



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

Daniela Esteves Temporim

**Associação entre parâmetros hematológicos e manifestações
clínicas da Esclerose Sistêmica**

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestrado em
Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Cintia Zumstein Camargo

Botucatu

2025

DANIELA ESTEVES TEMPORIM

**Associação entre parâmetros hematológicos e manifestações clínicas da
Esclerose Sistêmica**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP Botucatu para ingresso no Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica, curso de Mestrado Acadêmico, na linha de pesquisa de Aspectos Fisiopatológicos, Diagnósticos, Clínicos e Terapêuticos de Doenças em Medicina Interna.

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Zumstein Camargo

Botucatu

2025

T288a

Temporim, Daniela Esteves

Associação entre parâmetros hematológicos e manifestação clínicas da Esclerose Sistêmica / Daniela Esteves Temporim. -- Botucatu, 2025

66 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientador: Cintia Zumstein Camargo

1. Medicina. 2. Reumatologia. 3. Colagenose. 4. Escleroderma sistêmico. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa utiliza exames hematológicos simples e acessíveis para auxiliar na identificação precoce de complicações da esclerose sistêmica. Os achados podem contribuir para o aperfeiçoamento do cuidado em saúde, formação profissional, redução de custos e avanço científico e social.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research uses simple and accessible hematological tests to assist in the early identification of complications of systemic sclerosis. The findings may contribute to the improvement of healthcare, professional training, cost reduction, and scientific and social advancement.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE DANIELA ESTEVES TEMPORIM, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 16 dias do mês de julho do ano de 2025, às 14h, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de DANIELA ESTEVES TEMPORIM, intitulada **ASSOCIAÇÃO ENTRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA ESCLEROSE SISTÊMICA**, sob orientação da Profa. Dra. Cintia Zumstein Camargo. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. CINTIA ZUMSTEIN CAMARGO (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Depto. de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. ANDREA TAVARES DANTAS (Participação Virtual) do(a) Depto. de Medicina Clínica / CCM/Recife - UFPE, Profa. Dra. KEILA CORREIA DE ALCÂNTARA (Participação Virtual) do(a) Faculdade de Farmácia / FF/Goiânia - UFG. Após a exposição pela mestrandia e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Profa. Dra. CINTIA ZUMSTEIN CAMARGO

RESUMO

Introdução: Marcadores hematológicos, como relação monócito/HDL (RMH), relação neutrófilo/linfócito (RNL), relação plaqueta/linfócito (RPL), RDW e índice imunoinflamatório sistêmico (IIS), podem representar uma ferramenta útil e de baixo custo para avaliação de inflamação em indivíduos com esclerose sistêmica (ES). **Objetivos:** Comparar índices hematológicos em indivíduos com ES e em indivíduos sem doença reumatológica imunomediada. Estudar parâmetros hematológicos nas manifestações cutâneas, pulmonares e vasculares periféricas em indivíduos com ES. **Materiais e métodos:** Valores dos índices hematológicos de 57 pacientes com ES em acompanhamento no Ambulatório de Conectivopatias e de 61 pacientes, sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada, em seguimento nos Ambulatórios de Fibromialgia e Osteoartrite/Miofascial do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu foram colhidos entre janeiro e maio de 2024. Os dados foram colhidos via prontuário eletrônico, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. **Resultados:** Os valores RMH, RNL, RPL e IIS foram mais elevados em indivíduos com ES quando comparados aos pacientes sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada. No grupo de pacientes com ES, aqueles com maior grau de espessamento cutâneo apresentaram maiores valores de RMH, RNL, RDW e IIS, e a presença de úlceras e/ou microcicatrizes de polpa digital associou-se a maior RPL. Houve associação entre RMH e acometimento pulmonar nos pacientes com ES sem associação com outras doenças reumatológicas. **Conclusão:** Pacientes com ES apresentam maior atividade inflamatória quando comparados com pacientes sem doença reumatológica imunomediada. Os índices RMH, RNL, RPL, RDW e IIS apresentam associação com acometimentos cutâneo, pulmonar e vascular periférico em pacientes com ES.

Palavras – chave: esclerose sistêmica; relação monócito-lipoproteína de alta densidade; relação neutrófilo-linfócito; relação plaqueta-linfócito; amplitude de distribuição dos eritrócitos; índice imunoinflamatório sistêmico; biomarcador.

ABSTRACT

Introduction: Hematological biomarkers such as the monocyte-to-high-density lipoprotein ratio (MHR), neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), red cell distribution width (RDW), and systemic immune-inflammation index (SII) have emerged as accessible and cost-effective indicators of systemic inflammation in individuals with systemic sclerosis (SSc). **Objectives:** To compare hematological indices in patients with SSc and in individuals without immune-mediated rheumatic diseases. To assess the association between hematological parameters and cutaneous, pulmonary, and peripheral vascular manifestations in patients with SSc. **Materials and methods:** Hematological indices were obtained from 57 patients with SSc followed at the Connective Tissue Disease Clinic of the University Hospital, Botucatu Medical School – UNESP, and 61 individuals without a diagnosis of immune-mediated rheumatic disease, followed at the Fibromyalgia and Osteoarthritis/Myofascial Pain Clinics of the same institution, between January and May 2024. Data were collected from electronic medical records following approval by the Research Ethics Committee. **Results:** MHR, NLR, PLR, and SII values were higher in the SSc group compared to individuals without immune-mediated rheumatic diseases. Among patients with SSc, those with greater skin thickening showed higher MHR, NLR, RDW, and SII values. The presence of digital ulcers and/or pitting scars was associated with elevated PLR. MHR was significantly associated with pulmonary involvement in SSc patients without overlap syndromes. **Conclusion:** Patients with SSc exhibit greater inflammatory activity compared to individuals without immune-mediated rheumatic diseases. The hematological indices MHR, NLR, PLR, RDW, and SII are associated with cutaneous, pulmonary, and peripheral vascular involvement in patients with SSc.

Keywords: systemic sclerosis; monocyte-to-high-density lipoprotein ratio; neutrophil-to-lymphocyte ratio; platelet-to-lymphocyte ratio; red cell distribution width; systemic immune-inflammation index; biomarker

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tríade da Esclerose Sistêmica.....	13
Figura 2 – Fisiopatologia da Esclerose Sistêmica.....	29
Figura 3 – Correlação entre mRSS e parâmetros hematológicos nos pacientes com ES.....	33
Figura 4 – Correlação entre CVF (%) e parâmetros hematológicos nos pacientes com ES	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados clínico-laboratoriais dos pacientes com ES e grupo controle	31
Tabela 2 – Comparação dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES e controles e entre pacientes com ES com e sem sobreposição com outras doenças reumatológicas imunomediadas.....	32
Tabela 3 – Parâmetros hematológicos em pacientes com ES de acordo com o grau de acometimento cutâneo	35
Tabela 4 – Parâmetros hematológicos em pacientes com ES de acordo com a extensão de DPI na TC de tórax e com o grau de acometimento da CVF	36
Tabela 5 – Parâmetros hematológicos em pacientes com ES com e sem acometimento vascular periférico	39
Tabela 6 – Proporção de padrões de CPU em pacientes com ES de acordo com a forma cutânea.....	40
Tabela 7 – Valores dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES com os padrões SD precoce, ativo e tardio na CPU.....	43
Tabela 8 – Valores dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES em uso de HCQ e sem uso de HCQ.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACA	Anticorpo Anticentrômero
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ANCA	<i>Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody</i>
AR	Artrite Reumatoide
CRE	Crise Renal Esclerodérmica
CVF	Capacidade Vital Forçada
CPU	Capilaroscopia Periungueal
DLCO	<i>Diffusing Capacity of Carbon Monoxide</i>
DPI	Doença Pulmonar Intersticial
DRIM	Doença Reumatológica Imunomediada
DSj	Doença de Sjögren
EA	Espondiloartrite
ePSAP	<i>estimated Pulmonary Systolic Artery Pressure</i>
ES	Esclerose Sistêmica
EULAR	<i>European Alliance of Associations for Rheumatology</i>
FAN	Fator Antinúcleo
FRy	Fenômeno de Raynaud
HAP	Hipertensão Arterial Pulmonar
HDL	<i>High-Density Lipoprotein cholesterol</i>
HCQ	Hidroxicloroquina
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IIS	Índice Imunoinflamatório Sistêmico
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
MHR	<i>Monocyte-to-High-density lipoprotein Ratio</i>
MII	Miopatias Inflamatórias Imunomediadas
MHR	<i>Monocyte-lymphocyte ratio</i>

mPAP	<i>mean Pulmonary Artery Pressure</i>
mRSS	<i>modified Rodnan Skin Score</i>
m.s ⁻¹	metros por segundo
NLR	<i>Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio</i>
PINE	Pneumonia Intersticial Não Específica
PIU	Pneumonia Intersticial Usual
PCR	Proteína C-Reativa
PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PLR	<i>Platelet-to-Lymphocyte Ratio</i>
RDW	<i>Red cell Distribution Width</i>
RMH	Relação Monócito/HDL
RNL	Relação Neutrófilo/Linfócito
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RPL	Relação Plaqueta/Linfócito
SII	<i>Systemic Immune-inflammation Index</i>
TC	Tomografia Computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor-beta</i>
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
TRV	<i>Tricuspid Regurgitation Velocity</i>
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
VHS	Velocidade de Hemossedimentação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Esclerose sistêmica.....	13
1.2 Relação monócito-lipoproteína de alta densidade.....	17
1.3 Relação neutrófilo-linfócito	21
1.4 Relação plaqueta-linfócito	22
1.5 Amplitude de distribuição dos eritrócitos	23
1.6 Índice imunoinflamatório sistêmico	23
 2. JUSTIFICATIVA	 24
 3. OBJETIVOS.....	 26
3.1 Objetivo primário	26
3.2 Objetivos secundários.....	26
 4. MATERIAL E MÉTODOS	 26
4.1 Casuística e aspectos éticos	26
4.2 Coleta de dados	28
 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	 29
 6. RESULTADOS.....	 30
6.1 Dados demográficos e clínicos.....	30
6.2 Parâmetros hematológicos nos grupos ES e controle	32
6.3 Acometimento cutâneo e parâmetros hematológicos	33

6.4 Acometimento pulmonar e parâmetros hematológicos	36
6.5 Acometimento vascular periférico e parâmetros hematológicos.....	39
6.6 Acometimentos cutâneos, pulmonar e vascular periférico e CPU	40
6.7 Demais variáveis clínico-laboratoriais e parâmetros hematológicos.....	42
 7. DISCUSSÃO	44
 8. CONCLUSÃO	51
 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

1. INTRODUÇÃO

1.1 ESCLEROSE SISTÊMICA

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença autoimune complexa, crônica e de curso progressivo, apresentando grande diversidade de apresentações clínicas. É mais frequente na população feminina, com um pico de incidência entre a terceira e a quinta décadas de vida (1). Dados epidemiológicos referentes à ES apresentam grande variabilidade, com uma prevalência estimada entre 30 e 300 indivíduos acometidos por um milhão de pessoas adultas (2). Dados da população brasileira são escassos, contudo, um estudo realizado em Campo Grande encontrou taxas de incidência de 11,9 pacientes por milhão de habitantes por ano e de prevalência de 105,6 por milhão de habitantes (1, 3).

A fisiopatologia caracteriza-se pela tríade: alterações vasculares, desregulação da imunidade inata e adaptativa e fibrose de pele e órgãos internos, como demonstrado na Figura 1. Além do acometimento cutâneo marcante, o envolvimento visceral (pulmão, coração, rins e trato gastrointestinal), geralmente, determina o desfecho clínico do paciente (1, 4).

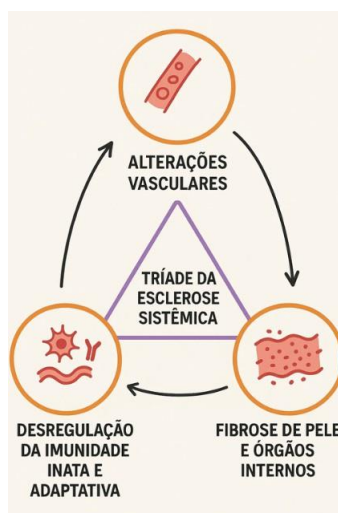


Figura 1. Tríade da Esclerose Sistêmica.

Fonte: Adaptado de Denton CP, Khanna D. 2017

O fenômeno de Raynaud ocorre em mais de 95% dos pacientes com ES. Frequentemente, é o primeiro sinal da doença, secundário à alteração vasomotora, autolimitada e reversível, determinando mudança da coloração dos dedos, lábios, orelhas, nariz e língua. Este fenômeno pode cursar com complicações, como úlceras digitais (ativas ou cicatrizadas - *digital pitting scars*), gangrena e amputação dos dedos (5, 6).

O espessamento cutâneo é um sinal marcante da ES, que pode cursar com prurido de difícil tratamento e até limitação funcional, causando impacto na qualidade de vida. Esta manifestação geralmente inicia-se nos dedos e no dorso das mãos, com posterior progressão para outros sítios. São descritas três fases de envolvimento cutâneo: edematosa, inflamatória e atrófica. A extensão da fibrose cutânea pode ser quantificada utilizando-se o escore cutâneo de Rodnan modificado (mRSS - *modified Rodnan skin score*). Além do espessamento, aproximadamente 25% dos pacientes com ES desenvolverão calcinose cutânea (1, 5, 6, 7, 8).

O envolvimento pulmonar é a principal causa de mortalidade associada à ES. Trata-se de uma manifestação relativamente comum em exames de imagem, encontrada até mesmo em indivíduos assintomáticos. O acometimento pulmonar pode ocorrer tanto por lesão parenquimatosa (doença pulmonar intersticial - DPI) quanto por lesão vascular (hipertensão arterial pulmonar - HAP). Os padrões mais comuns de DPI são pneumonia intersticial não específica (PINE) e pneumonia intersticial usual (PIU). Alterações parenquimatosas são clinicamente significativas em cerca de 40% dos pacientes. Já a HAP ocorre em aproximadamente 15% dos indivíduos acometidos pela doença (1, 6, 7).

A HAP pode levar ao acometimento cardíaco secundário, com aumento da pressão em câmaras cardíacas direitas, determinando hipertrofia e dilatação do ventrículo direito, insuficiência tricúspide e insuficiência cardíaca direita. Contudo, existe a possibilidade de acometimento primário, decorrente das alterações fisiopatológicas da doença. O processo de microangiopatia, inflamação e fibrose no tecido cardíaco podem provocar isquemia miocárdica, alteração do sistema de condução, pericardite e miocardite. A disfunção diastólica é a manifestação cardíaca mais comum da ES (1, 6, 7).

As complicações secundárias ao acometimento do trato gastrointestinal estão presentes em 90% dos pacientes com ES, podendo ocorrer em qualquer momento durante o curso da doença. Na ES podem ocorrer disfunção neural, atrofia e fibrose da musculatura lisa, alterando a peristalse intestinal e o relaxamento do esfíncter esofágico inferior, levando a sintomas dispépticos e disfagia. O trato gastrointestinal baixo é acometido em aproximadamente 50% dos pacientes, apresentando associação com aumento de morbidade e mortalidade. As manifestações mais comuns são supercrescimento bacteriano, alteração da absorção intestinal, constipação, diarreia, pseudo-obstrução intestinal recorrente e incontinência fecal (1, 5, 6, 7).

O envolvimento musculoesquelético na ES é comum e ocorre em 65% dos pacientes (1). Contudo, em virtude da gravidade do acometimento visceral, esta manifestação pode não ser percebida. Em alguns casos, a avaliação do edema e da amplitude de movimento articulares pode ser prejudicada pelo espessamento dérmico e edema subcutâneo. Pacientes com ES podem apresentar artralgia, artrite erosiva, miopatia e fricção tendínea (*tendon friction rubs*), este constituindo-se um sinal de mau prognóstico da doença (5).

Com relação ao envolvimento renal, a crise renal esclerodérmica (CRE) é uma das manifestações mais graves, ocorrendo em aproximadamente 5% dos pacientes. A CRE é caracterizada por hipertensão arterial de início abrupto, retinopatia grau III ou IV, derrame pericárdico, cefaleia, encefalopatia e perda acelerada da função renal. A mortalidade decorrente desta complicação reduziu consideravelmente após a introdução dos inibidores da enzima conversora de angiotensina (5, 7).

Quase todos os pacientes com ES apresentam anticorpos circulantes altamente específicos direcionados a componentes nucleares e nucleolares intracelulares. Apesar da importância diagnóstica desses anticorpos ser bem estabelecida, seu papel na patogênese e no dano tecidual ainda não é completamente conhecido. Anticorpos anticentrômero (ACA), anti-topoisomerase I (anti-Scl70) e anti-RNA-polimerase III são encontrados em grupos distintos de pacientes com ES

e sua presença está geralmente associada ao envolvimento cutâneo e visceral e à gravidade da doença (1, 5).

O diagnóstico da ES é clínico-laboratorial. Em 2013, critérios foram propostos pelo EULAR (*European Alliance of Associations for Rheumatology*) e ACR (*American College of Rheumatology*) para classificação de pacientes com a doença, levando em consideração as manifestações clínicas e os achados de exames complementares. Os critérios classificatórios estão retratados no Quadro 1 (4, 9). Para classificação dos indivíduos com ES segundo esses critérios considera-se também a capilaroscopia periungueal (CPU), que representa um método não invasivo de avaliação da microcirculação. Na CPU são avaliados parâmetros como arquitetura, morfologia, organização capilar, densidade e dimensão capilar, micro-hemorragias, capilares em arbusto (ramificados) e áreas avasculares. O padrão SD (*scleroderma pattern*) caracteriza-se por dilatação capilar e perda capilar em graus variados, e é frequentemente encontrado em pacientes com ES. Classicamente, o padrão SD pode ser classificado em ativo, precoce ou tardio, de acordo com estudos prévios (6).

Quadro 1 – Critérios classificatórios para Esclerose Sistêmica do 2013 ACR/EULAR

Item	Subitem	Valor
Espessamento cutâneo dos dedos das mãos, proximal às articulações metacarpofalângicas		9
Espessamento cutâneo dos dedos	Distal às articulações metacarpofalângicas	4
	Edema das mãos	2
Lesões de polpa digital	Úlceras digitais	2
	Microcicatrices	3
Fenômeno de Raynaud		3
Autoanticorpos específicos para ES (ACA, anti-RNA polimerase III e anti-Scl70)		3
Telangiectasias		2
Capilaroscopia periungueal alterada		2
Hipertensão arterial pulmonar ou doença intersticial pulmonar		2

Fonte: Adaptado de Van Den Hoogen, F *et al.* 2013

Os pacientes com ES podem ser subdivididos em duas formas cutâneas, limitada e difusa, de acordo com a extensão do acometimento da pele (10).

O Quadro 2 mostra as características clínicas e laboratoriais dessas duas formas principais. Menos de 5% dos pacientes com ES apresentam a forma *sine scleroderma* ou sem pele, em que não há envolvimento cutâneo, mas apresentam manifestações viscerais. Alguns indivíduos com ES podem apresentar sobreposição com outras doenças reumatológicas imunomediadas, como Doença de Sjögren (DSj), miopatias inflamatórias imunomediadas (MII), Artrite Reumatoide (AR) e Lúpus Eritematoso Sistêmico (11).

Quadro 2 - Achados clínico-laboratoriais das principais formas cutâneas de ES

ES forma cutânea limitada • Esclerose cutânea distal em extremidades e face; • História de fenômeno de Raynaud de longa duração; • Hipertensão arterial pulmonar e acometimento grave do trato gastrointestinal; • Maior frequência de anticorpos anticentrômero.
ES forma cutânea difusa • Esclerose cutânea com comprometimento proximal dos membros ou do tronco; • Curta história de fenômeno de Raynaud; • Elevada frequência de fibrose pulmonar grave; • Envolvimento cardíaco; • Crise renal esclerodérmica; • Maior frequência de anticorpos anti-topoisomerase I (anti-Scl70).

Fonte: Adaptado de Denton CP, Khanna D. 2017

1.2 RELAÇÃO MONÓCITO-LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE

Os eventos iniciais da fisiopatologia da ES são representados por injúria microvascular e ativação de células endoteliais, gerando dano vascular (1). A lesão vascular progressiva leva à rarefação dos capilares, espessamento da parede dos vasos sanguíneos e estreitamento luminal, resultando em hipóxia tecidual e estresse oxidativo. As células endoteliais ativadas amplificam a expressão de moléculas de adesão celular, como E-selectina, ICAM-1 (*intercellular adhesion*

molecule 1) e VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*), atraindo diversas células do sistema imunológico para o sítio de lesão (12). Dentre as células recrutadas neste processo, destacam-se os monócitos, que são fagócitos sanguíneos com capacidade de se transformar em macrófagos teciduais. Os monócitos ativos atuam no processo fisiopatológico por meio da secreção de TGF-beta (*transforming growth factor beta*), um importante mediador pró-fibrótico responsável pela ativação dos fibroblastos. Ademais, estas células podem interagir com o endotélio danificado, potencializando a expressão das moléculas de adesão celular e de citocinas pró-inflamatórias (13, 14). A fisiopatologia da doença esta representada, de forma simplificada, na Figura 2.

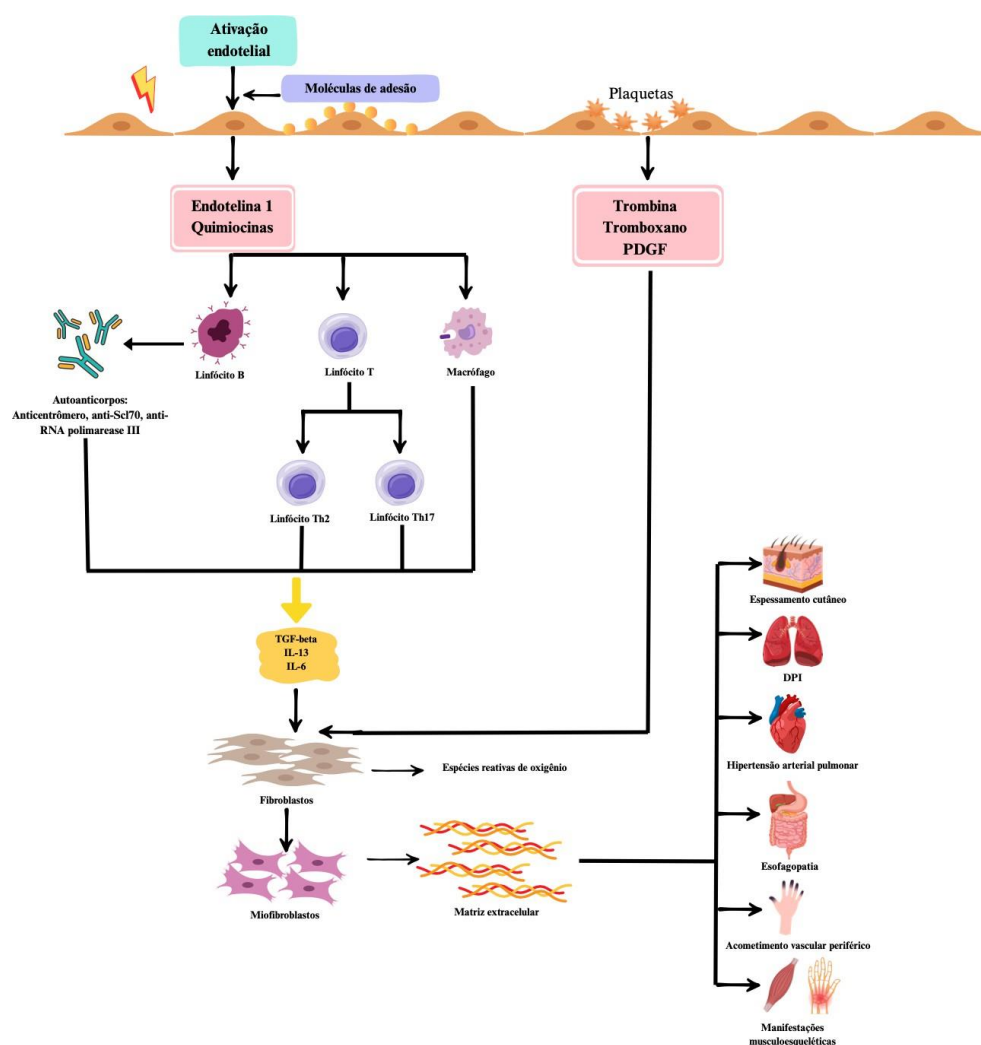


Figura 2. Fisiopatologia da Esclerose Sistêmica. Injúria microvascular e ativação de células endoteliais são os eventos iniciais da fisiopatologia da ES. Estas células endoteliais ativadas amplificam a expressão de moléculas de adesão, promovendo o recrutamento de diversas células para o sítio da lesão. Dentre os componentes da imunidade inata ativada destacam-se os monócitos, que se diferenciam em macrófagos teciduais, responsáveis pela secreção de TFG- β , que exerce fator central na ativação dos fibroblastos. Linfócitos B diferenciam-se em plasmócitos produtores de autoanticorpos específicos. Por sua vez, os linfócitos T *helper* diferenciam-se nos subtipos Th2 e Th17, os quais produzem citocinas cujo resultado é a ativação de fibroblastos. Fibroblastos ativados produzem espécies reativas de oxigênio e secretam componentes da matriz extracelular, levando à fibrose de pele e órgãos internos.

Fonte: Adaptado de Allanore Y *et al.* 2015

A HDL (*High Density Lipoprotein*) é uma lipoproteína que regula a expressão de moléculas de adesão endotelial, como a E-selectina, ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*) e VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule-1*), e interage com as células circulantes, inibindo a ativação leucocitária e plaquetária. Durante a resposta inflamatória, a apolipoproteína A-1 (apoA-I), principal componente proteico da partícula HDL, inibe a secreção de citocinas inflamatórias, como a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (*tumor necrosis factor-alpha* ou TNF- α), assim como de espécies reativas de oxigênio (ROS ou *reactive oxygen species*) (15).

Tanto a HDL quanto a apoA-I inibem a expressão da leucointegrina CD11b, presente, principalmente, em monócitos e macrófagos, desempenhando papel fundamental na diferenciação, ativação e adesão celulares. Outrossim, foi demonstrado que a HDL pode prevenir e reverter a ativação monocitária. Estas ações exemplificam o papel anti-inflamatório decorrente da atuação da HDL (15, 16). Esta fração do colesterol total promove, também, a expressão endotelial de óxido nítrico sintase, estimulando o aumento da síntese e da secreção de óxido nítrico, contribuindo para o processo de vasodilatação (13, 14, 17).

A relação monócito/HDL (RMH) é representada pela razão entre a contagem absoluta de monócitos e o valor absoluto do HDL. O aumento da contagem de monócitos e a redução dos níveis de HDL podem estar relacionados com inflamação e estresse oxidativo. Ao longo dos últimos anos, a RMH emergiu como um novo marcador prognóstico de doenças cardiovasculares, tendo sido objeto de estudos (15, 18).

Além do uso como marcador prognóstico dentro do contexto das doenças cardiovasculares, foi aventada a possibilidade de emprego da RMH como um potencial indicador de atividade inflamatória, uma vez que monócitos exercem efeitos pró-inflamatórios e pró-oxidantes, enquanto o HDL atua como um agente antagonista a estes processos (19). Com isso, a RMH tem sido estudada como marcador de estresse oxidativo e disfunção endotelial em algumas doenças reumáticas imunomediadas, mecanismos que participam do processo que leva à fibrose e à vasculopatia observadas na ES (13, 14). Em 2020, Kim *et al.* avaliaram

a associação entre RMH e acometimentos vascular e cutâneo em pacientes com ES, tendo encontrado razão aumentada em pacientes com úlceras digitais e fibrose cutânea extensa (13).

1.3 RELAÇÃO NEUTRÓFILO-LINFÓCITO

Neutrófilos e linfócitos são células importantes nos processos autoimunes sistêmicos, e que podem apresentar alterações de número e função ao longo da evolução de algumas doenças. Neutrófilos atuam durante todo o processo inflamatório, destacando-se pela produção e secreção de citocinas, enzimas proteolíticas e radicais livres. Estas substâncias potencializam o processo inflamatório e sua permanência nos tecidos está associada a alterações estruturais (20).

Os neutrófilos são produtores de ROS durante o curso da ES. As ROS são elementos importantes na fisiopatologia da doença, promovendo ativação e diferenciação de linfócitos B em plasmócitos, lesão de células endoteliais com vasculopatia e produção de colágeno e matriz extracelular por fibroblastos e miofibroblastos (21, 22, 23). Além disso, já foi demonstrado que os neutrófilos induzem a apoptose de células endoteliais (20).

A inflamação não controlada na ES aumenta a apoptose de linfócitos (20, 24). A redução dos linfócitos periféricos em doenças imunomediadas pode ser decorrente da destruição por autoanticorpos. Outros fatores, como a terapia com glicocorticóides, exercem efeitos deletérios tanto nos linfócitos circulantes quanto nas células endoteliais (25). A desregulação e a ativação do sistema imunológico, envolvendo diferentes células, são fenômenos marcantes na ES. Contudo, apesar de diversos avanços no entendimento da doença, sua imunopatogênese ainda permanece não completamente esclarecida, uma vez que há poucos estudos sobre o papel da ativação neutrofílica, plaquetária e das células linfoides inatas, por exemplo (26).

A relação neutrófilo-linfócito (RNL) é um marcador inflamatório que tem sido associado ao prognóstico de neoplasias e de doenças cardiovasculares (27,

28). É estabelecido pela relação entre valores absolutos de neutrófilos e linfócitos, permitindo assim uma avaliação indireta da imunidade celular (20, 24). Em 2019, Yayla *et al.* encontraram correlação positiva entre valores de RNL, extensão de acometimento cutâneo e presença de úlceras digitais em pacientes com ES (20).

1.4 RELAÇÃO PLAQUETA-LINFÓCITO

Plaquetas atuam como células reguladoras ativas em processos da imunidade inata e adaptativa. Em indivíduos saudáveis, aproximadamente 3% dos linfócitos circulantes estão ligados às plaquetas. Este número aumenta de forma significativa mediante ativação plaquetária e alteração da homeostase. As plaquetas podem interagir com neutrófilos e linfócitos no lúmen vascular, causando dano endotelial. A interação destas células com linfócitos T reduz a proliferação celular, com consequente diminuição da secreção de citocinas inflamatórias. Em indivíduos saudáveis, as plaquetas modulam a atividade de neutrófilos e monócitos via TLRs (*Toll-like receptors*) (29).

Pacientes com ES apresentam níveis séricos aumentados de marcadores de ativação e agregação plaquetárias quando comparados a indivíduos saudáveis. As plaquetas ativadas secretam seu conteúdo granular, contribuindo para o desequilíbrio entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras e para o aumento da fibrose tecidual (29, 30). Neste processo, a fibrose tecidual também é decorrente da disfunção endotelial, resultando na secreção de ROS, que estimulam a inflamação e a deposição de colágeno. Além disso, as plaquetas ativadas secretam mediadores inflamatórios, que estimulam a proliferação de fibroblastos (29).

A relação plaqueta-linfócito (RPL) é estabelecida pela razão entre a contagem absoluta de plaquetas e de linfócitos. O aumento dos níveis de cortisol, observado em estados pró-inflamatórios, provoca elevação da contagem de plaquetas na corrente sanguínea e linfopenia transitória, com consequente elevação da RPL (30). No estudo realizado por Sarhan e El-Meligui, em 2023, foi encontrada associação significativa entre RPL e úlceras digitais, manifestações musculoesqueléticas e pulmonares em indivíduos com ES (31).

Idealmente, a análise dos valores de RPL deve ser realizada em conjunto com outros parâmetros hematológicos, como RNL, e demais marcadores inflamatórios, facilitando um entendimento global das doenças inflamatórias, bem como suas complicações (30).

1.5 AMPLITUDE DE DISTRIBUIÇÃO DOS ERITRÓCITOS

A amplitude de distribuição dos eritrócitos (*Red cell distribution width* ou RDW) é um indicador hematológico de variabilidade do tamanho dos eritrócitos. A distribuição da curva de volume eritrocitário é uma parte integrada na análise hematológica automatizada. A elevação deste indicador é observada em estados inflamatórios, deficiências nutricionais (ferro, ácido fólico e vitamina B12), talassemias e outras anemias, alguns tipos de hepatopatias e outras comorbidades, como nefropatia. Tem sido estudado como marcador prognóstico em eventos cardiovasculares, como doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca esquerda, e preditor de sobrevivência em pacientes com hipertensão pulmonar (32, 33, 34).

A RDW pode refletir um aumento dos níveis de citocinas circulantes, como interleucina-6 (IL-6) e $\text{TNF}\alpha$, e outros fatores, como a hepcidina. Esse indicador hematológico pode representar uma medida de múltiplos processos patológicos, como eritropoiese ineficaz, inflamação, prejuízo do estado nutricional e disfunção renal e pulmonar (33, 34). Em estudo conduzido por Zhao *et al*, em 2016, foi observada associação entre níveis elevados de RDW e risco de HAP em pacientes com ES (35).

1.6 ÍNDICE IMUNOINFLAMATÓRIO SISTÊMICO

O índice imunoinflamatório sistêmico (IIS) é um parâmetro hematológico que integra três tipos de células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos e plaquetas), estudado anteriormente como biomarcador inflamatório em várias condições clínicas, como neoplasias e doenças cardiovasculares. Candemir *et al*.

encontraram associação entre IIS e gravidade de lesões arteriais coronarianas e aterosclerose (36). É obtido pelo produto entre a contagem absoluta de plaquetas e RNL, podendo refletir, de forma mais acurada, a inflamação sistêmica do que RNL e RPL isoladamente. Nas doenças inflamatórias, há uma alteração no equilíbrio entre neutrófilos, linfócitos e plaquetas, sendo observada uma redução na contagem de linfócitos no sangue periférico, decorrente de apoptose, e um aumento no número absoluto de neutrófilos. É observada, também, plaquetose, visto que estas células são importantes mediadores da resposta inflamatória (37, 38).

O IIS já foi estudado em algumas doenças reumatológicas imunomediadas, como artrite reumatoide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES) e espondiloartrites. Em um estudo desenvolvido por Ozdemir *et al*, em 2022, foi observada correlação positiva entre valores de IIS e proteína C-reativa (PCR) em pacientes com LES. Kim *et al*. encontraram associação entre IIS e gravidade de vasculites associadas ao ANCA (*anti-neutrophil cytoplasmic antibody* ou anticorpo anticitoplasma de neutrófilo) (39, 40, 41).

A fisiopatologia exuberante da ES, com participação tanto da imunidade inata quanto adaptativa, cria a possibilidade da utilização de parâmetros hematológicos, como RMH, RNL, RPL, RDW e IIS, para diagnóstico e acompanhamento das manifestações clínicas da doença.

2. JUSTIFICATIVA

Embora seja menos prevalente que outras doenças reumatológicas imunomediadas, a ES apresenta índice de mortalidade mais elevado do que qualquer uma delas, com aproximadamente metade dos pacientes evoluindo a óbito tanto como resultado direto da atividade da doença quanto de complicações relacionadas ao quadro (42, 43). As principais causas de óbito são fibrose pulmonar, HAP e cardiopatia. Além de elevada mortalidade, indivíduos com ES apresentam alta morbidade, com comprometimento significativo da qualidade de vida decorrente de dor, dispneia, úlceras digitais e sintomas gastrointestinais (42, 44).

A ES está associada à utilização substancial de serviços de saúde e a um importante impacto socioeconômico, enfatizando a importância da utilização de biomarcadores para acompanhamento e avaliação das complicações, possibilitando diagnóstico precoce e tratamento adequado. O processo fisiopatológico multifacetado e o quadro clínico heterogêneo da ES; contudo, dificultam a determinação de um biomarcador capaz de integrar todos mecanismos da doença (45).

A atividade inflamatória, dentro do contexto da Reumatologia, é avaliada pela dosagem sérica de PCR e VHS, marcadores séricos pouco específicos e influenciados por processos infecciosos. A utilização destes marcadores é ainda mais desafiadora na ES, na qual ocorrem manifestações com mínima inflamação, caracterizadas por vasculopatia e fibrose (45). Ademais, outras ferramentas utilizadas na avaliação dos pacientes com ES apresentam suas limitações: reprodutibilidade do mRSS entre diferentes centros, influência de vasculopatia nos valores de DLCO e ausência de ferramentas padronizadas para avaliação da extensão de acometimento pulmonar na TC, por exemplo (46).

A utilização de biomarcadores hematológicos, calculados por variáveis obtidas por meio de hemograma, podem representar uma ferramenta útil, amplamente disponível e de baixo custo para avaliação de manifestações clínicas em indivíduos com ES. Parâmetros hematológicos como RMH, RNL e PRL utilizam diferentes precursores imunológicos que atuam no processo inflamatório, fibrótico e vascular, permitindo estabelecer uma associação entre a fisiopatologia e a atividade da ES. Ademais, poucos autores avaliaram a associação entre índices hematológicos e espectro clínico da ES, e não há estudos prévios que tenham investigado o IIS como fator prognóstico em pacientes com ES.

O estudo sobre a utilização de parâmetros hematológicos, como RMH, RNL, RPL, RDW e IIS, pode auxiliar no acompanhamento de pacientes com ES, permitindo diagnóstico precoce de complicações, possibilitando instituição de tratamento precoce, contribuindo para redução de morbimortalidade.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Analisar os parâmetros hematológicos RMH, RNL, RPL, RDW e IIS em pacientes com ES comparados a indivíduos sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada.

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Investigar associação entre parâmetros hematológicos (RMH, RNL, RPL, RDW e IIS) e as manifestações pulmonares (DPI), vasculares periféricas (úlceras e *pitting scars*) e cutâneas em pacientes com ES.

Descrever as características clínicas dos pacientes com ES.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA E ASPECTOS ÉTICOS

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo, com delineamento transversal analítico. A seleção da amostra foi realizada por conveniência, mediante consulta de prontuário eletrônico. Foram selecionados 57 pacientes, em acompanhamento no Ambulatório de Conectivopatias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, entre janeiro de 2013 e dezembro de 2024, com diagnóstico de ES de acordo com os critérios classificatórios de 2013 do ACR/EULAR, que tinham realizado exames laboratoriais (hemograma e dosagem de HDL) e de imagem (TC de tórax, espirometria e ecocardiograma) na instituição.

Dados gerais e laboratoriais de 61 indivíduos sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada, em acompanhamento nos Ambulatórios de Osteoartrite e Fibromialgia/Miofascial, entre janeiro de 2019 e dezembro de 2023, foram obtidos para comparação.

Os critérios de exclusão deste estudo foram:

- a) indivíduos com idade inferior a 18 anos;
- b) presença de leucopenia (leucócitos totais em valor inferior a $4 \times 10^3/\mu\text{l}$) e/ou plaquetopenia (plaquetas em valor inferior a $150 \times 10^3/\mu\text{l}$) persistentes;
- c) presença de anemia clinicamente significativa (hemoglobina inferior a 10 g/dl);
- d) evidência de doença hematológica concomitante, neoplasia, infecção ativa ou crônica, doença cardiovascular, distúrbios tromboembólicos, falência cardíaca, doença hepática severa (aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase três vezes o limite superior da normalidade) e insuficiência renal (taxa de filtração glomerular menor ou igual a 30mL/minuto/1.73m²);
- e) indivíduos que receberam transfusão sanguínea nos últimos três meses antes da realização da coleta de dados;
- f) uso de medicações imunossupressoras, incluindo prednisona em dose superior a 10 mg/dia, nos últimos três meses.

Para a análise da relação monócito/HDL, foram também excluídos os indivíduos que fizeram uso de agentes hipolipemiantes, como estatinas e fibratos, três meses anteriores à coleta dos dados de prontuário.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu sob o CAAE número 75902423.0.0000.5411. Os dados da pesquisa foram obtidos entre os meses de janeiro e maio/2024, mediante aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

4. 2 COLETA DE DADOS

Foram colhidos os seguintes dados clínicos, mediante revisão de prontuário eletrônico:

- a) idade, sexo, duração do fenômeno da Raynaud, duração da doença (início do primeiro sintoma com exceção do fenômeno de Raynaud);
- b) forma cutânea: limitada, difusa ou *sinescleroderma*;
- c) sobreposição com outras doenças reumatológicas imunomediadas;
- d) escore cutâneo modificado de Rodnan (mRSS);
- e) medicações em uso;
- f) presença de acometimento pulmonar (DPI e/ou HAP). Indivíduos com opacidades em vidro fosco, opacidades reticulares bibasais, bronquiectasias de tração, bolhas enfisematosas e padrão em favo-de-mel (*honeycomb*) com extensão do parênquima pulmonar maior ou igual a 20% foram considerados portadores de DPI. Pacientes com padrão restritivo, capacidade vital forçada (CVF) inferior a 70% e capacidade de difusão pulmonar para o monóxido de carbono (*Diffusing Capacity of Carbon Monoxide* ou DLCO) inferior a 65% no teste de função pulmonar também foram incluídos neste grupo. Indivíduos com sinais indiretos de hipertensão arterial pulmonar no ecocardiograma, com pressão sistólica estimada da artéria pulmonar (*estimated Pulmonary Systolic Artery Pressure* ou ePSAP) maior ou igual a 36mmHg e velocidade de regurgitação tricúspide (*Tricuspid Regurgitation Velocity* ou TRV) maior ou igual a 2.8 metros por segundo (m.s^{-1}), e pressão média da artéria pulmonar (*mean Pulmonary Artery Pressure* ou mPAP) maior que 20 mmHg no cateterismo cardíaco direito foram considerados como portadores de HAP. Logo, os dados destes exames de imagem também foram registrados;
- g) presença de acometimento vascular periférico (microcicatrizes e úlceras de polpa digital);
- h) presença de acometimento de trato gastrointestinal. Sintomas dispépticos, como epigastralgia, pirose, regurgitação, empachamento e saciedade

precoce, relatados pelos pacientes durante consultas ambulatoriais foram considerados sugestivos de acometimento de trato gastrointestinal. Resultados de exames complementares, como esofagomanometria, endoscopia digestiva alta e cintilografia esofágica, também foram registrados;

- i) parâmetros da CPU (média de capilares ectasiados, megacapilares, ramificados, grau de desvascularização, número de capilares por milímetro e microhemorragias) dos pacientes em acompanhamento que haviam sido submetidos à realização deste exame;
- j) perfil de autoanticorpos, com registro de presença ou ausência de anticentrômero (*anti-centromere antibody* ou ACA), anti-Scl70, anti-RNA polimerase III e FAN (fator antinúcleo);
- k) parâmetros hematológicos: neutrófilos, linfócitos, monócitos, plaquetas e RDW;
- l) provas de atividade inflamatória, como velocidade de hemossedimentação (VHS) e proteína C-reativa (PCR);
- m) valores de HDL.

Foi realizada a coleta dos dados hematológicos e da dosagem de HDL mais recentes realizados pelo paciente. No caso de pacientes em uso de medicações imunossupressoras devido manifestações sistêmicas graves, foi realizada coleta dos dados dos exames complementares imediatamente anteriores ao início do tratamento.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis contínuas estão apresentadas sob forma de média e desvio-padrão ou mediana e valores mínimo e máximo, a depender da normalidade da distribuição. As variáveis categóricas estão apresentadas sob forma de número absoluto e porcentagem. O teste de normalidade Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliação da normalidade da distribuição das variáveis contínuas. Para análise da associação entre as variáveis categóricas de interesse foi utilizado o teste Qui-

quadrado ou exato de Fisher, dependendo do tamanho das amostras. Para análise da associação entre desfechos clínicos e variáveis contínuas com distribuição paramétrica foi utilizado o teste t de Student e, para a análise da associação com as variáveis contínuas com distribuição não-paramétrica, o teste de Mann-Whitney. Foram aplicados os testes de Pearson e Spearman para os cálculos das correlações entre variáveis de distribuição paramétrica e não paramétrica, respectivamente. Resultados com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. O programa utilizado para as análises foi o Jamovi versão 2.3.28.

6. RESULTADOS

6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS

A média de idade dos 57 pacientes com ES foi de 58,6 anos (18- 87) e de 56,1 anos (18-87) no grupo controle ($p > 0,05$). Os dois grupos foram compostos, majoritariamente, por indivíduos do sexo feminino, em uma proporção de 52 mulheres no grupo ES e 59 mulheres no grupo controle ($p > 0,05$) (Tabela 1).

A forma cutânea limitada foi a mais prevalente (38/57), a mediana do mRSS foi de 2 pontos (0 – 35 pontos), 14% (8/57) dos pacientes apresentaram DPI com extensão superior a 20% e 12,9% (7/57) apresentaram CVF inferior a 70% pela prova de função pulmonar (Tabela 1). A medida da DLCO foi realizada em 14% (8/57) dos indivíduos com ES, com média resultante de 62,5%, evidenciando uma redução média leve deste parâmetro nessa amostra (47). Apenas cinco pacientes (8,7%) exibiam sinais indiretos de HAP no ecocardiograma transtorácico e um deles foi submetido ao cateterismo cardíaco direito, evidenciando pressões arteriais pulmonares dentro da normalidade. Mais da metade dos pacientes com ES apresentaram acometimento vascular periférico e de trato gastrointestinal (Tabela 1).

Cerca de 10,5% (6/57) dos pacientes apresentaram positividade para anti-Scl70 e 40,2%, para ACA. Nenhum dos pacientes realizou pesquisa para anti-

RNA-polimerase tipo III devido à indisponibilidade deste na instituição. Cerca 33,4% (19/57) dos indivíduos com ES apresentavam sobreposição com outras doenças reumatológicas imunomediadas (DRIM), com predominância da Doença de Sjögren (15,7%) (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados clínico-laboratoriais dos pacientes com ES e grupo controle			
Variáveis	ES (n = 57)	Controles (n = 61)	P
Idade em anos (média±DP)	58,6 ± 14,0	56,1 ± 15,7	0,49
Sexo (feminino/masculino, %)	91,2/8,8	96,7/3,3	0,21
Tempo FRy em anos mediana (Q1-Q3)	15,8 (9-22,5)	-	-
Tempo de doença em anos mediana (Q1-Q3)	12,6 (6-19)	-	-
Forma cutânea			
Limitada (n, %)	38 (66,6)	-	-
Difusa (n, %)	12 (20,5)	-	-
Sinesclerodérmica (n, %)	7 (12,9)	-	-
mRSS (mediana, Q1-Q3)	2 (0-35)	-	-
DPI > 20% (n, %)	8 (14,0)	-	-
CVF < 70% (n, %)	7 (12,9)	-	-
Acometimento vascular periférico (n, %)	31 (54,3)	-	-
Úlceras (n, %)	20 (35,0)	-	-
Microcicatrizes (n, %)	29 (50,9)	-	-
Acometimento trato gastrointestinal (n, %)	33 (57,9)	-	-
Positividade anti-Scl70 (n, %)	6 (10,5)	-	-
Positividade ACA (n, %)	23 (40,2)	-	-
Sobreposição com DRIM (n, %)	19 (33,4)	-	-
Doença de Sjögren (n, %)	9 (15,7)	-	-
AR (n, %)	3 (5,2)	-	-
LES (n, %)	7 (12,3)	-	-
Padrões na CPU:			
SD precoce (n, %)	2 (11,1)	-	-
SD ativo (n, %)	12 (66,7)	-	-
SD tardio (n, %)	2 (11,1)	-	-
Microangiopatia inespecífica (n, %)	2 (11,1)	-	-

FRy: Fenômeno de Raynaud, mRSS: *Modified Rodnan Skin Score*, DPI: Doença Pulmonar Intersticial, CVF: Capacidade Vital Forçada, DRIM: Doença Reumatológica Imunomediada, AR: Artrite Reumatoide, LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico, CPU: Capilaroscopia periungueal, SD: *Scleroderma pattern*.

Foram calculados os valores de RNL, RPL e IIS dos pacientes com ES e sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada. Não foram registrados valores de RMH de seis indivíduos com ES e de um do grupo controle que faziam uso de medicação hipolipemiante.

Dezoito pacientes do grupo com ES foram submetidos à realização de CPU, com predomínio do padrão SD ativo (66,7%). Dois pacientes exibiam achados na CPU compatíveis com microangiopatia inespecífica.

Com relação às medicações em uso, 9 pacientes (15,5%) com diagnóstico de ES faziam uso de hidroxicloroquina (HCQ). Quanto às medicações para controle do FRy, 64,9% (37/57) dos indivíduos utilizavam bloqueadores dos canais de cálcio (36,8%, nifedipino e 25,8%, anlodipino), 6,9% (4/57), antagonista do receptor da endotelina e 12% (7/57), inibidor seletivo da fosfodiesterase-5. No momento da coleta de dados, 4 pacientes estavam em uso de prednisona, em doses inferiores a 10mg/dia.

6.2 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS NOS GRUPOS ES E CONTROLE

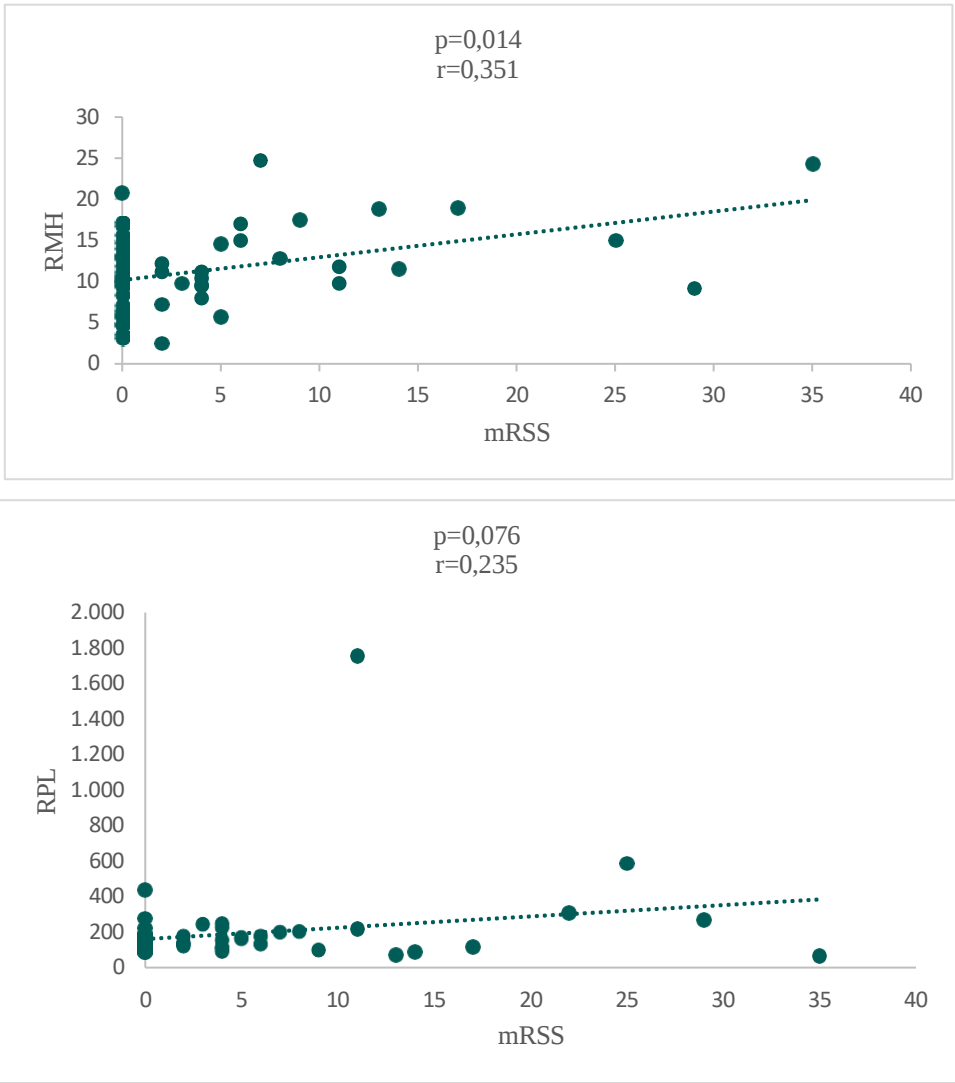
Conforme demonstrado na Tabela 2, os pacientes com diagnóstico de ES apresentaram níveis mais elevados dos parâmetros hematológicos analisados (RMH, RNL, RPL e IIS), com exceção do RDW, que não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Já na comparação entre pacientes com ES com e sem sobreposição com outras doenças reumáticas imunomediadas (DRIM), não foram observadas diferenças nos mesmos parâmetros hematológicos, conforme apresentado na Tabela 2.

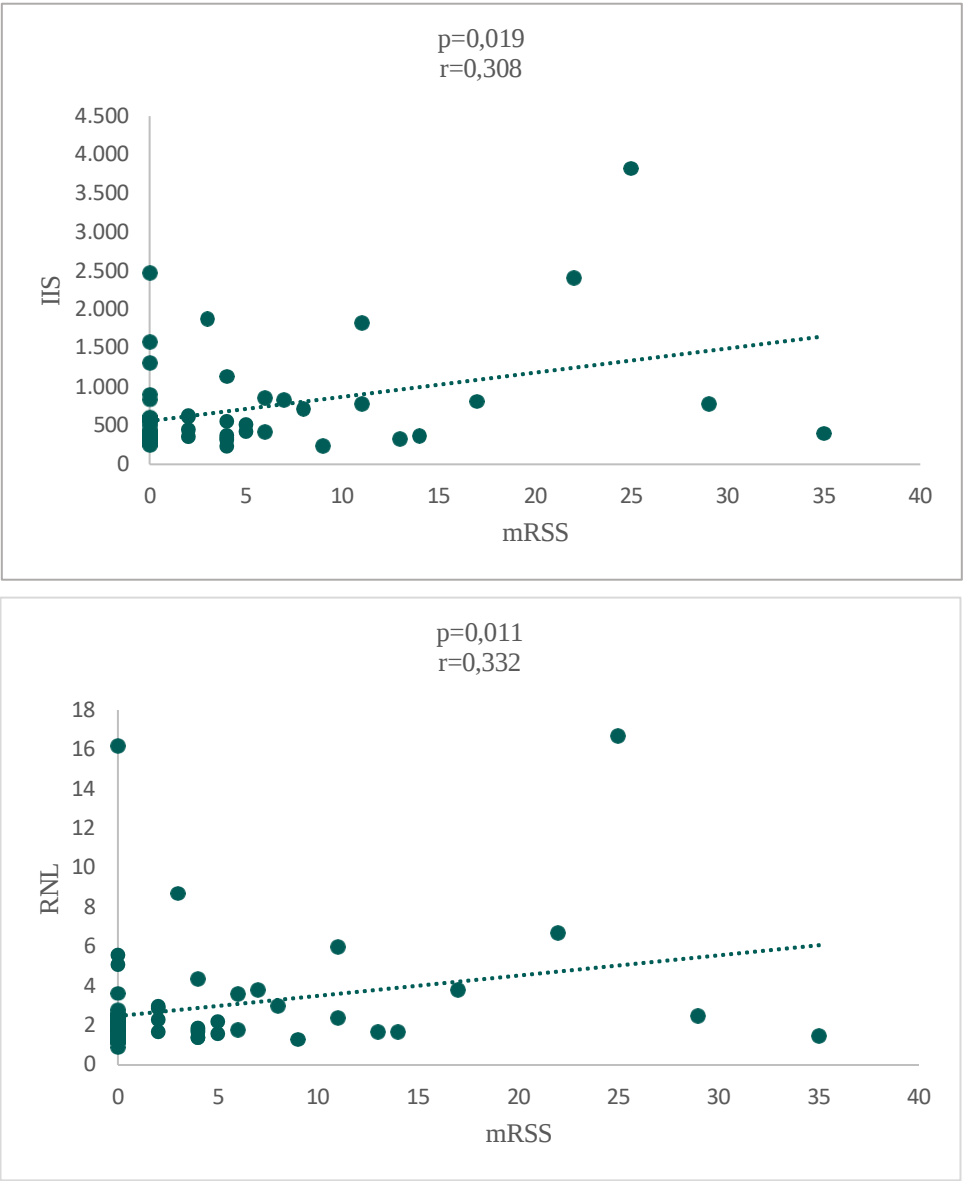
Tabela 2 – Comparação dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES e controles e entre pacientes com ES com e sem sobreposição com outras DRIM						
Variáveis hematológicas	ES (n=57)	Controles (n= 61)	p	ES sem sobreposição de DRIM (n =36)	ES com sobreposição de DRIM (n=19)	p
RMH (média ± DP)	11,4 ± 5,00	9,47 ± 4,25	0,03*	12,5 ± 5,62	11,0 ± 4,75	0,33
RNL (média ± DP)	2,96 ± 2,99	1,72 ± 0,581	0,002*	2,3 ± 1,59	3,32 ± 3,54	0,55
RPL (média ± DP)	190 ± 228	117 ± 31,3	<0,001*	148,10 ± 51,58	214,75 ± 282,89	0,56
RDW (média ± DP)	14,3 ± 1,79	13,8 ± 1,44	0,15	13,86 ± 1,17	14,55 ± 2,05	0,25
IIS (média ± DP)	703 ± 653	439 ± 176	0,02*	564,43 ± 351,10	784,57 ± 770,48	0,62

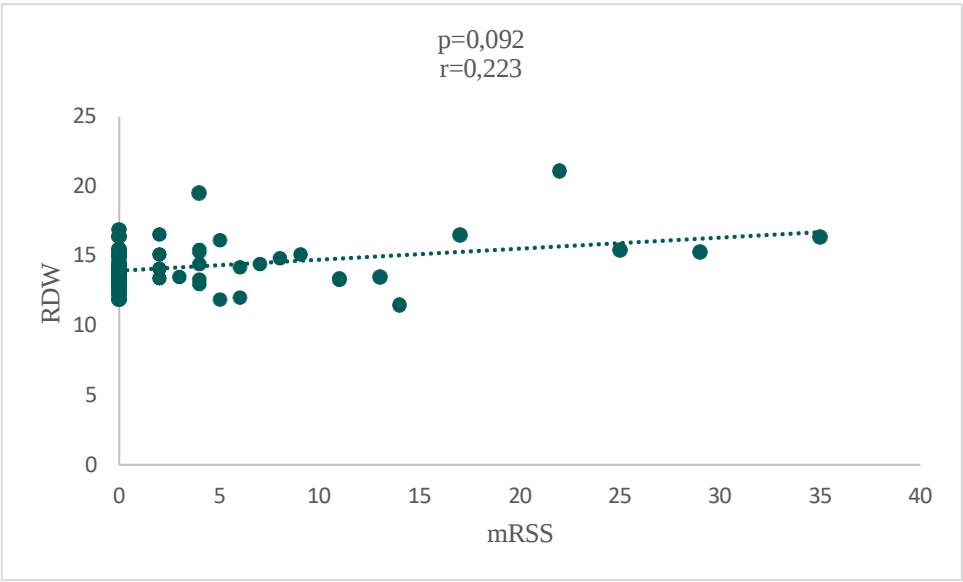
6.3 ACOMETIMENTO CUTÂNEO E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

No grupo de pacientes com ES, observamos uma fraca correlação entre os valores de mRSS e os parâmetros RMH ($p=0,010$; $r=0,371$), RNL ($p=0,015$; $r=0,320$) e IIS ($p=0,019$, $r=0,309$) e ausência de correlação com RDW ($p=0,093$; $r=0,224$) e RPL ($p=0,083$; $r=0,231$). Os resultados estão representados na Figura 2.

Figura 3. Correlação entre mRSS e parâmetros hematológicos nos pacientes com ES.







Cinco pacientes da amostra estudada apresentaram grau moderado a acentuado de espessamento cutâneo, com escore de $mRSS \geq 15$. Esse grupo apresentou índices significativamente mais elevados de RMH ($p=0,025$), RDW ($p=0,003$) e IIS ($p=0,027$) em comparação aos pacientes com $mRSS < 15$. Observou-se ainda uma tendência a níveis mais altos de RNL nesse grupo ($p=0,058$), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros hematológicos em pacientes com ES de acordo com o grau de acometimento cutâneo			
Variáveis hematológicas	$mRSS \geq 15$ (n=5)	$mRSS < 15$ (n=52)	p
RMH (média $\pm$ DP)	16,9 $\pm$ 6,38	11,0 $\pm$ 4,72	0,025*
RNL (média $\pm$ DP)	6,24 $\pm$ 6,17	2,65 $\pm$ 2,39	0,058
RPL (média $\pm$ DP)	268,6 $\pm$ 205,4	182,65 $\pm$ 230,53	0,337
RDW (média $\pm$ DP)	16,94 $\pm$ 2,39	14,04 $\pm$ 1,53	0,003*
IIS (média $\pm$ DP)	1648,66 $\pm$ 1440,52	612,58 $\pm$ 457,98	0,027*

Quando realizada análise de associação entre $mRSS$ e parâmetros hematológicos nos pacientes com ES sem sobreposição com outra doença reumatológica imunomediada, encontramos correlação fraca entre $mRSS$ e RNL ($p=0,04$; $r=0,32$) e IIS ($p=0,01$; $r=0,38$) e correlação moderada entre $mRSS$ e RMH ($p<0,001$; $r=0,549$). Mediante comparação entre os valores dos parâmetros estudados nos pacientes com ES sem sobreposição com DRIM com $mRSS \geq 15$,

observamos valores superiores de RDW ($16,9 \pm 2,39$ *versus* $14,22 \pm 1,7$; $p < 0,009$), IIS ($1648,66 \pm 1440,52$ *versus* $651,52 \pm 505,11$; $p < 0,040$) e RMH ($16,1 \pm 5,79$ *versus* $10,3 \pm 3,85$; $p < 0,007$) em pacientes com maior extensão de acometimento cutâneo.

6.4 ACOMETIMENTO PULMONAR E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

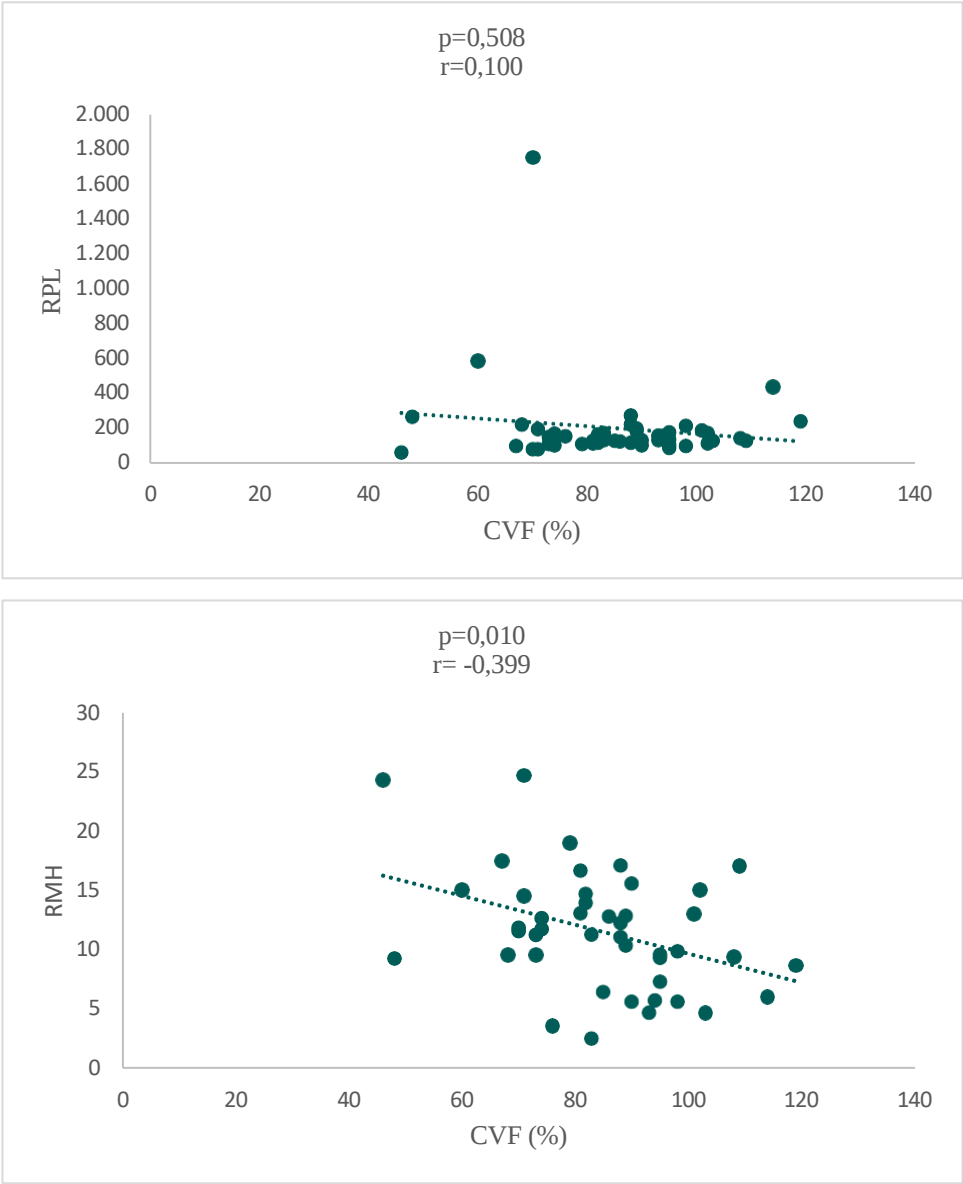
Conforme indicado pelos dados da Tabela 4, não foi evidenciada associação entre os marcadores hematológicos e extensão de DPI na TC de tórax (área superior ou inferior a 20%). Contudo, quando realizada análise apenas dos pacientes com diagnóstico de ES (36 indivíduos), sem sobreposição com outras DRIM, observamos que pacientes com extensão de acometimento pulmonar superior a 20% na TC de tórax apresentaram maiores valores de RMH ($16,9 \pm 6,09$ *versus* $10,1 \pm 3,94$; $p = 0,005$).

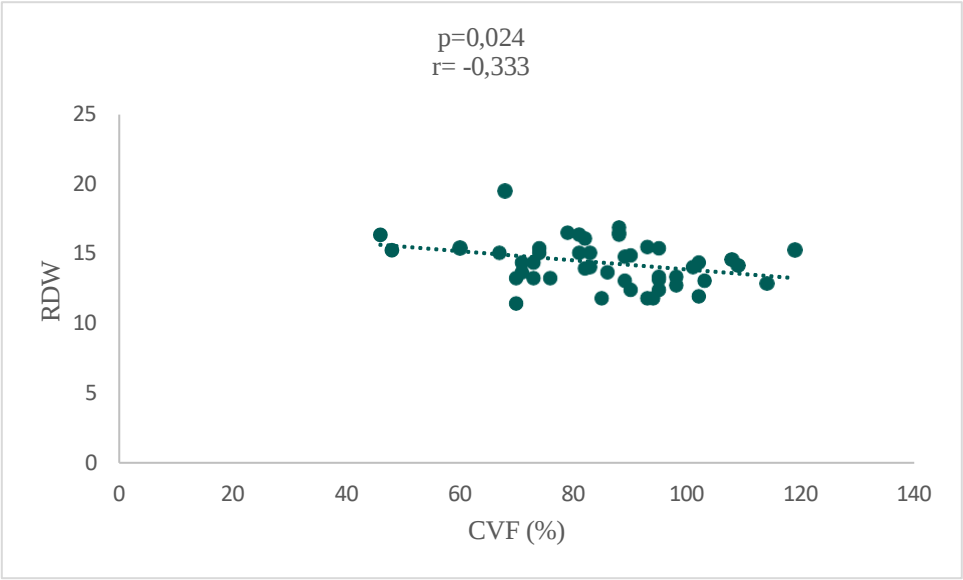
Com relação à avaliação da função pulmonar, não foi encontrada associação entre as médias dos parâmetros hematológicos e grau de redução da CVF (Tabela 4). A análise do grupo de pacientes com ES sem sobreposição com outras DRIM evidenciou uma tendência de maiores valores do RMH em pacientes com CVF inferior a 70% na prova de função pulmonar ($14,4 \pm 5,86$ *versus* $10,2 \pm 4,47$; $p = 0,086$ (Tabela 4). Houve correlação negativa fraca entre os valores absolutos de CVF e os índices RMH ($p = 0,010$; $r = -0,399$) e RDW ($p = 0,024$; $r = -0,333$) (Figura 4).

Tabela 4 - Parâmetros hematológicos em pacientes com ES de acordo com a extensão de DPI na TC de tórax e com o grau de acometimento da CVF

Variáveis hematológicas	DPI > 20% (n=8)	DPI < 20% (n=49)	p	CVF < 70% (n=7)	CVF > 70% (n=50)	p
RMH (média ± DP)	$14,4 \pm 5,59$	$11,0 \pm 4,87$	0,100	$14,1 \pm 5,38$	$10,8 \pm 4,90$	0,119
RNL (média ± DP)	$2,39 \pm 1,80$	$3,06 \pm 2,15$	0,427	$4,87 \pm 5,50$	$2,66 \pm 2,46$	0,358
RPL (média ± DP)	$154,88 \pm 91,62$	$195,96 \pm 243,35$	0,482	$440,57 \pm 606,78$	$158,54 \pm 62,48$	0,625
RDW (média ± DP)	$15,41 \pm 2,60$	$14,12 \pm 1,59$	0,141	$15,21 \pm 2,49$	$14,22 \pm 1,43$	0,257
IIS (média ± DP)	$696,50 \pm 713,66$	$704,60 \pm 650,81$	0,774	$1226,01 \pm 1272,73$	$596,98 \pm 422,27$	0,258

Figura 4. Correlação entre CVF (%) e parâmetros hematológicos nos pacientes com ES





6.5 ACOMETIMENTO VASCULAR PERIFÉRICO E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Conforme descrito anteriormente, 31 dos pacientes com ES deste estudo apresentavam úlceras e/ou microcicatrices de polpa digital. Este grupo com acometimento vascular periférico apresentou maiores valores de RPL ($p=0,040$) em comparação aos pacientes sem úlceras e sem microcicatrices de polpa digital (Tabela 5). Não foi evidenciada associação entre acometimento vascular periférico e os demais parâmetros hematológicos.

Tabela 5 - Parâmetros hematológicos em pacientes com ES com e sem acometimento vascular periférico			
Variáveis hematológicas	Com úlceras e/ou microcicatrices de polpa digital (n=31)	Sem úlceras e/ou microcicatrices de polpa digital (n=26)	p
RMH (média ± DP)	11,2 ± 4,41	11,8 ± 5,85	0,713
RNL (média ± DP)	3,55 ± 3,86	2,26 ± 1,11	0,501
RPL (média ± DP)	231,87 ± 301,00	140,50 ± 55,40	0,040*
RDW (média ± DP)	14,35 ± 2,02	14,24 ± 1,52	0,892
IIS (média ± DP)	826,66 ± 824,32	556,58 ± 314,80	0,456

Quando realizada análise dos valores hematológicos de pacientes com ES sem sobreposição com outra doença reumatológica imunomediada e

acometimento vascular periférico (22 pacientes), encontramos tendência de associação entre os valores de PLR e a presença úlceras e/ou microcicatrices ($264,05 \pm 353,48$ versus $137,29 \pm 55,11$; $p=0,058$).

6.6 ACOMETIMENTOS CUTÂNEOS, PULMONAR E VASCULAR PERIFÉRICO E CPU

Dentre os 18 pacientes com ES que foram submetidos à CPU, 66,7% (12 pacientes) apresentavam padrão SD ativo e 11,1% (2 pacientes) padrão SD tardio. O padrão SD tardio não foi observado nas formas cutâneas da ES *sinescleroderma* e limitada (Tabela 6). Não foram encontradas associações estatisticamente significativas entre o subtipo de acometimento cutâneo e o padrão da CPU. Não houve diferença dos valores de mRSS na comparação entre os grupos de pacientes que apresentavam o padrão capilaroscópico SD precoce versus SD ativo e tardio ($p=0,202$), nem na comparação entre SD precoce e ativo versus SD tardio ($p=0,899$).

Padrão CPU	Forma <i>sinescleroderma</i>	Forma limitada	Forma difusa
SD precoce (n, %)	1 (25)	1 (11,1)	0
SD ativo (n, %)	2 (50)	7 (77,8)	3 (60)
SD tardio (n, %)	0	0	2 (40)
Microangiopatia inespecífica (n, %)	1 (25)	1 (11,1)	0
Total (n, %)	4 (100)	9 (100)	5 (100)

Mediante análise dos parâmetros capilaroscópicos, identificou-se uma correlação negativa moderada entre o número de capilares/mm ($p<0,002$, $r=-0,695$) e o valor de mRSS. Não houve correlação entre o mRSS e os demais parâmetros da CPU. Dentre os pacientes que realizaram a CPU, nenhum apresentou mRSS superior a 15.

A CPU foi realizada em três pacientes que apresentavam extensão de DPI superior a 20% na TC de tórax, dois deles exibiam padrão SD ativo e um, microangiopatia inespecífica. Não foi encontrada associação significativa entre grau

de extensão da DPI e os padrões da CPU. Igualmente, não houve associação entre a extensão do acometimento pulmonar e as médias de capilares/mm ($p=0,614$), capilares ectasiados ($p=0,124$), capilares ramificados ($p=0,242$), microhemorragias ($p=0,512$) e grau de desvascularização ($p=0,201$). Já a média do número de megacapilares foi menor nos pacientes com extensão da DPI na TC de tórax superior a 20% ($0,000 \pm 0,000$) em comparação aos pacientes com extensão da DPI inferior a 20% ($0,8679 \pm 1,0861$) ($p=0,039$).

Apenas dois pacientes com CVF abaixo de 70% realizaram a CPU: um deles apresentava padrão SD ativo e o outro, SD tardio. Não foi encontrada associação estatisticamente significativa quando realizada a comparação do grau de perda da CVF (CVF superior ou inferior a 70%) entre os padrões capilaroscópicos SD precoce e ativo *versus* SD tardio ($p=0,275$) e SD precoce *versus* SD ativo e tardio ($p=1,000$). Por outro lado, encontramos associação entre o grau de comprometimento da função pulmonar e os parâmetros encontrados na CPU. A CPU foi realizada em somente um paciente com CVF abaixo de 70%. Neste, a média do número de capilares por mm foi de 5,0. Este valor foi menor em comparação à média do número de capilares/mm encontrada nos pacientes que apresentavam CVF superior a 70% ($8,1009 \pm 1,2028$) ($p=0,033$). Não foi encontrada associação do grau de perda da CVF com os demais parâmetros capilaroscópicos. Na comparação dos valores absolutos de CVF entre os grupos de pacientes com ES com diferentes padrões apresentados na CPU, não houve diferença estatisticamente significativa do valor em porcentagem da CVF entre os grupos com padrão SD precoce *versus* SD ativo e tardio ($p=0,214$) e SD precoce e ativo *versus* SD tardio ($p=0,273$). Também não foi encontrada correlação entre os parâmetros capilaroscópicos (número de capilares por mm, capilares ectasiados, megacapilares, capilares ramificados, microhemorragias e grau de desvascularização) e os valores absolutos de CVF.

Dentre os 18 pacientes participantes do estudo que realizaram CPU, 11 apresentavam acometimento vascular periférico: um deles exibia padrão capilaroscópico compatível com microangiopatia inespecífica; nove, padrão SD

ativo e um, padrão SD tardio. Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre as variáveis capilaroscópicas (número de capilares por milímetro, capilares ectasiados, megacapilares, capilares ramificados, microhemorragias e grau de desvascularização) e acometimento vascular periférico.

6.7 DEMAIS VARIÁVEIS CLÍNICO-LABORATORIAIS E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Além da análise das variáveis associadas aos desfechos pulmonar, vascular periférico e cutâneo, foram registrados também sinais e/ou sintomas de acometimento do trato gastrointestinal alto ou baixo nos pacientes com ES, além de alterações em exames como manometria esofágica e cintilografia de trânsito esofágico. Não foi encontrada associação entre presença de acometimento do trato gastrointestinal e valores de RMH ($p=0,305$), RDW ($p=0,955$), RNL ($p=0,247$), RPL ($p=0,150$) e IIS ($p=0,254$).

Com relação aos autoanticorpos específicos da ES, não foi encontrada associação entre positividade para anti-Scl-70 e os marcadores RMH ($p=0,711$), RNL ($p=0,395$), RPL ($p=0,914$), RDW ($p=0,526$) e IIS ($p=0,968$). Igualmente, não houve associação entre os valores de RMH ($p=0,707$), RNL ($p=0,740$), RPL ($p=0,298$), RDW ($p=0,850$), IIS ($p=0,530$) e presença de anti-centrômero.

Na análise da associação entre os parâmetros hematológicos e as formas cutâneas da ES, observou-se que pacientes com a forma *sinesclerodérmica* apresentaram tendência a valores de RDW ($13,23 \pm 0,875$ versus $14,45 \pm 1,85$) e RMH ($8,12 \pm 2,814$ versus $11,98 \pm 5,15$) mais baixos em comparação aos pacientes com as formas limitada e difusa ($p=0,053$ e $p=0,081$, respectivamente). Não houve diferença dos valores dos demais parâmetros hematológicos entre as formas cutâneas da ES. Adicionalmente, não foi observada associação estatisticamente significativa entre os tempos de FRy e de doença e os parâmetros hematológicos.

O estudo de associação entre parâmetros hematológicos e padrões capilaroscópicos evidenciou valores maiores de RPL ($975,5 \pm 1102,379$ versus

142,81 $\pm$ 43,007) e de RNL (4,9 $\pm$ 1,556 *versus* 1,86 $\pm$ 0,628) em pacientes com ES que apresentavam e o padrão SD tardio na CPU, em comparação aos pacientes com os padrões precoce e ativo. Ademais, observou-se uma tendência a maiores valores de RMH (18,25 $\pm$ 9,122 *versus* 11,01 $\pm$ 4,263) e de IIS (1329,2 $\pm$ 708,238 *versus* 431,94 $\pm$ 189,001) em pacientes com ES que apresentavam o padrão SD tardio na CPU, em comparação aos demais padrões da CPU (Tabela 7).

Tabela 7 - Valores dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES com os padrões SD precoce, ativo e tardio na CPU

Variáveis hematológicas	SD tardio (n=2)	SD ativo (n=12)	SD precoce (n=2)
RMH (média $\pm$ DP)	18,3 $\pm$ 9,12*	11,8 $\pm$ 4,44	9,37
RNL (média $\pm$ DP)	4,9 $\pm$ 1,56**	1,91 $\pm$ 0,658	2,05 $\pm$ 0,778
RPL (média $\pm$ DP)	976 $\pm$ 1102***	143 $\pm$ 48,3	154 $\pm$ 12,7
RDW (média $\pm$ DP)	13,9 $\pm$ 0,778	13,9 $\pm$ 133	13,8 $\pm$ 1,2
IIS (média $\pm$ DP)	813,29 $\pm$ 708****	461 $\pm$ 209	360 $\pm$ 76,7

* p=0.065 (SD tardio *versus* SD precoce e ativo).

** p=0.029 (SD tardio *versus* SD precoce e ativo).

*** p=0.042 (SD tardio *versus* SD precoce e ativo).

**** p=0.052 (SD tardio *versus* SD precoce e ativo).

Quando realizada comparação entre valores dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES utilizando HCQ e naqueles sem uso desta medicação, indivíduos em uso de HCQ apresentaram valores inferiores de RNL (2,27 $\pm$ 2,43 *versus* 3,09 $\pm$ 3,09, p=0,027) e IIS (510,26 $\pm$ 524,89 *versus* 739,69 $\pm$ 673,05, p=0,025) quando comparados aos pacientes com ES sem uso desta medicação. Não foram encontradas diferenças significativas entre os demais parâmetros hematológicos quando realizada comparação entre estes dois grupos (Tabela 8).

Tabela 8 - Valores dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES em uso de HCQ e sem uso de HCQ

Variáveis hematológicas	ES em uso de HCQ (n=9)	ES sem uso de HCQ (n=48)	p
RMH (média ± DP)	12,09 ± 6,26	11,4 ± 4,92	0,74
RNL (média ± DP)	2,27 ± 2,43	3,09 ± 3,09	0,02*
RPL (média ± DP)	126,67 ± 44,09	202,10 ± 246,40	0,06
RDW (média ± DP)	13,56 ± 1,09	14,44 ± 1,87	0,16
IIS (média ± DP)	510,26 ± 524,89	739,69 ± 673,05	0,02*

7. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou valores dos parâmetros hematológicos em pacientes com ES em comparação a indivíduos sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada, assim como a associação desses parâmetros com as manifestações cutâneas, pulmonares e vasculares periféricas da doença. Os índices RMH, RNL, RPL e IIS apresentaram valores significativamente mais elevados no grupo com ES em relação ao grupo controle. Foram encontrados valores superiores de RMH, RNL, RPL e IIS no grupo de pacientes com ES quando comparados ao grupo controle. Ademais, médias superiores de alguns parâmetros hematológicos foi encontrada nos grupos de pacientes com ES com acometimentos cutâneo (RMH, RNL, RDW e IIS), pulmonar (RMH e RDW) e vascular periférico (RPL). Adicionalmente, pacientes com ES em uso de HCQ apresentaram valores inferiores de RNL e IIS quando comparados aos pacientes com ES sem uso desta medicação. Tais resultados sugerem um papel desses índices obtidos a partir do valor absoluto de células hematológicas na investigação de pacientes com ES e suas manifestações clínicas.

HDL é uma lipoproteína que inibe a expressão de moléculas de adesão endotelial e a secreção de citocinas inflamatórias pelas células da imune inata (15, 48). Na ES, após injúria microvascular, ocorre ativação das células endoteliais, com consequente aumento da expressão de moléculas de adesão, permitindo o recrutamento e a ativação de monócitos (1, 13, 14). Os monócitos, por sua vez, secretam TGF-beta, responsável pela ativação de fibroblastos, e interagem com o endotélio danificado, potencializando a secreção de substâncias pró-inflamatórias

(13, 14). A elevação da contagem de monócitos é, portanto, um reflexo do processo fisiopatológico da ES, visto atuação destas células no processo inflamatório, na disfunção endotelial e na fibrose observados na doença. A redução dos valores de HDL, por sua vez, é associada com prejuízo da atividade anti-inflamatória e antioxidante. Valores elevados de RMH podem representar um indicador de inflamação, fibrose e vasculopatia.

Os resultados do nosso estudo evidenciaram associação entre RMH, acometimento cutâneo e gravidade de acometimento pulmonar. Kim et al., em 2020, já haviam demonstrado associação entre valores superiores de RMH e acometimento cutâneo e úlceras digitais (13). Embora a associação entre este parâmetro e a extensão de acometimento pulmonar na ES não tenha sido relatada na literatura, alguns autores observaram associação desta manifestação clínica com HDL. Em pesquisa recente conduzida por Jendrek *et al.*, na qual foi realizada a análise de assinatura metabolômica em 100 pacientes com ES, evidenciou-se que indivíduos com DPI apresentaram níveis reduzidos de HDL. Este mesmo estudo demonstrou correlação fraca entre os valores HDL e CVF (%) (49). Apesar de nosso estudo não ter encontrado associação entre RMH e úlceras digitais (13), nossos achados reforçam a associação entre este parâmetro e acometimentos cutâneo e pulmonar, sugerindo seu potencial como marcador de inflamação e fibrose.

Outro parâmetro que vem sendo bastante estudado nas doenças reumatológicas imunomediadas é a RNL, que reflete a relação dinâmica entre resposta imune inata (neutrófilos) e adaptativa (linfócitos) (50). Os neutrófilos atuam durante todo o processo inflamatório, destacando-se pela produção de citocinas, enzimas proteolíticas e espécies reativas de oxigênio (20). As ROS promovem lesão de células endoteliais e estimulam a produção de colágeno e matriz extracelular pelos fibroblastos (21, 22, 23). Os linfócitos, por sua vez, diferenciam-se em células B, produtoras de autoanticorpos específicos, e em células Th2 e Th17, responsáveis pela secreção de citocinas que atuam na ativação de fibroblastos. Um aumento isolado de neutrófilos, observado em processos inflamatórios iniciais, promovem elevação da RNL. A redução da contagem de linfócitos, por sua vez, também justifica aumento da razão neutrófilo/linfócito. Indivíduos com ES

apresentam linfopenia secundária ao aumento da permeabilidade vascular, da expressão de moléculas de adesão e da afinidade dos linfócitos ao endotélio danificado (51), indicando um processo inflamatório crônico. RNL é, portanto, um potencial marcador de atividade inflamatória.

Os resultados deste estudo evidenciaram valores superiores de NLR em comparação aos controles e correlação positiva fraca entre RNL e valores numéricos de mRSS. Médias aumentadas de RNL em pacientes com maior extensão de acometimento cutâneo refletem a atuação neutrofílica no processo fibrótico observado na ES. Alguns autores observaram níveis mais altos de RNL no grupo de pacientes com ES em comparação a controles (20, 52, 53, 54, 55, 56, 57). Estudo conduzido por Esheba *et al.*, em 2016, encontrou valores médios superiores de RNL entre os pacientes com ES quando comparados ao grupo controle (52). Uma revisão sistemática com meta-análise recente avaliou a associação entre RNL, RPL e relação monócito-linfócito (*monocyte-to-lymphocyte ratio* ou MLR) e as manifestações clínicas da ES. Os autores analisaram nove estudos, totalizando 655 pacientes com ES e 951 controles saudáveis, evidenciando valores de RNL significativamente mais elevados nos pacientes com ES ($p < 0,001$). Nessa revisão, foi observada associação entre RNL, hipertensão arterial pulmonar e presença de úlceras digitais (54). Outros estudos relataram associação entre RNL, HAP, DPI e presença de úlceras digitais, esta não encontrada em nossa pesquisa (52, 53, 54, 57).

Dentre os marcadores hematológicos analisados nesta pesquisa, não foi observada diferença dos valores de RDW entre o grupo de indivíduos com ES e o grupo controle, o que difere dos dados disponíveis na literatura. Pesquisas anteriores evidenciaram valores superiores de RDW em pacientes com ES quando comparados com a população saudável (20, 34, 52, 54, 56). O RDW representa uma medida de variação do tamanho dos eritrócitos, e pode ser influenciada por diversos fatores como eritropoiese ineficaz, processos inflamatórios, desnutrição, disfunção renal e hepática e reflete, de forma confiável, um aumento nos níveis de citocinas circulantes, como IL-6 e TNF- α , e outros marcadores inflamatórios indiretos, como hepcidina (33, 34, 55).

Em nosso estudo foram encontrados valores superiores de RPL em pacientes com ES em comparação ao grupo controle, achado consistente com a literatura. Estudos anteriores relataram associação entre RPL e HAP, DPI e presença de úlceras digitais em pacientes com ES (54, 55, 56). O RPL é um parâmetro obtido pela razão entre plaquetas e linfócitos. Plaquetas circulantes são ativadas por contato com as células endoteliais danificadas, sintetizando substâncias vasoativas, como o tromboxano A₂, que contribuem para o processo de disfunção vascular e isquemia. Ademais, estas células contribuem ativamente para a fibrose tecidual por meio da secreção de PDGF (*Platelet-derived growth factor* ou fator de crescimento derivado de plaquetas), TGF-beta e serotonina (58).

Além desta atuação nos processos de lesão vascular e fibrose tecidual, as plaquetas também são capazes de modular as respostas imune inata e adaptativa (59, 60, 61). Plaquetas ativadas secretam o mediador solúvel CD40L, presente em seus grânulos, promovendo aumento da adesão e da transmigração dos monócitos e ativação de linfócitos B (59). Adicionalmente, aumentam a interação entre os linfócitos B e T e a parede vascular, contribuindo para a manutenção do processo inflamatório crônico. A combinação de valores elevados de plaquetas e linfopenia, resultados em níveis aumentados de RLP, justificam o uso deste parâmetro como biomarcador de resposta inflamatória sistêmica (60).

Nossa pesquisa demonstrou associação entre este parâmetro hematológico e acometimento vascular periférico em pacientes com ES, achado também descrito por outros autores, reforçando o papel das plaquetas na lesão endotelial, evento central na vasculopatia da doença (54, 57). Alguns estudos descreveram associação entre RPL e outros acometimentos na ES como DPI, HAP, úlceras digitais e espessamento cutâneo, resultado não encontrado em nosso estudo (53, 55, 57).

Um parâmetro que vem sendo mais recentemente analisado nas doenças reumatológicas imunomediadas é o IIS, um marcador do estado inflamatório e imunológico, obtido pelo produto entre RNL e plaquetas (62, 63). Trata-se, portanto, de um biomarcador que agrega a contagem de plaquetas, linfócitos e neutrófilos, constituindo uma ferramenta para avaliação do estado inflamatório e da

responsividade do sistema imunológico. Enquanto uma contagem elevada de neutrófilos sinaliza uma reação inflamatória inespecífica, uma redução dos linfócitos pode representar comprometimento da resposta imune inata e um processo inflamatório crônico. No contexto das doenças reumatológicas imunomediadas, o aumento do número de plaquetas caracteriza uma resposta compensatória ao processo inflamatório contínuo (64). Análise de associação entre IIS e manifestações da ES são escassos. Estudo conduzido em 2024, avaliando RNL e IIS em 34 pacientes com ES, evidenciou associação entre IIS e envolvimento articular, pulmonar (DPI e HAP) e pericárdico (65). Em uma revisão sistemática que abordou 16 estudos, foram avaliados pacientes com AR, LES, espondilite anquilosante (EA), sarcoidose e doença relacionada ao IgG4 e comparados a um grupo controle. A análise final evidenciou valores de IIS significativamente maiores nos pacientes com doenças imunológicas quando comparados ao grupo saudável (54). Nosso estudo, encontrou valores superiores de IIS no grupo de pacientes com ES e associação entre IIS e acometimento cutâneo, algo que ainda não havia sido evidenciado por outros autores. Tal achado sugere um papel do IIS como marcador do processo inflamatório observado na ES.

Um subgrupo da amostra deste estudo (18 indivíduos) foi submetido à análise da microcirculação por meio da CPU. Além do seu papel no diagnóstico da ES, a CPU também tem sido associada à gravidade da doença, ao envolvimento visceral e prognóstico dos pacientes, com evidências crescentes na literatura (66, 67, 68, 69, 70, 71). Algumas associações entre alterações na microcirculação e manifestações clínicas da doença foram observadas, entretanto, com alguns resultados limitados, devido à amostra pequena de indivíduos que foram submetidos ao exame. A análise dos dados obtidos a partir da CPU revelou uma correlação negativa moderada entre o número de capilares/mm e o valor do mRSS ($r = -0,695$). A associação entre acometimento cutâneo e a densidade capilar avaliada por meio da CPU já foi observada previamente (69, 70, 71). Por outro lado, neste estudo não foi encontrada correlação entre o padrão da CPU (precoce, ativo ou tardio) e o subtipo de acometimento cutâneo, valores absolutos do mRSS e gravidade do acometimento cutâneo (mRSS superior ou igual a 15 pontos). A maioria dos autores

têm relatado uma associação entre padrão tardio na CPU e maior gravidade do acometimento cutâneo, principalmente na forma difusa (70, 71, 72, 73, 74, 75). Adicionalmente, foi observada neste estudo uma associação entre menor densidade capilar na CPU e pior função pulmonar (CVF abaixo de 70%), sem associação com extensão da DPI na TC de tórax. O acometimento pulmonar na ES já vem sendo bastante estudado em indivíduos com ES submetidos à análise da microcirculação, e o grau de perda capilar na CPU tem sido associado a uma maior extensão da DPI e pior função pulmonar (76, 77, 78, 79). Nosso estudo não demonstrou associação entre acometimento vascular periférico, padrões e variáveis capilaroscópicas, resultado também provavelmente relacionado à amostra pequena de indivíduos submetidos à CPU. Na literatura, maior grau de perda capilar tem sido associado à vasculopatia periférica em pacientes com ES (úlceras digitais, microcicatrices de polpa digital, amputação) (72, 75, 79, 80, 81).

Embora não tenha correspondido ao objetivo principal deste estudo, foram encontradas associações inéditas relevantes entre achados na CPU de pacientes com ES e parâmetros hematológicos. A vasculopatia e a inflamação mediada pela autoimunidade representam elementos fundamentais na fisiopatologia da ES. Alguns autores avaliaram o papel de alguns parâmetros hematológicos como marcadores de inflamação sistêmica em associação com alterações encontradas na CPU. Em 2020, Tezcan *et al* analisaram fatores clínicos e laboratoriais, incluindo RNL, MLR, RPL e achados na CPU, e sua influência sobre manifestações cutâneas e viscerais em pacientes com ES. Entretanto, neste estudo, não foi avaliada a associação entre os parâmetros hematológicos e alterações na microcirculação (56). Em outro estudo transversal com 30 pacientes com ES, foi observada apenas tendência a associação de RNL com padrão SD tardio na CPU, sem análise de outros parâmetros hematológicos (82). Os resultados deste estudo evidenciaram de forma inédita uma associação entre o padrão tardio na CPU e os índices RPL e RNL, assim como uma tendência de associação na análise que envolve o RMH e o IIS. O padrão SD tardio é mais prevalente em pacientes com ES que apresentam piores desfechos clínicos, como acometimento cutâneo mais grave, maior extensão de DPI e crise renal esclerodérmica, além de ter sido associado a maior mortalidade (82). Tais

achados levantam uma hipótese de associação entre microvasculopatia na ES e inflamação, e contribuem para a compreensão do papel prognóstico dos parâmetros hematológicos nesta população, servindo como base para estudos futuros na área com maior amostra de indivíduos.

O presente estudo demonstrou valores inferiores dos parâmetros RNL e IIS em pacientes com ES em uso de HCQ quando comparados aos pacientes com ES sem uso desta medicação. Não foram encontrados estudos anteriores que abordem a relação entre uso da HCQ e parâmetros hematológicos. Apesar do mecanismo de ação da HCQ não ser totalmente compreendido, ela apresenta efeito protetor cardiovascular, reduzindo índice de aterosclerose e proporcionando melhora dos perfis glicêmico e lipídico (78). Além do efeito cardioprotetor, previne complicações trombóticas, inibindo ligação de anticorpos antifosfolípides e agregação plaquetária (83, 84). Adicionalmente, interfere na sinalização via TLR, impedindo a produção de diversos mediadores inflamatórios, como $TNF\alpha$, IL-1 e IL-6, pelas células dendríticas e pelas células natural killer (NK) e reduz a expressão endotelial de ICAM-1 e VCAM-1, interferindo na adesão endotelial e migração de leucócitos (83, 85). Os menores valores médios de RNL e IIS encontrados em pacientes com ES em uso de HCQ podem refletir o papel anti-inflamatório e imunomodulador associado ao uso desta medicação.

Os resultados encontrados neste estudo contribuem para a prática clínica ao evidenciar associação entre parâmetros hematológicos e manifestações cutâneas, pulmonares e vasculares periféricas em pacientes com ES. Os índices calculados a partir do valor absoluto de células como neutrófilos, plaquetas e linfócitos representam ferramentas de baixo custo-benefício, obtidas a partir de um exame que é realizado no acompanhamento de rotina dessa população de indivíduos, e que podem apresentar um papel importante no diagnóstico precoce de complicações em pacientes com ES.

Uma das limitações deste estudo é representada pela amostra reduzida de indivíduos. Pesquisas futuras com um número maior de participantes são necessários para avaliar a influência dos parâmetros hematológicos no prognóstico de pacientes com ES. O desenho transversal constitui outra limitação, uma vez que

não permite o estabelecimento de causalidade e nem a análise das variáveis clínico-laboratoriais ao longo do tempo. Futuros estudos longitudinais com análise de índices obtidos a partir de células do sangue associados aos desfechos clínicos da ES contribuirão para o estudo dos fatores que influenciam o prognóstico nesta população. Adicionalmente, a exclusão de pacientes com manifestações mais graves, em uso de medicações imunossupressoras, pode ter influenciado os resultados, ao não incluir indivíduos com manifestações mais graves da doença, principalmente cutâneas e pulmonares. A amostra de indivíduos avaliada representa uma área abrangente do interior do estado de São Paulo, embora seja originada de um único centro hospitalar de referência. A análise dos dados obtidos a partir dessa amostra é influenciada por fatores genéticos e ambientais, assim como por fatores econômicos, como o acesso aos serviços de saúde. Nesse contexto, estudos multicêntricos futuramente permitirão uma avaliação mais abrangente da população de pacientes com ES, obedecendo-se às diferenças regionais. A inclusão de pacientes com outras doenças reumatológicas imunomediadas sobrepostas à ES podem ter influenciado os resultados encontrados, uma vez que indivíduos com AR, LES ou DSj associados apresentam mecanismos inflamatórios, que somados aos da ES, podem interferir nos parâmetros hematológicos avaliados.

Este estudo possibilita uma análise abrangente de parâmetros hematológicos e sua associação com os principais desfechos clínicos na população de pacientes com ES, e serve como base para futuros estudos longitudinais. A ES é ainda uma doença com elevada morbimortalidade, e que apresenta impacto na qualidade de vida. Por este motivo, a análise de biomarcadores com papel no diagnóstico precoce das manifestações mais graves da ES, especialmente aqueles com melhor custo-benefício, apresenta uma relevância significativa para a prática clínica.

8. CONCLUSÃO

Nosso estudo conclui que pacientes com ES apresentam maior atividade inflamatória representada pela elevação dos níveis de RMH, RPL, RNL e IIS, em

comparação à população sem diagnóstico de doença reumatológica imunomediada. Além disso, estes parâmetros hematológicos podem estar associados aos acometimentos cutâneo, pulmonar e vascular periférico na ES.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹Allanore Y, Simms R, Distler O, Trojanowska M, Pope J, Denton CP, Varga J. Systemic sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Apr 23;1:15002. doi: 10.1038/nrdp.2015.2. PMID: 27189141.

²Sampaio-Barros PD, Zimmermann AF, Müller de S, Borges CT, Freire EA, Marette GB, Marques Neto JF, Salgado MC, Sauma Mde F, de Azevedo MN, Fontenelle S, Kayser C; Systemic Sclerosis Commission of the Brazilian Society of Rheumatology. Recommendations for the management and treatment of systemic sclerosis. *Rev Bras Reumatol*. 2013 May-Jun;53(3):258-75. English, Portuguese. PMID: 24051909.

³Horimoto, Alex Magno & Naka, Erica & Costa, Márcio & Takahashi, Fernanda & Rezende, Marcelo & Kanomata, Letícia & Locatelli, Elisangela & Finotti, Leandro & Maegawa, Flávia & Rondon, Rosa & Machado, Natalia & Figueiredo, Túlia & Ovidio, Raphael & Costa, Izaías. (2016). Incidência e prevalência de esclerose sistêmica em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 10.1016/j.rbr.2016.05.008.

⁴Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet*. 2017 Oct 7;390(10103):1685-1699. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30933-9. Epub 2017 Apr 13. PMID: 28413064.

⁵Volkman ER, Andréasson K, Smith V. Systemic sclerosis. *Lancet*. 2023 Jan 28;401(10373):304-318. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01692-0. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36442487; PMCID: PMC9892343.

⁶FREIRE, EAM, SOUZA, EJR, DANTAS, AT, CAPOBIANCO, KG. Esclerose Sistêmica. In: SHINJO, S.K, MOREIRA, C. Livro da Sociedade Brasileira de Reumatologia. 3. ed. Barueri - São Paulo: Manole. 2023.

⁷WEST, S.; KOLFENBACH, J. R. Rheumatology secrets. 4ª edição. Filadélfia: Elsevier, 2019.

⁸Herrick AL, Assassi S, Denton CP. Skin involvement in early diffuse cutaneous systemic sclerosis: an unmet clinical need. *Nat Rev Rheumatol*. 2022 May;18(5):276-285. doi: 10.1038/s41584-022-00765-9. Epub 2022 Mar 15. PMID: 35292731; PMCID: PMC8922394.

⁹van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, Matucci-Cerinic M, Naden RP, Medsger TA Jr, Carreira PE, Riemekasten G, Clements PJ, Denton CP, Distler O, Allanore Y, Furst DE, Gabrielli A, Mayes MD, van Laar JM, Seibold JR, Czirjak L, Steen VD, Inanc M, Kowal-Bielecka O, Müller-Ladner U, Valentini G, Veale DJ, Vonk MC, Walker UA, Chung L, Collier DH, Ellen Csuka M, Fessler BJ, Guiducci S, Herrick A, Hsu VM, Jimenez S, Kahaleh B, Merkel PA, Sierakowski S, Silver RM, Simms RW, Varga J, Pope JE. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2013 Nov;72(11):1747-55. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204424. PMID: 24092682.

¹⁰LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, Rowell N, Wollheim F. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol*. 1988 Feb;15(2):202-5. PMID: 3361530.

¹¹Pakozdi A, Nihtyanova S, Moinzadeh P, Ong VH, Black CM, Denton CP. Clinical and serological hallmarks of systemic sclerosis overlap syndromes. *J Rheumatol*.

2011 Nov;38(11):2406-9. doi: 10.3899/jrheum.101248. Epub 2011 Aug 15. PMID: 21844148.

¹²Trojanowska M. Cellular and molecular aspects of vascular dysfunction in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol.* 2010 Aug;6(8):453-60. doi: 10.1038/nrrheum.2010.102. Epub 2010 Jun 29. PMID: 20585340; PMCID: PMC3824624.

¹³Kim HB, Kim A, Kim Y, Kim GT, Ahn E, So MW, Sohn DH, Lee SG. Associations of serum monocyte-to-high-density lipoprotein cholesterol ratio with digital ulcers and skin fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol.* 2021 May;50(3):231-238. doi: 10.1080/03009742.2020.1837237. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33243053.

¹⁴Acikgoz N, Kurtoğlu E, Yagmur J, Kapicioglu Y, Cansel M, Ermis N. Elevated Monocyte to High-Density Lipoprotein Cholesterol Ratio and Endothelial Dysfunction in Behçet Disease. *Angiology.* 2018 Jan;69(1):65-70. doi: 10.1177/0003319717704748. Epub 2017 Apr 19. PMID: 28421814.

¹⁵Murphy AJ, Chin-Dusting JP, Sviridov D, Woollard KJ. The anti inflammatory effects of high density lipoproteins. *Curr Med Chem.* 2009;16(6):667-75. doi: 10.2174/092986709787458425. PMID: 19199930.

¹⁶Blythe EN, Weaver LC, Brown A, Dekaban GA. β 2 Integrin CD11d/CD18: From Expression to an Emerging Role in Staged Leukocyte Migration. *Front Immunol.* 2021 Nov 8;12:775447. doi: 10.3389/fimmu.2021.775447. PMID: 34858434; PMCID: PMC8630586.

¹⁷Ganjali S, Gotto AM Jr, Ruscica M, Atkin SL, Butler AE, Banach M, Sahebkar A. Monocyte-to-HDL-cholesterol ratio as a prognostic marker in cardiovascular

diseases. *J Cell Physiol.* 2018 Dec;233(12):9237-9246. doi: 10.1002/jcp.27028. Epub 2018 Aug 4. PMID: 30076716.

¹⁸Jiang M, Yang J, Zou H, Li M, Sun W, Kong X. Monocyte-to-high-density lipoprotein-cholesterol ratio (RMH) and the risk of all-cause and cardiovascular mortality: a nationwide cohort study in the United States. *Lipids Health Dis.* 2022 Mar 18;21(1):30. doi: 10.1186/s12944-022-01638-6. PMID: 35300686; PMCID: PMC8931976.

¹⁹Inonu Koseoglu H, Pazarli AC, Kanbay A, Demir O. Monocyte Count/HDL Cholesterol Ratio and Cardiovascular Disease in Patients With Obstructive Sleep Apnea Syndrome: A Multicenter Study. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018 Jan;24(1):139-144. doi: 10.1177/1076029616677803. Epub 2016 Nov 11. PMID: 27837155; PMCID: PMC6714621.

²⁰Yayla ME, İlgen U, Okatan İE, UsluYurteri E, Torgutalp M, Keleşoğlu Dinçer AB, Aydemir Gülöksüz EG, Sezer S, Turgay TM, Kınıklı G, Ateş A. Association of simple hematological parameters with disease manifestations, activity, and severity in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol.* 2020 Jan;39(1):77-83. doi: 10.1007/s10067-019-04685-0. Epub 2019 Jul 18. PMID: 31317426.

²¹Abdulle AE, Diercks GFH, Feelisch M, Mulder DJ, van Goor H. The Role of Oxidative Stress in the Development of Systemic Sclerosis Related Vasculopathy. *Front Physiol.* 2018 Aug 24;9:1177. doi: 10.3389/fphys.2018.01177. PMID: 30197602; PMCID: PMC6117399.

²²Vona R, Giovannetti A, Gambardella L, Malorni W, Pietraforte D, Straface E. Oxidative stress in the pathogenesis of systemic scleroderma: An overview. *J Cell Mol Med.* 2018 Jul;22(7):3308-3314. doi: 10.1111/jcmm.13630. Epub 2018 Apr 17. PMID: 29664231; PMCID: PMC6010858.

²³Impellizzieri D, Egholm C, Valaperti A, Distler O, Boyman O. Patients with systemic sclerosis show phenotypic and functional defects in neutrophils. *Allergy*. 2022 Apr;77(4):1274-1284. doi: 10.1111/all.15073. Epub 2021 Sep 20. PMID: 34467524; PMCID: PMC9293168.

²⁴Peng YF, Cao L, Zeng YH, Zhang ZX, Chen D, Zhang Q, Zhu YS. Platelet to lymphocyte ratio and neutrophil to lymphocyte ratio in patients with rheumatoid arthritis. *Open Med (Wars)*. 2015 Apr 14;10(1):249-253. doi: 10.1515/med-2015-0037. PMID: 28352702; PMCID: PMC5152974.

²⁵Castelino DJ, McNair P, Kay TW. Lymphocytopenia in a hospital population--what does it signify? *Aust N Z J Med*. 1997 Apr;27(2):170-4. doi: 10.1111/j.1445-5994.1997.tb00934.x. PMID: 9145181.

²⁶Brown M, O'Reilly S. The immunopathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol*. 2019 Mar;195(3):310-321. doi: 10.1111/cei.13238. Epub 2018 Dec 10. PMID: 30430560; PMCID: PMC6378383.

²⁷Bhat T, Teli S, Rijal J, Bhat H, Raza M, Khoueiry G, Meghani M, Akhtar M, Costantino T. Neutrophil to lymphocyte ratio and cardiovascular diseases: a review. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2013 Jan;11(1):55-9. doi: 10.1586/erc.12.159. PMID: 23259445.

²⁸Heshmat-Ghahdarijani K, Sarmadi V, Heidari A, Falahati Marvasti A, Neshat S, Raeisi S. The neutrophil-to-lymphocyte ratio as a new prognostic factor in cancers: a narrative review. *Front Oncol*. 2023 Oct 4;13:1228076. doi: 10.3389/fonc.2023.1228076. PMID: 37860198; PMCID: PMC10583548.

²⁹Łukasik ZM, Makowski M, Makowska JS. From blood coagulation to innate and adaptive immunity: the role of platelets in the physiology and pathology of autoimmune disorders. *Rheumatol Int*. 2018 Jun;38(6):959-974. doi:

10.1007/s00296-018-4001-9. Epub 2018 Feb 28. PMID: 29492586; PMCID: PMC5954012.

³⁰Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. *Ann Lab Med*. 2019 Jul;39(4):345-357. doi: 10.3343/alm.2019.39.4.345. PMID: 30809980; PMCID: PMC6400713.

³¹Sarhan SA, El-Meligui YM. Significance of platelets to lymphocytes and platelets to haemoglobin ratios in patients with systemic sclerosis. *Reumatol Clin (Engl Ed)*. 2023 Jan;19(1):12-17. doi: 10.1016/j.reumae.2021.11.005. PMID: 36603962.

³²Hampole CV, Mehrotra AK, Thenappan T, Gomberg-Maitland M, Shah SJ. Usefulness of red cell distribution width as a prognostic marker in pulmonary hypertension. *Am J Cardiol*. 2009 Sep 15;104(6):868-72. doi: 10.1016/j.amjcard.2009.05.016. PMID: 19733726.

³³Förhécz Z, Gombos T, Borgulya G, Pozsonyi Z, Prohászka Z, Jánoskúti L. Red cell distribution width in heart failure: prediction of clinical events and relationship with markers of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state. *Am Heart J*. 2009 Oct;158(4):659-66. doi: 10.1016/j.ahj.2009.07.024. Epub 2009 Aug 26. PMID: 19781428.

³⁴Farkas N, Szabó A, Lóránd V, Sarlós DP, Minier T, Prohászka Z, Cziráj L, Varjú C. Clinical usefulness of measuring red blood cell distribution width in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014 Aug;53(8):1439-45. doi: 10.1093/rheumatology/keu022. Epub 2014 Mar 21. PMID: 24659752.

³⁵Zhao J, Mo H, Guo X, Wang Q, Xu D, Hou Y, Tian Z, Liu Y, Wang H, Lai J, Li M, Zeng X. Red blood cell distribution width as a related factor of pulmonary arterial hypertension in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2018

Apr;37(4):979-985. doi: 10.1007/s10067-017-3918-9. Epub 2017 Nov 21. PMID: 29164429.

³⁶Candemir M, Kiziltunç E, Nurkoç S, Şahinarslan A. Relationship Between Systemic Immune-Inflammation Index (IIS) and the Severity of Stable Coronary Artery Disease. *Angiology*. 2021 Jul;72(6):575-581. doi: 10.1177/0003319720987743. Epub 2021 Mar 9. PMID: 33685239.

³⁷Ruta VM, Man AM, Alexescu TG, Motoc NS, Tarmure S, Ungur RA, Todea DA, Coste SC, Valean D, Pop MC. Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio and Systemic Immune-Inflammation Index-Biomarkers in Interstitial Lung Disease. *Medicin (Kaunas)*. 2020 Jul 29;56(8):381. doi: 10.3390/medicina56080381. PMID: 32751302; PMCID: PMC7466218.

³⁸Wu J, Yan L, Chai K. Systemic immune-inflammation index is associated with disease activity in patients with ankylosing spondylitis. *J Clin Lab Anal*. 2021 Sep;35(9):e23964. doi: 10.1002/jcla.23964. Epub 2021 Aug 21. PMID: 34418163; PMCID: PMC8418483.

³⁹Ozdemir A, Baran E, Kutu M, Celik S, Yılmaz M. Could systemic immune inflammation index be a new parameter for diagnosis and disease activity assessment in systemic lupus erythematosus? *Int Urol Nephrol*. 2023 Jan;55(1):211-216. doi: 10.1007/s11255-022-03320-3. Epub 2022 Aug 2. PMID: 35918626.

⁴⁰Kim Y, Choi H, Jung SM, Song JJ, Park YB, Lee SW. Systemic immune-inflammation index could estimate the cross-sectional high activity and the poor outcomes in immunosuppressive drug-naïve patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Nephrology (Carlton)*. 2019 Jul;24(7):711-717. doi: 10.1111/nep.13491. Epub 2019 Apr 29. PMID: 30203901.

⁴¹Taha SI, Samaan SF, Ibrahim RA, Moustafa NM, El-Sehsah EM, Youssef MK. Can Complete Blood Count Picture Tell Us More About the Activity of Rheumatological Diseases? *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*. 2022 Apr 22;15:11795441221089182. doi: 10.1177/11795441221089182. PMID: 35481333; PMCID: PMC9036329.

⁴²Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Airò P, Cozzi F, Carreira PE, Bancel DF, Allanore Y, Müller-Ladner U, Distler O, Iannone F, Pellerito R, Pilecky M, Miniati I, Ananieva L, Gurman AB, Damjanov N, Mueller A, Valentini G, Riemekasten G, Tikly M, Hummers L, Henriques MJ, Caramaschi P, Scheja A, Rozman B, Ton E, Kumánovics G, Coleiro B, Feierl E, Szucs G, Von Mühlen CA, Riccieri V, Novak S, Chizzolini C, Kotulska A, Denton C, Coelho PC, Kötter I, Simsek I, de la Pena Lefebvre PG, Hachulla E, Seibold JR, Rednic S, Stork J, Morovic-Vergles J, Walker UA. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis*. 2010 Oct;69(10):1809-15. doi: 10.1136/ard.2009.114264. Epub 2010 Jun 15. PMID: 20551155.

⁴³Bournia VK, Fragoulis GE, Mitrou P, Mathioudakis K, Tsolakidis A, Konstantonis G, et al. All-cause mortality in systemic rheumatic diseases under treatment compared with the general population, 2015–2019. *RMD Open*. 2021;7:e001694.

⁴⁴Al-Dhaher FF, Pope JE, Ouimet JM. Determinants of morbidity and mortality of systemic sclerosis in Canada. *Semin Arthritis Rheum*. 2010 Feb;39(4):269-77. doi: 10.1016/j.semarthrit.2008.06.002. Epub 2008 Aug 15. PMID: 18706680.

⁴⁵Ross, L., Baron, M. & Nikpour, M. Defining Disease Activity in Systemic Sclerosis. *Curr Treat Options in Rheum* 11, 4 (2025). <https://doi.org/10.1007/s40674-025-00224-y>.

- ⁴⁶Lafyatis, R., Valenzi, E. Assessment of disease outcome measures in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol* 18, 527–541 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41584-022-00803-6>.
- ⁴⁷Ponce MC, Sankari A, Sharma S. Pulmonary Function Tests. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482339/>.
- ⁴⁸Kontush A. HDL-mediated mechanisms of protection in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2014 Aug 1;103(3):341-9. doi: 10.1093/cvr/cvu147. Epub 2014 Jun 15. PMID: 24935434.
- ⁴⁹Jendrek ST, Schmelter F, Schinke S, Hackel A, Graßhoff H, Lamprecht P, Humrich JY, Sina C, Müller A, Günther U, Riemekasten G. Metabolomic signature identifies HDL and apolipoproteins as potential biomarker for systemic sclerosis with interstitial lung disease. *Respir Med*. 2024 Nov-Dec;234:107825. doi: 10.1016/j.rmed.2024.107825. Epub 2024 Sep 30. PMID: 39357678.
- ⁵⁰Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratisl Lek Listy*. 2021;122(7):474-488. doi: 10.4149/BLL_2021_078. PMID: 34161115.
- ⁵¹Denton CP, Bickerstaff MC, Shiwen X, Carulli MT, Haskard DO, Dubois RM, Black CM. Serial circulating adhesion molecule levels reflect disease severity in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol*. 1995 Nov;34(11):1048-54. doi: 10.1093/rheumatology/34.11.1048. PMID: 8542206.
- ⁵²Esheba N, Shahba A. Assessment of Neutrophil Lymphocyte Ratio in Systemic Sclerosis Patients in Tanta University Hospital: A Promising Marker in Predicting Disease Severity. *Egypt J Rheumatol Clin Immunol*. 2016;4(1):33-41. doi: 10.21608/ejrci.2015.4475.

⁵³Nejatifar F, Mirbolouk N, Masooleh IS, Kazemnejad E, Ghavidel-Parsa B, Ghanbari AM, Zayeni H. Association between neutrophil/lymphocyte ratio and disease severity in scleroderma patients. *Heliyon*. 2023 Sep 30;9(10):e20576. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e20576. PMID: 37860553; PMCID: PMC10582306.

⁵⁴Zinellu A, Mangoni AA. The association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and monocyte-to-lymphocyte ratio and systemic sclerosis and its complications: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2024 May 10;15:1395993. doi: 10.3389/fimmu.2024.1395993. PMID: 38799443.

⁵⁵Sakr BR, Rabea RE, Abd ElHamid SM. Value of hematological parameters as biomarkers of disease manifestations and severity in systemic sclerosis. *Egypt Rheumatol*. 2020;42(4):287-291. doi:10.1016/j.ejr.2020.06.008.

⁵⁶Tezcan D, Turan Ç, Yılmaz S, Sivrikaya A, Gülcemal S, Limon M, Ecer B. What do simple hematological parameters tell us in patients with systemic sclerosis? *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2020 Sep;29(3):101-107. PMID: 32975295.

⁵⁷Kim A, Kim Y, Kim GT, Ahn E, So MW, Sohn DH, Lee SG. Platelet-to-lymphocyte ratio and neutrophil-to-lymphocyte ratio as potential makers for digital ulcers and interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis: cross-sectional analysis of data from a prospective cohort study. *Rheumatol Int*. 2020 Jul;40(7):1071-1079. doi: 10.1007/s00296-020-04604-6. Epub 2020 May 18. PMID: 32424613.

⁵⁸Ramirez GA, Franchini S, Rovere-Querini P, Sabbadini MG, Manfredi AA, Maugeri N. The role of platelets in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Front Immunol*. 2012 Jun 18;3:160. doi: 10.3389/fimmu.2012.00160. PMID: 22719739; PMCID: PMC3376452.

⁵⁹Ntelis K, Bogdanos D, Dimitroulas T, Sakkas L, Daoussis D. Platelets in Systemic Sclerosis: the Missing Link Connecting Vasculopathy, Autoimmunity, and Fibrosis? *Curr Rheumatol Rep*. 2019 Mar 4;21(5):15. doi: 10.1007/s11926-019-0815-z. PMID: 30830444.

⁶⁰Ye, Gl., Chen, Q., Chen, X. *et al*. The prognostic role of platelet-to-lymphocyte ratio in patients with acute heart failure: A cohort study. *Sci Rep* 9, 10639 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47143-2>

⁶¹Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. *Ann Lab Med*. 2019 Jul;39(4):345-357. doi: 10.3343/alm.2019.39.4.345. PMID: 30809980; PMCID: PMC6400713.

⁶²Vural S, Muhtaroglu A, Güngör M. Systemic immune-inflammation index: A new marker in differentiation of different thyroid diseases. *Medicine (Baltimore)*. 2023 Aug 4;102(31):e34596. doi: 10.1097/MD.00000000000034596. PMID: 37543770; PMCID: PMC10402992.

⁶³Zhang F, Niu M, Wang L, Liu Y, Shi L, Cao J, Mi W, Ma Y, Liu J. Systemic-Immune-Inflammation Index as a Promising Biomarker for Predicting Perioperative Ischemic Stroke in Older Patients Who Underwent Non-cardiac Surgery. *Front Aging Neurosci*. 2022 Apr 1;14:865244. doi: 10.3389/fnagi.2022.865244. Erratum in: *Front Aging Neurosci*. 2022 Dec 08;14:1101574. doi: 10.3389/fnagi.2022.1101574. PMID: 35431888; PMCID: PMC9010030.

⁶⁴Yin, X., Zhang, Y., Zou, J. *et al*. Association of the systemic immune-inflammation index with all-cause and cardiovascular mortality in individuals with rheumatoid arthritis. *Sci Rep* 14, 15129 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66152-4>

⁶⁵Palici C, Dinescu SC, Bită CE, Florescu A, Musetescu AE, Vreju F, Ciurea PL. Assessment of Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Systemic Immune-Inflammation Index in Systemic Scleroderma Patients with Focus on Cardiopulmonary Manifestations. *Curr Health Sci J*. 2024 Jul-Sep;50(5):421-427. doi: 10.12865/CHSJ.50.03.09. Epub 2024 Sep 30. PMID: 39574823; PMCID: PMC11578356.

⁶⁶Sato LT, Kayser C, Andrade LE. Nailfold capillaroscopy abnormalities correlate with cutaneous and visceral involvement in systemic sclerosis patients. *Acta Reumatol Port*. 2009 Apr-Jun;34(2A):219-27. PMID: 19474777.

⁶⁷Souza EJ, Kayser C. Nailfold capillaroscopy: relevance to the practice of rheumatology. *Rev Bras Rheumatol* 2015;55:264–71.

⁶⁸Soulaidopoulos S, Triantafyllidou E, Garyfallos A, Kitis GD, Dimitroulas T. The role of nailfold capillaroscopy in the assessment of internal organ involvement in systemic sclerosis: A critical review. *Autoimmun Rev*. 2017 Aug;16(8):787-795. doi: 10.1016/j.autrev.2017.05.019. Epub 2017 May 30. PMID: 28576600.

⁶⁹Kayser C, Bredemeier M, Caleiro MT, Capobianco K, Fernandes TM, de Araújo Fontenele SM, Freire E, Lonzetti L, Miossi R, Sekiyama J, de Souza Müller C. Position article and guidelines 2018 recommendations of the Brazilian Society of Rheumatology for the indication, interpretation and performance of nailfold capillaroscopy. *Adv Rheumatol*. 2019 Jan 22;59(1):5. doi: 10.1186/s42358-018-0046-4. PMID: 30670098.

⁷⁰Sulli A, Ruaro B, Alessandri E, Pizzorni C, Cimmino MA, Zampogna G, Gallo M, Cutolo M. Correlations between nailfold microangiopathy severity, finger dermal thickness and fingertip blood perfusion in systemic sclerosis patients. *Ann*

Rheum Dis. 2014 Jan;73(1):247-51. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202572. Epub 2013 May 3. PMID: 23644551.

⁷¹Bhakuni DS, Vasdev V, Garg MK, Narayanan K, Jain R, Mullick G. Nailfold capillaroscopy by digital microscope in an Indian population with systemic sclerosis. *Int J Rheum Dis*. 2012 Feb;15(1):95-101. doi: 10.1111/j.1756-185X.2011.01699.x. Epub 2011 Dec 4. PMID: 22324952.

⁷²Avouac J, Vallucci M, Smith V, Senet P, Ruiz B, Sulli A, Pizzorni C, Frances C, Chiocchia G, Cutolo M, Allanore Y. Correlations between angiogenic factors and capillaroscopic patterns in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*. 2013 Apr 19;15(2):R55. doi: 10.1186/ar4217. PMID: 23601622; PMCID: PMC4060197.

⁷³Caramaschi P, Canestrini S, Martinelli N, Volpe A, Pieropan S, Ferrari M, Bambara LM, Carletto A, Biasi D. Scleroderma patients nailfold videocapillaroscopic patterns are associated with disease subset and disease severity. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 Oct;46(10):1566-9. doi: 10.1093/rheumatology/kem190. Epub 2007 Aug 10. PMID: 17693443.

⁷⁴Boulon C, Aiouaz S, Blaise S, Mangin M, Decamps-Le Chevoir J, Senet P, Lazareth I, Baudot N, Tribout L, Imbert B, Lapebie FX, Lacroix P, Truchetet ME, Seneschal J, Solanilla A, Skopinski S, Lazaro E, Quéré I, Pistorius MA, Le Hello C, Perez P, Carpentier P, Constans J. Correlation between capillaroscopic classifications and severity in systemic sclerosis: results from SCLEROCAP study at inclusion. *Clin Exp Rheumatol*. 2019 Jul-Aug;37 Suppl 119(4):63-68. Epub 2019 May 30. PMID: 31172926.

⁷⁵Theunuo R, Sasidharanpillai S, Manikath N, Devi K, Samad KA, Derapi J, et al. Relation between nailfold capillaroscopic pattern (assessed using a dermoscope) and organ involvement in systemic sclerosis. *J Skin Sex Transm Dis* 2022;4:68-75.

⁷⁶Niklas K, Niklas A, Mularek-Kubzdela T, Puszczewicz M, Samborski W. Relationship between changes observed in nailfold capillaroscopy and serological profile, lung fibrosis, and elevated risk of pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and mixed connective tissue disease. *Postepy Dermatol Alergol.* 2022 Oct;39(5):880-886. doi: 10.5114/ada.2022.120882. Epub 2022 Nov 9. PMID: 36457689; PMCID: PMC9704465.

⁷⁷da Silva LSM, Lima ARAG, Pucinelli MLC, Atra E, Andrade LEC. Capilaroscopia panorâmica periungueal e sua aplicação em doenças reumáticas. *Rev Assoc Med Bras.* 1997;43(1):69-73.

⁷⁸Bredemeier M, Xavier RM, Capobianco KG, Restelli VG, Rohde LE, Pinotti AF, Pitrez EH, Vieira MV, Fontoura MA, Ludwig DH, Brenol JC. Nailfold capillary microscopy can suggest pulmonary disease activity in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2004 Feb;31(2):286-94. PMID: 14760798.

⁷⁹Haque, T., Shahin, M. A. ., Islam, M. A. ., Bandhan, I. H., Choudhury, M. R. ., Haq, S. A. ., & Zaman, M. M. . (2024). Association of nailfold capillaroscopic findings with clinical features in patients with systemic sclerosis. *Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal*, 17(1), e71879. <https://doi.org/10.3329/bsmmuj.v17i1.71879>.

⁸⁰Lamova SN, Müller-Ladner U. Nailfold capillaroscopy in systemic sclerosis - state of the art: The evolving knowledge about capillaroscopic abnormalities in systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord.* 2019 Oct;4(3):200-211. doi: 10.1177/2397198319833486. Epub 2019 Apr 15. PMID: 35382505; PMCID: PMC8922564.

⁸¹Sebastiani M, Manfredi A, Colaci M, D'amico R, Malagoli V, Giuggioli D, Ferri C. Capillaroscopic skin ulcer risk index: a new prognostic tool for digital skin ulcer

development in systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum.* 2009 May 15;61(5):688-94. doi: 10.1002/art.24394. PMID: 19405007.

⁸²Bernardino, Vera & Rodrigues, Ana & Fernandes, Melissa & Lladó, Ana & Panarra, António. Neutrophil to lymphocyte ratio and microcirculation impact in patients with systemic sclerosis - a cross-sectional study. 6th Systemic Sclerosis World Congress - 2020. Online

⁸³Cornwell MG, Luttrell-Williams ES, Golpanian M, El Bannoudi H, Myndzar K, Izmirly P, Belmont HM, Katz S, Smilowitz NR, Engel A, Clancy R, Ruggles K, Buyon JP, Berger JS. Hydroxychloroquine is associated with lower platelet activity and improved vascular health in systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2021 Mar;8(1):e000475. doi: 10.1136/lupus-2021-000475. PMID: 33737451; PMCID: PMC7978255.

⁸⁴Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol.* 2020 Mar;16(3):155-166. doi: 10.1038/s41584-020-0372-x. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32034323.

⁸⁵Li R, Lin H, Ye Y, Xiao Y, Xu S, Wang J, Wang C, Zou Y, Shi M, Liang L, Xu H. Attenuation of antimalarial agent hydroxychloroquine on TNF- α -induced endothelial inflammation. *Int Immunopharmacol.* 2018 Oct;63:261-269. doi: 10.1016/j.intimp.2018.08.008. Epub 2018 Aug 16. PMID: 30121047.