

**KRISTOPHERSON LUSTOSA AUGUSTO**

**Estudo da síndrome metabólica e do perfil de  
adipocitocinas na síndrome de Sjögren  
primária: relevância clínica e correlações com  
citocinas inflamatórias**

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

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes e  
Infecciosos

Orientador: Dr<sup>a</sup>. Sandra Gofinet Pasoto

**SÃO PAULO  
2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Augusto, Kristopherson Lustosa

Estudo da síndrome metabólica e do perfil de adipocitocinas na síndrome de Sjögren primária : relevância clínica e correlações com citocinas inflamatórias / Kristopherson Lustosa Augusto. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Programa de Ciências Médicas. Área de Concentração: Processos Imunes e Infecciosos.

Orientadora: Sandra Gofinet Pasoto.

Descritores: 1.Síndrome de Sjögren 2.Síndrome X metabólica 3.Fatores de risco  
4.Doenças cardiovasculares 5.Adipocinas 6.Interleucina-1beta 7.Resistência à insulina  
8.Hipertensão

USP/FM/DBD-045/16

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Maria Auxiliadora Lustosa Augusto e Francisco Hélio de Oliveira Augusto, que, desde sempre, me incentivaram no caminho da justiça, do amor e do conhecimento.

As minhas irmãs, Kathiane e Karine Lustosa, minha eterna admiração por estarem sempre presentes e torcerem por todas as nossas conquistas e pelas médicas dedicadas e humanas que, diuturnamente, me inspiram a ser.

Ao meu amor, Lenora, por toda a caminhada de compreensão, felicidade, cumplicidade e companheirismo que nos une.

Aos meus filhos, Joaquim e Pedro, a alegria dos meus olhos e um amor que transborda.

Vocês são tudo de mais importante que tenho na vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora, Dr<sup>a</sup>. Sandra Gofinet Pasoto, por ter me dado a honra de me conduzir nos caminhos da ciência, pela sua serenidade e amorosidade em todo esse processo educacional. A admiração e respeito que conservo ultrapassam palavras.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, por sempre acreditar na nossa pesquisa e nos apoiar em todos os momentos nesta jornada.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosa Maria Rodrigues Pereira, pela imensa disponibilidade em nos ajudar na pesquisa, além do suporte dado pelo seu laboratório.

À Dr<sup>a</sup>. Vilma dos Santos Trindade Viana, pelo constante apoio para a nossa pesquisa.

A Cleonice Bueno e Margarete Vendramini, que, desde o início das entrevistas dos pacientes e estocagem das amostras, se mostraram solícitas em nos ajudar, sempre tinham uma palavra de alento nos momentos mais duros.

A Elaine Pires Leon, constante presença nas análises laboratoriais e que sempre esteve presente no desenvolvimento da tese.

A Jackeline Couto Alvarenga, que tanto me ajudou com a coleta das amostras.

A Liliam Takayama e Valéria de Falco Caparbo, por sua assistência técnica.

Aos Dr.(s) Célio Roberto Gonçalves, Ana Lúcia Sá Pinto e Luiz Carlos Latorre, que compuseram minha banca de qualificação com contribuições relevantes e enriquecedoras para a tese.

À equipe da Secretaria da Reumatologia, Cláudia, Marta, Iná e Mayra, pelo apoio sempre constante.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro e científico durante toda a pesquisa.

Este estudo contou com o suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (verba de auxílio à pesquisa) #2011/10490-0, do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPQ) #301411/2009-3 para EB e #301805/2013-0 para RMRP e da Federico Foundation para EB, RMRP e SGP.

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. Serviço 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 Documentações; 2011.

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

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	OBJETIVOS .....	4
2.1	Primários .....	5
2.2	Objetivos Secundários.....	6
3	MÉTODOS .....	7
3.1	Grupo de Pacientes.....	8
3.2	Grupo de Controles .....	9
3.3	Avaliação Clínica dos Pacientes com SSp .....	9
3.4	Avaliação Clínica dos Indivíduos Controle .....	10
3.5	Definição de Síndrome Metabólica.....	10
3.6	Escore de Atividade da Doença .....	11
3.7	Coleta de Sangue, Testes de Laboratório e Estocagem .....	11
3.8	Perfil Lipídico.....	12
3.9	Determinação dos Níveis Séricos de IL-1 $\beta$ , IL-6 e BAFF .....	13
3.10	Determinação dos Níveis Séricos de Insulina, Adipocitocinas e Grelina Total.....	13
3.11	Resistência à Insulina.....	14
3.12	Avaliação da Massa de Gordura Corporal.....	14
3.13	Análise Estatística .....	14
4	RESULTADOS.....	16
4.1	Análise Comparativa Entre os Pacientes com SSp e Indivíduos Controle.....	17
4.2	Comparação Entre Pacientes com SSp Com e Sem Síndrome Metabólica .....	20
4.3	Análise Multivariada de Pacientes com SSp Com e Sem Síndrome Metabólica com Ajustes Para Idade, Etnia, Uso de Prednisona, Dose Atual e Cumulativa de Prednisona, Além de Duração da Utilização .....	22

4.4	Avaliação das Correlações Lineares Entre as Citocinas Inflamatórias, Insulina, HOMA-IR e Adipocitocinas em Pacientes com SSp .....	23
4.5	Avaliação das Correlações Lineares com Ajuste para Idade Entre o Nível de IL-1 $\beta$ e os Critérios de SM, Insulina e HOMA-IR em Pacientes com SSp.....	23
4.6	Avaliação das Correlações Lineares entre IL-1 $\beta$ / BAFF, Insulina, HOMA-IR e Adipocitocinas nos Grupos de Pacientes com SSp Com e Sem SM.....	24
5	DISCUSSÃO .....	25
6	CONCLUSÕES .....	32
7	ANEXOS .....	34
8	REFERÊNCIAS.....	37
	APÊNDICES .....	46



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	- Artrite reumatoide
BAFF	- <i>B-cell activating factor</i>
BMI	- <i>Body mass index</i>
CA	- Circunferência da cintura abdominal
CNPQ	- Conselho Nacional de Pesquisa
DP	- Desvio padrão
ELISA	- <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EULAR	- <i>European League Against Rheumatism</i>
FAPESP	- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
HC-FMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL-C	- Colesterol de lipoproteína de alta densidade
HIV	- <i>Human immunodeficiency virus</i>
HOMA-IR	- Avaliação do modelo de homeostase - Resistência à insulina
IDF	- <i>International Diabetes Federation</i>
IL-1 $\beta$	- Interleucina-1 beta
IMC	- Índice de massa corporal
LDL-C	- Colesterol de lipoproteína de baixa densidade
LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
MetS	- <i>Metabolic syndrome</i>
PAI-1	- Plasminogênio 1
pSS	- <i>Primary Sjögren's syndrome</i>
SD	- <i>Standard deviation</i>
SM	- Síndrome metabólica
SSp	- Síndrome de Sjögren primária
TG	- Triglicérides
VLDL-C	- Colesterol de lipoproteína de muito baixa densidade

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise comparativa entre pacientes com pSS e indivíduos saudáveis quanto às características demográficas, fatores de risco cardiovascular e frequência de síndrome metabólica*.....	18
Tabela 2 - Análise comparativa entre pacientes com SSp e indivíduos saudáveis quanto aos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, fator de ativação de células B e adipocitocinas* .....	19
Tabela 3 - Análise comparativa entre pacientes com SSp com e sem síndrome metabólica quanto às características demográficas, fatores de risco cardiovascular e características da doença* .....	21
Tabela 4 - Análise comparativa entre pacientes com SSp com e sem síndrome metabólica quanto aos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, fator de ativação de células B e adipocitocinas* .....	22

## RESUMO

Augusto KL. *Estudo da síndrome metabólica e do perfil de adipocitocinas na síndrome de Sjögren primária; relevância clínica e correlações com citocinas inflamatórias*. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

A Síndrome Metabólica (SM) tem sido descrita nas doenças autoimunes. No entanto, existem poucos dados na literatura sobre a síndrome metabólica e o perfil de adipocitocinas na síndrome de Sjögren primária (SSp). Setenta e um pacientes do sexo feminino com SSp com idades entre 18-65 anos (Critérios do Consenso Euramericano, 2002) e 71 mulheres saudáveis pareadas por idade e raça foram incluídas neste estudo caso-controle. Os dados clínicos foram coletados por meio de um protocolo padronizado. Os níveis sanguíneos de glicose, colesterol total, LDL-colesterol (LDL-C), HDL-colesterol (HDL-C), triglicérides, interleucina-1 beta (IL-1 beta)/ IL-6, fator de ativação das células B (BAFF), insulina e leptina/ adiponectina/ visfatina/ resistina foram determinados. Os pacientes e os controles foram comparáveis com relação ao índice de massa corporal (IMC), tabagismo, sedentarismo e menopausa ( $p > 0,05$ ). A síndrome metabólica (39,4 vs. 16,9%,  $p = 0,005$ ), hipertensão ( $p = 0,004$ ) e a dislipidemia ( $p = 0,002$ ) foram mais frequentes nos pacientes do que nos controles. Os níveis de IL-1 beta, IL-6, BAFF, resistina e adiponectina foram mais elevados nos pacientes do que nos controles ( $p < 0,05$ ). Os pacientes com SSp com SM ( $n = 28$ ) apresentaram maiores valores de IMC, circunferência abdominal, colesterol total, LDL-C, triglicérides, insulina, leptina e HOMA-IR, além de maiores taxas de hipertensão e diabetes do que os pacientes com SSp sem SM ( $n = 43$ ) ( $p < 0,05$ ). O uso atual e/ou prévio de prednisona (75,0 vs. 62,8%,  $p = 0,313$ ), a dose atual ( $3,0 \pm 4,5$  vs.  $1,6 \pm 3,2$  mg/dia,  $p = 0,299$ ) e a dose cumulativa de prednisona ( $p = 0,495$ ) foram semelhantes em ambos os

grupos. Entretanto, os níveis de IL-1 beta foram maiores em pacientes com SM do que nos pacientes sem SM ( $p= 0,012$ ). Este achado foi confirmado por análise multivariada ( $p= 0,048$ ) com ajustes para idade, etnia, uso de prednisona, doses cumulativas e atuais de prednisona e ainda duração do uso da mesma. Nós identificamos elevada frequência de síndrome metabólica e um perfil anormal de adipocitocinas em pacientes com SSp. A associação da síndrome metabólica com elevados níveis de IL-1 beta sugere que a inflamação possa desempenhar um papel importante na sua patogênese.

Descritores: Síndrome de Sjögren. Síndrome X metabólica; Fatores de risco. Doenças cardiovasculares. Adipocinas. Interleucina-1 beta. Resistência à insulina. Hipertensão.

## ABSTRACT

Augusto KL. *Metabolic syndrome in Sjögren's syndrome patients: a relevant concern for clinical monitoring*. [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

The metabolic syndrome (MetS) has been described in autoimmune diseases. However, there are few data in the literature on metabolic syndrome and adipocytokines profile in primary Sjögren's syndrome (pSS). Seventy-one female patients with pSS aged 18-65 years (criteria of the American European Consensus, 2002) and 71 healthy women matched for age and race were included in this case-control study. Clinical data were collected using a standardized protocol. Blood levels of glucose, total cholesterol, LDL-cholesterol (LDL-C), HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides, interleukin-1 beta (IL-1 beta)/ IL-6, B-cell activating factor (BAFF), insulin and leptin/ adiponectin/ visfatin/ resistin were determined. Patients and controls were comparable with respect to body mass index (BMI), smoking, sedentary lifestyle and menopause ( $p > 0.05$ ). The metabolic syndrome (39.4 vs. 16.9%,  $p = 0.005$ ), hypertension ( $p = 0.004$ ) and dyslipidemia ( $p = 0.002$ ) were more frequent in patients than in controls. IL-1 beta, IL-6, BAFF, resistin and adiponectin levels were higher in patients than in controls ( $p < 0.05$ ). pSS patients with MetS ( $n = 28$ ) had higher BMI, waist circumference, total cholesterol, LDL-C, triglycerides, insulin, leptin and HOMA-IR, as well as higher rates of hypertension and diabetes than pSS patients without MetS ( $n = 43$ ) ( $p < 0.05$ ). The current and/or prior use of prednisone (75.0 vs. 62.8%,  $p = 0.313$ ), the current dose ( $3.0 \pm 4.5$  vs.  $1.6 \pm 3.2$  mg/day  $p = 0.299$ ) and cumulative dose of prednisone ( $p = 0.495$ ) were similar in both groups. However, IL-1 beta levels were higher in pSS patients with MetS than in pSS patients without MetS ( $p = 0.012$ ). This finding was confirmed by multivariate analysis ( $p = 0.048$ ) with adjustments for age, ethnicity, use of prednisone,

current and cumulative doses of prednisone and even duration of use. We have identified high frequency of metabolic syndrome and an abnormal profile of adipocytokines in pSS patients. The association of metabolic syndrome with elevated IL-1 beta levels suggests that inflammation may play an important role in its pathogenesis.

Descriptors: Sjögren's syndrome. Metabolic syndrome. Risk factors. Cardiovascular diseases. Adipokines Interleukin-1 beta. Insulin resistance. Hypertension.

# **1 INTRODUÇÃO**

A Síndrome de Sjögren primária (SSp) é uma doença autoimune caracterizada principalmente pelo envolvimento inflamatório das glândulas exócrinas, causando olho e boca secos, o que caracteriza a síndrome *sicca*. Contudo, múltiplos sistemas orgânicos podem ser afetados, levando a um amplo espectro de manifestações extraglandulares, tais como poliartrite, vasculite cutânea, neuropatia periférica, afecções das vias aéreas inferiores, nefrite intersticial, glomerulonefrite, neurite óptica, esclerose múltipla símile e a um risco aumentado de desenvolver linfoma<sup>1</sup>. A SSp afeta predominantemente o sexo feminino (9:1), com um pico de incidência entre 40 e 60 anos e sua prevalência, na população geral, varia de 0,1% a 0,6%<sup>2</sup>.

Pacientes com SSp têm uma resposta imunológica inadequada com ativação das células T e B e subsequente infiltração inflamatória linfocitária nos tecidos-alvo. Estas células produzem várias citocinas pró-inflamatórias, tais como as interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ) e IL-6<sup>3</sup>, que desempenham um papel crucial no desenvolvimento e perpetuação dos fenômenos inflamatórios na SSp<sup>4</sup>. Elevados níveis do fator de ativação das células B (BAFF) foram detectados nas glândulas salivares, na saliva e no soro de pacientes com SSp<sup>5</sup>. Sob a estimulação do BAFF, as células B produzem vários autoanticorpos, tais como anti-Ro/SS-A, e anti-La/SS-B<sup>4</sup>.

Os estudos que avaliaram pacientes com outras doenças inflamatórias autoimunes sistêmicas, particularmente a artrite reumatoide (AR)<sup>6</sup> e o lúpus



eritematoso sistêmico (LES)<sup>7</sup>, demonstraram que um processo inflamatório crônico pode predispor ao desenvolvimento de outras comorbidades associadas, como a hipertensão arterial sistêmica, a dislipidemia, o diabetes mellitus e a síndrome metabólica (SM)<sup>8</sup>. Esta síndrome consiste em um agrupamento de vários fatores de risco cardiovasculares, sendo estes: hipertensão, diabetes, obesidade e dislipidemia, nos quais a resistência à insulina e a obesidade visceral têm sido reconhecidas como os fatores patogênicos mais importantes<sup>9</sup>. Recentemente, maiores níveis séricos de adiponectina, leptina, visfatina e grelina foram descritos em pacientes com LES<sup>10</sup>. Estas adipocitocinas têm efeitos importantes na inflamação, homeostase da glicose e aterosclerose<sup>11</sup>.

Há poucos dados sobre fatores de risco cardiovascular associados à SSp. Foram observadas maiores taxas de hipertensão, dislipidemia, diabetes e hiperuricemia nestes pacientes<sup>12,13</sup>. Recentemente, estudos multicêntricos confirmaram altas frequências de hipertensão<sup>14,15</sup>, hipertrigliceridemia<sup>14</sup> e hipercolesterolemia<sup>15</sup> nos indivíduos com SSp. No entanto, há poucos dados sobre a SM e o perfil de adipocitocinas na SSp. A este respeito, foram evidenciados níveis séricos aumentados de adiponectina em uma pequena amostra (n= 7) de pacientes com SSp<sup>16</sup>. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a frequência da síndrome metabólica e o padrão do perfil de adipocitocinas em pacientes com SSp, bem como suas possíveis correlações com as citocinas pró-inflamatórias, o índice de atividade da doença e as características do tratamento.

## **2 OBJETIVOS**

## 2.1 Primários

a) Avaliar em pacientes com síndrome de Sjögren primária comparativamente a indivíduos controles saudáveis e pareados para idade, sexo e raça:

- a.1) a frequência de síndrome metabólica;
- a.2) a frequência de fatores de risco cardiovascular tradicionais: hipertensão arterial sistêmica, colesterol total e frações e glicemia em jejum;
- a.3) os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ) e IL-6, fator de ativação das células B (BAFF), insulina, perfil de adipocitocinas (adiponectina, leptina, resistina e visfatina), grelina total e inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1);
- a.4) a avaliação da resistência à insulina pelo índice de avaliação do modelo de homeostase (HOMA-IR);
- a.4) a porcentagem de massa de gordura corporal através de absorciometria por raios X com feixe de dupla energia (DXA).

b) Avaliar comparativamente os pacientes com síndrome de Sjögren primária com e sem síndrome metabólica com respeito aos:

- b.1) fatores de risco cardiovascular tradicionais: hipertensão arterial sistêmica, colesterol total e frações e glicemia em jejum;

- b.2) níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ) e IL-6, fator de ativação das células B (BAFF), insulina, perfil de adipocitocinas (adiponectina, leptina, resistina e visfatina), grelina total e inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1);
- b.3) resistência à insulina pelo índice de avaliação do modelo de homeostase (HOMA-IR).

## **2.2 Objetivos Secundários**

- a) Análise multivariada dos pacientes com SSp com e sem síndrome metabólica com ajustes para idade, etnia, uso de prednisona, doses de prednisona atual e cumulativa, além de duração da utilização.
- b) Avaliação das correlações lineares entre as citocinas inflamatórias, insulina, HOMA-IR e adipocitocinas nos pacientes com síndrome de Sjögren primária.
- c) Avaliação das correlações lineares com ajuste para idade entre o nível de IL-1 $\beta$  e os critérios de SM, níveis de insulina e HOMA-IR nos pacientes com SSp.
- d) Avaliação das correlações lineares entre IL-1 $\beta$ / níveis de BAFF, insulina, HOMA-IR e adipocitocinas nos grupos de pacientes com SSp com e sem SM.

## **3 MÉTODOS**

### 3.1 Grupo de Pacientes

Foram selecionados setenta e um dos 93 pacientes com SSp do sexo feminino (76,3%) diagnosticados de acordo com os critérios internacionais de classificação para a Síndrome de Sjögren (Critérios do Grupo de Consenso Americano-Europeu, 2002)<sup>17</sup>, com idades entre 18 e 65 anos, acompanhados no Ambulatório de Síndrome de Sjögren, da Divisão de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). O período de recrutamento para este estudo caso-controle foi de maio de 2011 até janeiro de 2013. Os critérios de exclusão foram: testes sorológicos positivos para hepatites B, C e HIV, presença de outras doenças autoimunes associadas, incluindo o lúpus eritematoso sistêmico, a esclerose sistêmica, a polimiosite/dermatomiosite, a artrite reumatoide, a doença mista do tecido conjuntivo, presença de sarcoidose, radiação de cabeça e pescoço, doença enxerto versus hospedeiro e o uso de medicamentos associados à síndrome *sicca*<sup>17</sup>. Os pacientes selecionados concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) (#0004/11).

### **3.2 Grupo de Controles**

Setenta e uma mulheres voluntárias pareadas por idade e raça, sem doenças autoimunes/infecciosas ou síndrome *sicca*, que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido foram incluídas. Elas foram selecionadas entre os funcionários do hospital e membros de sua família.

### **3.3 Avaliação Clínica dos Pacientes com SSp**

No início do estudo, os dados clínicos, incluindo os fatores de risco cardiovascular, foram coletados por meio de um protocolo padronizado. Este protocolo consistiu em uma entrevista médica, exame físico, exames complementares e revisão do prontuário com banco eletrônico de dados (prontuário eletrônico). Este prontuário foi criado em 2001, com consultas sendo realizadas a cada 1-6 meses para avaliar as características clínicas dos pacientes, incluindo aquelas relevantes para este estudo. Os pacientes foram avaliados sistematicamente quanto às manifestações glandulares e extraglandulares relacionadas à SSp (constitucionais, linfadenopatias, cutâneas, articulares, respiratórias, cardiovasculares, renais, envolvimento do sistema nervoso central e periférico). Os tratamentos anteriores e atuais também foram registrados, incluindo as doses atual e cumulativa de prednisona e a duração de seu uso. Os fatores clássicos de risco cardiovascular, incluindo a hipertensão (a hipertensão arterial sistêmica foi definida como uma pressão sanguínea sistólica  $\geq 130$  mmHg e/ou uma pressão arterial diastólica  $\geq 85$  mmHg e/ou pelo uso atual de medicamentos

anti-hipertensivos), o diabetes mellitus (glicemia de jejum  $\geq 126$  mg/dL e/ou o uso atual de insulina e/ou agentes hipoglicemiantes orais), dislipidemia (colesterol de lipoproteína de alta densidade [HDL-C]  $< 50$  mg/dL e/ou triglicérides  $\geq 150$  mg/dL e/ou tratamento atual com drogas hipolipemiantes), obesidade (índice de massa corporal [IMC]  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), circunferência da cintura abdominal (CA) e tabagismo foram registrados<sup>18</sup>. O sedentarismo foi definido como a não participação em uma ou mais das seguintes atividades cinco ou mais vezes por semana: caminhar, correr, andar de bicicleta, nadar, fazer atividade aeróbica, dançar, fazer ginástica, jardinagem, ou levantamento de peso<sup>19</sup>.

### **3.4 Avaliação Clínica dos Indivíduos Controle**

No momento da inclusão, os fatores de risco cardiovascular foram avaliados nos indivíduos controle de acordo com o mesmo protocolo padronizado.

### **3.5 Definição de Síndrome Metabólica**

A síndrome metabólica foi classificada de acordo com os critérios da Declaração Conjunta Interina da Federação Internacional de Diabetes (IDF) 2009<sup>18</sup>. Esta declaração consensual foi estabelecida pela Força-Tarefa da IDF em Epidemiologia e Prevenção; Instituto Nacional do Coração, Pulmão e Sangue; Associação Americana do Coração; Federação Mundial de Cardiologia; Sociedade Internacional de Aterosclerose e Associação



Internacional para o Estudo da Obesidade. De acordo com esta declaração, a SM é definida como a presença de três ou mais dos seguintes cinco critérios: 1) circunferência da cintura elevada segundo os limiares específicos população/ país ( $\geq 80$ cm para mulheres sul-americanas); 2) triglicérides elevados ( $\geq 150$ mg/dL) ou terapia farmacológica para hipertrigliceridemia; 3) colesterol-HDL reduzido ( $< 50$  mg/dL) em mulheres ou terapia farmacológica para redução do HDL-C; 4) pressão arterial elevada (sistólica  $\geq 130$  e/ou diastólica  $\geq 85$  mmHg) ou tratamento medicamentoso para hipertensão e 5) glicemia de jejum elevada ( $\geq 100$  mg/dL) ou tratamento farmacológico para hiperglicemia<sup>18</sup>.

### **3.6 Escore de Atividade da Doença**

No momento da inclusão do estudo, a atividade da doença foi determinada de acordo com o *European League Against Rheumatism (EULAR) Sjögren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI)*<sup>20</sup>.

### **3.7 Coleta de Sangue, Testes de Laboratório e Estocagem**

As amostras de sangue de todos os pacientes e controles foram obtidas à inclusão no estudo após 12 horas de jejum noturno para a determinação dos níveis séricos de: glicose, colesterol total, colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C), colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), colesterol de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C), triglicérides (TG), citocinas pró-inflamatórias, interleucina-1 beta

(IL-1 $\beta$ ) e IL-6, fator de ativação das células B (BAFF), insulina, perfil de adipocitocinas (adiponectina, leptina, resistina e visfatina), grelina total e inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1). Para a medição das citocinas, insulina, adipocitocinas, grelina e PAI-1, as amostras de sangue foram imediatamente colocadas em gelo e centrifugadas sob refrigeração para a obtenção das amostras de soro, que foram armazenadas a -80 °C até a sua utilização. Estas dosagens foram realizadas em todos os soros simultaneamente.

### **3.8 Perfil Lipídico**

O colesterol total, HDL-C e triglicérides nas amostras de soro foram medidos por técnica enzimática pelo método colorimétrico com um analisador químico Modular P (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). Os níveis de VLDL-C e LDL-C foram estimados, porque todas as amostras tinham níveis de TG < 300 mg/dL. Os níveis de VLDL-C foram calculados com base no índice de TG/5 e os níveis de LDL-C foram determinados com base na seguinte equação:  $LDL-C = \text{colesterol total} - (\text{HDL-C} + \text{VLDL-C})^{21}$ .

### 3.9 Determinação dos Níveis Séricos de IL-1 $\beta$ , IL-6 e BAFF

Os níveis séricos de IL-1 $\beta$  e IL-6 foram medidos por um sistema de análise *multiplex*<sup>22</sup> e segundo as instruções do fabricante (LuminexMAP, EMD Millipore Corporation, Darmstadt, Alemanha). As sensibilidades de ensaio (concentração mínima detectável [minDC] em pg/mL) e os coeficientes de variação intraensaio (CV,%) foram de 0,1 pg/mL e 7,5% para a IL-1 $\beta$  e 1,6 pg/mL e 7,8% para a IL-6, respectivamente. As concentrações séricas de BAFF foram determinadas por imunensaio enzimático (ELISA), conforme previamente descrito<sup>5</sup> (USCN Life Science, Wuhan, China). A minDC e o CV intraensaio foram < 0,058 ng/mL e < 10%, respectivamente.

### 3.10 Determinação dos Níveis Séricos de Insulina, Adipocitocinas e Grelina Total

As concentrações séricas de insulina, adiponectina, leptina, visfatina, resistina, PAI-1 e grelina total foram medidas com uma tecnologia *MAP Luminex*, usando um sistema de matriz de suspensão *multiplex* (EMD Millipore Corporation, Darmstadt, Alemanha), como descrito anteriormente<sup>23</sup> e de acordo com as instruções do fabricante. A minDC e o CV intraensaio foram de 52 pg/mL e 3% para a insulina, 0,04 ng/mL e 3% para a leptina, 0,15 ng/mL e 5,6% para a adiponectina, 0,007 ng/mL e 6,0% para a resistina, 0,001 ng/mL e 6,6% para o PAI-1 e 2 pg/mL e 3% para a grelina total. Os níveis séricos de visfatina foram determinados por ELISA, conforme previamente descrito<sup>24</sup> (USCN Life Science, Wuhan, China). A minDC e o CV intraensaio foram < 6,3 pg/mL e <10%, respectivamente.

### **3.11 Resistência à Insulina**

Para a avaliação da resistência à insulina, o índice de avaliação do modelo de homeostase (HOMA-IR) foi calculado de acordo com as fórmulas estabelecidas no modelo HOMA 21<sup>25</sup>.

### **3.12 Avaliação da Massa de Gordura Corporal**

A porcentagem de massa de gordura corporal foi avaliada através da absorciometria por raios X com feixe de dupla energia (DXA) (Hologic QDR-4500 Descoberta, Hologic Inc., Waltham, Estados Unidos).

### **3.13 Análise Estatística**

Os dados foram analisados, usando-se o programa SPSS versão 12.0. As comparações entre dois grupos (pacientes com SSp vs. indivíduos controle e pacientes com SSp e SM vs. pacientes com SSp sem SM) foram realizadas por meio do teste t de Student ou do teste de U de Mann-Whitney para as variáveis contínuas e do teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher para as variáveis categóricas, quando aplicáveis. A análise multivariada com ajustes para idade, etnia, uso de prednisona, doses atual e cumulativa de prednisona e duração de uso foi realizada para comparar os pacientes com SSp com e sem SM através de análise de covariância. Correlações lineares entre diversas variáveis (dois a dois) foram avaliadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson (valores superiores a 0,7 indicam uma forte

correlação; os valores de 0,5 a 0,7 sugerem uma correlação moderada e aqueles abaixo de 0,5 indicam uma fraca correlação). As associações entre os níveis de IL-1 $\beta$  e SM, IL-1 $\beta$  e insulina e IL-1 $\beta$  e HOMA-IR com ajustes para a idade foram avaliadas pelo coeficiente de Pearson com análise de correlação parcial. Os resultados são mostrados como uma proporção ou média  $\pm$  desvio padrão (DP). Apenas testes bi-caudados foram aplicados. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## **4 RESULTADOS**

#### **4.1 Análise Comparativa Entre os Pacientes com SSp e Indivíduos Controle**

Os pacientes com SSp e os indivíduos controle foram semelhantes quanto à média de idade ( $47,6 \pm 10,3$  vs.  $47,2 \pm 10,3$  anos,  $p= 0,833$ ), etnia (brancos:  $77,5$  vs.  $77,5\%$ ,  $p= 1,000$ ), índice de massa corporal (IMC) ( $27,6 \pm 6,4$  vs.  $26,7 \pm 3,6$   $\text{kg/m}^2$ ,  $p= 0,783$ ), tabagismo ( $p= 1,000$ ) e sedentarismo ( $p= 0,847$ ) (Tabela 1). Nenhuma paciente ou controle tinha um histórico de abuso de álcool. A frequência de menopausa ( $p= 0,502$ ) e o uso de terapia de reposição hormonal ( $p= 1,000$ ) também foram comparáveis em ambos os grupos (Tabela 1).

Altas prevalências de SM ( $39,4$  vs.  $16,9\%$ ,  $p= 0,005$ ) e hipertensão arterial ( $32,4$  vs.  $11,3\%$ ,  $p= 0,004$ ) foram observadas nos pacientes com SSp em comparação com o grupo de controle. A circunferência da cintura ( $87,4 \pm 13,3$  vs.  $84,8 \pm 9,4$  cm,  $p= 0,181$ ) e a massa de gordura corporal ( $36,1 \pm 6,7$  vs.  $34,7 \pm 4,3\%$ ,  $p= 0,155$ ) foram comparáveis em ambos os grupos. Em contraste, as frequências de dislipidemia ( $22,5$  vs.  $4,2\%$ ,  $p= 0,002$ ) e a utilização de estatinas ( $19,7$  vs.  $4,2\%$ ,  $p= 0,008$ ) foram superiores nos pacientes com SSp e houve uma tendência a menores níveis de HDL-C neste grupo ( $54,8 \pm 16,2$  vs.  $59,7 \pm 14,3$  mg/dL,  $p= 0,058$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1 - Análise comparativa entre pacientes com pSS e indivíduos saudáveis quanto às características demográficas, fatores de risco cardiovascular e frequência de síndrome metabólica\***

	SSp n= 71	Indivíduos Saudáveis n= 71	p
Idade (anos)	47,6 ± 10,3	47,2 ± 10,3	0,833
Gênero feminino	71 (100)	71 (100)	1,000
Raça branca	55 (77,5)	55 (77,5)	1,000
Síndrome metabólica	28 (39,4)	12 (16,9)	0,005
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,6 ± 6,4	26,7 ± 3,6	0,783
Circunferência da cintura (cm)	87,4 ± 13,3	84,8 ± 9,4	0,181
Massa de gordura corporal (%)	36,1 ± 6,7	34,7 ± 4,3	0,155
Hipertensão	23 (32,4)	8 (11,3)	0,004
Pressão sanguínea			
Sistólica (mmHg)	123,5 ± 18,9	113,2 ± 10,7	0,001
Diastólica (mmHg)	79,2 ± 13,8	74,4 ± 10,1	0,090
Diabetes mellitus	4 (5,6)	2 (2,8)	0,681
Glicemia (mg/dL)	81,5 ± 11,9	85,6 ± 13,9	0,062
Dislipidemia	16 (22,5)	3 (4,2)	0,002
Colesterol (mg/dL)	178,0 ± 39,8	187,8 ± 49,8	0,043
Colesterol-HDL (mg/dL)	54,8 ± 16,2	59,7 ± 14,3	0,058
Colesterol-LDL (mg/dL)	102,4 ± 32,2	116,3 ± 35,2	0,015
Colesterol-VLDL (mg/dL)	21,0 ± 9,0	20,0 ± 9,1	0,489
Triglicérides (mg/dL)	105,0 ± 44,8	100,6 ± 45,2	0,564
Uso de estatinas	14 (19,7)	3 (4,2)	0,008
Tabagismo			
Atual	3 (4,2)	2 (2,8)	1,000
Anterior	13 (18,3)	17 (23,9)	0,538
Alcoolismo	0 (0)	0 (0)	-
Estilo de vida sedentário	54 (76,1)	52 (73,2)	0,847
Menopausa	38 (53,5)	33 (46,5)	0,502
Terapia de reposição hormonal	4 (5,6)	4 (5,6)	1,000

\* Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão ou n (%).

SSp= síndrome de Sjögren primária; n= número de pacientes; DP= desvio padrão; IMC= índice de massa corporal.



Não foram observadas diferenças na glicemia ( $p= 0,062$ ) (Tabela 1), nos níveis de insulina ( $p= 0,271$ ) ou nos valores do HOMA-IR ( $p= 0,662$ ) (Tabela 2). Os níveis séricos de IL-1 $\beta$  ( $37,8 \pm 1,1$  vs.  $124,1 \pm 1,1$  pg/mL,  $p= 0,008$ ), IL-6 ( $40,5 \pm 4,6$  vs.  $114,4 \pm 8,1$  pg/mL,  $p < 0,0001$ ), BAFF ( $0,19 \pm 0,56$  vs.  $0,01 \pm 0,02$  pg/mL,  $p < 0,0001$ ), resistina ( $13,3 \pm 6,9$  vs.  $8,7 \pm 5,3$  pg/mL,  $p < 0,0001$ ) e adiponectina ( $27411,8 \pm 16096,2$  vs.  $22316,3 \pm 22639,6$  ng/mL,  $p= 0,001$ ) foram mais elevados nos pacientes do que nos controles (Tabela 2). Os níveis de leptina, visfatina e grelina foram comparáveis em ambos os grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2 - Análise comparativa entre pacientes com SSp e indivíduos saudáveis quanto aos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, fator de ativação de células B e adipocitocinas\***

	pSS n= 71	Indivíduos saudáveis n= 71	p
Adiponectina (ng/mL)	27411,8 $\pm$ 16096,2	22316,3 $\pm$ 22639,6	0,001
Resistina (ng/mL)	13,3 $\pm$ 6,9	8,7 $\pm$ 5,3	<0,0001
PAI-1 (ng/mL)	57,6 $\pm$ 23,4	65,0 $\pm$ 27,8	0,087
Leptina (ng/mL)	18,6 $\pm$ 12,2	15,8 $\pm$ 10,2	0,141
Insulina (pg/mL)	523,9 $\pm$ 412,9	440,2 $\pm$ 327,9	0,271
Grelina (pg/mL)	52,9 $\pm$ 52,5	46,7 $\pm$ 39,4	0,928
Visfatina (pg/mL)	656,7 $\pm$ 208,9	611,5 $\pm$ 127,2	0,468
HOMA-IR	3,0 $\pm$ 2,3	2,8 $\pm$ 2,9	0,662
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	37,8 $\pm$ 124,1	1,1 $\pm$ 1,1	0,008
IL-6 (pg/mL)	40,5 $\pm$ 114,4	4,6 $\pm$ 8,1	<0,0001
BAFF (pg/mL)	0,19 $\pm$ 0,56	0,01 $\pm$ 0,02	<0,0001

\* Os resultados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão ou n (%).

SSp= síndrome de Sjögren primária; n= número de pacientes; DP= desvio padrão; PAI-1= inibidor do ativador do plasminogênio; IL-1 $\beta$ = interleucina-1 beta; IL-6= interleucina-6; BAFF= fator ativador das células B.

#### 4.2 Comparação Entre Pacientes com SSp Com e Sem Síndrome Metabólica

Os 28 pacientes com SM e os 43 pacientes sem SM foram comparáveis em relação às características demográficas (Tabela 3). Em contraste, o primeiro grupo apresentou maiores valores de IMC, circunferência da cintura, gordura corporal, pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total, LDL-C, VLDL-C e triglicérides, além de frequências mais elevadas de hipertensão e diabetes ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). Além disso, os pacientes com SM apresentaram maiores níveis de insulina e leptina ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4).

Em relação às manifestações da SSp, as frequências de artrite (60,7 vs. 39,5%,  $p = 0,094$ ), vasculite cutânea (25 vs. 18,6%,  $p = 0,562$ ), fenômeno de Raynaud (42,9 vs. 23,3%,  $p = 0,115$ ), doença das pequenas vias aéreas (17,9 vs. 20,9%,  $p = 1,000$ ), acidose tubular renal (7,1 vs. 9,3%,  $p = 1,000$ ) e envolvimento do sistema nervoso central ou periférico (17,9 vs. 9,3%,  $p = 0,304$ ) foram comparáveis entre os pacientes com SSp com e sem síndrome metabólica. A duração da doença e seu índice de atividade no momento de inclusão também foram semelhantes nos dois grupos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3).

O uso atual e/ou prévio de prednisona (75,0 vs. 62,8%,  $p = 0,313$ ), a dose atual ( $3,0 \pm 4,5$  vs.  $1,6 \pm 3,2$  mg/dia,  $p = 0,299$ ) e cumulativa de prednisona ( $p = 0,495$ ) foram semelhantes nos dois grupos (Tabela 3). Entretanto, o nível de IL-1 $\beta$  foi maior nos pacientes com SM do que em pacientes sem SM ( $83,1 \pm 187,6$  vs.  $8,4 \pm 27,7$  pg/mL,  $p = 0,012$ ) (Tabela 4).

**Tabela 3 - Análise comparativa entre pacientes com SSp com e sem síndrome metabólica quanto às características demográficas, fatores de risco cardiovascular e características da doença\***

	SSp com SM n= 28	SSp sem SM n= 43	p
Idade (anos)	50,0 ± 9,4	46,0 ± 10,7	0,111
Gênero feminino	28 (100)	43 (100)	1,000
Raça branca	23 (82,1)	37 (86,0)	0,773
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29,6 ± 6,2	26,3 ± 6,3	0,032
Circunferência da cintura (cm)	91,6 ± 11,6	84,6 ± 13,7	0,028
Massa de gordura corporal (%)	38,1 ± 6,1	34,8 ± 6,7	0,046
Hipertensão	16 (57,1)	7 (16,3)	0,001
Pressão sanguínea			
Sistólica (mmHg)	130,7 ± 22,8	119,1 ± 14,1	0,011
Diastólica (mmHg)	85,7 ± 15,0	74,9 ± 11,2	0,001
Diabetes mellitus	4 (14,3)	0 (0)	0,021
Glicemia (mg/dL)	84,7 ± 14,7	79,4 ± 9,3	0,180
Dislipidemia	9 (32,1)	7 (16,3)	0,150
Colesterol (mg/dL)	192,9 ± 37,6	168,2 ± 38,5	0,001
Colesterol-HDL (mg/dL)	53,5 ± 17,5	55,7 ± 15,3	0,588
Colesterol-LDL (mg/dL)	114,5 ± 27,3	94,6 ± 33,0	0,010
Colesterol-VLDL (mg/dL)	26,1 ± 9,7	17,7 ± 6,7	<0,000 1
Triglicérides (mg/dL)	130,1 ± 49,2	88,7 ± 33,1	<0,000 1
Uso de estatinas	8 (28,6)	6 (14,0)	0,221
Tabagismo			
Atual	0 (0)	3 (7,0)	0,273
Anterior	6 (21,4)	7 (16,3)	0,755
Alcoolismo	0 (0)	0 (0)	-
Estilo de vida sedentário	21 (75)	33 (76,7)	1,000
Menopausa	18 (64,3)	20 (46,5)	0,155
Terapia de reposição hormonal	1 (3,6)	3 (7,0)	1,000
Duração da doença (anos)	11,5 ± 6,3	10,7 ± 4,5	0,523
ESSDAI	10,8 ± 6,2	9,0 ± 6,1	0,240
Prednisona			
Uso atual e/ou prévio	21 (75,0)	27 (62,8)	0,313
Uso atual	10 (35,7)	10 (23,3)	0,289
Dosagem atual (mg/dia)	3,0 ± 4,5	1,6 ± 3,2	0,299
Dosagem cumulativa (g)	6,7 ± 9,2	4,1 ± 4,7	0,495
Duração da utilização (anos)	2,2 ± 2,9	2,2 ± 3,8	0,999
Antimaláricos			
Uso atual e/ou prévio	24 (85,7)	41 (95,4)	0,204
Uso atual	14 (50,0)	26 (60,5)	0,466

\* Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão ou n (%).

SSp= síndrome de Sjögren primária; n= número de pacientes; DP= desvio padrão; IMC= índice de massa corporal; ESSDAI= *EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index*.

**Tabela 4 - Análise comparativa entre pacientes com SSp com e sem síndrome metabólica quanto aos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, fator de ativação de células B e adipocitocinas\***

	SSp com SM n= 28	SSp sem SM n= 43	p
Adiponectina (ng/mL)	23780,6 ± 16709,9	29776,3 ± 15420,8	0,126
Resistina (ng/mL)	12,7 ± 5,7	13,7 ± 7,5	0,538
PAI-1 (ng/mL)	60,3 ± 25,1	55,8 ± 22,4	0,428
Leptina (ng/mL)	23,1 ± 13,2	15,7 ± 10,6	0,011
Insulina (pg/mL)	710,4 ± 530,9	402,4 ± 254,1	0,003
Grelina (pg/mL)	61,6 ± 64,1	47,3 ± 43,2	0,485
Visfatina (pg/mL)	544,8 ± 243,0	630,4 ± 223,9	0,132
HOMA-IR	4,2 ± 2,8	2,2 ± 1,4	0,0002
IL-1β (pg/mL)	83,1 ± 187,6	8,4 ± 27,7	0,012
IL-6 (pg/mL)	70,6 ± 156,8	20,9 ± 70,7	0,073
BAFF (pg/mL)	0,13 ± 0,20	0,23 ± 0,70	0,476

\* Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão ou n (%).

SSp= síndrome de Sjögren primária; n= número de pacientes; DP= desvio padrão; PAI-1= inibidor do ativador do plasminogênio; IL-1β= interleucina-1 beta; IL-6= interleucina-6; BAFF= fator ativador das células B.

#### **4.3 Análise Multivariada de Pacientes com SSp Com e Sem Síndrome Metabólica com Ajustes Para Idade, Etnia, Uso de Prednisona, Dose Atual e Cumulativa de Prednisona, Além de Duração da Utilização**

Os pacientes com SSp com SM (n= 28) e sem SM (n= 43) também foram avaliados por análise multivariada com ajustes para idade, etnia, uso de prednisona, doses atual e cumulativa de prednisona e duração de seu uso. Esta análise confirmou que o grupo com SM teve maiores valores de pressão arterial diastólica (p= 0,010), glicemia (p= 0,045), insulina (p= 0,006), HOMA-IR (p= 0,001), LDL-C (p= 0,041), VLDL-C (p= 0,001), triglicérides (p= 0,001), leptina (p= 0,008) e IL-1β (p= 0,048) do que os pacientes sem SM. No entanto,

não houve diferenças significativas nos valores da pressão arterial sistólica ( $p=0,100$ ), IMC ( $p=0,057$ ), CA ( $p=0,051$ ), massa de gordura corporal ( $p=0,088$ ) ou nível de colesterol ( $p=0,082$ ) entre estes dois grupos.

#### **4.4 Avaliação das Correlações Lineares Entre as Citocinas Inflamatórias, Insulina, HOMA-IR e Adipocitocinas em Pacientes com SSp**

Para os pacientes com SSp, as correlações lineares foram avaliadas (dois a dois) entre os níveis séricos de IL-1 $\beta$ , IL-6 e BAFF e as concentrações de insulina, adipocitocinas e o valores do HOMA-IR. Observamos forte correlação entre IL-1 $\beta$  e insulina ( $r=0,790$ ) e correlações moderadas entre IL-1 $\beta$  e HOMA-IR ( $r=0,699$ ), bem como entre IL-6 e insulina ( $r=0,622$ ) e IL-6 e HOMA-IR ( $r=0,572$ ).

Também observamos correlações moderadas entre IMC e leptina ( $r=0,638$ ) e entre a circunferência da cintura e leptina ( $r=0,638$ ).

#### **4.5 Avaliação das Correlações Lineares com Ajuste para Idade Entre o Nível de IL-1 $\beta$ e os Critérios de SM, Insulina e HOMA-IR em Pacientes com SSp**

As correlações entre o nível de IL-1 $\beta$  com cada um dos critérios individuais de SM foram fracas (circunferência da cintura abdominal:  $r=0,165$ , triglicérides:  $r=0,099$ , HDL-colesterol:  $r=-0,107$ , pressão arterial sistólica:  $r=0,133$ , e pressão arterial diastólica:  $r=0,104$ ). A análise com ajuste para idade confirmou a forte correlação entre os níveis de IL-1 $\beta$  e insulina ( $r=0,792$ ), bem como entre IL-1 $\beta$  e HOMA-IR ( $r=0,700$ ).

#### **4.6 Avaliação das Correlações Lineares entre IL-1 $\beta$ / BAFF, Insulina, HOMA-IR e Adipocitocinas nos Grupos de Pacientes com SSp Com e Sem SM**

Estas análises confirmaram a forte correlação entre os níveis de IL-1 $\beta$ / insulina ( $r= 0,891$ ) e IL-1 $\beta$ / HOMA-IR ( $r= 0,778$ ), bem como entre a IL-6/ insulina ( $r= 0,742$ ) e IL-6/ HOMA-IR ( $r= 0,678$ ) apenas no grupo de pacientes com SSp e síndrome metabólica. Observamos também uma forte correlação entre IL-1 $\beta$ / grelina ( $r= 0,877$ ) e uma moderada correlação entre a IL-6/ grelina ( $r= 0,591$ ) apenas no grupo de pacientes com SSp e SM.

## **5 DISCUSSÃO**

O presente estudo revelou uma alta prevalência de síndrome metabólica e um perfil anormal de adipocitocinas em pacientes com SSp. Além disso, um nível sérico elevado de IL-1 $\beta$  foi observado nos pacientes com SSp e SM, sugerindo que a inflamação constitui um importante fator na patogênese desta condição clínica.

O grupo de pacientes com SSp foi comparado com mulheres saudáveis da mesma idade e raça, o que é essencial para a análise apropriada da síndrome metabólica. De fato, na população americana, observou-se uma elevada prevalência de síndrome metabólica que foi correlacionada com o aumento da idade, especialmente entre mulheres<sup>26</sup>. Além disso, as diferenças de caráter genético, idade e distribuição por sexo podem justificar a prevalência variável da SM observada entre as populações em todo o mundo<sup>27</sup>. Além disso, os grupos de pacientes e indivíduos controle neste estudo foram semelhantes em relação às frequências de menopausa e sedentarismo, que também têm sido associadas com a síndrome metabólica<sup>28</sup>.

Observou-se maior frequência de hipertensão e dislipidemia nos pacientes com SSp do que nos indivíduos do grupo controle, apesar de seus valores de IMC e da circunferência da cintura abdominal serem comparáveis. Os indivíduos controle demonstraram níveis mais elevados de colesterol total e



de LDL-C em comparação com os pacientes com pSS. No entanto, a utilização de estatinas foi significativamente maior no grupo com SSp comparado ao grupo controle, o que pode explicar estes resultados. Nossos resultados confirmam estudos anteriores que identificaram maiores prevalências de hipertensão arterial<sup>13,15</sup> e dislipidemia<sup>12-15</sup> em pacientes com SSp.

Nosso estudo também revelou que a frequência de SM foi significativamente elevada em pacientes com SSp em comparação ao grupo controle. Esta descoberta é preocupante, porque os indivíduos com síndrome metabólica têm maiores riscos de desenvolver doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2, comparados àqueles sem esta condição clínica<sup>9</sup>. De fato, altas taxas de aterosclerose assintomática<sup>29-31</sup> e de eventos cardiovasculares<sup>15,32</sup> foram relatadas em pacientes com SSp.

Os pacientes com SSp e com síndrome metabólica apresentaram maior IMC, massa de gordura corporal e valores de circunferência de cintura abdominal, refletindo obesidade central, além de maiores frequências de hipertensão e diabetes e concentrações mais elevadas de colesterol total, LDL-C, VLDL-C e triglicérides comparados aos pacientes com SSp sem SM. Além disso, níveis mais elevados de insulina e HOMA-IR foram observados no primeiro subgrupo de pacientes, sugerindo a ocorrência de resistência à insulina<sup>25</sup>.

No que diz respeito aos possíveis fatores de risco da síndrome metabólica em doenças autoimunes, o avanço na idade, maior duração da doença e baixo nível sérico da fração C3 do complemento (mas não o escore de atividade da doença) e um histórico de uso de glicocorticoide têm demonstrado estarem significativamente associados a esta complicação

clínica no lúpus eritematoso sistêmico<sup>33</sup>. Por outro lado, não observamos associação da SM com a duração da doença, envolvimento orgânico ou uso de prednisona nos pacientes com SSp. Este último achado pode ser devido à dosagem atual baixa ( $3,0 \pm 4,5$  e  $1,6 \pm 3,2$  mg/dia) e também cumulativa ( $6,7 \pm 9,2$  e  $4,1 \pm 4,7$  g) de prednisona utilizada por nossos pacientes com SSp com e sem SM, respectivamente. A este respeito, as dosagens atual ( $> 10$  mg/dia) e cumulativa ( $27,2 \pm 28,5$  vs.  $17,6 \pm 28,3$  g) de prednisona estão significativamente associadas à SM no LES<sup>34</sup>.

De forma interessante, os pacientes com SSp e SM apresentaram maiores níveis séricos de leptina e IL-1 $\beta$  do que aqueles sem SM, sugerindo a importância desta citocina pró-inflamatória no desenvolvimento da síndrome metabólica na SSp. De fato, a inflamação crônica, que é caracterizada pela produção de interleucina-1 e leptina, está associada à obesidade visceral e à resistência à insulina<sup>9</sup>. A este respeito, os monócitos circulantes de indivíduos com SM (sem doenças autoimunes associadas) produzem níveis elevados de IL-1 $\beta$ <sup>35</sup>. Além disso, a leptina tem um efeito pró-inflamatório e pode desempenhar um papel na patogênese das doenças autoimunes sistêmicas, estimulando a produção de citocinas inflamatórias<sup>11,36</sup>. As concentrações plasmáticas de leptina estão também correlacionadas com a adiposidade e a hiperleptinemia é considerada um fator independente de risco cardiovascular<sup>37</sup>.

Além disso, a análise multivariada com ajustes para idade, etnia, uso de prednisona, doses atual e cumulativa de prednisona e duração do uso reforçaram a constatação de uma pressão arterial diastólica maior e níveis mais elevados de glicose, insulina, HOMA-IR, LDL-C, triglicérides, leptina e

IL-1 $\beta$  em pacientes com SSp e SM do que nos pacientes com SSp sem SM. Portanto, a IL-1 $\beta$  parece estar associada com a síndrome metabólica na SSp. As constatações adicionais de uma forte correlação entre os níveis de IL-1 $\beta$  e insulina e uma moderada correlação entre IL-1 $\beta$  e HOMA-IR reforçam o papel potencial desta citocina pró-inflamatória na patogênese da síndrome metabólica nos pacientes com SSp. Contudo, o caráter transversal do presente estudo não permite uma conclusão definitiva sobre um efeito casual da IL-1 $\beta$  na patogênese da SM na SSp.

Alguns mecanismos podem explicar a presença do alto nível circulante da IL-1 $\beta$  nos pacientes com SSp. A secreção de IL-1 $\beta$  por células mononucleares periféricas é incrementada nestes pacientes<sup>3</sup>. Além disso, a elevada expressão da *proinflammatory cytokine high mobility group box chromosomal protein 1* (HMGB-1), um estimulador potente da secreção de IL-1 $\beta$ , foi detectada em infiltrados de células mononucleares a partir de amostras de biópsia de glândulas salivares menores de pacientes com SSp<sup>3</sup>. Os “inflamassomas”, imunorreceptores inatos que regulam a atividade da caspase-1 e induzem a inflamação em resposta a agentes infecciosos e moléculas do hospedeiro, possivelmente têm também um papel patogênico em desordens autoimunes, como a SSp<sup>38</sup>. O complexo do “inflamassoma” *P2X<sub>7</sub> receptor (P2X<sub>7</sub>R) NLRP3 (Nod-like receptor family protein 3)* estimula a secreção de IL-1 $\beta$  através da caspase ativada<sup>38</sup>. Recentemente, expressões mais elevadas de P2X<sub>7</sub>R e dos componentes do “inflamassoma” NLRP3 foram demonstrados em glândulas salivares menores de pacientes com SSp do que em indivíduos sem SSp, sugerindo que a imunidade inata poderia contribuir para a indução da inflamação nesta doença<sup>39</sup>. A este respeito, um

ensaio clínico duplo-cego randomizado controlado com placebo de bloqueio de IL-1 $\beta$  na SSp sugeriu que este tratamento pode melhorar a fadiga nestes pacientes<sup>40</sup>. No entanto, estudos futuros são necessários para avaliar esta abordagem terapêutica na SSp. É também interessante que os “inflamassomas” têm sido implicados na patogênese de transtornos metabólicos (aterosclerose, diabetes tipo 2 e obesidade)<sup>38</sup>.

No que diz respeito à correlação forte entre os níveis de IL-1 $\beta$  e grelina no grupo de pacientes com SSp e SM, é interessante que, em um modelo experimental, observou-se que, apesar da grelina estimular a ingestão de alimentos e o ganho de peso, também pode induzir a mecanismos de proteção das células para compensar os efeitos da resposta inflamatória sistêmica<sup>41</sup>. Mais estudos são necessários para avaliar esta hipótese.

A análise multivariada com ajustes para idade, etnia, uso de prednisona, doses atual e cumulativa de prednisona e duração de seu uso também revelou que o IMC, circunferência da cintura abdominal, massa de gordura corporal e níveis de colesterol total foram comparáveis nos pacientes com SSp com e sem SM. Estes resultados podem sugerir indiretamente a importância da prednisona no desenvolvimento de hipercolesterolemia e obesidade, como foi anteriormente demonstrado para pacientes com LES<sup>42</sup>.

Nosso estudo também demonstrou um perfil de adipocitocinas anormal nos pacientes com SSp, incluindo elevados níveis séricos de adiponectina e resistina comparativamente aos indivíduos controle. Curiosamente, as concentrações plasmáticas aumentadas de adiponectina

também têm sido observadas em outras doenças inflamatórias sistêmicas autoimunes, como o LES<sup>10</sup>, e em uma pequena amostra (n= 7) de pacientes com SSp<sup>16</sup>. A adiponectina tem efeitos antidiabéticos, anti-inflamatórios e antiaterogênicos<sup>11</sup>. Contudo, elevados níveis circulantes de resistina podem levar a efeitos metabólicos e pró-inflamatórios deletérios. De fato, demonstrou-se que a resistina está associada com a resistência à insulina em roedores e pode estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa), através de células mononucleares do sangue periférico em seres humanos<sup>43</sup>. Um estudo avaliou os níveis séricos e na saliva de resistina em pacientes com SSp, verificando-se concentrações elevadas apenas na saliva e que foram associados à maior intensidade da inflamação nas glândulas salivares menores<sup>44</sup>. Estes resultados sugerem que a resistina está potencialmente envolvida no processo inflamatório glandular na SSp<sup>44</sup>. Nossos achados expandem esta noção, sugerindo que a resistina pode também ser um mediador inflamatório sistêmico na SSp. A favor desta hipótese, foi demonstrado que os níveis plasmáticos de resistina estão correlacionados aos marcadores inflamatórios e são preditivos de aterosclerose coronariana nos seres humanos<sup>45</sup>.


## **6 CONCLUSÕES**

Em conclusão, nosso estudo identificou uma alta frequência de síndrome metabólica e um perfil anormal de adipocitocinas nos pacientes com SSp. A interessante associação da SM com níveis elevados de IL-1 $\beta$  sugere que esta citocina pró-inflamatória tem um papel importante em sua patogênese.

## **7 ANEXOS**



## Anexo A - Aprovação da CAPPesq




### APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 20/04/2011, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0004/11**, intitulado: "**ESTUDO DA OSTEOPOROSE E SÍNDROME METABÓLICA SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMÁRIA**", apresentado pelo Departamento de **CLÍNICA MÉDICA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Sandra Gofinet Pasoto**  
Pesquisador (a) Executante: **Kristopherson Lustosa Augusto**

CAPPesq, 25 de Abril de 2011

  
**PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO**  
Coordenador  
Comissão de Ética para Análise de  
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovidio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo – SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492  
e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

## Anexo B - Aprovação da CAPPesq do adendo ao projeto e comunicação de que o projeto será tese de doutorado



Hospital das Clínicas da FMUSP  
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa  
CAPPesq

**Nº Protocolo:** 0004/11

**Título:** ESTUDO DA OSTEOPOROSE E SÍNDROME METABÓLICA SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMÁRIA

**Pesquisador Responsável:** Sandra Gofinet Pasolo

**Pesquisador Executante:** Kristopherson Lustosa Augusto


**Finalidade Acadêmica:** Doutorado

**Departamento:** CLÍNICA MÉDICA

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 17/04/2013, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

• **Carta datada de 22.03.13 - Adendo ao projeto + Comunicação de que o projeto será doutorado de Kristopherson Lustosa Augusto + Relatório parcial do estudo**

CAPPesq, 17 de Abril de 2013

  
**PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME**  
Coordenador  
Comissão de Ética para Análise de  
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

## **8 REFERÊNCIAS**

1. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren syndrome. *CMAJ*. 2014; 186(15):E579-86.
2. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Kostov B, Sisó-Almirall A, Bosch X, Buss D, Trilla A, Stone JH, Khamashta MA, Shoenfeld Y. Google-driven search for big data in autoimmune geoepidemiology: analysis of 394,827 patients with systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2015; Apr 2 pii:S1568-9972(15)00070-1 [Epub ahead of print].
3. Roescher N, Tak PP, Illei GG. Cytokines in Sjögren's syndrome. *Oral Dis*. 2009; 15(8):519-26.
4. Chiorini JA, Cihakova D, Ouellette CE, Caturegli P. Sjögren syndrome: advances in the pathogenesis from animal models. *J Autoimmun*. 2009; 33(3-4):190-6.
5. Lavie F, Miceli-Richard C, Ittah M, Sellam J, Gottenberg JE, Mariette X. B-cell activating factor of the tumor necrosis factor family expression in blood monocytes and T cells from patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Immunol*. 2008; 67(2):185-2.

6. Dessein PH, Joffe BI, Veller MG, Stevens BA, Tobias M, Reddi K, Stanwix AE. Traditional and nontraditional cardiovascular risk factors are associated with atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2005; 32(3):435-42.
7. Sinicato NA, da Silva Cardoso PA, Appenzeller S. Risk factors in cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Curr Cardiol Rev*. 2013; 9(1):15-9.
8. Pereira RM, de Carvalho JF, Bonfá E. Metabolic syndrome in rheumatological diseases. *Autoimmun Rev*. 2009; 8(5):415-9.
9. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract*. 2014; 943162.
10. De Sanctis JB, Zabaleta M, Bianco NE, Garmendia JV, Rivas L. Serum adipokine levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2014; 42(4):272-4.
11. Guzik TJ, Mangalat D, Korbut R. Adipocytokines - Novel link between inflammation and vascular function? *J Physiol Pharmacol*. 2006; 57(4):505-8.
12. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Sisó A, Vargas A, Ros E, Bove A, Belenger R, Plaza J, Benavent J, Font J. High prevalence of serum metabolic alterations in primary Sjögren's syndrome: influence on clinical and immunological expression. *J Rheumatol*. 2007; 34(4):754-61.

13. Pérez-De-Lis M, Akasbi M, Sisó A, Diez-Cascon P, Brito-Zerón P, Diaz-Lagares C, Ortiz J, Perez-Alvarez R, Ramos-Casals M, Coca A. Cardiovascular risk factors in primary Sjögren's syndrome: a case-control study in 624 patients. *Lupus*. 2010; 19(8):941-8.
14. Juarez M, Toms TE, de Pablo P, Mitchell S, Bowman S, Nightingale P, Price EJ, Griffiths B, Hunter J, Gupta M, Bombardieri M, Sutcliffe N, Pitzalis C, Pease C, Andrews J, Emery P, Regan M, Giles I, Isenberg D, Moots R, Collins KS, Ng WF, Kitis GD; UK Primary Sjögren's Syndrome Registry. Cardiovascular risk factors in women with primary Sjögren's syndrome: United Kingdom primary Sjögren's syndrome registry results. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014; 66(5):757-64.
15. Bartoloni E, Baldini C, Schillaci G, Quartuccio L, Priori R, Carubbi F, Bini V, Alunno A, Bombardieri S, De Vita S, Valesini G, Giacomelli R, Gerli R. Cardiovascular disease risk burden in primary Sjögren's syndrome: results of a population-based multicentre cohort study. *J Intern Med*. 2015; 178(2):185-92.
16. Toussirot E, Gaugler B, Bouhaddi M, Nguyen NU, Saas P, Dumoulin G. Elevated adiponectin serum levels in women with systemic autoimmune diseases. *Mediators Inflamm*. 2010; 2010:938408.

17. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, Daniels TE, Fox PC, Fox RI, Kassan SS, Pillemer SR, Talal N, Weisman MH; European Study Group on Classification Criteria for Sjögren's Syndrome. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* 2002; 61(6):554-8.
18. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009; 120(16):1640-5.
19. Ricciardi R. Sedentarism: a concept analysis. *Nurs Forum.* 2005; 40(3):79-87.
20. Seror R, Ravaud P, Bowman SJ, Baron G, Tzioufas A, Theander E, Gottenberg JE, Bootsma H, Mariette X, Vitali C; EULAR Sjögren's Task Force. EULAR Sjogren's syndrome disease activity index: development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(6):1103-9.

21. Vandermeersch A, Ameye S, Puype D, Petitjean D, De Buyzere M, Langlois MR. Estimation of the low-density lipoprotein (LDL) subclass phenotype using a direct, automated assay of small dense LDL-cholesterol without sample pretreatment. *Clin Chim Acta*. 2010; 411(17-18):1361-6.
22. Szodoray P, Alex P, Brun JG, Centola M, Jonsson R. Circulating cytokines in primary Sjögren's syndrome determined by a multiplex cytokine array system. *Scand J Immunol*. 2004; 59(6):592-9.
23. Liu MY, Xydakis AM, Hoogeveen RC, Jones PH, Smith EO, Nelson KW, Ballantyne CM. Multiplexed analysis of biomarkers related to obesity and the metabolic syndrome in human plasma, using the Luminex-100 system. *Clin Chem*. 2005; 51(7):1102-9.
24. Ozgen M, Koca SS, Aksoy K, Dagli N, Ustundag B, Isik A. Visfatin levels and intima-media thicknesses in rheumatic diseases. *Clin Rheumatol*. 2011; 30(6):757-63.
25. Borai A, Livingstone C, Kaddam I, Ferns G. Selection of the appropriate method for the assessment of insulin resistance. *BMC Med Res Methodol*. 2011; 11:158.
26. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care*. 2004; 27(10):2444-9.



27. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2006; 33(2):351-75.
28. Polotsky HN, Polotsky AJ. Metabolic implications of menopause. *Semin Reprod Med.* 2010; 28(5):426-34.
29. Sabio JM, Sánchez-Berná I, Martínez-Bordonado J, Vargas-Hitos JA, Navarrete-Navarrete N, Expósito Ruíz M, Jiménez-Alonso J. Prevalence of and factors associated with increased arterial stiffness in patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2015; 67(4):554-62.
30. Zardi EM, Sambataro G, Basta F, Margiotta DP, Afeltra AM. Subclinical carotid atherosclerosis in elderly patients with primary Sjögren syndrome: a duplex Doppler sonographic study. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2014; 27(4):645-51.
31. Gravani F, Papadaki I, Antypa E, Nezos A, Masselou K, Ioakeimidis D, Koutsilieris M, Moutsopoulos HM, Mavragani CP. Subclinical atherosclerosis and impaired bone health in patients with primary Sjögren's syndrome: prevalence, clinical and laboratory associations. *Arthritis Res Ther.* 2015, 17(1):99.
32. Chiang CH, Liu CJ, Chen PJ, Huang CC, Hsu CY, Chan WL, Huang PH, Chen TJ, Lin SJ, Chen JW, Leu HB. Primary Sjögren's syndrome and risk of ischemic stroke: a nationwide study. *Clin Rheumatol.* 2014; 33(7):931-7.

33. Parker B, Ahmad Y, Shelmerdine J, Edlin H, Yates AP, Teh LS, Bruce IN. An analysis of the metabolic syndrome phenotype in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2011; 20(14):1459-65.
34. Negrón AM, Molina MJ, Mayor AM, Rodríguez VE, Vilá LM. Factors associated with metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus from Puerto Rico. *Lupus*. 2008; 17(4):348-54.
35. Chen X, Devaraj S. Monocytes from metabolic syndrome subjects exhibit a proinflammatory M1 phenotype. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014; 12(7):362-6.
36. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Rogoz S. Role of leptin in autoimmune diseases. *Maedica (Buchar)*. 2013; 8(1):61-74.
37. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996; 334(5):292-5.
38. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*. 2015; 21(7):677-87.
39. Baldini C, Rossi C, Ferro F, Santini E, Seccia V, Donati V, Solini A. The P2X<sub>7</sub> receptor-inflammasome complex has a role in modulating the inflammatory response in primary Sjögren's syndrome. *J Intern Med*. 2013; 274(5):480-9.

40. Norheim KB, Harboe E, Gøransson LG, Omdal R. Interleukin-1 inhibition and fatigue in primary Sjögren's syndrome--a double blind, randomised clinical trial. *PLoS One*. 2012; 7(1):e30123.
41. García-Cáceres C, Fuente-Martín E, Díaz F, Granado M, Argente-Arizón P, Frago LM, Freire-Regatillo A, Barrios V, Argente J, Chowen JA. The opposing effects of ghrelin on hypothalamic and systemic inflammatory processes are modulated by its acylation status and food intake in male rats. *Endocrinology*. 2014; 155(8):2868-80.
42. Bichile T, Petri M. Prevention and management of co-morbidities in SLE. *Presse Med*. 2014; 43(6 Pt 2):e187-95.
43. Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. The role of adipokines in connective tissue diseases. *Eur J Nutr*. 2012; 51(5):513-28.
44. Boström EA, d'Elia HF, Dahlgren U, Simark-Mattsson C, Hasséus B, Carlsten H, Tarkowski A, Bokarewa M. Salivary resistin reflects local inflammation in Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2008; 35(10):2005-11.
45. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation*. 2005; 111(7):932-39.

## **APÊNDICES**

**Apêndice A - Artigo publicado**

Augusto KL, Bonfa E, Pereira RM, Bueno C, Leon EP, Viana VS, Pasoto SG. Metabolic syndrome in Sjögren's syndrome patients: a relevant concern for clinical monitoring. Clin Rheumatol. 2016 Mar; 35(3):639-47. doi: 10.1007/s10067-015-3072-1. Epub 2015 Sep 14.

Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10067-015-3072-1>

**Apêndice D - Artigo submetido para publicação na revista  
*Rheumatology (Oxford)* (em análise)**

**Cortical bone density and thickness alterations by HR-pQCT: association with  
vertebral fractures in primary Sjögren's syndrome**

Sandra G. Pasoto (M.D., Ph.D.)<sup>1</sup>, Kristopherson L. Augusto (M.D.)<sup>1</sup>, Jackeline C. Alvarenga (M.Sc.)<sup>1</sup>, Liliam Takayama (biologist)<sup>1</sup>, Ricardo M. Oliveira (M.D.)<sup>2</sup>, Eloisa Bonfa (M.D., Ph.D.)<sup>1</sup> and Rosa M. R. Pereira (M.D., Ph.D.)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Rheumatology Division, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

<sup>2</sup>RDO Diagnósticos Médicos, São Paulo, Brazil