

MARIA GABRIELA LANG

**Uso de hidroxycloroquina melhora a transferência de lipídeos para a
lipoproteína de alta densidade (HDL) no Lúpus Eritematoso
Sistêmico**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutora em Ciências

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

**São Paulo
2022**

MARIA GABRIELA LANG

**Uso de hidroxycloroquina melhora a transferência de lipídeos para a
lipoproteína de alta densidade (HDL) no Lúpus Eritematoso
Sistêmico**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutora em Ciências

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto

(Versão corrigida. Resolução CoPGr nº 6018, de 13 de outubro de 2011.

A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Lang, Maria Gabriela

Uso de hidroxycloroquina melhora a transferência
de lipídeos para a lipoproteína de alta densidade
(HDL) no lúpus eritematoso sistêmico / Maria
Gabriela Lang. -- São Paulo, 2022.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.

Orientador: Eduardo Ferreira Borba Neto.

Descritores: 1.Lúpus eritematoso sistêmico
2.Hidroxycloroquina 3.Lipoproteínas 4.Função da HDL
5.Transferência de lipídeos

USP/FM/DBD-284/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Nome: LANG, Maria Gabriela

Título: Uso de hidroxiclороquina melhora a transferência de lipídeos para a lipoproteína de alta densidade (HDL) no Lúpus Eritematoso Sistêmico

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Aos meus pais Cezar Luiz e Maria Teresa Granella Lang, pelo exemplo e apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao meu esposo e companheiro Lucas Rhil Meng Wong, pelo apoio e compreensão incansáveis e pela companhia em todas as fases deste trabalho.

À minha amada filha Maria Júlia, que foi o incentivo que eu precisava para concluir o trabalho.

Aos pacientes, que são a motivação dos nossos estudos.

AGRADECIMENTOS



Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Ferreira Borba, pelos ensinamentos, paciência e por todo apoio ao longo da elaboração deste trabalho.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão, pelas várias oportunidades, apoio e suporte para a realização desta Tese.

À Profa. Dra. Eloísa Bonfá, pela oportunidade e por todas as suas contribuições para esse trabalho que foram de valor inestimável.

À Profa. Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre, por todas as contribuições feitas ao trabalho.

Aos assistentes do ambulatório de Lúpus e Síndrome Antifosfolípide por compartilharem seus conhecimentos ao longo deste tempo de convivência.

Aos colegas pós-graduandos dos ambulatórios de Lúpus e Síndrome Antifosfolípide, especialmente Dra. Gabriela Araújo Munhoz e Dra. Simone Fargetti, pela amizade, apoio e cumplicidade.

À minha colega Tatiane Silva Brito, que foi peça fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À equipe de enfermagem do CEDMAC, especialmente a enfermeira Juliana, pela ajuda e disponibilidade.

Às secretárias da Reumatologia USP, da pós-graduação em Ortopedia e a toda equipe de atendimento do ambulatório de Lúpus e Síndrome Antifosfolípide, pela disponibilidade, paciência e ajuda.

A toda equipe do laboratório de Metabolismo de Lípidos do Incor, especialmente a amiga Fátima Rodrigues Freitas, meu eterno agradecimento pela dedicação e apoio constantes.

À minha irmã Marielle Lang e cunhado Fernando Akira Makiyama, que mesmo distantes sempre me deram força, conhecimento e inspiração.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) através dos processos nº 305242/2019-9 a Eloísa Bonfá, 306879/2018-2 a Eduardo Ferreira Borba e um “Research Carrier Award” a Raul Cavalcante Maranhão; do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-FCx) através do processo nº 573560/2008-0 a Raul Cavalcante Maranhão; e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através dos processos nº 2015/03756-4 a Eloísa Bonfá, 2014/03742-0 a Raul Cavalcante Maranhão e 2018/16162-3 a Eduardo Ferreira Borba.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana,
Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo:
Divisão de Biblioteca e Documentação; 2012.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

RESUMO



Lang MG. Uso de hidroxiclороquina melhora a transferência de lipídeos para a lipoproteína de alta densidade (HDL) no Lúpus Eritematoso Sistêmico [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2022.

Introdução: O uso da hidroxiclороquina (HCQ) melhora o perfil lipídico dos pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), reduzindo os níveis de LDL (lipoproteína de baixa densidade). A provável influência dessa medicação no aumento dos níveis de HDL (lipoproteína de alta densidade) ainda está em debate e as informações a respeito de seu possível efeito na função dessa lipoproteína são escassas. **Objetivo:** Avaliar o efeito da HCQ nos níveis e função da HDL no LES. **Métodos:** Foram incluídas 19 pacientes com LES utilizando HCQ (LES COM HCQ), 19 pacientes com lúpus sem nenhuma terapia (LES SEM TERAPIA) e 19 controles saudáveis pareadas por idade (CONTROLE). Todas as participantes eram mulheres pré-menopáusicas. Realizado registro de dados demográficos e clínicos e avaliados níveis de lipoproteínas. Executada a transferência *in vitro* de 4 lipídeos (^{14}C -Fosfolípide, ^3H -Colesteril éster, ^3H -Triglicéride, ^{14}C -Colesterol não esterificado) de uma nanoemulsão de doador marcada radioativamente para a HDL. **Resultados:** Todos os grupos estudados apresentaram médias de idade, peso, altura, IMC (índice de massa corporal) e circunferência abdominal semelhantes ($p > 0,05$), assim como, frequência de cor branca ($p > 0,05$). Os grupos de pacientes com lúpus, obtiveram médias semelhantes nos critérios do *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) de 2012 para a classificação do LES ($6,11 \pm 1,37$ vs. $6,32 \pm 1,73$; $p = 0,68$), de duração de doença ($12,1 \pm 5,78$ vs. $10,26 \pm 7,93$ anos; $p = 0,42$) e escore SLEDAI-2k (índice de atividade de doença avaliado pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*) ($0,47 \pm 0,77$ vs. $0,58 \pm 1,60$; $p = 0,52$). Contudo, o grupo LES SEM TERAPIA apresentou mais sequelas da doença medida pelo SDI (escore de dano avaliado pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology*) que estava significativamente mais elevado ($1,21 \pm 0,98$ vs. $0,37 \pm 0,50$; $p = 0,002$). O grupo LES COM HCQ apresentou níveis médios de HDL mais elevados em comparação ao LES SEM TERAPIA ($58,37 \pm 14,04$ vs. $49,79 \pm 8,0$ mg/dL; $p < 0,05$), mas menores em comparação aos CONTROLES ($58,37 \pm 14,04$ vs. $68,58 \pm 9,99$ mg/dL; $p < 0,05$). Os níveis médios de colesterol total (CT) e LDL foram significativamente menores no grupo LES COM HCQ comparado com LES SEM TERAPIA ($148,16 \pm 16,43$ vs. $167,11 \pm 30,18$ mg/dL; $p < 0,05$, $75,05 \pm 22,52$ vs. $96,05 \pm$

25,63mg/dL; $p < 0,05$) e CONTROLES ($148,16 \pm 16,43$ vs. $174,11 \pm 23,70$ mg/dL; $p < 0,05$, $75,05 \pm 22,52$ vs. $88,53 \pm 20,24$ mg/dL; $p < 0,05$). A transferência *in vitro* dos lipídeos para HDL revelou que a transferência média de colesterol livre (CL) foi significativamente diferente entre os grupos ($p = 0,02$) e o uso de HCQ promoveu maior transferência, visto que LES COM HCQ apresentou maior taxa dessa transferência em comparação ao LES SEM TERAPIA ($5,40 \pm 1,05$ vs. $4,44 \pm 1,05$; $p < 0,05$), mas foi semelhante aos CONTROLES ($5,40 \pm 1,05$ vs. $5,99 \pm 1,71$; $p > 0,05$). A taxa de transferência de triacilglicerol, colesterol esterificado e fosfolípides foi semelhante entre os grupos ($p = 0,054$, $p = 0,079$ e $p = 0,066$). **Conclusão:** O LES *per si* teve impacto negativo no perfil lipídico, reduzindo significativamente os níveis e função da HDL. Este estudo demonstrou que o uso da HCQ promoveu a reversão do efeito deletério na função da HDL, uma vez que essa medicação promoveu aumento da transferência de CL para esta lipoproteína, que é o principal responsável pelo transporte de colesterol dos tecidos e células endoteliais. Por meio desse efeito, o uso dessa medicação poderia reduzir a formação de células espumosas, evitando assim a formação de placas de ateroma, auxiliando na prevenção da ocorrência de eventos cardiovascular.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico. Hidroxicloroquina. Lipoproteínas. Função da HDL. Transferência de lipídeos.

ABSTRACT



Lang MG. Hydroxychloroquine improved lipid transfer to high-density lipoprotein in Systemic Lupus Erythematosus [thesis]. São Paulo: “Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina”; 2022.

Introduction: Hydroxychloroquine (HCQ) improves the lipid profile of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients by decreasing LDL levels. A probable influence of this drug on increasing HDL levels is still under debate and information about its possible effect on this lipoprotein function is scarce. **Objective:** To evaluate the effect of HCQ on HDL levels and function in SLE. **Methods:** Nineteen premenopausal female SLE patients using HCQ (SLE WITH HCQ), 19 SLE patients without any therapy (SLE WITHOUT THERAPY), and 19 age- and gender-matched healthy controls (CONTROL) were included. Demographical and clinical data were registered and lipoprotein plasma levels were evaluated. An *in vitro* transfer of four lipids (^{14}C -Phospholipid, ^3H -Cholesteryl ester, ^3H -Triglyceride, ^{14}C -Unesterified cholesterol) from a radioactively labeled donor nanoemulsion to HDL was performed. **Results:** All studied groups had similar mean age, weight, height, BMI and waist circumference as well as frequencies of Caucasian race ($p>0.05$). SLE WITH HCQ had similar mean 2012 SLICC SLE criteria scores (6.11 ± 1.37 vs. 6.32 ± 1.73 ; $p=0.68$), disease duration (12.1 ± 5.78 vs. 10.26 ± 7.93 years; $p=0.42$) and SLEDAI-2k scores (0.47 ± 0.77 vs. 0.58 ± 1.60 ; $p=0.52$) compared to SLE WITHOUT THERAPY but had a lower SLICC/SDI score (0.37 ± 0.50 vs. 1.21 ± 0.98 ; $p=0.002$). SLE WITH HCQ group had a higher mean HDL levels compared to those WITHOUT THERAPY (58.37 ± 14.04 vs. $49.79 \pm 8.0\text{mg/dL}$; $p<0.05$) but lower compared to controls (58.37 ± 14.04 vs. $68.58 \pm 9.99\text{mg/dL}$; $p<0.05$). Total cholesterol (TC) and LDL levels were significantly lower in SLE WITH HCQ compared to other SLE WITHOUT THERAPY (148.16 ± 16.43 vs. $167.11 \pm 30.18\text{mg/dL}$; $p<0.05$, 75.05 ± 22.52 vs. $96.05 \pm 25.63\text{mg/dL}$; $p<0.05$) and CONTROLS (148.16 ± 16.43 vs. $174.11 \pm 23.70\text{mg/dL}$; $p<0.05$, 75.05 ± 22.52 vs. $88.53 \pm 20.24\text{mg/dL}$; $p<0.05$). The *in vitro* lipid transfer to HDL revealed that mean transfer of unesterified cholesterol (UC) was significantly different among groups ($p=0.002$) and HCQ use promoted a higher transfer, since SLE WITH HCQ had a higher percentage of this transfer compared to SLE WITHOUT THERAPY (5.40 ± 1.05 vs. 4.44 ± 1.05 ; $p<0.05$) but was similar to CONTROLS (5.40 ± 1.05 vs. 5.99 ± 1.71 ; $p>0.05$). The percentage of transfer of triacylglycerol, esterified cholesterol, and

phospholipid were similar among groups ($p=0.054$, $p=0.079$, and $p=0.066$).

Conclusion: SLE itself had a negative impact on lipid profile by reducing HDL levels and also its function. The present study demonstrated that HCQ promoted a reversal of this deleterious effect on its function since this drug enhanced the transfer of UC to HDL which is primarily responsible for transporting UC from tissues and endothelial cells. Through this effect, this medication could reduce the formation of foam cells, thus preventing atheroma and cardiovascular events.

Keywords: Systemic Lupus Erythematosus. Hydroxychloroquine. Lipoproteins. HDL function. Lipid transfers.

LISTAS



LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características demográficas e físicas dos participantes.....	36
Tabela 2: Características da doença em termos de número de critérios, duração, escore de atividade e dano nos grupos LES COM HCQ e LES SEM TERAPIA.....	37
Tabela 3: Manifestações clínicas e laboratoriais cumulativas nos grupos LES COM HCQ e LES SEM TERAPIA	37
Tabela 4: Perfil lipídico basal nos grupos LES COM HCQ, LES SEM TERAPIA e CONTROLE	39
Tabela 5: Ensaio <i>in vitro</i> da capacidade funcional da HDL em receber lipídeos nos grupos LES COM HCQ, LES SEM TERAPIA e CONTROLE	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCA1	<i>ATP-binding cassette transporter A1</i>
ABCG1	Macrófago <i>ATP-binding cassette transporter G1</i>
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
Anti-dsDNA	Anti-DNA de dupla hélice
Anti-Sm	Anti-Smith
Apo	Apolipoproteína
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CE	Colesterol esterificado
CETP	Proteína transportadora de éster de colesterol
CL	Colesterol livre
CT	Colesterol total
DCV	Doença cardiovascular
eNOS	Óxido nítrico-sintase endotelial
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
FAN	Fator antinúcleo
HCQ	Hidroxicloroquina
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
KBr	Brometo de potássio
LCAT	Lecitina-colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
LH	Lipase hepática
LLP	Lipase lipoproteica
Lp(a)	Lipoproteína (a)
NaCl	Cloreto de sódio
Pré β -HDL	Lipoproteína de alta densidade discoide
PHLP	Fosfolípidos
piHDL	HDL pró-inflamatória
PLTP	Proteína transportadora de fosfolípidos

PON-1	Paraoxonase-1
QM	Quilomícrons
SAA	Amiloide sérico A
SLEDAI-2k	Índice de atividade de doença avaliado pelo <i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000</i>
SLICC	<i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics</i>
SDI	Escore de dano avaliado pelo <i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology</i>
SR-B1	Receptor scavenger classe B tipo 1
TG	Triglicérides
TNF	Fator de necrose tumoral
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO



1 INTRODUÇÃO	22
1.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico	23
1.2 Lipoproteína de alta densidade.....	24
1.3 LES e dislipidemia	26
1.4 Hidroxicloroquina na proteção cardiovascular.....	27
2 OBJETIVOS.....	28
3 PACIENTES E MÉTODOS	30
3.1 Pacientes.....	31
3.1.1 Critérios de inclusão.....	31
3.1.2 Critérios de exclusão.....	31
3.1.3 Protocolo de estudo	32
3.2 Avaliação laboratorial	32
3.2.1 Determinações bioquímicas séricas	33
3.2.2 Preparo da nanoemulsão lipídica artificial	33
3.2.3 Determinação da transferência de lipídeos da nanoemulsão marcada para a HDL	34
3.3 Análise estatística.....	34
4 RESULTADOS.....	35
4.1 Características demográficas, clínicas e físicas dos participantes	36
4.2 Avaliação do perfil lipídico	38
4.3 Avaliação da função da HDL	40

5 DISCUSSÃO.....	41
6 CONCLUSÕES	45
7 ANEXOS.....	47
8 REFERÊNCIAS	55
9 APÊNDICES	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença de causa autoimune muito heterogênea e que pode afetar múltiplos órgãos e sistemas¹. Sua fisiopatologia é caracterizada pela perda da imunotolerância associada à disfunção de células dendríticas e linfócitos T e B, que produzem autoanticorpos contra componentes do núcleo celular^{2,3}. A etiologia exata do LES ainda permanece desconhecida, porém, sabe-se que a interação entre múltiplos fatores genéticos, imunológicos, hormonais e ambientais, contribuem para o aumento da susceptibilidade à doença e variabilidade na sua expressão clínica¹⁻³.

A prevalência de LES nos Estados Unidos da América está estimada em 241 a cada 100.000 habitantes e sua incidência mundial triplicou nos últimos 40 anos⁴. Existe uma forte predominância da doença entre mulheres de 16 a 55 anos². No Brasil, os estudos sobre a epidemiologia do LES são escassos, mas na cidade de Natal, foi encontrada uma incidência anual de 8,7/100.000⁵.

Para o diagnóstico da doença são utilizados os critérios de classificação revisados pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) 2012 (2012 SLICC SLE criteria), os quais estabelecem que o paciente deve atender quatro ou mais critérios, incluindo pelo menos um clínico e um imunológico ou apresentar nefrite confirmada por biópsia compatível com LES e fator antinúcleo (FAN) ou anti-DNA dupla hélice (anti-dsDNA) positivo⁶.

A recomendação atual para tratamento de todos os pacientes é o uso de antimaláricos, particularmente a hidroxicloroquina (HCQ), por prevenirem a ocorrência de novos episódios de exacerbação da doença e induzirem a sua remissão^{7,8}. O período para atingir a máxima eficácia da HCQ está estimado em 40 dias⁹. Estudo que avaliou a concentração sérica necessária para efeito terapêutico dos antimaláricos estimou a sua meia-vida entre 123-180 horas¹⁰.

A doença cardiovascular (DCV) e a aterosclerose precoce estão entre as principais causas de morte em pacientes com LES¹¹. Mulheres com LES em idade reprodutiva apresentam risco 50 vezes maior de infarto agudo do miocárdio em comparação a controles saudáveis pareados por sexo e idade¹². Os fatores de risco cardiovascular tradicionais não são capazes de explicar por si só o aumento da DCV nesse grupo de indivíduos, porém uma das condições com importante influência neste sentido, é a presença de dislipoproteinemia associada a alterações na composição e função da HDL induzidas por mecanismos inflamatórios e autoimunes¹³⁻¹⁶.

Evidências recentes sugerem que alterações na composição e função da HDL no LES são responsáveis por uma aumento de 7 a 50 vezes no risco de doença arterial coronariana nesse grupo de pacientes^{12,17,18}.

1.2 Lipoproteína de alta densidade

As lipoproteínas de alta densidade (HDL) correspondem à população de lipoproteínas com a maior densidade (1,063 a 1,25g/mL) e menor tamanho (7-12nm)¹⁹. Apresentam migração eletroforética alfa e são formadas na maior parte por proteínas (45 a 55%), sendo que o seu lipidoma é composto por 26 a 32% de fosfolípides (PHLP), 15 a 20% de éster de colesterol (CE), 3 a 5% de colesterol e 2 a 7% de triglicérides (TG)²⁰. A sua meia-vida plasmática é de cinco a seis dias²¹.

A biossíntese da HDL, inicia-se com a produção de apolipoproteínas (Apos) principalmente pelo fígado, mas também pelo intestino²². As principais Apos são a ApoA1 (70%) e a ApoA2 (20%), sendo que algumas partículas de HDL contêm pequenas quantidades de ApoE, ApoA4, ApoA5, ApoJ, ApoC, ApoD, ApoJ e ApoL²³⁻²⁵. Dependendo do seu conteúdo lipídico, da quantidade de proteínas e do tamanho, a HDL pode ser dividida em duas frações principais HDL2 e HDL3, que podem ainda ser subfracionadas em subpopulações distintas: grandes e com menor densidade (HDL2a e HDL2b), e pequenas com maior densidade (HDL3a, HDL3b e HDL3c)²⁶⁻²⁸.

A HDL nascente é uma partícula esférica e pronta para adquirir lipídeos²⁹. A lipidação inicial ocorre na membrana celular via transportador *ATP-binding cassette transporter* A1 (ABCA1), que remove fosfolípides e colesterol de células de tecidos periféricos e da superfície das lipoproteínas ricas em TG e resulta na formação da pré β -HDL³⁰. Depois da captação do excesso de colesterol, a enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) esterifica o colesterol recebido pela pré β -HDL. Como esses ésteres de colesterol são altamente hidrofóbicos, não podem permanecer na superfície da HDL e migram para o interior da partícula, formando um núcleo lipídico, transformando a HDL discoide em uma partícula esférica, a HDL3^{24,31}.

A HDL3 continua a receber colesterol livre (CL) e PHLP de membranas celulares num processo via receptor scavenger classe B tipo 1 (SR-B1), em fluxo bidirecional³² e também via *ATP-binding cassette transporter* G1 (ABCG1) em fluxo unidirecional³³. Além dessas vias, recebe esses lipídeos por meio da lipólise dos quilomícrons (QM) e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) pela ação da

lipase lipoproteica (LLP), processo facilitado pela proteína transportadora de fosfolípidos (PLTP)³⁴.

A HDL3 é convertida em HDL2 (forma madura), conforme aumenta a quantidade de CE³⁵, e passa a ser composta por um cerne lipídico hidrofóbico, contendo principalmente CE e uma pequena quantidade de TG circundado por uma monocamada de PHLP, CL e Apos^{36,37}.

Por meio da proteína transportadora de éster de colesterol (CETP), o CE é transferido da HDL2 para a lipoproteína de baixa densidade (LDL) em troca de TG^{27,38}. A quantidade de lipídeos trocados depende, entre outros fatores, da sua concentração na lipoproteína doadora e da quantidade de lipoproteínas aceptoras³⁹. A HDL também remove o excesso de colesterol dos macrófagos carregados de lipídeos, conhecidos como “*foam cells*”, prevenindo a aterosclerose⁴⁰.

Os TG e PHLP recebidos pela HDL são removidos por hidrólises catalisadas por lipases, como a fosfolipase A₂, a lipase hepática (LH) e a lipase endotelial. A metabolização da HDL ocorre no fígado, com a remoção dos CEs por meio dos receptores SR-B1, sem que ocorra a degradação das Apos^{41,42}. Esse processo de transporte do colesterol periférico de volta ao fígado recebe o nome de transporte reverso do colesterol e é considerado a função mais importante da HDL⁴³.

A HDL também apresenta diversas outras funções cardioprotetoras, dentre elas o efeito anti-inflamatório, através da inibição de moléculas de adesão endotelial^{44,45}. Ela promove a redução da migração de monócitos, células dendríticas e linfócitos T para áreas inflamadas por meio da diminuição da expressão de quimiocinas e inibição da ativação do inflamossomo^{46–48}.

Outra função bem descrita da HDL é o efeito antioxidante, inibindo a formação da LDL oxidada potencialmente aterogênica, principalmente através da ação da paraoxonase-1 (PON-1)^{49–51}. Ademais, a HDL é capaz de remover lipídeos oxidados de outras lipoproteínas e das membranas celulares^{40,52}.

Paralelamente, a HDL também aumenta a produção de sinalizadores ateroprotetores ao regular positivamente a expressão da óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) e promover a ativação da síntese de prostaciclina^{53,54}. Bem como, essa partícula é capaz inibir a trombose e a ativação plaquetária através da redução da biossíntese de tromboxano A₂⁵⁵.

Além desses importantes mecanismos de proteção cardiovascular, tem sido descrito efeito da HDL no reparo endotelial, recrutando células progenitoras para

áreas danificadas⁵⁶. Yvan-Charvet *et al.* demonstraram que a HDL pode suprimir a proliferação de células progenitoras hematopoiéticas, reduzindo a leucocitose e monocitose⁵⁷.

1.3 LES e dislipidemia

No LES já foi amplamente descrito um padrão característico de dislipoproteinemia, com aumento nos níveis de VLDL e TG e redução da HDL^{13,58,59}. O aumento da atividade inflamatória nos períodos de atividade da doença, medida pelo Índice de atividade de doença avaliado pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000* (SLEDAI-2k), agrava estas alterações do perfil lipídico¹³. Entretanto, é importante lembrar que outras condições, que são comuns nesses pacientes, podem causar distúrbios no metabolismo das lipoproteínas, como a síndrome nefrótica, insuficiência renal e o uso de medicamentos, como anti-hipertensivos, anticonvulsivantes e especialmente corticosteroides^{60–62}.

O uso de corticosteroides, principalmente em altas doses, pode aumentar os níveis de colesterol total (CT), assim como de ApoB, LDL, VLDL e TG^{63,64}. Outras condições clínicas, como hipotireoidismo, diabetes mellitus e insuficiência renal crônica, que são frequentes nos pacientes com LES, também podem provocar alterações no perfil lipídico^{61,65,66}.

O principal mecanismo descrito para alteração nos níveis de lipoproteínas é a supressão da atividade da LLP, que participa ativamente no processo de catabolismo da VLDL, resultando na elevação dos seus níveis plasmáticos e consequentemente do TG e redução quantitativa da HDL^{67–69}. O defeito enzimático está relacionado à produção de mediadores inflamatórios e autoanticorpos contra a LLP^{70,71}. A redução quantitativa da HDL também parece estar relacionada à presença de anticorpos anti-HDL e anti-ApoA1^{72,73}. Além das alterações quantitativas, o processo inflamatório do LES provoca alterações na função e composição da HDL⁷⁴.

A HDL sofre diversas alterações estruturais. Dentre as mudanças nas características proteômicas ocorre redução na quantidade de ApoA1 e aumento da concentração de amiloide sérico A (SAA)^{75–77}. O lipidoma da HDL também é comprometido, com a redução nas concentrações de CE e aumento de TG, além da produção de lipídeos oxidados em função do aumento do estresse oxidativo^{78,79}. Essas modificações culminam na formação de partículas disfuncionais, incapazes de desempenhar sua função ateroprotetora, chamadas de HDL pró-inflamatórias (piHDL)

que estão associadas à ocorrência de aterosclerose precoce em pacientes com LES^{80–82}.

Dentre as alterações funcionais descritas na piHDL, ocorre a redução da capacidade de inibir a oxidação da LDL, principalmente devido à diminuição da atividade da PON-1^{75,83}. Também ocorre alteração no transporte reverso de colesterol, com redução da remoção de CL pela HDL, mecanismo responsável pelo desenvolvimento de placa de ateroma^{84–86}. Essa partícula de HDL pode também induzir resposta pró-inflamatória, induzindo ativação e expressão do fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-6 (IL-6)⁸⁷. Somados, o aumento nos níveis LDL ao aumento da LDL oxidada, pela redução da função da HDL, há um incremento significativo do risco cardiovascular em pacientes com LES⁸⁸.

1.4 Hidroxicloroquina na proteção cardiovascular

A recomendação atual do *European League Against Rheumatism* (EULAR) é de que a HCQ seja utilizada por todos os pacientes com LES e a dosagem diária não ultrapasse 5mg/kg⁸⁹. Os benefícios da sua utilização vão muito além da prevenção da ocorrência de *flares*⁹⁰. Os antimaláricos têm impacto direto na melhora da sobrevida dos pacientes com LES. Shinjo, *et al.* demonstraram que o uso da HCQ reduziu a mortalidade em 2 anos de 11,5 para 4,4%⁹¹, o que foi corroborado por uma coorte chinesa que identificou uma redução de 41% do risco de óbito⁹².

Dentre outras vantagens do uso da HCQ, está a sua ação cardioprotetora, uma vez que melhora o controle glicêmico⁹³, reduz a prevalência de síndrome metabólica⁹⁴, além de minimizar a ocorrência de eventos trombóticos⁹⁵ e reduzir os níveis de pressão arterial⁷. Também está comprovado o seu efeito na prevenção de doença arterial coronariana em pacientes com LES⁹⁶. Em relação ao perfil lipídico, promove melhora nos níveis de lipoproteínas, com redução dos níveis de colesterol total, VLDL e LDL e aumento questionável nos níveis de HDL^{97,98}.

Entretanto, pouco se conhece a respeito dos efeitos da HCQ sobre a função da HDL. McMahon *et al.*, conseguiram demonstrar que o uso de HCQ melhorou a função anti-oxidante da HDL, o que levanta a possibilidade de essa medicação ter outras implicações sobre essa lipoproteína⁹⁹. Neste sentido, o estudo desses efeitos poderia influenciar a terapêutica da dislipidemia não só no LES, como também em outras doenças autoimunes e essa medicação poderia ser utilizada como tratamento auxiliar na prevenção de doença cardiovascular nesses pacientes.

2 OBJETIVOS

Principal: Avaliar os efeitos do uso de hidroxiclороquina em aspectos qualitativos da HDL, em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico sem doença cardiovascular estabelecida.

Secundário: Avaliar os efeitos do Lúpus Eritematoso Sistêmico sobre a função da HDL.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Para este estudo, os pacientes foram selecionados de forma aleatória e consecutiva, baseado na análise do prontuário eletrônico de 2.074 indivíduos acompanhados no Ambulatório de LES da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil, entre os anos 2000 e 2018. O prontuário eletrônico foi implantado e padronizado em 2000 e compreende uma extensa avaliação clínica e laboratorial de cada indivíduo. Esses dados são atualizados durante as consultas médicas, que ocorrem em intervalos variáveis e incluem informações relevantes para o presente estudo.

Para controles, foram selecionadas mulheres saudáveis pareadas por idade. Quando em conformidade com os esclarecimentos prestados, os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para que pudessem participar do protocolo de pesquisa. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (CAPPesq), com o número de parecer 1.922.408 e CAAE 63637517.1.0000.0068.

Todos os pacientes apresentavam diagnóstico confirmado de LES, preenchendo quatro ou mais critérios classificatórios revisados do 2012 SLICC SLE *criteria*⁶. Além disso, todos os pacientes e controles eram sedentários, o qual foi definido pela ausência de atividade física de moderada a vigorosa $\geq 2,5$ horas por semana por pelo menos 2 meses¹⁰⁰.

3.1.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram: sexo feminino, idade maior de 18 anos, estar no período de menacme, ser sedentária e apresentar índice de atividade de doença, determinado pelo SLEDAI-2k menor do que 3¹⁰¹.

3.1.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram as condições que podem alterar o perfil lipídico, como comorbidades (diabetes mellitus, insuficiência renal ou hepática, doença tireoidiana, síndrome metabólica, hipertensão arterial sistêmica), tabagismo, nefrite em atividade, uso de corticoide, uso de drogas hipolipemiantes (estatinas, ômega 3), uso de outros imunossupressores, doenças autoimunes associadas (síndrome antifosfolípide, síndrome de Sjögren, artrite reumatoide, vasculites sistêmicas, miosites autoimunes, esclerose sistêmica).

3.1.3 Protocolo de estudo

Dados demográficos, laboratoriais, clínicos e sobre a terapêutica das pacientes com LES foram obtidos através de entrevista direta, exame físico, avaliação do prontuário eletrônico e coleta de amostras de sangue; e das controles, através de entrevista direta, exame físico e coleta de amostras de sangue.

As características clínicas incluíram a duração da doença (desde o diagnóstico) e a avaliação cumulativa das manifestações do LES de acordo com os critérios classificatórios revisados do 2012 SLICC SLE *criteria*⁶. A atividade da doença foi determinada pelo SLEDAI-2k¹⁰². O escore de dano da doença foi avaliado pelo SLICC/ACR (*American College of Rheumatology*) *Damage Index* (SDI)¹⁰³.

O exame físico incluiu a avaliação da pressão arterial (medida duas vezes com a paciente sentada, depois de pelo menos 5 minutos de repouso), peso, altura, índice de massa corporal (IMC, calculado pela divisão do peso em quilogramas pelo quadrado da altura em metros - kg/m²) e circunferência abdominal (medida na cintura, na metade do caminho entre o gradil costal e a crista ilíaca, durante a expiração).

Os participantes foram alocados em três grupos:

- 1- Grupo LES SEM TERAPIA: pacientes que estavam sem uso de nenhum tratamento por pelo menos 6 meses. [Total de pacientes=19]
- 2- Grupo LES COM HCQ: pacientes que estavam em uso exclusivo de hidroxiquina em dose $\geq 5\text{mg/kg/dia}$ (com média de dose de 5,5mg/kg/dia) por pelo menos 6 meses [Total de pacientes=19]
- 3- Grupo CONTROLE: indivíduos pareados por sexo e idade, sedentários e seguindo os mesmos critérios de exclusão utilizados para seleção dos pacientes. [Total de indivíduos = 19]

3.2 Avaliação laboratorial

Esta análise foi realizada em parceria com o Laboratório de Metabolismo e Lípidos do INCOR-FMUSP.

Os isótopos radioativos [1-¹⁴C] oleato de colesterol, [7(n)-³H] colesterol, [¹⁴C-FL] ¹⁴C-fosfatidilcolina e [³H-TG] ³H-triglicérides foram obtidos da Amersham International (Little Chalfont, Inglaterra). Os lipídeos oleato de colesterol, colesterol, fosfatidilcolina e trioleína, utilizados para o preparo da emulsão foram adquiridos da Sigma Chem. Co. (St. Louis, EUA). Os kits para determinação enzimática de TG, CT

e de HDL foram obtidos da Labtest Diagnóstica S.A. (Minas Gerais, Brasil), e para colesterol livre foi usado kit da Wako, Richmond, VA, EUA.

3.2.1 Determinações bioquímicas séricas

Foram coletadas amostras de sangue após 12 horas de jejum, em tubos contendo 0,15% de Na² EDTA. A determinação dos níveis plasmáticos de TG foi realizada por meio de método enzimático (Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, Brasil). O CT foi determinado através de método colorimétrico enzimático (Chod-Pap, Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, Brasil). A HDL foi verificada pelo mesmo método para a determinação do CT, após precipitação química das lipoproteínas que contêm ApoB, utilizando-se reagente precipitante composto por cloreto de magnésio e ácido fosfotúngstico. A determinação dos valores de LDL foi realizada por meio da fórmula de Friedwald *et al.*¹⁰⁴.

As determinações plasmáticas das ApoA1 e B foram realizadas com a utilização de método turbidimétrico através de kit disponível comercialmente (Roche Diagnostics, Suíça).

3.2.2 Preparo da nanoemulsão lipídica artificial

A nanoemulsão lipídica artificial foi preparada segundo a técnica descrita por Ginsburg *et al.*¹⁰⁵ e modificada por Maranhão *et al.*¹⁰⁶. Em um frasco foram pipetados uma mistura de lipídeos contendo 40mg de oleato de colesterol, 20mg de fosfatidilcolina, 1mg de trioleína e 0,5mg de colesterol. Posteriormente, foram adicionados à mistura de lipídeos os isótopos radioativos [1-¹⁴C] oleato de colesterol, [7(n)-³H] colesterol, [¹⁴C-FL] ¹⁴C-fosfatidilcolina e [³H-TG] ³H-triglicérides. Após a adição de 10mL de tampão Tris-HCl 0,01M, pH 8, a mistura de lipídeos foi emulsificada através de irradiação ultrassônica, com uso do equipamento Branson, modelo 450A (Arruda Ultrassom, São Paulo, Brasil) sob potência de 125 watts, por 3 horas, em atmosfera de nitrogênio, com temperatura de 51 a 55°C. Para obtenção da emulsão lipídica artificial na faixa de diâmetro e padrão desejados, a solução lipídica foi purificada por meio de duas etapas de ultracentrifugação (ultracentrífuga, rotor Beckman SW – 41). Na primeira etapa, o material sobrenadante do tubo, resultante da ultracentrifugação a 200.000 x g por 30 minutos, a 4°C, foi removido através de aspiração (1mL) e desprezado. Ao restante do material foi adicionado brometo de potássio (KBr), com ajuste da densidade para 1,21g/mL. Após a segunda centrifugação (200.000 x g por 2 horas a 4°C), a nanoemulsão lipídica artificial foi

recuperada na parte superior do tubo por aspiração. O excesso de KBr foi removido através de diálise contra solução de cloreto de sódio (NaCl) a 0,9%. Finalmente, a emulsão foi esterilizada por filtração em membrana Milipore de 0,22µm de porosidade sob fluxo laminar e armazenada a 4°C por até 15 dias.

3.2.3 Determinação da transferência de lipídeos da nanoemulsão marcada para a HDL

O ensaio, desenvolvido por Lo Prete *et al.*¹⁰⁷, consiste na incubação de 0,2mL de plasma com 0,05mL da nanoemulsão marcada radioativamente em banho-maria a 37°C, sob agitação, durante 60 minutos. Após esse procedimento, foram adicionados 0,25mL de reagente precipitante (0,02% de sulfato de dextran/0,3mol/L de cloreto de magnésio), seguido de agitação por 30 segundos e ultracentrifugação a 3000rpm por 10 minutos. Foram retirados 0,25mL do sobrenadante obtido, o qual contém a fração HDL, colocados em frascos de cintilação e submetidos à determinação da radioatividade presente, utilizando-se o equipamento Packard 1660 TR liquid scintillation counter (Packard BioScience, Meriden, Connecticut, USA). A transferência dos lipídeos marcados, da nanoemulsão para a HDL foi avaliada pela percentagem de radioatividade na nanoemulsão e a presente na fração HDL, após os 60 minutos de incubação.

3.3 Análise estatística

Para variáveis contínuas, os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. A comparação dos parâmetros estudados entre os três grupos foi realizada utilizando-se o teste ANOVA. Nas comparações entre os pacientes LES, foi realizada por meio do teste t de Student, quando a distribuição das variáveis foi gaussiana e o teste Mann-Whitney quando não gaussiana.

Para variáveis categóricas, os resultados foram expressos em frequência através de percentagem e o teste exato de Fisher foi utilizado para comparação. Para a avaliação da correlação entre os parâmetros estudados, foi utilizado o teste de correlação de Pearson, quando a distribuição dos resultados foi normal e o teste de correlação de Spearman, no caso de dados não paramétricos.

Foi utilizado o software SPSS versão 22.0. Foram considerados significantes valores de p menores do que 0,05.

4 RESULTADOS

4.1 Características demográficas, clínicas e físicas dos participantes

A tabela 1 demonstra as características demográficas e físicas dos participantes do estudo. Não houve diferença significativa entre os grupos quando comparados idade e frequência de cor branca ($p>0,05$). Em relação aos aspectos físicos, as médias de peso, altura, IMC e circunferência abdominal foram semelhantes entre os grupos ($p>0,05$). Houve apenas diferença significativa nos níveis de pressão sistólica e diastólica entre as pacientes com LES quando comparadas aos CONTROLES ($p=0,009$ e $0,002$ respectivamente).

Tabela 1: Características demográficas e físicas dos participantes

Variáveis	LES COM HCQ n= 19	LES SEM TERAPIA n = 19	CONTROLE n = 19	p
Idade (anos)	34,37 ± 6,33	35,32 ± 8,23	32,26 ± 5,84	0,382
Cor branca, n (%)	16 (84,21)	15 (78,95)	16 (84,21)	0,891
Peso (kg)	65,76 ± 13,11	67,56 ± 12,43	62,78 ± 10,95	0,480
Altura (m)	1,60 ± 0,06	1,60 ± 0,07	1,64 ± 0,07	0,207
IMC (kg/m ²)	25,61 ± 4,58	26,35 ± 4,91	23,50 ± 4,25	0,149
Circunferência abdominal (cm)	75,79 ± 19,31	82,23 ± 8,84	74,61 ± 9,64	0,186
PAS (mmHg)	118,42 ± 14,14 ^a	121,53 ± 13,36 ^a	108,16 ± 13,01	0,009
PAD (mmHg)	74,58 ± 8,17 ^a	79,68 ± 9,76 ^a	69,32 ± 7,59	0,002

Valores expressos em média ± desvio padrão e n (porcentagem).

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; HCQ: hidroxiquina; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica

^a $p<0,05$ comparado com grupo CONTROLE.

Na tabela 2, estão demonstradas as características das pacientes com LES em termos de número de critérios, duração da doença e escores de atividade e dano. Ambos os grupos apresentaram média de duração da doença e número de critérios pelo 2012 SLICC SLE *criteria* semelhantes ($p>0,05$). Não houve diferença significativa em relação ao escore de atividade medido pelo SLEDAI-2k ($p>0,05$). A média do índice de dano no grupo LES SEM TERAPIA foi superior ao LES COM HCQ ($1,21 \pm 0,98$ vs. $0,37 \pm 0,50$, $p=0,002$).

Tabela 2: Características da doença em termos de número de critérios, duração, escore de atividade e dano nos grupos LES COM HCQ e LES SEM TERAPIA

Variáveis	LES COM HCQ n= 19	LES SEM TERAPIA n = 19	p
Duração da doença (anos)	12,1 ± 5,78	10,26 ± 7,93	0,42
2012 SLICC SLE <i>criteria</i> , n	6,11 ± 1,37	6,32 ± 1,73	0,68
SLEDAI-2k	0,47 ± 0,77	0,58 ± 1,6	0,52
SDI	0,37 ± 0,50	1,21 ± 0,98	0,002

Valores expressos em média ± desvio padrão.

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; HCQ: hidroxicloroquina; SLEDAI-2k: índice de atividade de doença avaliado pelo *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*; SDI: escore de dano avaliado pelo *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology*.

Conforme evidenciado na Tabela 3, em relação às manifestações clínicas cumulativas do LES, podemos observar que as pacientes com LES SEM TERAPIA apresentaram maior incidência de lúpus cutâneo crônico em relação ao grupo LES COM HCQ (21,05% vs. 0%, $p=0,035$). Entretanto, os demais parâmetros clínicos, assim como o perfil hematológico e de autoanticorpos foi semelhante entre os grupos ($p>0,05$).

Tabela 3: Manifestações clínicas e laboratoriais cumulativas nos grupos LES COM HCQ e LES SEM TERAPIA

Manifestações clínicas/laboratoriais cumulativas	LES COM HCQ n= 19	LES SEM TERAPIA n = 19	p
Lúpus cutâneo agudo, n (%)	17 (89,47)	14 (73,68)	0,22
Rash malar, n (%)	11 (57,89)	10 (52,63)	0,75
Lúpus bolhoso, n (%)	2 (10,53)	0 (0)	0,16
Necrólise epidérmica tóxica, n (%)	2 (10,53)	4 (21,05)	0,38
Fotossensibilidade, n (%)	9 (47,37)	6 (31,58)	0,33
Lúpus cutâneo subagudo, n (%)	2 (10,53)	3 (15,79)	0,64
Lúpus cutâneo crônico, n (%)	0 (0)	4 (21,05)	0,035
Rash discóide, n (%)	0 (0)	2 (10,53)	0,16
Paniculite lúpica, n (%)	0 (0)	1 (5,26)	0,32

continua

Lúpus pérmio, n (%)	0 (0)	1 (5,26)	0,32
Úlcera oral, n (%)	4 (21,05)	5 (26,32)	0,72
Alopecia não cicatricial, n (%)	5 (26,32)	4 (21,05)	0,72
Sinovite, n (%)	17 (89,47)	13 (68,42)	0,17
Desordens neurológicas, n (%)	4 (21,05)	5 (26,32)	0,72
Psicose, n (%)	2 (10,53)	1 (5,26)	0,57
Convulsões, n (%)	3 (15,79)	4 (21,05)	0,68
Mononeurite múltipla, n (%)	0 (0)	1 (5,26)	0,32
Serosite, n (%)	4 (21,05)	4 (21,05)	>0,99
Pleurite, n (%)	3 (15,79)	4 (21,05)	0,68
Pericardite, n (%)	2 (10,53)	2 (10,53)	>0,99
Anemia hemolítica, n (%)	5 (26,32)	2 (10,53)	0,22
Leucopenia < 4.000 mm ³ , n (%)	6 (31,58)	4 (21,05)	0,48
Linfopenia < 1.500 mm ³ , n (%)	4 (21,05)	7 (36,84)	0,30
Trombocitopenia < 100.000 mm ³ , n (%)	5 (26,32)	4 (21,05)	0,72
Desordem renal, n (%)	7 (36,84)	7 (36,84)	>0,99
FAN, n (%)	19 (100)	19 (100)	1
Anti-dsDNA, n (%)	8 (42,11)	11 (57,89)	0,34
Anti-Sm, n (%)	4 (21,05)	5 (26,32)	0,72
Anticorpos antifosfolípide, n (%)	1 (5,26)	1 (5,26)	>0,99
Complemento baixo, n (%)	4 (21,05)	5 (26,32)	0,72

Valores expressos em n (porcentagem).

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; HCQ: hidroxicloroquina; FAN: Fator antinúcleo; anti-dsDNA: anti-DNA de dupla hélice; anti-Sm: anti-Smith.

4.2 Avaliação do perfil lipídico

O LES apresenta um impacto negativo sobre o perfil lipídico. Como pode ser corroborado na Tabela 4, o grupo LES SEM TERAPIA apresenta média de CT e LDL superior ao grupo LES COM HCQ ($167,11 \pm 30,18$ vs. $148,16 \pm 16,43$ mg/dL, $p < 0,05$; e $96,05 \pm 25,63$ vs. $75,05 \pm 22,52$ mg/dL, $p < 0,05$) e HDL reduzido tanto em comparação aos CONTROLES ($49,79 \pm 8,0$ vs. $68,58 \pm 9,99$ mg/dL, $p < 0,05$) como em relação ao grupo LES COM HCQ ($49,79 \pm 8,0$ vs. $58,37 \pm 14,04$ mg/dL, $p < 0,05$). Os níveis de TG se mostraram semelhantes entre os 3 grupos ($77,21 \pm 32,38$ vs. $89,95 \pm 41,83$ vs. $84,47 \pm 38,51$ mg/dL, $p = 0,584$).

Ao contrário da doença, o uso de HCQ modificou de forma positiva os níveis de lipoproteínas. Conforme demonstrado na Tabela 4, o grupo LES COM HCQ

apresentou médias de CT e LDL inferiores tanto em comparação ao LES SEM TERAPIA ($148,16 \pm 16,43$ vs. $167,11 \pm 30,18$ mg/dL, $p < 0,05$; e $75,05 \pm 22,52$ vs. $96,05 \pm 25,63$ mg/dL, $p < 0,05$), como em relação aos CONTROLES ($148,16 \pm 16,43$ vs. $174,11 \pm 23,70$ mg/dL, $p < 0,05$; e $75,05 \pm 22,52$ vs. $88,53 \pm 20,24$ mg/dL, $p < 0,05$). Esse benefício se estendeu aos níveis de HDL, que exibiram média mais elevada no grupo LES COM HCQ quando comparado ao grupo LES SEM TERAPIA ($58,37 \pm 14,04$ vs. $49,79 \pm 8,0$ mg/dL, $p < 0,05$), entretanto, o grupo CONTROLE apresentou média de HDL mais elevada tanto em relação ao grupo LES SEM TERAPIA como ao LES COM HCQ ($68,58 \pm 9,99$ vs. $49,79 \pm 8,0$ vs. $58,37 \pm 14,04$ mg/dL, $p < 0,05$).

Em relação às apolipoproteínas, de acordo com a Tabela 4, a média dos níveis de ApoA1, seguiu o perfil observado em relação à HDL, sendo que foi menor nos pacientes com LES em comparação aos CONTROLES ($145,67 \pm 18,67$ vs. $167,7 \pm 18,68$ mg/dL, $p < 0,05$; e $131,94 \pm 17,71$ vs. $167,7 \pm 18,68$ mg/dL, $p < 0,05$) e maior no grupo LES COM HCQ em relação ao LES SEM TERAPIA ($145,67 \pm 18,67$ vs. $131,94 \pm 17,71$ mg/dL, $p < 0,05$). A média dos níveis de ApoB foi menor no grupo LES COM HCQ em relação ao LES SEM TERAPIA ($73,6 \pm 16,4$ vs. $90,67 \pm 20,19$ mg/dL, $p < 0,05$). A média dos níveis de lipoproteína (a) (Lp(a)) foi semelhante entre os grupos ($55,68 \pm 65,37$ vs. $33,11 \pm 30,72$ vs. $56,37 \pm 61,53$ mg/dL, $p = 0,34$).

Tabela 4: Perfil lipídico basal nos grupos LES COM HCQ, LES SEM TERAPIA e CONTROLE

Variáveis	LES COM HCQ n = 19	LES SEM TERAPIA n = 19	CONTROLE n = 19	p
CT (mg/dL)	$148,16 \pm 16,43^{a,b}$	$167,11 \pm 30,18$	$174,11 \pm 23,70$	0,005
HDL (mg/dL)	$58,37 \pm 14,04^{a,b}$	$49,79 \pm 8,0^a$	$68,58 \pm 9,99$	<0,001
LDL (mg/dL)	$75,05 \pm 22,52^{a,b}$	$96,05 \pm 25,63$	$88,53 \pm 20,24$	0,02
TG (mg/dL)	$77,21 \pm 32,38$	$89,95 \pm 41,83$	$84,47 \pm 38,51$	0,584
ApoA1 (mg/dL)	$145,67 \pm 18,67^{a,b}$	$131,94 \pm 17,71^a$	$167,7 \pm 18,68$	<0,001
ApoB (mg/dL)	$73,6 \pm 16,4^b$	$90,67 \pm 20,19$	$82,18 \pm 13,62$	0,012
Lp(a) (mg/dL)	$55,68 \pm 65,37$	$33,11 \pm 30,72$	$56,37 \pm 61,53$	0,34

Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; HCQ: hidroxyclorequina; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; TG: triglicérides; ApoA1: apolipoproteína A1; ApoB: apolipoproteína B; LP(a): lipoproteína (a)

^a $p < 0,05$ comparado com grupo CONTROLE.

^b $p < 0,05$ comparado com grupo LES SEM TERAPIA.

4.3 Avaliação da função da HDL

A Tabela 5 ilustra os achados do ensaio *in vitro* que avaliou a transferência de lipídeos de uma nanoemulsão para a HDL. Conseguimos verificar que há uma redução significativa na transferência de CL no grupo LES SEM TERAPIA, tanto em comparação aos CONTROLES ($4,44 \pm 1,05$ vs. $5,99 \pm 1,71$, $p < 0,05$) como em relação ao LES COM HCQ ($4,44 \pm 1,05$ vs. $5,40 \pm 1,05$, $p < 0,05$). É possível notar também, um aparente aumento na média de transferência de TG, CE e PHLP no grupo LES COM HCQ em comparação ao LES SEM TERAPIA, mas que não foi estatisticamente significativa ($4,93 \pm 0,69$ vs. $4,50 \pm 0,69$; $5,24 \pm 0,70$ vs. $4,96 \pm 0,89$; e $15,67 \pm 1,03$ vs. $15,34 \pm 1,44$, $p > 0,05$).

Tabela 5: Ensaio *in vitro* da capacidade funcional da HDL em receber lipídeos nos grupos LES COM HCQ, LES SEM TERAPIA e CONTROLE

Parâmetros <i>in vitro</i>	LES COM HCQ n = 19	LES SEM TERAPIA n = 19	CONTROLE n = 19	p
Transferência de TG (%)	$4,93 \pm 0,69$	$4,50 \pm 0,69$	$5,14 \pm 1,01$	0,054
Transferência de CL (%)	$5,40 \pm 1,05^b$	$4,44 \pm 1,05^a$	$5,99 \pm 1,71$	0,002
Transferência de CE (%)	$5,24 \pm 0,70$	$4,96 \pm 0,89$	$5,69 \pm 1,27$	0,079
Transferência de PHLP (%)	$15,67 \pm 1,03$	$15,34 \pm 1,44$	$16,47 \pm 1,89$	0,066

Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico; HCQ: hidroxiclороquina; HDL: lipoproteína de alta densidade; TG: triglicérides; CL: colesterol livre; CE: colesterol esterificado; PHLP: fosfolípides

^a $p < 0,05$ comparado com grupo CONTROLE.

^b $p < 0,05$ comparado com grupo LES SEM TERAPIA.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo foi o primeiro a demonstrar que o uso de HCQ aumenta significativamente a transferência *in vitro* de CL para a HDL em pacientes com LES, indicando uma melhor função desta lipoproteína com o uso dos antimaláricos.

Uma vantagem importante do trabalho foi a presença de rigorosos critérios de exclusão, que permitiram abordar qualquer fator de confusão associado a mudanças no perfil lipídico dos participantes do estudo. Foram analisados apenas os pacientes que apresentavam baixa atividade de doença, considerando que o LES, quando em atividade, pode induzir alterações no metabolismo das lipoproteínas^{13,108–111}. Além disso, foram excluídos todos os pacientes com lúpus que estivessem em uso de medicações ou apresentassem exposição a drogas e comorbidades que poderiam interferir nos níveis de lipoproteínas^{61,66,112–114}. A utilização de um ensaio *in vitro* já validado previamente para a avaliação da função da HDL também foi essencial para a condução do estudo^{107,115}.

Em relação ao aspecto quantitativo das lipoproteínas, foi observado que as pacientes com LES SEM TERAPIA apresentavam uma redução dos níveis de HDL, que estava associada a um aumento significativo de CT e LDL, muito semelhante ao “padrão de dislipidemia do lúpus” descrito em outros trabalhos^{13,111}. Entretanto, não houve aumento dos níveis de TG, o que pode ter ocorrido por terem sido selecionadas pacientes com baixa atividade de doença, já que se espera um agravamento do perfil de dislipidemia associado aos episódios de exacerbação, ou porque, em função dos estritos critérios de inclusão e exclusão, o “n” foi pequeno e não foi capaz de demonstrar diferença em relação aos níveis dessa lipoproteína. Borba *et al.*, corroboram com o achado de redução nos níveis de HDL associada ao LES, sendo essa a alteração de lipoproteínas mais frequente no lúpus, presente em aproximadamente 1/3 dos pacientes com doença inativa e chegando a 80% naqueles com doença em atividade¹³. Essas alterações no perfil lipídico, apesar de não explicarem completamente o aumento do risco de doença cardiovascular nos pacientes com lúpus, são importantes fatores de risco para tal^{116,117}.

O presente trabalho demonstrou que as pacientes com LES SEM TERAPIA apresentaram uma menor transferência de CL para a HDL, o que sugere fortemente que, no LES, a HDL é menos eficiente. Isso pode ser corroborado pelo achado do trabalho de Smith *et al.*, que conseguiu demonstrar uma redução de 15% do transporte reverso de colesterol nas pacientes com LES em comparação a controles saudáveis⁸⁵. Gonzalez-Gay *et al.*, também identificaram uma redução no efluxo de colesterol dos

macrófagos para a HDL em pacientes com LES, inferior até mesmo quando comparado a portadores de artrite reumatoide¹¹⁸. Algumas das hipóteses, que poderiam estar envolvidas, seriam a redução do efluxo de colesterol mediado por ABCA1 e ABCG1 e a presença de anticorpos anti-ApoA1 identificados nos pacientes com LES^{119,120}. Além do prejuízo direto na função da HDL, Carlucci *et al.* conseguiram correlacionar a redução do transporte reverso de colesterol com o aumento do número de neutrófilos pró-inflamatórios e a ruptura da placa coronariana não calcificada em pacientes com LES⁸⁶.

O efeito hipolipemiante mediado pelo uso de HCQ em pacientes com doenças autoimunes como lúpus, artrite reumatoide e doença de Sjögren, apesar de ainda não completamente compreendido, já está estabelecido^{121–123}. As pacientes do grupo LES COM HCQ, além de apresentarem um aumento na média de HDL quando comparadas às do grupo LES SEM TERAPIA, apresentaram uma redução significativa dos níveis de CT e LDL, inferiores até mesmo no comparativo com as controles saudáveis. O aumento dos níveis de HDL com o uso de HCQ, ainda é questionável na literatura, com alguns trabalhos também corroborando esse achado e outros não identificando efeito quantitativo dessa medicação sobre a HDL^{97,98}. O efeito de redução dos níveis de CT e LDL, também foi demonstrado em outros trabalhos, mesmo em pacientes com lúpus em corticoterapia, mais uma vez comprovando os extensos benefícios do uso dessa medicação, não só para controle de atividade de doença, mas na prevenção cardiovascular^{124–127}.

Neste estudo foi possível observar que o uso da HCQ, além de aumentar os níveis de HDL, também reverteu o efeito prejudicial da doença na função da HDL, aumentando o transporte de CL, o que pode promover uma redução do risco cardiovascular das pacientes com LES, pois o transporte de CL do macrófago para a HDL protege contra a sua apoptose, prevenindo a formação e posterior ruptura da placa aterosclerótica^{128–131}. Além disso, já foi demonstrado previamente que a melhora na remoção do colesterol de macrófagos periféricos está relacionada diretamente à redução do risco aterosclerótico, independente dos níveis de HDL^{85,132,133}.

Mais recentemente, modelos de lúpus em ratos, identificaram que o uso de HCQ reduziu o processo aterosclerótico e reverteu o status imune, apesar de não ocorrerem alterações no perfil lipídico com o uso dessa medicação¹³⁴. Um estudo com 197 pacientes com LES também identificou uma relação negativa entre o uso de HCQ

e a presença de placas carotídeas, mais uma vez confirmando o extenso benefício dessa medicação na prevenção do risco cardiovascular¹³⁵.

O trabalho conseguiu demonstrar que pacientes em uso de HCQ apresentam não só aumento de HDL, mas principalmente uma redução significativa do CT e LDL, em níveis mais baixos até que os controles, solidificando o efeito benéfico dessa medicação no perfil lipídico. Além disso, foi possível observar, que essa medicação parece melhorar a função da HDL, aumentando o transporte de CL, o que pode promover a prevenção da ocorrência de eventos cardiovasculares em pacientes com LES.

6 CONCLUSÕES

Este estudo sugere que o uso da HCQ pode reverter parte dos efeitos deletérios do LES, aumentando significativamente os níveis de HDL e também promovendo uma melhora da sua função. Esse efeito, somado aos inúmeros benefícios descritos com o uso dessa medicação reitera a sua importância no tratamento dos pacientes com LES e na prevenção da ocorrência de eventos cardiovasculares.

O LES piora significativamente os níveis e a função da HDL, podendo ser considerada condição de risco cardiovascular independente para a progressão da aterosclerose.

Outros estudos são necessários para confirmar o benefício da hidroxicloroquina no metabolismo das lipoproteínas e avaliar o seu possível papel na reversão do processo aterosclerótico.

ANEXO A – Aprovação na CAPPesq**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DO USO DE HIDROXICLOROQUINA E DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO NA ATIVIDADE ANTI-OXIDANTE DA HDL

Pesquisador: EDUARDO FERREIRA BORBA NETO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 63637517.1.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.922.408

Apresentação do Projeto:

Estudo observacional prospectivo, com grupo controle pareado, em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), do sexo feminino para determinação da influência do efeito do uso de Hidroxicloroquina e da atividade inflamatória na atividade anti-oxidante da HDL.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar os efeitos do uso de hidroxicloroquina em aspectos qualitativos da HDL, em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico sem doença cardiovascular estabelecida.

Objetivo Secundário: Avaliar os efeitos da atividade inflamatória de doença sobre a ação antioxidante da HDL em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os procedimentos existentes no estudo não são invasivos e não haverá qualquer risco para a saúde dos sujeitos da pesquisa. Os resultados dos exames irão contribuir para avaliar o efeito da hidroxicloroquina ou da inflamação nos níveis e na função da HDL.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de interesse científico, com desenho bem elaborado e adequadamente descrito, com metodologia bem definida e casuística adequada.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.922.408

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados corretamente. TCLE elaborado em linguagem adequada, contendo todas as informações necessárias.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovação em seu formato atual.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_839586.pdf	09/01/2017 09:45:57		Aceito
Outros	CadastroProtocoloPesquisa16050.pdf	09/01/2017 09:44:23	EDUARDO FERREIRA BORBA	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoAssinadaProjetoGabriela9012017.pdf	09/01/2017 09:43:24	EDUARDO FERREIRA BORBA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermoConsentimento21122016.doc	21/12/2016 15:52:09	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito
Outros	INCORApoioPesquisa.pdf	14/12/2016 16:15:09	EDUARDO FERREIRA BORBA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA14122016.docx	14/12/2016 16:11:17	EDUARDO FERREIRA BORBA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOVersao14122016.docx	14/12/2016 16:10:05	EDUARDO FERREIRA BORBA NETO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.922.408

SAO PAULO, 15 de Fevereiro de 2017

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - HCFMUSP

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

INFLUÊNCIA DO USO DE HIDROXICLOROQUINA E DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO NA ATIVIDADE ANTI-OXIDANTE DA HDL

2. PESQUISADOR PRINCIPAL:

Prof. Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto (Pesquisador Principal)

CARGO/ FUNÇÃO: *Professor Associado da Reumatologia* INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 60238

UNIDADE DO HCFMUSP: *Disciplina de Reumatologia (Instituto Central - Prédio dos Ambulatórios)*

2a. PESQUISADOR: *Dra. Maria Gabriela Lang*

CARGO/ FUNÇÃO: *Médica Assistente* INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 179810

UNIDADE DO HCFMUSP: *Disciplina de Reumatologia (Instituto Central - Prédio dos Ambulatórios)*

2b. PESQUISADOR: *Prof. Dra. Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre*

CARGO/ FUNÇÃO: *Biomédica* INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 116077

UNIDADE HOSPITAL INCOR-USP: *Laboratório de Metabolismo e Lípidos*

3. DEPARTAMENTO/INSTITUTO: *Departamento de Clínica Médica - Disciplina de Reumatologia (Instituto Central)*

4. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO



RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

5. DURAÇÃO DA PESQUISA: 4 ANOS

CONVITE À PARTICIPAÇÃO:

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: ” **INFLUÊNCIA DO USO DE HIDROXICLOROQUINA E DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO NA ATIVIDADE ANTI-OXIDANTE DA HDL**”.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO ESTUDO: O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença reumatológica que pode diminuir os níveis do “colesterol bom” (também chamado de HDL) que nos protege contra a formação de placas de gordura nos vasos (aterosclerose). Neste estudo queremos avaliar a função da HDL nas pacientes com LES que possuem um grau de inflamação da doença e verificar se a hidroxicloroquina pode melhorar os seus níveis e sua função.

PROCEDIMENTOS QUE SERÃO REALIZADOS E MÉTODOS QUE SERÃO EMPREGADOS: A sua participação é voluntária e caso você decida participar, nós precisaremos anotar algumas informações médicas do seu prontuário (exames anteriores, avaliação médica, medicações, outras doenças). Além das informações do prontuário, nós faremos algumas perguntas sobre sua doença na entrevista além das medidas da pressão, peso e altura. Para participar deste estudo será necessário fazer uma coleta de 50 ml de sangue para verificar os valores e a função da sua HDL.

Para participar deste estudo será necessário fazer uma coleta de 50 ml de sangue para verificar os valores e a função da sua HDL.

DESCONFORTOS E RISCOS DECORRENTES DA SUA PARTICIPAÇÃO: Estes procedimentos não são invasivos e não haverá qualquer risco para sua saúde. Eventualmente, alguns podem sentir algum desconforto, um pouco de dor, na coleta de sangue ou formação de pequeno hematoma. Os resultados dos exames irão contribuir para avaliar o efeito da hidroxicloroquina ou da inflamação na função da HDL.

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE: Os resultados dos exames irão contribuir para avaliar o efeito da hidroxicloroquina ou da inflamação nos níveis e na função da HDL.

ESCLARECIMENTO SOBRE A FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSINTÊNCIA: Seu diagnóstico já está estabelecido e você já está sendo acompanhada pelo médico assistente. A relevância clínica dos resultados dos exames realizados nesta pesquisa será avaliada pelo seu médico assistente e posteriormente explicado para você.

GARANTIA DE PLENA LIBERDADE DE RECUSAR OU RETIRAR O SEU CONSENTIMENTO EM QUALQUER FASE DA PESQUISA E DE ESCLARECIMENTO: Você será esclarecida sobre a pesquisa em qualquer momento que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

GARANTIA DE RECEBIMENTO DO TERMO DE CONSENTIMENTO E GARANTIA DE SIGILO: O(s) pesquisador(es) irá(ão) resguardar sua identidade e garantir sigilo. Os resultados do exame

de sangue serão disponibilizados a você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Setor de Reumatologia da Disciplina de Reumatologia do Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e outra será fornecida a você.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS DECORRENTES DA PESQUISA: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional por algum dano.

MAIS INFORMAÇÃO: Este consentimento foi aprovado pelo Comitê de Ética/ Ensino e Pesquisa de sua instituição. Se a Sra. tiver perguntas adicionais referentes à pesquisa, por favor, entre em contato com:

Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto

Endereço: Faculdade de Medicina da USP (Secretaria da Disciplina de Reumatologia)
Av. Dr. Arnaldo, nº 455, 3 andar, sala 3190. Bairro: Cerqueira César, CEP: 01246-903
Telefones: 3061-7492/ 3061-7490 (Secretaria da Disciplina de Reumatologia)
2661-6105 (Ambulatório de Reumatologia do HCFMUSP)
Email: reumato@usp.br

- Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética dessa pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (C.E.P.) no seguinte endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – Prédio da Administração. Tel: (11) 2661-7585 - 2661-1548 - 2661-1549. E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **INFLUÊNCIA DO USO DE HIDROXICLOROQUINA E DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO NA ATIVIDADE ANTI-OXIDANTE DA HDL.**

Eu discuti com o **Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concorde voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/ representante legal Data: ____/____/____

Assinatura da testemunha Data: ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data: ____/____/____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº: APTº:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: (.....) (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº: APTº:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: (.....) (.....)

8 REFERÊNCIAS

1. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol*. 2003;56(7):481–90.
2. Bertsias G, Cervera R, Boumpas DT. Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features. In: *EULAR – Textbook Rheum Dis*. 2012. p. 476–505.
3. Perl A. Pathogenic mechanisms in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2010;43(1):1–6.
4. Rees F, Doherty M, Grainge MJ, Lanyon P, Zhang W. The worldwide incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a systematic review of epidemiological studies. *Rheumatol (Oxford)*. 2017;56(11):1945–61.
5. Vilar MJP, Rodrigues JM, Sato EI. Incidência de Lúpus Eritematoso Sistêmico em Natal, RN – Brasil. *Rev Bras Reum*. 2003;43(6):347–51.
6. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012;64(8):2677–86.
7. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):20–8.
8. Van Vollenhoven RF, Mosca M, Bertsias G, Isenberg D, Kuhn A, Lerstrøm K, et al. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: recommendations from an international task force. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(6):958–67.
9. Pavelka Jr K, Sen KP, Pelísková Z, Vácha J, Trnavský K. Hydroxychloroquine sulphate in the treatment of rheumatoid arthritis: a double blind comparison of two dose regimens. *Ann Rheum Dis*. 1989;48(7):542–6.
10. Munster T, Gibbs J, Shen D, Baethge B, Botstein G, Caldwell J, et al. Hydroxychloroquine concentration-response relationships in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002;46(6):1460–9.
11. Bernatsky S, Boivin J, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman DD, et al. Mortality in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2006;54(8):2550–7.
12. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA, Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol*. 1997;145(5):408–15.
13. Borba EF, Bonfá E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus*. 1997;6(6):533–9.

14. Hahn BH, McMahon M. Atherosclerosis and systemic lupus erythematosus: the role of altered lipids and of autoantibodies. *Lupus*. 2008;17(5):368–70.
15. Purmalek MM, Carlucci PM, Dey AK, Sampson M, Temesgen-Oyelakin Y, Sakhardande S, et al. Association of lipoprotein subfractions and glycoprotein acetylation with coronary plaque burden in SLE. *Lupus Sci Med*. 2019;6(1):e000332.
16. Wu GC, Liu HR, Leng RX, Li XP, Li XM, Pan HFP, et al. Subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus: A systemic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2016;15(1):22–37.
17. Kim SY, Yu M, Morin EE, Kang J, Kaplan MJ, Schwendeman A. High-Density Lipoprotein in Lupus: Disease Biomarkers and Potential Therapeutic Strategy. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(1):20–30.
18. Nazir S, Jankowski V, Bender G, Zewinger S, Rye KA, van der Vorst PC. Interaction between high-density lipoproteins and inflammation: Function matters more than concentration! *Adv Drug Deliv Rev*. 2020;159:94–119.
19. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis*. 1999;145(2):227–38.
20. Kontush A, Lhomme M, Chapman MJ. Unraveling the complexities of the HDL lipidome. *J Lipid Res*. 2013;54(11):2950–63.
21. Gitlin BD, Cornwell DG, Nakasato D, Oncley JL, Hughes WL, Janeway CA. Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrome. II. The lipoproteins. *J Clin Invest*. 1958;37(2):172–84.
22. Nofer JR, Kehrel B, Fobker M, Levkau B, Assmann G, von Eckardstein A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*. 2002;101(1):1–16.
23. Asztalos BF, Schaefer EJ. High-density lipoprotein subpopulations in pathologic conditions. *Am J Cardiol*. 2003;91(7A):12E–17E.
24. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis*. 2003;168(2):195–211.
25. Asztalos BF, Tani M, Schaefer EJ. Metabolic and functional relevance of HDL subspecies. *Curr Opin Lipidol*. 2011;22(3):176–85.
26. Chapman MJ, Goldstein S, Lagrange D, Laplaud PM. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. *J Lipid Res*. 1981;22(2):339–58.
27. Camont L, Chapman MJ, Kontush A. Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. *Trends Mol Med*.

- 2011;17(10):594–603.
28. Kontush A, Lindahl M, Lhomme M, Calabresi L, Chapman MJ, Davidson WS. Structure of HDL: particle subclasses and molecular components. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;224:3–51.
 29. Atmeh RF, Abd Elrazeq IO. Small high density lipoprotein subclasses: some of their physico-chemical properties and stability in solution. *Acta Biochim Pol*. 2005;52(2):515–25.
 30. Oram JF. The cholesterol mobilizing transporter ABCA1 as a new therapeutic target for cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med*. 2002;12(4):170–5.
 31. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res*. 2005;96(12):1221–32.
 32. Ji ZS, Dichek HL, Miranda RD, Mahley RW. Heparan sulfate proteoglycans participate in hepatic lipase and apolipoprotein E-mediated binding and uptake of plasma lipoproteins, including high density lipoproteins. *J Biol Chem*. 1997;272(50):31285–92.
 33. Out R, Hoekstra M, Habets K, Meurs I, de Waard V, Hildebrand RB, et al. Combined deletion of macrophage ABCA1 and ABCG1 leads to massive lipid accumulation in tissue macrophages and distinct atherosclerosis at relatively low plasma cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(2):258–64.
 34. Masson D, Jiang XC, Lagrost L, Tall AR. The role of plasma lipid transfer proteins in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res*. 2009;50 Suppl(Suppl):S201-6.
 35. Von Eckardstein A, Fischer F, Schulte H, Tataru M, Köhler E, Assmann G. Association of serum apolipoprotein A-I (but not high-density lipoprotein cholesterol) with healed myocardial infarction in men independent of serum insulin and C-peptide. *Am J Cardiol*. 2001;88(7):723–6.
 36. Kontush A, Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev*. 2006;58(3):342–74.
 37. Vance DE, Vance JE. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes* (Fifth Edition). 2008.
 38. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. High-density lipoprotein subfractions--what the clinicians need to know. *Cardiology*. 2013;124(2):116–25.
 39. Eisenberg S, Gavish D, Oschry Y, Fainaru M, Deckelbaum RJ. Abnormalities in very low, low and high density lipoproteins in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*. 1984;74(2):470–82.
 40. Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic function of HDL particle

- subpopulations: focus on antioxidative activities. *Curr Opin Lipidol*. 2010;21(4):312–8.
41. Trigatti BL, Krieger M, Rigotti A. Influence of the HDL receptor SR-BI on lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Thromb Vasc Biol*. 2003;23(10):1732–8.
 42. Kingwell BA, Chapman MJ, Kontush A, Miller NE. HDL-targeted therapies: progress, failures and future. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(6):445–64.
 43. Glomset JA, Wright JL. Some properties of a cholesterol esterifying enzyme in human plasma. *Biochim Biophys Acta*. 1964;89:266–76.
 44. Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(11):1987–94.
 45. Baker PW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. Phospholipid composition of reconstituted high density lipoproteins influences their ability to inhibit endothelial cell adhesion molecule expression. *J Lipid Res*. 2000;41(8):1261–7.
 46. Norata GD, Marchesi P, Pirillo A, Uboldi P, Chiesa G, Maina V, et al. Long pentraxin 3, a key component of innate immunity, is modulated by high-density lipoproteins in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(5):925–31.
 47. Bursill CA, Castro ML, Beattie DT, Nakhla S, van der Vorst E, Heather AK, et al. High-density lipoproteins suppress chemokines and chemokine receptors in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(9):1773–8.
 48. Thacker SG, Zarzour A, Chen Y, Alcicek MS, Lita A, Sviridov DO, et al. High-density lipoprotein reduces inflammation from cholesterol crystals by inhibiting inflammasome activation. *Immunology*. 2016;149(3):306–19.
 49. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(10):1881–8.
 50. Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2004;4(4):211–7.
 51. Davidson WS, Silva RAGD, Chantepie S, Lagor WR, Chapman MJ, Kontush A. Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(6):870–6.
 52. Kontush A, Therond P, Zerrad A, Couturier M, Nègre-Salvayre A, de Souza JA, et al. Preferential sphingosine-1-phosphate enrichment and sphingomyelin depletion are key features of small dense HDL3 particles: relevance to

- antiapoptotic and antioxidative activities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(8):1843–9.
53. Nofer JR, van der Giet M, Tölle M, Wolinska I, von Wnuck Lipinski K, Baba HA, et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest.* 2004;113(4):569–81.
 54. Fleisher LN, Tall AR, Witte LD, Miller RW, Cannon PJ. Stimulation of arterial endothelial cell prostacyclin synthesis by high density lipoproteins. *J Biol Chem.* 1982;257(12):6653–5.
 55. Oravec S, Demuth K, Myara I, Hornyk A. The effect of high density lipoprotein subfractions on endothelial eicosanoid secretion. *Thromb Res.* 1998;92(2):65–71.
 56. Tso C, Martinic G, Fan WH, Rogers C, Rye KA, Barter PJ. High-density lipoproteins enhance progenitor-mediated endothelium repair in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(5):1144–9.
 57. Yvan-Charvet L, Wang N, Tall AR. Role of HDL, ABCA1, and ABCG1 transporters in cholesterol efflux and immune responses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(2):139–43.
 58. Svenungsson E, Gunnarsson I, Fei GZ, Lundberg IE, Klareskog L, Frostegård J. Elevated triglycerides and low levels of high-density lipoprotein as markers of disease activity in association with up-regulation of the tumor necrosis factor alpha/tumor necrosis factor receptor system in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2003;48(9):2533–40.
 59. Tselios K, Koumaras C, Gladman DD, Urowitz MB. Dyslipidemia in systemic lupus erythematosus: just another comorbidity? *Semin Arthritis Rheum.* 2016;45(5):604–10.
 60. Appel GB, Blum CB, Chien S, Kunis CL, Appel AS. The hyperlipidemia of the nephrotic syndrome. Relation to plasma albumin concentration, oncotic pressure, and viscosity. *N Engl J Med.* 1985;312(24):1544–8.
 61. Afshinnia F, Pennathur S. Lipids and Cardiovascular Risk with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2020;15(1):5–7.
 62. Henkin Y, Como JA, Oberman A. Secondary dyslipidemia. Inadvertent effects of drugs in clinical practice. *JAMA.* 1992;267(7):961–8.
 63. Ettinger WH, Hazzard WR. Elevated apolipoprotein-b levels in corticosteroid-treated patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67(3):425–8.
 64. Strohmayer EA, Krakoff LR. Glucocorticoids and cardiovascular risk factors. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2011;40(2):409–17.

65. Fazaeli M, Khoshdel A, Sha M, Rohban M. The influence of subclinical hypothyroidism on serum lipid profile, PCSK9 levels and CD36 expression on monocytes. *Diabetes Metab Syndr*. 2019;13(1):312–6.
66. Almourani R, Chinnakotla B, Patel R, Kurukulasuriya LR, Sowers J. Diabetes and Cardiovascular Disease: an Update. *Curr Diab Rep*. 2019;19(12):161.
67. Ilowite NT, Samuel P, Ginzler E, Jacobson MS. Dyslipoproteinemia in pediatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1988;31(7):859–63.
68. Borba EF, Bonfá E, Vinagre CG, Ramires JA, Maranhão RC. Chylomicron metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2000;43(5):1033–40.
69. Schaefer EJ, Levy RI, Anderson DW, Danner RN, Brewer Jr HB, Blackwelder WC. Plasma-triglycerides in regulation of H.D.L.-cholesterol levels. *Lancet*. 1978;2(8086):391–3.
70. Svenungsson E, Fei GZ, Jensen-Urstad K, de Faire U, Hamsten A, Frostegard J. TNF-alpha: a link between hypertriglyceridaemia and inflammation in SLE patients with cardiovascular disease. *Lupus*. 2003;12(6):454–61.
71. Fesmire J, Wolfson-Reichlin M, Reichlin M. Effects of autoimmune antibodies anti-lipoprotein lipase, anti-low density lipoprotein, and anti-oxidized low density lipoprotein on lipid metabolism and atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reum*. 2010;50(5):539–51.
72. Narshi CB, Giles IP, Rahman A. The endothelium: An interface between autoimmunity and atherosclerosis in systemic lupus erythematosus? *Lupus*. 2011;20(1):5–13.
73. Srivastava R, Yu S, Parks BW, Black LL, Kabarowski JH. Autoimmune-mediated reduction of high-density lipoprotein-cholesterol and paraoxonase 1 activity in systemic lupus erythematosus-prone gld mice. *Arthritis Rheum*. 2011;63(1):201–11.
74. McMahon M, Grossman J, Skaggs B, Fitzgerald J, Sahakian L, Ragavendra N, et al. Dysfunctional proinflammatory high-density lipoproteins confer increased risk of atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2009;60(8):2428–37.
75. Gaál K, Tarr T, Hajnalka L, Borbás V, Seres I, Harangi M, et al. High-density lipoprotein antioxidant capacity, subpopulation distribution and paraoxonase-1 activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Lipids Heal Dis*. 2016;15:60.
76. Han CY, Tang C, Guevara ME, Wei H, Wietecha T, Shao B, et al. Serum amyloid A impairs the antiinflammatory properties of HDL. *J Clin Invest*. 2016;126(2):796.
77. Machado D, Sarni RO, Abad TT, Silva SG, Khazaal EJ, Hix S, et al. Lipid profile

- among girls with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int.* 2017;37(1):43–8.
78. Juárez-Rojas JG, Medina-Urrutia AX, Posadas-Sánchez R, Jorge-Galarza E, Mendoza-Pérez E, Caracas-Portilla N, et al. High-density lipoproteins are abnormal in young women with uncomplicated systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2008;17(11):981–7.
 79. Shah D, Mahajan N, Sah S, Nath SK, Paudyal B. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Sci.* 2014;21(1):23.
 80. McMahon M, Grossman J, Fitzgerald J, Dahlin-lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54(8):2541–9.
 81. Parra S, Castro A, Masana L. The pleiotropic role of HDL in autoimmune diseases. *Clin Invest Arter.* 2015;27(2):97–106.
 82. Hahn BH, Grossman J, Ansell BJ, Skaggs BJ, McMahon M. Altered lipoprotein metabolism in chronic inflammatory states: proinflammatory high-density lipoprotein and accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(4):213.
 83. Kiss E, Seres I, Tarr T, Kocsis Z, Szegedi G, Paragh G. Reduced paraoxonase1 activity is a risk for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1108:83–91.
 84. Feingold KR, Grunfeld C. Effect of inflammation on HDL structure and function. *Curr Opin Lipidol.* 2016;27(5):521–30.
 85. Smith CK, Vivekanandan-Giri A, Tang C, Knight JS, Mathew A, Padilla RL, et al. Neutrophil extracellular trap-derived enzymes oxidize high-density lipoprotein: an additional proatherogenic mechanism in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(9):2532–44.
 86. Carlucci PM, Purmalek MM, Dey AK, Temesgen-Oyelakin Y, Sakhardande S, Joshi AA, et al. Neutrophil subsets and their gene signature associate with vascular inflammation and coronary atherosclerosis in lupus. *JCI Insight.* 2018;3(8):e99276.
 87. Smith CK, Seto NL, Vivekanandan-Giri A, Yuan W, Playford MP, Manna Z, et al. Lupus high-density lipoprotein induces proinflammatory responses in macrophages by binding lectin-like oxidised low-density lipoprotein receptor 1 and failing to promote activating transcription factor 3 activity. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(3):602–11.
 88. Sun W, Li P, Cai J, Ma J, Zhang X, Song Y, et al. Lipid Metabolism: Immune Regulation and Therapeutic Prospectives in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2022;13:860586.

89. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, et al. 2019 Update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(6):736–45.
90. Tsakonas E, Joseph L, Esdaile JM, Choquette D, L SJ, Cividino A, et al. A long-term study of hydroxychloroquine withdrawal on exacerbations in systemic lupus erythematosus. The Canadian Hydroxychloroquine Study Group. *Lupus*. 1998;7(2):80–5.
91. Shinjo SK, Wojdyla D, Borba EF, Ramirez LA, Scherbarth HR, Brenol CT, et al. Antimalarial treatment may have a time-dependent effect on lupus survival: data from a multinational Latin American inception cohort. *Arthritis Rheum*. 2010;62(3):855–62.
92. Mok CC, Tse SM, Chan KL, Ho LY. Effect of immunosuppressive therapies on survival of systemic lupus erythematosus: a propensity score analysis of a longitudinal cohort. *Lupus*. 2018;27(5):722–7.
93. Penn SK, Kao AH, Schott LL, Elliott JR, Toledo FGS, Kuller L, et al. Hydroxychloroquine and glycemia in women with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2010;37(6):1136–42.
94. Muniz LF, Pereira RM, Silva TF, Bonfá E, Borba EF. Impact of Therapy on Metabolic Syndrome in Young Adult Premenopausal Female Lupus Patients: Beneficial Effect of Antimalarials. *Arthritis Care Res*. 2015;67(9):1255–62.
95. Costedoat-Chalumeau N, Leroux G, Amoura Z, Piette JC. Hydroxychloroquine and systemic lupus: a reappraisal. *La Rev Médecine Interne*. 2008;29(9):735–7.
96. Alarcón GS, McGwin G, Bertoli AM, Fessler BJ, Calvo-Alén J, Bastian HM, et al. Effect of hydroxychloroquine on the survival of patients with systemic lupus erythematosus: Data from LUMINA, a multiethnic US cohort (LUMINA L). *Ann Rheum Dis*. 2007;66(9):1168–72.
97. Borba EF, Bonfá E. Longterm beneficial effect of chloroquine diphosphate on lipoprotein profile in lupus patients with and without steroid therapy. *J Rheumatol*. 2001;28(4):780–5.
98. Cairoli E, Rebella M, Danese N, Garra V, Borba EF. Hydroxychloroquine reduces low-density lipoprotein cholesterol levels in systemic lupus erythematosus: a longitudinal evaluation of the lipid-lowering effect. *Lupus*. 2012;21(11):1178–82.
99. McMahon M, Skaggs B, Grossman J, Wong WK, Sahakian L, Chen W, et al. Comparison of PREDICTS atherosclerosis biomarker changes after initiation of new treatments in patients with SLE. *Lupus Sci Med*. 2019;6(1):e000321.
100. WHO. Global Recommendations on Physical Activity for Health. In: Geneva: World Health Organization. 2010.

101. Peschken CA, Wang Y, Abrahamowicz M, Pope J, Silverman E, Sayani A, et al. Persistent Disease Activity Remains a Burden for Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol*. 2019;46(2):166–75.
102. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29(2):288–91.
103. Gladman DD, 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.
104. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499–502.
105. Ginsburg GS, Small DM, Atkinson D. Microemulsions of phospholipids and cholesterol esters. Protein-free models of low density lipoprotein. *J Biol Chem*. 1982;257(14):8216–27.
106. Maranhão RC, Cesar TB, Pedroso-Mariani SR, Hirata MH, Mesquita CH. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling low-density lipoprotein. *Lipids*. 1993;28(8):691–6.
107. Lo Prete AC, Dina CH, Azevedo CH, Puk CG, Lopes NH, Hueb WA, et al. In vitro simultaneous transfer of lipids to HDL in coronary artery disease and in statin treatment. *Lipids*. 2009;44(10):917–24.
108. Borba EF, Carvalho JF, Bonfá E. Mechanisms of dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol*. 2006;13(2–4):203–8.
109. Cardoso CR, Signorelli FV, Papi JA, Salles GF. Prevalence and factors associated with dyslipoproteinemias in Brazilian systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatol Int*. 2008;28(4):323–7.
110. Durcan L, Winegar DA, Connelly MA, Otvos JD, Magder LS, Petri M. Longitudinal Evaluation of Lipoprotein Variables in Systemic Lupus Erythematosus Reveals Adverse Changes with Disease Activity and Prednisone and More Favorable Profiles with Hydroxychloroquine Therapy. *J Rheumatol*. 2016;43(4):745–50.
111. Yuan J, Li LI, Wang Z, Song W, Zhang Z. Dyslipidemia in patients with systemic lupus erythematosus: Association with disease activity and B-type natriuretic peptide levels. *Biomed Rep*. 2016;4(1):68–72.
112. Michos ED, McEvoy JW, Blumenthal RS. Lipid Management for the Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2019;381(16):1557–67.
113. Kopin L, Lowenstein C. Dyslipidemia. *Ann Intern Med*. 2017;167(11):ITC81–96.

114. Unger LW, Forstner B, Schneglberger S, Muckenhuber M, Eigenbauer E, Scheiner B, et al. Patterns and prevalence of dyslipidemia in patients with different etiologies of chronic liver disease. *Wien Klin Wochenschr.* 2019;131(17–18):395–403.
115. Maranhão RC, Freitas FR. HDL metabolism and atheroprotection: predictive value of lipid transfers. *Adv Clin Chem.* 2014;65:1–41.
116. Kiss E, Fazekas B, Tarr T, Muszbek L, Zeher M, Szegedi G. Lipidprofil vizsgálata szisztémás lupus erythematosusos betegekben, különös tekintettel a lipoprotein(a) jelentőségére lupusnephritisben [Lipid profile in patients with systemic lupus erythematosus, with special focus on lipoprotein(a) in lupus nephritis]. *Orv Hetil.* 2004;145(5):217–22.
117. Ganjali S, Shirmohammadi L, Read MI, Sahebkar A. High-density lipoprotein functionality in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum.* 2020;50(4):769–75.
118. Quevedo-Abeledo JC, Sánchez-Pérez H, Tejera-Segura B, de Armas-Rillo L, Armas-González E, Machado JD, et al. Differences in HDL-Cholesterol Efflux Capacity Between Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care Res.* 2021;73(11):1590–6.
119. Ronda N, Favari E, Borghi MO, Ingegnoli F, Gerosa M, Chighizola C, et al. Impaired serum cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(3):609–15.
120. O'Neill SG, Giles I, Lambrianides A, Manson J, D'Cruz D, Schrieber L, et al. Antibodies to apolipoprotein A-I, high-density lipoprotein, and C-reactive protein are associated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2010;62(3):845–54.
121. Ammirati E, Bozzolo EP, Contri R, Baragetti A, Palini AG, Cianflone D, et al. Cardiometabolic and immune factors associated with increased common carotid artery intima-media thickness and cardiovascular disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24(7):751–9.
122. Kerr G, Aujero M, Richards J, Sayles H, Davis L, Cannon G, et al. Associations of Hydroxychloroquine Use With Lipid Profiles in Rheumatoid Arthritis: Pharmacologic Implications. *Arthritis Care Res.* 2014;66(11):1619–26.
123. Migkos MP, Markatseli TE, Iliou C, Voulgari PV, Drosos AA. Effect of hydroxychloroquine on the lipid profile of patients with sjögren syndrome. *J Rheumatol.* 2014;41(5):902–8.
124. Rahman P, Gladman DD, Urowitz MB, Yuen K, Hallett D, Bruce IN. The cholesterol lowering effect of antimalarial drugs is enhanced in patients with lupus taking corticosteroid drugs. *J Rheumatol.* 1999;26(2):325–30.
125. Babary H, Liu X, Ayatollahi Y, Chen XP, Doo L, Uppaluru LK, et al. Favorable

- effects of hydroxychloroquine on serum low density lipid in patients with systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Int J Rheum Dis.* 2018;21(1):84–92.
126. Sachet JC, Borba EF, Bonfá E, Vinagre CGC, Silva VM, Maranhão RC. Chloroquine increases low-density lipoprotein removal from plasma in systemic lupus patients. *Lupus.* 2007;16(4):273–8.
 127. Tao CY, Shang J, Chen T, Yu D, Jiang YM, Liu D, et al. Impact of antimalarial (AM) on serum lipids in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(14):e15030.
 128. Terasaka N, Wang N, Yvan-Charvet L, Tall AR. High-density lipoprotein protects macrophages from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by promoting efflux of 7-ketocholesterol via ABCG1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(38):15093–8.
 129. Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, Jafri K, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2011;364(2):127–35.
 130. Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, Pagler T, Wang N. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis. *Cell Metab.* 2008;7(5):365–75.
 131. Sánchez-Pérez H, Quevedo-Abeledo JC, de Armas-Rillo L, Rua-Figueroa Í, Tejera-Segura B, Armas-González E, et al. Impaired HDL cholesterol efflux capacity in systemic lupus erythematosus patients is related to subclinical carotid atherosclerosis. *Rheumatol.* 2020;59(10):2847–56.
 132. Maranhão RC, Freitas FR, Strunz CM, Santos RD, Mansur AJ, Mansur AP. Lipid transfers to HDL are predictors of precocious clinical coronary heart disease. *Clin Chim Acta.* 2012;413(3–4):502–5.
 133. Kosmas CE, Martinez I, Sourlas A, Bouza KV, Campos FN, Torres V, et al. High-density lipoprotein (HDL) functionality and its relevance to atherosclerotic cardiovascular disease. *Drugs Context.* 2018;7:212525.
 134. Liu T, Shi N, Zhang S, Silverman GJ, Duan XW, Zhang S, et al. Systemic lupus erythematosus aggravates atherosclerosis by promoting IgG deposition and inflammatory cell imbalance. *Lupus.* 2020;29(3):273–82.
 135. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349(25):2399–406.

APÊNDICE A – Artigo publicado na revista *Lupus*

Lang MG, Vinagre CG, Bonfa E, Freitas FR, Pasoto SG, Brito TS, Seguro LP, Maranhão RC, Borba EF. Hydroxychloroquine increased cholesterol transfer to high-density lipoprotein in systemic lupus erythematosus: A possible mechanism for the reversal of atherosclerosis in the disease. *Lupus*. 2022 May;31(6):659-665.

Disponível em: <https://doi.org/10.1177/09612033221090127>