

PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Submissão de Projeto Anterior à Plataforma Brasil

Projeto de Pesquisa:

Avaliação De Fatores Angiogênicos E Antiangiogênicos Como Método De Diagnóstico Diferencial Entre Pré-Eclâmpsia E Lúpus Eritematoso Sistêmico Com Nefrite

Informações Preliminares

Responsável Principal

CPF/Documento: 055.789.667-30	Nome: Guilherme Ribeiro Ramires de Jesús
Telefone: 2199594089	E-mail: guilhermedejesus@gmail.com

Instituição Proponente

CNPJ: 33.540.014/0017-14	Nome da Instituição: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ
--------------------------	--

Essa submissão de emenda é exclusiva do seu Centro Coordenador?

A emenda é exclusiva de seu Centro Coordenador, então as alterações realizadas em seu projeto, em virtude da emenda, NÃO serão replicadas nos Centros Participantes vinculados e nos Comitês de Ética das Instituições Coparticipantes, quando da sua aprovação.

É um estudo internacional? Não

Assistentes

CPF/Documento	Nome
051.234.626-78	Marcela Ignacchiti Lacerda Ávila
797.466.407-04	Evandro Mendes Klumb

Equipe de Pesquisa

CPF/Documento	Nome
051.234.626-78	Marcela Ignacchiti Lacerda Ávila
091.640.037-95	Bruna Costa Rodrigues
797.466.407-04	Evandro Mendes Klumb
071.960.637-32	flavia cunha dos santos
748.899.237-72	Roger Abramino Levy

Área de Estudo

Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)

- Grande Área 4. Ciências da Saúde

Propósito Principal do Estudo (OMS)

- Clínico

Título Público da Pesquisa: Avaliação De Fatores Angiogênicos E Antiangiogênicos Como Método De Diagnóstico Diferencial Entre Pré-Eclâmpsia E Lúpus Eritematoso Sistêmico Com Nefrite

Múltiplos ID's Secundários

Identificador	ID Secundário
0017022800011	Número de Identificação no SISNEP (CAAE Anterior)

Contato Público

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
055.789.667-30	Guilherme Ribeiro Ramires de Jesús	2199594089	guilhermedejesus@gmail.com

Contato Científico: Guilherme Ribeiro Ramires de Jesús

Desenho do Estudo: Observacional

Condições de saúde ou problemas

Condição de saúde ou Problema

lúpus eritematoso sistêmico

pré-eclâmpsia

Restrição de Crescimento Fetal

Descritores Gerais para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
O14	Hipertensão gestacional [induzida pela gravidez] com proteinúria significativa
M32	Lupus eritematoso disseminado [sistêmico]

DeCS:Descritores em Ciência da Saúde

Código DECS	Descrição DECS
D011225	pré-eclâmpsia
D008180	Lúpus Eritematoso Sistêmico

Descritores Específicos para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
M32	Lupus eritematoso disseminado [sistêmico]
O14.9	Pre-eclampsia não especificada

DeCS:Descritores em Ciência da Saúde

Código DECS	Descrição DECS
C17.300.480	Lúpus Eritematoso Sistêmico
C13.703.395.249	Pre-eclampsia

Desenho:

Este estudo terá caráter longitudinal e incluirá gestantes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) em atividade e sem atividade da doença. Serão incluídas gestantes com diagnóstico de LES segundo os critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia revisados em 1997 em acompanhamento no pré-natal de doenças reumatológicas da Disciplina de Obstetrícia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) do HUPE da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). A inclusão será feita sequencialmente de acordo com agendamento de rotina para consulta de pré-natal. Os esclarecimentos a respeito do protocolo de pesquisa e a assinatura do termo de consentimento serão feitos antes da entrevista de pesquisa. Todas as pacientes do grupo em estudo serão avaliadas quanto à atividade através da utilização do índice SLEPDAI, emprego de questionário semiestruturado, exame físico e exames laboratoriais. Serão excluídas do estudo as pacientes que não desejarem participar do mesmo ou não assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE. As gestantes com LES e índice SLEPDAI maior ou igual a 6 serão classificadas como portadoras de doença ativa, enquanto as gestantes com índice SLEPDAI menor ou igual a 5 serão classificadas como portadoras de doença em remissão. A avaliação do resultado gestacional em pacientes com LES será feita através de revisão do prontuário, analisando os seguintes parâmetros: via de parto, idade gestacional do parto, peso fetal ao nascer, escore apgar e presença de eventos adversos (parto prematuro, amniorrexe prematura, hipertensão arterial, diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, descolamento prematuro de placenta, óbito fetal). Como parte dos objetivos secundários, os resultados gestacionais das pacientes atendidas no HUPE desde o ano 2000 serão analisados a partir da revisão de prontuários, considerando os mesmos parâmetros utilizados para o grupo de estudo atual. O grupo controle será composto por gestantes atendidas na enfermaria de Obstetrícia da Disciplina de Obstetrícia da FCM do HUPE – UERJ com idade gestacional maior que 22 semanas. Serão excluídas gestantes com doenças prévias a gestação, com história

sugestiva de doença autoimune, em uso regular de medicações durante o pré-natal (exceto sulfato ferroso, ácido fólico, vitaminas ou analgésicos não controlados), com diagnóstico de diabetes gestacional, com infecção no momento da inclusão do estudo, aquelas que não desejarem participar do mesmo ou não assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE. As pacientes responderão a um questionário avaliando os fatores de risco para pré-eclâmpsia e afastando história de doenças autoimunes.

Apoio Financeiro				
CNPJ	Nome	E-mail	Telefone	Tipo
07.607.755/0001-06	CERPE CENTRO DE ESTUDOS EM REUMATOLOGIA PEDRO ERNESTO		2125677530	Institucional Principal
30.495.394/0001-67	FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ			Institucional Secundário

Palavra Chave	
Palavra-chave	
lúpus	
pré-eclâmpsia	
BAFF	
BLyS	

Detalhamento do Estudo

Resumo:

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune cuja fisiopatologia envolve mecanismos imunológicos, incluindo distúrbios nos processos de morte celular e nos mecanismos de eliminação de autoantígenos e de tolerância, acompanhados da formação de autoanticorpos patogênicos. Ele acomete principalmente mulheres jovens e a gestação nestas pacientes apresenta significativa morbimortalidade. Os achados clínicos e laboratoriais da atividade do lúpus e da nefrite lúpica podem ser semelhantes àqueles encontrados em pacientes com pré-eclâmpsia (PE), especificamente hipertensão arterial, proteinúria e edema. Foi, então, proposto o uso de fatores angiogênicos, como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e o fator de crescimento placentário (PIGF), antiangiogênicos, como o receptor Fms-like tirosina quinase 1 solúvel (sFlt-1), outras citocinas e BAFF (BLyS) para o diagnóstico diferencial entre estas condições, no entanto não existem dados na literatura sobre os valores séricos destas citocinas em gestantes com LES. Este estudo de caráter transversal foi desenhado para avaliar se existe diferença entre os níveis séricos de VEGF, PIGF, sFlt-1 e BAFF (BLyS), em gestantes com lúpus eritematoso sistêmico com e sem atividade sistêmica da doença que estão em acompanhamento regular no pré-natal de doenças reumatológicas do Hospital Universitário Pedro Ernesto. Os valores séricos destas citocinas em gestantes com LES serão comparados com os valores encontrados em gestantes sem doença autoimune com pré-eclâmpsia e sem pré-eclâmpsia, avaliando se há diferença entre os resultados. Outra parte do estudo consiste em avaliar se há diferença entre os resultados encontrados em pacientes com LES gestantes e não gestantes. Os resultados gestacionais das pacientes com lúpus serão analisados para identificar a frequência de eventos gestacionais adversos.

Introdução:

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune cuja fisiopatologia envolve mecanismos imunológicos, incluindo distúrbios nos processos de morte celular e nos mecanismos de eliminação de autoantígenos e de tolerância (central e periférica), acompanhados da formação de autoanticorpos patogênicos. Apesar de permanecer obscura a razão pela qual muitos desses mecanismos se desenvolvem, existe evidência robusta na literatura que demonstram serem eles secundários à interação entre fatores genéticos, hormonais e ambientais. A maioria das pacientes com LES está em idade reprodutiva (entre 26 e 40 anos) e as manifestações clínicas podem ser leves ou graves com acometimento de múltiplos órgãos, incluindo rins (nefrite), pulmões (pneumonia), fígado (hepatite) e cérebro (1). É característica a evolução com períodos de atividade (inflamatória) e outros de remissão dos sintomas e, apesar de a maioria dos pacientes com LES terem um curso evolutivo relativamente benigno, com mínima ou nenhuma redução na sobrevida, os que têm acometimento renal têm caracteristicamente maior morbimortalidade (2). A glomerulonefrite, que é a forma mais típica de acometimento renal no LES, tem fisiopatologia complexa e envolve principalmente a deposição de imunocomplexos na membrana basal glomerular. Sequencialmente, ocorre a ativação do sistema de complemento, proliferação de células residentes e migração de leucócitos, em associação à produção de matriz extracelular, de quimiocinas e de citocinas pró-inflamatórias. Algumas dessas moléculas têm sido associadas à fisiopatologia da autoimunidade como o estimulador de linfócito B (BLyS)/fator ativador da célula B (BAFF), interleucina (IL)-17, IL-23, IL-6, IL-10, fator de necrose tumoral (TNF) alfa e interferon (IFN) alfa. Outras estão mais diretamente relacionadas às alterações teciduais como o fator de transformação do crescimento (TGF) beta, o fator estimulador de colônias-1 (CSF-1), o IFN tipo I produzido pelas células renais residentes (2) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês vascular endotelial growth factor). O resultado deste processo inflamatório são as alterações histopatológicas observadas à biópsia renal que incluem aumento da matriz extracelular e da celularidade no mesângio, proliferação de células endocapilares, infiltração de polimorfonucleares, linfócitos, monócitos e formação de crescentes celulares associados a depósitos de imunocomplexos. Também são frequentes as alterações vasculares ainda que estas não sejam empregadas para definir a classe histológica (3). As alterações mais frequentes incluem as lesões necrosantes na parede vascular, com depósito imune e redução da luz, e necrose fibrinoide em vasos de pequeno e médio calibre com infiltração inflamatória mural (4). Dentre as citocinas relacionadas mais intensamente às alterações vasculares, o VEGF tem sido o fator mais estudado. A maioria dos autores relatou que não há aumento deste fator no LES com doença inativa em comparação ao grupo controle (5-9). Em relação à doença ativa, a maior parte dos autores encontrou aumento de VEGF (5, 6, 8, 9), sendo que Navarro relatou aumento maior nas pacientes com insuficiência renal comparativamente com as pacientes com função renal normal (10). Já Hrycek encontrou resultados semelhantes ao controle mesmo no LES ativo (7). Estudo realizado por Avihingsanon e colaboradores investigou a expressão do RNA mensageiro (mRNA) do VEGF renal em material obtido através de biópsia para caracterização de nefrite em 35 pacientes com lúpus. Vinte e sete pacientes tiveram o diagnóstico histopatológico de nefrite lúpica classe IV e oito pacientes foram diagnosticadas como portadoras de nefrite classe III segundo a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) e da Sociedade Internacional de Nefrologia / Sociedade de Patologia Renal (ISN/RPS, do inglês International Society of Nephrology / Renal Pathology Society) (3). Os níveis de mRNA VEGF foram menores nas pacientes com nefrite lúpica quando comparados com o controle, apresentando correlação negativa com formação de crescentes, com altos valores do índice de atividade medido através de achados patológicos descritos por Austin e colaboradores (11) e com proliferação difusa endocapilar. No entanto, amostras com mais de 25% de infiltração neutrofílica glomerular não mostraram diferença no VEGF. Os autores encontraram, através da análise de uma curva ROC, nível de mRNA capaz de predizer 53% dos casos de perda de

função renal (dobrando a creatinina sérica ou doença renal em estágio terminal) em 12 meses (12). Formulou-se a hipótese que a redução intrarrenal de VEGF seria causada pela perda de células podócitárias na urina, já que o mesmo autor demonstrou em estudo anterior aumento de VEGF urinário em pacientes com nefrite lúpica comprovadas por biópsia (13). Os autores analisaram as amostras urinárias de 21 pacientes no dia da realização da biópsia utilizada para medir o VEGF mRNA intrarrenal e encontraram aumento de WT-1, um marcador podocitário, e de VEGF quando comparadas com o controle (12). A comparação desse resultado apresentado por Avihingsanon e colaboradores com os outros autores que estudaram o VEGF sérico não pode ser feita, pois os métodos de quantificação (PCR, do inglês Polymerase Chain Reaction x ELISA, do inglês Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e os materiais obtidos (tecido x soro) eram distintos. Os efeitos locais do VEGF podem ser diferentes da resposta sistêmica e as medicações imunossupressoras utilizadas pelos pacientes podem servir como fator de confusão. O autor ainda comenta que a detecção do VEGF é de diferentes fontes celulares nestes dois modelos de estudo, sendo o VEGF sérico originado das células endoteliais e o VEGF renal originado das células epiteliais tubulares e podócitos (12). Devido à maior prevalência do LES em mulheres em idade fértil, a gestação nessas pacientes não é uma condição incomum e ao mesmo tempo é interessante notar que diversos achados clínicos e laboratoriais na nefrite lúpica são semelhantes àqueles encontrados em pacientes com pré-eclâmpsia (PE) grave, especificamente hipertensão arterial sistêmica (HAS), proteinúria e edema (14). As reativações do LES durante a gestação são na maioria das vezes leves (15), no entanto a reativação grave da doença pode ocorrer em 25-30% das gestantes com lúpus (16), podendo a doença surgir durante a gravidez ou no período pós-parto (15). Em revisão sistemática recente de 2751 gestações em 1842 pacientes com LES, foi encontrada reativação da doença em 25,6% dos casos, HAS em 16,3%, nefrite em 16,1%, PE em 7,6%, eclâmpsia em 0,8% e prematuridade em 39,4% dos partos. Houve associação positiva entre parto prematuro e nefrite ativa, assim como entre HAS e nefrite ativa ou história de nefrite (17). A revisão de 76 gestações em 63 pacientes com lúpus acompanhadas no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) encontrou resultados semelhantes, com 15% das pacientes tendo desenvolvido PE e 30% HAS. Neste mesmo estudo, 14 pacientes precisaram aumentar as doses de corticosteroides durante a gestação e 27% dos fetos apresentaram sofrimento fetal crônico. Os partos ocorreram numa idade gestacional média de 35 semanas e foi notada maior incidência de óbito fetal em pacientes com nefrite comparadas às pacientes sem nefrite (37% x 12,2%) (18). Além dos resultados adversos maternos e perinatais associados à PE e ao LES, o diagnóstico diferencial entre as duas condições é complexo, pois ambas podem apresentar aumento de proteinúria, HAS, trombocitopenia e deterioração da função renal. A queda dos níveis das proteínas do complemento sérico, que pode ocorrer principalmente na reativação das glomerulonefrites proliferativas no lúpus e auxiliariam no diagnóstico diferencial com a PE, pode não ser observada em decorrência do aumento fisiológico das proteínas do sistema complemento durante a gestação (15). A PE é uma desordem multifuncional de causa desconhecida que é exclusiva da gestação humana. É caracterizada pela resposta vascular anormal à placentação, levando ao aumento da resistência vascular periférica, da agregação plaquetária, ativação do sistema de coagulação e disfunção endotelial. Os achados clínicos de PE podem se manifestar como uma síndrome materna, com HAS e proteinúria com ou sem outras anormalidades multissistêmicas, e/ou uma síndrome fetal, apresentando restrição do crescimento intrauterino, oligodramnia e oxigenação deficiente (19). Apesar dos avanços nos cuidados perinatais, a frequência de pré-eclâmpsia não tem mudado e não houve melhora substancial nos métodos de predição ou de prevenção da patologia independente das pesquisas das últimas décadas. Um grande impedimento para tais métodos é o fraco entendimento dos vários mecanismos patológicos que levam à pré-eclâmpsia assim como o critério inconsistente para defini-la. (Sibai, Dekker et al. 2005) A PE é uma das principais causas de morbimortalidade materna, morte perinatal, parto pré-termo e restrição de crescimento intrauterino. Apesar de um bom desfecho para a maioria das gestantes, o atraso no seu diagnóstico pode favorecer a evolução para sua forma mais grave, a eclâmpsia, caracterizada por uma ou mais convulsões sobrepostas aos achados de pré-eclâmpsia. Enquanto nos países desenvolvidos a frequência de eclâmpsia é de uma para duas mil gestações, nos países em desenvolvimento pode chegar até a uma em cada cem gestações. Calcula-se que pacientes gestantes em países desenvolvidos apresentem um risco médio de mortalidade por causas obstétricas durante a vida de um para quatro mil a um para dez mil, enquanto nos países com baixa renda esse risco varia entre um para quinze e um para cinquenta, apresentando uma taxa de mortalidade cem a duzentas vezes maior que na Europa e América do Norte (20). Vários estudos sugerem que as mulheres que desenvolvem pré-eclâmpsia possuem um risco cardiovascular aumentado no restante da vida, sendo a disfunção endotelial uma peça fundamental no achado fisiopatológico e que persiste após o parto (21-23). A gestação que apresenta esta complicação pode identificar as mulheres em risco para doença cardiovascular e dar a oportunidade para mudança nos fatores de risco e estilo de vida (19). Apesar do grande número de pesquisas, a etiologia da pré-eclâmpsia continua desconhecida. Existem duas correntes de pensamento atuais, que são discordantes: o modelo isquêmico, no qual a isquemia e a reperfusão resultam em estresse oxidativo e doença vascular; e o modelo imunológico, que considera uma má adaptação imune maternopaternal, isto é, uma reação aloimune materna disparada pela rejeição do aloenxerto fetal (19). Durante o desenvolvimento placentário normal, o citotrofoblasto invade as arteríolas espiraladas maternas e promove um remodelamento, tornando esses vasos de grande capacidade e de baixa resistência. Esta invasão endovascular do citotrofoblasto envolve a troca do endotélio e da túnica média das arteríolas. No modelo isquêmico, a hipótese formulada é que ocorre uma invasão superficial das arteríolas espiraladas pelo citotrofoblasto, não permitindo o remodelamento vascular e levando a uma perfusão placentária deficiente e consequentemente insuficiência placentária (24). Além disso, não ocorre uma mudança da expressão das integrinas superficiais epiteliais das células trofoblásticas para um fenótipo endotelial, limitando seu potencial invasivo (25). A disfunção endotelial generalizada pode ser responsável por todos os aspectos clínicos encontrados na pré-eclâmpsia e a identificação de fatores circulantes que servem como mediadores desta disfunção tornou-se assunto de grande interesse nas últimas décadas. Diversos grupos publicaram alterações em citocinas, fatores de crescimento e químicos, como TNF-, IL-6, IL-1, IL-1, ligante de Fas, produtos lipídicos oxidados, neuroquinina-B e dimetilarginina assimétrica (ADMA), que são liberados pela placenta e/ou outras fontes maternas na pré-eclâmpsia (24). Já no modelo imunológico, a deposição do sêmen no trato genital feminino provoca uma cascata de eventos celulares e moleculares que são semelhantes à reposta inflamatória clássica, permitindo um processamento dos antígenos paternos e uma forte reação imune tipo 2. Ao iniciar este tipo de resposta imune em relação aos antígenos paternos, o TGF1 encontrado no sêmen pode inibir a indução de respostas tipo 1 contra o conceito semi-alógeno; a pequena exposição ao sêmen levaria a resposta imune tipo 1 que seria a causa do desenvolvimento placentário e fetal deficiente (19). Independentemente do modelo proposto como causa da pré-eclâmpsia, sabe-se que na gestação normal existe uma interação do trofoblasto endovascular e dos leucócitos decíduais, especialmente células natural-killer (NK), resultando na liberação de mitógenos responsáveis pela angiogênese necessária para o desenvolvimento placentário, principalmente o VEGF e o fator de crescimento placentário (PIGF, do inglês placental growth factor). Concentrações elevadas de VEGF livre também são importantes para manter em repouso o endotélio, apesar do estresse inflamatório típico que envolve uma gestação normal (19). Outras funções do VEGF incluem induzir a produção de óxido nítrico e prostaciclina vasodilatadoras pelas células endoteliais, reduzindo o tônus vascular e a pressão arterial; promover a recuperação glomerular em modelo animal de glomerulonefrite e microangiopatia trombótica; e aumentar a permeabilidade vascular (26). Estudos sobre fatores antiangiogênicos demonstraram que o bloqueio de seus sinalizadores resultou em HAS e proteinúria (26). Considerando estes dados, o VEGF apresenta um papel importante não apenas na regulação da pressão sanguínea mas também em manter a integridade da barreira de filtração glomerular durante a gestação (25, 26). Maynard e colaboradores pesquisaram em tecido placentário de mulheres com e sem pré-eclâmpsia, o mRNA do receptor Fms-like tirosina quinase-1 solúvel (sFlt-1, do inglês soluble Fms-like tyrosine kinase-1) e encontraram aumento de sua expressão apenas nas mulheres com pré-eclâmpsia. O sFlt-1, também chamado de sVEGFR-1, é um dos dois receptores solúveis para o VEGF (6) e possui alta afinidade pelo VEGF, à semelhança do que ocorre com o receptor de membrana VEGFR-1. O sFlt-1 é uma variante solúvel do receptor de VEGF Flt-1 que não possui domínios transmembrana e citoplasmáticos, agindo como potente antagonista de VEGF e PIGF, apresentando, portanto, um perfil inibidor da ação dessas duas citocinas, o que poderia ser considerado uma atividade antiangiogênica. O mesmo grupo formulou a hipótese que o sFlt-1 circulante em excesso secretado pela placenta na pré-eclâmpsia

levaria a disfunção endotelial, HAS e proteinúria ao antagonizar o VEGF e PIGF circulantes (26). Continuando seu estudo, Maynard demonstrou que os níveis de sFlt-1 sérico medidos pelo método ELISA em pacientes com pré-eclâmpsia eram maiores que os de gestantes com pressão arterial normal, chegando o aumento a cinco vezes no caso de pré-eclâmpsia grave. Este achado foi confirmado por outros autores (27). Foi demonstrado neste grupo de pacientes que os valores séricos das frações livres de VEGF e PIGF estavam reduzidos proporcionalmente ao aumento de sFlt-1, sugerindo que o sFlt-1 atuaria como antagonista ao se ligar a essas citocinas e impedir a ligação do VEGF e PIGF aos seus receptores de superfície celular. Por fim, utilizando um modelo animal no qual foi administrado um adenovírus recombinante produtor de sFlt-1, houve desenvolvimento de hipertensão e proteinúria em ratas gestantes e não gestantes, inclusive com análise histopatológica renal evidenciando endoteliose glomerular, lesão característica da pré-eclâmpsia (26). Posteriormente a este estudo, Levine utilizou o banco de soros de um estudo prévio e comparou os valores de sFlt-1, PIGF e VEGF das pacientes com pré-eclâmpsia pareadas com pacientes normotensas de mesma idade gestacional na primeira coleta sérica (120 casos e 120 controles), utilizando o mesmo procedimento de Maynard (método ELISA). O autor comprovou que as pacientes analisadas após o diagnóstico de pré-eclâmpsia possuíam níveis séricos maiores de sFlt-1 e menores de PIGF e VEGF que o grupo controle. Essas alterações foram mais pronunciadas quando as pacientes apresentaram pré-eclâmpsia precoce (<34 semanas) ou restrição do crescimento intrauterino. Depois, em análise longitudinal, ele observou que, durante a gestação normal, a concentração de sFlt-1 manteve-se constante até 33 a 36 semanas, apresentando posterior elevação semanal até o parto; a de PIGF manteve-se constante nos dois primeiros trimestres, apresentou pico entre 29 a 32 semanas e posterior queda contínua; o VEGF manteve-se baixo durante toda gestação (28). Avaliando o grupo de pacientes com pré-eclâmpsia, Levine relatou que, antes do diagnóstico, houve elevação da concentração de sFlt-1 entre 21 e 24 semanas de gestação, sendo esta elevação mais rápida de 11 a 9 semanas antes da abertura do quadro, chegando ao pico 5 semanas antes e mantendo-se neste patamar até o diagnóstico. Os níveis de PIGF encontrados foram menores a partir das 13 a 16 semanas e também apresentaram queda 11 a 9 semanas antes do diagnóstico, com redução substancial nas 5 semanas antes do aparecimento de hipertensão ou proteinúria. As concentrações de VEGF mantiveram-se baixas durante toda gestação sem diferença entre os grupos, exceto nos casos de coleta de material entre 37 e 41 semanas das pacientes que posteriormente desenvolveram pré-eclâmpsia e nos casos em que o soro foi colhido entre 21 e 32 semanas e até 5 semanas antes do aparecimento do quadro. Essas alterações foram mais pronunciadas quando a paciente apresentou pré-eclâmpsia precoce (<34 semanas) ou restrição do crescimento intrauterino (28). O autor sugere que, fisiologicamente, o estado pró-angiogênico do segundo trimestre (aumento de PIGF com sFlt-1 baixo) seria convertido para um estado anti-angiogênico (aumento do sFlt-1 e queda do PIGF e VEGF) e que nas pacientes com pré-eclâmpsia esta conversão seria mais precoce e abrupta, como um exagero do processo normal de controle do crescimento e funcionamento placentário (28). Diversos autores continuaram esta linha de pesquisa, estudando fatores angiogênicos e antiangiogênicos urinários (29, 30), a associação dos fatores séricos com achados ultrassonográficos (31-33) e principalmente a possibilidade de utilizar estes marcadores como preditores da pré-eclâmpsia (34-36). Entre estas novas aplicações, sem dúvidas a predição da pré-eclâmpsia no primeiro trimestre da gestação, especialmente a sua forma grave e precoce, é a mais promissora e já está sendo utilizada na prática clínica em alguns países (37), inclusive no Brasil. Além da dificuldade de predição e de entendimento da fisiopatologia, a pré-eclâmpsia apresenta semelhança clínica e laboratorial com várias doenças que acometem o ciclo gravídico-puerperal, tanto clínicas quanto cirúrgicas, como por exemplo o fígado gorduroso agudo da gravidez, a púrpura trombocitopênia trombótica, a síndrome hemolítica urêmica, a sepse e a reativação do LES. O tratamento difere entre estas enfermidades e o diagnóstico incorreto pode levar a uma elevada morbimortalidade materna e fetal (38). Há, portanto, necessidade de melhorar a acurácia do diagnóstico diferencial entre pré-eclâmpsia e LES com nefrite e a medida dos marcadores angiogênicos e antiangiogênicos como sFlt-1, VEGF e PIGF poderia contribuir para discriminar as duas condições (39), mas estudos prospectivos que incluam pacientes com LES durante a gestação ainda são aguardados (40).

3 FATORES ANGIOGÊNICOS E ANTIANGIOGÊNICOS EM PACIENTES COM LES

Até o momento, apenas um estudo caso-controle contendo pacientes gestantes com LES estudou os níveis de sFlt-1 em pacientes com diagnóstico de pré-eclâmpsia, tendo encontrado concentrações elevadas em comparação às das pacientes com LES sem pré-eclâmpsia. No entanto, o estudo incluiu um pequeno número de pacientes (18 casos e 34 controles), não incluiu pacientes com nefrite e não avaliou os títulos dos fatores angiogênicos VEGF e PIGF (41). Um relato de caso publicado sugere o potencial uso da dosagem de PIGF e sFlt-1 como auxiliar para o diagnóstico diferencial entre reativação do LES e pré-eclâmpsia. Uma gestante com diagnóstico prévio de LES e nefrite foi internada com quadro de HAS progressiva, trombocitopenia e piora na proteinúria. Tendo em vista o diagnóstico inicial de reativação da doença de base, a paciente foi tratada com corticosteroides mas não ocorreu melhora clínica e houve evolução para o óbito fetal. Após o parto, a rápida melhora clínica sugeriu a hipótese de pré-eclâmpsia e a mensuração dos níveis séricos de PIGF e sFlt-1 coletados no momento da internação foi sugestiva deste diagnóstico, revelando o sFlt-1 acima do percentil 95 para a idade gestacional com o PIGF abaixo do nível de detecção para o exame (42). Rhee e colaboradores também mencionam que estudos clínicos prospectivos são necessários para a melhor caracterização dos fatores angiogênicos e antiangiogênicos em situações clínicas reais em gestantes com comorbidades que dificultem o diagnóstico diferencial com a PE (42). Em relação ao LES, cuja fisiopatologia envolve dano vascular, e em particular, nos casos com glomerulonefrite, cuja inflamação envolve caracteristicamente as alças capilares do glomérulo, é preciso melhor conhecimento quanto a variação dos níveis séricos dessas citocinas em diferentes condições, incluindo os períodos de atividade e inatividade da doença durante a gravidez. Em pacientes não gestantes, alguns autores demonstraram o aumento do VEGF no LES ativo comparado com doença inativa ou com o controle (8), assim como em outras doenças inflamatórias como artrite reumatoide, polimiosite e dermatomiosite (8). Esta elevação do VEGF é esperada após a lesão endotelial presente na fisiopatologia da doença, considerando seu papel como modulador da angiogênese, proliferação e migração celular endotelial, quimiotaxia e permeabilidade capilar. Outros mecanismos também podem ser responsáveis pela elevação do VEGF em pacientes com LES. Níveis elevados de IL-17 foram descritos em pacientes com LES e esta citocina pró-inflamatória determina aumento na produção de VEGF (43). Em pacientes com nefrite lúpica, sua elevação pode estar associada com o reparo capilar dos glomérulos danificados (44). Frieri e colaboradores observaram, através de coloração imunohistoquímica, a presença de VEGF nos glomérulos e túbulos renais obtidos a partir de biópsias em pacientes com LES e nefrite, mas não identificaram este fator em amostras de pacientes saudáveis (45). Robak e colaboradores e, mais recentemente, Zhou e colaboradores, avaliaram a medida de PIGF nas pacientes com LES não gestantes. Os dois grupos encontraram valores aumentados dessa citocina tanto na doença ativa quanto na doença inativa em relação ao controle (9, 46). O PIGF, membro da família VEGF, também possui um papel expressivo na neovascularização em adultos, contribuindo na cicatrização de feridas através da angiogênese, além de promover quimiotaxia de monócitos, crescimento de vasos colaterais, mobilização de células precursoras na medula óssea e aumento da atividade do VEGF (46). Já o receptor solúvel do VEGF-1, sFlt-1, foi descoberto recentemente e o seu papel fisiológico ainda não está bem estabelecido. Sabemos que ele é normalmente encontrado na circulação de homens e mulheres, é produzido por células endoteliais e monócitos e sua produção é aumentada quando estas duas células são ativadas (47). O sFlt-1 possui uma grande afinidade pelo VEGF e acredita-se que ele funcione como regulador negativo da disponibilidade do VEGF ou que ele prolongue as diferentes atividades desta citocina angiogênica (6). Foi demonstrado que este receptor solúvel faz parte de um sistema vascular intrínseco que guia os brotos vasculares para longe do vaso parental, em conjunto com o VEGF (48). Em relação ao LES-1, Hrycek e colaboradores (7) e Robak e colaboradores (6) o estudaram em pacientes adultos com LES não gestantes e relataram não haver diferença da medida nas pacientes com doença inativa em relação ao controle. Por outro lado, o primeiro grupo descreveu valores menores em pacientes com a doença ativa enquanto o segundo grupo relatou valores maiores no mesmo cenário, ambos com diferença estatisticamente significativa. Um estudo recente avaliando crianças e adolescentes com LES encontrou valores maiores para sFlt-1 nos pacientes com nefrite ativa quando comparados com pacientes com história de nefrite em remissão e com um grupo controle sem LES. Os valores de VEGF encontrados foram maiores para as pacientes que tinham nefrite ativa, mas estavam inversamente relacionados com o sFlt-1 tanto nos pacientes com nefrite ativa quanto com nefrite inativa. A redução do VEGF circulante resultaria em diminuição de seu efeito protetor endotelial e glomerular, o que

tornaria o sFlt-1 um possível agente causador de lesão endotelial (49). De Jesús e colaboradores avaliaram os valores séricos médios de VEGF, PlGF e sFlt-1 em pacientes não gestantes com LES. A maior parte das pacientes incluídas neste estudo (81,4%) possuía história clínica, laboratorial e/ou histopatológica de nefrite lúpica, incluindo mais da metade (66,6%) das pacientes com a doença em remissão. Estes autores demonstraram que os valores séricos médios de VEGF, PlGF e sFlt-1 foram maiores em pacientes não gestantes com LES em comparação ao grupo controle composto por mulheres sem doença autoimune. As pacientes com LES ativo apresentaram os valores séricos médios das três citocinas maiores do que o grupo controle, enquanto não houve diferença estatística entre os valores séricos médios do VEGF, PlGF e sFlt-1 quando as pacientes com LES inativo foram comparadas ao grupo controle (50). Quando os dois grupos de pacientes com LES foram comparados neste mesmo estudo, apenas os valores séricos médios do sFlt-1 foram significativamente maiores no grupo com doença ativa em comparação ao grupo com doença em remissão, enquanto não houve diferença entre os dois grupos em relação aos valores séricos médios de VEGF e PlGF (50). O padrão de elevação de VEGF e PlGF com a atividade da doença descrito por De Jesús e colaboradores favorece a aplicação destes fatores angiogênicos como método para auxílio no diagnóstico diferencial entre nefrite lúpica e PE em gestantes com LES, visto que estas citocinas estão reduzidas em pacientes com PE (25). A elevação do sFlt-1 em pacientes com doença ativa não exclui a análise desta citocina para o mesmo propósito, considerando a possibilidade de diferença de valores. Este estudo foi desenhado para melhor caracterizar os níveis séricos de VEGF, PlGF e sFlt-1 em pacientes com LES gestantes com doença ativa e inativa, comparando-os com os encontrados em gestantes com pré-eclâmpsia e em gestantes sem pré-eclâmpsia.

Hipótese:

A hipótese nula (H0) formulada foi que as pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico e nefrite teriam valores de sFlt-1, VEGF, PlGF e BAFF (BLys) semelhantes às pacientes com LES e pré-eclâmpsia. O desenho do estudo objetivou rejeitar a H0, admitindo o nível de significância em 0,05.

Objetivo Primário:

Avaliar se existe diferença entre os níveis séricos de VEGF, PlGF, sFlt-1 e BAFF (BLys) em gestantes com lúpus eritematoso sistêmico com e sem atividade sistêmica da doença e em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico com e sem pré-eclâmpsia e ou restrição do crescimento fetal.

Objetivo Secundário:

Avaliar se existe diferença entre os valores séricos de VEGF, PlGF, sFlt-1 e BAFF (BLys) em gestantes com lúpus eritematoso sistêmico com pré-eclâmpsia e ou restrição do crescimento fetal em comparação com os níveis séricos dessas citocinas em gestantes com LES sem pré-eclâmpsia e ou restrição do crescimento fetal. Avaliar se existe diferença entre os valores séricos de VEGF, PlGF, sFlt-1 e BAFF (BLys) em gestantes com lúpus eritematoso sistêmico em comparação com os níveis séricos dessas citocinas em pacientes não gestantes com lúpus eritematoso sistêmico. Avaliar o resultado gestacional das gestantes com lúpus eritematoso sistêmico em acompanhamento no Hospital Universitário Pedro Ernesto. Avaliar o resultado histopatológico das placentas em gestantes com lúpus eritematoso sistêmico em acompanhamento no Hospital Universitário Pedro Ernesto.

Metodologia Proposta:

Este estudo terá caráter longitudinal e incluirá gestantes com LES em atividade ou remissão. Serão incluídas gestantes com diagnóstico de LES segundo os critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia revisados em 1997 em acompanhamento no pré-natal de doenças reumatológicas da Disciplina de Obstetrícia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) do HUPE da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). A inclusão será feita sequencialmente de acordo com agendamento de rotina para consulta de pré-natal. Os esclarecimentos a respeito do protocolo de pesquisa e a assinatura do termo de consentimento serão feitos antes da entrevista de pesquisa. Todas as pacientes do grupo em estudo serão avaliadas quanto à atividade através da utilização do índice SLEPDAI, SLIC-SDI, emprego de questionário semiestruturado, exame físico e exames laboratoriais e realizarão coleta de sangue com 16-18, 24-26, 30-32, 34-36 e 38-40 semanas de idade gestacional. As gestantes com LES e índice SLEPDAI maior ou igual a 6 serão classificadas como portadoras de doença ativa, enquanto as gestantes com índice SLEPDAI menor ou igual a 5 serão classificadas como portadoras de doença em remissão. A avaliação do resultado gestacional em pacientes com LES será feita através de revisão do prontuário, analisando os seguintes parâmetros: via de parto, idade gestacional do parto, peso fetal ao nascer, sexo, escore apgar, internação em UTI neonatal e presença de eventos adversos (restrição de crescimento, parto prematuro, amniorrexe prematura, hipertensão arterial, diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, descolamento prematuro de placenta, óbito fetal, outros). Como parte dos objetivos secundários, os resultados gestacionais das pacientes atendidas no HUPE desde o ano 2000 serão analisados a partir da revisão de prontuários, considerando os mesmos parâmetros utilizados para o grupo de estudo atual. O grupo controle será composto por gestantes atendidas na enfermaria de Obstetrícia da Disciplina de Obstetrícia da FCM do HUPE – UERJ com idade gestacional maior que 22 semanas. As pacientes responderão a um questionário avaliando os fatores de risco para pré-eclâmpsia e afastando história de doenças autoimunes. Todas as manifestações clínicas, alterações laboratoriais específicas do lúpus e índice de dano cumulativo, esse último quantificado através do emprego do escore de dano do SLICC (Systemic Lupus International Collaborative Clinics), serão obtidos através de revisão de prontuário e entrevista direta com cada paciente, momento no qual será preenchida a ficha clínica específica para esse estudo. Os critérios indicativos de atividade do LES no momento da coleta de sangue serão obtidos através de revisão de prontuário e entrevista direta com cada paciente e emprego do índice SLEPDAI.

Critério de Inclusão:

Pacientes gestantes com lúpus eritematoso sistêmico, serão incluídas sequencialmente a partir da inclusão no pré-natal. As coletas serão realizadas com 16-18, 24-26, 30-32, 34-36 e 38-40 semanas de idade gestacional. As gestantes com LES e índice SLEPDAI maior ou igual a 6 serão classificadas como portadoras de doença ativa, enquanto as gestantes com índice SLEPDAI menor ou igual a 5 serão classificadas como portadoras de doença em remissão. 6.1.2 Gestantes sem doença autoimune e com pré-eclâmpsia: serão incluídas pacientes com diagnóstico de pré-eclâmpsia, que será dividido em leve, grave, síndrome HELLP e eclâmpsia (53, 54). 6.1.2.1 Pré-eclâmpsia leve: gestante com elevação de pressão arterial (PA) no último trimestre da gestação (PA sistólica 140 ou PA diastólica 90 mmHg) associado a proteinúria maior que 300mg em 24 horas e sem critérios de gravidade (a seguir). 6.1.2.2 Pré-eclâmpsia grave: gestante com elevação de pressão arterial no último trimestre da gestação (PA sistólica 140 ou PA diastólica 90 mmHg) associado a proteinúria maior que 300mg em 24 horas e com pelo menos um dos seguintes critérios de gravidade: PA maior ou igual a 160 x 110 mmHg, proteinúria maior que 5g em 24h, restrição do crescimento intrauterino, cefaléia, escotomas, dor epigástrica, oligúria, creatinina >1,2mg/dL, trombocitopenia (plaquetas <100.000/ mm3) ou aumento de transaminases hepáticas maior que 2 vezes o valor de referência. 6.1.2.3 Síndrome HELLP: gestante com diagnóstico de pré-eclâmpsia apresentando todos os seguintes critérios: hemólise, trombocitopenia (plaquetas <100.000/ mm3) e aumento de transaminases hepáticas maior que 2 vezes o valor de referência. 6.1.2.4 Eclâmpsia: Paciente com diagnóstico de pré-eclâmpsia e quadro de convulsão tônico-clônica. 6.1.3 Gestantes sem doença autoimune e sem pré-eclâmpsia: serão incluídas pacientes sem complicações hipertensivas durante a gestação internadas para realização do parto. As pacientes com lúpus que acompanharam o pré-natal no HUPE desde o ano 2000 terão o prontuário revisado para avaliação do resultado gestacional neste grupo de pacientes.

Critério de Exclusão:

Em relação ao grupo de gestante com lúpus, serão excluídas do estudo aquelas que não desejarem participar do mesmo ou não assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE. Em relação ao grupo controle, serão excluídas gestantes com doenças prévias a gestação, em uso regular de medicações durante o pré-natal (exceto sulfato ferroso, ácido fólico, vitaminas ou analgésicos não controlados), com diagnóstico de diabetes gestacional, com infecção

no momento da inclusão do estudo, aquelas que não desejarem participar do mesmo ou não assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE.

Riscos:

Os únicos riscos envolvidos com o projeto estão na coleta de sangue venoso para análise dos fatores VEGF, PlGF, sFlt-1 e BAFF (BlyS), que pode resultar em hematoma e dor. Todos os outros dados utilizados no estudo serão provenientes de exame físico, exames laboratoriais e análise histopatológica da placenta feitos de rotina no acompanhamento pré-natal de gestantes de alto risco do Hospital Universitário Pedro Ernesto ("standard of care"), coletados a partir da revisão do prontuário.

Benefícios:

Este estudo poderá criar uma nova ferramenta no acompanhamento de gestantes com doenças autoimunes e lúpus eritematoso sistêmico, permitindo um melhor diagnóstico e consequentemente melhor tratamento destas pacientes.

Metodologia de Análise de Dados:

O estudo tem por objetivo avaliar se as gestantes portadoras de LES com doença ativa teriam valores séricos de sFlt-1, VEGF, PlGF e BAFF (BlyS) diferentes das gestantes com LES inativo e das gestantes do grupo controle que não possuem doença autoimune, admitindo o nível de significância em 0,05. As manifestações clínicas, tempo de doença, características demográficas, avaliação laboratorial da função renal e drogas em uso das pacientes com doenças autoimunes e LES serão dispostas em tabelas, submetidas posteriormente à análise estatística descritiva. O teste exato de Fischer será utilizado para comparação de variáveis categóricas e o teste U de Mann-Whitney para variáveis contínuas que não apresentavam distribuição normal.

Desfecho Primário:

ativação do lúpus eritematoso sistêmico (tipo de ativação, relação temporal com gestação); ativação da nefrite lúpica; surgimento de pré-eclâmpsia; surgimento de outra complicação durante a gravidez de uma paciente com lúpus eritematoso sistêmico (parto prematuro, restrição de crescimento intrauterino, abortamento, óbito fetal)

Desfecho Secundário:

Aumento do BAFF (BlyS) nas gestantes com doenças autoimunes e LES que tiverem desfechos gestacionais adversos.

Tamanho da Amostra no Brasil: 150

Países de Recrutamento

País de Origem do Estudo	País	Nº de participantes da pesquisa
Sim	BRASIL	150

Outras Informações

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

Detalhamento:

A análise dos parâmetros séricos (complemento, anti-DNA, trombocitopenia, leucopenia) e urinários (pesquisa de cilindros urinários, hematúria, piúria e urina de 24h) para o índice SLEPDAI será feita a partir de dados disponíveis no prontuário da paciente no momento da inclusão no estudo. Será feita a revisão do prontuário de todas as pacientes, com a análise dos seguintes pontos: duração da doença; tempo para o diagnóstico do LES; manifestações clínicas e laboratoriais desde o início da doença; critérios clínicos e laboratoriais para nefrite lúpica; realização de biópsia renal e resultado da análise histopatológica; dano cumulativo a partir do índice SLICC; uso de medicações anti-hipertensivas e ácido acetilsalicílico (AAS); valor da creatinina sérica (mg/dl). A avaliação do resultado gestacional em pacientes com LES será feita através de revisão do prontuário, analisando os seguintes parâmetros: via de parto, idade gestacional do parto, peso fetal ao nascer, sexo, escore apgar e presença de eventos adversos (restrição de crescimento fetal, parto prematuro, amniorrexe prematura, hipertensão arterial, diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, descolamento prematuro de placenta, óbito fetal). As pacientes do grupo controle terão estes mesmos parâmetros avaliados, assim como as pacientes com LES que foram acompanhadas no HUPE mas não foram incluídas no grupo de estudo.

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:

150

Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro

ID Grupo	Nº de Indivíduos	Intervenções a serem realizadas
Controle com pré-eclâmpsia	30	Coleta de Sangue e Aferição da Pressão Arterial
Gestantes com Lupus	80	Coleta de Sangue e Aferição da Pressão Arterial
Controle hígida	30	Coleta de Sangue e Aferição da Pressão Arterial

O Estudo é Multicêntrico no Brasil?

Não

Propõe dispensa do TCLE?

Sim

Justificativa:

Solicitamos a dispensa de utilização de termo de consentimento livre e esclarecido na avaliação do desfecho materno e fetal de gestações em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico que não foram incluídas no grupo de estudo (sem coleta de sangue), com obtenção de dados por revisão de prontuário, sem entrevista com a paciente, naquelas em que já ocorreu o parto. As pacientes que serão submetidas a coleta prospectiva de informações e material biológico (sangue) irão assinar o termo de consentimento livre e esclarecido em anexo.

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?

Não

Data de Submissão do Projeto: 28/07/2019	Nome do Arquivo: PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1400954_E2.pdf	Versão do Projeto: 3
--	--	----------------------

Cronograma de Execução

Identificação da Etapa	Início (DD/MM/AAAA)	Término (DD/MM/AAAA)
Mensuração dos títulos dos fatores angiogênicos e antiangiogênicos pelo método ELISA	01/07/2013	29/12/2017
Tabulação dos dados, análise estatística	01/01/2018	29/06/2018
Coleta de dados	01/02/2011	29/12/2017
Coleta de sangue para BAFF(BLyS) e mensuração dos títulos	05/09/2019	01/09/2022

Orçamento Financeiro

Identificação de Orçamento	Tipo	Valor em Reais (R\$)
Kit Elisa sFlt-1	Custeio	R\$ 13.500,00
Kit ELISA PIGF	Custeio	R\$ 13.500,00
Kit ELISA VEGF	Custeio	R\$ 13.500,00
Kit para realização BAFF (BLyS)	Custeio	R\$ 12.000,00
Total em R\$		R\$ 52.500,00

Outras informações, justificativas ou considerações a critério do pesquisador:

Este projeto já havia sido aprovado previamente pelo CEP (2866/2011-CEP/HUPE/CAAE: 0017.0.228.000-11), no entanto, solicitamos, neste adendo a ampliação do estudo afim de permitir nas amostras previamente autorizadas, a avaliação de um novo marcador (BAFF/BLyS) sem no entanto modificar as intervenções realizadas nas pacientes -gestantes com LES e ou a metodologia inicial proposta.

Bibliografia:

1. Cortes-Hernandez J, Ordi-Ros J, Paredes F, Casellas M, Castillo F, Vilardell-Tarres M. Clinical predictors of fetal and maternal outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of 103 pregnancies. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(6):643-50. 2. Saxena R, Mahajan T, Mohan C. Lupus nephritis: current update. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(5):240. 3. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(2):241-50. 4. Barber C, Herzenberg A, Aghdassi E, Su J, Lou W, Qian G, et al. Evaluation of clinical outcomes and renal vascular pathology among patients with lupus. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(5):757-64. 5. Robak E, Wozniacka A, Sysa-Jedrzejowska A, Stepień H, Robak T. Circulating angiogenesis inhibitor endostatin and positive endothelial growth regulators in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2002;11(6):348-55. 6. Robak E, Sysa-Jedrzejowska A, Robak T. Vascular endothelial growth factor and its soluble receptors VEGFR-1 and VEGFR-2 in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Mediators Inflamm*. 2003;12(5):293-8. 7. Hrycek A, Janowska J, Cieslik P. Selected angiogenic cytokines in systemic lupus erythematosus patients. *Autoimmunity*. 2009;42(5):459-66. 8. Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Sierakowski S, Ciolkiewicz M. Vascular endothelial growth factor in systemic lupus erythematosus: relationship to disease activity, systemic organ manifestation, and nailfold capillaroscopic abnormalities. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2007;55(3):179-85. 9. Zhou L, Lu G, Shen L, Wang L, Wang M. Serum levels of three angiogenic factors in systemic lupus erythematosus and their clinical significance. *Biomed Res Int*. 2014;2014:627126. 10. Navarro C, Candia-Zuniga L, Silveira LH, Ruiz V, Gaxiola M, Avila MC, et al. Vascular endothelial growth factor plasma levels in patients with systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2002;11(1):21-4. 11. Austin HA, 3rd, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TT, Balow JE. Diffuse proliferative lupus nephritis: identification of specific pathologic features affecting renal outcome. *Kidney Int*. 1984;25(4):689-95. 12. Avihingsanon Y, Benjachat T, Tassanarong A, Sodsai P, Kittikovit V, Hirankarn N. Decreased renal expression of vascular endothelial growth factor in lupus nephritis is associated with worse prognosis. *Kidney Int*. 2009;75(12):1340-8. 13. Avihingsanon Y, Phumesin P, Benjachat T, Akkasilpa S, Kittikovit V, Praditpornsilpa K, et al. Measurement of urinary chemokine and growth factor messenger RNAs: a noninvasive monitoring in lupus nephritis. *Kidney Int*. 2006;69(4):747-53. 14. Tandon A, Ibanez D, Gladman DD, Urowitz MB. The effect of pregnancy on lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(12):3941-6. 15. Lateef A, Petri M. Managing lupus patients during pregnancy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27(3):435-47. 16. Tandon A, Ibanez D, Gladman DD, Urowitz MB. The effect of pregnancy on lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(12):3941-6. 17. Smyth A, Oliveira GH, Lahr BD, Bailey KR, Norby SM, Garovic VD. A systematic review and meta-analysis of pregnancy outcomes in patients with systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(11):2060-8. 18. Klumb EM, Barros LMS, Romeiro L, Jesús NR, Levy RA, Albuquerque EMN. Impacto da nefrite sobre os resultados gestacionais de mulheres com lúpus eritematoso sistêmico. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2005;45(3):107-13. 19. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005;365(9461):785-99. 20. Duley L. Pre-eclampsia and the hypertensive disorders of pregnancy. *Br Med Bull*. 2003;67:161-76. 21. Haukkanen L, Salminen M, Laivuori H, Leinonen H, Hillesmaa V, Kaaja R. Risk for subsequent coronary artery disease after preeclampsia. *Am J Cardiol*. 2004;93(6):805-8. 22. Harskamp RE, Zeeman GG. Preeclampsia: at risk for remote cardiovascular disease. *Am J Med Sci*. 2007;334(4):291-5. 23. Edlow AG, Srinivas SK, Elovitz MA. Investigating the risk of hypertension shortly after pregnancies complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(5):e60-2. 24. Davison JM, Homuth V, Jeyabalan A, Conrad KP, Karumanchi SA, Quaggin S, et al. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(9):2440-8. 25. Silasi M, Cohen B, Karumanchi SA, Rana S. Abnormal placentation, angiogenic factors, and the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2010;37(2):239-53. 26. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111(5):649-58. 27. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y, Ruimeng X, Hirata T, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(5):2348-51. 28. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350(7):672-83. 29. Levine RJ, Thadhani R, Qian C, Lam C, Lim KH, Yu KF, et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *JAMA*. 2005;293(1):77-85. 30. Buhimschi CS, Norwitz ER, Funai E, Richman S, Guller S, Lockwood CJ, et al. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192(3):734-41. 31. Stepan H, Walther T. Questionable role of the angiotensin II receptor subtype 1 autoantibody in the pathogenesis of preeclampsia. *Hypertension*. 2007;50(1):e3; author reply e4. 32. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, Stiegler E, Mortl M, Beckmann MW, et al. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29(4):407-13. 33. Crispi F, Dominguez C, Llurba E, Martin-Gallan P, Cabero L, Gratacos E. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195(1):201-7. 34. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):770-5. 35. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of

angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. J Matern Fetal Neonatal Med. 2008;21(1):9-23. 36. Espinoza J, Romero R, Nien JK, Gomez R, Kusanovic JP, Goncalves LF, et al. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. Am J Obstet Gynecol. 2007;196(4):326 e1-13. 37. Akolekar R, Syngelaki A, Sarguis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. Prenat Diagn. 2011;31(1):66-74. 38. Sibai BM. Imitators of severe pre-eclampsia. Semin Perinatol. 2009;33(3):196-205. 39. de Jesus G, de Jesus N, Levy R, Klumb E. The use of angiogenic and antiangiogenic factors in the differential diagnosis of pre-eclampsia, antiphospholipid syndrome nephropathy and lupus nephritis. Lupus. 2014;23(12):1299-301. 40. Day CJ, Lipkin GW, Savage CO. Lupus nephritis and pregnancy in the 21st century. Nephrol Dial Transplant. 2009;24(2):344-7. 41. Qazi U, Lam C, Karumanchi SA, Petri M. Soluble Fms-like tyrosine kinase associated with preeclampsia in pregnancy in systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 2008;35(4):631-4. 42. Rhee JS, Young BC, Rana S. Angiogenic factors and renal disease in pregnancy. Case Rep Obstet Gynecol. 2011;2011:281391. 43. Colombo BM, Cacciapaglia F, Puntoni M, Murdaca G, Rossi E, Rodriguez G, et al. Traditional and non traditional risk factors in accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: role of vascular endothelial growth factor (VEGATS Study). Autoimmun Rev. 2009;8(4):309-15. 44. Frieri M. Accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: role of proinflammatory cytokines and therapeutic approaches. Curr Allergy Asthma Rep. 2012;12(1):25-32. 45. Frieri M, Samih MA, Dzhindzhikhashvili M, Liu H, Balsam L, Rubinstein S. Toll-like receptor 9 and vascular endothelial growth factor levels in human kidneys from lupus nephritis patients. J Nephrol. 2012;25(6):1041-6. 46. Robak E, Kulczycka L, Sysa-Jedrzejowska A, Wierzbowska A, Robak T. Circulating proangiogenic molecules PIGF, SDF-1 and sVCAM-1 in patients with systemic lupus erythematosus. Eur Cytokine Netw. 2007;18(4):181-7. 47. Barleon B, Reusch P, Totzke F, Herzog C, Keck C, Martiny-Baron G, et al. Soluble VEGFR-1 secreted by endothelial cells and monocytes is present in human serum and plasma from healthy donors. Angiogenesis. 2001;4(2):143-54. 48. Luft FC. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 and atherosclerosis in chronic kidney disease. Kidney Int. 2014;85(2):238-40. 49. Edelbauer M, Kshirsagar S, Riedl M, Billing H, Tonshoff B, Haffner D, et al. Soluble VEGF receptor 1 promotes endothelial injury in children and adolescents with lupus nephritis. Pediatr Nephrol. 2012;27(5):793-800. 50. de Jesus GR. Avaliação de fatores angiogênicos e antiangiogênicos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2014. 51. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1997;40(9):1725. 52. Buyon JP, Kalunian KC, Ramsey-Goldman R, Petri MA, Lockshin MD, Ruiz-Irastorza G, et al. Assessing disease activity in SLE patients during pregnancy. Lupus. 1999;8(8):677-84. 53. Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL. Obstetrics : normal and problem pregnancies. 5th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier; 2007. xvii, 1391 p. p. 54. Cunningham FG, Williams JW. Williams obstetrics. 23rd ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2010. xv, 1385 p. p. 55. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1996;39(3):363-9.

Upload de Documentos

Arquivo Anexos:

Tipo	Arquivo
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Gestantes.doc
Comprovante de Recepção	PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_530156.pdf
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Doutorado_19_10_14_Plaintext.docx
Comprovante de Recepção	PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_822596.pdf
Folha de Rosto	FolhaderostoCEP.pdf
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf
Parecer Anterior	Aprovacao_CEP.jpg
Declaração de Pesquisadores	img006.jpg

Finalizar

Manter sigilo da integra do projeto de pesquisa: Não

Justificativa da Emenda:

Este adendo foi desenvolvido para solicitar a avaliação de um novo marcador (BAFF/BLyS), sem modificar a metodologia do estudo ou as intervenções realizadas nas pacientes, já que utilizaremos as amostras já autorizadas no protocolo inicial.