}.

O diagnóstico durante a infância ocorre em aproximadamente 15-20% dos casos⁹, com uma relação entre mulheres e homens de 4-5:1¹⁰.

1.3 Diagnóstico

1.3.1 Critérios classificatórios (1982 – 1997)

Não existe um critério diagnóstico clínico ou laboratorial para o LESj, contudo, há tentativas em adaptar-se os critérios diagnósticos do lúpus de início adulto em pacientes juvenis¹¹.

Após cuidadosa investigação clínica com exclusão de causas secundárias, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR) elaborou em 1982 os primeiros critérios classificatórios para a doença¹², sendo revisados posteriormente em 1997, com intuito do uso em estudos epidemiológicos e ensaios clínicos, segundo os quais são necessários preencher no mínimo quatro critérios clínicos e/ou laboratoriais dentre os onze critérios classificatórios elaborados¹³ (Quadro 1).

Quadro 1: Critérios revisados para a classificação de LES (1997).

Critérios clínicos e laboratoriais de classificação
1. Eritema malar: Eritema plano, fixo ou elevado sobre as eminências malares e/ou pregas nasolabiais.
2. Lesão discoide: Placas eritematosas elevadas e circulares, com descamação ceratótica e crostículas aderente, que evoluem com cicatriz atrófica e discromia.
3. Fotossensibilidade: Eritema cutâneo, podendo ser maculopapular, resultado de exposição à luz solar.
4. Úlcera oral: Ulceração oral e/ou em nasofaringe, geralmente indolores.
5. Artrite: Não erosiva em duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular.
6. Serosite: Pleurite (caracterizada por histórico convincente de dor pleurítica, atrito ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentada por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico).
7. Nefrite: Proteinúria >0,5g/24h constatada em pelo menos três momentos ou alterações no sedimento urinário hematuria dismórfica, cilindros celulares e leucocitúria (com ausência de quadro infeccioso).
8. Distúrbio neuropsiquiátrico: Convulsão e/ou psicose na ausência de quadro infeccioso, alteração metabólica ou medicamentosa.
9. Alteração hematológica: Anemia autoimune e hemolítica, bilirrubinemia indireta, LDH elevada, teste de <i>Coombs</i> direto positivo com reticulocitose ou leucopenia (menor que 4.000 cel/mm ³) em pelo menos dois momentos; ou linfopenia (menor que 1.500 cel/mm ³) ou plaquetopenia (menor que 100.000 cel/mm ³) na ausência de alteração medicamentosa.
10. Alteração imunológica: Anticorpos anti-DNA de cadeia dupla (anti-dsDNA), anticorpos contra o antígeno-nuclear (ANA), anticorpos antifosfolípides (aPL) anticardiolipina (aCL) IgM/IgG; anticoagulante lúpico (LA) ou exame para sífilis <i>Lues+</i> falso positivo, confirmado por exame de imunofluorescência por pelo menos seis meses.
11. Fator antinuclear: Titulação anormal de anticorpo antinuclear (FAN) $\geq 1:80$, confirmado por exame de imunofluorescência indireta e/ou ensaio equivalente constatado em qualquer momento, na ausência de alteração medicamentosa.

Fonte: Hochberg¹³, 1997, p. 1725.

1.3.2 Nova proposta classificatória (2012)

No ano de 2012, os critérios classificatórios para o diagnóstico de LES foram revisados, aumentando sua sensibilidade quando comparado aos critérios de 1997 e mantendo-se igual especificidade¹⁴. Dezesete critérios (onze clínicos e seis imunológicos) foram validados, sendo necessária a presença no mínimo de quatro parâmetros, com ao menos um critério imunológico e um clínico; ou biópsia renal que comprove nefrite lúpica com anticorpo antinuclear (FAN) ou anticorpo anti-DNA de cadeia dupla (anti-dsDNA) positivo (Quadro 2).

Quadro 2: Revisão dos critérios classificatórios para o diagnóstico de LES (2012).

Critérios Clínicos
1. Lúpus cutâneo agudo: <i>rash</i> malar (com ausência de lúpus discoide malar), lúpus bolhoso, necrólise epidérmica tóxica variante de LES, <i>rash</i> maculopapular, fotossensibilidade (ausência de dermatomiosite), lúpus cutâneo subagudo (lesões psoriasiformes não endurecidas ou lesões anulares policíclicas que solucionam sem cicatriz, apesar de ocasionalmente ocorrer despigmentação pós-inflamatória ou telangectasias).
2. Lúpus cutâneo crônico: <i>rash</i> discoide clássico (localizado acima do pescoço, generalizado localizado acima e abaixo do pescoço), lúpus hipertrófico (verrucoso), paniculite lúpica (profunda), lúpus mucoso, lúpus tímido, eritema péneo, lúpus discóide /overlap com líquen plano.
3. Úlceras orais: em palato, bucal, língua e úlceras nasais na ausência de vasculite, síndrome de Behçet, infecções (herpes), doença inflamatória intestinal, artrite reativa e alimentos ácidos.
4. Alopecia: afilamento difuso ou fragilidade capilar com cabelos quebradiços visíveis na ausência de alopecia areata, drogas, deficiência de ferro e alopecia androgênica.
5. Sinovite: acometendo duas ou mais articulações, com edema ou derrame articular ou artralgia em duas ou mais articulações e rigidez matinal de 30 minutos ou mais.
6. Serosite: dor pleurítica por mais de um dia ou derrame pleural ou atrito pleural, dor pericárdica típica (dor em posição deitada que melhora ao se sentar com o tronco para frente) por mais de um dia ou efusão pericárdica ou atrito pericárdico ou eletrocardiograma com sinais de pericardite com ausência de infecções, uremia ou pericardite de Dressler.
7. Renal: relação entre proteína e creatinina urinárias (ou proteinúria de 24 horas) com mais de 50/mg de proteína em 24 horas ou cilindros hemáticos.
8. Neurológico: convulsão, psicose, mielite, mononeurite múltipla (na ausência de vasculite primária), neuropatia periférica ou de nervos cranianos (na ausência de vasculite primária, infecção e diabetes melitus), estado confusional agudo (na ausência de causas tóxico-metabólicas, uremia e drogas).
9. Anemia hemolítica
10. Leucopenia: <4000/mm ³ : na ausência de outra causa conhecida como Síndrome de Felty, drogas ou hipertensão portal. Linfopenia: <1000/mm ³ : na ausência de corticoides, drogas e infecções.
11. Trombocitopenia: <100.000/mm ³ : na ausência de drogas, hipertensão portal e púrpura trombocitopênica trombótica.
Critérios Imunológicos
1. Fator antinuclear (FAN) positivo.
2. Anticorpo anti-DNA de cadeia dupla (anti-dsDNA) positivo: duas vezes acima do valor de referência.
3. Anticorpo <i>anti-Smith</i> (anti-SM) positivo.

4. Anticorpos antifosfolípidos (aCL, LA e anti-β2GP1).
5. Complemento reduzido: C3 baixo, C4 baixo ou CH50 baixo.
6. Teste de <i>Coombs</i> direto positivo: na ausência de anemia hemolítica.

Fonte: Petri¹⁴, 2012, p. 2677.

1.3.3 Nova proposta classificatória (2019)

No ano de 2019, os critérios classificatórios para o diagnóstico de LES foram novamente revisados, sendo definindo como critério de entrada obrigatório a positividade do anticorpo antinuclear (FAN), com titulação $\geq 1:80$. Os critérios foram agrupados em dez domínios; sendo sete clínicos e três imunológicos¹⁵ (Quadro 3).

Quadro 3: Revisão dos critérios classificatórios para o diagnóstico de LES (2019).

Critério de Entrada			
Fator antinuclear (FAN) com um título $\geq 1:80$ em células Hep-2 ou teste positivo equivalente			
↓			
Caso ausente, não classifique como Lúpus Eritematoso Sistêmico Caso presente, aplique critérios aditivos			
↓			
Critérios aditivos			
Não contabilize um critério se houver uma explicação mais provável que o LES. A ocorrência de um critério em pelo menos uma ocasião é suficiente. A classificação do LES requer pelo menos um critério clínico e ≥ 10 pontos. Os critérios não precisam ocorrer simultaneamente. Dentro de cada domínio, apenas o critério ponderado maior é contado para a pontuação total.			
Domínios e critérios clínicos	Peso	Domínios e critérios imunológicos	Peso
Constitucional		Anticorpos antifosfolípidos (aPL)	
Febre	2	Anticardiolipina (aCL)	
		Anti-β2GP1	
		Anticoagulante lúpico (LA)	2
Hematológico		Proteínas de Complemento	
Leucopenia	3	C3 baixo ou C4 baixo	3
Trombocitopenia	4	C3 e C4 baixo	4
Hemólise autoimune	4		
Neuropsiquiátrico		Anticorpos específicos para LES	
Delírio	2	Anticorpo anti-dsDNA ou	
Psicose	3	Anticorpo <i>anti-Smith</i>	6
Convulsão	5		
Mucocutâneo			
Alopecia sem cicatriz	2		
Úlcera oral	2		
Lúpus cutâneo ou discoide subagudo	4		
Lúpus cutâneo agudo	6		
Serosal			

Derrame pleural ou pericárdico	5	
Pericardite aguda	6	
Músculoesquelético		
Envolvimento articular	6	
Renal		
Proteinúria >0,5g/24h	4	
Biópsia renal nefrite lúpica II ou V	8	
Biópsia renal nefrite lúpica III ou IV	10	

Pontuação Final:



Classifique como Lúpus Eritematoso Sistêmico com uma pontuação de 10 ou mais se o critério de entrada for cumprido

Fonte: Aringer¹⁵, 2019, p. 1400.

O diagnóstico de LES, necessita de pelo menos um critério clínico somado a uma pontuação ≥ 10 pontos. Além disso, o critério deve ser atribuído somente caso não haja nenhuma outra explicação mais provável que o LES; e por fim o critério clínico de maior peso atribuído ao domínio correspondente, deverá ser somado à pontuação total.

1.4 Manifestações clínico-laboratoriais no LESj

As manifestações clínicas iniciais cursam geralmente com manifestações mais constitucionais, articulares e cutâneas. A febre, a fadiga e a perda de peso são as manifestações mais comumente observadas logo no início do diagnóstico, porém são sintomas inespecíficos para a doença, sendo de extrema importância a exclusão de causas secundárias para estabelecer o diagnóstico⁸.

As manifestações mucocutâneas apresentam-se de diferente formas, podendo ser desde agudas como *rash* malar e fotossensibilidade, subagudas como o lúpus eritematoso cutâneo subagudo a crônicas¹⁶. A manifestação cutânea mais clássica e sugestiva, porém inespecífica é o exantema malar com distribuição em “asa de borboleta” pelas proeminências nasais e malaras, preservando as pregas nasolabiais¹⁷.

A fotossensibilidade acomete comumente a face, pescoço, braços e pernas, estando presente em mais de 50% dos casos, sendo desencadeada pela exposição à

radiação UVB; além disso, observa-se o aparecimento de vasculites em região tenar e hipotênar, extremidades dos dedos e região plantar¹⁸.

A alopecia não cicatricial, especialmente em região frontal, pode ser comumente observada, diferentemente do lúpus de início adulto¹⁹. Outras manifestações incluem úlceras de mucosa, especialmente bucal e de palato superior, urticárias em extremidades, lesões vesico-bolhosas e fenômeno de Raynaud²⁰.

As manifestações musculoesqueléticas em articulações, músculos e ossos estão presentes em mais de 80% dos casos, com a presença de artralguas, tenossinovites e artrites, especialmente poliartrites simétricas; em pequenas articulações, dolorosas, sem erosão de pele e achados radiológicos²⁰, além disso, quadros de miosite podem ser comumente observados no período em que a doença inicia sua atividade sistêmica¹⁶.

As manifestações hematológicas podem ser observadas em 76-90% dos casos, cursando geralmente com a presença de anemia por doença crônica; de característica normocítica e normocrômica, correlacionada ao aumento de citocinas, seguida de plaquetopenia, leucopenia e linfopenia²¹, sendo a citopenia e a anemia hemolítica *coombs* positiva as manifestações hematológicas mais comumente observadas nos pacientes⁸.

As manifestações renais costumam ser precoces (nos primeiros dois anos de doença) presente em 60% dos casos¹⁶, podendo ser a única manifestação em cerca de dois terços dos pacientes e um indicador de mau prognóstico; incluem hematúria, leucocitúria e proteinúria, além de quadros mais graves como insuficiência renal crônica terminal²⁰.

As manifestações vasculares, especialmente os quadros de trombose em membros inferiores ou no sistema nervoso central, podem estar associadas com o LESj, com risco variável de 0-24% em crianças¹⁸; devendo ser investigado rotineiramente a positividade de anticorpos antifosfolípides (aPL) como anticardiolipina (aCL) e/ou anticoagulante lúpico (LA), sendo comumente associados a quadros de trombose venosa, caracterizando a síndrome antifosfolípide¹⁶.

As manifestações pulmonares, iniciam-se logo no começo, estando presente em até 50% dos casos, com quadros de pleurite, raramente pneumonia intersticial, hipertensão e hemorragia pulmonar¹⁶. A pleurite pode ser observada em 10% dos casos; com achados radiológicos ou atrito pleural, o derrame pleural pode ser observado em 60% dos casos, sendo comumente pequeno, acometendo um dos pulmões¹⁸.

As manifestações cardíacas podem ser observadas em 50% dos casos; incluem pericardite sendo a manifestação mais frequente, seguida de miocardite, endocardite, envolvimento valvar (especialmente mitral) e coronariopatia²⁰.

A adenomegalia local ou difusa ocorre em cerca de 50% dos casos¹⁶, a hepatomegalia e a esplenomegalia, que apesar de apresentarem um curso leve a moderado, estão presentes em torno de 30-40% dos casos^{16,18}.

O termo lúpus neuropsiquiátrico, foco deste trabalho, diz respeito à presença de envolvimento neuropsiquiátrico primário no lúpus; com uma prevalência pouco conhecida no LESj, pôde ser estimado em 20-90% dos casos^{23,24,25}. Representa um desafio em termos de diagnóstico, devido à necessidade em diferenciar a doença ativa no sistema nervoso central, periférico e autônomo de possíveis causas secundárias como a síndrome antifosfolípide, infecções agudas ou crônicas, distúrbios metabólicos, medicamentos, hipertensão arterial sistêmica (HAS), *diabetes mellitus* e doenças neuropsiquiátricas primárias²². Logo, o desenvolvimento de uma nomenclatura padrão e a definição de dezenove manifestações neuropsiquiátricas observadas fizeram-se necessários para auxiliar o clínico frente ao diagnóstico desafiador²⁶ (Quadro 4).

Quadro 4: Manifestações neuropsiquiátricas observadas no LES

Sistema Nervoso Central
1. Cefaleia: incluindo enxaqueca e hipertensão intracraniana benigna
2. Doença cerebrovascular
3. Síndrome desmielinizante
4. Meningite asséptica
5. Distúrbio do movimento (Coreia)
6. Mielopatia
7. Convulsão
8. Estado confusional agudo
9. Transtorno de ansiedade
10. Disfunção cognitiva
11. Depressão
12. Psicose
Sistema Nervoso Periférico
1. Polirradiculoneuropatia desmielinizante inflamatória aguda (Síndrome de <i>Guillain-Barré</i>)
2. Distúrbio autonômico
3. Mononeuropatia (simples ou múltipla)
4. <i>Miastenia gravis</i>
5. Neuropatia craniana
6. Plexopatia
7. Polineuropatia

Fonte: ACR Ad Hoc Committee on Neuropsychiatric Lupus, 1999, p. 599.

A cefaleia, a doença cerebrovascular, os transtornos de humor e a convulsão são as manifestações neuropsiquiátricas mais comumente observadas logo no início do diagnóstico ou durante o primeiro ano de doença^{27,28,29}, bem como as alterações cognitivas, que podem ser observadas em 20-60% dos casos, especialmente no LESj³⁰, tendo por definição a presença de déficits significativos em algumas funções cognitivas como raciocínio, atenção (simples ou complexa), habilidades executivas, processamento visuoespacial, velocidade psicomotora, memória e por último linguagem²⁶.

As manifestações neuropsiquiátricas relacionadas ao sistema nervoso periférico representam outro grande desafio em termos de diagnóstico, por não serem reconhecidas em sua maioria como associadas diretamente ao lúpus³¹. Alguns fatores predisponentes são amplamente descritos como a formação de imunocomplexos, a presença de vasculite cutânea em pequenos vasos, anticorpos, citocinas e a hiperfunção de linfócitos B³².

1.4.1 Avaliação de manifestações clínico-laboratoriais no LESj

A avaliação de manifestações laboratoriais contribui para a precisão do diagnóstico, visto que somente através do quadro clínico do paciente associado a exames laboratoriais e sorológicos específicos, um diagnóstico definitivo poderá ser estabelecido³³. Logo, uma variedade de exames laboratoriais são requeridos, buscando avaliar todo o sistema orgânico; incluindo análise hematológica, urinária, renal, hepática e imunológica⁸.

As células sanguíneas podem ser afetadas, de forma que um simples exame hematológico como o hemograma traz parâmetros essenciais que ajudam não somente no diagnóstico bem como no tratamento³³, a presença de linfopenia (<1500 células/mm³) e leucopenia (<4000 células/mm³) apresentam associação com a doença ativa³⁴, especialmente em crianças e adolescentes^{8,35,36}; a anemia hemolítica autoimune e a trombocitopenia imune podem ser observadas em 15-20% dos casos, podendo ser inclusive a manifestação inicial^{34,36,37,38}.

As análises urinárias permitem a investigação de possíveis alterações renais como hematúria, leucocitúria, cilindros urinários e por último proteinúria, sendo esta a manifestação renal mais comumente observada em 46% dos casos^{36,39}, além disso, o

exame de elementos anormais do sedimento (EAS) torna-se essencial tendo em vista a frequência de proteinúria e morbidade associada a quadros de glomerulonefrite, devendo ser repetido periodicamente, a fim de detectar a doença renal inicial¹⁸.

As análises sorológicas ajudam não somente no diagnóstico bem como para avaliar a presença de doença ativa. Por sua sensibilidade, o teste de fator antinuclear (FAN) tem sido considerado uma prova de triagem útil para pesquisa de doenças autoimunes, especialmente no LESj, sendo atualmente definido como critério de entrada obrigatório¹⁵, principalmente quando as crianças apresentam clínica sugestiva, porém continua sendo um teste extremamente inespecífico, por positivar em outras doenças, de acordo com o padrão apresentado. Logo, ao apresentar resultado negativo o paciente tem 0,14% de probabilidade a doença, porém ao apresentar resultado positivo a investigação de anticorpos anti-dsDNA e proteínas ligadas ao RNA nuclear como anti-Sm; anti-RNP; anti-Ro/SSA e anti-La/SSB, tornam-se essenciais²⁰; as manifestações cutâneas e musculoesqueléticas, especialmente no LESj apresentam correlação com os anticorpos anti-Ro/SSA e anti-La/SSB⁴⁰.

No lúpus o padrão periférico é o mais específico, sugerindo a presença de anticorpos anti-dsDNA; o homogêneo a presença de anticorpos anti-histonas e a formação de células LE; o salpicado frequentemente observado porém o menos específico para a doença; e por último o nucleolar comumente observado em doenças do tecido conjuntivo⁴¹, sendo reproduzido à partir de células derivadas de carcinoma do epitélio laríngeo humano (HEp-2); por método de imunofluorescência indireta (IFI)⁴².

Anticorpos anti-Sm são altamente específicos para a doença, e auxiliam dessa forma para um diagnóstico mais preciso, podendo ser observado em 15-30% dos casos⁴². Os anticorpos anti-dsDNA apresentam associação com a doença ativa e nefrite em 75% dos casos, além de ser um forte preditor de reatutização (*flares*) dos sintomas^{8,36,43}; temos ainda, outros anticorpos que podem ser investigados como os anticorpos antifosfolípides (aPL): anticoagulante lúpico (LA), anticardiolipina (aCL) e anti- β 2 glicoproteína I frações IgM e IgG, que precisam ser investigados quando houver a suspeita de lúpus⁴³, além de apresentarem maior risco de trombose^{43,44,45} e morbidade nos pacientes^{46,47}.

A determinação dos níveis séricos de proteínas do sistema complemento como C3, C4 e CH50 torna-se útil no diagnóstico e na avaliação da presença de doença ativa³³.

A avaliação de manifestações neuropsiquiátricas baseia-se em uma avaliação clínica com testes neuropsicológicos, técnicas laboratoriais e exames de neuroimagem, que avaliados em conjunto podem apoiar ou não o diagnóstico clínico final^{48,49}, sobretudo, a experiência clínica do médico torna-se essencial, por não haver um padrão diagnóstico para o lúpus neuropsiquiátrico, sendo o mesmo realizado à partir de critérios de exclusão de acordo com a clínica apresentada⁵⁰.

1.4.2 Patogênese do lúpus neuropsiquiátrico

A literatura descreve a existência de dois principais mecanismos envolvidos para a patogênese do lúpus neuropsiquiátrico, sendo o primeiro vascular e o segundo neuroinflamatório^{51,52,53}, com a participação de autoanticorpos anti-fosfolípidés, imunocomplexos e citocinas periféricas, sendo descritas como importantes mediadores patogênicos no lúpus neuropsiquiátrico^{54,55,56,57}.

Algumas citocinas produzidas por linfócitos T *helper* (CD4+) regulam a função do sistema imune, sendo funcionalmente agrupadas em citocinas Th1 e Th2⁵⁸, o lúpus é considerada uma doença conduzida por citocinas Th2^{59,60}, devido a superexpressão de citocinas Th2, como interleucinas 4 (IL-4), IL-6, IL-8, IL-10^{60,61,62,63}.

As principais citocinas associadas à imunidade celular são IL-12, IFN- γ e TNF- α ⁶⁴; no lúpus foi demonstrada uma associação entre a elevação dos níveis séricos de IL-12 com nefrite e dano cumulativo^{65,66}, além de uma tendência à diminuição dos níveis de IFN- γ em pacientes que apresentaram doença ativa⁶⁷. Outro estudo demonstrou que pacientes que positivaram para o anticorpo anti-P ribossomal, apresentaram níveis elevados de IL-12; sugerindo que os anticorpos poderiam modular a resposta imune dos pacientes⁶⁸. Além disso, níveis séricos elevados de TNF- α apresentaram associação com doença inativa, em comparação a pacientes com doença ativa e controles saudáveis; sugerindo que, TNF- α poderia representar um papel protetor nos pacientes⁶⁴.

As principais citocinas associadas à produção de anticorpos e a indução de imunidade humoral são a IL-4, IL-6 e IL-10⁶⁴; no lúpus foram observados níveis elevados de IL-4, além de uma correlação positiva entre os níveis de IL-18 e a presença de doença ativa⁶⁹; no entanto, estudos que avaliem a associação de IL-4 à manifestações clínico-laboratoriais continuam escassos. A IL-6 demonstrou elevação dos níveis líquidos em

pacientes com manifestações neurológicas centrais e periféricas, no entanto, os níveis séricos apresentaram variações⁷⁰; outro estudo mais recente, demonstrou-se uma elevação dos níveis séricos e líquóricos de IL-6 em pacientes com estado confusional agudo⁷¹; no lúpus pôde ser observado níveis elevados de IL-10^{72,73,74}, além de uma correlação positiva com as pontuações do SLEDAI^{73,75,76}; outro estudo observou sua associação com a presença de anticorpos anti-dsDNA⁷².

No lúpus, como mencionado, ocorre uma ativação exacerbada de células B e T autorreativas, levando a síntese de autoanticorpos e citocinas; que por sua vez causam lesões teciduais principalmente no cérebro^{77,78,79,80}, sobretudo, após confirmarem a presença de tais autoanticorpos no soro, líquido e tecido neuronal *post mortem* de pacientes com lúpus, tornando evidente a sua contribuição para a patogênese de manifestações neuropsiquiátricas⁸¹.

Nos últimos anos, esforços tem sido realizados com o objetivo de caracterizar antígenos ao qual se dirigem os anticorpos antineuronais no lúpus⁸¹, trazendo evidências sobre a ação de autoanticorpos contra o receptor glutamatérgico N-metil-D-aspartato (NMDAR), o qual desempenha um importante papel em funções fisiológicas essenciais como plasticidade neuronal, aprendizado e memória⁸². No lúpus, pôde ser observado níveis elevados de anticorpos contra a subunidade NR-2 do NMDA-R em pacientes com convulsão e distúrbio cognitivo, especialmente decréscimos no funcionamento motor e processamento visoespacial^{83,84}, no entanto, não há relato em literatura de medidas no sangue periférico do receptor e suas subunidades no lúpus, com exceção de dois estudos, o primeiro que demonstrou uma elevação sérica de NR-2; associando-a como possível biomarcador de acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi), atribuindo os níveis séricos elevados à gravidade da lesão neuronal, sendo o tecido lesionado a origem de NR-2 circulante⁸⁵. O segundo, demonstrando haver uma diminuição sérica de ambas as subunidades NR2-a/b em pacientes com primeiro episódio psicótico (PEP)⁸⁶.

Outro anticorpo, o anti-P ribossomal tem sido fortemente associado com o lúpus neuropsiquiátrico, especialmente com manifestações neurológicas centrais como psicose e transtorno do humor^{87,88,89}, além de nefrite e hepatite autoimune^{90,91}. No entanto, estudos que investiguem a associação de anticorpos anti-P à manifestações neuropsiquiátricas no LESj são escassos, em um estudo recente pôde ser observado uma maior frequência de anti-P em pacientes juvenis comparados a pacientes adultos; além

disso, as únicas manifestações clínicas associadas a presença de anti-P foram alopecia e *rash* cutâneo (não discoide)⁹², em outro estudo pôde ser observado uma prevalência de 20%, além de associação entre os níveis elevados de anti-P distinguindo a psicose associada ao lúpus de psicose primária, porém os níveis de anti-P não foram específicos para psicose no LESj⁹³. A prevalência de anti-P no LESj foi significativamente maior quando comparada com o lúpus de início adulto, sendo em torno de 7,7-42% respectivamente. Além disso, os níveis de anti-P apresentaram variações quanto à presença de doença ativa e curso clínico de doença, muitas vezes em concordância com os níveis de anti-dsDNA, sendo fortemente associados à nefrite⁹⁴, em outro estudo pôde ser observada uma frequência maior de anti-P em pacientes com ansiedade quando comparados a pacientes sem ansiedade, no entanto, nenhuma outra manifestação clínico-laboratorial apresentou associação com o anti-P⁹⁵. Outra associação importante pôde ser observada em estudos que demonstraram a apoptose causada por anticorpos anti-P, via canais de cálcio; ativando enzimas apoptóticas como a cisteíno-protease caspase-3⁹⁶⁻⁹⁷, logo esses achados sugerem que os anticorpos anti-P estariam associados a uma ampla gama de funções do sistema nervoso central⁹⁷.

1.4.3 Tratamento do lúpus neuropsiquiátrico

A diversidade clínica do lúpus neuropsiquiátrico, a dificuldade em definir medidas de manejo clínico e principalmente a ausência de critérios diagnósticos têm sido considerados os grandes obstáculos para a realização de ensaios clínicos controlados relacionados ao tratamento, dificultando sobretudo a comparação entre os diferentes esquemas terapêuticos⁹⁸. Logo, não havendo diretrizes específicas para o tratamento do lúpus neuropsiquiátrico juvenil, este deve ser individualizado e ajustado de acordo com as necessidades do paciente, devendo levar-se em consideração sua clínica, gravidade e o envolvimento sistêmico e/ou orgânico^{99,100}. No LESj, a imunossupressão e a corticoterapia tem sido considerado a base no tratamento de manifestações neuropsiquiátricas, com resultados consideráveis e remissão completa em alguns casos¹⁰¹, vale ressaltar que para o tratamento dos pacientes, independente de apresentarem manifestações neuropsiquiátricas, incluem-se anti-inflamatórios não esteroidais e

antimaláricos^{101,102}; além de terapia anticoagulante em pacientes com histórico de trombose ou acidente vascular encefálico (AVE)^{102,103}.

1.5 Biomarcadores de lúpus neuropsiquiátrico

A prática clínica requer o uso de ferramentas valiosas que possam auxiliar quanto a etiologia, diagnóstico e prognóstico de doenças, dentre os quais está o uso de biomarcadores validados^{104,105}; de modo geral há uma escassez de estudos com biomarcadores no LESj¹⁰⁶, devido talvez a variabilidade de fenótipos clínicos apresentados, dificultando ainda mais a descoberta de um biomarcador sensível e específico¹⁰⁷, sendo comumente observado o uso de biomarcadores utilizados em pacientes adultos¹⁰⁶. Logo, perfis de biomarcadores em diferentes modalidades como moleculares, psicométricos e em neuroimagem tornaram-se cada vez mais necessários de modo que, auxiliem no diagnóstico de lesões bem como no prognóstico do envolvimento do sistema nervoso^{73,108,109}. No LESj; há apenas uma ferramenta neuropsicométrica validada atualmente¹¹⁰. O primeiro estudo utilizando a ferramenta traduzida para a língua portuguesa realizado no Brasil mostrou uma maior prevalência de disfunção cognitiva, especialmente nos subtestes que avaliam a memória e atenção em pacientes com lúpus de início adulto comparado a controles saudáveis^{111,112}; dentre outros achados vale destacar a prevalência de distúrbio cognitivo nos pacientes juvenis, ao compararem a outros estudos que utilizaram a mesma ferramenta, sendo de 19,5%, semelhante ao observado em literatura¹¹¹. Apesar de menos dispendiosos e simples de serem obtidos, ao compararmos à biomarcadores líquóricos e neurológicos, poucos biomarcadores séricos provaram ser confiáveis o bastante para ajudar no diagnóstico de lúpus neuropsiquiátrico; sendo frequentemente utilizados em conjunto quando há suspeita de quadro neuropsiquiátrico¹⁰⁷, dentre os quais está o anticorpo anti-P como mencionado anteriormente. No lúpus, o primeiro relato de caso ocorreu em 1986¹¹³; logo após, uma série de casos associando a presença de anti-P à psicose lúpica pôde ser observado, especialmente em adolescentes¹¹⁴. Adicionalmente, vale ressaltar que no primeiro relato de depressão experimental realizada em camundongos fêmeas (C3H/HeJ), os resultados implicaram áreas olfativas e límbicas associadas a depressão e disfunção do sistema nervoso central¹¹⁵, entretanto, ensaios clínicos sobre a utilidade do anti-P como indicador

de manifestações difusas no LESj apresentaram variações^{116,117}. No que diz respeito às citocinas, como mencionado anteriormente, existem fortes evidências que apoiam seu papel para a patogênese do lúpus neuropsiquiátrico^{118,119}, sobretudo devido à presença inerente de citocinas em doenças de caráter inflamatório¹²⁰. Logo, inúmeras investigações tem sido feitas com o intuito de caracterizá-las como possíveis biomarcadores de manifestações neuropsiquiátricas no sistema nervoso central, sendo observados níveis líquidos elevados de TGF- β , IFN- α , IL-1, IL-8 e IL-17¹²⁰. Outra associação importante pôde ser observada em um estudo mais recente, que demonstrou níveis séricos elevados de IL-6 e IL-10 em pacientes com lúpus de início adulto comparado a controles saudáveis¹²¹.

2. JUSTIFICATIVA

Ao que conhecemos, nenhum estudo investigou os níveis séricos de NR-2 em pacientes com LESj, tampouco em conjunto com citocinas dos eixos Th1 e Th2 e anticorpo anti-P ribossomal. Logo, este estudo possibilita uma maior compreensão acerca de sua participação para a patogênese de manifestações neuropsiquiátricas em pacientes com LESj.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar se os níveis séricos de NR-2, citocinas dos eixos Th1 e Th2 e anticorpos anti-P ribossomal estão associados a manifestações neuropsiquiátricas em pacientes com LESj.

3.2 Objetivos específicos

1. Realizar a dosagem sérica de NR-2 e citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-12, IL-4, IL-6, IL-10;
2. Analisar a presença de anticorpos anti-P em soro;

3. Avaliar se a presença de manifestações neuropsiquiátricas têm associação com os níveis séricos de NR-2, citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10 e IL-12 e com a positividade de anticorpos anti-P em soro;
4. Avaliar se a presença de distúrbio cognitivo (e seus subtestes e índices de validade de desempenho) têm associação com as concentrações séricas de NR-2 e citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10 e IL-12.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo transversal.

4.2 Seleção dos pacientes

Foram incluídos pacientes consecutivos com diagnóstico de LESj segundo os critérios estabelecidos pelo ACR^{12,13}, acompanhados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, que concordaram em participar do estudo.

4.3 Critérios de não inclusão

Não foram incluídos indivíduos que não tinham diagnóstico definitivo de LESj e que não concordaram em participar do estudo.

4.4 Aspectos éticos do estudo

Todos os participantes foram previamente informados sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e/ou termo de assentimento livre e esclarecido (TALE) em acordo com a normatização ética. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas,

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (CAAE: 26428619.9.0000.5404/82701517.0.0000.5404) (ANEXO 1).

4.5 Análise clínico-laboratorial

Foram analisadas as seguintes manifestações clínicas de acordo com as definições estabelecidas pelo ACR^{12,13}: presença de adinamia; emagrecimento (>4 kg); febre (>37,8°C); artrite (não erosiva em duas ou mais articulações periféricas, vista pelo médico); necrose asséptica (documentada por radiografia simples, cintilografia ou ressonância nuclear magnética); deformidades articulares (geralmente redutíveis vistas pelo médico); eritema malar (eritema fixo sobre as eminências malares e/ou pregas nasolabiais); lesões discoides (placas eritematosas com descamação, podendo ocorrer atrofia nas lesões antigas); alopecia; úlcera oral e/ou nasal (ulceração oral e/ou em nasofaringe, geralmente dolorosa, observadas por médico); fotossensibilidade (eritema cutâneo resultado da exposição à luz solar, relatado na história clínica ou observada por médico); nefrite (definida pela presença de proteinúria maior que 0,5 g/L em 24 horas, aumento progressivo de creatinina sérica, presença de sedimento urinário, hematúria com dimorfismo eritrocitário ou ainda alterações histopatológicas quando compatíveis com nefrite lúpica, segundo critérios da Organização Mundial de Saúde); síndrome nefrótica foi definida quando a proteinúria ultrapassou 3,0g/dia; hipertensão arterial (HAS): pressão sistólica maior que 140 mmHg e/ou pressão diastólica maior que 110 mmHg; serosite (presença de pleurite, pericardite ou ambas documentadas no exame clínico e por imagem); outras manifestações pulmonares como hipertensão pulmonar, pneumonite e hemorragia pulmonar; manifestações cardíacas como miocardite, endocardite própria do lúpus e infarto do miocárdio; miopatia (revelada por fraqueza muscular, alterações enzimáticas, alterações da biópsia muscular e/ou da eletromiografia). Outros fatores avaliados foram envolvimento intestinal, hepático, e do sistema retículo-endotelial, presença de tromboembolismo pulmonar, alterações oculares e a presença do fenômeno de *Raynaud*.

O hemograma e a titulação de autoanticorpos, solicitados rotineiramente no diagnóstico e monitoramento do LESj, foram realizados de acordo com as técnicas utilizadas no Laboratório de Patologia Clínica e no Laboratório de Investigação em

Alergia e Imunologia do hospital de clínicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Foram considerados: leucopenia (<100.000 células/mm³); FAN (por imunofluorescência indireta utilizando células HEp 2 como substrato, sendo considerado positivo em títulos maiores que 1:80); anticorpo anti-dsDNA (por imunofluorescência indireta utilizando *Crithidia luciliae* como substrato, sendo considerados positivo em títulos maiores que 1:20); anticorpos precipitantes para antígenos nucleares extraíveis, incluindo Ro/SSA (síndrome de *Sjogren*), La/SSB e anti-Sm, detectados por imunodifusão e imunofluorescência indireta. Os anticorpos anticardiolipina de imunoglobulina G, imunoglobulina M e a glicoproteína β_2 , foram medidos por método imunoenzimático¹²²; o anticoagulante lúpico foi detectado por ensaios de coagulação em plasma sem plaquetas obtidas pela dupla centrifugação, seguindo a recomendação da *Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Homeostasis*¹²³.

4.6 Análise de atividade de doença e dano cumulativo

A atividade de doença foi avaliada pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI 2K) (ANEXO 3). A doença foi considerada ativa quando a somatória de pontos do SLEDAI foi igual e/ou superior a três pontos^{124,125}. O dano cumulativo foi avaliado por um questionário especificamente desenvolvido para este fim, o *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) *American College of Rheumatology Damage Index* (ACR-DI) (SDI)¹²⁶ (ANEXO 4). O SDI consiste em 38 itens e a pontuação pode variar de 0 a 47 pontos. Foi considerada a presença de dano se a pontuação foi igual e/ou superior a 1.

4.7 Avaliação neurológica

Os pacientes foram separados em três grupos:

Grupo MNP recente: com a presença de manifestações neuropsiquiátricas durante o período de coleta de sangue venoso;

Grupo MNP pregressa: sem a presença de manifestações neuropsiquiátricas durante o período de coleta de sangue venoso, contudo com a presença de manifestação neuropsiquiátrica pregressa;

Grupo MNP ausente: sem a presença de manifestações neuropsiquiátricas.

As manifestações neuropsiquiátricas foram determinadas através de uma revisão cuidadosa dos prontuários médicos, seguindo os critérios estabelecidos pelo ACR^{15,26}. Além disso, os sintomas de depressão, ansiedade e distúrbio cognitivo foram avaliados através dos instrumentos de triagem descritos abaixo.

4.7.1 Avaliação dos transtornos do humor e ansiedade

O humor e a ansiedade dos participantes foram avaliados através dos inventários de depressão *Becks Depression Inventory* (BDI)^{127,128} (ANEXO 5) e ansiedade *Beck Anxiety Inventory* (BAI) (ANEXO 6)^{129,130}. Essas escalas consistem em 21 itens, descrevendo a ansiedade e depressão, respectivamente. O entrevistado foi convidado a avaliar o quanto foi incomodado por cada sintoma durante o mês anterior em uma escala de 4 pontos variando de 0 a 3. Os itens são somados para obter uma pontuação total que pode variar de 0 a 63. Os valores de corte utilizados para o BDI são: 0 a 13: sem/mínimo de sintomas de depressão; 14 a 19: sintomas leves de depressão; 20 a 28: sintomas moderados de depressão e 29 a 63: sintomas severos de depressão; e para o BAI: 0 a 7: sem/mínimo de sintomas de ansiedade; 8 a 15: sintomas leves de ansiedade; 16 a 25: sintomas moderados de; 26 a 63: sintomas severos de ansiedade.

4.7.2 Avaliação cognitiva

A avaliação cognitiva foi previamente agendada com todos os participantes ou responsáveis legais; sendo realizada no Ambulatório de Reumatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, com duração aproximada de 30 a 45 minutos.

Os distúrbios cognitivos foram avaliados por meio de dois instrumentos, o software *Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics* (Ped-ANAM),

sendo aplicado por psicólogo habilitado utilizando testes cognitivos validados em português, de acordo com a faixa etária^{111,112}.

A versão pediátrica Ped-ANAM foi delineada para aplicação em crianças com testes similares à versão do adulto, porém modificados para idade levando em consideração o desenvolvimento cognitivo^{111,131}. O teste tem sido considerado um valioso instrumento para avaliação de eficiência neurocognitiva, sendo composto por uma bateria de subtestes autoadministrados por computador¹³².

Os subtestes incluem medidas de tempo de reação simples, tempo de reação processual, substituição de código – aprendizado, relações lógicas, processamento espacial, memória de execução, processamento matemático, grades correspondentes, correspondendo à amostra, pesquisa de memória e substituição de código – atrasado. Cada subteste fornece três principais pontuações acerca do desempenho como acurácia, velocidade e rendimento^{111,133,134,135,136}. Além disso, o software fornece outras pontuações compostas para interpretação como a *Performance Validity Index* (PVI) e a *Cognitive Performance Score* (CPS)¹¹⁰.

A PVI baseia-se em uma análise de distribuição dos dados¹³⁷, sendo constituída pelos resultados ponderados de cada subteste¹¹¹, sabe-se que o uso de pontuações compostas fornecidas pelo software tem sido mais eficiente para a detecção de comprometimento cognitivo, comparado ao uso de pontuações isoladas, encorajando o uso de métricas compostas como o PVI¹³⁷, que fornece sobretudo; um indicador acerca do desempenho do participante, avaliando se estaria dentro de uma faixa esperada para alguém com bom desempenho de esforço; sendo formada uma pontuação que varia entre 0 a 33 pontos¹³⁷. Por padrão, o grupo de referência utilizado seria uma amostra ambulatorial com ponto de corte de 14 pontos; sendo de 0 a 13 considerado um bom desempenho de esforço.

Logo, resultados mais baixos são indicativos de bom desempenho e resultados mais altos são indicativos de possíveis sinais de distúrbio cognitivo; visto que, por ser considerado uma ferramenta de triagem, os resultados de cada subteste ou suas combinações de pontuações podem sinalizar o distúrbio cognitivo em pacientes com LESj^{111,133,135}.

A CPS, sendo constituída por quatro índices: PedANAM-CPS_{UWA} (calculado pela média de nove pontuações de precisão do *software*), PedANAM-CPS_{PCA} (calculado

pela análise dos componentes principais do *software*), PedANAM-CPS_{logit} (calculado pelo método de regressão logística de todos os escores de precisão dos subtestes) e, por fim, PedANAM-CPS_{multiscore} (calculado pelo método de regressão logística com parâmetros de desempenho de subtestes selecionados)¹¹⁰. Para análise do comprometimento cognitivo, os resultados dos índices foram padronizados em um declínio de $DP \leq 2$ abaixo da média estimada do grupo controle.

O *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) foi aplicado em sua versão traduzida e validada para a língua portuguesa¹³⁸ (ANEXO 7), e avaliou oito domínios como memória de curto prazo, habilidades visuoespaciais, função executiva, atenção, concentração e memória de trabalho, idioma, orientação e orientação espacial; com uma pontuação que varia de 0 a 30 pontos, sendo que, quanto maior a pontuação, melhor a função cognitiva do participante. Assim, um participante com a pontuação maior ou igual a 26 pontos pôde ser considerado normal¹³⁸.

4.8 Tratamento

Foram consideradas as medicações prescritas nas datas das coletas das amostras de sangue dos pacientes. As medicações consideradas foram corticosteróides (prednisona, prednisolona), anti-maláricos (cloroquina/hidroxicloroquina/difosfato de cloroquina) e outras drogas imunossupressoras (azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina, metotrexato, micofenolato sódico ou mofetil).

4.9 Coleta de sangue venoso

Foram coletados 8mL de sangue venoso em tubo seco, no dia de consulta ambulatorial do paciente. As amostras de soro foram centrifugadas a 3.000g por 15 minutos à temperatura ambiente, aliquotadas e conservadas em biofreezer a -80°C para posterior análise no Laboratório de Reumatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

4.10 Determinação dos níveis séricos de NR-2

Os níveis séricos de NR-2 foram dosados em duplicata, utilizando-se o método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) [Human N-Methyl-D-Aspartate Receptor 2 ELISA Kit, MyBiosource (San Diego, CA, EUA)], conforme o protocolo do fabricante e apresentado a seguir.

4.10.1 Técnica de ELISA

4.10.1.1 Preparo de reagentes

1. Solução de lavagem: 20mL do concentrado de fosfato salino (*PBS*) foram previamente diluídos em 480mL de água deionizada, para obter um volume final de 500mL.
2. Curva padrão: foram adicionados 120µl de solução diluente no frasco de curva padrão, atingindo uma solução padrão 40ng/ml após homogeneização. Em seguida, 120µl de solução diluente foram pipetadas em quatro tubos de polipropileno. Foi realizada uma diluição seriada de curva, adicionando 120uL de solução padrão no primeiro tubo, homogeneizando, e realizando a transferência de 120ul para o tubo seguinte, repetindo o procedimento até o quarto tubo.

4.10.1.2 Procedimento

O princípio do ensaio baseia-se em uma detecção quantitativa precisa de NR-2 humano em soro, para tal, as placas foram pré-revestidas com o anticorpo anti-NR-2 humano. A amostra é adicionada logo, o NR-2 presente em cada amostra liga-se aos anticorpos pré-revestidos nos poços. Logo em seguida, um segundo anticorpo NR-2 biotinilado humano é adicionado ligando-se ao NR-2 presente em cada amostra.

A estreptavidina-HRP (conjugado) é adicionada ligando-se ao anticorpo NR-2 biotinilado. Após a incubação, a estreptavidina-HRP não ligada é removida durante a etapa de lavagem. Adiciona-se então, um substrato que desenvolve uma reação colorida proporcional à quantidade de NR-2 humano presente, finalmente a reação de cor pode ser determinada pela adição de uma solução de parada sendo medida a 450mn.

1. Todos os reagentes, amostras e padrões foram preparados previamente, conforme indicado nas seções anteriores.
2. 50µl de soluções de curva padrão foram acrescentados nos respectivos poços da microplaca. Foram adicionados 50µl de solução diluente nos poços de controle negativo.
3. Foram adicionados 40µl de amostra aos poços de amostras e, em seguida, foram adicionados 10µl de anticorpo anti-NR2 aos poços de amostra.
4. Em seguida foram adicionados 50µl de estreptavidina-HRP a todos os poços da microplaca, que foi coberta por um selo adesivo e incubada por 1h a 37°C.
5. Para a lavagem, o líquido de cada um dos poços da microplaca foi retirado por inversão. Adicionou-se 350µl de solução de lavagem em cada um dos poços da microplaca. O líquido impregnado foi removido da microplaca por inversão e o procedimento foi repetido mais quatro vezes. Na última lavagem, a placa foi invertida e o líquido restante dos poços foi retirado por inversão da microplaca, segurando firmemente a mesma e pressionando-a em papel toalha cinco vezes.
6. Adicionou-se 50µl do substrato A e 50µl do substrato B em cada poço, incubando por 10 minutos a 37°C, com proteção da luz.
8. Adicionou-se 50µl de solução de parada em cada um dos poços.
9. A densidade óptica a 450nm foi mensurada com uma leitora de microplacas do Laboratório de Hemostasia do Centro de Doações de Sangue (Hemocentro) da UNICAMP.

4.10.1.3 Obtenção de resultados

Para calcular as concentrações de NR-2 nas amostras, foi utilizada a plotagem de dados de densidade ótica e concentração da curva padrão (ambas em log), obtendo uma linha de tendência e uma equação, ao qual foram calculadas as concentrações em cada amostra.

4.11 Determinação dos níveis séricos das citocinas Th1 e Th2

Os níveis séricos de IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF- α e IFN- γ foram dosados em duplicata, utilizando-se o método de *Imunoensaio Luminex* (xMAP) [Kit

Human High Sensitivity T Cell Magnetic Bead Panel (MILLIPLEX, EMD Millipore Corporation, EUA)], conforme o protocolo do fabricante e apresentado as seguir.

4.11.1 Técnica de Imunoensaio Luminex

4.11.1.1 Preparo de reagentes

1. Solução de lavagem: 60mL do concentrado de solução para lavagem foram previamente diluídos em 540mL de água deionizada, para obter um volume final de 600mL.
2. Matriz sérica (MXHSM-7): foram adicionados 1mL de água destilada, sendo homogeneizada por inversão por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 3mL de tampão de ensaio, sendo homogeneizado novamente.
3. Controle de qualidade (QC1 e QC2): os controles de qualidade foram reconstituídos com 250µL de matrix sérica, sendo homogeneizados por inversão por 10 minutos.
4. Curva padrão: o frasco com os padrões proteicos (que contém todas as citocinas que foram estudadas em concentração conhecida) foi reconstituído com 250µL de matrix sérica, sendo homogeneizando por inversão durante 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 150µL de matrix sérica em sete microtubos, para realizar as diluições seriadas da curva padrão. Foram adicionados 50µL de padrão proteico ao primeiro tubo, sendo homogeneizado posteriormente. Em seguida, foram utilizados 50µL do conteúdo do primeiro tubo para transferir para o segundo, sendo homogeneizando novamente. Foram repetidos todos os procedimentos sequencialmente até o sétimo tubo.
5. Microesferas magnéticas contendo anticorpos de captura: os frascos de microesferas foram sonicados por 30 segundos e homogeneizados no agitador de tubos por 1 minuto. Em seguida, para o preparo do mix, foram adicionados 70µL de cada solução de microesferas magnéticas e 3080µL de diluente de microesferas em um novo tubo, sendo homogeneizando posteriormente.

4.11.1.2 Procedimento

O princípio do ensaio baseia-se em obter-se ligantes como proteínas que ligam-se a *beads* fluorescentes, que emitem tonalidades diferentes de vermelho de acordo com a intensidade emitida pelos corantes fluorescentes, podendo ser criados até cem conjuntos de microesferas com tons diferentes, para tal, os ligantes ligam-se a analitos específicos presentes em cada amostra, e posteriormente ligam-se a um anticorpo de detecção biotinilado, finalmente o resultado será amplificado através de uma incubação com a estreptavidina-ficoeritrina (conjugado), e quantificado pelo sinal fluorescente emitido.

1. Todos os reagentes, amostras e padrões de trabalho foram preparados previamente, conforme indicado nas seções anteriores.
2. 200µL do tampão de lavagem foram adicionados em cada um dos poços. A microplaca foi coberta com selo adesivo e incubada no agitador de placas por 10 minutos em temperatura ambiente.
3. O líquido dos poços foi removido por inversão da microplaca, descartando o conteúdo. O excesso de líquido foi retirado, segurando firmemente a microplaca, pressionando-a em toalha de papel limpa, por 5 vezes.
4. 50µL da curva padrão foram adicionados em cada um de seus poços.
5. Foram adicionados 50µL de controles de qualidade diluídos em seus respectivos poços.
6. Foram adicionados 25µL de tampão de ensaio (*Assay Buffer*) em cada poço contendo as amostras.
7. Foram adicionados 25µL de cada amostra, previamente homogeneizada no agitador de tubos.
8. Foram adicionados 25µL do mix de microesferas magnéticas (previamente homogeneizadas no agitador de tubos).
9. A microplaca foi coberta com selo adesivo e incubada no agitador de placas; protegida da luz, 16 a 18h a 4°C.
10. No dia seguinte, a lavagem automatizada da placa foi realizada três vezes.
11. Foram adicionados 50µL de solução de anticorpos de detecção em cada poço.
12. A microplaca foi coberta com selo adesivo e incubada no agitador de placas; protegida da luz por 1h em temperatura ambiente.

13. Foram adicionados 50µL de solução de conjugado Estreptavidina-Ficoeritrina em cada poço contendo 50µL de anticorpos de detecção, sem remover o conteúdo da incubação anterior.
14. A microplaca foi coberta com selo adesivo e incubada no agitador de placas; coberta com papel alumínio por 30 minutos em temperatura ambiente.
15. A lavagem automatizada da placa foi realizada três vezes.
16. Foram adicionados 150µL de fluido de condução (*sheath fluid*) em todos os poços, ressuspensando as esferas no agitador de placas por 5 minutos.

4.11.1.3 Obtenção de resultados

A intensidade de fluorescência mediana (IFM) de cada poço foi determinada por uma leitora de microplacas *BIO-PLEX 200* (Bio-Rad, EUA) no Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho em Ciências da Vida (LaCTAD), na UNICAMP. Para calcular as concentrações das citocinas nas amostras, foi utilizado um método logístico de cinco parâmetros da curva padrão. Cada amostra, por ter sido diluída duas vezes durante o procedimento, foi multiplicada por dois para a obtenção das concentrações.

Os limites de detecção do kit foram 0,48pg/mL para IFN- γ , 1,12pg/mL para IL-4, 0,11pg/mL para IL-6, 0,56pg/mL para IL-10, 0,15pg/mL para IL-12 (p70) e 0,16pg/mL para TNF- α . Para fins de análise estatística, quando a dosagem foi indetectável, o valor atribuído correspondeu à metade do limite inferior de detecção.

4.12 Determinação dos níveis séricos de anti-P

Os níveis séricos de anti-P foram dosados em duplicata, utilizando-se o método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA, Quanta Lite™ Ribosome P, Inova, San Diego, CA, EUA, conforme o protocolo do fabricante e apresentado a seguir.

4.12.1 Técnica de ELISA

4.12.1.1 Preparo de reagentes

1. Solução de lavagem: a solução de lavagem foi diluída em 1:40, adicionando todo o conteúdo do frasco de solução de lavagem a 975ml de água deionizada.
2. Amostras: as amostras de cada paciente foram diluídas em 1:100, misturando 5µl de amostra para 495µl do diluente das amostras.
3. Controle de qualidade: os controles Positivo Baixo, Positivo Alto e o Negativo já estavam pré-diluídos no kit, e foram introduzidos em todos os ensaios, servindo de padrão para análise das densidades ópticas.

Para que os resultados dos testes realizados fossem considerados válidos, alguns critérios listados a seguir deveriam ser cumpridos. A absorbância do controle Positivo Alto foi maior que a absorbância do Positivo Baixo, que por sua vez foi maior que a absorbância do Negativo. O controle Positivo Alto apresentou uma absorbância maior que 1,0, enquanto que a absorbância do Negativo não ultrapassou 0,2. O controle Positivo Baixo teve absorbância duas vezes maior que o Negativo e/ou oscilou entre 0,25 e 0,6 unidades de densidade óptica.

4.12.1.2 Procedimento

1. Todos os reagentes, amostras e padrões foram preparados previamente, conforme indicado nas seções anteriores.
2. Foram adicionados à placa 100µl de controles Positivo Baixo, Positivo Alto e Negativo e das amostras diluídas aos respectivos micropoços da placa. Em seguida, a placa foi incubada durante 30 minutos em temperatura ambiente, em uma superfície nivelada.
3. O líquido dos poços foi removido por inversão da microplaca, descartando o conteúdo, sendo adicionados 200-300µl de solução de lavagem a todos os poços. O excesso de líquido foi retirado, segurando firmemente a microplaca, pressionando-a em toalha de papel limpa, por 3 vezes. Depois da última lavagem, a placa foi invertida e colocada sobre um papel absorvente para retirar qualquer líquido residual.
4. Foram adicionados 100ul do conjugado HRP em cada micropoço da placa, incubando por 30 minutos.
5. A lavagem se repetiu depois da incubação e 100µl do Cromógeno tetrametilbenzina (TMB) foi adicionado em cada micropoço.
6. A placa foi incubada por 30 minutos no escuro em temperatura ambiente.

7. Ao término da incubação, foram adicionados 100µl de solução de parada em cada micropoço.
8. A densidade óptica a 450nm foi determinada pela leitora de microplacas Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, EUA) imediatamente após a última incubação.

4.12.1.3 Obtenção de resultados

O valor unitário de cada amostra foi dado pela seguinte razão:

$$\frac{\text{Densidade óptica amostra} \times 25}{\text{Densidade óptica controle positivo baixo}}$$

Em seguida, as amostras foram classificadas em negativa (número de unidades menor que 20) e positiva (número de unidades maior que 20).

4.13 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o software estatístico *IBM® SPSS Statistics 22* (SPSS, Chicago, USA). As variáveis contínuas foram expressas em mediana, mínimo e máximo. As comparações entre grupos foram realizadas pelos testes não paramétricos de *Mann-Whitney*, *Kruskal-Wallis* e Comparações Múltiplas. O teste de Qui-quadrado foi empregado para avaliar as associações entre variáveis nominais. Foram considerados significados valores de *p* menores que 0,05. A correlação entre as concentrações séricas de NR-2 e citocinas foram avaliadas utilizando a correlação de *Spearman*.

5. RESULTADOS

5.1 Dados sociodemográficos

Foram coletados dados de 155 pacientes com LES^{j12,13}. Os dados sociodemográficos dos três grupos conforme elucidado no item 3.7, estão apresentados

na tabela 1. A mediana de idade foi semelhante entre os grupos, e não houve diferença quanto à distribuição por cor autodeclarada, escolaridade ou gênero entre os grupos.

Tabela 1. Dados sociodemográficos dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente.

	MNP recente	MNP pregressa	MNP ausente	<i>p</i> valor
N	62	61	32	
Idade (anos) ^a	23 (11-48)	22 (11-45)	23 (6-42)	0,523
Cor autodeclarada ^b				0,982
Branca	45 (72,6%)	42 (68,9%)	23 (71,9%)	
Parda	15 (24,2%)	16 (26,2%)	8 (25,0%)	
Preta	2 (3,2%)	3 (4,9%)	1 (3,1%)	
Nível de escolaridade ^c				0,340
Fundamental	13 (21,0%)	17 (27,9%)	10 (31,3%)	
Médio	37 (59,7%)	29 (47,5%)	19 (54,9%)	
Superior	12 (19,4%)	15 (24,6%)	3 (9,4%)	
Gênero ^c				0,970
Feminino	54 (87,1%)	54 (88,5%)	28 (87,5%)	
Masculino	8 (12,9%)	7 (11,5%)	4 (12,5%)	

LESj: Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil; MNP: Manifestação neuropsiquiátrica; N: número.

a. Mediana; intervalo (mínimo – máximo), o teste Kruskal-Wallis foi empregado, o valor de *p* foi considerado significativo se <0.05.

b. Frequência (%), o teste Qui-quadrado foi empregado, unindo os grupos pardo + preto, o valor de *p* foi considerado significativo se <0.05.

c. Frequência (%), o teste Qui-quadrado foi empregado, o valor de *p* foi considerado significativo se <0.05.

5.2 Idade de início e tempo de doença, pontuação de atividade e dano cumulativo

A idade de início, o tempo de doença e as pontuações de atividade e dano dos três grupos estão apresentados na tabela 2. Não houve diferença significativa quanto à idade de início, tempo de doença, bem como quanto à presença de doença ativa, dano cumulativo e suas respectivas pontuações entre os grupos.

Tabela 2. Idade de início e tempo de doença, presença de atividade e dano dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente.

	MNP recente	MNP pregressa	MNP ausente	<i>p</i> valor
N	62	61	32	
Idade de início doença (anos) ^a	13 (6-18)	14 (7-18)	14 (5-18)	0,545
Tempo de doença (anos) ^a	10 (1-35)	8 (1-31)	8 (1-26)	0,199
Pontuação de atividade e dano				
SLEDAI ^a	0 (0-14)	0 (0-12)	0 (0-17)	0,494
Com doença ativa ^b	21 (33,9%)	15 (24,6%)	10 (31,3%)	0,518
SLICC/ACR (DI)	0 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-2)	
Com dano ^b	18 (29,0%)	21 (34,4%)	4 (12,5%)	0,077

LESj: Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil; MNP: Manifestação neuropsiquiátrica; N: número; SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; SLICC/ACR (DI): Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index.

a. Mediana (mínimo – máximo), o teste Kruskal-Wallis test foi empregado, o valor de *p* foi considerado significativo se < 0,05.

b. Frequência (%), o teste Qui-quadrado foi empregado, o valor de *p* foi considerado significativo se < 0,05.

5.3 Manifestações clínico-laboratoriais e tratamento

As manifestações clínico-laboratoriais e o tratamento dos três grupos estão apresentados na tabela 3. As manifestações neuropsiquiátricas mais observadas foram sintomas de ansiedade, depressão, distúrbio cognitivo e cefaleia. Não foram observadas outras manifestações definidas pelo ACR²⁶.

As manifestações mucocutâneas mais observadas nos três grupos foram úlcera oral, alopecia e fotossensibilidade. Quanto as manifestações renais foram observadas a presença de proteinúria, nefrite e hematúria; além de outras manifestações clínico-laboratoriais menos presentes como vasculite e artrite.

As manifestações hematológicas e os achados imunológicos mais observados foram a presença de hipocomplementemia e anticorpos anti-P ribossomal em soro, que não diferiram entre os grupos (teste de Qui-quadrado, $p=0,392$ e $p=0,466$, respectivamente).

Quanto ao tratamento, não houve diferença significativa para a frequência de uso de anti-malárico (teste de Qui-quadrado, $p=0,112$), imunossupressor (teste de Qui-quadrado, $p=0,410$ ou glicocorticóide entre os três grupos (teste de Qui-quadrado, $p=0,262$).

Tabela 3. Manifestações clínico-laboratoriais e tratamento dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente.

		MNP recente	MNP pregressa	MNP ausente
N		62	61	32
Manifestações neuropsiquiátricas				
	Ansiedade ^a	40 (64,5%)	0	0
	Depressão (Transtorno do humor) ^a	28 (45,2%)	0	0
	Distúrbio cognitivo ^b	17 (27,4%)	0	0
	Cefaleia	7 (11,3%)	0	0
Manifestações mucocutâneas				
	Úlcera oral	19 (30,6%)	10 (16,4%)	6 (18,8%)
	Alopécia	6 (9,7%)	3 (4,9%)	4 (12,5%)
	Fotossensibilidade	5 (9,1%)	3 (4,9%)	1 (3,1%)
	<i>Rash</i> malar	3 (4,8%)	1 (1,6%)	1 (3,1%)
	Lesão discóide	0	3 (4,9%)	1 (3,1%)
Manifestações renais				
	Nefrite	16 (25,8%)	7 (11,5%)	4 (12,5%)
	Proteinúria	9 (14,5%)	6 (9,8%)	3 (9,4%)
	Hematúria	4 (6,5%)	2 (3,3%)	1 (3,1%)
Outras manifestações clínico-laboratoriais				
	Vasculite	3 (4,8%)	2 (3,3%)	0
	Artrite	1 (1,6%)	1 (1,6%)	2 (6,3%)
Manifestações hematológicas e imunológicas				
	Hipocomplementemia	14 (22,6%)	8 (13,1%)	6 (18,8%)

Presença de anti-P ribossomal	14 (22,6%)	8 (13,1%)	5 (15,6%)
Anemia hemolítica	5 (8,1%)	2 (3,3%)	0
Linfopenia	2 (3,2%)	1 (1,6%)	1 (2,7%)
Presença de anti-dsDNA	1 (1,6%)	1 (1,6%)	0
Leucopenia	1 (1,6%)	0	0
Trombocitopenia	0	1 (1,6%)	0
Medicação			
HCQ	52 (83,9%)	45 (73,8%)	29 (90,6%)
GC	35 (56,5%)	43 (70,5%)	21 (65,6%)
Aza	15 (24,2%)	13 (21,3%)	13 (40,6%)
MMF	9 (14,5%)	8 (13,11%)	2 (6,3%)
nenhum	7 (11,3%)	6 (9,8%)	2 (6,3%)
MMS	6 (9,7%)	9 (14,7%)	1 (3,1%)
CFM	2 (3,2%)	1 (1,6%)	1 (3,1%)
CsA	2 (3,2%)	1 (1,6%)	0
MTX	1 (1,6%)	1 (1,6%)	0

LESj: Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil; MNP: Manifestação neuropsiquiátrica; N: número; Aza: azatioprina; MMS: micofenolato de sódio; MMF: micofenolato de mofetila; CFM: ciclofosfamida; CsA: ciclosporina; MTX: metotrexato; GC: glicocorticoide; HCQ: hidroxicloroquina.

a. Trinta e três pacientes não foram avaliados quanto aos inventários para ansiedade e depressão, porém não houve relato de sintomas no atendimento médico.

b. Para distúrbio cognitivo, N para o número de pacientes que foram avaliados com os instrumentos de triagem para o distúrbio cognitivo=86.

5.4 Concentrações séricas de citocinas e NR-2

A tabela 4 apresenta as concentrações séricas de citocinas e NR-2 nos três grupos. Houve diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de IL-12 ($p=0,006$), IFN- γ ($p=0,008$) e TNF ($p=0,039$). Em seguida, foi realizada a comparação de pares com o teste de comparação múltiplas não paramétricas, de forma que o grupo MNP recente apresentou maior concentração sérica de IL-12 ($p=0,006$) e IFN- γ ($p=0,012$) comparado ao grupo MNP ausente. Quanto as concentrações séricas de TNF, o teste de comparação múltiplas não paramétricas utilizado, não pode identificar em qual grupo a diferença se encontrava.

Tabela 4: Concentrações séricas de citocinas e NR-2 dos pacientes com LESj, separados em três grupos: pacientes com MNP recente, MNP pregressa e MNP ausente.

	MNP recente	MNP pregressa	MNP ausente	<i>p</i> valor
IL-4 (pg/mL) ^{a,b}	53,2 (0,6-1.547,6)	54,0 (0,6-2.043,7)	54,8 (0,6-2.075,5)	0,986
IL-6 (pg/mL) ^a	2,5 (0,1-122,0)	1,9 (0,1-139,2)	2,3 (0,1-90,5)	0,999
IL-10 (pg/mL) ^a	11,2 (0,3-81,2)	10,1 (0,3-52,7)	6,4 (0,3-110,6)	0,068
IL-12 (p70) (pg/mL) ^a	3,4 (0,1-12,5)	3,0 (0,1-8,3)	2,3 (0,1-9,9)	0,006
IFN- γ (pg/mL) ^a	12,0 (0,2-140,7)	9,9 (0,2-118,2)	9,2 (0,2-53,2)	0,008
TNF (pg/mL) ^a	8,8 (0,1-43,8)	7,0 (0,1-37,9)	6,5 (0,1-33,1)	0,039
NR-2 (ng/mL) ^{a,c}	9,2 (4,1-33,3)	8,5 (4,1-24,8)	8,9 (5,2-38,8)	0,414

NR-2: Subunidade 2 do receptor N-metil-D-aspartato; LESj: Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil; MNP: Manifestação neuropsiquiátrica; IL-4: Interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IFN- γ : interferon gama; TNF: fator de necrose tumoral.

a. Mediana (mínimo – máximo), o teste Kruskal-Wallis test foi empregado, o valor de *p* foi considerado significativo se $<0,05$.

b. Para citocinas, N para o grupo com MNP recente=61; N para o grupo com MNP pregressa=60; N para o grupo sem MNP=32.

c. Para NR-2, N para o grupo com MNP recente=31; N para o grupo com MNP pregressa=36; N para o grupo sem MNP=17.

5.5 Concentrações séricas de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de ansiedade e depressão

A tabela 5 apresenta as concentrações séricas de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de sintomas de ansiedade e depressão durante o período de coleta de sangue venoso. Não houve diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de sintomas de ansiedade e depressão entre os grupos.

Tabela 5: Concentração de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de sintomas de ansiedade e depressão nos pacientes com LESj.

	Presença de ansiedade^b	Ausência de ansiedade	p valor	Presença de depressão^c	Ausência de depressão	p valor
IL-4 (pg/mL)^a	82,2 (5,7-1547,6)	47,2 (0,6-2075,5)	0,209	45,6 (5,7-1547,6)	58,4 (0,6-2075,5)	0,662
IL-6 (pg/mL)^a	2,8 (0,1-122,0)	2,4 (0,1-107,2)	0,962	4,5 (0,1-122,0)	1,9 (0,1-107,2)	0,239
IL-10 (pg/mL)^a	10,7 (0,3-81,2)	11,5 (0,3-110,6)	0,956	9,6 (0,3-39,0)	11,8 (0,3-110,6)	0,977
IL-12 (p70) (pg/mL)^a	3,4 (0,1-12,5)	3,0 (0,1-9,9)	0,060	3,4 (0,1-11,8)	2,9 (0,1-12,5)	0,211
IFN-γ (pg/mL)^a	12,4 (1,6-140,7)	10,4 (0,2-118,2)	0,110	10,8 (5,1-56,4)	11,0 (0,2-140,7)	0,826
TNF (pg/mL)^a	8,9 (1,9-43,8)	8,3 (0,1-38,5)	0,923	10,7 (1,9-43,8)	8,2 (0,1-37,9)	0,099
NR-2 (ng/mL)^a	9,3 (4,1-33,3)	8,5 (4,1-38,8)	0,098	9,3 (5,9 -18,4)	8,5 (4,1 -38,8)	0,162

NR-2: Subunidade 2 do receptor N-metil-D-aspartato; LESj: Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil; IL-4: Interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IFN- γ : interferon gama; TNF: fator de necrose tumoral.

a. Mediana (mínimo – máximo), o teste Mann-Whitney test foi empregado, o valor de p foi considerado significativo se $< 0,05$.

b. Para citocinas, N para o grupo com a presença de ansiedade=39; N para o grupo com ausência de ansiedade=82. Para NR-2, N para o grupo com a presença de ansiedade=16; N para o grupo com ausência de ansiedade=45.

c. Para citocinas, N para o grupo com a presença de depressão=27; N para o grupo com ausência de depressão=93. Para NR-2, N para o grupo com a presença de depressão=14; N para o grupo com ausência de depressão=47.

5.6 Concentrações séricas de citocinas, NR-2, subtestes do ANAM e índices de validade de desempenho de acordo com a presença ou ausência de distúrbio cognitivo

A tabela 6 apresenta as concentrações séricas de citocinas, NR-2, subtestes do Ped-ANAM e seus respectivos índices de desempenho, de acordo com a presença ou ausência de distúrbio cognitivo durante o período de coleta de sangue venoso. Houve diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de IL-4 ($p=0,036$) e IL-6 ($p=0,019$), ambas com maior concentração em pacientes sem distúrbio cognitivo.

Em relação aos subtestes do Ped-ANAM, houve diferença significativa entre os grupos quanto aos subtestes que avaliam o tempo de reação processual ($p=0,003$), substituição de código – aprendizado ($p=0,001$), processamento espacial ($p=0,002$), processamento matemático ($p=0,009$), correspondendo à amostra ($p=0,014$) e pesquisa de memória ($p=0,002$), todos com menor pontuação em pacientes com distúrbio cognitivo. Quanto ao tempo de reação simples, houve grande variabilidade entre os pacientes com distúrbio cognitivo ($p=0,014$).

Em relação aos índices de desempenho, houve diferença entre os grupos somente quanto ao índice PVI ($p<0,001$), havendo maior pontuação em pacientes com distúrbio cognitivo, como esperado.

Tabela 6: Citocinas, NR-2, subtestes e índices de validade de desempenho do Ped-ANAM de acordo com a presença ou ausência de distúrbio cognitivo nos pacientes com LESj.

	Presença de distúrbio cognitivo	N	Ausência de distúrbio cognitivo	N	<i>p</i> valor
IL-4 (pg/mL)	36,0 (0,6-407,2)	17	70,8 (0,6-2075,5)	68	0,036
IL-6 (pg/mL)	1,6 (0,1-46,8)	17	4,4 (0,1-122,0)	68	0,019
IL-10 (pg/mL)	10,1 (0,3-40,9)	17	13,2 (0,3-110,6)	68	0,348
IL-12 (p70) (pg/mL)	3,6 (0,1-7,5)	17	3,4 (0,1-12,5)	68	0,987
IFN- γ (pg/mL)	13,3 (0,2-51,0)	17	12,0 (0,2-140,7)	68	0,672
TNF (pg/mL)	8,4 (0,1-38,5)	17	9,5 (0,1-43,8)	68	0,733
NR-2 (ng/mL)	9,2 (8,0-33,3)	11	9,3 (4,1-38,8)	34	0,473
Subtestes do ANAM (% de acerto)					
Tempo de reação simples	100 (0-100)	10	100 (0-100)	68	0,014
Tempo de reação processual	90 (32-100)	9	100 (85-100)	64	0,003
Substituição de código – aprendizado	89,5 (51-99)	8	99 (33-100)	67	0,001
Relações lógicas	95 (50-100)	8	100 (70-100)	66	0,085
Processamento espacial	80 (25-90)	8	90 (50-100)	64	0,002
Memória de execução	59,3 (16-99)	9	90,1 (41-100)	55	0,057
Processamento matemático	80 (45-100)	8	95 (60-100)	66	0,009
Grades correspondentes	90 (65-100)	8	95 (50-100)	66	0,282
Correspondendo à amostra	67,5 (45-100)	8	90 (30-100)	67	0,014
Pesquisa de memória	71,7 (0-97)	10	93,3 (0-100)	68	0,002
Substituição de código – atrasado	72 (47-97)	9	86 (22-100)	60	0,120
<i>Performance Validity Index (PVI)</i>	16 (15-25)	10	4 (0-13)	68	<0,001
PedANAM-CPS _{UWA}	79,9 (53,3-98,4)	9	90,7 (25,4-98,2)	60	0,521
PedANAM-CPS _{PCA}	236,8 (164,9-284,8)	9	264,9 (80,7-284,8)	60	0,682
PedANAM-CPS _{logit}	-105,3 (-119,5 – 0)	10	-106,1 (-138,8 – -49,7)	60	0,737
PedANAM-CPS _{multiscore}	-8,3 (-10,4 – -1,1)	9	-6,5 (-18,4 – +11,9)	60	0,735

NR-2: Subunidade 2 do receptor N-metil-D-aspartato; PedANAM: *Pediatric Automated Neuropsychological Metrics*; N: número de indivíduos dos quais foram realizadas as análises.

IL-4: Interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IFN- γ : interferon gama; TNF: fator de necrose tumoral; PVI: *Performance Validity Index*; PedANAM-CPS_{UWA}: média não ponderada; PedANAM-CPS_{PCA}: análise de components principais; PedANAM-CPSlogit: método de regressão logística; PedANAM-CPSmultiscore: método de regressão logística multiscore.

Para todas as variáveis: Mediana (mínimo – máximo), o teste Mann-Whitney test foi empregado, o valor de p foi considerado significativo se $< 0,05$.

5.7 Correlação de citocinas e NR-2 nos pacientes

A tabela 7 apresenta a correlação de citocinas nos pacientes. Houve correlação entre todas as citocinas, sendo a IL-4 e IL-6; IL-10 e IFN- γ ; IL-12 e IFN- γ as que correlacionaram-se mais fortemente.

Em relação à dosagem de NR-2, não houve correlação entre as concentrações de citocinas e os subtestes e índices do Ped-ANAM.

Tabela 7: Correlação entre as concentrações séricas de citocinas nos pacientes com LESj.

	IL-4	IL-6	IL-10	IL-12	IFN-gama
IL-4 (pg/mL) ^a	–	–	–	–	–
IL-6 (pg/mL) ^a	p<0,001, r ^ô =0,800	–	–	–	–
IL-10 (pg/mL) ^a	p<0,001, r ^ô =0,565	p<0,001, r ^ô =0,517	–	–	–
IL-12 (p70) (pg/mL) ^a	p<0,001, r ^ô =0,322	p<0,004, r ^ô =0,233	p<0,001, r ^ô =0,572	–	–
IFN- γ (pg/mL) ^a	p=0,001, r ^ô =0,270	p<0,009, r ^ô =0,212	p<0,001, r ^ô =0,606	p<0,001, r ^ô =0,608	–
TNF (pg/mL) ^a	p=0,018, r ^ô =0,191	p<0,001, r ^ô =0,153	p<0,001, r ^ô =0,507	p=0,004, r ^ô =0,233	p<0,001, r ^ô =0,153

LESj: Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil; IL-4: Interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IFN- γ : interferon gama; TNF: fator de necrose tumoral.

a. O teste de Correlação de Sperman foi empregado, sendo reportado o coeficiente de correlação r^ô, o valor de *p* foi considerado significativo se < 0,05.

N: número de indivíduos dos quais foram realizadas as análises=153.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo objetivou-se avaliar se há associação entre os níveis séricos de NR-2, citocinas, anticorpo anti-P ribossomal à presença de manifestações neuropsiquiátricas em pacientes com LESj. Nossa coorte foi caracterizada por pacientes com LESj, entre seis e quarenta e oito anos, separados em três grupos com características sociodemográficas semelhantes: I - MNP recente (com a presença de manifestações neuropsiquiátricas durante o período de coleta de sangue venoso; II - MNP pregressa (sem a presença de manifestações neuropsiquiátricas durante o período de coleta de sangue venoso, contudo com a presença de manifestação neuropsiquiátrica pregressa; e III - MNP ausente (sem a presença de manifestações neuropsiquiátricas).

Ainda, a idade de início, e o tempo de doença em anos, bem como a presença de doença ativa, dano cumulativo e suas respectivas pontuações não diferiram entre os grupos. Em literatura, há evidências de que danos cumulativos sejam mais prevalentes em pacientes que apresentam maior tempo de doença em anos¹³⁹.

Ao avaliarmos as manifestações neuropsiquiátricas, observou-se uma maior frequência de sintomas de ansiedade e depressão, corroborando com achados em literatura no LESj^{27,28,29,30}. A presença de disfunção cognitiva foi outro achado frequente nos pacientes; sabe-se que a disfunção cognitiva possui uma tendência de piora progressiva ao longo do tempo, logo diversos estudos enfatizam a importância em utilizar-se testes de triagem para o comprometimento cognitivo nos pacientes¹⁴⁰, como os instrumentos utilizados no presente estudo. Além disso, a frequência de distúrbio cognitivo observada em nosso estudo assemelha-se aos achados recentes em literatura no LESj^{4,112,134}.

Quanto aos sintomas de ansiedade e depressão, sabe-se que níveis elevados de ansiedade e pouca idade, representam fatores de risco para depressão¹⁴¹, em nosso estudo observou-se uma alta frequência de sintomas de ansiedade e depressão corroborando com achados em literatura¹⁴²; logo questionários autoavaliativos podem ser úteis para a identificação de sintomas de ansiedade e depressão¹⁴³ visto que, muitas vezes os pacientes sentem-se desencorajados em relatar publicamente tais sintomas. Alguns estudos, apontam que a presença de depressão ao longo do tempo, associa-se

significativamente com a ideação suicida¹⁴⁴, logo o rastreio torna-se vital no cuidado rotineiro dos pacientes, possibilitando sua prevenção por meio do tratamento adequado¹⁴⁵.

As manifestações mucocutâneas mais observadas nos três grupos foram úlcera oral, alopecia, fotossensibilidade e *rash* malar. Em um estudo que comparou o perfil clínico e laboratorial de pacientes com lúpus de início juvenil e adulto, observou-se uma maior frequência de manifestações cutâneas em pacientes juvenis, com a presença de *rash* malar, fotossensibilidade e úlceras orais¹⁴⁶. Além disso, outros estudos relatam a presença de ambas manifestações (úlceras orais, alopecia, fotossensibilidade e *rash* malar) como sendo as apresentações cutâneas mais observadas no LESj^{8,29,36}.

As manifestações renais mais observadas nos três grupos foram a presença de nefrite, proteinúria e hematúria; sabe-se que no LESj a presença de envolvimento renal domina o quadro clínico, caracterizando a nefrite como a manifestação primária da doença, além de representar um forte indicador de morbidade e mortalidade nos pacientes^{147,148}, vale ressaltar que nossa amostra não representa em sua totalidade a doença grave, visto que incluímos majoritariamente pacientes ambulatoriais.

Outras manifestações clínico-laboratoriais como vasculite e artrite também puderam ser observadas em nossa amostra, apesar de menos frequentes. Em um estudo que comparou o perfil clínico e imunológico de pacientes com lúpus de início juvenil e adulto, observou-se uma maior frequência de vasculite cutânea em pacientes juvenis, enquanto que, a artrite esteve significativamente presente em pacientes adultos¹⁴⁹.

As manifestações hematológicas e os achados imunológicos mais observados em nossa amostra foram a presença de hipocomplementemia, anti-P ribossomal, anemia hemolítica, linfopenia, anti-dsDNA, leucopenia e trombocitopenia. Conforme descrito anteriormente, a determinação dos níveis séricos de complemento mostra-se útil tanto para o diagnóstico quanto para a avaliação de doença ativa³³; além disso, observa-se frequentemente níveis reduzidos de complemento bem como, níveis elevados de anti-dsDNA em pacientes com LESj¹⁵⁰ sobretudo, caracterizando a redução do complemento como um fator de risco para o desenvolvimento de nefrite lúpica e a positividade de anti-dsDNA a sua recidiva, especialmente renal^{151,152}.

Quanto às demais manifestações hematológicas observadas em nossa amostra, há concordância nos achados em literatura quanto à prevalência de anemia hemolítica, que embora mais rara que a anemia por doença crônica pode ser encontrada

em cerca de um terço dos pacientes, contudo a linfopenia, a leucopenia e a trombocitopenia somam-se às manifestações hematológicas mais observadas no LESj¹⁵³.

Conforme descrito anteriormente, estudos que investiguem a associação de anticorpos anti-P ribossomal à presença de manifestações neuropsiquiátricas no LESj são escassos, como em um estudo recente em que pôde ser observada uma maior frequência de anti-P ribossomal em pacientes juvenis comparados a pacientes adultos; associando sua positividade somente a duas manifestações clínicas sendo a primeira alopecia e a segunda *rash* cutâneo (não discoide)⁹².

Em nosso estudo observou-se uma alta frequência de positividade do anticorpo anti-P ribossomal em pacientes com MNP recente, seguida de pacientes com MNP pregressa; sabe-se que sua positividade tornou-se altamente específica para o diagnóstico em ambas as faixas etárias, sendo frequentemente observado durante a fase ativa de doença, associando-se especialmente à presença de manifestações neuropsiquiátricas, como observado em nossa amostra¹⁵⁴.

As recomendações acerca do tratamento no LESj envolve principalmente o uso de glicocorticóides, seguido de imunossupressores, anti-maláricos e biológicos, que objetivam sobretudo assegurar uma sobrevida maior, prevenir lesões orgânicas e atenuar comorbidades¹⁵⁵. Tal informação está em concordância com nossa amostra, visto que apesar de não ter sido observada diferença quanto à frequência de uso de glicocorticóides entre os três grupos ambos os grupos foram tratados em algum momento com glicocorticóides.

No Brasil, a hidroxicloroquina tem sido o anti-malárico mais comumente usado no tratamento de sintomas leves, especialmente erupção cutânea e artrite¹⁵⁶, além de reduzir danos no sistema nervoso central, rins e no tecido ósseo¹⁵⁷.

Em nossa amostra não houve diferença significativa quanto à frequência de uso de anti-maláricos e imunossupressores, observou-se sobretudo o uso de hidroxicloroquina em quase a totalidade dos pacientes como observado em estudos anteriores no LESj^{158,159}.

Conforme descrito anteriormente, existem fortes evidências que apoiam o papel de citocinas para a patogênese do lúpus neuropsiquiátrico^{118,119}. Ao avaliarmos as concentrações séricas de citocinas e NR-2 nos três grupos, observou-se uma diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de IL-12, IFN-gama e TNF em seguida,

foi realizada uma comparação de pares com o teste de comparação múltiplas não paramétricas, de forma que o grupo com MNP recente apresentou maior concentração sérica de IL-12 e IFN- γ comparado ao grupo MNP ausente.

Como descrito anteriormente, alguns estudos demonstram haver diferenças no perfil de manifestações clínicas e laboratoriais de forma abrangente no lúpus; porém sem observar um envolvimento no perfil de citocinas^{72,148,160,161,162}.

Outro estudo, que objetivou analisar de forma observacional e longitudinal o perfil de citocinas Th1 e Th2, manifestações clínicas, laboratoriais e tratamento em ambas as faixas etárias (adulto e juvenil) e controles saudáveis não observou diferenças significativas quanto ao padrão de citocinas séricas em ambas as faixas etárias, contudo, observou-se níveis de IL-6 associados à artrite e *rash* malar em pacientes juvenis, além de níveis de IL-12 significativamente mais elevados nos pacientes comparado a controles saudáveis¹⁴⁶.

Em outro estudo, que objetivou avaliar de forma observacional e longitudinal os níveis séricos de citocinas Th1 e Th2, manifestações clínicas, laboratoriais e tratamento no lúpus de início adulto, observou a presença de INF-gama, IL-4 e IL-10 em pacientes que apresentavam envolvimento do SNC, caracterizando especialmente a IL-12 como um possível biomarcador de dano cerebral nos pacientes¹⁶³, corroborando com nossos resultados, visto que após ter sido realizada a comparação de pares evidenciou-se a elevação de ambas as citocinas em pacientes com MNP recente ao compararmos com o grupo MNP ausente.

Ao analisarmos as concentrações séricas de citocinas e NR-2 de acordo com a presença ou ausência de sintomas de ansiedade e depressão, não observamos diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de citocinas e NR-2.

Neste ponto da discussão, cabe destacar alguns achados encontrados em um estudo descrito anteriormente, em que observou-se uma associação entre IL-4 e IL-10 aos sintomas de ansiedade e depressão, contudo no lúpus de início adulto, além de uma associação entre IL-12 à progressão de atrofia cerebral¹⁶³. Quanto à primeira associação observada, uma possível explicação seria de que estímulos neuroinflamatórios poderiam induzir processos que estimulam a liberação de mediadores como as citocinas, que por sua vez, poderiam influenciar o comportamento e o humor nos pacientes^{164,165}. Como descrito anteriormente, níveis elevados de anticorpos contra a subunidade NR-2 foram

observados em pacientes com crise convulsiva e distúrbio cognitivo; especialmente decréscimos no funcionamento motor e processamento visoespacial^{183,84}.

Além disso, distúrbios relacionados a atividade do receptor glutamatérgico, foram associados a diversas doenças neurológicas e psiquiátricas como acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi)⁸⁵, primeiro episódio psicótico (PEP)⁸⁶, esquizofrenia e depressão^{166,167}. Apesar de serem doenças causadas por diferentes mecanismos, ambas compartilham de uma via final comum para a lesão neuronal, o receptor glutamatérgico. Não há relatos em literatura até o momento de medidas no sangue periférico do receptor e suas subunidades no lúpus. Nos trazendo diversos questionamentos acerca do seu papel para a etiopatogenia do lúpus neuropsiquiátrico, o que enseja novas pesquisas.

Outras diferenças significativas observadas entre os grupos, foram a dosagem de IL-4 e IL-6, que apresentaram maior concentração em pacientes sem distúrbio cognitivo, sendo este outro achado inédito encontrado em nossa amostra, não sendo observado relatos anteriores em literatura.

No lúpus há diferentes formas de realizar a triagem e/ou diagnóstico de comprometimento cognitivo em ambas as faixas etárias, dentre as quais está o software ANAM^{133,168,169}. Como descrito anteriormente, uma maior prevalência de disfunção cognitiva, especialmente nos subtestes que avaliam a memória e atenção pôde ser observada em pacientes com lúpus de início adulto comparado a controles saudáveis^{111,112}; dentre os achados vale resaltar a prevalência de distúrbio cognitivo nos pacientes juvenis, ao compararem à outros estudos que utilizaram a mesma ferramenta; sendo de 19,5% semelhante ao observado em literatura¹¹¹.

Nossos resultados assemelham-se em parte com os achados observados, visto que em nosso estudo os pacientes com distúrbio cognitivo apresentaram uma baixa porcentagem de acertos somente nos subtestes que avaliam o processamento visoespacial, a memória de trabalho e a memória visual de reconhecimento de curto prazo (correspondendo à amostra), seguido do subteste que mensura a memória de curto prazo e a atenção (pesquisa de memória), contudo para os demais subtestes que avaliam o tempo de reação simples, o tempo de reação processual, substituição de código – aprendizado, processamento espacial e processamento matemático não houve semelhança entre os dois estudos, sendo este outro achado inédito encontrado em nossa amostra, não sendo observado relatos anteriores em literatura.

Quanto aos índices de desempenho, nosso estudo utilizou os índices PVI e CPS's: (PedANAM-CPS_{UWA}, PedANAM-CPS_{PCA}, PedANAM-CPS_{logit} e PedANAM-CPS_{multiscore}) para calcular a pontuação de escala do desempenho cognitivo dos pacientes¹¹⁰.

Nossos resultados apresentaram diferença significativa somente quanto ao índice PVI com maior pontuação nos pacientes com distúrbio cognitivo (dezesesseis pontos) quando comparado a pacientes sem distúrbio cognitivo (quatro pontos) como esperado considerando-se seu ponto de corte (quatorze pontos)^{111,133,135}, em outro estudo descrito anteriormente, comparando a mediana do PVI entre pacientes juvenis e controles saudáveis dentre os achados, vale ressaltar a mediana observada nos pacientes, que mostrou-se maior quando comparado a controles saudáveis (sete versus cinco pontos)¹¹¹, sabe-se que algumas condições neuropsiquiátricas especialmente ansiedade e depressão foram associadas ao aumento de prevalência de distúrbio cognitivo nos pacientes^{170,171}.

Logo, estudos que investiguem sua correlação com outras manifestações clínicas são essenciais para prática clínica, refletindo sobretudo quanto a efetividade do tratamento nos pacientes¹⁷². Nosso estudo não abordou tal correlação, optando por investigar parâmetros mais amplos incluindo citocinas, NR-2, subtestes e seus respectivos índices de desempenho sendo este um ponto importante a ser investigado em análises futuras.

Quanto a análise de correlação realizada entre as concentrações de citocinas nos pacientes, houve correlação direta entre todas as citocinas Th1 e Th2, sendo este outro achado inédito encontrado em nossa amostra, não sendo observado relatos anteriores em literatura, sendo a IL-4 e IL-6 ($r=0,80$, $p<0,001$), IL-10 e IFN-gama ($r=0,60$, $p<0,001$), IL-12 e IFN-gama ($r=0,60$, $p<0,001$), IL-10 e IL-12 ($r=0,57$, $p<0,001$), IL-4 e IL-10 ($r=0,56$, $p<0,001$), IL-6 e IL-10 ($r=0,51$, $p<0,001$), IL-10 e TNF-gama ($r=0,50$, $p<0,001$), as que se correlacionaram mais fortemente, contudo em relação à dosagem de NR-2 não pode ser observada nenhuma correlação significativa.

Algumas limitações do estudo precisam ser reconhecidas, como o fato de termos realizado uma avaliação transversal do distúrbio cognitivo, visto que no lúpus observam-se flutuações, podendo ter sido sub ou superestimada sua correlação entre os achados observados.

Outra limitação foi o número de pacientes que realizaram a avaliação cognitiva, contemplando em parte nossa amostra, contudo a utilização de ambos os instrumentos em conjunto Ped-ANAM e MoCA, levou-nos a uma maior confiabilidade quanto à avaliação cognitiva, principalmente em relação a bateria de testes cognitivos que nos permitiu identificar os domínios cognitivos mais afetados.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados mostraram uma maior concentração sérica de IL-12, IFN-gama e TNF no grupo com MNP recente comparado ao grupo MNP ausente.

Houve diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de IL-4 e IL-6, ambas com maior concentração em pacientes sem distúrbio cognitivo.

Houve uma maior frequência de positividade do anticorpo anti-P ribossomal em pacientes com MNP recente, seguida de pacientes com MNP pregressa.

Os pacientes com distúrbio cognitivo apresentaram uma menor pontuação nos subtestes que avaliam o tempo de reação processual, substituição de código – aprendido, processamento espacial, processamento matemático, correspondendo à amostra e pesquisa de memória. Além de uma grande variabilidade no subteste que avalia o tempo de reação simples entre os pacientes com distúrbio cognitivo.

Quanto aos índices de desempenho, houve diferença significativa entre os grupos somente quanto ao PVI, com maior pontuação nos pacientes com distúrbio cognitivo, como esperado.

As citocinas Th1 e Th2 apresentaram uma correlação direta, sendo a IL-4 e IL-6 ($r=0,80$, $p<0,001$), IL-10 e INF-gama ($r=0,60$, $p<0,001$), IL-12 e INF-gama ($r=0,60$, $p<0,001$), IL-10 e IL-12 ($r=0,57$, $p<0,001$), IL-4 e IL-10 ($r=0,56$, $p<0,001$), IL-6 e IL-10 ($r=0,51$, $p<0,001$), IL-10 e IFN-gama ($r=0,50$, $p<0,001$) as que correlacionaram-se mais fortemente.

8. REFERÊNCIAS

1. Machado, C., & Ruperto, N. (2005). Consensus in pediatric rheumatology: part II- definition of clinical improvement in systemic lupus erythematosus and juvenile dermatomyositis. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 45, 14-19.
2. Dubois, E. L., & Tuffanelli, D. L. (1964). Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus: computer analysis of 520 cases. *Jama*, 190(2), 104-111.
3. O'Neill S, Cervera R. Systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010; 6:841-55.
4. DiFrancesco, M. W., Holland, S. K., Ris, M. D., Adler, C. M., Nelson, S., DelBello, M. P., ... & Brunner, H. I. (2007). Functional magnetic resonance imaging assessment of cognitive function in childhood-onset systemic lupus erythematosus: a pilot study. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 56(12), 4151-4163.
5. Mina, R., & Brunner, H. I. (2010). Pediatric lupus—are there differences in presentation, genetics, response to therapy, and damage accrual compared with adult lupus?. *Rheumatic Disease Clinics*, 36(1), 53-80.
6. Levy, D. M., & Kamphuis, S. (2012). Systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Pediatric Clinics*, 59(2), 345-364.
7. Silva, C. A., Avcin, T., & Brunner, H. I. (2012). Taxonomy for systemic lupus erythematosus with onset before adulthood. *Arthritis care & research*, 64(12), 1787-1793.
8. Harry, O., Yasin, S., & Brunner, H. (2018). Childhood-onset systemic lupus erythematosus: a review and update. *The Journal of pediatrics*, 196, 22-30.
9. Pineles, D., Valente, A., Warren, B., Peterson, M. G. E., Lehman, T. J. A., & Moorthy, L. N. (2011). Worldwide incidence and prevalence of pediatric onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 20(11), 1187-1192.
10. Bortolini, M. F. F., Pereira, V. P., Gomes Dos Santos, T. A., Nisihara, R., & Skare, T. L. (2021). Systemic lupus erythematosus in children and adults: A retrospective study in Brazilian patients. *Lupus*, 30(7), 1197-1202.
11. Levinsky, Y., Broide, M., Kagan, S., Goldberg, O., Scheuerman, O., Tal, R., ... & Amarilyo, G. (2021). Performance of 2019 EULAR/ACR classification criteria for

systemic lupus erythematosus in a paediatric population—a multicentre study. *Rheumatology*, 60(11), 5142-5148.

12. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982 Nov;25(11):1271-7. doi: 10.1002/art.1780251101.

13. Hochberg, M. C. (1997). Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*, 40(9), 1725-1725.

14. Petri, M., Orbai, A. M., Alarcón, G. S., Gordon, C., Merrill, J. T., Fortin, P. R., ... & Magder, L. S. (2012). Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 64(8), 2677-2686.

15. Aringer, M., Costenbader, K., Daikh, D., Brinks, R., Mosca, M., Ramsey-Goldman, R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis & rheumatology*, 71(9), 1400-1412.

16. Silva CA, Hilário MO, Febrônio MV, Oliveira SK, Terreri MT, Sacchetti SB, Sztajn bok FR, Marini R, Quintero MV, Bica BE, Pereira RM, Bonfá E, Ferriani VP, Robazzi TC, Magalhães CS. Risk factors for amenorrhea in juvenile systemic lupus erythematosus (JSLE): a Brazilian multicentre cohort study. *Lupus*. 2007;16(7):531-6.

17. Azulay L, Bonalumi A, Azulay DR, Leal F. Atlas of dermatology: from semiology to diagnosis. Dermatological conditions from A to Z. 2nd Ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan. P. 108 – 118, 2007.

18. Schlomer ARZ. Clinical manifestations and 5- and 10-year survival of 79 children and adolescents with Systemic Lupus Erythematosus followed at the University Hospital Pedro Ernesto Niterói (Dissertation). Niterói: Federal Fluminense College, Niterói, 2006.

19. Tarvin, S. E., & O’Neil, K. M. (2018). Systemic lupus erythematosus, Sjögren syndrome, and mixed connective tissue disease in children and adolescents. *Pediatric Clinics*, 65(4), 711-737.

20. Sztajn bok FR, Serra CR, Rodrigues MC, Mendoza E. Doenças reumáticas na adolescência [Rheumatic diseases in adolescence]. *J Pediatr (Rio J)*. 2001 Nov;77 Suppl 2:S234-44. Portuguese.

21. Miguelez MCAS. Lupus Erythematosus in childhood: retrospective study with emphasis on its cutaneous manifestations, classification and evolution. (Dissertation). São Paulo: Faculty of Medicine of the University of São Paulo, São Paulo, 2008.
22. Azevedo ARM, Klumb E, Stajnbok FR. Clinical manifestations and survival of 79 children and adolescents with systemic lupus erythematosus followed at HUPE/UERJ. SRRJ Newsletter. Rio de Janeiro, vol. 34, no. 121, p. 7-14, 2006.
23. Sibbitt WL Jr, Brandt JR, Johnson CR, Maldonado ME, Patel SR, Ford CC, et al. The incidence and prevalence of neuropsychiatric syndromes in pediatric onset systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2002 Jul;29(7):1536-42.
24. Olfat MO, Al-Mayouf SM, Muzaffer MA. Pattern of neuropsychiatric manifestations and outcome in juvenile systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2004 Oct;23(5):395-9.
25. Giani T, Smith EM, Al-Abadi E, Armon K, Bailey K, Ciurtin C, et al. Neuropsychiatric involvement in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: Data from the UK Juvenile-onset systemic lupus erythematosus cohort study. *Lupus*. 2021 Oct;30(12):1955-1965.
26. The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum*. 1999 Apr;42(4):599-608.
27. Harry O, Yasin S, Brunner H. Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus: A Review and Update. *J Pediatr*. 2018 May;196:22-30.e2.
28. Silva, C. A. (2016). Childhood-onset systemic lupus erythematosus: early disease manifestations that the paediatrician must know. *Expert Review of Clinical Immunology*, 12(9), 907-910.
29. Smith, E. M. D., Lythgoe, H., Midgley, A., Beresford, M. W., & Hedrich, C. M. (2019). Juvenile-onset systemic lupus erythematosus: update on clinical presentation, pathophysiology and treatment options. *Clinical Immunology*, 209, 108274.
30. Unterman, A., Nolte, J. E., Boaz, M., Abady, M., Shoenfeld, Y., & Zandman-Goddard, G. (2011, August). Neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 41, No. 1, pp. 1-11). WB Saunders.

31. Bortoluzzi, A., Silvagni, E., Furini, F., Piga, M., & Govoni, M. (2019). Peripheral nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a review of the evidence. *Clinical and experimental rheumatology*, 37(1), 146-155.
32. Toledano, P., Orueta, R., Rodríguez-Pintó, I., Valls-Solé, J., Cervera, R., & Espinosa, G. (2017). Peripheral nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: prevalence, clinical and immunological characteristics, treatment and outcome of a large cohort from a single centre. *Autoimmunity Reviews*, 16(7), 750-755.
33. Crow MK. Lúpus Eritematoso Sistêmico. In: Goldman L, Ausiello D, Cecil Medicina, 23 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 2326 – 2337, 2009.
34. Tang SP, Lim SC, Arkachaisri T. Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus: Southeast Asian Perspectives. *J Clin Med*. 2021 Feb 3;10(4):559.
35. Lopes, S. R., Gormezano, N. W. S., Gomes, R. C., Aikawa, N. E., Pereira, R. M., Terreri, M. T., ... & Brazilian Childhood-onset Systemic Lupus Erythematosus Group. (2017). Outcomes of 847 childhood-onset systemic lupus erythematosus patients in three age groups. *Lupus*, 26(9), 996-1001.
36. Silva, C. A. (2016). Childhood-onset systemic lupus erythematosus: early disease manifestations that the paediatrician must know. *Expert Review of Clinical Immunology*, 12(9), 907-910.
37. Frey, N. P., & Davis, E. P. (2016, February). Launch and Commissioning of the Deep Space Climate Observatory. In AAS Guidance, Navigation and Control Conference (No. GSFC-E-DAA-TN29027).
38. Gormezano, N. W. S., Kern, D., Pereira, O. L., Esteves, G. C. X., Sallum, A. M. E., Aikawa, N. E., ... & Bonfá, E. (2017). Autoimmune hemolytic anemia in systemic lupus erythematosus at diagnosis: differences between pediatric and adult patients. *Lupus*, 26(4), 426-430.
39. Wenderfer SE, Eldin KW. Lupus Nephritis. *Pediatr Clin North Am*. 2019 Feb;66(1):87-99.
40. Novak GV, Marques M, Balbi V, Gormezano NW, Kozu K, Sakamoto AP, Pereira RM, et al. Anti-RO/SSA and anti-La/SSB antibodies: Association with mild lupus manifestations in 645 childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2017 Feb;16(2):132-135.

41. Miguelez MCAS. Lupus Erythematosus in childhood: retrospective study with emphasis on its cutaneous manifestations, classification and evolution. 2008. 116f. (Dissertation). São Paulo: Faculty of Medicine of the University of São Paulo, São Paulo, 2008.
42. Soares JLMF. Diagnostic methods: quick consultation/organizers, José Luiz Möller Flores Soares et. al. – 2 ed. – Porto Alegre: Artmed, 2012.
43. Groot N, de Graeff N, Avcin T, Bader-Meunier B, Brogan P, Dolezalova P, et al. European evidence-based recommendations for diagnosis and treatment of childhood-onset systemic lupus erythematosus: the SHARE initiative. *Ann Rheum Dis*. 2017 Nov;76(11):1788-1796.
44. Avcin T, Silverman ED. Antiphospholipid antibodies in pediatric systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2007;16(8):627-33.
45. Singh, S., Gupta, M. K., Ahluwalia, J., Singh, P., & Malhi, P. (2009). Neuropsychiatric manifestations and antiphospholipid antibodies in pediatric onset lupus: 14 years of experience from a tertiary center of North India. *Rheumatology international*, 29, 1455-1461.
46. Avcin, T., Cimaz, R., Silverman, E. D., Cervera, R., Gattorno, M., Garay, S., ... & Meroni, P. L. (2008). Pediatric antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic features of 121 patients in an international registry. *Pediatrics*, 122(5), e1100-e1107.
47. Sawhney, S. (2016). Childhood Lupus–Diagnosis and Management. *The Indian Journal of Pediatrics*, 83, 146-155.
48. Jafri K, Patterson SL, Lanata C. Central Nervous System Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*. 2017 Nov;43(4):531-545.
49. Rhiannon JJ. Systemic lupus erythematosus involving the nervous system: presentation, pathogenesis, and management. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008 Jun;34(3):356-60.
50. Magro-Checa C, Zirkzee EJ, Huizinga TW, Steup-Beekman GM. Management of Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus: Current Approaches and Future Perspectives. *Drugs*. 2016 Mar;76(4):459-83.
51. Jeltsch-David H, Muller S. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: pathogenesis and biomarkers. *Nat Rev Neurol*. 2014 Oct;10(10):579-96.

52. Levite M. Glutamate receptor antibodies in neurological diseases. *J Neural Transm* (Vienna). 2014;121:1029-75.
53. Kapadia M, Sakic B. Autoimmune and inflammatory mechanisms of CNS damage. *Prog Neurobiol*. 2011 Nov;95(3):301-33.
54. Diamond B, Volpe BT. Antibodies and brain disease: a convergence of immunology and physiology. *PLoS Med*. 2006 Dec;3(12):e498.
55. Kowal C, Degiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, Volpe BT, et al. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Dec 26;103(52):19854-9.
56. Nishimura K, Harigai M, Omori M, Sato E, Hara M. Blood-brain barrier damage as a risk factor for corticosteroid-induced psychiatric disorders in systemic lupus erythematosus. *Psychoneuroendocrinology*. 2008 Apr;33(3):395-403
57. Deijns SJ, Broen JCA, Kruyt ND, Schubart CD, Andreoli L, Tincani A, et al. The immunologic etiology of psychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus: A narrative review on the role of the blood brain barrier, antibodies, cytokines and chemokines. *Autoimmun Rev*. 2020 Aug;19(8):102592.
58. Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today*. 1997 Jun;18(6):263-6.
59. Wilder RL. Hormones, pregnancy, and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 1998 May 1;840:45-50.
60. Richaud-Patin Y, Alcocer-Varela J, Llorente L. High levels of TH2 cytokine gene expression in systemic lupus erythematosus. *Rev Invest Clin*. 1995 Jul-Aug;47(4):267-72.
61. Okamoto H, Kobayashi A, Yamanaka H. Cytokines and chemokines in neuropsychiatric syndromes of systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:268436.
62. Cutolo M, Sulli A, Villaggio B, Seriolo B, Accardo S. Relations between steroid hormones and cytokines in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 1998 Oct;57(10):573-7.
63. Llorente L, Richaud-Patin Y, Wijdenes J, Alcocer-Varela J, Maillot MC, Durand-Gasselin I, et al. Spontaneous production of interleukin-10 by B lymphocytes and monocytes in systemic lupus erythematosus. *Eur Cytokine Netw*. 1993 Nov-Dec;4(6):421-7.

64. Gómez D, Correa PA, Gómez LM, Cadena J, Molina JF, Anaya JM. Th1/Th2 cytokines in patients with systemic lupus erythematosus: is tumor necrosis factor alpha protective? *Semin Arthritis Rheum.* 2004 Jun;33(6):404-13.
65. Tucci M, Lombardi L, Richards HB, Dammacco F, Silvestris F. Overexpression of interleukin-12 and T helper 1 predominance in lupus nephritis. *Clin Exp Immunol.* 2008 Nov;154(2):247-54.
66. McCarthy EM, Smith S, Lee RZ, Cunnane G, Doran MF, Donnelly S, et al. The association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford).* 2014 Sep;53(9):1586-94.
67. Jones BM, Liu T, Wong RW. Reduced in vitro production of interferon-gamma, interleukin-4 and interleukin-12 and increased production of interleukin-6, interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha in systemic lupus erythematosus. Weak correlations of cytokine production with disease activity. *Autoimmunity.* 1999 Oct;31(2):117-24.
68. Nagai T, Yanagida T, Hirohata S. Anti-ribosomal P protein antibody induces Th1 responses by enhancing the production of IL-12 in activated monocytes. *Mod Rheumatol.* 2011 Feb;21(1):57-62.
69. Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2000;9(8):589-93.
70. Hirohata S, Hayakawa K. Enhanced interleukin-6 messenger RNA expression by neuronal cells in a patient with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1999 Dec;42(12):2729-30.
71. Hirohata S, Kikuchi H. Role of Serum IL-6 in Neuropsychiatric Systemic lupus Erythematosus. *ACR Open Rheumatol.* 2021 Jan;3(1):42-49.
72. Postal M, Peliçari KO, Sinicato NA, Marini R, Costallat LT, Appenzeller S. Th1/Th2 cytokine profile in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Cytokine.* 2013 Mar;61(3):785-91.
73. Chun HY, Chung JW, Kim HA, Yun JM, Jeon JY, Ye YM, et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol.* 2007 Sep;27(5):461-6.

74. Park YB, Lee SK, Kim DS, Lee J, Lee CH, Song CH. Elevated interleukin-10 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 1998 May-Jun;16(3):283-8.
75. Beebe AM, Cua DJ, de Waal Malefyt R. The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS). *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002 Aug-Oct;13(4-5):403-12.
76. Peng H, Wang W, Zhou M, Li R, Pan HF, Ye DQ. Role of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2013 Sep;32(9):1255-66.
77. Mirabelli G, Cannarile F, Bruni C, Vagelli R, De Luca R, Carli L. One year in review 2015: systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2015 May-Jun;33(3):414-25. Epub 2015 Jun 22.
78. Bărbulescu AL, Sandu RE, Vreju AF, Ciurea PL, Criveanu C, Firulescu SC, et al. Neuroinflammation in systemic lupus erythematosus - a review. *Rom J Morphol Embryol*. 2019;60(3):781-786.
79. Postal M, Ruocco HH, Brandão CO, Costallat LTL, Silva L, Cendes F, et al. Interferon- γ Is Associated with Cerebral Atrophy in Systemic Lupus Erythematosus. *Neuroimmunomodulation*. 2017;24(2):100-105.
80. Stock AD, Gelb S, Pasternak O, Ben-Zvi A, Putterman C. The blood brain barrier and neuropsychiatric lupus: new perspectives in light of advances in understanding the neuroimmune interface. *Autoimmun Rev*. 2017 Jun;16(6):612-619.
81. Weiner, S. M., Klein, R., & Berg, P. A. (2000). A longitudinal study of autoantibodies against central nervous system tissue and gangliosides in connective tissue diseases. *Rheumatology international*, 19, 83-88.
82. Marinelli, L., Cosconati, S., Steinbrecher, T., Limongelli, V., Bertamino, A., Novellino, E., & Case, D. A. (2007). Homology modeling of NR2B modulatory domain of NMDA receptor and analysis of ifenprodil binding. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 2(10), 1498-1510.
83. Yang, Y., Yuan, C., Shen, S. Q., Wang, X. E., Mei, Q. H., Jiang, W. Q., & Huang, Q. (2017). Autoantibodies to NR2A peptide of the glutamate/NMDA receptor in patients with seizure disorders in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Mediators of Inflammation*, 2017.

84. Lauvsnes, M. B., Tjensvoll, A. B., Maroni, S. S., Kvivik, I., Grimstad, T., Greve, O. J., ... & Omdal, R. (2018). The blood–brain barrier, TWEAK, and neuropsychiatric involvement in human systemic lupus erythematosus and primary Sjögren’s syndrome. *Lupus*, 27(13), 2101-2111.
85. Chen, H. S. V., & Lipton, S. A. (2006). The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists. *Journal of neurochemistry*, 97(6), 1611-1626.
86. Loureiro CM. Serum quantification of NR1 and NR2 subunits of the N-Methyl-D-Aspartate receptor in a first-episode mental disorder with psychotic manifestations. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2016.
87. Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, et al. The clinical relevance of antibodies to ribosomal-P common epitope in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a large cohort of consecutive patients and patients with active central nervous system disease. *Ann Rheum Dis*. 2000 Feb;59(2):99-104.
88. Briani C, Lucchetta M, Ghirardello A, Toffanin E, Zampieri S, Ruggero S, et al. Neurolupus is associated with anti-ribosomal P protein antibodies: an inception cohort study. *J Autoimmun*. 2009 Mar;32(2):79-84.
89. Isshi K, Hirohata S. Association of anti-ribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1996 Sep;39(9):1483-90.
90. Hulse M, Goldstein R, Scully L, Surbeck W, Reichlin M. Anti-ribosomal P antibodies in systemic lupus erythematosus: a case-control study correlating hepatic and renal disease. *Clin Immunol Immunopathol*. 1995 Mar;74(3):252-6.
91. Martin AL, Reichlin M. Fluctuations of antibody to ribosomal P proteins correlate with appearance and remission of nephritis in SLE. *Lupus*. 1996 Feb;5(1):22-9.
92. Pisoni, C. N., Muñoz, S. A., Carrizo, C., Cosatti, M., Álvarez, A., Dubinsky, D., ... & Eimon, A. (2015). Multicentric Prevalence Study of Anti-P Ribosomal Autoantibodies in Juvenile Onset Systemic Lupus Erythematosus Compared With Adult Onset Systemic Lupus Erythematosus. *Reumatología Clínica (English Edition)*, 11(2), 73-77.
93. Press, J., Palayew, K., Laxer, R. M., Elkon, K., Eddy, A., Rakoff, D., & Silverman, E. D. (1996). Antiribosomal P antibodies in pediatric patients with systemic lupus

erythematosus and psychosis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 39(4), 671-676.

94. Reichlin, M., Broyles, T. F., Hubscher, O., James, J., Lehman, T. A., Palermo, R., ... & Wolfson-Reichlin, M. (1999). Prevalence of autoantibodies to ribosomal P proteins in juvenile-onset systemic lupus erythematosus compared with the adult disease. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 42(1), 69-75.

95. Aldar, H., Lapa, A. T., Bellini, B., Sinicato, N. A., Postal, M., Fernandes, P. T., ... & Appenzeller, S. (2012). Prevalence and clinical significance of anti-ribosomal P antibody in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 21(11), 1225-1231.

96. Matus, S., Burgos, P. V., Bravo-Zehnder, M., Kraft, R., Porras, O. H., Farías, P., ... & González, A. (2007). Antiribosomal-P autoantibodies from psychiatric lupus target a novel neuronal surface protein causing calcium influx and apoptosis. *The Journal of experimental medicine*, 204(13), 3221-3234.

97. Moscovitch, S. D., Szyper-Kravitz, M., & Shoenfeld, Y. (2009). Autoimmune pathology accounts for common manifestations in a wide range of neuro-psychiatric disorders: the olfactory and immune system interrelationship. *Clinical Immunology*, 130(3), 235-243.

98. Olfat, M. O., Al-Mayouf, S. M., & Muzaffer, M. A. (2004). Pattern of neuropsychiatric manifestations and outcome in juvenile systemic lupus erythematosus. *Clinical rheumatology*, 23, 395-399.

99. Sanna, G., Bertolaccini, M. L., & Mathieu, A. (2003). Central nervous system lupus: a clinical approach to therapy. *Lupus*, 12(12), 935-942.

100. Appenzeller, S., Marini, R., & Costallat, L. T. L. (2005). Survival curve and prognosis factors in the childhood systemic lupus erythematosus. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 45, 195-200.

101. Tanaka Y. Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus. *Brain Nerve*. 2019 May;71(5):445-458.

102. Mohamed, A., Chen, Y., Wu, H., Liao, J., Cheng, B., & Lu, Q. (2019). Therapeutic advances in the treatment of SLE. *International Immunopharmacology*, 72, 218-223.

103. Tektonidou, M. G., Andreoli, L., Limper, M., Amoura, Z., Cervera, R., Costedoat-Chalumeau, N., ... & Ward, M. M. (2019). EULAR recommendations for the management

of antiphospholipid syndrome in adults. *Annals of the rheumatic diseases*, 78(10), 1296-1304.

104. Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx*. 2004 Apr;1(2):182-8.

105. Biomarkers Definitions Working Group, Atkinson Jr, A. J., Colburn, W. A., DeGruttola, V. G., DeMets, D. L., Downing, G. J., ... & Zeger, S. L. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical pharmacology & therapeutics*, 69(3), 89-95.

106. Goldman, J., Becker, M. L., Jones, B., Clements, M., & Leeder, J. S. (2011). Development of biomarkers to optimize pediatric patient management: what makes children different?. *Biomarkers in medicine*, 5(6), 781-794.

107. Rubinstein, T. B., Putterman, C., & Goilav, B. (2015). Biomarkers for CNS involvement in pediatric lupus. *Biomarkers in medicine*, 9(6), 545-558.

108. Appenzeller, S., Pike, G. B., & Clarke, A. E. (2008). Magnetic resonance imaging in the evaluation of central nervous system manifestations in systemic lupus erythematosus. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 34, 361-366.

109. Frittoli, R. B., Pereira, D. R., Rittner, L., & Appenzeller, S. (2020). Proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) in rheumatic autoimmune diseases: A systematic review. *Lupus*, 29(14), 1873-1884.

110. Vega-Fernandez, P., Vanderburgh White, S., Zelko, F., Ruth, N. M., Levy, D. M., Muscal, E., ... & Brunner, H. I. (2015). Cognitive performance scores for the pediatric automated neuropsychological assessment metrics in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis care & research*, 67(8), 1119-1127.

111. de Amorim, J. C., Kishimoto, S. T., Elorza, C. L. C., Cavaletti, F. A., Marini, R., Silva, C. A., ... & Appenzeller, S. (2022). Cross-cultural adaptation and initial validation of the Brazilian-Portuguese version of the pediatric automated neuropsychological assessment metrics. *Frontiers in Psychology*, 13, 945425.

112. de Amorim, J. C., Sepresse, S. R., Vivaldo, J. F., Julio, P. R., Kishimoto, S. T., Marini, R., ... & Appenzeller, S. (2022). Cognitive Performance in Patients with Systemic Lupus Erythematosus Using the Ped-ANAM. *Cells*, 11(24), 4054.

113. Elkon, K., Skelly, S., Parnassa, A., Moller, W., Danho, W., Weissbach, H., & Brot, N. (1986). Identification and chemical synthesis of a ribosomal protein antigenic

determinant in systemic lupus erythematosus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(19), 7419-7423.

114. Bonfa, E., Golombek, S. J., Kaufman, L. D., Skelly, S., Weissbach, H., Brot, N., & Elkon, K. B. (1987). Association between lupus psychosis and antiribosomal P protein antibodies. *New England Journal of Medicine*, 317(5), 265-271.

115. Katzav, A., Solodeev, I., Brodsky, O., Chapman, J., Pick, C. G., Blank, M., ... & Shoenfeld, Y. (2007). Induction of autoimmune depression in mice by anti-ribosomal P antibodies via the limbic system. *Arthritis & Rheumatism*, 56(3), 938-948.

116. Arnett, F. C., Reveille, J. D., Moutsopoulos, H. M., Georgescu, L., & Elkon, K. B. (1996). Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis & Rheumatism*, 39(11), 1833-1839.

117. Haddouk, S., Marzouk, S., Jallouli, M., Fourati, H., Frigui, M., Hmida, Y. B., ... & Masmoudi, H. (2009). Clinical and diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*, 48(8), 953-957.

118. Muhammad Yusoff, F., Wong, K. K., & Mohd Redzwan, N. (2020). Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*, 53(1), 8-20.

119. Lit, L. C. W., Wong, C. K., Li, E. K. M., Tam, L. S., Lam, C. W. K., & Lo, Y. M. D. (2007). Elevated gene expression of Th1/Th2 associated transcription factors is correlated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*, 34(1), 89-96.

120. Santer, D. M., Yoshio, T., Minota, S., Möller, T., & Elkon, K. B. (2009). Potent induction of IFN- α and chemokines by autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric lupus. *The Journal of Immunology*, 182(2), 1192-1201.

121. Frittoli, R. B. (2021). Avaliação longitudinal de neurometabólitos na substância branca e sua associação com manifestações neuropsiquiátricas e citocinas Th1 e Th2 em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (Doctoral dissertation, [sn]).

122. Harris, E. N., Gharavi, A. E., Patel, S. P., & Hughes, G. R. (1987). Evaluation of the anti-cardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 April 1986. *Clinical and experimental immunology*, 68(1), 215.

123. Brandt, J. T., Triplett, D. A., Alving, B., & Scharrer, I. (1995). Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thrombosis and haemostasis*, 74(10), 1185-1190.
124. Freire EAM, Souto LM, Ciconelli R. M. Medidas de Avaliação em lupus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol*. 2011; 51 (1): 70-80.
125. Yee, C. S., Farewell, V. T., Isenberg, D. A., Griffiths, B., Teh, L. S., Bruce, I. N., ... & Gordon, C. (2011). The use of Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index-2000 to define active disease and minimal clinically meaningful change based on data from a large cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology*, 50(5), 982-988.
126. Gladman, D. D., Urowitz, M. B., Goldsmith, C. H., Fortin, P., Ginzler, E., Gordon, C., ... & Sturfelt, G. (1997). The reliability of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 40(5), 809-813.
127. Beck, A. T., Ward, C. H., Mendelson, M., Mock, J., & Erbaugh, J. (1961). An inventory for measuring depression. *Archives of general psychiatry*, 4(6), 561-571.
128. Gomes-Oliveira, M. H., Gorenstein, C., Lotufo Neto, F., Andrade, L. H., & Wang, Y. P. (2012). Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 34, 389-394.
129. Beck, A. T., Epstein, N., Brown, G., & Steer, R. A. (1988). An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. *Journal of consulting and clinical psychology*, 56(6), 893.
130. Quintão, S., Delgado, A. R., & Prieto, G. (2013). Estudo de validade da versao portuguesa do Beck Anxiety Inventory mediante o modelo Rasch Rating Scale. *Psicologia: Reflexao & Critica*, 26(2), 305-311.
131. Reeves, D., Kane, R., & Winter, K. (1996). Automated Neuropsychological Assessment Metrics (ANAM V3. 11a/96) user's manual: clinical and neurotoxicology subset (Report No. NCRF-SR-96-01). San Diego: National Cognitive Foundation.
132. Oliveira DL, Oliveira J, Ribeiro K, Manual do Usuário Roebuck-Spencer TM. ANAM Pediatric Version (Ped-ANAM); Hospital Nacional de Reabilitação: Washington, DC, EUA, 2004.

133. Reeves, D. L., Bleiberg, J., Winter, K., & Roebuck-Spencer, T. M. (2004). ANAM Pediatric Version (Ped-ANAM) User's Manual. Washington (DC): National Rehabilitation Hospital.
134. Brunner, H. I., Klein-Gitelman, M. S., Zelko, F., Thomas, E. C., Hummel, J., Nelson, S. M., ... & Ying, J. (2013). Validation of the Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis care & research*, 65(3), 372-381.
135. Cognitive Science Research Center. Administration Manual the Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics (Ped-ANAM); University of Oklahoma: Norman, OK, USA, 2014.
136. Reeves, D., Kane, R., & Winter, K. (1996). Automated Neuropsychological Assessment Metrics (ANAM V3. 11a/96) user's manual: clinical and neurotoxicology subset (Report No. NCRF-SR-96-01). San Diego: National Cognitive Foundation.
137. Tayer-Shifman, O. E., Yuen, K., Green, R., Kakvan, M., Katz, P., Bingham, K. S., ... & Touma, Z. (2023). Assessing the Utility of the Montreal Cognitive Assessment in Screening for Cognitive Impairment in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Care & Research*, 75(3), 569-577.
138. Memória, C. M., Yassuda, M. S., Nakano, E. Y., & Forlenza, O. V. (2013). Brief screening for mild cognitive impairment: validation of the Brazilian version of the Montreal cognitive assessment. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 28(1), 34-40.
139. Ravelli, A., Duarte-Salazar, C., Buratti, S., Reiff, A., Bernstein, B., Maldonado-Velazquez, M. R., ... & Martini, A. (2003). Assessment of damage in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a multicenter cohort study. *Arthritis Care & Research: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 49(4), 501-507.
140. Adhikari, T., Piatti, A., & Luggen, M. (2011). Cognitive dysfunction in SLE: development of a screening tool. *Lupus*, 20(11), 1142-1146.
141. Maneeton, B., Maneeton, N., & Louthrenoo, W. (2013). Prevalence and predictors of depression in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 799-804.

142. Kivity, S., Agmon-Levin, N., Zandman-Goddard, G., Chapman, J., & Shoenfeld, Y. (2015). Neuropsychiatric lupus: a mosaic of clinical presentations. *BMC medicine*, 13, 1-11.
143. Fernandes, H., & Brito, I. (2012). Juvenile systemic lupus erythematosus: neuropsychiatric manifestations. *Acta Reumatol Port*, 37(2), 117-125.
144. Buji, R. I., Abdul Murad, N. A., Chan, L. F., Maniam, T., Mohd Shahrir, M. S., Rozita, M., ... & Nik Jaafar, N. R. (2018). Suicidal ideation in systemic lupus erythematosus: NR2A gene polymorphism, clinical and psychosocial factors. *Lupus*, 27(5), 744-752.
145. Hajduk, A., Nowicka-Sauer, K., Smoleńska, Ż., Czuszyńska, Z., & Zdrojewski, Z. (2016). Prevalence and correlates of suicidal thoughts in patients with neuropsychiatric lupus. *Lupus*, 25(2), 185-192.
146. De OPK. (2017). Avaliação comparativa em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início adulto e juvenil: perfil clínico, laboratorial e citocinas IL-6, IL-10 e IL-12 (Doctoral dissertation, [sn]).
147. Tucker, L. B., Menon, S., Schaller, J. G., & Isenberg, D. A. (1995). Adult-and childhood-onset systemic lupus erythematosus: a comparison of onset, clinical features, serology, and outcome. *Rheumatology*, 34(9), 866-872.
148. Font, J., Cervera, R., Espinosa, G., Pallarés, L., Ramos-Casals, M., Jiménez, S., ... & Ingelmo, M. (1998). Systemic lupus erythematosus (SLE) in childhood: analysis of clinical and immunological findings in 34 patients and comparison with SLE characteristics in adults. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 57(8), 456-459.
149. Carreno, L., Lopez-Longo, F. J., Monteagudo, I., Rodriguez-Mahou, M., Bascones, M., Gonzalez, C. M., ... & Lapointe, N. (1999). Immunological and clinical differences between juvenile and adult onset of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 8(4), 287-292.
150. Gomes, R. C. (2018). Características clínicas e laboratoriais de 847 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil em três grupos etários ao diagnóstico da doença: um estudo multicêntrico brasileiro (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
151. Mejia-Vilet, J. M., & Rovin, B. H. (2019). Epidemiology and management of lupus nephritis. In *Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes* (pp. 727-744). Elsevier.

152. Smith, E. M., Yin, P., Jorgensen, A. L., & Beresford, M. W. (2018). Clinical predictors of active LN development in children—evidence from the UK JSLE cohort study. *Lupus*, 27(13), 2020-2028.
153. Kamphuis S, Silverman ED. Prevalence and burden of pediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*. 2010 Sep;6(9):538-46.
154. Sciascia, S., Bertolaccini, M. L., Roccatello, D., Khamashta, M. A., & Sanna, G. (2014). Autoantibodies involved in neuropsychiatric manifestations associated with systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Journal of neurology*, 261, 1706-1714.
155. Brunner, H. I., Klein-Gitelman, M. S., Ying, J., Tucker, L. B., & Silverman, E. D. (2009). Corticosteroid use in childhood-onset systemic lupus erythematosus-practice patterns at four pediatric rheumatology centers. *Clin Exp Rheumatol*, 27(1), 155-62.
156. Lee, S. J., Silverman, E., & Bargman, J. M. (2011). The role of antimalarial agents in the treatment of SLE and lupus nephritis. *Nature Reviews Nephrology*, 7(12), 718-729.
157. Gatto, M., Zen, M., Iaccarino, L., & Doria, A. (2019). New therapeutic strategies in systemic lupus erythematosus management. *Nature Reviews Rheumatology*, 15(1), 30-48.
158. das Chagas Medeiros, M. M., Bezerra, M. C., Braga, F. H. F., da Justa Feijão, M. M., Gois, A. R., Rebouças, V. D. R., ... & Ribeiro, Á. M. (2016). Clinical and immunological aspects and outcome of a Brazilian cohort of 414 patients with systemic lupus erythematosus (SLE): comparison between childhood-onset, adult-onset, and late-onset SLE. *Lupus*, 25(4), 355-363.
159. Klein-Gitelman, M. (2019). Systemic lupus erythematosus (SLE) in children: Treatment, complications, and prognosis.
160. Livingston, B., Bonner, A., & Pope, J. (2011). Differences in clinical manifestations between childhood-onset lupus and adult-onset lupus: a meta-analysis. *Lupus*, 20(13), 1345-1355.
161. Brunner, H. I., Gladman, D. D., Ibañez, D., Urowitz, M. D., & Silverman, E. D. (2008). Difference in disease features between childhood-onset and adult-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 58(2), 556-562.

162. Sato, V. A. H., Marques, I. D. B., Goldenstein, P. T., Carmo, L. P. F., Jorge, L. B., Titan, S. M. O., ... & Woronik, V. (2012). Lupus nephritis is more severe in children and adolescents than in older adults. *Lupus*, 21(9), 978-983.
163. Postal, M. (2016). Avaliação longitudinal das citocinas Th1 (TNF-'alfa', INF-'gama', IL-12) e Th2 (IL-4, IL-6, IL10) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico: associações com manifestações clínicas e laboratoriais (Doctoral dissertation, [sn]).
164. Licinio, J., & Wong, M. L. (1999). The role of inflammatory mediators in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms, regulate stress-responsive systems, and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Molecular psychiatry*, 4(4), 317-327.
165. Hiles, S. A., Baker, A. L., de Malmanche, T., & Attia, J. (2012). A meta-analysis of differences in IL-6 and IL-10 between people with and without depression: exploring the causes of heterogeneity. *Brain, behavior, and immunity*, 26(7), 1180-1188.
166. Adell, A. (2020). Brain NMDA receptors in schizophrenia and depression. *Biomolecules*, 10(6), 947.
167. Chen, Y. M., Lin, C. H., & Lane, H. Y. (2020). Survey of NMDA receptor-related biomarkers for depression. *Current Pharmaceutical Design*, 26(2), 228-235.
168. Roebuck-Spencer, T.M.; Vincent, A.S.; Gilliland, K.; Johnson, D.R.; Cooper, D.B. Initial Clinical Validation of an Embedded Performance Validity Measure within the Automated Neuropsychological Metrics (ANAM). *Arch. Clin. Neuropsychol.* 2013, 28, 700–710.
169. Yuen, K., Beaton, D., Bingham, K., Katz, P., Su, J., Diaz Martinez, J. P., ... & Touma, Z. (2022). Validation of the automated neuropsychological assessment metrics for assessing cognitive impairment in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 31(1), 45-54.
170. Roebuck-spencer, T. M., Yarboro, C., Nowak, M., Takada, K., Jacobs, G., Lapteva, L., ... & Bleiberg, J. (2006). Use of computerized assessment to predict neuropsychological functioning and emotional distress in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care & Research*, 55(3), 434-441.
171. Mendelsohn, S., Khoja, L., Alfred, S., He, J., Anderson, M., DuBois, D., ... & Engel, L. (2021). Cognitive impairment in systemic lupus erythematosus is negatively related to

social role participation and quality of life: A systematic review. *Lupus*, 30(10), 1617-1630.

172. de Amorim, J. C. (2023). Tradução e adaptação transcultural para o português da bateria Pediatric Automated Neuropsychological Assessment Metrics e sua utilização para o rastreio de comprometimento cognitivo em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico juvenil e adulto (Doctoral dissertation, [sn]).

9. APÊNDICE

9.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (18 anos)

Título: “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais”

Nome do responsável: Profa. Dra. Simone Appenzeller

Número do CAAE: 26428619.9.0000.5404

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo se você não aceitar participar ou retirar sua autorização em qualquer momento.

Justificativa e objetivos:

Vários estudos têm avaliado o papel do anticorpo anti-NR2 (proteína presente no soro) no Lúpus Eritematoso Sistêmico de início adulto (LES) e observado associação com manifestações neuropsiquiátricas, porém a frequência do anticorpo anti-NR2 e sua associação com manifestações clínicas e laboratoriais no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) ainda não foi estudada. Queremos com essa pesquisa avaliar a frequência do anticorpo anti-NR2 e associá-la a essas possíveis manifestações clínicas e laboratoriais.

Outro aspecto a ser investigado é se o anticorpo anti-NR2 está associado a presença de distúrbios cognitivos no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj),

visto que a frequência desses distúrbios cognitivos têm sido grande, trazendo implicações importantes no desempenho escolar e inserção no mercado de trabalho.

Procedimentos:

Procedimentos laboratoriais específicos serão realizados para análise do anticorpo anti- NR2 para verificarmos se este se encontra em quantidades elevadas (etapa que participa apenas o pesquisador).

Os distúrbios cognitivos serão avaliados pelo PedANAM, (Automated Neuropsychological Assessment Metrics) versão pediátrica, uma espécie de biblioteca computadorizada composta por testes neuropsicológicos que irão avaliar as funções neurocognitivas.

Desconfortos e riscos:

Os riscos associados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (equimoses) no local da coleta do sangue. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento. Caso você sinta dor e observe o surgimento de machas roxas você pode realizar uma compressa fria no local.

Não há riscos associados à aplicação dos testes cognitivos, será utilizado apenas um computador padrão sem a necessidade de equipamento especializado, tornando a aplicação muito mais eficiente e rápida. A aplicação será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado em um tempo estimado de 20 a 30 minutos.

Benefícios:

Os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos diagnosticados com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Lúpus Eritematoso Sistêmico Adulto (LES), possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do exame de sangue ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo tratamento em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Lúpus Eritematoso Sistêmico Adulto (LES) e poderão ser úteis no futuro.

O paciente não terá nenhuma vantagem direta com a participação nesse estudo e o diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil e Lúpus Eritematoso Sistêmico Adulto (LES), possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do exame de sangue ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

Acompanhamento e assistência:

Os participantes da pesquisa terão direito à assistência integral e gratuita dados pelo Ambulatório de Reumatologia HC/Unicamp, devido a danos diretos e indiretos, imediatos e tardios, pelo tempo que for necessário.

Sigilo e privacidade:

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado.

Todas as informações médicas decorrentes desse projeto de pesquisa serão submetidas aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica.

Ressarcimento e Indenização:

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo controle (sem a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta), neste caso você estará acompanhando o paciente.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo caso (com a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta).

Caso os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo controle (sem a doença) e os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo caso (com a doença) e seus respectivos representantes legais tenham gastos para participar da pesquisa, serão ressarcidos integralmente de suas despesas, como por exemplo, transporte e alimentação.

Armazenamento de material:

O armazenamento seguro de materiais biológicos humanos após o término de realização dos exames, tem a finalidade de atender a possíveis interesses em realizar pesquisas futuras.

Sendo que toda nova pesquisa a ser realizada com o material biológico humano armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

O prazo de armazenamento do material biológico humano no Biorrepositório consta no cronograma da pesquisa correspondente e será por 10 anos.

Sendo assim você:

() concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

() concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Sendo o descarte do material armazenado autorizado nas seguintes situações:

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____.

Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora Simone Appenzeller, Rua Alexander Fleming, Hospital de Clínicas da UNICAMP. Ambulatório de Reumatologia Pediátrica. 3º andar.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP das 08:30hs às 11:30hs e das 13:00hs às 17:00hs na Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936 ou (19) 3521-7187; e- mail: cep@fcm.unicamp.br.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP):

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas.

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar e declaro estar recebendo uma via original deste documento assinada pelo pesquisador e por mim, tendo todas as folhas por nós rubricadas:

Nome do (a) participante: _____ Data: ____/____/____

Assinatura do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____ Rubrica do participante: _____

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Asseguo, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/____

(Assinatura do pesquisador)

9.2 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (7 a 10 anos)

Título: “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais”

Nome do responsável: Profa. Dra. Simone Appenzeller Número do CAAE:
26428619.9.0000.5404

Seus pais permitiram que você participasse, então iremos explicar como você irá participar. Queremos com essa pesquisa avaliar a frequência de uma molécula protetora bem pequenininha chamada anti-NR2 e associá-la com manifestações clínicas e laboratoriais.

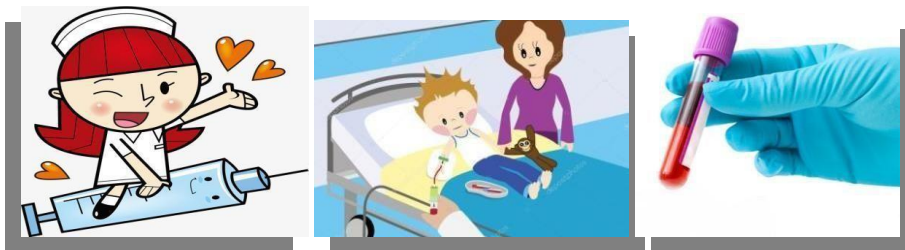
Lúpus é uma doença causada pelo nosso sistema de defesa (que são aqueles soldadinhos de defesa que nos protegem contra as doenças), nos protegendo do nosso próprio corpo. O Lúpus tem como característica duas fases da doença, uma que ela fica dormente e outra que ela aparece causando várias doenças. Ele afeta várias partes do corpo como o sangue, sistemas neurológicos (relacionados a cabeça), pele, fígado, coração, rins, sensibilidade a luz e várias outras doenças.



Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, e não terá nenhum problema se você desistir, nem para você e nem para seus pais.

Esta pesquisa será feita no Laboratório de Reumatologia da Unicamp e a coleta vai ser feita no Ambulatório de Reumatologia Pediátrica no Hospital das Clínicas/Unicamp. Para isso vamos precisar tirar um pouquinho do seu sanguinho, por uma amiguinha enfermeira, que fará uma picadinha com uma agulhinha no seu braço. Você não precisará ficar sem comer, pelo contrário é sempre bom vir de barriginha cheia.

Para você entender melhor como isso será feito, veja as figuras a seguir:



Para isso, será utilizada uma seringa com agulhinha bem fininha e depois vamos colocar seu sanguinho em dois tubinhos vermelinhos.

O uso da agulhinha é considerado muito seguro, mas é possível ocorrer riscos como deixar seu bracinho um pouquinho roxo, que colocando um gelinho sai rapidinho.

Caso aconteça algo errado, você e seus responsáveis, podem nos procurar pelos telefones (19) 3521- 9421 e/ou (19) 3521-7106 com a Dra. Simone Appenzeller em dias úteis da semana, no horário entre 8 e 17 horas.

Há coisas boas que podem acontecer quando você participa deste estudo, os resultados podem em longo prazo, possibilitar um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado para as crianças diagnosticadas com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil, e assim possivelmente contribuir com a melhora do diagnóstico e tratamento.

O paciente não terá nenhuma vantagem direta com a participação nesse estudo e o diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do exame de sangue ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo controle (sem a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta), neste caso você estará acompanhando o paciente.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo caso (com a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta).

Caso os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo controle (sem a doença) e os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo caso (com a doença) e

seus respectivos representantes legais tenham gastos para participar da pesquisa, serão ressarcidos integralmente de suas despesas, como por exemplo, transporte e alimentação. Nós garantimos que ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, para que você se sinta à vontade e nem daremos à estranhos as informações que você nos der. Tudo será mantido em segredo e só a Dra. Simone Appenzeller saberá destas informações e ela as guardará em um local seguro.

Os resultados desta pesquisa vão ser publicados em revistas e jornais para que outros pesquisadores possam saber o que fizemos, mas não haverá nenhuma informação que possa identificar você.

Se você tiver alguma dúvida, pode perguntar para a pesquisadora Samara Sepresse ou para a pessoa responsável Dra. Simone Appenzeller.

Se você não quiser assinar agora, você pode levar este documento para casa, conversar com os seus pais e trazer na próxima vez que vier ao Ambulatório de Reumatologia Pediátrica/Hospital de Clínicas da UNICAMP.

Seus pais também assinarão um termo sobre a pesquisa e eles serão esclarecidos de tudo o que irá acontecer com você. Queremos que você se sinta o mais seguro e confortável possível.

Muito obrigada!

(Local e Data)

Assinatura do Pesquisador

Assinatura da Criança

9.3 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (11 a 14 anos)

Título: “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais”

Nome do responsável: Profa. Dra. Simone Appenzeller Número do CAAE:
26428619.9.0000.5404

Seus pais permitiram que você participasse, então iremos explicar como você irá participar. Queremos com essa pesquisa avaliar a frequência de uma molécula protetora bem pequenininha chamada anti-NR2 e associá-la com manifestações clínicas e laboratoriais.

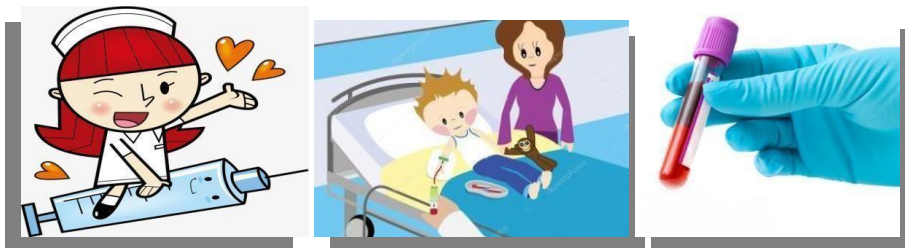
Lúpus é uma doença causada pelo nosso sistema de defesa (que são aqueles soldadinhos de defesa que nos protegem contra as doenças), nos protegendo do nosso próprio corpo. O Lúpus tem como característica duas fases da doença, uma que ela fica dormente e outra que ela aparece causando várias doenças. Ele afeta várias partes do corpo como o sangue, sistemas neurológicos (relacionados a cabeça), pele, fígado, coração, rins, sensibilidade a luz e várias outras doenças.



Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, e não terá nenhum problema se você desistir, nem para você e nem para seus pais.

Esta pesquisa será feita no Laboratório de Reumatologia da Unicamp e a coleta vai ser feita no Ambulatório de Reumatologia Pediátrica no Hospital das Clínicas/Unicamp. Para isso vamos precisar tirar um pouquinho do seu sanguinho, por uma amiguinha enfermeira, que fará uma picadinha com uma agulhinha no seu braço. Você não precisará ficar sem comer, pelo contrário é sempre bom vir de barriginha cheia.

Para você entender melhor como isso será feito, veja as figuras a seguir:



Para isso, será utilizada uma seringa com agulhinha bem fininha e depois vamos colocar seu sanguinho em dois tubinhos vermelinhos.

O uso da agulhinha é considerado muito seguro, mas é possível ocorrer riscos como deixar seu bracinho um pouquinho roxo, que colocando um gelinho sai rapidinho.

Caso aconteça algo errado, você e seus responsáveis, podem nos procurar pelos telefones (19) 3521- 9421 e/ou (19) 3521-7106 com a Dra. Simone Appenzeller em dias úteis da semana, no horário entre 8 e 17 horas.

Há coisas boas que podem acontecer quando você participa deste estudo, os resultados podem em longo prazo, possibilitar um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado para as crianças diagnosticadas com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil, e assim possivelmente contribuir com a melhora do diagnóstico e tratamento.

O paciente não terá nenhuma vantagem direta com a participação nesse estudo e o diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do exame de sangue ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo controle (sem a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta), neste caso você estará acompanhando o paciente.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo caso (com a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta).

Caso os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo controle (sem a doença) e os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo caso (com a doença) e

seus respectivos representantes legais tenham gastos para participar da pesquisa, serão ressarcidos integralmente de suas despesas, como por exemplo, transporte e alimentação. Nós garantimos que ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, para que você se sinta à vontade e nem daremos à estranhos as informações que você nos der. Tudo será mantido em segredo e só a Dra. Simone Appenzeller saberá destas informações e ela as guardará em um local seguro.

Os resultados desta pesquisa vão ser publicados em revistas e jornais para que outros pesquisadores possam saber o que fizemos, mas não haverá nenhuma informação que possa identificar você.

Se você tiver alguma dúvida, pode perguntar para a pesquisadora Samara Sepresse ou para a pessoa responsável Dra. Simone Appenzeller.

Se você não quiser assinar agora, você pode levar este documento para casa, conversar com os seus pais e trazer na próxima vez que vier ao Ambulatório de Reumatologia Pediátrica/Hospital de Clínicas da UNICAMP.

Seus pais também assinarão um termo sobre a pesquisa e eles serão esclarecidos de tudo o que irá acontecer com você. Queremos que você se sinta o mais seguro e confortável possível.

Muito obrigada!

(Local e Data)

Assinatura do Pesquisador

Assinatura da Criança

9.4 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (15 a 17 anos)

Título: “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais”

Nome do responsável: Profa. Dra. Simone Appenzeller Número do CAAE:
26428619.9.0000.5404

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais” para a Universidade de Campinas (Unicamp).

Vários estudos têm avaliado o papel do anticorpo anti-NR2 (proteína presente no soro) no Lúpus Eritematoso Sistêmico de início adulto e observado associação com manifestações neuropsiquiátricas, porém a frequência desse anticorpo anti-NR2 e sua associação com manifestações clínicas e laboratoriais no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) ainda não foi estudada. Queremos com essa pesquisa avaliar a frequência do anticorpo anti-NR2 e associá-la a essas possíveis manifestações clínicas e laboratoriais.

Outro aspecto a ser investigado é se o anticorpo anti-NR2 está associado a presença de distúrbios cognitivos no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj), visto que a frequência desses distúrbios cognitivos têm sido grande, trazendo implicações importantes no desempenho escolar e inserção no mercado de trabalho.

Procedimentos:

Procedimentos laboratoriais específicos serão realizados para análise do anticorpo anti-NR2 para verificarmos se este se encontra em quantidades elevadas.

Os distúrbios cognitivos serão avaliados pelo PedANAM, (Automated Neuropsychological Assessment Metrics) versão pediátrica, uma espécie de biblioteca computadorizada composta por testes neuropsicológicos que irão avaliar as funções neurocognitivas. Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar o Termo de Consentimento. Porém, você terá o direito de não aceitar participar se

caso não desejar. Pode também levar este termo para casa e discutir a sua participação com a sua família.

O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento sem prejuízos.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo controle (sem a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta), neste caso você estará acompanhando o paciente.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo caso (com a doença) e seu responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta). Caso os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo controle (sem a doença) e os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo caso (com a doença) e seus respectivos representantes legais tenham gastos para participar da pesquisa, serão ressarcidos integralmente de suas despesas, como por exemplo, transporte e alimentação.

A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisadora Dra. Simone Appenzeller.

Este estudo pode apresentar riscos mínimos durante a coleta como desconforto com a agulha, e após poderá ocorrer de deixar o braço (local da perfuração) um pouco roxo, caso aconteça aconselhamos colocar um gelo. Esses pequenos riscos não irão gerar consequências danosas para sua saúde/integridade).

Não há riscos associados à aplicação dos testes cognitivos, será utilizado apenas um computador padrão sem a necessidade de equipamento especializado, tornando a aplicação muito mais eficiente e rápida. A aplicação será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado em um tempo estimado de 20 a 30 minutos.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada e serão publicados em revistas e jornais da comunidade científica. Seu nome não será divulgado em hipótese nenhuma.

O Comitê de Ética em Pesquisa- CEP está presente em instituições de pesquisa que envolva seres humanos. Tem como objetivo defender os participantes,

preservando integridade e dignidade, bem como permitir o desenvolvimento da mesma dentro dos princípios éticos.

Este Termo de Assentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador (a) responsável Dra. Simone Appenzeller e a outra será dada para você.

Eu, fui informado (a) dos objetivos da pesquisa “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais”, de maneira clara pela pesquisadora Dra. Simone Appenzeller e esclareci todas as minhas dúvidas. Sei que, a qualquer momento poderei solicitar novas informações/esclarecimentos de dúvidas sobre a minha participação, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se eu assim desejar. Com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar voluntariamente desse estudo e que recebi uma via deste termo assentimento devidamente assinado pela pesquisadora Dra. Simone Appenzeller. E que, em caso de dúvidas, ou qualquer outra necessidade, poderei entrar em contato com a mesma.

(Local e Data)

Assinatura do Pesquisador(a)

Assinatura do Adolescente

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

Endereço eletrônico do CEP: <http://www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa/comite-de-etica-em-pesquisa/projeto-de-pesquisa>

Endereço Comercial: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 – Cidade Universitária Zeferino Vaz. CEP: 13083-887 – Campinas, SP, Brasil.

Telefones: (19) 3521-8936 e (19) 3521-7187 (dias úteis da semana, entre 8 horas as 17 horas).

E-mail para contato: cep@fcm.unicamp.br

Nome do Pesquisador(a) responsável: Profa. Dra. Simone Appenzeller.

Endereço Comercial: Rua Alexander Fleming, 181 – Cidade Universitária
Zeferino Vaz. CEP 13083-881 – Campinas, SP, Brasil.

Telefones: (19) 3521-9421 e (19) 3521-7106 (dias úteis da semana, entre 8
horas e 17 horas).

E-mail para contato: appenzel@fcm.unicamp.br

9.5 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (Responsável legal)

Título: “Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e Associações com Manifestações Clínicas e Laboratoriais”

Nome do responsável: Profa. Dra. Simone Appenzeller Número do CAAE:
26428619.9.0000.5404

O menor pelo qual você é responsável legal está sendo convidado a participar de uma pesquisa, podendo fazer parte do grupo controle (sem a doença) ou do grupo caso (com a doença). Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), visa assegurar os direitos e deveres como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houverem perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Se você não quiser participar ou retirar sua autorização, a qualquer momento, não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo.

Justificativa e objetivos:

Vários estudos têm avaliado o papel do anticorpo anti-NR2 (proteína presente no soro) no Lúpus Eritematoso Sistêmico de início adulto (LES) e observado associação com manifestações neuropsiquiátricas, porém a frequência desse anticorpo anti-NR2 e sua associação com manifestações clínicas e laboratoriais no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) ainda não foi estudada. Queremos com essa pesquisa avaliar a frequência do anticorpo anti-NR2 e associá-la a essas possíveis manifestações clínicas e laboratoriais.

Outro aspecto a ser investigado é se o anticorpo anti-NR2 esta associado a presença de distúrbios cognitivos no Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj), visto que a frequência desses distúrbios cognitivos têm sido grande, trazendo implicações importantes no desempenho escolar e inserção no mercado de trabalho.

Procedimentos:

Participando do estudo, será coletado uma amostra de sangue venoso 16ml, na visita ao ambulatório de reumatologia. O sangue será identificado por um número e será congelado. Procedimentos laboratoriais específicos serão realizados para análise do anticorpo anti-NR2 para verificarmos se este se encontra em quantidades elevadas. Acessaremos somente o prontuário médico do grupo caso, para observar alguns itens como idade, data de diagnóstico e quando se iniciou o tratamento medicamentoso além de como estão os resultados de exames laboratoriais.

Os distúrbios cognitivos serão avaliados pelo PedANAM, (Automated Neuropsychological Assessment Metrics) versão pediátrica, uma espécie de biblioteca computadorizada composta por testes neuropsicológicos que irão avaliar as funções neurocognitivas.

Desconfortos e riscos:

Os riscos associados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (equimoses) no local da coleta do sangue. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento. Caso haja dor e observe-se o surgimento de machas roxas o responsável poderá realizar uma compressa fria no local.

Não há riscos associados à aplicação dos testes cognitivos, será utilizado apenas um computador padrão sem a necessidade de equipamento especializado, tornando a aplicação muito mais eficiente e rápida. A aplicação será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado em um tempo estimado de 20 a 30 minutos.

Benefícios:

Os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos diagnosticados com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj), possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do exame de sangue ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo tratamento em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) e poderão ser úteis no futuro.

O paciente não terá nenhuma vantagem direta com a participação nesse estudo e o diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do exame de sangue ficarão a disposição dos médicos responsáveis pelo tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

Acompanhamento e assistência:

Os participantes da pesquisa terão direito à assistência integral e gratuita dados pelo Ambulatório de Reumatologia HC/Unicamp, devido a danos diretos e indiretos, imediatos e tardios, pelo tempo que for necessário.

Sigilo e privacidade:

O participante da pesquisa e você, como responsável legal, terão a garantia de que suas identidades serão mantidas em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seus nomes não serão citados.

Ressarcimento:

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo controle (sem a doença) e você, como responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta), neste caso estará acompanhando o paciente.

O participante da pesquisa que fizer parte do grupo caso (com a doença) e você, como responsável legal, não terão gastos para participar da pesquisa, pois a coleta de dados será realizada durante a rotina (consulta).

Caso os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo controle (sem a doença) e os participantes da pesquisa que fizerem parte do grupo caso (com a doença) e seus respectivos representantes legais tenham gastos para participar da pesquisa, serão ressarcidos integralmente de suas despesas, como por exemplo, transporte e alimentação.

Armazenamento de material:

O armazenamento seguro de materiais biológicos humanos após o término de realização dos exames, tem a finalidade de atender à possíveis interesses em realizar pesquisas futuras.

Sendo que toda nova pesquisa a ser realizada com o material biológico humano armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

O prazo de armazenamento do material biológico humano no Biorrepositório consta no cronograma da pesquisa correspondente e será por 10 anos.

Sendo assim:

() concordo com a participação da criança no presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

() concordo com a participação da criança no presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Sendo o descarte do material armazenado autorizado nas seguintes situações:

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a:_____.

Contato:

Em caso de dúvidas sobre o estudo, você poderá entrar em contato com Dra. Simone Appenzeller e Samara Sepresse, situados na Rua Alexander Fleming, 181 – Cidade Universitária Zeferino Vaz. CEP 13083-881 – Campinas, SP, Brasil, nos telefones (19) 3521-9421 e (19) 3521- 7106.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação no estudo, você pode entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936; fax (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br

Após ter sido esclarecimento sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Nome do(a) participante: _____ Data: __/__/__

(Nome e Assinatura do Responsável Legal)

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: __/__/__

(Assinatura do pesquisador)

10. ANEXOS

10.1 Parecer Consubstanciado do CEP

 CEPUNICAMP Comitê de Ética em Pesquisa	UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS	 Plataforma Brasil												
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP														
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: Avaliação da frequência do anticorpo anti-NR2 no LESj e associações com manifestações clínicas e laboratoriais Pesquisador: Simone Appenzeller Área Temática: Genética Humana: (Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;); Versão: 3 CAAE: 26428619.9.0000.5404 Instituição Proponente: Hospital de Clínicas - UNICAMP Patrocinador Principal: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico														
DADOS DA NOTIFICAÇÃO Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial Detalhe: Justificativa: Data do Envio: 11/09/2021 Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido														
DADOS DO PARECER Número do Parecer: 5.035.779 Apresentação da Notificação: Apresentação do relatório parcial do referido estudo. Objetivo da Notificação: Apresentação do relatório parcial do referido estudo. Avaliação dos Riscos e Benefícios: Mantidos em relação ao projeto original. Comentários e Considerações sobre a Notificação: Segundo informações contempladas no relatório parcial, a pesquisa encontra-se em andamento com previsão de conclusão em 31/3/2022. Foram incluídos 85 participantes de pesquisa do total de 100 participantes contemplados na folha de rosto da CONEP.														
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="3">Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas</td> </tr> <tr> <td>Bairro: Barão Geraldo</td> <td colspan="2">CEP: 13.083-887</td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td>Município: CAMPINAS</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefone: (19)3521-8936</td> <td>Fax: (19)3521-7187</td> <td>E-mail: cep@unicamp.br</td> </tr> </table>			Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas			Bairro: Barão Geraldo	CEP: 13.083-887		UF: SP	Município: CAMPINAS		Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187	E-mail: cep@unicamp.br
Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas														
Bairro: Barão Geraldo	CEP: 13.083-887													
UF: SP	Município: CAMPINAS													
Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187	E-mail: cep@unicamp.br												



Continuação do Parecer: 5.035.779

Não houve intercorrências com os participantes de pesquisa. De acordo com as informações do pesquisador responsável, os resultados ainda não foram publicados, pois a pesquisa se encontra em fase de análise de resultados no momento presente, não possibilitando a publicação dos mesmos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Para avaliação desta notificação foi analisado o relatório parcial anexado no documento intitulado "relatorio_parcial versões doc e pdf 1/09/2021 20:05:15".

Recomendações:

A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), do Conselho Nacional de Saúde (CNS) orienta a adoção das diretrizes do Ministério da Saúde (MS) decorrentes da pandemia causada pelo Coronavírus SARS-CoV-2 (Covid-19), com o objetivo de minimizar os potenciais riscos à saúde e a integridade dos participantes de pesquisas e pesquisadores.

De acordo com carta circular da CONEP intitulada "ORIENTAÇÕES PARA CONDUÇÃO DE PESQUISAS E ATIVIDADE DOS CEP DURANTE A PANDEMIA PROVOCADA PELO CORONAVÍRUS SARS-COV-2 (COVID-19)" publicada em 09/05/2020, referente ao item II. "Orientações para Pesquisadores":

- Aconselha-se a adoção de medidas para a prevenção e gerenciamento de todas as atividades de pesquisa, garantindo-se as ações primordiais à saúde, minimizando prejuízos e potenciais riscos, além de prover cuidado e preservar a integridade e assistência dos participantes e da equipe de pesquisa.
- Em observância às dificuldades operacionais decorrentes de todas as medidas impostas pela pandemia do SARS-CoV-2 (COVID-19), é necessário zelar pelo melhor interesse do participante da pesquisa, mantendo-o informado sobre as modificações do protocolo de pesquisa que possam afetá-lo, principalmente se houver ajuste na condução do estudo, cronograma ou plano de trabalho.
- Caso sejam necessários a suspensão, interrupção ou o cancelamento da pesquisa, em decorrência dos riscos imprevisíveis aos participantes da pesquisa, por causas diretas ou indiretas, caberá aos investigadores a submissão de notificação para apreciação do Sistema CEP/Conep.
- Nos casos de ensaios clínicos, é permitida, excepcionalmente, a tramitação de emendas concomitantes à implementação de modificações/alterações no protocolo de pesquisa, visando à segurança do participante da pesquisa, assim como dos demais envolvidos no contexto da pesquisa, evitando-se, ainda, quando aplicável, a interrupção no tratamento dos participantes da pesquisa. Eventualmente, na necessidade de modificar o Termo de Consentimento Livre e

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.035.779

Esclarecido (TCLE), o pesquisador deverá proceder com o novo consentimento, o mais breve possível.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Relatório parcial do estudo aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.035.779

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

-O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Parcial	relatorio_parcial.pdf	11/09/2021 20:05:08	SAMARA ROSA SEPRESSE	Postado
Envio de Relatório Parcial	relatorio_parcial.doc	11/09/2021 20:05:15	SAMARA ROSA SEPRESSE	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 13 de Outubro de 2021

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação longitudinal de alterações funcionais cerebrais através da espectroscopia de prótons por ressonância magnética, citocinas pró-inflamatórias e marcadores neuronais em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico

Pesquisador: Simone Appenzeller

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 82701517.0.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.638.318

Apresentação do Projeto:

Adequada. O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune do tecido conjuntivo com manifestações clínicas diversas, caracterizada por períodos de remissão e exacerbação, com participação intensa do sistema imunológico. Há uma prevalência maior da doença em mulheres durante a idade fértil, na proporção de 9:1. As manifestações clínicas do LES são diversas e variam de sintomas constitucionais ao comprometimento multiorgânico severo. A doença é predominantemente mais frequente na idade adulta, no entanto, em torno de 20% dos pacientes são acometidos antes da idade adulta. O Lúpus Eritematoso Sistêmico Juvenil (LESj) é considerado a terceira doença mais frequente nos ambulatórios de reumatologia. Devido à ampla gama de possíveis manifestações clínicas da doença, o diagnóstico pode ser difícil em pacientes pediátricos. Crianças e adolescentes geralmente têm uma forma mais grave de apresentação da doença, tendo sua evolução mais rapidamente do que em adultos. O diagnóstico precoce em crianças e adolescentes é fundamental para iniciar o tratamento e evitar danos à órgãos importantes. Um dos órgãos acometidos pela doença é o Sistema Nervoso Central (SNC). O comprometimento do SNC no LES varia de 25-70%, dependendo dos critérios dos diagnósticos utilizados, do tipo de manifestações e do método utilizado para a avaliação. Em pacientes pediátricos, logo no início do curso da doença, as crianças desenvolvem manifestações

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

neuropsiquiátricas (NP) em frequências mais altas que os pacientes adultos. As apresentações clínicas deste tipo de envolvimento podem variar e incluem, entre outras, crises epilépticas, acidentes vasculares cerebrais (AVC), depressão e psicose. Sintomas como cefaleia e alterações da concentração também são achados frequentes na prática clínica. A disfunção cognitiva observada nestes pacientes pode estar relacionada com inflamação, isquemia e os efeitos de autoanticorpos e o rompimento dos padrões de mielinização normal durante o desenvolvimento, que agem diretamente nas estruturas de substância branca e cinzenta contribuindo assim para o déficit cognitivo. A avaliação das manifestações neuropsiquiátricas no LES envolve uma série de testes neurofisiológicos, técnicas laboratoriais e exames de neuroimagem, sendo a ressonância magnética (RM) considerada padrão ouro para esta avaliação. Estudos recentes têm demonstrado que há uma interação entre o sistema imune periférico e o SNC no LES. Deste modo, é crescente o interesse em identificar biomarcadores que se correlacionem com a atividade sistêmica do LES e que possam prever um envolvimento orgânico futuro. É prevalente observar anormalidades cerebrais no LES na substância branca e cinzenta. Os padrões de lesão de substância branca são frequentes e associados à isquemia focal, desmielinização e vasculopatia, sendo relacionados com várias deficiências como déficits cognitivos, problemas de marcha e equilíbrio e depressão. O envolvimento do SNC no LES pode levar ainda, a graves danos cerebrais em outras estruturas do cérebro, sendo que uma das estruturas comprometidas é o hipocampo, localizado nos lobos temporais, estando intimamente relacionado à aprendizagem e memória. Um dos métodos da ressonância funcional é a espectroscopia de prótons (ERM), que permite uma quantificação não invasiva in vivo de alguns compostos químicos de importância biológica que estão presentes em concentrações muito menores que a água nos tecidos. Alguns dos principais metabólitos, de importância clínica, avaliados pela ERM são: Nacetil- aspartato, Colina, Lactato, Creatina e Mio-inositol. No LES, a ERM foi realizada na tentativa de detectar o envolvimento inicial do SNC ou para demonstrar anormalidades em alguns pacientes com LES neuropsiquiátrico nos quais RM estrutural não demonstrou quaisquer alterações focais. Várias evidências indicam que o N-acetil-aspartato pode ser usado como um marcador neuronal, já que é encontrado exclusivamente em neurônios e processos neuronais. O aumento de colina cerebral reflete um aumento na síntese de membranas, destruição da mielina e principalmente infartos cerebrais. Pacientes com LES, sem manifestações neuropsiquiátricas aparentes, apresentaram aumento de Colina/Creatina associado com distúrbios cognitivos e transtornos de humor. Elevação do Lactato em doenças que afetam o sistema nervoso correlaciona-se aproximadamente com taxas relativas de captação de glicose, porém sua diminuição não possui significado clínico estabelecido, enquanto o mio-inositol é

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

descrito como um marcador osmótico e astrocitário. Como já mencionado, a ausência de biomarcadores no LES é um fator que dificulta não somente a avaliação precisa de atividade da doença, mas também dificulta a identificação de pacientes com riscos de agudização e da ocorrência de lesão cumulativa em órgãos alvos, principalmente no cérebro. Há fortes evidências que suportam o papel das citocinas Th1 e Th2 na predisposição genética e na atividade do LES e especificamente no Lúpus Neuropsiquiátrico, pois as citocinas participam na quebra da barreira hematoencefálica. A identificação e quantificação de biomarcadores associados à lesão neuronal no LES podem ajudar não somente no diagnóstico de lesão, mas também no prognóstico do comprometimento do SNC. Entre os principais biomarcadores neuronais pode-se citar o anticorpo anti-proteína P ribossomal (anti-P), S100 e o neurofilamento. No projeto de mestrado do pesquisador, constatou-se uma redução significativa de N-acetil-aspartato/Creatina e Lactato/Creatina em pacientes LESj quando comparados a controles saudáveis, e que o dano axonal estava associado com atividade da doença, ansiedade, depressão e uso de corticosteroide, porém foi um estudo transversal. O objetivo deste estudo é investigar, através de um estudo longitudinal, se essas alterações funcionais de RM (N-acetil-aspartato, Colina, Creatina, Lactato e Mio-inositol) estão associadas a mudanças nos níveis séricos de citocinas Th1 (INF-, TNF-, IL-12), Th2 (IL-4, IL-6, IL-10), marcadores neuronais (anti-P, S100 e NF-H) e manifestações clínicas, laboratoriais e de tratamento no LES e LESj.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar a concentração de metabólitos cerebrais (N-acetil-aspartato, Colina, Creatina, Lactato, Mio-inositol) no hipocampo e na substância branca longitudinalmente, durante o período de 2 anos, em pacientes com LES, LESj e controles sadios, através da espectroscopia de prótons multivoxel por RM; Correlacionar as alterações de metabólitos cerebrais na substância branca e hipocampo com biomarcadores (citocinas inflamatórias e marcadores neuronais), atividade da doença e as diferentes manifestações clínicas, laboratoriais e de tratamento em pacientes LES e LESj; Determinar se metabólitos cerebrais, podem ser utilizado como biomarcadores no LES e sua relação com a presença e progressão de atrofia hipocampal e atrofia de substância branca.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos associados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (equimoses) no local da coleta do sangue. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento. O exame de ressonância magnética é

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

indolor. O exame de ressonância magnética é contraindicado nos casos de: claustrofobia e uso de marcapasso cardíaco e/ou qualquer outro objeto metálico, que tenha sido implantado durante cirurgia. O teste olfatório é indolor e não gera desconfortos.

Benefícios: O paciente não terá nenhuma vantagem direta com a participação nesse estudo e o seu diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O protocolo está bem escrito, detalhado e claro. A metodologia é adequada e factível. Trata-se de um estudo longitudinal, com grupo controle. Serão convidados pacientes consecutivos com LES e LESj acompanhados no ambulatório de Reumatologia e Reumatologia Pediátrica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), cujas manifestações clínicas e laboratoriais são rotineiramente estudadas de acordo com protocolo já estabelecido pelo ACR. Os pacientes serão avaliados por 2 anos com intervalo de 4-6 meses, sendo realizados 4 exames de ressonância magnética (RM) durante este período e 4 coletas de sangue (no mesmo dia do exame de RM). O grupo controle será constituído inicialmente por 80 voluntários sadios (40 voluntários pareados por idade e sexo com LES de início adulto e 40 voluntários pareados por idade e sexo com LESj) que concordem em participar do projeto de pesquisa. Serão excluídos voluntários com doenças autoimunes e antecedentes familiares de doença autoimune, assim como voluntários com hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus, acidente vascular cerebral (AVC) prévio e pessoas com qualquer outra patologia que possa dificultar a interpretação adequada dos resultados. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Todos os pacientes e voluntários início adulto e 40 voluntários pareados por idade e sexo com LESj) que concordem em participar do projeto de pesquisa. Serão excluídos voluntários com doenças autoimunes e antecedentes familiares de doença autoimune, assim como voluntários com hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus, acidente vascular cerebral (AVC) prévio e pessoas com qualquer outra patologia que possa dificultar a interpretação adequada dos resultados. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Todos os pacientes e voluntários serão previamente informados e assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido. As variáveis clínicas, laboratoriais e o uso de imunossupressores que se seguem serão analisadas em diferentes tempos: ao diagnóstico do LES ou LESj (definido como manifestações iniciadas durante os primeiros 6 meses após o diagnóstico, durante a evolução da doença (após os primeiros 6 meses) e até o dia de cada exame de RM e coleta de sangue. Análise do envolvimento do SNC: As manifestações do SNC serão analisadas de acordo com a nomenclatura e classificação do ACR. Análise da atividade da doença e dano: A atividade da doença será avaliada pelo Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) e a doença será considerada ativa se a somatória de pontos do SLEDAI for superior a três pontos. O dano cumulativo será avaliado através de um questionário especificamente desenvolvido para este fim, o Systemic Lupus International

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SLICC/ACR-DI). Aquisição das imagens de Ressonância Magnética: Todos os indivíduos (pacientes e controles) serão convidados para realização de exame de RM. As imagens serão obtidas em sistema de 3 Tesla, com aquisições nos planos coronal, sagital e axial, além de aquisições em 3D (volumétricas), para reconstrução multiplanar em qualquer plano ou inclinação. O parâmetro de obtenção de imagem será: Espectroscopia obtida em região supraventricular posterior (PRESS (Point Resolved Spectroscopy), TE=144ms, TR=1500ms, ângulo de excitação 90o, nex=1, matriz de 20x1024, FOV=5x2cm; precedida por calibração com supressão de sinal de água e homogeneização do campo magnético (Shimming). A ERM será analisada no console do aparelho de RM, e por programas desenvolvidos no laboratório de Neuroimagem da UNICAMP, por meio de quantificação manual e automática. Será coletado um total de 40 mL (10 mL por coleta) de sangue venoso de cada paciente, no centro de coleta, em conjunto com os exames de rotina solicitados regularmente para avaliação de atividade de doença. A coleta de sangue dos controles será realizada em conjunto com a doação de sangue. As amostras de sangue, após coagulação em temperatura ambiente de 30 minutos, serão centrifugadas, aliquotadas e conservadas a -80°C, para posterior análise no Laboratório de Reumatologia FCM/Unicamp. Serão dosados os níveis de IL-12, INF-, TNF-, IL-4, IL- 6 e IL-10, anti-P, S100 e neurofilamento pelo método de Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), conforme previamente apresentado na literatura.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Além do relatório de pesquisa, foi encaminhada a folha de rosto da CONEP assinada pelo pesquisador e complementada por autorização do Coordenador de Assistência do HC/FCM//Unicamp. No TCLE a linguagem é clara. Constam o título completo da pesquisa e o nome de um dos pesquisadores responsáveis. A justificativa da necessidade da pesquisa está clara. Há a descrição dos procedimentos envolvidos, são descritos os riscos e benefícios. Está explicado como será feito o acompanhamento. Está claro o direito de recusa, e que a recusa não acarretará em consequências para o participante da pesquisa. Está claro que haverá confidencialidade dos dados. Está claro que o TCLE será elaborado em duas vias, e que o participante irá receber uma delas. Há dados do CEP, e formas de contato com o pesquisador. Há campo para a rubrica do participante e do pesquisador nas páginas do TCLE. Constam no TCLE dados sobre possíveis ressarcimentos e indenização por danos decorrentes da pesquisa. Consta o Termo de Responsabilidade do Pesquisador. Foram formulados termos de anuência adequados. Foi detalhado o orçamento. Foi detalhado como será feito o armazenamento do sangue e encaminhado o regulamento do biorrepositório.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

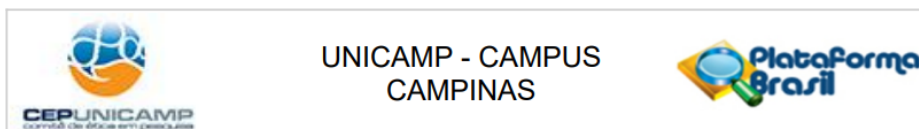
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

-O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_982149.pdf	27/04/2018 16:37:01		Aceito
Outros	carta_resposta_cep4.pdf	27/04/2018 16:35:54	Simone Appenzeller	Aceito
Outros	biorepositorio4.pdf	27/04/2018 16:35:20	Simone Appenzeller	Aceito
Outros	carta_resposta_cep2.pdf	19/04/2018 12:20:15	Simone Appenzeller	Aceito
Outros	Biorepositorio_ok.pdf	19/04/2018 12:19:12	Simone Appenzeller	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_doutorado_2018_com_modificacoes.pdf	09/04/2018 20:52:47	Simone Appenzeller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_15_a_17_.pdf	09/04/2018 20:52:26	Simone Appenzeller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_11_a_14_.pdf	09/04/2018 20:52:14	Simone Appenzeller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_7_a_10_.pdf	09/04/2018 20:51:47	Simone Appenzeller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_responsavel_legal_.pdf	09/04/2018 20:51:30	Simone Appenzeller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_adulto_.pdf	09/04/2018 20:50:43	Simone Appenzeller	Aceito
Declaração de	of238.pdf	13/12/2017	Carlos Eduardo	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.638.318

concordância	of238.pdf	09:40:28	Cavalcante Barros	Aceito
Solicitação registrada pelo CEP	of238Cpia.pdf	13/12/2017 09:40:28	Carlos Eduardo Cavalcante Barros	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	assinaturasimone.pdf	31/10/2017 14:09:32	RENAN BAZUCO FRITTOLI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	assinatura_simone.pdf	17/10/2017 16:51:51	RENAN BAZUCO FRITTOLI	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_imaginologia.pdf	31/08/2017 11:39:09	RENAN BAZUCO FRITTOLI	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	28/08/2017 13:32:46	RENAN BAZUCO FRITTOLI	Aceito
Outros	carteira.pdf	21/08/2017 17:34:57	Simone Appenzeller	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 07 de Maio de 2018

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

10.2 Verificação de plágio



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
(State University of Campinas)
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
(Faculty of Medical Sciences)
BIBLIOTECA
(Library)

Campinas, 14 de Julho de 2023

PARECER NºP155/2023

O documento "Manifestações neuropsiquiátricas no lúpus eritematoso sistêmico juvenil: associação com manifestações clínico-laboratoriais, subunidade NR2 do receptor N-metil-D-aspartato, citocinas e anticorpo anti-P ribossomal" passou pela checagem de similaridade do sistema Turnitin. O resultado apontou 25% de semelhança. Taxa de semelhança média, dentre os apontamentos do sistema, há trechos inerentes ao discurso científico que, obrigatoriamente, se repetem entre as produções e devem ser desconsiderados para avaliação de originalidade no Programa de Pós-Graduação da FCM-Unicamp.

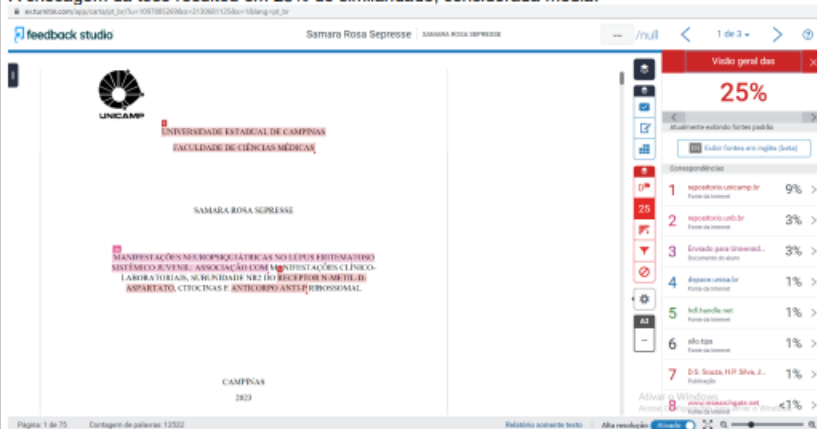
Orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Simone Appenzeller

Aluno (a): Samara Rosa Sepresse

Cleusa Telles

Bacharel em Biblioteconomia

Profissional para Assuntos Administrativos

Itens	Apontamentos do Sistema Turnitin	Sugestão
1.	A checagem da tese resultou em 25% de similaridade, considerada média.  The screenshot shows the Turnitin Feedback Studio interface. At the top, it says 'feedback studio' and 'Samara Rosa Sepresse'. Below this, there's a large red '25%' similarity score. To the right, a list of sources is shown with their respective similarity percentages: 1. 'apontamento turnitin.br' (9%), 2. 'apontamento turnitin.br' (3%), 3. 'Unidade para Unimed...' (3%), 4. 'apontamento turnitin.br' (1%), 5. 'turnitin turnitin.br' (1%), 6. 'turnitin turnitin.br' (1%), 7. 'U.S. Souza, R.P. Silva, J...' (1%), 8. 'turnitin turnitin.br' (1%).	

10.3 Índice de Atividade da Doença do Lúpus Eritematoso Sistêmico (SLEDAI 2 K)

SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index)

Escore	Item
8	Convulsão – início recente. Excluir outras causas, tais como distúrbios metabólicos, infecções ou medicamentos.
8	Psicose – distúrbio na percepção da realidade, incluindo alucinações, delírios, incoerências, perda de associações, pensamento não lógico, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Excluir outras causas, tais como uremia ou medicações.
8	Síndrome cerebral orgânica – alteração da função mental, com prejuízo na orientação, memória ou outras funções intelectuais, com rápido surgimento e flutuações, incapacidade de sustentar a atenção, somado a pelo menos dois dos seguintes achados: distúrbio da percepção, diálogo incoerente, insônia, sonolência e aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Excluir outras causas, tais como distúrbios metabólicos, infecções ou medicamentos.
8	Visual – alterações no fundo do olho, como corpos citóides, hemorragias retinianas, exsudatos ou hemorragias na coróide ou nervo óptico. Excluir outras causas, tais como hipertensão, infecções ou medicamentos.
8	Nervos cranianos – surgimento de neuropatia sensitiva ou motora dos nervos cranianos.
8	Cefaleia lúpica – persistente e grave, enxaquecosa, com pouca resposta a analgésicos opioides.
8	AVC – evento de início recente e não relacionado com aterosclerose ou hipertensão.
8	Vasculite – ulceração, gangrena, nódulo, infarto periungueal, hemorragias puntiformes, biópsia ou arteriografia compatíveis com vasculite.
4	Artrite – duas articulações ou mais com sinais flogísticos.
4	Miosite – fraqueza ou dor muscular proximal com elevação de creatinofosfoquinase ou aldolase, ou eletroneuromiografia compatível com miosite ou biópsia com infiltrado inflamatório em fibra muscular.
4	Cilindros – hemáticos ou granulosos.
4	Hematúria – mais de 5 hemácias/campo de grande aumento. Excluir cálculos, infecções ou outras causas.
4	Proteinúria – acima de 0,5 g/24h.
4	Piúria – mais de 5 leucócitos/campo de grande aumento. Excluir infecção.
2	<i>Rash</i> malar novo.
2	Alopecia – perda de cabelo anormal, difusa ou localizada.
2	Membranas mucosas – ulcerações nasais ou orais.
2	Pleurite – dor pleurítica com atrito pleural, ou derrame pleural ou espessamento pleural.
2	Pericardite – dor compatível com pericardite somada a pelo um dos seguintes achados: atrito pericárdico, derrame pericárdico, eletrocardiograma ou ecocardiograma compatíveis com pericardite.
2	Baixos complementos – diminuição do CH50, C3 ou C4 abaixo do limite da normalidade, de acordo com os valores de referência do exame.
2	Anti-DNA nativo – aumento acima do valor considerado normal para este exame.
1	Febre (temperatura axilar acima de 38° C). Excluir infecções.
1	Trombocitopenia (menos de 100.000 plaquetas/mm ³). Excluir outras causas, tais como medicamentos.
1	Leucopenia (menos de 3.000 leucócitos/mm ³). Excluir outras causas, tais como medicamentos.
TOTAL	

Fonte: Freire¹²⁴, 2011, p. 70. Yee¹²⁵, 2011, p. 982.

10. 4 Índice de Danos do Colégio Americano de Reumatologia (ACR-DI) (SDI)

Lesão ocorrida desde o diagnóstico de LES determinado por avaliação clínica e presente pelo menos há 6 meses podendo existir há menos tempo caso seja referenciado. Episódios repetidos têm de estar separados por 6 meses para marcar score 2 A mesma lesão não pode ser contada duas vezes

ITEM	Score (circulo)		
OCULAR (qualquer olho, por avaliação clínica)			
Catarata	0	1	
Alteração retiniana ou atrofia óptica	0	1	
NEUROPSIQUIÁTRICO			
Déficit cognitivo(Ex: perda de memória, dificuldade em cálculos matemáticos, má concentração, dificuldade na linguagem escrita ou falada, diminuição do nível de performance) ou Psicose Major	0	1	
Convulsões requerendo terapêutica por 6 meses	0	1	
Acidente vascular cerebral (alguma vez) (marcar 2 se número de episódios superior a 1) Ou ressecção não devida a malignidade	0	1	2
Neuropatia periférica ou craneana (excluindo nervo óptico)	0	1	
Mielite transversa	0	1	
RENAL			
Taxa de filtrado glomerular (TFG/GFR) medida ou estimada <50%	0	1	
Proteinúria das 24h > ou = a 3.5grs/24h	0	1	
Insuficiência renal terminal)			3
PULMONAR			
Hipertensão pulmonar (hipertrofia ventricular direita ou acentuação de S2)	0	1	
Fibrose pulmonar (radiografia e exame objectivo)	0	1	
Shrinking lung (radiografia)	0	1	
Fibrose pleural (radiografia)	0	1	
Enfarte pulmonar (radiografia) ou ressecção não devida a malignidade	0	1	
CARDIOVASCULAR			
Angina ou bypass arterial coronário	0	1	
Enfarte do miocárdio (alguma vez) (marcar 2 se número de episódios superior a 1)	0	1	2
miocardiopatia (disfunção ventricular)	0	1	
Doença valvular /sopro diastólico, ou sopro sistólico >III/VI)	0	1	
Pericardite com duração superior a 6 meses ou pericardiectomia	0	1	
VASCULAR PERIFÉRICO			
Claudicação com duração superior a 6 meses	0	1	
Perda minor de tecido (alguma vez) (Ex polpa dos dedos)	0	1	
Perda significativa de tecido (alguma vez) (Ex dedo ou membro) (marcar 2 se número de episódios superior a 1)	0	1	2
Trombose venosa com edema e ulceração ou estase venosa	0	1	
GASTROINTESTINAL			
Enfarte ou ressecção de intestino abaixo do duodeno, baço, fígado, vesícula biliar (alguma vez) por qualquer causa (marcar 2 se número de locais superior a 1)	0	1	2

Insuficiência mesentérica	0	1	
Peritonite crónica	0	1	
Estenose esofágica ou cirúrgica do tracto gastrointestinal superior (alguma vez)	0	1	
Pancreatite	0	1	
MUSCULOESQUELÉTICO			
Atrofia ou fraqueza muscular	0	1	
Artrite erosiva ou deformante (incluindo deformidades redutíveis, excluindo necrose avascular)	0	1	
Osteoporose (radiográfica) com fractura ou colapso vertebral (excluindo necrose avascular)	0	1	
Necrose avascular (marcar 2 se número de episódios superior a 1)	0	1	2
Osteomielite	0	1	
Ruptura tendinosa	0	1	
PELE			
Alopécia crónica cicatricial	0	1	
Alopécia cicatricial extensa ou panículo para além do couro cabeludo e polpa digital	0	1	
Ulceração cutânea (não devida a trombose) por mais de 6 meses	0	1	
FALÊNCIA GONADAL PREMATURA	0	1	
DIABETES (INDEPENDENTEMENTE DO TRATAMENTO)	0	1	
MALIGNIDADE (EXCLUINDO DISPLASIA) (MARCAR 2 SE NÚMERO DE EPISÓDIOS SUPERIOR A 1)	0	1	2
	0	1	
TOTAL DO SCORE SLICC (0-49)			

Fonte: Gladman¹²⁶, 1997, p. 809.

10.5 Inventário de Depressão de Beck (*Beck's Depression Inventory*)

Nome: _____ Idade: _____ Estado Civil: _____
 Profissão: _____ Escolaridade: _____ Data de aplicação: _____ Pontuação: _____

Instruções

Neste questionário existem grupos de afirmações. Por favor leia cuidadosamente cada uma delas. A seguir seleccione a afirmação, em cada grupo, que melhor descreve como se sentiu NA SEMANA QUE PASSOU, INCLUINDO O DIA DE HOJE. Desenhe um círculo em torno do número ao lado da afirmação seleccionada. Se escolher dentro de cada grupo várias afirmações, faça um círculo em cada uma delas. Certifique-se que leu todas as afirmações de cada grupo antes de fazer a sua escolha.

- | | |
|---|---|
| 1. | 6. |
| 0 Não me sinto triste. | 0 Não me sinto que esteja a ser punido(a). |
| 1 Sinto-me triste. | 1 Sinto que posso ser punido(a). |
| 2 Sinto-me triste o tempo todo e não consigo evitá-lo. | 2 Sinto que mereço ser punido(a). |
| 3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar. | 3 Sinto que estou a ser punido(a). |
| 2. | 7. |
| 0 Não estou particularmente desencorajado(a) em relação ao futuro. | 0 Não me sinto desapontado(a) comigo mesmo(a). |
| 1 Sinto-me desencorajado(a) em relação ao futuro. | 1 Sinto-me desapontado(a) comigo mesmo(a). |
| 2 Sinto que não tenho nada a esperar. | 2 Sinto-me desgostoso(a) comigo mesmo(a). |
| 3 Sinto que o futuro é sem esperança e que as coisas não podem melhorar. | 3 Eu odeio-me. |
| 3. | 8. |
| 0 Não me sinto fracassado(a). | 0 Não me sinto que seja pior que qualquer outra pessoa. |
| 1 Sinto que falhei mais do que um indivíduo médio. | 1 Critico-me pelas minhas fraquezas ou erros. |
| 2 Quando analiso a minha vida passada, tudo o que vejo é uma quantidade de fracassos. | 2 Culpo-me constantemente pelas minhas faltas. |
| 3 Sinto que sou um completo fracasso. | 3 Culpo-me de todas as coisas más que acontecem. |
| 4. | 9. |
| 0 Eu tenho tanta satisfação nas coisas, como antes. | 0 Não tenho qualquer ideia de me matar. |
| 1 Não tenho satisfações com as coisas, como costumava ter. | 1 Tenho ideias de me matar, mas não sou capaz de as concretizar. |
| 2 Não consigo sentir verdadeira satisfação com alguma coisa. | 2 Gostaria de me matar. |
| 3 Estou insatisfeito(a) ou entediado(a) com tudo. | 3 Matar-me-ia se tivesse uma oportunidade. |
| 5. | 10. |
| 0 Não me sinto particularmente culpado(a). | 0 Não costumo chorar mais do que o habitual. |
| 1 Sinto-me culpado(a) grande parte do tempo. | 1 Choro mais agora do que costumava fazer. |
| 2 Sinto-me bastante culpado(a) a maior parte do tempo. | 2 Actualmente, choro o tempo todo. |
| 3 Sinto-me culpado(a) durante o tempo todo. | 3 Eu costumava conseguir chorar, mas agora não consigo, ainda que queira. |

11.
0 Não me irrita mais do que costumava.
1 Fico aborrecido(a) ou irritado(a) mais facilmente do que costumava.
2 Actualmente, sinto-me permanentemente irritado(a).
3 Já não consigo ficar irritado(a) com as coisas que antes me irritavam.
12.
0 Não perdi o interesse nas outras pessoas.
1 Interesse-me menos do que costumava pelas outras pessoas.
2 Perdi a maior parte do meu interesse nas outras pessoas.
3 Perdi todo o meu interesse nas outras pessoas.
13.
0 Tomo decisões como antes.
1 Adio as minhas decisões mais do que costumava.
2 Tenho maior dificuldade em tomar decisões do que antes.
3 Já não consigo tomar qualquer decisão.
14.
0 Não sinto que a minha aparência seja pior do que costumava ser.
1 Preocupo-me porque estou a parecer velho(a) ou nada atraente.
2 Sinto que há mudanças permanentes na minha aparência que me tornam nada atraente.
3 Considero-me feio(a).
15.
0 Não sou capaz de trabalhar tão bem como antes.
1 Preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa.
2 Tenho que me forçar muito para fazer qualquer coisa.
3 Não consigo fazer nenhum trabalho.
16.
0 Durmo tão bem como habitualmente.
1 Não durmo tão bem como costumava.
2 Acordo 1 ou 2 horas antes que o habitual e tenho dificuldade em voltar a adormecer.
3 Acordo várias vezes mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.
17.
0 Não fico mais cansado(a) do que o habitual.
1 Fico cansado(a) com mais dificuldade do que antes.
2 Fico cansado(a) ao fazer quase tudo.
3 Estou demasiado cansado(a) para fazer qualquer coisa.
18.
0 O meu apetite é o mesmo de sempre.
1 Não tenho tanto apetite como costumava ter.
2 O meu apetite, agora, está muito pior.
3 Perdi completamente o apetite.
19.
0 Não perdi muito peso, se é que perdi algum ultimamente.
1 Perdi mais de 2,5 kg.
2 Perdi mais de 5 kg.
3 Perdi mais de 7,5 kg.
- Estou propositadamente a tentar perder peso, comendo menos.
Sim ____ Não ____
20.
0 A minha saúde não me preocupa mais do que o habitual.
1 Preocupo-me com problemas físicos, como dores e aflições, má disposição do estômago, ou prisão de ventre.
2 Estou muito preocupado(a) com problemas físicos e torna-se difícil pensar em outra coisa.
3 Estou tão preocupado(a) com os meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.
21.
0 Não tenho observado qualquer alteração recente no meu interesse sexual.
1 Estou menos interessado(a) na vida sexual do que costumava.
2 Sinto-me, actualmente, muito menos interessado(a) pela vida sexual.
3 Perdi completamente o interesse na vida sexual.

Total: _____ **Classificação:** _____

Fonte: Beck¹²⁷, 1961, p. 561. Gomes¹²⁸, 2012 p. 389

10.6 Inventário de Ansiedade de Beck (*Beck's Anxiety Inventory*)

Nome: _____ Idade: _____ Data: ____/____/____

Abaixo está uma lista de sintomas comuns de ansiedade. Por favor, leia cuidadosamente cada item da lista. Identifique o quanto você tem sido incomodado por cada sintoma durante a semana, incluindo hoje, colocando um "x" no espaço correspondente, na mesma linha de cada sintoma.

	Absolutamente não (0 pontos)	Levemente Não me incomodou muito (1 ponto)	Moderadamente Foi muito desagradável mas pude suportar (2 pontos)	Gravemente Difícilmente pude suportar (3 pontos)
1. Dormência ou formigamento				
2. Sensação de calor				
3. Tremores nas pernas				
4. Incapaz de relaxar				
5. Medo que aconteça o pior				
6. Atordoado ou tonto				
7. Palpitação ou aceleração do coração				
8. Sem equilíbrio				
9. Aterrorizado				
10. Nervoso				
11. Sensação de sufocação				
12. Tremores nas mãos				
13. Trêmulo				
14. Medo de perder o controle				
15. Dificuldade de respirar				
16. Medo de morrer				
17. Assustado				
18. Indigestão ou desconforto no abdômen				
19. Sensação de desmaio				
20. Rosto afogueado				
21. Suor (não devido ao calor)				

Fonte: Beck¹²⁹, 1988, p. 893. Quintão¹³⁰, 2013, p. 305.

10.7 Avaliação Cognitiva de Montreal (MoCA)

MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA) Nome: _____ Data de nascimento: ____/____/____
Versão Experimental Brasileira Escolaridade: _____ Data de avaliação: ____/____/____
 Sexo: _____ Idade: _____

VISUOESPACIAL / EXECUTIVA		Desenhar um RELÓGIO (onze horas e dez minutos) (3 pontos)		Pontos
		☐ Contorno ☐ Números ☐ Ponteiros		☐ 5
NOMEAÇÃO				
				☐ ☐ ☐ ☐ 3
MEMÓRIA		Leia a lista de palavras, O sujeito deve repeti-la, faça duas tentativas. Evocar após 5 minutos.		
		Rosto Veludo Igreja Margarida Vermelho	Sem Pontuação	
ATENÇÃO		Leia a sequência de números (1 número por segundo). O sujeito deve repetir a sequência em ordem direta [] 2 1 8 5 4. O sujeito deve repetir a sequência em ordem indireta [] 7 4 2.		
		Leia a série de letras. O sujeito deve bater com a mão (na mesa) cada vez que ouvir a letra "A". Não se atribuem pontos se ≥ 2 erros. [] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B		
		Subtração de 7 começando pelo 100 [] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65. 4 ou 5 subtrações corretas: 3 pontos; 2 ou 3 corretas 2 pontos; 1 correta 1 ponto; 0 correta 0 ponto.		
LINGUAGEM		Repetir: Eu somente sei que é João quem será ajudado hoje. [] O gato sempre se esconde embaixo do Sofá quando o cachorro está na sala. []		
		Fluência verbal: dizer o maior número possível de palavras que comecem pela letra F (1 minuto). [] _____ (N ≥ 11 palavras)		
ABSTRAÇÃO		Semelhança p. ex. entre banana e laranja = fruta [] trem - bicicleta [] relógio - régua		
EVOCAÇÃO TARDIA		Deve recordar as palavras SEM PISTAS. Rosto [] Veludo [] Igreja [] Margarida [] Vermelho []		
OPCIONAL		Pista de categoria [] Pista de múltipla escolha [] Pontuação apenas para evocação SEM PISTAS		
ORIENTAÇÃO		[] Dia do mês [] Mês [] Ano [] Dia da semana [] Lugar [] Cidade		
© Z. Nasreddine MD www.mocatest.org Versão experimental Brasileira: Ana Luisa Rosas Sarmiento Paulo Henrique Ferreira Bertolucci - José Roberto Wajman				TOTAL Adicionar 1 pt se ≤ 12 anos de escolaridade

Fonte: Memória¹³⁸, 2013, p. 34.