

VERENA ANDRADE BALBI

Nível sanguíneo de hidroxicloroquina prediz atividade de nefrite no lúpus juvenil durante 6 meses de seguimento

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

São Paulo

2024

VERENA ANDRADE BALBI

Nível sanguíneo de hidroxiclороquina prediz atividade de nefrite no lúpus juvenil durante 6 meses de seguimento

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

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientadora: Dra. Nádia Emi Aikawa

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

São Paulo

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Balbi, Verena Andrade

Nível sanguíneo de hidroxicloroquina prediz atividade de nefrite no lúpus juvenil durante 6 meses de seguimento / Verena Andrade Balbi; Nádía Emi Aikawa, orientador. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1.Lúpus eritematoso sistêmico 2.Pediatria
3.Hidroxicloroquina 4.LC-MS/MS 5.Nefrite lúpica
6.Exacerbação 7.Aderência ao tratamento I.Aikawa, Nádía Emi, orient. II.Título

USP/FM/DBD-326/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

DEDICATÓRIA

Ao meu filho, João, que ilumina meus dias com sua alegria e amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder saúde e proteção; por me guiar e permitir encontrar em minha caminhada pessoas especiais.

Aos meus pais, que são meu alicerce. A meu pai, exemplo de dedicação e perseverança, foi impossível não me influenciar por você ao observar seu amor pela medicina e especialmente, pela pediatria. Obrigada por sempre me incentivar, acreditar e confiar em mim. À minha mãe, parceira em todos os momentos, inspiração de força, fé e generosidade. Minha imensa gratidão por todos os ensinamentos, pelo carinho e apoio incondicionais em todas as minhas escolhas.

Agradeço às minhas irmãs amadas, Mariele e Poline, minhas grandes companheiras da vida. A vocês que me conhecem profundamente, que estiveram sempre a postos para me ajudar e apoiar, independentemente da distância física. Mari, sempre sensata, obrigada por todos os conselhos e por saber me acalmar com lucidez diante das minhas dúvidas e medos. À Popô, que com sua energia e astral contagiantes, sempre se fez presente e me estendeu as mãos nas horas mais necessárias.

Aos meus cunhados, Tadeu e Rafael, irmãos que a vida me deu, obrigada por todo apoio e carinho.

Ao Lucas, meu marido, amigo, conselheiro. Obrigada por me trazer paz, por ser meu suporte e me compreender tão bem. Obrigada por compartilhar comigo sonhos e planos.

Ao meu pequeno, João, que trouxe mais leveza para a vida e me mostrou o significado do amor mais puro e genuíno.

Aos meus sogros, Joaquim e Rosiane, e aos meus cunhados, Estêvão e Daniel. Obrigada por sempre vibrarem por mim. Sou grata à vida por tê-los como família.

À doce e querida Dra. Nádia, sinto-me privilegiada por tê-la como orientadora, que reúne as capacidades de ser médica, pesquisadora e ser humano excepcionais. Obrigada pela empatia e cuidado comigo logo no início do doutorado, quando passei por um momento delicado da vida. Obrigada por

me guiar e ensinar com paciência, humildade e compreensão. Obrigada por seu apoio irrestrito e por confiar em mim. Meu carinho e admiração por você são imensuráveis.

Ao professor Dr. Clovis Artur, notável pela excelência e dedicação à vida acadêmica. Seu entusiasmo pelo aprendizado, seu olhar atento aos pacientes e sua disciplina são inspiradores. Obrigada por me receber com carinho na reumatologia ICr e por transmitir com alegria tanto conhecimento.

À Professora Eloisa Bonfá, exemplo de competência, brilhantismo e liderança. Sinto-me muito honrada por participar do projeto temático e contar com sua importante colaboração na elaboração do artigo.

À Tatiana Pedrosa e a todos os profissionais envolvidos no projeto temático, que trabalharam com empenho e dedicação.

Às incríveis Dra. Lucia, Dra. Adriana e Dra. Katia. Obrigada pelo acolhimento desde a minha chegada a São Paulo, pelos conselhos em momentos de dúvidas e decisões, pelo carinho e apoio ao longo desses anos. Obrigada pela generosidade ao ensinar. Vocês são profissionais e pessoas admiráveis.

Às queridas Ana Cláudia, Tamima, Izabel, Clarissa, Glaucia, Juliana, Ana Renata, Daniela e tantos outros amigos e amigas que tive a sorte de encontrar na minha jornada pela reumatologia pediátrica. Foram muitos almoços, cafés, conversas, alegrias, dúvidas e angústias compartilhadas, momentos que guardarei com muito carinho.

À Mariza, por toda ajuda com as pesquisas bibliográficas.

Aos pacientes e seus familiares, que nos ensinam diariamente, obrigada pela confiança e por toda colaboração durante o período do estudo.

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 Annelise 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: 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas	
Lista de Figuras	
Lista de Tabelas	
Resumo	
Abstract	
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1. Lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp).....	16
1.2. Fisiopatologia.....	17
1.3. Hidroxicloroquina e LESP.....	17
1.4. Aderência e nível sanguíneo de hidroxicloroquina.....	18
2. JUSTIFICATIVA.....	21
3. OBJETIVOS.....	23
4. MÉTODOS.....	25
4.1. Desenho do estudo.....	26
4.2. Critérios de inclusão.....	26
4.3. Critérios de exclusão.....	26
4.4. Seguimento.....	27
4.5. Aderência.....	28
4.6. Avaliação da atividade do LESP.....	28
4.7. Níveis sanguíneos de hidroxicloroquina por cromatografia líquida de alta eficiência.....	28
4.8. Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS.....	30
5.1. População.....	31
5.2. Preditores de atividade da doença.....	32
5.3. Níveis sanguíneos de HCQ e risco de exacerbação da doença.....	34
5.4. Retinopatia.....	39
6. DISCUSSÃO.....	40
7. CONCLUSÕES.....	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
9. APÊNDICES.....	52
9.1. Parecer de aprovação do projeto no Comitê de Ética.....	53
9.2. Manuscrito.....	55

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

6M	6 meses
AAO	Academia Americana de Oftalmologia
ACR	Colégio Americano de Reumatologia
anti-dsDNA	Anticorpos anti-DNA dupla fita
BL	Basal
CARRA	Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance
EULAR	European League Against Rheumatism
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCQ	Hidroxicloroquina
IMC	Índice de massa corporal
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida Acoplada com Espectrometria de Massa Tandem
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LESp	Lúpus eritematoso sistêmico pediátrico
NL	Nefrite lúpica
NS	Nível sanguíneo
OCT	Tomografia de coerência óptica
ROC	Característica de Operação do Receptor
SLEDAI-2K	Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000
SLICC	Systemic Lupus International Collaborating Clinics
Th1	T helper 1
Th2	T helper 2

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Fluxograma de seleção dos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp) incluídos no estudo 31
- Figura 2- Característica de Operação do Receptor (ROC) para o nível de corte de HCQ para risco de exacerbação no lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp) com nefrite lúpica (NL) prévia..... 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Características no baseline dos 60 pacientes com nefrite lúpica (NL) com e sem exacerbação durante o seguimento...	33
Tabela 1 -	Análise de regressão logística múltipla de fatores associados a risco de exacerbação em 6 meses em 60 pacientes com nefrite lúpica (NL) estável.....	36
Tabela 3 -	Características basais de 60 pacientes com nefrite lúpica (NL) estável com níveis sanguíneos de hidroxiquina (HCQ) > 1075 ng/ml e ≤ 1075 ng/ml.....	37
Tabela 4 -	Comparação das características do flare (parâmetros do SLEDAI-2K) entre o grupo com níveis sanguíneos de hidroxiquina persistentemente baixo e o grupo flutuante/adequado.....	39

RESUMO

Balbi VA. Nível sanguíneo de hidroxiquina prediz atividade de nefrite no lúpus juvenil durante 6 meses de seguimento [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2024.

Introdução: Baixos níveis sanguíneos de hidroxiquina (HCQ) são preditores de exacerbação no lúpus eritematoso sistêmico (LES) no adulto. O lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp) tem alta morbidade com envolvimento renal em até 80% dos casos. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi determinar os níveis de corte de HCQ que predizem a exacerbação de doença no LESp com nefrite lúpica (NL). **Métodos:** Sessenta pacientes pediátricos com NL em uso de HCQ por pelo menos 6 meses foram avaliados prospectivamente em uma consulta basal (BL) e cerca de 6 meses (6M) após com relação a exacerbação do LESp e níveis sanguíneos de HCQ (ng/mL) medidos por cromatografia líquida-espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS). Atividade de doença foi definida arbitrariamente como um aumento no escore *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000* (SLEDAI-2K) ≥ 3 pontos e/ou aumento da dose de glicocorticoide ou aumento ou troca de imunossupressores por doença ativa. **Resultados:** Dezenove pacientes (32%) apresentaram exacerbação do lúpus durante o estudo, com aumento mediano do SLEDAI-2K de 4 (0-8). Os níveis sanguíneos medianos (IQR) de HCQ no BL dos pacientes do grupo com exacerbação foram menores em comparação com os pacientes que se mantiveram estáveis [557,5 (68,6–980,3) vs. 1061,9 (534,8–1590,0 ng/mL); $p=0,012$]. A análise da curva ROC demonstrou que níveis de HCQ ≤ 1075 ng/mL estavam associados a um risco aumentado de exacerbação, com uma odds ratio (OR) de 5,08 (IC 95% 1,28-20,13; $p=0,021$; sensibilidade=84,2% e especificidade=48,8%). A análise dos níveis de HCQ em 6 meses revelou que a maioria dos pacientes 24/54 (44%) apresentou níveis persistentemente baixos (≤ 1075 ng/mL) durante o acompanhamento. Dentre esses, 11/24 (46%) tiveram atividade de doença. A análise de regressão logística múltipla incluindo uso de prednisona, SLEDAI-2K inicial, aderência baseada na dispensação da medicação pela farmácia e níveis sanguíneos de HCQ no BL como possíveis preditores de exacerbação, revelou que somente o nível sanguíneo de HCQ foi independentemente associado à exacerbação durante os 6 meses de seguimento (OR 0,999, IC 95% 0,998-1,0, $p=0,013$). **Conclusão:** Demonstramos que o nível de corte de HCQ sanguíneo inferior a 1075 ng/mL prediz exacerbação em pacientes com NL de início na infância sob dose prescrita de HCQ de 4,0–5,5 mg/kg/dia. Observamos ainda

que a maioria desses pacientes tem problemas para aderir ao tratamento, reforçando a necessidade de uma maior vigilância, principalmente naqueles com níveis de HCQ abaixo do limite definido.

Palavras-chave: Lúpus eritematoso sistêmico. Pediatria. Hidroxicloroquina. LC-MS/MS. Nefrite lúpica. Exacerbação. Aderência ao tratamento.

ABSTRACT

Balbi VA. Hydroxychloroquine blood levels predicts nephritis activity in juvenile lupus during 6-month follow-up [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo”; 2024.

Introduction: Low hydroxychloroquine (HCQ) blood levels are predictors of flare in adult lupus. Childhood-onset systemic lupus erythematosus (cSLE) has high morbidity with renal involvement in up to 80% of cases. **Objective:** The aim of this study was to determine the HCQ cut-off levels which predicts flare in childhood-onset lupus nephritis (LN). **Methods:** Sixty LN pediatric patients on HCQ use for at least 6-months were prospectively evaluated at baseline (BL) visit and about 6-months (6M) later for cSLE flare and HCQ blood levels (ng/mL) measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Disease activity was arbitrarily defined as an increase in Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K) score ≥ 3 points and/or increase in glucocorticoid dose or increase or switch of immunosuppressants for active disease. **Results:** There were 19 patients (32%) with lupus activity during the study with median SLEDAI increase of 4 (0–8). Median (IQR) BL HCQ levels of the flare group were lower compared to stable patients [557.5 (68.6–980.3) vs. 1061.9 (534.8–1590.0 ng/mL); $p=0.012$]. ROC curve analysis demonstrated that HCQ levels ≤ 1075 ng/mL were associated with an increased risk of flare, with an odds ratio (OR) of 5.08 (95%CI 1.28–20.13; $p=0.021$; sensibility=84,2% and specificity=48,8%). Six-month HCQ levels revealed that most patients 24/54 (44%) had persistently low levels (≤ 1075 ng/mL) during follow-up. Among those, 11/24 (46%) had flare. Multiple logistic regression analysis including prednisone use, baseline SLEDAI-2K, adherence based on pharmacy refill and BL HCQ blood levels as possible predictors of flare revealed that just HCQ blood level was independently associated with flare during the six-month follow-up (OR 0.999, 95%CI 0.998–1.0, $p=0.013$). **Conclusions:** We demonstrated that HCQ blood cut-off level below 1075 ng/mL predicts flare in childhood-onset LN patients under prescribed HCQ dose of 4.0–5.5 mg/kg/day. We further observed that most of these patients have compliance issues reinforcing the need for a close surveillance particularly in those with HCQ levels below the defined cut-off.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. Childhood. Hydroxychloroquine. LC-MS/MS. Lupus nephritis. Flare. Treatment adherence.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp)

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença crônica autoimune e multissistêmica de curso imprevisível, que tem como marca a variabilidade de fenótipos clínicos e a produção de autoanticorpos. Em torno de 15 a 20% dos casos de lúpus tem início na infância, sendo definido como lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp) quando seu início ocorre até os 18 anos de idade (Silva, 2016; Charras et al., 2021). A incidência varia entre 0,36 a 2,5 casos a cada 100.000 crianças e adolescentes, com média de idade de início da doença aos 12 anos e predomínio no sexo feminino, na razão de 5 meninas afetadas para cada 1 menino afetado (5:1) (Klein-Gitelman et al., 2021).

O diagnóstico baseia-se no reconhecimento de características clínicas e laboratoriais específicas contempladas em critérios classificatórios, após a exclusão de diagnósticos diferenciais. Atualmente, os critérios mais extensamente utilizados são os do Colégio Americano de Reumatologia (ACR), de 1997, os critérios SLICC 2012 (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*) e os critérios EULAR (*European League Against Rheumatism*)/ACR 2019. Na prática clínica, os critérios ACR ainda são os mais frequentemente aplicados na população pediátrica. Estudos anteriores demonstram que estes têm maior especificidade quando comparado aos critérios SLICC 2012, que por sua vez, são mais sensíveis (Silva et al., 2024). Mais recentemente, um estudo comparou os três critérios e foi observada uma maior sensibilidade dos critérios EULAR/ACR 2019 em relação aos do ACR 1997, porém inferior aos critérios SLICC 2012 (Charras et al., 2021).

De forma semelhante ao lúpus nos adultos, o LESp pode afetar qualquer órgão e sistema. Porém, sua forma pediátrica tem um curso mais agressivo, com maior atividade de doença e uso de medicações imunossupressoras e glicocorticoides, o que confere importante morbidade e mortalidade, além de alto risco de dano permanente pela doença e/ou tratamento (Silva, 2016; Charras et al., 2021).

Comparados aos pacientes com LES de início na vida adulta, pacientes com LESp podem ter maior frequência de envolvimento renal, neuropsiquiátrico, hematológico, hemorragia alveolar e infecções na abertura ou na evolução da

doença (Silva, 2016). O envolvimento renal está entre as manifestações mais graves desta condição, relatado em até 80% dos pacientes com LESp (Thakral et al., 2016; Ferreira et al., 2018).

1.2. Fisiopatologia

A fisiopatologia do LES é complexa, multifatorial e envolve a desregulação das imunidades inata e adaptativa. É considerado uma doença poligênica, porém raramente ocorre na forma monogênica, como por exemplo nos defeitos do complemento. Manifesta-se em indivíduos geneticamente suscetíveis, expostos a fatores ambientais tais como: radiação ultravioleta, infecções virais, exposição hormonal, medicamentos e fatores químicos (tabaco, pesticidas, solventes, sílica, etc) (Klein-Gitelman et al., 2021).

Defeitos em mecanismos imunoregulatórios como na depuração apoptótica, com clearance prejudicado dos imunocomplexos pelos fagócitos, contribuem para o desenvolvimento do lúpus. A perda da tolerância imunológica, o aumento da carga antigênica, o excesso de células T helper, defeito na supressão de células B e a mudança da resposta das células T helper 1 (Th1) para T helper 2 (Th2), levam a hiperativação das células B e a produção de autoanticorpos patogênicos (Mok et al., 2003).

1.3. Hidroxicloroquina e LESp

Os antimaláricos são um dos pilares do tratamento do lúpus. A sua utilização está associada a um menor acúmulo de danos, provavelmente devido ao seu efeito benéfico na manutenção da remissão da doença e a uma proteção cardiovascular global ligada às suas propriedades antiplaquetárias, antitrombóticas, reguladoras de lipídeos, anti-hipertensivas e hipoglicêmicas (Abdulaziz et al., 2018; Costedoat-Chalumeau et al., 2014). O seu efeito terapêutico requer aderência adequada e este é o grande desafio a ser superado nas doenças reumáticas crônicas pediátricas (Rodriguez-Smith et al., 2019).

A hidroxicloroquina (HCQ) é o antimalárico atualmente mais utilizado no tratamento do LESp. Trata-se de uma base fraca, solúvel em água, capaz de atravessar membranas celulares, provida de polaridade devido a sua cadeia lateral de prótons. Em ambiente ácido, como o interior de lisossomos, a molécula

da HCQ é sequestrada e impedida de retornar ao citoplasma, o que leva ao seu acúmulo em diferentes tecidos, com tropismo pelo tecido muscular e baixa afinidade pelo tecido adiposo. Apesar da quantidade da medicação livre no plasma no pH fisiológico ser baixa, esta é a forma do fármaco que determina sua distribuição entre o plasma e os tecidos. Esta capacidade de depositar em diversos tecidos torna complexa a compreensão da farmacocinética da HCQ. Após depositar nos tecidos, um equilíbrio entre tecidos e plasma é atingido, denominado estado de equilíbrio estável, alcançado em torno de 3 meses. Após 30 a 60 dias, volta a ser liberada novamente no plasma, período que corresponde a sua meia-vida (Browning, 2014).

Há poucos estudos abordando especificamente o uso da HCQ em populações de lúpus pediátrico. Em 2022, foi publicado um estudo do registro *Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance (CARRA)*, que incluiu pacientes com LESp em uso de HCQ por mais de 3 meses. Foi avaliado o modelo farmacocinético e a resposta à exposição a HCQ e ao seu metabólito, desetil-hidroxicloroquina. Houve uma alta variabilidade interindividual na farmacocinética da molécula de HCQ, e a dose de HCQ baseada no peso corporal foi pouco correlacionada com as concentrações plasmáticas do medicamento. Podem ocorrer exposições subótimas aos medicamentos, particularmente em pacientes obesos (Balevic et al., 2022). A ampla variabilidade interindividual nas concentrações de HCQ aferida no sangue total ocorre provavelmente pela falta de aderência à terapia ou a diferenças na sua absorção ou metabolismo pelos indivíduos (Browning, 2014).

1.4. Aderência e nível sanguíneo de hidroxiclороquina

A aderência ao tratamento é particularmente relevante na população de LESp, com relato de aderência à HCQ limitada a aproximadamente 25% de acordo com os níveis sanguíneos do medicamento e a 32% quando avaliada segundo a contagem dos refis de farmácia (Ting et al., 2012). Em pacientes adultos, estudos mostraram aderência de apenas 49% baseada nas informações de dispensação da medicação pela farmácia (Koneru et al., 2008). A baixa aderência ao tratamento está associada ao mal controle da doença e ao aumento da mortalidade (Koneru et al., 2008).

Considerando pacientes adultos com LES, a baixa concentração de HCQ no sangue total pode predizer exacerbações da doença, como mostrado em um estudo em que níveis abaixo do ponto de corte de 1000 ng/mL foram preditivos de exacerbação sistêmica durante 6 meses de acompanhamento (Costedoat-Chalumeau et al., 2006). Em um estudo observacional retrospectivo subsequente realizado em uma população de adultos com nefrite lúpica (Cunha et al., 2018), foi observado que um nível alvo de HCQ >600 ng/mL reduziu a probabilidade de atividade renal. Este nível foi inferior ao anteriormente encontrado por Costedoat-Chalumeau et al. (2006) em pacientes lúpicos com e sem nefrite.

Recentemente, um estudo prospectivo de 7 meses com 82 pacientes adultos com nefrite lúpica (NL) sob dose estável prescrita de HCQ de acordo com a recomendação da Academia Americana de Oftalmologia-2016 (AAO) entre 4,0 e 5,5 mg/Kg/dia (Marmor et al., 2016), evidenciou um padrão sustentado de níveis sanguíneos para a maioria dos pacientes, sem um risco aumentado de exacerbação para aqueles com níveis persistentemente adequados ou flutuantes de HCQ. Por outro lado, um alto risco de exacerbação da doença foi observado em pacientes com níveis persistentemente baixos, corroborando a necessidade de um monitoramento precoce e rigoroso para esse grupo de pacientes (Pedrosa et al., 2020).

É importante ressaltar que esses pontos de corte na concentração ideal de HCQ para evitar exacerbações de doença em pacientes com lúpus no adulto podem ser distintos na população pediátrica, uma vez que a absorção e o metabolismo da droga geralmente são idade-dependentes (Matalová et al., 2016). Além disso, os processos farmacocinéticos em crianças e adolescentes são caracterizados por redução da ligação às proteínas plasmáticas, volume de líquido extracelular relativamente maior, imaturidade dos sistemas de biotransformação enzimática e desenvolvimento incompleto da barreira hematoencefálica em relação aos adultos (Matalová et al., 2016).

Recentemente, Zahr et al. (2021), mostraram uma associação das concentrações sanguíneas de HCQ com a atividade da doença em 55 pacientes com LESp em um modelo transversal retrospectivo, e foi sugerido um limiar terapêutico de 750 ng/mL. No entanto, a falta de uma avaliação prospectiva de

pacientes com LESp e de uma definição precisa de exacerbação da doença nesse estudo impossibilita a determinação de um nível de corte que identifique crianças com risco aumentado de exacerbação, particularmente aquelas com nefrite (Zahr et al., 2021).

2.JUSTIFICATIVA

Até o presente momento, não há estudos prospectivos que definam um valor de corte do nível sanguíneo de HCQ preditor de atividade na nefrite lúpica pediátrica.

Além disso, não existem dados sobre o padrão evolutivo dos níveis sanguíneos de HCQ em pacientes pediátricos com nefrite lúpica.

3.OBJETIVOS

Objetivo primário:

- Determinar o valor de corte do nível sanguíneo de HCQ preditor de exacerbação de doença em 6 meses em pacientes com LESp com nefrite.

Objetivo secundário:

- Avaliar o padrão de aderência baseado na concentração sanguínea de HCQ em pacientes com LESp e nefrite lúpica sob dose prescrita de HCQ recomendada pela AAO-2016 (até 5mg/kg/dia).

4. MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, que incluiu 60 pacientes com LESp, diagnosticados de acordo com os critérios de classificação do *American College of Rheumatology* de 1997 (Hochberg et al., 1997), acompanhados regularmente na Unidade de Reumatologia Pediátrica do Instituto da Criança e do Adolescente do Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e na Divisão de Reumatologia do Hospital das Clínicas - FMUSP no período de julho de 2017 a julho de 2019 .

Para avaliação dos níveis sanguíneos de HCQ, foram coletadas amostras de sangue de pacientes em uso de HCQ há pelo menos 6 meses na visita basal (BL) e cerca de 6 meses após.

4.2. Critérios de inclusão

- Diagnóstico de LESp (idade < 18 anos) de acordo com os Critérios de Classificação do *American College of Rheumatology* de 1997 (Hochberg et al., 1997);
- Diagnóstico confirmado de nefrite lúpica [definida como proteinúria persistente maior que 0,5 g/dia (ou > 3+ se a quantificação não for realizada) ou cilindros celulares (podendo ser hemáticos, hemoglobina, granulares, tubulares ou mistos) ou confirmação por biópsia renal] (Hochberg et al., 1997; Gladman et al., 2002);
- Idade até 21 anos;
- Estar sob dose oral prescrita estável de HCQ de acordo com a AAO-2016 (entre 4,0 e 5,5 mg/Kg/dia) por pelo menos 6 meses (MARMOR et al., 2016).

4.3. Critérios de exclusão

- Doença renal crônica (taxa de filtração glomerular estimada <60 mL/min/1,73 m² durante um período ≥3 meses, com base na *National Kidney Foundation - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*) (National Kidney Foundation, 2002; Schwartz et al., 2009) e/ou diálise;
- Insuficiência hepática ou cardíaca;

- Uso atual de medicamentos que interagem com HCQ (antiácidos, digoxina e tamoxifeno) (Pedrosa et al., 2020);
- Gravidez.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Um termo de consentimento livre e esclarecido e um termo de assentimento foram obtidos de todos os pacientes e/ou seus guardiões legais, no caso de pacientes com até 18 anos incompletos.

Aprovação no Comitê de Ética

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética: CAAE 39705014.6.0000.0068).

4.4. Seguimento

Os parâmetros demográficos e socioeconômicos dos pacientes (Kamakura et al., 2016), dados clínicos, laboratoriais e de tratamento, além dos níveis sanguíneos de HCQ (logo antes da próxima ingestão da dose) foram obtidos em duas visitas: BL e cerca de 6 meses (6M) após o início do estudo. A pontuação do *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000* (SLEDAI-2K) (Gladman et al., 2002) foi avaliada em cada visita e a qualquer momento se o paciente apresentasse exacerbação na atividade de doença.

O status demográfico foi identificado com base nos critérios de classificação econômica do Brasil (Kamakura et al., 2016). Alto nível demográfico foi classificado como classes A, B1 ou B2. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado como peso em quilogramas dividido pelo quadrado da altura em metros (kg/m^2) e os pacientes com escore $z > +1$ do IMC para idade e sexo foram classificados como sobrepeso/obesidade (Flegal et al., 2006).

A avaliação laboratorial incluiu: hemograma completo, função renal, urinálise e relação proteína/creatinina na urina, níveis de complemento C3 e C4 (imunoturbidimetria) e anticorpos anti-DNA dupla fita (anti-dsDNA) detectados por imunofluorescência indireta usando *Crithidia luciliae* como substrato,

coletados no BL e nas visitas subsequentes. Os tratamentos concomitantes também foram registrados. A avaliação oftalmológica, incluindo tomografia de coerência óptica (OCT), foi realizada para avaliar sinais de retinopatia por HCQ.

4.5. Aderência

A aderência dos pacientes ao uso da HCQ foi avaliada com base nas informações de dispensação da medicação pela farmácia durante o seguimento. Foi definida pela razão entre o número de doses da medicação dispensada pela farmácia sobre o número de doses prescritas durante o tempo entre a primeira visita do estudo e a última visita. Os pacientes foram considerados não aderentes à HCQ quando menos de 80% da medicação prescrita lhes foi dispensada (Ting et al., 2012).

4.6. Avaliação da atividade do LESp

A atividade de doença foi definida arbitrariamente como um aumento no escore SLEDAI-2K ≥ 3 pontos e/ou aumento da dose de glicocorticoide ou aumento ou troca de imunossupressores por doença ativa (Pedrosa et al., 2020).

4.7. Níveis sanguíneos de hidroxicloroquina por cromatografia líquida de alta eficiência

O nível sanguíneo (NS) de HCQ foi determinado por Cromatografia Líquida Acoplada com Espectrometria de Massa Tandem (LC-MS/MS). As medições de HCQ foram realizadas em amostras de sangue total obtidas durante o acompanhamento. As amostras de sangue foram coletadas antes da próxima dose em tubos de heparina (BD Vacutainers) e armazenadas a -80°C até a análise. Elas foram processadas e analisadas no Laboratório de Bioquímica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, conforme metodologia descrita anteriormente (Pedrosa et al., 2020).

O limite inferior de detecção do método foi de 53,45 ng/mL e o limite superior, de 2137,8 ng/mL.

4.8. Análise estatística

O tamanho da amostra de 60 pacientes forneceu um poder de 71% para encontrar diferenças significativas de 30% nas taxas de exacerbação de doença entre pacientes com níveis sanguíneos adequados e níveis baixos de HCQ, considerando um erro alpha de 0,05. As variáveis categóricas foram apresentadas em número (porcentagem) e comparadas pelo teste exato de Fisher. As variáveis contínuas foram apresentadas como média \pm desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil 25% - 75%) e comparadas pelo teste t de Student bilateral ou teste U de Mann-Whitney, respectivamente. As concentrações de HCQ no BL que poderiam prever exacerbação de doença durante o período de seguimento foram determinadas por uma curva de Característica de Operação do Receptor (ROC) (gráfico de sensibilidade versus um menos especificidade). Os padrões evolutivos dos níveis sanguíneos de HCQ também foram avaliados de acordo com o valor de corte preditor de exacerbação encontrado na análise da curva ROC. Tais padrões foram definidos como: persistentemente adequado (níveis de HCQ entre o BL e 6M sempre acima do valor de corte), persistentemente baixo (níveis de HCQ entre o BL e 6M sempre abaixo do valor de corte) e flutuante. Realizou-se análise de regressão logística múltipla utilizando a presença de exacerbação de doença como variável dependente e, como variáveis independentes, NS de HCQ no BL, uso de prednisona, SLEDAI-2K no BL e aderência baseada na dispensação da medicação pela farmácia. O teste de McNemar foi usado para avaliar as diferenças das frequências de pacientes com níveis sanguíneos de HCQ adequados e baixos entre as avaliações realizadas no BL e ao final do estudo. Os níveis de HCQ ajustados pelo tempo foram comparados entre os pacientes com e sem exacerbação durante o período do estudo, usando a seguinte fórmula: $[(6M - BL)/2] + BL$, cálculo baseado em princípios farmacocinéticos. A significância estatística foi estabelecida em um valor de $p < 0,05$.

5.RESULTADOS

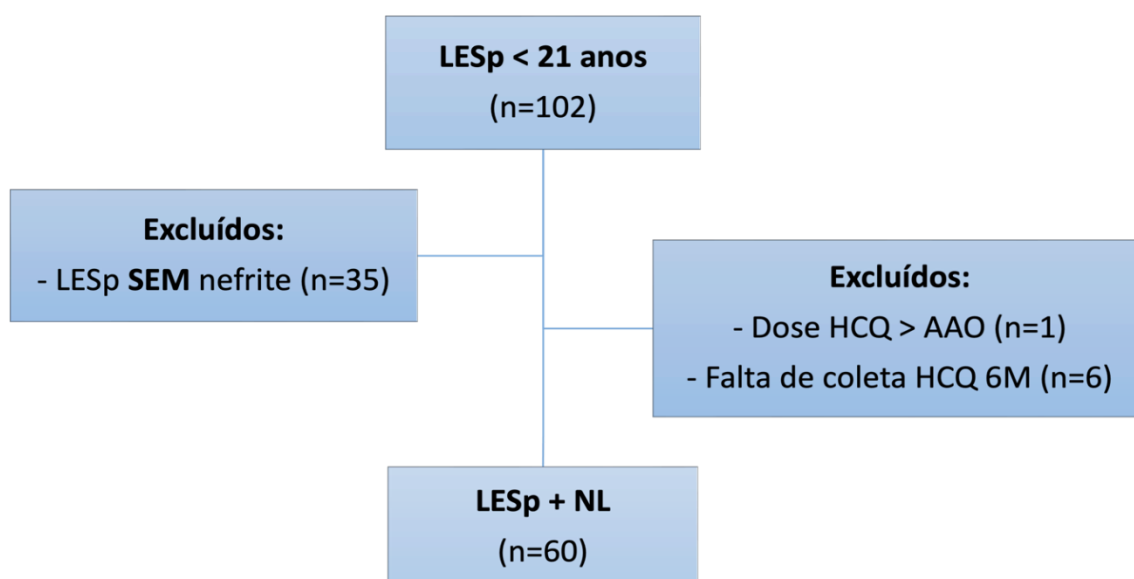
5.1. População

Inicialmente, foram selecionados 102 pacientes com diagnóstico de LESp e idade inferior a 21 anos. Destes, foram excluídos 35 pacientes sem NL. Posteriormente, também foram excluídos mais 7 pacientes: 1 porque estava em uso de dose de HCQ acima do recomendado pela AAO e os demais pois não realizaram a coleta do NS de HCQ após 6 meses de estudo (Figura 1).

Dessa forma, foram incluídos 60 pacientes com LESp e NL prévia, sob dose oral prescrita estável de HCQ (4,0-5,5 mg/kg/dia) por mais de 6 meses. Quarenta e oito pacientes (80%) eram do sexo feminino, com média de idade de $16,6 \pm 3,1$ anos, média do SLEDAI-2K de $3,8 \pm 4,2$ e duração média da doença de $5,5 \pm 3,7$ anos. Nenhum paciente declarou ser tabagista no momento do início do estudo.

A comparação do NS de HCQ no BL dos pacientes com idade maior que a média do grupo estudado (16,6 anos) com os pacientes com idade inferior a esta média, não resultou em significância estatística [845,8 (IQR 165,5-1518,2) vs. 931,5 (IQR 366,6-1281) ng/mL, $p = 0,982$].

Figura 1 - Fluxograma de seleção dos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp) incluídos no estudo



5.2. Preditores de atividade da doença

Dezenove pacientes (32%) experimentaram exacerbação da doença durante o período de seguimento com uma mediana de 5,8 (1,6–9,8) meses. Estes pacientes apresentaram as seguintes manifestações: anticorpos anti-dsDNA (n=16), hipocomplementemia (n=11), leucocitúria (n=6), hematúria (n=3), leucopenia (n=5), erupção cutânea (n=3), artrite (n=3), proteinúria >0,5 g/dia (n=3), cilindros urinários (n=2), alopecia (n=4), pericardite (n=1), úlceras mucosas (n=1) e vasculite cutânea (n=2).

A comparação dos pacientes com NL com e sem exacerbação ao final do período de estudo, mostrou que o primeiro grupo apresentou uma mediana do nível sanguíneo de HCQ no BL mais baixa [557,5 (IQR 68,6–980,3) vs. 1061,9 (IQR 534,8–1590) ng/mL, $p = 0,012$]. Não houve diferenças nos dados demográficos, parâmetros iniciais da doença e tratamento concomitante em ambos os grupos (Tabela 1).

Tabela 1 - Características no baseline dos 60 pacientes com nefrite lúpica (NL) com e sem exacerbação durante o seguimento

	Com exacerbação (n= 19)	Sem exacerbação (n= 41)	p
Dados demográficos			
Idade atual, anos	16,3 ± 3,1	16,8 ± 3,2	0,557
Sexo feminino	14 (74)	33 (80)	1,000
Não-Caucasiano	11 (58)	14 (34)	0,098
IMC, Kg/m ²	24,2 ± 4,3	24,5 ± 4,9	0,820
Número de anos escolares	10 (8-12)	12 (9-12)	0,146
Classe socioeconomica A/B1/B2	8 (42)	20 (49)	0,782
Hidroxicloroquina (HCQ)			
Dose de HCQ, mg/Kg/dia	4,8 ± 0,5	4,6 ± 0,5	0,170
Dose cumulativa de HCQ, Kg	609,3 ± 443,1	551,2 ± 338,7	0,583
Concentração sanguínea de HCQ, ng/mL	557,5 (68,6–980,3)	1061,9 (534,8-1590,0)	0,012
Duração de uso de HCQ, anos	4 (1,7-6,5)	5 (2,5-6,2)	0,660
Aderência < 80%*	8 (42)	18 (44)	1,000
Parâmetros de doença			
Duração de doença, anos	5,1 ± 3,9	5,6 ± 3,6	0,620
SLEDAI-2K	2 (1,3 - 6)	2 (0 - 4)	0,622
Hipocomplementemia	7 (37)	10 (24)	0,365
Anti-dsDNA positivo	10 (53)	12 (29)	0,094
Creatinina, mg/dL	0,61 (0,53 - 0,66)	0,66 (0,54 - 0,74)	0,236
TFG, mL/min/1,73m ²	166,1 (144,1 - 182,8)	153,2 (134,7 - 197,6)	0,525
Relação proteína/creatinina urina, g/g	0,1 (0,06 – 0,2)	0,16 (0,08 – 0,42)	0,164
Hemoglobina, g/dL	12,5 ± 1,2	12,8 ± 1,4	0,570
Leucocitos, x 10 ³	5,07 (4,15 – 6,15)	5,75 (4,7 – 6,9)	0,078
Linfócitos, x 10 ³	1,36 (1,13 – 1,95)	1,52 (1,19 – 1,92)	0,679
Plaquetas, x 10 ³	247 ± 74	247 ± 80	1,000
Tratamento concomitante			
Prednisona	12 (63)	24 (59)	0,784
Dose atual, mg/dia	7,5 (3,8 – 15)	10 (6,9 - 20)	0,268
Azatioprina	5 (26)	9 (22)	0,750
Micofenolato mofetil	11 (58)	28 (68)	0,562
Ciclofosfamida	0 (0)	1 (2)	1,000
Ciclosporina	1 (5)	0 (0)	0,317
Metotrexate	0 (0)	2 (5)	1,000
Rituximabe	1 (5)	2 (5)	1,000

Os resultados são expressos em média ± SD, mediana (IQR 25% - 75%) e n (%), IMC - índice de massa corporal, SLEDAI-2K - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*.

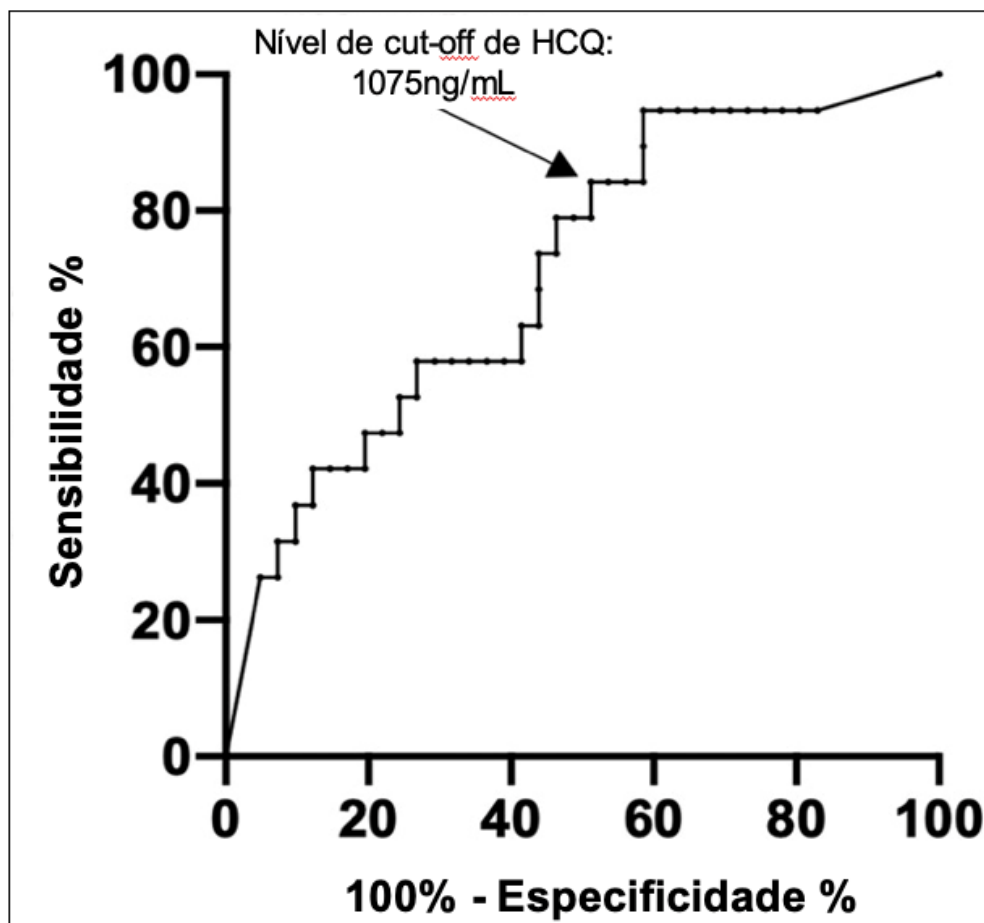
* Relação entre o número de doses de medicamentos retiradas na farmácia ambulatorial e o número de doses prescritas durante o tempo entre a primeira visita do estudo e a última visita.

Encontramos uma aderência média à HCQ de 81% nos 60 pacientes estudados, segundo as informações de dispensação da medicação pela farmácia durante o seguimento. A comparação dos pacientes não aderentes, ou seja, com dados de dispensação de HCQ pela farmácia < 80%, foi semelhante em pacientes com e sem exacerbação da doença durante o seguimento no estudo (42% vs. 44%, $p=1.000$) (Tabela 1).

5.3. Níveis sanguíneos de HCQ e risco de exacerbação da doença

Foi realizada uma análise da curva ROC que determinou o valor de corte do nível sanguíneo de HCQ no BL que poderia prever exacerbação da atividade de doença nos meses seguintes (Figura 2). Um valor de corte de 1075 ng/mL forneceu uma sensibilidade de 84,2% e especificidade de 48,8% com OR = 5,08 (IC 95% 1,28-20,13, $p=0,021$) para prever exacerbação. A área média sob a curva ROC foi de $0,712 \pm 0,071$ (IC 95% 0,573-0,851, $p=0,009$). A frequência de exacerbação foi significativamente menor em pacientes com níveis sanguíneos de HCQ no BL adequados (>1075 ng/mL) em comparação com aqueles com níveis baixos de HCQ no BL (≤ 1075 ng/mL) [3/23 (13%) vs. 16/37 (43%), $p=0,022$].

Figura 2 - Característica de operação do receptor (ROC) para o nível de corte de HCQ para risco de exacerbação no lúpus eritematoso sistêmico pediátrico (LESp) com nefrite lúpica (NL) prévia



Estimativa da curva ROC da sensibilidade e especificidade da concentração de hidroxicloroquina (HCQ) para risco de exacerbação durante o período de seguimento de 6 meses em 60 pacientes com LEsp. O nível sanguíneo de corte de HCQ é mostrado pela seta.

Uma análise de regressão logística múltipla, incluindo o uso de prednisona no BL, SLEDAI-2K no BL, aderência baseada na dispensação da medicação pela farmácia durante o período de estudo e NS de HCQ no BL como possíveis preditores de exacerbação revelou que apenas o NS de HCQ foi um fator de risco independente significativo para exacerbação (OR 0,999, IC 95% 0,998-1,0, $p=0,013$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Análise de regressão logística múltipla de fatores associados a risco de exacerbação em 6 meses em 60 pacientes com nefrite lúpica (NL) estável

	OR	95% CI	p
Prednisona no BL	0,732	0,204 – 2,624	0,632
SLEDAI-2K no BL	0,986	0,857 – 1,134	0,841
Aderência < 80%*	1,210	0,335 – 4,373	0,771
Níveis sanguíneos de HCQ no BL	0,999	0,998 – 1,0	0,013

* Relação entre o número de doses de medicamentos retiradas na farmácia ambulatorial e o número de doses prescritas durante o tempo entre a primeira visita do estudo e a última visita.

Dados do BL de 37 pacientes com NS de HCQ ≤ 1075 ng/mL e 23 pacientes com níveis > 1075 ng/mL foram posteriormente comparados (Tabela 3). O IMC médio ($23,4 \pm 4,3$ vs $25,9 \pm 4,9$ Kg/m², $p=0,043$), bem como a dose oral média de HCQ ($4,5 \pm 0,4$ vs $4,9 \pm 0,5$ mg/Kg/dia, $p=0,003$) foram significativamente menores no primeiro grupo. Além disso, pacientes com níveis sanguíneos de HCQ ≤ 1075 ng/mL tiveram contagem de leucócitos significativamente mais baixa [$5,07$ ($4,16-5,8$) vs. $6,74$ ($5,43-8,29$) $\times 10^3/\text{mm}^3$, $p=0,002$], assim como a contagem de linfócitos [$1,35$ ($1,07-1,88$) vs. $1,64$ ($1,41-2,06$) $\times 10^3/\text{mm}^3$, $p=0,047$]. Outros parâmetros laboratoriais e o tratamento imunossupressor concomitante no início do estudo foram semelhantes em ambos os grupos ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Características basais de 60 pacientes com nefrite lúpica (NL) estável com níveis sanguíneos de hidroxicloroquina (HCQ) > 1075 ng/ml e ≤1075 ng/ml

	HCQ sanguínea ≤ 1075 ng/ml (n=37)	HCQ sanguínea > 1075 ng/ml (n=23)	p
Dados demográficos			
Idade atual, anos	16,5 ± 3,3	16,8 ± 3	0,750
Sexo feminino	29 (78)	19 (83)	0,752
Não-Caucasiano	15 (41)	10 (43)	1,000
IMC, Kg/m ²	23,4 ± 4,3	25,9 ± 4,9	0,043
Sobrepeso/Obesidade ⁺	17 (46)	13 (57)	0,596
Número de anos escolares	11 (8-12)	12 (9-12)	0,361
Classe socioeconomica A/B1/B2	21 (57)	9 (43)	0,414
Hidroxicloroquina (HCQ)			
Dose de HCQ, mg/Kg/dia	4,5 ± 0,4	4,9 ± 0,5	0,003
Dose cumulativa de HCQ, Kg	377,7 (213,7 - 736,4)	571,8 (327,9 - 744,6)	0,483
Duração de uso de HCQ, anos	4,4 ± 3	4,4 ± 2,3	0,994
Aderência < 80%*	14 (38)	12 (52)	0,298
Parâmetros de doença			
Duração de doença, anos	5,6 ± 4,1	5,2 ± 2,8	0,691
SLEDAI-2K	2 (0 - 4,5)	4 (0 - 5,5)	0,579
Hipocomplementemia	10 (27)	7 (30)	0,777
Anti-dsDNA positivo	15 (41)	7 (30)	0,583
Creatinina, mg/dL	0,63 ± 0,17	0,68 ± 0,19	0,333
TFG, mL/min/1,73m ²	159,2 ± 33,7	169,2 ± 47,3	0,339
Relação proteína/creatinina urina, g/g	0,1 (0,06 - 0,29)	0,26 (0,08 - 0,38)	0,074
Hemoglobina, g/dl	12,6 ± 1,5	12,9 ± 1,2	0,391
Leucócitos x 10 ³	5,07 (4,16 - 5,8)	6,74 (5,43 - 8,29)	0,002
Linfócitos x 10 ³	1,35 (1,07 - 1,88)	1,64 (1,41 - 2,06)	0,047
Plaquetas x 10 ³	236 ± 83	264 ± 65	0,182
Tratamento concomitante			
Prednisona	21 (57)	15 (65)	0,594
Dose atual, mg/dia	7,5 (7,2 - 16,3)	10 (5,0 - 20)	0,822
Azatioprina	9 (24)	5 (22)	1,000
Micofenolato mofetil	26 (70)	13 (57)	0,404
Ciclofosfamida	0 (0)	1 (4)	0,383
Ciclosporina	1 (3)	0 (0)	1,000
Metotrexate	2 (5)	0 (0)	0,519
Rituximabe	2 (5)	1 (4)	1,000

Os resultados são expressos em média ± SD, mediana (IQR 25% - 75%) e n (%), IMC - índice de massa corporal, SLEDAI-2K - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*.

⁺ Sobrepeso e/ou obesidade classificados de acordo com os escores z de IMC para a idade da Organização Mundial da Saúde

* Relação entre o número de doses de medicamentos retiradas na farmácia ambulatorial e o número de doses prescritas durante o tempo entre a primeira visita do estudo e a última visita.

Conseguimos realizar um monitoramento prospectivo dos NS de HCQ em 54 pacientes com visitas para avaliações clínicas e coletas do estudo completas por cerca de 6 meses, demonstrando uma concentração geral estável de HCQ do BL até a avaliação final. Considerando o monitoramento dos níveis sanguíneos de HCQ, o padrão de aderência baseado nestes níveis foi classificado em três grupos: persistentemente baixo, flutuante e persistentemente adequado. Havia 12/54 (22%) pacientes com níveis persistentemente adequados de HCQ, 24/54 (44%) com níveis persistentemente baixos e 18/54 (33%) com níveis flutuantes de HCQ ($p=0,480$). Destaca-se que a maioria dos pacientes (77%) apresentou níveis flutuantes/persistentemente baixos durante o seguimento. Entre aqueles com níveis persistentemente baixos, 11/24 (46%) tiveram exacerbação de doença durante este período. Uma frequência significativamente maior de exacerbações foi observada em pacientes com níveis de HCQ persistentemente baixos em comparação com aqueles com níveis de HCQ flutuantes/persistentemente adequados [11/24 (46%) vs. 5/30 (17%), $p= 0,035$].

A comparação dos tipos de exacerbação entre os pacientes com LESp com níveis persistentemente baixos de HCQ e níveis de HCQ flutuantes/adequados revelou uma predominância comparável de anticorpos anti-dsDNA positivos, atividade renal e hipocomplementemia em ambos os grupos ($p>0,05$). A maior frequência de atividade renal no grupo persistente baixo (55% vs. 25%) não atingiu significância estatística ($p=0,352$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação das características do flare (parâmetros do SLEDAI-2K) entre o grupo com níveis sanguíneos de hidroxicloroquina persistentemente baixo e o grupo flutuante/adequado

	Persistentemente baixo (n=11)	Flutuante/Adequado (n=8)	P
Anti-dsDNA positivo	9 (82)	7 (88)	1,000
Renal*	6 (55)	2 (25)	0,352
Leucocitúria	4 (36)	0 (0)	0,103
Leucopenia	3 (27)	2 (25)	1,000
Hematúria	2 (18)	1 (13)	1,000
Proteinúria	1 (9)	2 (25)	0,546
Cilindros urinários	1 (9)	1 (13)	1,000
Hipocomplementemia	5 (45)	6 (75)	0,352
Mucocutaneo	3 (27)	5 (63)	0,181
Alopecia	1 (9)	3 (38)	0,262
Rash malar	1 (9)	2 (25)	0,546
Úlceras de mucosa	0 (0)	1 (13)	0,421
Vasculite cutanea	1 (9)	1 (13)	1,000
Artrite	2 (18)	1 (13)	1,000
Pericardite	0 (0)	1 (13)	0,421

Os resultados são expressos em n (%).

*Renal inclui hematúria, proteinúria, leucocitúria e/ou cilindros urinários; SLEDAI-2K - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*.

Os níveis sanguíneos de HCQ ajustados pelo tempo foram significativamente menores em pacientes com exacerbação durante o estudo comparados com pacientes estáveis ($653,1 \pm 477,1$ vs $987,4 \pm 523,6$ ng/mL, $p=0,031$). No entanto, os níveis de HCQ ajustados pelo tempo foram comparáveis entre pacientes com e sem aderência a HCQ $<80\%$ com base na dispensação pela farmácia [$667,1$ ($242,4-1557,5$) vs $849,8$ ($480,4-1210,9$) ng/mL, $p=0,869$]. Além disso, não houve correlação entre os níveis sanguíneos de HCQ ajustados pelo tempo e a aderência ($r=0,12$, $p=0,386$).

5.4. Retinopatia

Quarenta e um pacientes com LESp foram submetidos à avaliação oftalmológica com OCT durante o seguimento. Um deles (2,4%) apresentava retinopatia não associada à HCQ.

6.DISSCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo a demonstrar a associação de baixas concentrações sanguíneas de HCQ e risco de exacerbação em 6 meses em pacientes com LESp com NL. Também demonstramos que mais da metade dos pacientes pediátricos têm padrão de aderência abaixo do ideal com base nos níveis sanguíneos de HCQ.

A HCQ é um agente antimalárico administrado a quase todos os pacientes com LES adulto ou pediátrico. A atual dose recomendada pela AAO é limitada a prescrição de 5 mg/kg/dia (Marmor et al., 2016) com o objetivo de reduzir a toxicidade retiniana, o que pode ser particularmente benéfica para a população pediátrica por seu uso precoce e de longa duração.

A principal vantagem do presente estudo é o desenho prospectivo que permite uma avaliação mais precisa das exacerbações da doença, sua associação com os NS de HCQ no BL e o padrão evolutivo dos NS de HCQ. Os rigorosos critérios de inclusão resultaram em um grupo homogêneo de pacientes com NL, uma condição de interesse bem conhecida devido às altas taxas de morbidade e mortalidade em populações de lúpus pediátrico (Thakral et al., 2016; Rodriguez-Smith et al., 2019).

Com este desenho de estudo, definimos pela primeira vez que o NS de HCQ ≤ 1075 ng/mL no BL é o melhor ponto de corte para predizer exacerbações em pacientes pediátricos com NL. Esse nível foi superior ao relatado para a população adulta com NL (Cunha et al., 2018; Pedrosa et al., 2020) e semelhante aos 1000 ng/mL relatados para a população geral de adultos com LES (Costedoat-Chalumeau et al., 2006; Costedoat-Chalumeau et al., 2013).

A frequência de exacerbação de doença em nossos pacientes com LESp foi de 32%, maior do que a mostrada anteriormente em pacientes adultos com LES (12%) (Costedoat-Chalumeau et al., 2006) e em pacientes adultos com NL estáveis sob a dose de HCQ pela AAO-2016 (11%) (Pedrosa et al., 2020). Em consonância com esse achado, o lúpus de início na infância tem maior frequência de envolvimento renal, neurológico e hematológico e atividade geral da doença em comparação com adultos (Malattia et al., 2013). Interessante notar que pacientes pediátricos com NL e com níveis persistentemente baixos de HCQ e aqueles com níveis flutuantes/adequados da medicação tiveram taxas semelhantes dos diferentes tipos de flare neste estudo. No entanto, exacerbação

renal ocorreu em mais da metade dos pacientes com níveis baixos de HCQ em comparação com apenas 25% no outro grupo. Essa diferença, no entanto, não alcançou significância estatística, provavelmente devido ao pequeno tamanho da amostra e pode sugerir que as recidivas da nefrite lúpica sejam o principal risco para pacientes com LESp com níveis reduzidos de HCQ. Esse achado reforça a necessidade de estratégias para melhorar a aderência ao tratamento, identificada como o fator mais importante para as taxas de atividade de doença apresentadas na população de lúpus pediátrico (Rapoff, 2006).

Estudos prévios sobre determinantes das concentrações sanguíneas de HCQ no LES em adultos demonstraram que a dose diária por quilograma de HCQ estava associada ao NS da droga (Pedrosa et al., 2021), como também observado aqui. No entanto, uma correlação inversa entre os níveis de HCQ e o IMC foi relatada na população adulta (Jallouli et al., 2015) de forma semelhante a um relato retrospectivo recente em pacientes com LESp mostrando que o IMC elevado foi significativamente associado a baixas concentrações sanguíneas de HCQ. Entretanto, como apenas 3 dos 55 pacientes tinham IMC >30 kg/m², o estudo não teve poder para avaliar a influência do peso corporal na farmacocinética do HCQ (Zahr et al., 2021). Esses dados contrastam com nossos achados de níveis elevados de HCQ no LESp com IMC mais alto. Isso poderia sugerir um padrão de volume de distribuição diferente do antimalárico na população pediátrica.

Vale ressaltar que o IMC não é uma ferramenta adequada para avaliação da gordura corporal, pois pode ser interpretado de forma diferente de acordo com a idade e o sexo. Na realidade, as frequências de sobrepeso/obesidade de acordo com a idade e o escore z do IMC ajustado ao sexo foram semelhantes em pacientes com níveis sanguíneos de HCQ acima ou abaixo do ponto de corte definido.

Contagens mais altas de leucócitos e linfócitos também foram associadas a níveis sanguíneos mais altos de HCQ em nossos pacientes com LESp. Esses achados já haviam sido relatados na população adulta, possivelmente indicando o papel dessas células imunes como alvos para acúmulo da droga e transporte para os tecidos inflamados (Jallouli et al., 2015; Raghoobar et al., 1986)

Nós fornecemos novas evidências sobre o padrão dos NS de HCQ em 6 meses em pacientes pediátricos com NL. Menos de um quarto de nossos pacientes apresentavam medidas de HCQ no sangue constantemente acima do limiar satisfatório, uma frequência inferior a relatado para adultos (Pedrosa et al., 2020). Os demais pacientes apresentavam níveis persistentes baixos/flutuantes, confirmando problemas de aderência nesta população. É importante notar que a análise desses padrões evolutivos de NS revelou uma frequência maior de exacerbações naqueles com níveis persistentes baixos de HCQ (46%) em comparação com pacientes com pelo menos uma medida adequada em um período de 6 a 9 meses (17%). Esse achado pode implicar na necessidade de monitoramento mais rigoroso da aderência nesse grupo de pacientes.

A retinopatia é uma preocupação importante em pacientes com LESp, especialmente naqueles expostos a HCQ por cinco anos ou mais (Marmor et al., 2016). A avaliação de 41 pacientes com LESp que realizaram OCT neste estudo não mostrou maculopatia relacionada a HCQ, provavelmente devido à exposição à curto prazo a esta droga.

Uma maior frequência de exacerbações foi observada em pacientes com lúpus pediátrico com níveis de HCQ persistentemente adequados em comparação ao relatado anteriormente em adultos (17% vs. 5%), apesar do uso de doses semelhantes de prednisona oral (7,5 mg/dia) (Pedrosa et al., 2020). Esse achado sugere que outros fatores, como um curso da doença mais grave do que a observada na NL de início na idade adulta, limitações atuais no monitoramento da atividade da NL (Smith et al., 2019), baixa aderência a outros medicamentos (glicocorticoide e imunossupressor) podem ser responsáveis pelo agravamento da doença em crianças e adolescentes.

De fato, altas taxas de exacerbações são geralmente observadas no seguimento do LESp, principalmente com acometimento renal. Aggarwal et al. (2018), demonstraram 25% de exacerbação renal em uma população LESp provenientes de um país em desenvolvimento que foram acompanhados por uma mediana de 3,5 anos, sem avaliação da influência dos NS de HCQ.

A literatura a respeito da aderência ao tratamento no LESp ainda é escassa, com muitas inferências provenientes de estudos realizados em adultos. Nessa população, estudos demonstram que a não aderência à medicação

prescrita varia entre 43 a 75% (Semo-Oz et al., 2022). Nosso estudo encontrou uma alta frequência de não aderência à HCQ, ao considerarmos não aderentes os pacientes com níveis sanguíneos flutuantes/persistentemente baixos da medicação (78%). Em adolescentes e adultos jovens com LESp, a taxa de aderência avaliada por múltiplos métodos também foi elevada (65%) (Semo-Oz et al., 2022).

Diversos fatores levam a não aderência ao tratamento no LESp. Um estudo recente incluiu a percepção dos pacientes e cuidadores em relação a vida com lúpus e destacou, do ponto de vista dos pacientes, a falta de percepção de melhoria dos sintomas diários, elevado número de comprimidos, efeitos colaterais, esquecimento, baixa educação sobre medicamentos e/ou sabor. Por sua vez, os cuidadores relataram frustração em tentar fazer com que os adolescentes compreendessem o impacto da medicação (Harry et al., 2020).

Dessa forma, a aplicação sistemática na prática clínica de ferramentas que auxiliam no reconhecimento dos motivos para não aderir ao tratamento, como uso de questionários auto-dirigidos, poderia ser uma medida útil para melhorar a aderência de crianças e adolescentes com LESp ao tratamento. Além disso, idealmente, realizar a avaliação da concentração sanguínea de fármacos imunossupressores prescritos concomitantemente propiciaria uma avaliação mais precisa da influência da HCQ e de outros imunossupressores na ocorrência de flare.

7.CONCLUSÕES

-
- Demonstramos que um nível de corte de HCQ no sangue abaixo de 1075 ng/mL prediz uma exacerbação em 6 meses em pacientes com nefrite lúpica pediátrica sob a dose prescrita de HCQ de 4–5,5 mg/kg/dia (peso real);
 - O risco de flare é 5 vezes maior em pacientes com nível basal de HCQ abaixo do valor de corte;
 - Menos de um quarto dos pacientes com nefrite lúpica pediátrica apresentaram concentrações sanguíneas de HCQ constantemente acima do limiar satisfatório. Os demais pacientes apresentavam níveis persistentes baixos/flutuantes. A maioria desses pacientes apresenta problemas de aderência, reforçando a necessidade de uma vigilância rigorosa, principalmente naqueles com níveis persistentemente abaixo do limite definido.

8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdulaziz N, Shah AR and McCune WJ. Hydroxy- chloroquine: balancing the need to maintain therapeutic levels with ocular safety: an update. *Curr Opin Rheumatol*. 2018;30:249-55.

Aggarwal A, Phatak S, Srivastava P, Lawrence A, Agarwal V, Misra R. Outcomes in juvenile onset lupus: single center cohort from a developing country. *Lupus*. 2018 Oct;27(11):1867-75.

Balevic SJ, Randell R, Weiner D, Beard C, Schanberg LE, Hornik CP, Cohen-Wolkowicz M, Gonzalez D; with the CARRA Registry investigators. Pharmacokinetics of hydroxychloroquine in paediatric lupus: data from a novel, direct-to-family clinical trial. *Lupus Sci Med*. 2022;9(1):e000811.

Browning DJ. Pharmacology of chloroquine and hydrox- ychloroquine. In: *Hydroxychloroquine and Chloroquine Retinopathy*. New York, NY: Springer; 2014. p.35-63.

Charras A, Smith E, Hedrich CM. Systemic Lupus Erythematosus in Children and Young People. *Curr Rheumatol Rep*. 2021 Feb 10;23(3):20.

Costedoat-Chalumeau N, Amoura Z, Hulot JS, Hammoud HA, Aymard G, Cacoub P, Francès C, Wechsler B, Huong du LT, Ghillani P, Musset L, Lechat P, Piette JC. Low blood concentration of hydroxychloroquine is a marker for and predictor of disease exacerbations in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2006 Oct;54(10):3284-90.

Costedoat-Chalumeau N, Dunogué B, Morel N, Le Guern V, Guettrot-Imbert G. Hydroxychloroquine: a multifaceted treatment in lupus. *Presse Med*. 2014 Jun;43(6 Pt 2):e167-80.

Costedoat-Chalumeau N, Galicier L, Aumaître O, Francès C, Le Guern V, Lioté F, Smail A, Limal N, Perard L, Desmurs-Clavel H, Boutin du LT, Asli B, Kahn JE, Pourrat J, Sailler L, Ackermann F, Papo T, Sacré K, Fain O, Stirnemann J, Cacoub P, Jallouli M, Leroux G, Cohen-Bittan J, Tanguy ML, Hulot JS, Lechat P, Musset L, Amoura Z, Piette JC; Group PLUS. Hydroxychloroquine in systemic lupus erythematosus: results of a French multicentre controlled trial (PLUS Study). *Ann Rheum Dis*. 2013 Nov;72(11):1786-92.

Cunha C, Alexander S, Ashby D, Lee J, Chusney G, Cairns TD, Lightstone L. Hydroxychloroquine blood concentration in lupus nephritis: a determinant of disease outcome? *Nephrol Dial Transplant*. 2018 Sep 1;33(9):1604-10.

Ferreira JCOA, Trindade VC, Espada G, Morel Z, Bonfá E, Magalhães CS, Silva CA. Epidemiology and management practices for childhood-onset systemic lupus erythematosus patients: a survey in Latin America. *Clin Rheumatol*. 2018 Dec;37(12):3299-307.

Flegal KM, Tabak CJ, Ogden CL. Overweight in children: definitions and interpretation. *Health Educ Res*. 2006 Dec;21(6):755-60.

Gladman DD, Ibañez D and Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29:288-91.

Harry O, Crosby LE, Mara C, Ting TV, Huggins JL, Modi AC. Feasibility and acceptability of an innovative adherence intervention for young adults with childhood-onset systemic Lupus Erythematosus. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2020 Apr 26;18(1):36

Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997 Sep;40(9):1725.

Jallouli M, Galicier L, Zahr N, Aumaître O, Francès C, Le Guern V, Lioté F, Smail A, Limal N, Perard L, Desmurs-Clavel H, Le Thi Huong D, Asli B, Kahn JE, Pourrat J, Sailler L, Ackermann F, Papo T, Sacré K, Fain O, Stirnemann J, Cacoub P, Leroux G, Cohen-Bittan J, Sellam J, Mariette X, Blanchet B, Hulot JS, Amoura Z, Piette JC, Costedoat-Chalumeau N; Plaquenil Lupus Systemic Study Group. Determinants of hydroxychloroquine blood concentration variations in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2015 May;67(8):2176-84.

Kamakura W, Mazzon JA. Brazilian Criteria 2015 and social class distribution update for 2016. *Estratificação Socioeconômica e Consumo no Brasil*. São Paulo: Editora Blucher; 2016. 6p.

Klein-Gitelman MS, Beresford MW. Systemic lupus erythematosus, mixed connective tissue disease, and undifferentiated connective tissue disease. In: Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, Wedderburn LR, Mellins ED, Fulhridge RC. *Textbook of Pediatric Rheumatology*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021. p.295-329.

Koneru S, Kocharla L, Higgins GC, Ware A, Passo MH, Farhey YD, Mongey AB, Graham TB, Houk JL, Brunner HI. Adherence to medications in systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol*. 2008 Aug;14(4):195-201.

Malattia C, Martini A. Paediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013 Jun;27(3):351-62.

Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Melles RB, Mieler WF; American Academy of Ophthalmology. Recommendations on Screening for Chloroquine and Hydroxychloroquine Retinopathy (2016 Revision). *Ophthalmology*. 2016 Jun;123(6):1386-94.

Matalová P, Urbánek K, Anzenbacher P. Specific features of pharmacokinetics in children. *Drug Metab Rev*. 2016;48(1):70-9.

Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol*. 2003;56(7):481-90.

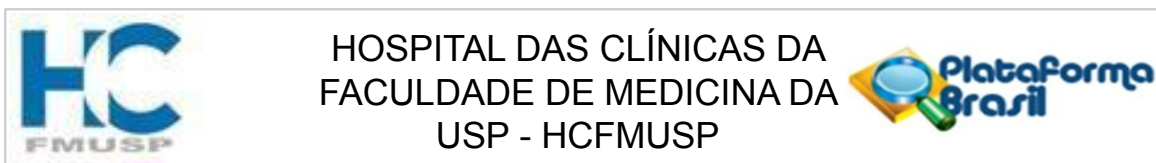
National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*. 2002;39(suppl1):S1-S266.

Pedrosa T, Kupa LVK, Pasoto SG, Aikawa NE, Borba EF, Duarte NJ, Leon EP, Silva CA, Bonfá E. The influence of obesity on hydroxychloroquine blood levels in lupus nephritis patients. *Lupus*. 2021 Apr;30(4):554-59.

- Pedrosa TN, Pasoto SG, Aikawa NE, Yuki EF, Borba EF, Filho JCF, Carricondo PC, Zanetti CB, Conde PG, Duarte NJ, Fontoura N, Romano P, Carvalho VM, Silva CA, Bonfa E. Understanding the dynamics of hydroxychloroquine blood levels in lupus nephritis. *Lupus*. 2020 May;29(6):560-8.
- Raghoobar M, Peeters PA, van den Berg WB, van Ginneken CA. Mechanisms of cell association of chloroquine to leucocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1986 Jul;238(1):302-6.
- Rapoff MA. Management of adherence and chronic rheumatic disease in children and adolescents. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006 Apr;20(2):301-14.
- Rodriguez-Smith J, Brunner HI. Update on the treatment and outcome of systemic lupus erythematosus in children. *Curr Opin Rheumatol*. 2019 Sep;31(5):464-70.
- Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, Furth SL. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009 Mar;20(3):629-37.
- Semo-Oz R, Wagner-Weiner L, Edens C, Zic C, One K, Saad N, Teshler M. Adherence to medication by adolescents and young adults with childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2022 Oct;31(12):1508-1515.
- Silva CA, Aikawa NE, Bonfa E. Updates in the care and management of children and adolescents with systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2024 Sep 1;36(5):315-21.
- Silva CA. Childhood-onset systemic lupus erythematosus: early disease manifestations that the paediatrician must know. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016 Sep;12(9):907-10.
- Smith EMD, Eleuteri A, Goilav B, Lewandowski L, Phuti A, Rubinstein T, Wahezi D, Jones CA, Marks SD, Corkhill R, Pilkington C, Tullus K, Putterman C, Scott C, Fisher AC, Beresford MW. A Markov Multi-State model of lupus nephritis urine biomarker panel dynamics in children: Predicting changes in disease activity. *Clin Immunol*. 2019 Jan;198:71-78.
- Thakral A, Klein-Gitelman MS. An Update on Treatment and Management of Pediatric Systemic Lupus Erythematosus. *Rheumatol Ther*. 2016 Dec;3(2):209-19.
- Ting TV, Kudalkar D, Nelson S, Cortina S, Pendl J, Budhani S, Neville J, Taylor J, Huggins J, Drotar D, Brunner HI. Usefulness of cellular text messaging for improving adherence among adolescents and young adults with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2012 Jan;39(1):174-9.
- Zahr N, Urien S, Funck-Brentano C, Vantomme H, Garcelon N, Melki I, Boistault M, Boyer O, Bader-Meunier B. Evaluation of Hydroxychloroquine Blood Concentrations and Effects in Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Mar 17;14(3):273.

9.APÊNDICES

9.1. Parecer de aprovação do projeto no Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA RELEVÂNCIA DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE DROGAS UTILIZADAS EM DOENÇAS AUTOIMUNES REUMATOLÓGICAS NO ACOMPANHAMENTO DA SEGURANÇA/EFICÁCIA DA TERAPIA, ATIVIDADE DE DOENÇA E ADERÊNCIA À TERAPÊUTICA

Pesquisador: ELOISA SILVA DUTRA DE OLIVEIRA BONFA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 39705014.6.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 940.610

Data da Relatoria: 27/01/2015

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que será desenvolvido em nosso centro, onde a proposta dos pesquisadores será avaliar a importância dos níveis sanguíneos de drogas usadas em doenças reumáticas autoimunes. É composto por subprojetos de acordo com a medicação que será avaliada. O projeto apresenta relevância na área da saúde e seus resultados serão importantes para a prática clínica e também na implantação de novas técnicas para apoio diagnóstico.

Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores apresentam como proposta a avaliação da relevância dos níveis sanguíneos de drogas utilizadas em doenças reumáticas autoimunes no que se refere ao acompanhamento da segurança/eficácia do tratamento, atividade de doença e aderência à terapêutica. Serão realizadas avaliações em duas técnicas – cromatografia de alta eficiência (HPLC) e eletroforese capilar. Ainda o estudo será dividido em sete seções com seus respectivos subprojetos, de acordo com a medicação avaliada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O protocolo clínico não apresenta riscos para o sujeito da pesquisa.

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

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

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



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 940.610

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto com alto custo , mas está sendo financiado por agência de fomento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termos de apresentação obrigatória estão adequados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

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.

SAO PAULO, 29 de Janeiro de 2015

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

9.2. Manuscrito

Este artigo foi publicado online na revista Lupus em 2022.

Link para acesso: <https://doi.org/10.1177/09612033211062515>