

PUCRS

ESCOLA DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE  
MESTRADO

DEONILSON GHIZONI SCHMOELLER

**PERFIL DE ÍNDICES PLAQUETÁRIOS EM PACIENTES COM LÚPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Porto Alegre  
2017

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE  
ESCOLA DE MEDICINA  
MESTRADO

DEONILSON GHIZONI SCHMOELLER

**PERFIL DE ÍNDICES PLAQUETÁRIO EM PACIENTES COM LÚPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Porto Alegre,

2017

DEONILSON GHIZONI SCHMOELLER

**PERFIL DE ÍNDICES PLAQUETÁRIO EM PACIENTES COM LÚPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Luiz Carlos Bodanese

Co-Orientador: Henrique Luiz Staub

**Porto Alegre,**

**2017**

## Ficha Catalográfica

S356p Schmoeller, Deonilson Ghizoni

Perfil de Índices Plaquetários em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico / Deonilson Ghizoni Schmoeller . – 2017.

62 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Bodanese.

Co-orientador: Prof. Dr. Henrique Luiz Staub.

1. Lúpus Eritematoso Sistêmico. 2. Índices plaquetários. 3. Volume Plaquetário Médio. 4. Índice de Plaquetas Imaturas. I. Bodanese, Luiz Carlos. II. Staub, Henrique Luiz. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecário responsável: Marcelo Votto Teixeira CRB-10/1974

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por todas as graças que sempre recebi e estar presente na minha vida.

Ao Prof. Dr Henrique, meu orientador e mentor, sempre incentivando e me apoiando. Mesmo em horas conturbadas sempre esteve ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Luiz C. Bodanese, aceitando assumir a orientação do meu mestrado, demonstrando toda sua competência e sabedoria.

A Prof. Terezinha Paz do laboratório de hematologia de PUCRS, pela amizade e sempre estar disponível. Excelente profissional e competência invejável.

Ao serviço de reumatologia, principalmente ao Dr. Mauro, Dra. Inês, Dra. Mercedes e a Dra. Cristina, que sempre me incentivaram. Muito obrigado pelos conselhos extremamente valiosos. Obrigado também a Lourdes e a Hiedi pelo carinho e a compreensão.

Aos pacientes do ambulatório de reumatologia do hospital São Lucas da PUCRS por terem aceitados a participar da pesquisa.

Ao meus pais, Nelson e Anair, pela educação, amor e princípios que me deram. Aos meus irmãos, Rosangela, Rosane e Benilson que sempre, apesar de longe, estiveram juntos comigo em tudo.

Um agradecimento especial a minha noiva, Joyce, me apoiando e ajudando em todos os momentos. Exemplo de pessoa e competência. Pelos conselhos sempre incentivadores e a certeza que tudo na vida vai dar certo.

“Cada sonho que você deixa para trás, é um pedaço do seu futuro que deixa de existir”.

Steve Jobs

“Aquilo que eu escuto eu esqueço, Aquilo que eu vejo eu lembro, Aquilo que eu Faço eu aprendo”

Confúcio

## **Resumo:**

**Introdução:** O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune crônica de origem ainda desconhecida, podendo causar lesões inflamatórias em diversos órgãos. Nos últimos anos, têm sido atribuído às plaquetas funções relacionadas na fisiopatogenia da autoimunidade, inflamação, aterosclerose e imunologia do câncer. O papel das plaquetas como marcador de inflamação no LES constitui área de interesse na atualidade. O volume plaquetário médio (VPM) tem sido o índice mais estudado nas doenças autoimunes recentemente, mas o uso do índice de plaquetas imaturas (IPI) pode trazer novas luzes no conhecimento da atividade plaquetária no LES e ainda não temos descrição do seu comportamento no LES.

**Objetivo:** Quantificar os índices plaquetários (plaquetometria, VPM e IPI) em pacientes com LES ativo e inativo comparativamente a controles sadios de banco de sangue. Em paralelo, correlacionar os índices entre si e com alterações laboratoriais da doença.

**Métodos:** Estudo transversal, controlado. Adultos com LES de acordo com os critérios do ACR 1997 e controles sadios de banco de sangue compuseram os grupos. A plaquetometria e o VPM foram obtidos em contador automatizado XE-5000. O IPI foi expresso de forma percentual por citometria de fluxo, sendo positivas as células com fluorescência para RNA citoplásmico.

**Resultados:** Quarenta e cinco pacientes com LES (30 inativos) e 257 controles foram avaliados. A mediana do IPI foi significativamente maior no LES ativo do que em controles sadios ( $p=0,032$ ). Houve correlação significativa do IPI com o VPM na população lúpica ( $p<0,001$ ;  $r_s=0,519$ ) e nos controles ( $p<0,001$ ,  $r_s=0,845$ ). Uma correlação inversa entre IPI e plaquetometria foi observada nos lúpicos ativos ( $p=0,025$ ;  $r_s=0,575$ ). Não houve associação entre IPI e presença de anti-DNA.

**Conclusão:** Os resultados do nosso estudo apontam para IPI elevado em pacientes com LES ativo comparativamente a controles sadios. A correlação inversa do IPI com plaquetometria no LES ativo é um achado instigante e pode

estimular novas pesquisas. O papel do IPI como marcador inflamatório no LES demanda confirmação futura.

**Palavras chaves:** Lúpus eritematoso sistêmico; índice de plaquetas imaturas; Volume plaquetário médio; Índices plaquetários;



## **Abstract:**

**Introduction:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease of unknown origin that can cause inflammatory lesions in various organs. In recent years, platelet-related functions have been assigned in the pathophysiology of autoimmunity, inflammation, atherosclerosis and cancer immunology. The role of platelets as a marker of inflammation in SLE is an area of interest today. Mean platelet volume (MPV) has been the most studied index in autoimmune diseases recently, but the use of the immature platelet fraction (IPF) may bring new insights into the knowledge of platelet activity in SLE and we do not yet have a description of its behavior in SLE.

**Objective:** To quantify platelet indexes (platelet, MPV and IPF) in patients with active and inactive SLE compared to healthy blood bank controls. In parallel, correlate the indices with each other and with laboratory abnormalities of the disease.

**Methods:** Cross-sectional, controlled study. Adults with SLE according to the ACR 1997 criteria and healthy blood bank controls made up the groups. The platelet and MPV were obtained in automated counter XE-5000. The IPF was expressed as a percentage by flow cytometry, and cells with fluorescence for cytoplasmic RNA were positive.

**Results:** Forty-five patients with SLE (30 inactive) and 257 controls were evaluated. The median IPF was significantly higher in active SLE than in healthy controls ( $p = 0.032$ ). There was a significant correlation between IPF and MVP in the lupus population ( $p < 0.001$ ,  $r_s = 0.519$ ) and controls ( $p < 0.001$ ,  $r_s = 0.845$ ). An inverse correlation between IPF and platelet counts was observed in active lupus ( $p = 0.025$ ;  $r_s = 0.575$ ). There was no association between IPF and presence of anti-DNA.

**Conclusion:** The results of our data point to elevated IPF in patients with active SLE compared to healthy controls. The inverse correlation of IPF with plateletometry in active SLE is instigating finding and may stimulate further research. The role of IPF as an inflammatory marker in SLE demands future confirmation.

Key words: Systemic lupus erythematosus; immature platelet fraction; Mean platelet volume; platelet indexes;

## Sumário

Lista de abreviaturas .....	12
1-Introdução .....	13
1.1-Definição .....	13
1.2-Epidemiologia .....	13
1.3-Etiologia .....	15
1.4-Patogênese .....	16
1.5-Manifestações.....	16
1.6-Critérios diagnósticos.....	19
1.7-Plaquetas .....	21
1.8-Índices plaquetários .....	24
2- Justificativa .....	26
3-Objetivo .....	27
4-Referências.....	28
5-Artigo submetido para publicação .....	39
6-Anexo 1: SLEDAI .....	53
7-Anexo 2: Critérios de LES segundo ACR revisado em 1997 .....	55
8-Anexo 3: Ficha Cadastral .....	56
9- Termo de Consentimento Livre Esclarecido .....	57
10- Artigo de revisão publicado.....	59

## Lista de abreviaturas

ACR: *American College of Rheumatology*

Anti-DNA: antiDNA- dupla hélice

AVC: Acidente vascular cerebral

FAN: Fator antinucleo

LES: Lúpus eritematoso sistêmico

IAM: Infarto agudo do miocárdico

IgG :Imunoglobulina subclasse G

IgM: Imunoglobulina subclasse M

IPI: Índice de plaquetas imaturas

IPF: *Immature platelet fraction*

PCR: Proteína C reativa

PTI: Purpura trombocitopenica autoimune

PUCRS: Pontifícia universidade católica do Rio Grande do Sul

RNA: ácido ribonucleico

SLEDAI: *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*

VPM: Volume plaquetário médio

VHS: Velocidade de hemossedimentação

## **1-Introdução**

### **1.1- Definição**

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica de origem desconhecida, que cursa com a produção de autoanticorpos contra antígenos nucleares do próprio organismo, formação de imunocomplexos e depósitos dos mesmos em diferentes órgãos e tecidos, provocando reação inflamatória e dano tecidual nos diversos sistemas do nosso corpo. A gravidade é muito variável, dependendo sobretudo de quais os órgãos estão sendo acometidos. A maioria dos pacientes apresenta as formas leves da doença, como ocorre no acometimento cutâneo e articular. Já os paciente com lesão renal e sistema nervoso central têm maior gravidade e mortalidade mais expressiva (1)(2)(3)(4).

As manifestações clínicas e sorológicas da doença podem ser as mais variadas possíveis; como artrite, lesões de pele, lesões renais, vasculites, acometimento das serosas, alterações hematológicas como anemia, leucopenia e plaquetopenia, presença de autoanticorpos, consumo de complemento, alterações no sistema nervoso central, miosite, pneumonite, dentre outras. Neste contexto, foram elaborados critérios clínicos e sorológicos para o diagnóstico de LES pelo ACR (*American College of Rheumatology*) em 1982 e revisados em 1997 (Tabela-1). Conforme esses critérios, são considerados como portadores da doença, aqueles que preencherem 4 ou mais dos critérios anteriores (1)(2)(5)(6)(7).

### **1.2- Epidemiologia**

O LES pode ocorrer em qualquer faixa etária, com maior prevalência entre os 16 e 55 anos de idade. Ocorre mais frequentemente entre mulheres durante a idade fértil (2)(7).

A prevalência é estimada em 20 a 150 casos por 100 mil habitantes, acomete indivíduos de todas as idades com predomínio de mulheres jovens, com

uma relação de 9 mulheres para cada homem em adultos e 3 mulheres para cada homem na população pediátrica. Nos últimos anos, houve um aumento da incidência em 3 vezes, muito devido ao diagnóstico mais precoce e das formas mais leves da doença(8)(9)(10).

As taxas de incidência na América do Norte, América do Sul e na Europa são estimadas em 2 a 8 casos por 100 mil habitantes. No Brasil, estudos realizados nas cidades de Natal-RN e Cascavel-PR, mostraram uma incidência de 8,7 e 4,8 casos novos por 100 mil respectivamente (8)(11).

Dentre as etnias, notou-se uma maior frequência entre as mulheres afro-americanas e hispânicas, quando comparadas com mulheres brancas. Geralmente no grupo de mulheres brancas, a doença é menos grave do que entre as mulheres do outro grupo. Já nos homens, o diagnóstico tende a ser mais tardio e a mortalidade no primeiro ano da doença é maior quando comparados com as mulheres(2)(12).

A sobrevida dos pacientes com LES tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, passando de uma sobrevida média em 5 anos de 50% na década de 1950, para mais de 80-90% em 10 anos na última década. Muito dessa melhoria, se deve ao melhor entendimento da fisiopatogenia do LES, diagnósticos mais precoces da doença, melhorias na assistência e estruturas hospitalares disponíveis (diálise, transplante renal, unidades de terapia intensiva, antibióticos, imunossuppressores, corticoides)(13)(14).

A mortalidade do LES é bimodal. As mortes precoces estão relacionadas à própria atividade da doença, em especial quando se tem o rim e o cérebro acometidos, e ao maior risco de infecções graves relacionados à terapia imunossupressora agressiva, necessária no início do quadro ou durante uma ativação da doença. As mortes tardias decorrem das próprias complicações crônicas do LES e relacionadas as doenças cardiovasculares (infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular cerebral (AVC)). Nestes pacientes, se observa uma aterosclerose precoce e acelerada quando comparados à população sadia. Numa coorte canadense se observou uma razão de incidência para IAM, AVC e risco cardiovascular (IAM e AVC) respectivamente de 6,4, 4,4 e 9,9 eventos por 1000 pessoas ano. O risco relativo dos pacientes com LES foi

2,61 para IAM, 2,14 para AVC e 2,28 para doenças cardiovasculares quando comparados com pacientes não lúpicos (2)(13)(15)(16)(17).

### **1.3- Etiologia**

Apesar de não se conhecer sua etiologia, admite-se que diferentes fatores contribuam para o desenvolvimento do LES. Para cada paciente, o peso de cada fator parece ser diferente. Fatores genéticos são demonstrados pela maior prevalência de LES em parentes de primeiro e segundo grau; fatores ambientais, principalmente exposição raio ultravioleta e compostos químicos, infecções virais, hormônios sexuais e fatores emocionais são outros fatores conhecidos (7)(12)(18)(19).

**Fatores genéticos:** Maior prevalência de doenças autoimunes em familiares; gêmeos monozigotos com maior concordância que os gêmeos dizigotos; presença maior de autoanticorpos em parentes de primeiro grau quando comparados com familiares controles.

**Fatores ambientais:** O mais conhecido na ativação da doença, é a exposição à radiação ultravioleta. O aumento de autoantígenos na corrente sanguínea provenientes da apoptose dos queratinócitos expostos a luz e alvos dos autoanticorpos circulantes pode ser o mecanismo da ativação da doença.

**Fatores infecciosos:** Vários microrganismos são relacionados como responsáveis pelo gatilho imunológico para desencadear ou ativar o LES. O mais relacionado, e o que tem maior número de estudos, é a infecção pelo vírus Epstein-Barr em indivíduos geneticamente predispostos.

**Fatores hormonais:** Uma maior prevalência em mulheres em idade fértil, mulheres que fazem uso de contraceptivos hormonais, mulheres após a menopausa que utilizam reposição hormonal, são evidências do hormônio feminino na gênese da doença.

## **1.4 Patogênese**

A quebra da tolerância imunológica decorrente de alterações da resposta imune é a principal hipótese na patogênese do LES. Pessoas geneticamente predispostas, quando expostas a fatores desencadeantes (hormônios, infecções, drogas, radiação, etc.), pode ocorrer a quebra da tolerância imunológica, levando à exposição de autoantígenos as células apresentadoras de antígenos, que por sua vez ativam os linfócitos T. Os linfócitos T autoreativos estimulam os linfócitos B a produzirem autoanticorpos, que irão produzir imunocomplexos e ativar o sistema do complemento em conjunto com a quimiotaxia dos neutrófilos, desencadeando processo inflamatório local e sistêmico que irá provocar lesão tecidual difusa (19).

Além disso, corroboram para a patogênese da doença, uma depuração deficiente de imunocomplexos e das células apoptóticas, fazendo com que estas partículas permaneçam mais tempo na corrente sanguínea e continuam estimulando o sistema imunológico, favorecendo a perpetuação da resposta autoimune(19)(20).

A patogenia envolvendo as citopenias autoimunes são mais amplas. Dentre elas, destacam-se os anticorpos específicos contra a membrana celular, aumento da apoptose e anticorpos contra fatores de crescimento e de proliferação celular (21)(22).

## **1.5- Manifestações Clínicas**

As manifestações clínicas são amplas no LES. Muitas vezes são queixas inespecíficas e vagas de difícil caracterização como sendo de uma doença ou órgão específico. Além do mais, os órgãos ou sistemas podem não serem acometidos simultaneamente, dificultando ainda mais o diagnóstico.

Queixas constitucionais como fadiga, perda de peso, febre e mal estar são queixas comuns no início da doença ou durante a atividade da mesma. A febre geralmente é baixa e predominantemente vespertina. Muitas vezes pode causar confusão com infecções sobrepostas. Devido ao paciente utilizar altas doses de



corticóides e imunossupressores, a febre deve ser cuidadosamente avaliada para excluir infecções e diferenciar febre da própria doença ativa. Outro achado frequente no LES é o aumento de linfonodos, que na sua maioria são indolores, móveis de localização na região cervical e axilares (16)(23).

O acometimento cutâneo é muito comum. Cerca de 90% dos pacientes vão ter a pele acometida em algum momento da doença. A maioria dos pacientes apresenta fotossensibilidade após exposição à luz, caracterizada por eritema difuso em áreas expostas. A lesão mais característica da doença é a lesão em “asa de borboleta”. Esta lesão geralmente não causa dor, não provoca prurido e não deixa cicatriz. É eritematosa, de início agudo e mais elevada na região malar e dorso nasal, preservando o sulco nasolabial desencadeada após exposição solar. As lesões eritematosas difusas e as bolhosas agudas geralmente não deixam cicatrizes. As lesões crônicas ou lesões discóides podem ocorrer isoladamente ou no contexto da doença sistêmica. Geralmente, deixam cicatrizes e iniciam com placas ou pápulas eritematosas, desprovidas de pigmentação central e mais aderidas. Ocorrem mais frequentemente na cabeça e no tronco. Já as lesões do lúpus cutâneo subagudo, são lesões intermediárias entre as agudas e as crônicas. São pequenas placas descamativas ou pápulas eritematosas, muitas vezes confundindo com psoríase ou eritema anular centrífugo. São mais comuns em áreas expostas ao sol, mas podem ocorrer de forma generalizada (24)(25)(26).

O acometimento musculoesquelético é muito comum no LES. Artralgias e mialgias são as queixas mais frequentes relatadas pelos pacientes. A artrite geralmente é poliarticular e simétrica, com predomínio de pequenas articulações (mãos, punhos, cotovelos e pés), não deformante e recidivante. Em raros casos podem ocorrer as deformidades devido a frouxidão periarticular como ligamentos, tendões e cápsula articular, patologia esta chamada de “Artropatia de Jaccoud”. Uma das características desta entidade é a reversão da deformidade ao exame físico. Miosite (processo inflamatório da fibra muscular) com elevação de enzimas musculares e fraqueza proximal, também pode ocorrer em menor frequência no LES (27)(28).

O comprometimento renal pode ocorrer em mais da metade dos pacientes portadores do LES. A lesão pode ser leve, apenas com achados na microscopia ou uma nefrite mais grave com perda de proteínas na urina, depósito de imunocomplexos nos glomérulos com perda de função renal e insuficiência renal aguda. Nos casos mais graves com perda de função renal, deverá ser instituída a terapia agressiva com imunossupressores o mais rápido possível, pois a evolução para lesão irreversível (insuficiência renal crônica) poderá ser muito rápida, causando uma alta morbidade nesses pacientes caso não recebam tratamento adequado. O acometimento renal é um marcador de mau prognóstico nos pacientes com LES, aumentando tanto a morbidade quanto a mortalidade (5)(29)(30).

O sistema hematológico é muito frequentemente acometido. A anemia mais comum é a de doenças crônicas e a mais associada com doença inflamatória ativa. Anemia hemolítica autoimune está presente em 10-20% dos pacientes, diferentemente da anemia de doenças crônicas, pode ser mais grave e de instalação mais rápida. Leucopenia e linfopenia são muito frequentes, decorrentes da produção de anticorpos específicos contra antígenos da membrana dos leucócitos e linfócitos. Estes achados são encontrados durante as fases ativas da doença. O achado de celularidade normal ou até mesmo hiper celularidade no mielograma é característico. Em pacientes que usam drogas mielotóxicas é mandatório o diagnóstico diferencial(13)(22)(31).

A plaquetopenia também pode ocorrer no LES. As plaquetopenias agudas, são devido a produção de anticorpos contra plaquetas. Nas formas agudas estão relacionadas a atividade da doença e aumentando a gravidade, sendo fator independente de mortalidade nesse grupo de pacientes. Já as plaquetopenias crônicas, geralmente são mais leves e, na maioria dos casos, não é necessário tratamento específico (21)(31)(32).

As serosas também são acometidas. Mais comumente a pleura e o pericárdio são afetados, causando sintomas de dor ventilatório dependente. O derrame pleural e/ou pericárdico podem ser vistos na radiografia de tórax. A tomografia de tórax e a ecocardiografia são exames mais sensíveis para

derrames pleurais e pericárdicos pequenos, respectivamente. Outras serosas, como peritônio e meninges são afetadas numa frequência bem menor (33)(34).

Outros órgãos como coração, pulmão, sistema nervoso central e ocular também podem ser acometidos, porém menos frequentemente (12)(28).

Achados laboratoriais com aumento das provas inflamatórias como velocidade de hemossedimentação (VHS) e proteína C reativa (PCR) são comuns e inespecíficos. O Fator antinúcleo (FAN) está presente em mais de 98% dos pacientes com LES, quando negativo deverá se questionar a presença da doença. Outros anticorpos são encontrados com frequência, como o Anti-DNA, Anti-SM, Anti-SSA, Anti-SSB dentre outros. O consumo do complemento, com redução do C3 e C4 é um achado durante as fases ativas da doença (20)(28)(30).

A atividade da doença pode ser avaliada usando uma combinação de achados clínicos e exames laboratoriais. Além da anamnese e exame físico, usamos hemograma, VHS, PCR, dosagem de complementos (C3, C4 ou CH50), Anti-DNA e sedimento urinário. Existem diversos índices para calcular a atividade de doença dos pacientes com LES, todos com sensibilidade semelhantes. O mais utilizado é o SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), em maior detalhe na tabela do anexo 1. É considerado sendo LES ativo quando a pontuação do SLEDAI é maior ou igual 3 (35)(36).

### **1.6- Critérios diagnósticos**

Nesta ampla gama de manifestações que ocorrem no LES, foram elaborados os critérios clínicos e sorológicos para o diagnóstico de LES. Em 1982 foi proposto pelo Colégio Americano de Reumatologia - ACR (*American College of Rheumatology*) os 11 critérios para o diagnóstico de LES. Em 1997 foi realizado uma revisão destes critérios, os quais são utilizados até hoje. Para um paciente ser portador de LES é necessário estar presente 4 dos 11 critérios listados na tabela 1, anexo 2 (37).

**Tabela -1 Critérios de LES segundo ACR revisados em 1997**

1-Eritema malar	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo
2-Lesão discoide	Lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia
3-Fotossensibilidade	Exantema cutâneo, como reação não usual à exposição solar, de acordo com a história do paciente ou conforme observado pelo médico
4-Úlceras orais ou nasais	Úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico
5-Artrite	Artrite não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular.
6-Serosite	Pleurite (caracterizada por história convincente de dor pleurítica ou atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentado por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico).
7-Comprometimento renal	Proteinúria persistente (> 0,5g/dia ou 3+) ou cilindúria anormal
8-Alterações neurológicas	Convulsão (na ausência de outra causa) ou psicose (na ausência de outra causa)
9-Alterações hematológicas	Anemia hemolítica ou leucopenia (menor que 4.000 leucócitos/ml em duas ou mais ocasiões), linfopenia (menor que 1.500 linfócitos/ml em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que 100.000 plaquetas/ml na ausência de outra causa).
10-Alterações imunológicas	Anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm, ou presença de anticorpo antifosfolípide baseado em: a) níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina; b) teste positivo para anticoagulante lúpico ou teste falso positivo para sífilis, por no mínimo seis meses
11-Anticorpos antinucleares (FAN)	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta ou método equivalente, em qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas

## 1.7- Plaquetas

As plaquetas são células complexas e ao mesmo tempo instigantes devido as múltiplas funções a elas atribuídas na atualidade. A função primordial dessas células é a de homeostase e a primeira fase da formação do trombo após a lesão vascular. Nos últimos anos, várias funções foram atribuídas as plaquetas, muito além daquelas inicialmente conhecidas. A evolução do conhecimento demonstra que elas estão associadas a inflamação, aterosclerose, autoimunidade e na imunologia dos tumores. Receptores plaquetários como GPIIb/IX/V, P-selectina, CD40 tem um papel importante na homeostase e tem sido atribuídos na implicados progressão das condições inflamatórias de diversas doenças autoimunes (Artrite reumatóide, Lupus eritematoso sistêmico, doenças inflamatórias intestinais), na progressão e manutenção da aterosclerose e das metástases de cânceres. As plaquetas também auxiliam no combate às infecções bacterianas, recrutando células imunes para o sítio infeccioso e secretando substâncias bactericidas (38)(39)(40)(41)(42)(43).

As plaquetas são pequenas células e desprovidas de núcleo, liberadas na corrente sanguínea provenientes das células progenitoras, os megacariócitos. O megacariócito é uma célula mielóide que, embora vista com maior frequência na medula óssea, também pode ser encontrada no pulmão e baço. Durante o processo de maturação, o núcleo do megacariócito se multiplica até se tornar granular e liberar as plaquetas. Cada megacariócito pode liberar mais de 2.000 plaquetas na corrente sanguínea. O número de plaquetas encontradas na corrente sanguínea pode chegar a mais de um trilhão de células. A contagem de plaquetas em um indivíduo normal no sangue periférico está entre 150.000 e 400.000 por milímetros cúbicos ( $\text{mm}^3$ ) de sangue. Considera-se como plaquetopenia quando essa contagem está abaixo de 100.000. Plaquetopenias leves geralmente não causam sintomas e não precisam de tratamentos específicos, porém em contagem mais baixas podem levar a sangramentos importantes e risco de vida ao paciente (44)(45).

As plaquetas atuam nos estágios iniciais do processo da coagulação. Muito devido ao número elevado de plaquetas na corrente sanguínea e ao seu pequeno tamanho, na presença de uma lesão endotelial, as plaquetas

identificam facilmente essa alteração na anatomia do vaso ativando a produção do trombo plaquetário. Na fase inicial da formação do trombo, ocorre a adesão plaquetária e ativação dos fatores de coagulação, destacando-se nos estágios precoces desta cascata o fator Von Willebrand. Após esta etapa, ocorre uma ativação e ampliação da cascata da coagulação, liberando diversos mediadores inflamatórios e formação do trombo. Os principais mediadores envolvidos na formação do trombo são o fibrinogênio e a trombina em conjunto com o fator Von Willebrand. Uma redução no número de plaquetas ou disfunção das mesmas, pode aumentar significativamente o risco de sangramento do indivíduo (43).

A relação entre trombose, inflamação, aterosclerose acelerada e câncer é bem estabelecida e as plaquetas são um elemento celular comum a esses processos. Embora o papel das plaquetas na fisiologia da trombose esteja bem conhecido, seu real papel nas vias inflamatórias e no câncer ainda não está bem esclarecido e parece ser bem mais complexa e com múltiplos fatores associados. Na hemostasia e na trombose se têm uma sequência de eventos iniciado com uma plaqueta inativa que ao se deparar com uma superfície vascular não integra ou ao receber um estímulo de um fator plaquetário, torna-se uma plaqueta ativada passando a exercer funções inflamatórias e imunológicas. Mudanças semelhantes a essas, são vistas em processos inflamatórios crônicos, como na presença de uma neoplasia maligna, doenças autoimunes e infecções crônicas. As plaquetas ativadas são susceptíveis de terem consequências dramáticas na função das plaquetas no processo da inflamação e no câncer. Sabe-se ainda, que este estado ativado das plaquetas está correlacionado com aterosclerose acelerada e presente na sepse (39)(40).

Evidências recentes tem mostrado a importância das plaquetas nas doenças cardiovasculares. O estado de inflamação crônica é uma fator que leva ao desenvolvimento de aterosclerose. Já é conhecido que as plaquetas se ligam ao fator Von Willebrand e aderem as células endoteliais, e esta ligação atrai leucócitos para a superfície endotelial. Isso mostra que as plaquetas não só atraem os leucócitos para o local inflamatório, mas também potencializam a inflamação levando a aterosclerose acelerada através de mediadores pró-inflamatórios como tromboxano e o CD154 (CD40 ligante – CD40L). As partículas do sistema do complemento tem uma relação de feedback com as

plaquetas, onde as plaquetas ativam o sistema de complemento e as proteínas do sistema de complemento ativam as plaquetas. Em modelos experimentais, o aumento dos lipídios séricos, recrutam plaquetas para a camada endotelial do vaso e os principais mediadores envolvidos neste contexto é o fator Von Willebrand, P-selectina e a Glicoproteína Ib-IX. Aqui encontramos novamente o papel das plaquetas relacionando o paradigma atual que inclui homeostase, trombose, inflamação e aterosclerose (38)(40)(46)(47)(48)(49)(50).

Estipula-se que as plaquetas e os leucócitos compartilham uma célula ancestral comum, o trombócito, facilitando a homeostasia e a imunidade em aves e peixes. Devido a este fato, não é surpresa que as plaquetas exerçam algumas funções imunológicas e vista como uma extensão do sistema imune celular (51).

Evidências recentes, ligam as plaquetas aos diversos processos inflamatórios, influenciando na biologia leucocitária normal e nos sinais inflamatórios. Apenas uma pequena parcela das plaquetas circulantes é necessária para impedir um sangramento, a presença de 10.000 plaquetas já é suficiente para formação do trombo e evitar um sangramento nos pequenos traumas. Isto corrobora que o grande número de plaquetas presentes na corrente sanguínea exerçam funções adicionais, fazendo uma varredura do sistema vascular e identificando partículas estranhas. Como salientamos anteriormente, nos vertebrados inferiores as “plaquetas” aparecem com funções de transporte de oxigênio e responsáveis pelo sistema de defesa animal. Com a evolução animal, as plaquetas foram separadas dos leucócitos e dos eritrócitos, especializados no sistema imunológico e transporte de oxigênio, respectivamente. No entanto, há crescentes evidências que as plaquetas ainda possuem funções residuais da sua origem na linha evolutiva no reino animal. Mais recentemente, foram identificados receptores plaquetários que exercem um papel importante no sistema imunológico, principalmente na imunidade inata. A expressão de receptores Toll Like (TLRs) indica a capacidade das plaquetas de se envolverem diretamente contra patógenos e exercerem um papel semelhantes aos dos leucócitos (43)(52)(53)(54).

Em adição, na vigência de doenças graves causados por patógenos com alta virulência, a presença de trombocitopenia piora o prognósticos dos

pacientes durante o estado infeccioso, dando mais suporte ao papel das plaquetas sobre o sistema imunológico do organismo. Muitos autores têm publicado sobre a função das plaquetas e sua interferência no sistema imunológico do organismo contra bactérias, vírus e parasitas. As plaquetas interagem com muitos elementos do sistema imune, incluído os monócitos, as células dendríticas e os linfócitos T (43)(53)(55).

As plaquetas produzem e liberam uma quantidade expressiva de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, que apresentam uma função importante no sistema de defesa do organismo. Além disso, elas possuem receptores próprios de quimiocinas que permitem a ativação por outras plaquetas que liberam as quimiocinas. Quando os receptores de Toll Like presentes na superfície das plaquetas identificam um agente estranho, ocorre uma ativação plaquetária e liberação de uma grande quantidade de mediadores pró inflamatórios, recrutando células inflamatórias para o sítio próximo ao endotélio lesado. O CD 154 também conhecido como CD40 ligante (CD40L) é um componente muito presente nas plaquetas que provoca uma ativação dos linfócitos, que influencia o sistema imune adaptativo e está relacionado com a ativação do complemento ligado ao processo inflamatório. Ou seja, tem dados suficientes que evidenciam o importante papel que as plaquetas exercem sobre o sistema imunológico, tanto adaptativo quanto inato e da sua importância na fisiopatologia das doenças autoimunes, dentre elas o LES (41)(55)(56).

### **1.8- Índices plaquetários**

As plaquetas imaturas ou plaquetas reticuladas são as plaquetas jovens recém lançadas na corrente sanguínea pelo megacariócito. Estas plaquetas jovens ainda contém no seu citoplasma uma quantidade maior de RNA (Ácido Ribonucleico) proveniente das células progenitoras. Essas plaquetas imaturas são maiores e mais reativas que as plaquetas maduras (57).

As plaquetas imaturas estão presentes em maior números durante alta atividade trombopoética, como ocorre quando se tem destruição periférica de plaquetas, fenômeno este presente nas doenças autoimunes com produção de



anticorpos contra plaquetas (ex. LES, Purpura trombocitopênica autoimune) e podem ajudar a diferenciar de outras causas de trombocitopenias. Naqueles casos onde se tem um déficit de produção de plaquetas pela medula óssea, o número de plaquetas imaturas na corrente sanguínea está baixo, como observado na aplasia medular ou na aplasia induzida por quimioterapia e medicações mielotóxicas. Neste contexto, vemos a importância da mensuração do índice de plaquetas imatura (IPI) para diferenciar uma plaquetopenia de origem medular ou central daquelas de origem periféricas. Estudos recentes têm confirmado que o IPI ou número absoluto de plaquetas imaturas no sangue periférico é indicador da atividade trombopoietica, sendo mais confiável que o volume plaquetário médio (VPM) (57)(58).

O VPM é obtido dividindo o cripto-plaquetário pelo número total de plaquetas. A presença do RNA no citoplasma permanece em média 24 a 48 horas após as plaquetas serem lançadas na corrente sanguínea. Após este período essas plaquetas já são consideradas maduras. O RNA presente no citoplasma das plaquetas, pode ser identificado através da citometria de fluxo e método óptico com fluorescência. A contagem de plaquetas utilizando este método, é realizada como parte dos parâmetros nos novos contadores hematológicos automatizados, facilitando sua contagem e ao mesmo tempo tendo uma padronização. Com isso temos disponível, de uma forma rápida e com baixo custo, outros parâmetros plaquetários, como o IPI, VPM e a plaquetometria. O IPI pode ser oferecido tanto em números absolutos (aIPI) como em percentual das plaquetas imaturas (%IPI) (44)(57)(59).

Os novos parâmetros plaquetários, conhecidos como índices plaquetários avançados (IPI, aIPI, %IPI e VPM) vêm sendo muito estudados para avaliar e medir o estado de ativação plaquetária. Como referimos anteriormente, as plaquetas ativas estão mais elevadas quando se tem um estado inflamatório ativo presente. O VPM aumentado já foi associado ao aumento do risco cardiovascular. Em uma metanálise realizada em 2010, o aumento do VPM correlacionou com aumento de IAM, aumento de mortalidade após IAM e estenose coronariana após angioplastia, sendo considerada como um biomarcador de pior prognóstico em doentes com cardiopatia. O aumento do

VPM na população diabética pode estar associado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (17)(60)(61)(62).

Também encontramos estudos associados VPM com a inflamação na espondilite anquilosante, artrite reumatoide, LES e no lúpus juvenil. No LES de adultos os dados até o momento são conflitantes. Elevações de VPM foram demonstradas por dois grupos de autores, enquanto níveis reduzidos foram descritos em outros quatro estudos. Ou seja, o papel do VPM como biomarcador no LES é ainda um campo aberto para estudo. Na síndrome antifosfolípida o VPM mostrou correlação com eventos trombóticos agudos e maior recorrência de trombose (39)(63)(64)(65)(66)(67)(68)(69)(70).

O IPI ainda é pouco estudado nas doenças autoimunes. Para sermos mais exatos, só na PTI que o IPI foi amplamente avaliado. Estudos recentes mostraram que o IPI é bem mais elevado nos pacientes com PTI quando comparados com as plaquetopenias de outras etiologias. O IPI utilizado como biomarcador na PTI apresentou uma sensibilidade de 85,7%. Em crianças, utilizando o ponto de corte de 9,4% foi praticamente diagnóstico de PTI, com uma sensibilidade de 88% e uma especificidade de 85%. O papel do IPI em condições autoimune, diferente da PTI, ainda é pouco explorado e é motivo de estudo para melhor estabelecer o seu real papel, como evidenciado pela revisão realizada recentemente e mostrada no anexo 5 (39)(57)(71)(72).

## **2- Justificativa**

Evidências apontam que as plaquetas têm um papel importante e estão associadas as doenças inflamatórias crônicas. Estudos mostraram que os índices plaquetários como o IPI e o VPM são biomarcadores relevantes em doenças inflamatórias. Até o presente momento temos poucas evidências destes índices na população lúpica, em especial o IPI.

### **3- Objetivo**

Avaliar o comportamento dos índices plaquetários (plaquetometria, VPM, IPI e número absoluto de plaquetas imaturas) em pacientes com LES ativo, inativos e controles.

Avaliar a possível associação, entre alteração de índices plaquetários e manifestações clínicas e laboratoriais de pacientes com LES.

#### **4- Referências:**

1. Petri M. Review of classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am.* 2005;31(2):245–54.
2. Uramoto KM, Michet CJ, Thumboo J, Sunku J, O’Fallon WM, Gabriel SE. Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum.* 1999;42(1):46–50.
3. Sato EI, Bonfá ED, Tereza L, Costallat L, Antonio N, Carlos J, et al. Consenso brasileiro para o tratamento do lúpus eritematoso sistêmico ( LES ) (\*) Brazilian consensus for the treatment of systemic erythematous lupus. *Rev Bras Reumatol.* 2002;42(6):362–70.
4. Borba EF, Latorre LC, Brenol JCT, Kayser C, da Silva NA, Zimmermann AF, et al. Consenso de lúpus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol.* 2008;48(4):196–207.
5. Hanly JG, O’Keeffe AG, Su L, Urowitz MB, Romero-Diaz J, Gordon C, et al. The frequency and outcome of lupus nephritis: Results from an international inception cohort study. *Rheumatol (United Kingdom).* 2015;55(2):252–62.
6. Lima SM, Silva WDL da. Lúpus Eritematoso Sistêmico: Revisão Literária. VII CONNEPI - Congr Norte Nord Pesqui e Inovação Palmas-TO. 2012;
7. Medeiros Bezerra EL, Pereira Vilar MJ, Costa Barbosa ODF, Queiroz

- Santos S, De Araújo Castro M, Cavalcanti Da Trindade M, et al. Lúpus eritematoso sistêmico (LES): Perfil clínico- laboratorial dos pacientes do Hospital Universitário Onofre Lopes (UFRN-Natal/Brasil) e índice de dano nos pacientes com diagnóstico recente. *Rev Bras Reumatol.* 2005;45(6):339–42.
8. Vilar MJP, Rodrigues JM, Sato EI. Incidência de lúpus eritematoso sistêmico em Natal, RN - Brasil. *Rev Bras Reumatol.* 2003;43(6):347–51.
  9. Chakravarty EF, Bush TM, Manzi S, Clarke AE, Ward MM. Prevalence of adult systemic lupus erythematosus in California and Pennsylvania in 2000: Estimates obtained using hospitalization data. *Arthritis Rheum.* 2007;56(6):2092–4.
  10. Pons-Estel GJ, Alarcón GS, Scofield L, Reinlib L, Cooper GS. Understanding the Epidemiology and Progression of Systemic Lupus Erythematosus. Vol. 39, *Seminars in Arthritis and Rheumatism.* 2010. p. 257–68.
  11. Nakashima CAK, Galhardo AP, Silva JFM Da, Fiorenzano GR, Santos ABDS Dos, Leite MFS, et al. Incidência e aspectos clínico-laboratoriais do Lúpus eritematoso sistêmico em cidade do Sul do Brasil. *Rev Bras Reumatol.* 2011;51(3):235–9.
  12. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* [Internet]. 2008;358(9):929–39.
  13. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year

- period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Mortality* [Internet]. 2003;82(5):299–308.
14. Boumpas DT, Austin HA, Fessler BJ, Balow JE, Klippel JH, Lockshin MD. Systemic lupus erythematosus: Emerging concepts. Part 1: Renal, neuropsychiatric, cardiovascular, pulmonary, and hematologic disease. Vol. 122, *Annals of Internal Medicine*. 1995. p. 940–50.
  15. Tucker LB, Menon S, Schaller JG, Isenberg DA. Adult- and childhood-onset systemic lupus erythematosus: A comparison of onset, clinical features, serology, and outcome. *Rheumatology*. 1995;34(9):866–72.
  16. Danza A, Ruiz-Irastorza G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. *Lupus*. 2013;22(12):1286–94.
  17. Wu L-S, Tang C-H, Lin Y-S, Lin C-P, Hung S-T, Hwa H-L, et al. Major adverse cardiovascular events and mortality in systemic lupus erythematosus patients after successful delivery: a population-based study. *Am J Med Sci*. 2014;347(1):42–9.
  18. Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St. Clair EW, Gilkeson GS. Risk factors for development of systemic lupus erythematosus: Allergies, infections, and family history. *J Clin Epidemiol*. 2002;55(10):982–9.
  19. Ahmadpoor, P.; Dalili, N.; Rostami M. An update on pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Iran J Kidney Dis*. 2014;8(3):171–84.
  20. Bertsias George et al. Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features. *Eular On-line Course Rheum Dis*. 2012;(1909):476–

505.

21. Hepburn AL, Narat S, Mason JC. The management of peripheral blood cytopenias in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(12):2243–54.
22. Newman K, Owlia MB, El-Hemaidi I, Akhtari M. Management of immune cytopenias in patients with systemic lupus erythematosus - Old and new. Vol. 12, *Autoimmunity Reviews*. 2013. p. 784–91.
23. Rojas-Serrano J, Pedroza J, Regalado J, Robledo J, Reyes E, Sifuentes-Osornio J, et al. High prevalence of infections in patients with systemic lupus erythematosus and pulmonary haemorrhage. *Lupus* 2008;17(4):295–9.
24. Kim A, Chong BF. Photosensitivity in cutaneous lupus erythematosus. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2013;29(1):4–11.
25. Vera-Recabarren MA, García-Carrasco M, Ramos-Casals M, Herrero C. Comparative analysis of subacute cutaneous lupus erythematosus and chronic cutaneous lupus erythematosus: Clinical and immunological study of 270 patients. *Br J Dermatol*. 2010;162(1):91–101.
26. Ribero S, Sciascia S, Borradori L, Lipsker D. The Cutaneous Spectrum of Lupus Erythematosus. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. 2017;1–15.
27. Rothfield N, Sontheimer RD, Bernstein M. Lupus erythematosus: systemic and cutaneous manifestations. *Clin Dermatol*. 2006;24(5):348–62.

28. Tsokos GC. Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*. 2011;365(22):2110–21.
29. Koutsokeras T, Healy T. Systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(3):173–4.
30. Das M, Medeiros C, Bezerra MC, Holanda F, Braga F, Da M, et al. Clinical and immunological aspects and outcome of a Brazilian cohort of 414 patients with systemic lupus erythematosus (SLE): comparison between childhood-onset, adult-onset, and late-onset SLE. *Lupus*. 2016;25:355–63.
31. Bashal F. Hematological Disorders in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Open Rheumatol J*. 2013;7(1):87–95.
32. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. In: *The Lancet*. 2014. p. 1878–88.
33. Maharaj SS, Chang SM. Cardiac tamponade as the initial presentation of systemic lupus erythematosus: a case report and review of the literature. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2015;13(9):1–6.
34. Pego-Reigosa JM, Medeiros D a, Isenberg D a. Respiratory manifestations of systemic lupus erythematosus: old and new concepts. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009;23(4):469–80.
35. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum*. 1992;35(6):630–40.



36. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol.* 2002;29(2):288–91.
37. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40(9):1725.
38. McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis: the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2008;8(2):99–117.
39. Schmoeller D, Picarelli MM, Paz Munhoz T, Poli de Figueiredo CE, Staub HL. Mean Platelet Volume and Immature Platelet Fraction in Autoimmune Disorders. *Front Med.* 2017;4(September):1–5.
40. Franco AT, Corken A, Ware J. Review Article Platelets at the interface of thrombosis , in fl ammation , and cancer. *Blood.* 2015;126(5):582–9.
41. Beaulieu LM, Freedman JE. The role of inflammation in regulating platelet production and function: Toll-like receptors in platelets and megakaryocytes. Vol. 125, *Thrombosis Research.* 2010. p. 205–9.
42. Thomas MR, Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015;114(3):449–58.
43. Jenne CN, Urrutia R, Kubes P. Platelets: Bridging hemostasis, inflammation, and immunity. Vol. 35, *International Journal of Laboratory Hematology.* 2013. p. 254–61.
44. Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the

- automated platelet count. Vol. 29, International Journal of Laboratory Hematology. 2007. p. 77–91.
45. Harrison P. Platelet function analysis. Vol. 19, Blood Reviews. 2005. p. 111–23.
  46. Lindemann S, Krämer B, Seizer P, Gawaz M. Platelets, inflammation and atherosclerosis. Vol. 5, Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2007. p. 203–11.
  47. Lievens D, von Hundelshausen P. Platelets in atherosclerosis. Thromb Haemost. 2011;106(5):827–38.
  48. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Choi H, Moake JL, Dong JF. Platelets adhered to endothelial cell-bound ultra-large von Willebrand factor strings support leukocyte tethering and rolling under high shear stress. J Thromb Haemost. 2005;3(3):562–70.
  49. Nijm J, Wikby A, Tompa A, Olsson AG, Jonasson L. Circulating levels of proinflammatory cytokines and neutrophil-platelet aggregates in patients with coronary artery disease. Am J Cardiol. 2005;95(4):452–6.
  50. Theilmeyer G, Michiels C, Spaepen E, Vreys I, Collen D, Vermylen J, et al. Endothelial von Willebrand factor recruits platelets to atherosclerosis-prone sites in response to hypercholesterolemia. Blood. 2002;99(12):4486–93.
  51. Weyrich AS, Lindeaaann S, Zimmerman GA. The evolving role of platelets in inflammation. Vol. 1, Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2003. p. 1897–905.

52. Clemetson KJ. Platelets and pathogens. Vol. 67, Cellular and Molecular Life Sciences. 2010. p. 495–8.
53. Kerrigan SW, Cox D. Platelet-bacterial interactions. Vol. 67, Cellular and Molecular Life Sciences. 2010. p. 513–23.
54. Levin J. Chapter 1 - The Evolution of Mammalian Platelets. In: Platelets (Third Edition). 2013. p. 3–25.
55. Jenne CN, Kubes P. Platelets in inflammation and infection. *Platelets*. 2015;26(4):286–92.
56. Klinger MHF, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res*. 2002;22(9):913–22.
57. Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2004;126(1):93–9.
58. Cho YG, Lee JH, Kim DS, Lee HS, Choi SI. Clinical usefulness of the simple technique to diagnose thrombocytopenia using immature platelet fraction. *Korean J Lab Med*. 2007;27(1):1–6.
59. Kaito K, Otsubo H, Usui N, Yoshida M, Tanno J, Kurihara E, et al. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2005;128(5):698–702.
60. Ibrahim H, Schutt RC, Hannawi B, DeLao T, Barker CM, Kleiman NS. Association of immature platelets with adverse cardiovascular outcomes.

- J Am Coll Cardiol. 2014;64(20):2122–9.
61. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mikhailidis DP, Kitas GD. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Curr Pharm Des.* 2011;17(1):47–58.
  62. Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: A systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2010;8(1):148–56.
  63. Şahin A, Yetişgin A, Şahin M, Durmaz Y, Cengiz A. Can Mean Platelet Volume be a Surrogate Marker of Inflammation in Rheumatic Diseases? *West Indian Med J [Internet].* 2015;
  64. Safak S, Uslu AU, Serdal K, Turker T, Soner S, Lutfi A. Association between mean platelet volume levels and inflammation in SLE patients presented with arthritis. *Afr Health Sci.* 2014;14(4):919–24.
  65. Khan A, Haider I, Ayub M, Khan S. Mean Platelet Volume (MPV) as an indicator of disease activity and severity in lupus. *F1000Research.* 2017;6:126.
  66. Yavuz S, Ece A. Mean platelet volume as an indicator of disease activity in juvenile SLE. *Clin Rheumatol.* 2014;33(5):637–41.
  67. Rupa-matysek J, Gil L, Wojtasiska E, Ciepłuch K, Lewandowska M, Komarnicki M. The relationship between mean platelet volume and thrombosis recurrence in patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *Rheumatol Int.* 2014;34:1599–605.

68. Bai M, Xing L, Feng J, Cui C, Huang L, Liang G. Mean platelet volume could reflect disease activity of adult patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Lab*. 2016;62(7):1317–22.
69. Yolbas S, Yildirim A, Gozel N, Uz B, Koca SS. Hematological Indices May Be Useful in the Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus and in Determining Disease Activity in Behçet's Disease. *Med Princ Pract*. 2016;25(6):510–6.
70. Delgado-García G, Galarza-Delgado D Ángel, Colunga-Pedraza I, Borjas-Almaguer OD, Mandujano-Cruz I, Benavides-Salgado D, et al. O volume plaquetário médio está reduzido em adultos com lúpus ativo. *Rev Bras Reumatol*. 2016;56(6):504–8.
71. Naz A, Mukry SN, Shaikh MR, Bukhari AR, Shamsi TS. Importance of immature platelet fraction as predictor of immune thrombocytopenic purpura. *Pakistan J Med Sci*. 2016;32(3):575–9.
72. Adly AAM, Ragab IA, Ismail EAR, Farahat MM. Evaluation of the immature platelet fraction in the diagnosis and prognosis of childhood immune thrombocytopenia. *Platelets*. 2015;26(7):645–50.

## Artigo submetido para publicação

The screenshot shows a web browser window with several tabs open, including 'Revista Brasileira de R...', 'Elsevier Editorial Syste...', 'Homepage', 'artigo autor principal', 'artigo Pronto revisado', and '(422 não lidos) - deon...'. The address bar shows the URL: [https://www.evise.com/evise/faces/pages/homepage/homepage.jspx?\\_adf.ctrl-state=15fh6f8hcn\\_169](https://www.evise.com/evise/faces/pages/homepage/homepage.jspx?_adf.ctrl-state=15fh6f8hcn_169). The page header features the journal title 'REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA / BRAZILIAN JOURNAL OF RHEUMATOLOGY' and the Elsevier logo. The user is identified as 'Deonilson Schmoeller' with options for 'My Journals', 'Log Out', and 'Help'. A navigation bar includes 'Home' and 'Reports'. The main content area is titled 'My Author Tasks' and contains a 'Start New Submission' button with a link to view submissions with a final decision. Below this, the 'My Submissions with Journal (1)' section lists a submission: 'Perfil de índices plaquetários em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico' (BJR\_2017\_240). The submission status is 'With Journal' (20/Nov/2017), and it is an 'Original article' with an 'Initial submission' date of 20/Nov/2017. The footer contains copyright information for Elsevier B.V. and links to Terms of Use, Privacy Policy, and About Us. The Windows taskbar at the bottom shows various application icons and the system clock indicating 14:19 on 20/11/2017.

REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA  
BRAZILIAN JOURNAL OF RHEUMATOLOGY

Deonilson Schmoeller | My Journals | Log Out | Help EVISE\*

Home Reports

**My Author Tasks**

[Start New Submission](#) Click here to view your submissions with a final decision

**My Submissions with Journal (1)**

<a href="#">Perfil de índices plaquetários em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico</a>	BJR_2017_240
Current status: With Journal (20/Nov/2017)	Article Type: Original article
	Initial submission : 20/Nov/2017

Copyright © 2017 Elsevier B.V. | [Terms of Use](#) | [Privacy Policy](#) | [About Us](#)  
Cookies are set by this site. To decline or learn more, visit our [Cookies](#) page.

14:19  
20/11/2017

## **Índices plaquetários no lúpus eritematoso sistêmico**

### **Autores**

**Deonilson Ghizoni Schmoeller, Médico Reumatologista: Departamento de Reumatologia Hospital São Lucas PUCRS**

**Luiz Carlos Bodanese, PhD: Departamento de Cardiologia do Hospital São Lucas PUCRS**

**Terezinha Paz Munhoz, PhD: Laboratório de Patologia do Hospital São Lucas PUCRS**

**Maria Mercedes Picareli, Msc: Departamento de Reumatologia Hospital São Lucas PUCRS**

**Henrique Luiz Staub, PhD: Departamento de Reumatologia Hospital São Lucas PUCRS**

Correspondência: DeonilsonGhizoniSchmoeller [deonilsons@yahoo.com.br](mailto:deonilsons@yahoo.com.br).

Av. Ipiranga, 6690, sala 220, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Os autores declaram que não tem conflitos de interesse.

## Abstract

**Introdução:** O papel das plaquetas como marcadores de inflamação no lúpus eritematoso sistêmico (LES) constitui área de corrente interesse. O volume plaquetário médio (VPM) tem sido o índice mais estudado, mas o uso do índice de plaquetas imaturas (IPI) pode trazer novas luzes no conhecimento da atividade plaquetária no LES. **Objetivo:** Quantificar ambos VPM e IPI em pacientes com LES ativo e inativo comparativamente a controles sadios. Em paralelo, correlacionar os índices entre si e com alterações laboratoriais da doença. **Métodos:** Estudo transversal, controlado. Adultos com LES de acordo com os critérios do ACR 1997 e controles sadios de banco de sangue compuseram os grupos. A plaquetometria e o VPM foram obtidos em contador automatizado XE-5000. O IPI foi expresso de forma percentual por citometria de fluxo, sendo positivas as células com fluorescência para RNA citoplásmico. **Resultados:** Quarenta e cinco pacientes com LES (30 inativos) e 257 controles foram avaliados. A mediana do IPI foi significativamente maior no LES ativo do que em controles sadios ( $p=0,032$ ). Houve correlação significativa do IPI com o VPM na população lúpica ( $p<0,001$ ;  $r_s=0,519$ ) e nos controles ( $p<0,001$ ,  $r_s=0,845$ ). Uma correlação inversa entre IPI e plaquetometria foi observada nos lúpicos ativos ( $p=0,025$ ;  $r_s=0,575$ ). Não houve associação entre IPI e presença de anti-DNA. **Conclusão:** Embora restritos pelo número amostral, nossos dados apontam para IPI elevado em pacientes com LES ativo comparativamente a controles sadios. A correlação inversa do IPI com plaquetometria no LES ativo é instigante. O papel do IPI como marcador inflamatório no LES demanda confirmação futura.



## **Introdução**

As plaquetas constituem foco de destaque na literatura médica nos últimos anos dadas as suas funções interligadas ao sistema imunológico. Não é, por conceito, uma célula relacionada somente à homeostase vascular e à trombogênese. Atualmente, sabe-se que exercem um papel fundamental na inflamação, aterosclerose, autoimunidade e imunologia tumoral <sup>1</sup>. Diversos receptores de plaquetas foram recentemente descritos, estando provavelmente associados à persistência e progressão de diversas condições inflamatórias ou autoimunes <sup>23</sup>.

Uma das características dos estados inflamatórios é a liberação, por parte da medula óssea, de plaquetas em forma ativada, o que ocorre em situações de estresse inflamatório agudo como sepse <sup>4</sup>, doença coronariana aguda <sup>5</sup>, pós-operatório de cirurgia cardíaca <sup>6</sup> e diabetes mellitus (DM) <sup>7</sup>.

Os índices mais utilizados na avaliação da atividade plaquetária são o volume plaquetário médio (VPM) e o índice de plaquetas imaturas (IPI), este último de descrição recente <sup>89</sup>. No lúpus eritematoso sistêmico (LES), foco deste estudo, os dados envolvendo VPM e atividade da doença são conflitantes <sup>1011</sup>. O IPI tem sido raramente avaliado em doenças autoimunes <sup>12</sup>. Até o momento não há estudos publicados avaliando a associação do IPI com doença lúpica.

No corrente estudo, objetivamos quantificar ambos VPM e IPI em pacientes com LES ativo e inativo comparativamente a controles saudáveis. Em paralelo, os índices foram correlacionados entre si e com alterações laboratoriais da doença lúpica.

## **Material e Métodos**

O estudo foi observacional transversal, controlado. Os dados clínicos de pacientes com LES foram coletados durante a consulta médica de rotina no ambulatório de nosso Serviço. Durante a entrevista foram obtidas informações clínicas e procedida, mediante consentimento informado, coleta de sangue para análise dos índices plaquetários.

O diagnóstico de LES foi confirmado pelos critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) de 1997 <sup>13</sup>. A idade mínima para inclusão no estudo foi 18 anos. Foram excluídos pacientes com outras doenças inflamatórias, doenças infecciosas, neoplasia nos últimos 5 anos e insuficiência renal crônica terminal em hemodiálise. O grau de atividade da doença lúpica foi avaliado através do SLEDAI (*systemic lupus*

*erythematosus disease activity index*), sendo considerados ativos aqueles pacientes com pontuação maior ou igual a 3<sup>14</sup>.

As amostras de sangue foram coletadas em tubos de ensaio comuns e EDTA. A plaquetometria, o VPM e o IPI foram obtidos no contador automatizado XE-5000 (Sysmex Corporation, Roche, Kobe, Japan) do laboratório de Patologia Clínica de nosso hospital. Os valores de plaquetometria foram expressos em células/mm<sup>3</sup>(normal: 150.000-450.000), enquanto o VPM foi expresso em número absoluto. O VPM foi obtido dividindo-se o cripto-plaquetário pelo número total de plaquetas (normal: 7,5-11,5fL)<sup>15</sup>. Os valores de IPI foram considerados de forma percentual por citometria de fluxo; a presença de formas imaturas foi confirmada por RNA fluorescente no citoplasma plaquetário<sup>16</sup>. De acordo com relato prévios, os níveis de normalidade de IPI são de 1,3 – 9% <sup>17</sup>.

Os dados dos pacientes foram comparados a controles sadios do banco de sangue, não pareados por sexo e idade. O corrente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

#### **Análise estatística:**

O cálculo do tamanho da amostra foi efetuado utilizando-se o programa PEPI versão 4.0 e baseado no estudo de Briggs et al. de 2004 <sup>18</sup>. Para um nível de significância de 5% com poder de 90% e um tamanho de efeito de no mínimo 0,8 desvios padrões entre os grupos, seriam necessários 24 pacientes em cada grupo.

As variáveis quantitativas foram descritas por média e desvio-padrão (DP), ou mediana e amplitude interquartilica. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e relativas. Para comparar médias, foram utilizados o teste T-student ou análise de variância (ANOVA) complementada por teste de Tukey. Em caso de assimetria, os testes de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis complementado por Dunn foram aplicados. A correlação entre as variáveis foi avaliada pelo coeficiente de Spearman. As análises foram efetuadas no programa SSPS versão 21.0.

#### **Resultados**

Foram avaliados 45 pacientes com LES (30 com doença inativa) e 257 controles sadios de banco de sangue. Os dados demográficos e clínicos dos pacientes com LES

estão descritos na tabela 1. A maioria dos pacientes era do sexo feminino, com tempo médio de doença de 108 meses. A média de idade foi 42,6 anos, não diferindo entre os grupos de LES ativo e inativo. A ocorrência de hipertensão arterial sistêmica (HAS), DM, tabagismo e cardiopatia não diferiu significativamente entre os grupos.

A frequência de trombocitopenia foi baixa e também não diferiu entre os grupos. De significância estatística, os pacientes com doença ativa apresentaram maior frequência de depleção de C3 e maior presença de anticorpos anti-DNA em relação ao grupo de inativos.

**Tabela 1** – Dados demográficos e clínicos de pacientes lúpicos ativos e inativos.

Variáveis*	LES total (n=45)	LES ativo (n=15)	LES não ativo (n=30)	P
Idade (anos)	42,6 ± 12,3	42,3 ± 11,2	42,7 ± 13,1	0,911 <sup>a</sup>
Sexo feminino	38 (84,4)	11 (73,3)	27 (90,0)	0,199 <sup>b</sup>
HAS	20 (44,4)	8 (53,3)	12 (40,0)	0,596 <sup>b</sup>
DM	2 (4,4)	1 (6,7)	1 (3,3)	1,000 <sup>b</sup>
Obesidade	3 (6,7)	0 (0,0)	3 (10,0)	0,540 <sup>b</sup>
Tabagismo	10 (22,2)	2 (13,3)	8 (26,7)	0,456 <sup>b</sup>
Cardiopatia	3 (6,7)	0 (0,0)	3 (10,0)	0,540 <sup>b</sup>
Tempo de doença (meses)	108 (60-162)	120 (24-168)	102 (69-177)	0,638 <sup>c</sup>
Anti-DNA	11 (24,4)	8 (53,3)	3 (10,0)	0,003 <sup>d</sup>
C3 <78	8 (17,8)	6 (40,0)	2 (6,7)	0,011 <sup>d</sup>
Trombocitopenia	3(6,7)	2(13,3)	1(3,3)	0,254 <sup>d</sup>

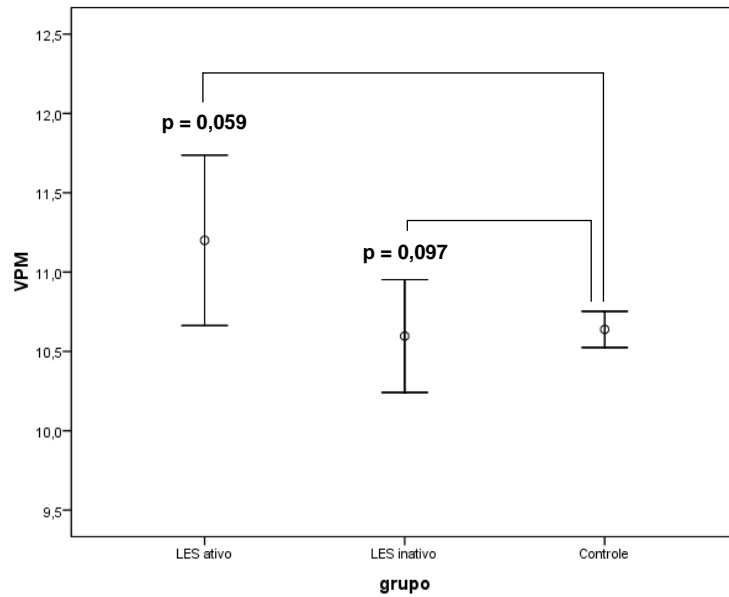
\* descrito por média ± desvio padrão, n(%) ou mediana (percentis 25 – 75)

HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; DM: Diabetes Mellitus

<sup>a</sup>:teste t; <sup>b</sup>:qui-quadrado; <sup>c</sup>:Mann-Whitney; <sup>d</sup>:fisher

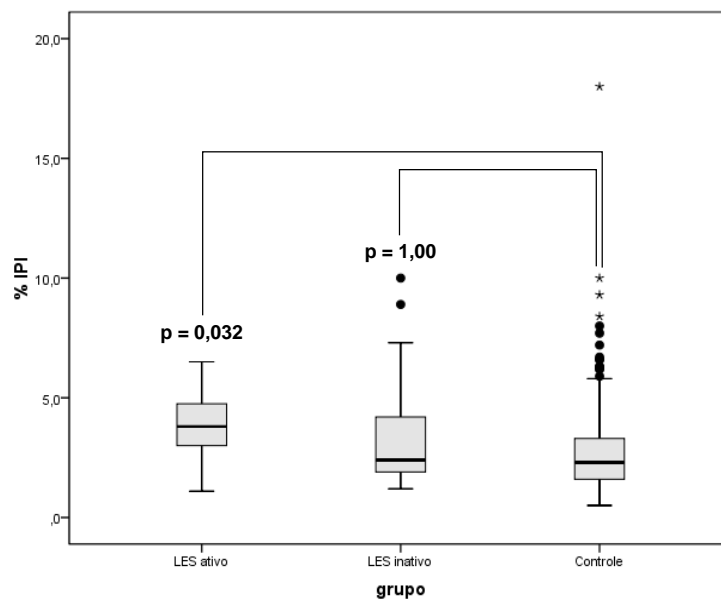
Quando avaliado nos três grupos (LES ativo, inativo e controles sadios), o VPM não diferiu significativamente, porém apresentou tendência de elevação em pacientes com LES ativo (p=0.059) em relação aos controles, como observado na figura 1.

**Figura 1:** Comparação entre o VPM (volume plaquetário médio) nos três grupos



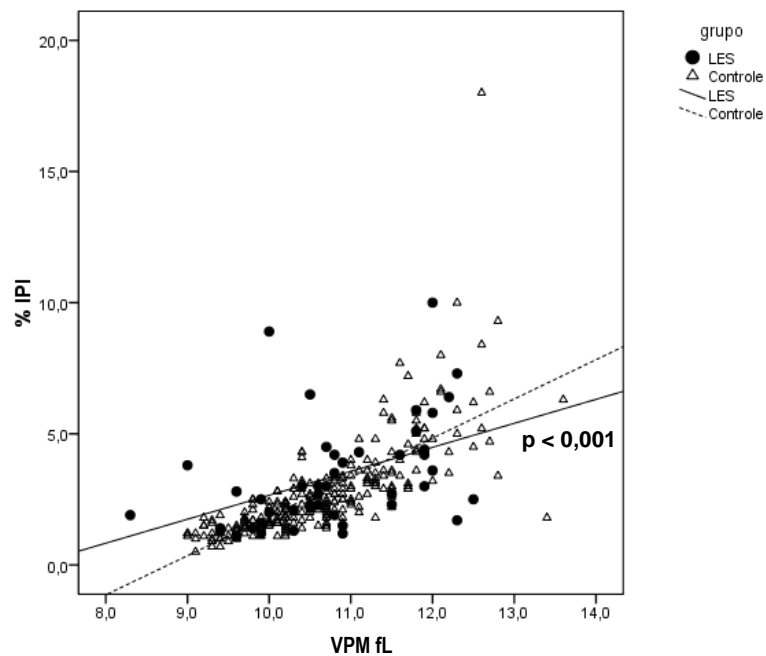
Quanto ao IPI percentual, o valor médio foi maior nos pacientes com doença ativa, sendo a diferença estatisticamente significativa na comparação com o grupo de controles sadios ( $p=0,032$ ). Não houve diferenças significativas nos níveis médios de IPF quando se comparou o grupo de LES ativo com inativo ( $p=0,242$ ), e destes últimos com controles ( $p=1,00$ ) (Figura 2).

**Figura 2.** Comparação entre o %IPI nos três grupos. LES: lúpus eritematoso sistêmico; IPI: Índice de plaquetas imaturas



Quando se avaliou a correlação de VPM com IPI, observou-se correlação positiva (quanto maior o VPM maior o IPI) na população lúpica ( $r_s=0,519$ ;  $p<0,001$ ) e também no grupo controle ( $r_s=0,845$ ;  $p<0,001$ ) (Figura 3).

**Figura 3:** Correlação entre %IPI e VPM nos pacientes com LES

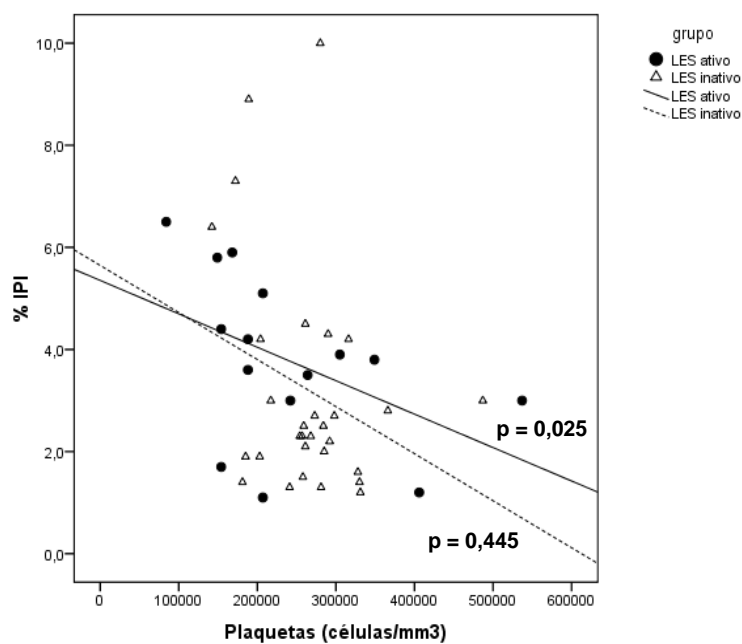


Quando se avaliou a correlação entre IPI e contagem plaquetária em pacientes com LES, observou-se uma relação inversa entre as duas variáveis em ambos os grupos de LES, porém com significância estatística somente no grupo ativo ( $r_s=-0,575$ ;  $p=0,025$ ). No LES inativo, os dados foram:  $r_s = 0,145$ ;  $p=0,445$ . ( figura 4).

As médias do IPI foram correlacionadas com a presença de anti-DNA na população lúpica. Não se observou correlações significativas no LES ativo ( $r_s=-0,575$ ;  $p=0,152$ ) e no LES inativo ( $r_s=-0,145$ ;  $p=0,200$ ).

**Figura 4.** Comparação do número de plaquetas com o IPF nos pacientes com LES.

IPF: índice de plaquetas imaturas; LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico



## Discussão

Este estudo quantifica índices plaquetários (VPM e IPI) em uma população lúpica brasileira; de forma original, os índices foram correlacionados entre si e com alterações laboratoriais da doença.

A amostra, em concordância com a literatura, evidenciou um grande predomínio do sexo feminino<sup>19</sup>. A média de idade (42 anos) é representativa de população relativamente jovem. O tempo médio de doença (108 meses) reflete o longo tempo de acompanhamento clínico destes pacientes em nosso ambulatório.

Como esperado, o grupo de LES ativo (SLEDAI acima de 3) apresentou uma maior positividade para anticorpos anti-DNA e maior frequência de depleção de complemento. Não se observou diferença nos grupos de LES ativo e inativo quanto às

morbidades associadas (HAS, DM, tabagismo e cardiopatia), o que dispensou o ajuste estatístico para estas variáveis quando da quantificação do VPM e IPI.

Ressaltamos que a correlação entre VPM com IPI foi significativa tanto na população lúpica quanto no grupo de controles sadios, de onde se infere um comportamento paralelo dos dois testes independentemente de presença ou não de morbidades inflamatórias.

Nossos dados acerca do VPM apontaram para tendência de teste elevado no LES ativo, muito próximo mas sem a devida confirmação de significância estatística ( $p=0,059$ ). Um número amostral maior poderia ter ratificado esta elevação, o que pode ser obtido em análises futuras.

Os dados de literatura acerca do comportamento biológico do VPM em doenças autoimunes são escassos. Recentemente, redução do VPM foi descrita em pacientes com artrite reumatoide e espondilite anquilosante, com retorno ao valor normal do VPM após tratamento das respectivas afecções<sup>20</sup>.

Em um raro estudo abordando LES juvenil, altos níveis de VPM foram detectados e correlacionados com atividade da doença (21), o que está de acordo com nossos dados em LES adulto.

No LES de adultos, abordagem deste estudo, os dados até o momento são conflitantes<sup>12</sup>. Elevações de VPM foram demonstradas por dois grupos de autores<sup>1021</sup>, enquanto níveis reduzidos foram descritos em outros quatro estudos<sup>22112023</sup>. Ou seja, o papel do VPM como biomarcador no LES é ainda um campo aberto a novas informações.

Os níveis médios do IPI percentual foram definitivamente mais elevados em nossos pacientes com LES ativo em relação a controles sadios. Entretanto, os níveis não diferiram quando se comparou LES ativo e inativo. De qualquer forma, o achado

pode indicar uma possível utilidade do IPI como marcador de atividade inflamatória no LES. De interesse, não houve correlação do IPI com presença de anticorpos anti-DNA, o que sugere que um IPI elevado possa estar associado a subgrupos de LES ativo com anti-DNA ausente. Praticamente não há estudos disponíveis abordando o binômico IPI-LES, o que impede a comparação de nossos achados.

Este estudo é o primeiro a abordar a correlação de IPI com plaquetometria no LES. Digno de nota, detectamos uma correlação inversa entre IPI e plaquetometria nos pacientes com doença ativa. Infere-se que contagens plaquetárias mais baixas tendem a elevar o IPI na doença ativa, fato não observado em pacientes inativos. O dado é provocativo e de interesse prático, uma vez que um teste elevado poderia se associar à presença de trombocitopenia no LES. O pequeno número de pacientes ativos em nosso estudo restringe esta interpretação, e novos estudos são necessários para confirmar esta relação.

Elevações de VPM e IPI têm sido associadas a aumentos de produção de plaquetas pela medula óssea e também à atividade plaquetária. Ambos os testes vêm sendo utilizados como biomarcadores de resposta inflamatória e parâmetros confiáveis na diferenciação de causas de trombocitopenia. Tanto o VPM quanto o IPI se encontram elevados nas plaquetopenias por aumento de destruição periférica, como ocorre na púrpura trombocitopenica autoimune e outras doenças com o mesmo comportamento fisiopatológico<sup>151618</sup>. A incorporação do VPM e do IPI à prática reumatológica no segmento de biomarcadores é uma possibilidade real, desde que novos dados de literatura em LES (e outras doenças autoimunes) justifiquem esta prática.

Nosso estudo apresenta limitações que devem ser comentadas. A casuística global de pacientes lúpicas poderia ter sido maior, e o número de pacientes com doença ativa ficou abaixo do cálculo amostral. Um número amostral maior poderia ter definido com mais precisão os dados estatísticos envolvendo VPM e IPI. Outra limitação diz



respeito ao nosso grupo de controles sadios que, embora numeroso, não foi pareado por sexo e idade.

Em resumo, quantificamos de forma original o VPM e o IPI em uma população lúpica brasileira. A correlação dos testes entre si e do IPI com parâmetros laboratoriais traz à tona reflexões para estudos futuros. Concluimos por paralelismo na correlação dos dois testes, aumento do IPI no LES ativo e correlação inversa do IPI com plaquetometria na doença em atividade.

## Referências:

1. Franco AT, Corken A, Ware J. Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood*. 2015;126(5):582-588. doi:10.1182/blood-2014-08-531582.
2. Klinger MHF, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res*. 2002;22(9):913-922. doi:10.1089/10799900260286623.
3. Scherlinger M, Sisirak V, Richez C, Lazaro E, Duffau P, Blanco P. New Insights on Platelets and Platelet-Derived Microparticles in Systemic Lupus Erythematosus. *Curr Rheumatol Rep*. 2017;19(8). doi:10.1007/s11926-017-0678-0.
4. De Blasi RA, Cardelli P, Costante A, Sandri M, Mercieri M, Arcioni R. Immature platelet fraction in predicting sepsis in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2013;39(4):636-643. doi:10.1007/s00134-012-2725-7.
5. Von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells: Bridging inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2007;100(1):27-40. doi:10.1161/01.RES.0000252802.25497.b7.
6. Anetsberger A, Blobner M, Haller B, et al. Immature platelets as a novel biomarker for adverse cardiovascular events in patients after non-cardiac surgery. *Thromb Haemost*. 2017;117(10). doi:10.1160/TH16-10-0804.
7. Lee EY, Kim SJ, Song YJ, Choi SJ, Song J. Immature platelet fraction in diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Thromb Res*. 2013;132(6):692-695. doi:10.1016/j.thromres.2013.09.035.
8. Gasparyan AY, Ayzazyan L, Mikhailidis DP, Kitis GD. Mean platelet volume: a link between thrombosis and inflammation? *Curr Pharm Des*. 2011;17(1):47-58. doi:10.2174/138161211795049804.
9. Cho YG, Lee JH, Kim DS, Lee HS, Choi SI. Clinical usefulness of the simple technique to diagnose thrombocytopenia using immature platelet fraction. *Korean J Lab Med*. 2007;27(1):1-6. doi:10.3343/kjlm.2007.27.1.1.
10. Bai M, Xing L, Feng J, Cui C, Huang L, Liang G. Mean platelet volume could reflect disease activity of adult patients with systemic lupus erythematosus. *Clin*

*Lab.* 2016;62(7):1317-1322. doi:10.7754/Clin.Lab.2015.151134.

11. Khan A, Haider I, Ayub M, Khan S. Mean Platelet Volume (MPV) as an indicator of disease activity and severity in lupus. *F1000Research*. 2017;6:126. doi:10.12688/f1000research.10763.2.
12. Schmoeller D, Picarelli MM, Paz Munhoz T, Poli de Figueiredo CE, Staub HL. Mean Platelet Volume and Immature Platelet Fraction in Autoimmune Disorders. *Front Med*. 2017;4(September):1-5. doi:10.3389/fmed.2017.00146.
13. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40(9):1725. doi:10.1002/1529-0131(199709)40:9<1725::AID-ART29>3.0.CO;2-Y.
14. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum*. 1992;35(6):630-640. doi:10.1002/art.1780350606.
15. Kaito K, Otsubo H, Usui N, et al. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2005;128(5):698-702. doi:10.1111/j.1365-2141.2004.05357.x.
16. Pons I, Monteagudo M, Lucchetti G, et al. Correlation between immature platelet fraction and reticulated platelets. Usefulness in the etiology diagnosis of thrombocytopenia. *Eur J Haematol*. 2010;85(2):158-163. doi:10.1111/j.1600-0609.2010.01468.x.
17. Joergensen MK, Bathum L. Reference intervals for mean platelet volume and immature platelet fraction determined on a sysmex XE5000 hematology analyzer. *Scand J Clin Lab Invest*. 2016;76(2):172-176. doi:10.3109/00365513.2015.1124448.
18. Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2004;126(1):93-99. doi:10.1111/j.1365-2141.2004.04987.x.
19. Brinks R, Hoyer A, Weber S, et al. Age-specific and sex-specific incidence of systemic lupus erythematosus: an estimate from cross-sectional claims data of

- 2.3 million people in the German statutory health insurance 2002. *Lupus Sci Med*. 2016;3(1):e000181. doi:10.1136/lupus-2016-000181.
20. Şahin A, Yetişgin A, Şahin M, Durmaz Y, Cengiz A. Can Mean Platelet Volume be a Surrogate Marker of Inflammation in Rheumatic Diseases? *West Indian Med J*. 2015. doi:10.7727/wimj.2014.202.
  21. Yolbas S, Yildirim A, Gozel N, Uz B, Koca SS. Hematological Indices May Be Useful in the Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus and in Determining Disease Activity in Behçet's Disease. *Med Princ Pract*. 2016;25(6):510-516. doi:10.1159/000447948.
  22. Delgado-García G, Galarza-Delgado D Ángel, Colunga-Pedraza I, et al. O volume plaquetário médio está reduzido em adultos com lúpus ativo. *Rev Bras Reumatol*. 2016;56(6):504-508. doi:10.1016/j.rbr.2015.12.003.
  23. Safak S, Uslu AU, Serdal K, Turker T, Soner S, Lutfi A. Association between mean platelet volume levels and inflammation in SLE patients presented with arthritis. *Afr Health Sci*. 2014;14(4):919-924. doi:10.4314/ahs.v14i4.21.

**Anexo 1: Escore SLEDAI, quando presente nos últimos 10 dias da visita clinica**

<b>Fator de ponderação</b>	<b>SLEDAI SCORE</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>	<b>DEFINIÇÃO</b>
8		Convulsão	Instalação recente excluindo causa metabólica, infecciosa ou causada por drogas
8		Psicose	Alteração da função mental normal devido a alterações graves da percepção da realidade. Inclui alucinações, incoerência, associações livres, empobrecimento do conteúdo do pensamento, pensamento marcadamente ilógico, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Excluir uremia e causas farmacológicas/drogas
8		Síndrome orgânica cerebral	Função mental alterada com alteração da orientação, memória ou outra função intelectual com rápida instalação e flutuação dos achados clínicos, incluindo obnubilação da consciência com diminuição da capacidade de concentração e incapacidade de manter a atenção ao ambiente envolvente, mais pelo menos duas das seguintes: distúrbios da percepção, discurso incoerente, insônia ou sonolência diurna, aumento ou decréscimo da atividade psicomotora. Excluir causa metabólica, infecciosa ou causada por drogas
8		Distúrbios visuais	Alterações da retina ligados ao LES, incluindo corpos coróides, hemorragias retinianas, exsudado seroso ou hemorragia na coróide ou neurite óptica . Excluir hipertensão ou causa infecciosa ou causada por drogas
8		Distúrbios nos pares cranianos	Instalação recente de neuropatia sensitiva ou motora atingindo os pares cranianos
8		Cefaleia lúpica	Cefaleia grave, persistente; pode ser tipo enxaqueca, mas deve ser resistente à terapêutica narcótica
8		Acidente Vascular Cerebral (AVC)	Instalação recente de AVC Excluir arteriosclerose
8		Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos digitais dolorosos, isquemia periungueal, hemorragias sub-ungueais,

			ou biópsia ou angiograma compatíveis com vasculite
4		Artrite	Mais de duas articulações com dor e sinais inflamatórios
4		Miosite	Dor/fraqueza muscular proximal, associado com elevação da CPK/aldolase ou eletromiografia ou biopsia muscular compatível com miosite
4		Cilindros urinários	Cilindros de Eritrócitos ou de granuloses
4		Hematúria	> 5 células por campo. Excluir litíase, infecção ou outra causa
4		Proteinúria	> 0.5g/24h. Instalação recente ou aumento >0.5g/24h
4		Piúria	> 5 leucocitos por campo. Excluir, infecção
2		Novo rash	Instalação recente ou recorrência de rash tipo inflamatório
2		Alopécia	Instalação recente ou recorrência de perda anormal difusa ou localizada de cabelo
2		Ulcerações nasais	Instalação recente ou recorrência de ulcerações nasais
2		Pleurisia	Dor torácica pleurítica com atrito pleural derrame ou espessamento pleural
2		Pericardite	Dor pericárdica, mais pelo menos um dos seguintes: atrito, derrame, ou confirmação eletrocardiográfica ou por ecocardiograma
2		Redução do complemento	C3, C4 ou CH50 abaixo dos valores de referência do laboratório
2		Aumento do DNA	>25 % no ligando pelo ensaio de Farr ou acima dos valores de referência do laboratório
1		Trombocitopenia	<100.000 plaquetas/mm <sup>3</sup>
1		Leucopenia	<3.000 leucocitos/mm <sup>3</sup> Excluir causas farmacológicas
1		Febre	>38° C excluir causa infecciosa
		<b>SCORE SLEDAI TOTAL (1-105)</b>	

Adaptado: Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. Arthritis Rheum 1992; 35: 630-40

## Anexo 2

### Critérios de LES segundo ACR revisados em 1997

1-Eritema malar	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo
2-Lesão discóide	Lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia
3-Fotossensibilidade	Exantema cutâneo, como reação não usual à exposição solar, de acordo com a história do paciente ou conforme observado pelo médico
4-Úlceras orais ou nasais	Úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico
5-Artrite	Artrite não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular.
6-Serosite	Pleurite (caracterizada por história convincente de dor pleurítica ou atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentado por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico).
7-Comprometimento renal	Proteinúria persistente (> 0,5g/dia ou 3+) ou cilindrúria anormal
8-Alterações neurológicas	Convulsão (na ausência de outra causa) ou psicose (na ausência de outra causa)
9-Alterações hematológicas	Anemia hemolítica ou leucopenia (menor que 4.000 leucócitos/ml em duas ou mais ocasiões), linfopenia (menor que 1.500 linfócitos/ml em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que 100.000 plaquetas/ml na ausência de outra causa).
10-Alterações imunológicas	Anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm, ou presença de anticorpo antifosfolípide baseado em: a) níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina; b) teste positivo para anticoagulante lúpico ou teste falso positivo para sífilis, por no mínimo seis meses
11-Anticorpos antinucleares	Título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta ou método equivalente, em qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas

### Anexo 3: Ficha cadastral

#### LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO – EVOLUÇÃO

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_

Reg: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_\_ Estado Civil: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_

Trabalhando: Sim ( ) Não ( ) Em casa ( )

Profissão: \_\_\_\_\_

Incapacidade laboral: (0) Não (1) Parcial (2) Transitória (3) Total ( Benefício INSS: Sim Não Já teve)

Tempo de doença: \_\_\_\_\_

HAS ( ) DM ( ) Obsidade ( ) Tabagismo ( ) (maços-ano: ) Etilismo ( )  
(quantidade: )

Cardiopatia ( ) (tipo: ) Outras patologias: \_\_\_\_\_

Medicamento	Posologia	Medicamentos (outros)	Posologia
AAS			
Protetor solar			
Prednisona			
Antimaláricos			
Azatioprina			
Metotrexate			
Micofenolato			

**EVOLUÇÃO:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**EXAME FÍSICO:** PA: \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_

Altura: \_\_\_\_\_

VHS: \_\_\_\_\_ PCR: \_\_\_\_\_ C3 \_\_\_\_\_ C4 \_\_\_\_\_ Anti-DNA \_\_\_\_\_



#### Anexo 4: TCLE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a):

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa clínica com o nome de “Perfil de índices plaquetários em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico”.

O objetivo da pesquisa é avaliar como o seu sistema de defesa (sistema imunológico) está se comportando, com o objetivo de entender como sua doença se desenvolve e se os índices plaquetários vão ajudar outras pessoas com lúpus, melhorando o diagnóstico e possíveis ativação da doença. Vamos investigar no seu sangue os índices plaquetários e se isto influencia os sintomas que você vem sentindo.

Serão examinados 52 pacientes do ambulatório de reumatologia do Hospital São Lucas da PUC portadores de lúpus eritematoso sistêmico e além da história e exame físico, a coleta de sangue faz parte do protocolo de pesquisa. 24 pessoas saudáveis também doarão sangue para comparação com os achados encontrados nos pacientes. Durante uma única consulta e entrevista da pesquisa (executada pelos pesquisadores), será realizado o cálculo para avaliar se o seu lúpus está ativo ou inativo, através da escala SLEDAI, mundialmente usada para avaliar a atividade do lúpus. Essa pesquisa é a primeira a avaliar os índices plaquetários no lúpus, sendo um estudo pioneiro e poderá trazer novos conhecimento para o entendimento da doença.

A coleta de sangue pode gerar algum desconforto local, assim como causar hematoma ou vermelhidão no local. Será realizada com agulha e seringa descartáveis e estéreis. O sangue será analisado através da contagem das plaquetas e os seu índices, para avaliar se tem relação com os sintomas do lúpus eritematoso sistêmico. Não serão realizadas outras análises sem o seu conhecimento. Não será armazenado nenhum material ou sangue para futuras pesquisas. Após a análise dos índices plaquetários o seu sangue será desprezado / eliminado pelo laboratório do Hospital São Lucas da PUCRS juntamente com outras matérias biológicas, conforme as normas que regem o descarte de materiais biológicos.

Vale salientar que você não terá nenhum custo durante a realização da pesquisa e também não receberá dinheiro pela sua participação. A participação na pesquisa é voluntária e o participante tem o direito de se retirar do estudo em qualquer momento, sem que isto represente qualquer prejuízo no seu atendimento dentro desta instituição. Asseguramos que sua identidade será mantida em absoluto sigilo durante e após a realização dessa pesquisa. Caso ocorra qualquer dano a saúde do paciente, os pesquisadores se comprometem a ajudar no tratamento ou apoio que for necessário.

Caso o paciente e/ou seu representante legal forem analfabetos, esse termo de consentimento será lido na frente de uma testemunha imparcial, sem envolvimento direto com a pesquisa.

Caso tiver novas perguntas sobre o estudo, dúvidas sobre seus direitos ou se você acredite que sofreu qualquer dano relacionado à pesquisa, você poderá entrar em contato com Deonilson G. Schmoeller ou Henrique L. Staub pelo celular (51) 8933-7542 ou pelo telefone comercial 3320-5057. Também pode contactar o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da PUCRS, telefone (51) 3320.3345 de segunda a sexta-feira pela manhã das 08h30min às 12:00h e a tarde das 13h30min às 17:00h.

Eu, \_\_\_\_\_  
afirmo que tive tempo de ler, entender e esclarecer minhas dúvidas e concordo em participar voluntariamente da pesquisa acima descrita. Confirmando que recebi uma via original desde consentimento assinado para guardar. Outra cópia será arquivada pelo investigador. Esse documento será em duas vias, ambas identificadas como o nome do participante legal, e outra arquivada pelo pesquisador.

Participante \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Pesquisador \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_



## Mean Platelet Volume and Immature Platelet Fraction in Autoimmune Disorders

Deonilson Schmoeller<sup>1\*</sup>, Maria Mercedes Picarelli<sup>1</sup>, Terezinha Paz Munhoz<sup>2</sup>, Carlos Eduardo Poli de Figueiredo<sup>3</sup> and Henrique Luiz Staub<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Rheumatology Department, Saint Lucas Hospital, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil, <sup>2</sup>Pathology Laboratory, Saint Lucas Hospital, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil, <sup>3</sup>Nephrology Department, Saint Lucas Hospital, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil

Mean platelet volume (MPV), measured using automated blood analysers, has been appraised as a potential biomarker in cardiovascular disease, diabetes mellitus, and cancer. The test, a useful tool in differentiation of thrombocytopenic states, has now been carried out for autoimmune disorders, but data are yet scarce. Controversial results have been obtained in systemic and organ-specific autoimmune disorders. Another test, the immature platelet fraction (IPF) reflects the amount of young, reticulated platelets. IPF is calculated by automated hematology analysis or flow cytometry, and it is usually high in patients with rapid platelet destruction. For both MPV and IPF, standardization of cutoff is a major need. In this review, we focus the current applicability of MPV and IPF as biomarkers in patients with autoimmune diseases.

**Keywords:** mean platelet volume, immature platelet fraction, autoimmune diseases, platelet size, platelet volume

### OPEN ACCESS

#### Edited by:

Maria Leandro,  
University College London,  
United Kingdom

#### Reviewed by:

Sule Yavuz,  
Istanbul Bilim University, Turkey  
Cristina Pamfil,  
Iuliu Hatieganu University of  
Medicine and Pharmacy, Romania

#### \*Correspondence:

Deonilson Schmoeller  
reumatocademico@gmail.com

#### Specialty section:

This article was submitted to  
Rheumatology,  
a section of the journal  
Frontiers in Medicine

Received: 24 May 2017

Accepted: 17 August 2017

Published: 06 September 2017

#### Citation:

Schmoeller D, Picarelli MM,  
Paz Munhoz T, Poli de Figueiredo CE  
and Staub HL (2017) Mean Platelet  
Volume and Immature Platelet  
Fraction in Autoimmune Disorders.  
Front. Med. 4:146.  
doi: 10.3389/fmed.2017.00146

### INTRODUCTION

Platelets are intriguing and complex cells. Approximately one trillion platelets circulate in blood to provide vascular regulation. Nowadays, the biological functions of platelets are considered to be far beyond hemostasis and thrombosis. Platelets have also been linked to inflammation, atherosclerosis, autoimmunity, and tumor immunology (1).

Platelet receptors such as CD40, GPIb/IX/V, and selectins have all been implicated in perpetuation of atherosclerosis, rheumatoid arthritis (RA), and tumors. Knowingly, platelets can recognize bacteria and attract immune cells to inflammatory sites. Also, they release granular contents (growth factors) active in wound repair (2).

In autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE), immune complexes activate platelets by interacting with Fc receptors; in RA, the platelet is a well-known source of prostaglandins within the inflamed synovium. IL-1-containing platelet-derived vesicles are abundant in synovial fluid and stimulate synovial fibroblast to produce inflammatory mediators. Moreover, serotonin released by platelets enhances vascular permeability within the inflamed synovium (3).

Platelet size heterogeneity is mostly determined by variations in territory growth and demarcation, but not accurately upon aging in circulation. Size correlates with cell activity and can be assessed by volume indices (4). Among them, the mean platelet volume (MPV), routinely measured in blood cell count, and the immature platelet fraction (IPF) are tests of current interest (5).

In this review, we will be focusing on the “non-hemostatic” functions of platelets in rheumatic and non-rheumatic autoimmune disorders. We will particularly approach the clinical applicability of MPV and IPF in such a context.

## MPV: GENERAL ASPECTS

Mean platelet volume, normally measured using automated blood analysers, reflects the average size of platelets in circulation. It is meant to show the relationship between platelet synthesis in bone marrow and cell destruction. A normal MPV has a range of 7.5–11.5 fL. MPV correlates with platelet function and may be more sensitive than platelet count as a biomarker in a variety of disorders. It is also regarded as a useful surrogate marker of platelet activation or reactivity (4, 5). Clinical utility of MPV has been a matter of debate for the last few years. MPV cutoff has not been fully validated so far, and standardization is a major need.

The test is particularly useful in patients with thrombocytopenia and thrombocytosis. Thrombocytopenia with high MPV is seen in immune thrombocytopenic purpura (ITP), disseminated intravascular coagulation (DIC), sepsis, and preeclampsia. Thrombocytopenia with low MPV is typical of patients with low platelet production, i.e., aplastic anemia. In patients with high platelet counts, a high MPV is suggestive of primary thrombocytosis, while a low MPV characterizes a reactive thrombocytosis, seen in infection, inflammation, or malignancy (5).

There has also been a body of interest for MPV in patients with normal platelet counts. In a 2010 meta-analysis, an elevated MPV associated with acute myocardial infarction (AMI), mortality after AMI, as well as restenosis following coronary angioplasty. The test might behave as a prognostic biomarker in individuals with cardiovascular disease (6). MPV is augmented in patients with type 2 diabetes mellitus (DM) and might associate with risk of cardiovascular events in this population (7).

Mean platelet volume level was significantly higher in malignant tumors than in healthy subjects and decreased with therapy, according to a recent meta-analysis (8). Clinical utilization of MPV in cardiovascular disease, DM, and malignancy is open to discussion.

## MPV AND RHEUMATIC DISEASES

A low MPV is usually related to inflammatory states. A recent study correlated MPV with inflammatory and disease indexes in rheumatic disorders. An inverse correlation of MPV with erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), and DAS-28 was found in RA patients. MPV correlated negatively with both the BASDAI in ankylosing spondylitis (AS) and with CRP in psoriatic patients. An inverse correlation of MPV with ESR was also seen in lupus patients. Overall, a low MPV level surrogated inflammatory states in a large number of rheumatic patients. The authors suggested that MPV works as a negative marker in these patients (9).

There has been a recent interest in MPV levels in patients with SLE. A Mexican study accounted for lower MPV levels in active lupus patients as compared to those with inactive disease. At a cutoff level of 8.32 fL, MPV sensitivity and specificity for

detecting active disease were 86 and 41%, respectively. Of note, a positive correlation of MPV with albumin levels was documented (10). Another group of authors reported lower MPV levels in patients with active lupus arthritis in comparison to SLE patients in remission or healthy controls (11).

In 20 patients with juvenile SLE, differently, MPV was found to be higher in active than inactive patients or controls. A cutoff level of 8.4 fL was predictive for disease activation (sensitivity 75%, specificity 90%). MPV was positively correlated with SLEDAI, CRP and negatively correlated with C3. The authors concluded that MPV can be an early marker of SLE reactivation in children (12). As seen, data on MPV levels in SLE patients are conflicting in juvenile and adult populations; newer, prospective, studies are warranted to evaluate this potential marker in SLE (12).

Few, but interesting, data concern MPV in patients with antiphospholipid syndrome (APS), a thrombotic diathesis typical of young individuals. Twenty-two patients with APS were assessed during a thrombotic event and 3 months ahead. Of note, MPV was significantly high during the event and normalized 3 months later with treatment (13). In another study, 70 APS patients had MPV compared to healthy controls. MPV was higher in patients, and levels were particularly elevated in those with triple positivity for antiphospholipid antibodies. Of major interest, multivariate analysis demonstrated that an MPV above 7.4 fL significantly predicted thrombosis recurrence in APS patients (14). These data on APS suggest that a high MPV relates to vascular obstruction.

We also reviewed data regarding MPV utilization in RA patients. Yet in 1988, a significant inverse relationship of MPV with platelet count was observed in RA subjects (15). In a recent study including 100 RA subjects and 100 controls, MPV (cutoff of 10.4) was significantly higher in RA. MPV was similar to ESR and CRP to disclose inflammatory activity, but the test did not correlate with pain and disease activity score of 28 joints (DAS28) (16).

In contrast, MPV values were found to be lower in active RA patients than inactive, according to a 2015 report (17). Of note, TNF blockers promoted a significant increase in MPV levels after 3 months of therapy, according to a 2010 description (18). Yazici et al. reported higher MPV in RA patients than controls; the tested significantly correlated with ESR, CRP, and DAS28. Both anti-TNF-alpha and conventional therapy decreased MPV and other markers of inflammation (19).

Gasparyan et al., using a 10.7 fL cutoff, documented higher values of MPV in RA patients than controls. In RA patients, hypertension was associated with high levels of MPV, suggesting that this platelet indice eventually reflects an enhanced vascular risk (20). A 2008 study accounted for lower levels of MPV in RA and AS patients with active disease in comparison to controls. Levels increased with treatment (21). As seen, data concerning MPV as a biomarker in adult RA patients are far from homogeneous.

In one of the few reports looking at the biological behavior of MPV in juvenile idiopathic arthritis (JIA), 115 patients and 64 controls were evaluated. An augmented MPV was demonstrated in active disease as compared to inactive disease and controls. Regular therapy diminished platelet activation (22). In a survey of 55 patients with JIA, MPV measured after 2 months of treatment

did not significantly vary in comparison to results in the acute phase (23).

Reports on MPV in patients with AS have been increasingly available. A very recent study disclosed that MPV is significantly higher in AS patients than in the controls; however, no correlation of MPV with disease activity index (BASDAI) was found (24). Data from Bozan et al., in turn, showed no difference in MPV values of AS patients and healthy controls (25). In a report where AS patients were stratified in osteopenic or not, MPV values were higher in the former, suggesting a role for MPV in bone loss (26). Data from Yazici et al. showed that MPV was significantly higher in patients with AS than controls; values were reduced by conventional or anti-TNF therapy. Also, a positive correlation of MPV with BASDAI was observed (27).

Reports of MPV in psoriatic arthritis are sporadic. According to a 2010 study, MPV levels were higher in patients with psoriasis and psoriatic arthritis than controls. MPV may be a marker of severe psoriasis. Also, the authors suggested that increased platelet activation might associate with cardiovascular risk in these patients (28).

In an isolated report in the issue, Soyuncu et al. evaluated MPV in 76 patients with scleroderma and 45 healthy controls. MPV was significantly higher in patients, particularly in those with cardiopathy, digital ulcers, and gangrene. Increased MPV might be a marker of vascular disease in scleroderma (29).

As compared to a similar number of controls, MPV of 53 patients with acute rheumatic carditis did not significantly differ (30). A Chinese study with a large survey of subjects with Kawasaki disease (KD) showed lower MPV of patients as compared to controls (31). In turn, a previous meta-analysis had shown that the levels of MPV, among various other markers, were significantly higher in KD patients with coronary disease than those without coronary involvement (32). The precise role of MPV as a marker of KD (with or without coronaritis) is a pending issue.

## MPV AND OTHER AUTOIMMUNE CONDITIONS

The MPV has been investigated as a potential biomarker in a variety of non-rheumatic autoimmune disorders. It seems a hot topic at the moment, but most studies have low samples and lack a greater level of evidence. In Crohn's disease (CD), for instance, data are unclear. Even though a decrease in MPV has been documented in patients as compared to healthy controls, the test was not able to distinguish active from inactive CD patients, according to a 2012 report (33).

In patients with ulcerative colitis (UC), a similar decrease in MPV was noted as compared with healthy controls. As opposed to CD patients, MPV of active UC patients was significantly lower than that of inactive UC patients. For determining active UC activity, sensitivity was 67% and specificity was 73%. Of note, a negative correlation of MPV with endoscopic activity index was described (34).

Pediatric patients with type 1 DM were found to show high MPV, and this finding might relate to future cardiovascular events

(35). Another study accounted for raised MPV in type 1 DM, but without concomitant hyperaggregability (36).

Idiopathic sudden hearing loss (ISHL) may have an autoimmune origin. MPV was significantly higher in patients with ISHL than healthy controls, leading to the hypothesis that this syndrome is also characterized by ischemic events (37). Very recently, decreasing MPV levels were documented in individuals with subjective tinnitus, also potentially an autoimmune disorder (38).

In a study featuring 19 patients with bullous pemphigoid, high levels of MPV and eosinophil levels were detected. MPV may work as an indicator of cardiovascular risk in these patients, but this is yet to be proved (39). Chronic urticaria frequently associates with autoimmune systemic disorders such as SLE and RA and can be itself an autoimmune condition. Higher MPV was described in patients with this dermatological disorder as compared to controls (40).

## IPF: GENERAL ASPECTS

The IPF represents the percentage of circulating platelets which still retain RNA. It is a modern parameter measuring young, reticulated, platelets in peripheral blood. IPF is a rapid and inexpensive automated biomarker for etiology of thrombocytopenia. It is usually determined by flow cytometry or hematology analyzers. According to a recent study in a large Danish population, reference interval for IPF as determined by hematology analyzer was 1.3–9% (41).

Immature platelet fraction cutoff is not a closed question; however, Korean data accounted for reference intervals of 0.5–3.2% in men and 0.4–3.0% in women, respectively (42). Standardization of IPF cutoff levels is a clear need.

The IPF is usually high in conditions where rapid platelet destruction is observed (ITP, as mentioned, but also thrombotic thrombocytopenic purpura and DIC). In thrombocytopenic disorders with low bone marrow activity or suppression, IPF is generally low (43).

The test has been increasingly ascertained in other clinical conditions. For instance, IPF levels, as well as MPV counts, were significantly higher in patients with gestational hypertensive disorders than controls, according to data from our Hospital (44). High IPF levels were documented in individuals with severe sepsis/septic shock, being correlated with severity scores. IPF might be considered as a biomarker of sepsis (45). The biological role of IPF in autoimmune conditions, ITP apart, is an interesting issue yet to be explored.

## IPF IN AUTOIMMUNE DISEASES

In practical terms, ITP is the only autoimmune disease whereby the IPF has been extensively evaluated. Very recent data from a large population of patients with thrombocytopenia disclosed that Sysmex-measured IPF values were well higher in ITP than non-ITP patients (16.3 versus 7.6%). Sensitivity of IPF as biomarker of ITP was 85.7% (46). In childhood, a cutoff value of 9.4% was practically diagnostic for ITP, with a sensitivity of 88% and a specificity of 85.7% (47).

According to a recent report, the test, although useful for screening of macrothrombocytopenia, can be influenced by platelet size (48). Both IPF and platelet-associated antibody were valuable in differential diagnosis of ITP, but the former showed a better performance (49). Interestingly, low IPF levels were seen in patients with refractory thrombotic microangiopathic hemolytic anemia. Serial IPF may guide therapy in these patients (50).

## LIMITATIONS

There are some limitations about MPV and IPF assessments. Preanalytical drawbacks are important and can affect results. For example, the method of venipuncture and the degree of accuracy of filling and gently mixing the sampling tubes can cause platelet activation (51). Other methodological interference can succeed secondary to the choice of standard anticoagulant, time interval of the measurement, specimen transport, and best storage temperature of sample tubes. Lancé et al. (51), in a recent review of these techniques, referred the lack of literature about it. There are also different techniques in assessing platelet counting and MPV assessment: impedance counting, optical light scatter counting, and immunological flow cytometry techniques. All these elements indicate a need for standardization of the MPV and IPF methods, to achieve the minimum possible interference on the results.

## REFERENCES

- Franco AT, Corken A, Ware J. Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood* (2015) 126(5):582–8. doi:10.1182/blood-2014-08-531582
- McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis: the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* (2008) 8(2):99–117. doi:10.2174/187152908784533739
- Boillard E, Blanco P, Nigrovic PA. Platelets: active players in the pathogenesis of arthritis and SLE. *Nat Rev Rheumatol* (2012) 8(9):534–42. doi:10.1038/nrrheum.2012.118
- Paulus JM. Platelet size in man. *Blood* (1975) 46(3):321–36.
- Leader A, Pereg D, Lishner M. Are platelet volume indices of clinical use? A multidisciplinary review. *Ann Med* (2012) 44(8):805–16. doi:10.3109/07853890.2011.653391
- Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* (2010) 8(1):148–56. doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03584.x
- Ulutas KT, Dokuyucu R, Sefil F, Yengil E, Sumbul AT, Rizaoglu H, et al. Evaluation of mean platelet volume in patients with type 2 diabetes mellitus and blood glucose regulation: a marker for atherosclerosis? *Int J Clin Exp Med* (2014) 7(4):955–61.
- Pyo J-S, Sohn JH, Kang G. Diagnostic and prognostic roles of the mean platelet volume in malignant tumors: a systematic review and meta-analysis. *Platelets* (2016) 27(8):722–8. doi:10.3109/09537104.2016.1169265
- Şahin A, Yetişgin A, Şahin M, Durmaz Y, Cengiz A. Can mean platelet volume be a surrogate marker of inflammation in rheumatic diseases? *West Indian Med J* (2015) 65(1):165–9. doi:10.7727/wimj.2014.202
- Delgado-García G, Galarza-Delgado DÁ, Colunga-Pedraza I, Borjas-Almaguer OD, Mandujano-Cruz I, Benavides-Salgado D, et al. Mean platelet volume is decreased in adults with active lupus disease. *Rev Bras Reumatol* (2016) 56(6):504–8. doi:10.1016/j.rbre.2016.03.003
- Safak S, Uslu AU, Serdal K, Turker T, Soner S, Lutfi A. Association between mean platelet volume levels and inflammation in SLE patients presented with arthritis. *Afr Health Sci* (2014) 14(4):919–24. doi:10.4314/ahs.v14i4.21
- Yavuz S, Ece A. Mean platelet volume as an indicator of disease activity in juvenile SLE. *Clin Rheumatol* (2014) 33(5):637–41. doi:10.1007/s10067-014-2540-3
- Korkmaz S, Uslu AU, Sahin S, Senel S, Sencan M. Is there a link between mean platelet volume and thrombotic events in antiphospholipid syndrome? *Platelets* (2014) 25(5):343–7. doi:10.3109/09537104.2013.824563
- Rupa-Matysek J, Gil L, Wojtasińska E, Ciepluch K, Lewandowska M, Komarnicki M. The relationship between mean platelet volume and thrombosis recurrence in patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *Rheumatol Int* (2014) 34(11):1599–605. doi:10.1007/s00296-014-2996-0
- Baynes RD, Lamparelli RD, Bezwoda WR, Gear AJ, Chetty N, Atkinson P. Platelet parameters. Part II. Platelet volume-number relationships in various normal and disease states. *S Afr Med J* (1988) 73(1):39–43.
- Tecer D, Sezgin M, Kanik A, Incel NA, Çimen OB, Biçer A, et al. Can mean platelet volume and red blood cell distribution width show disease activity in rheumatoid arthritis? *Biomark Med* (2016) 10(9):967–74. doi:10.2217/bmm-2016-0148
- Tekeoğlu I, Gürol G, Harman H, Karakeçe E, Çiftçi IH. Overlooked hematological markers of disease activity in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis* (2016) 19(11):1078–82. doi:10.1111/1756-185X.12805
- Gasparyan AY, Sandoo A, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kitis GD. Mean platelet volume in patients with rheumatoid arthritis: the effect of anti-TNF- $\alpha$  therapy. *Rheumatol Int* (2010) 30(8):1125–9. doi:10.1007/s00296-009-1345-1
- Yazici S, Yazici M, Erer B, Erer B, Calik Y, Ozhan H, et al. The platelet indices in patients with rheumatoid arthritis: Mean platelet volume reflects disease activity. *Platelets* (2010) 21(2):122–5. doi:10.3109/09537100903474373
- Gasparyan AY, Stavropoulos-Kalinoglou A, Toms TE, Douglas KMJ, Kitis GD. Association of mean platelet volume with hypertension in rheumatoid arthritis. *Inflamm Allergy Drug Targets* (2010) 9(1):45–50. doi:10.2174/187152810791292854
- Kisacik B, Tufan A, Kalyoncu U, Karadag O, Akdogan A, Ozturk MA, et al. Mean platelet volume (MPV) as an inflammatory marker in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* (2008) 75(3):291–4. doi:10.1016/j.jbspin.2007.06.016
- Güneş A, Ece A, Şen V, Uluca Ü, Aktar F, Tan İ, et al. Correlation of mean platelet volume, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and disease activity in children with juvenile idiopathic arthritis. *Int J Clin Exp Med* (2015) 8(7):11337–41.

## CONCLUSION

- Mean platelet volume, a rapid and practical test available in blood cell count, represents platelet reactivity. The test is useful to discriminate causes of thrombocytopenia.
- In patients with autoimmune rheumatic disorders, the usefulness of MVP as a biomarker remains to be defined. Discrepant results have been reported in SLE and RA. In non-rheumatic or organ-specific disorders, data are again heterogeneous.
- Immature platelet fraction reflects the amount of young platelets in circulation. Apart from ITP, where it is confirmed high, the role of IPF as an eventual marker of other autoimmune conditions is a field open to research.
- For both tests, padronization of normal levels and cutoff are a major need in order to facilitate interpretation of future studies.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

DS, MP, TM, CF, and HS were equally responsible for the literature review, paper writing and reviewing the final document for submission. HS was responsible for project coordination and supervision.

23. Vakili M, Ziaee V, Moradinejad MH, Raeeskarami SR, Kompani F, Rahamooz T. Changes of platelet indices in juvenile idiopathic arthritis in acute phase and after two months treatment. *Iran J Pediatr* (2016) 26(3):e5006. doi:10.5812/ijp.5006
24. Sezgin M, Tecer D, Kanık A, Kekik FS, Yeşildal E, Akaslan E, et al. Serum RDW and MPV in ankylosing spondylitis: can they show the disease activity? *Clin Rheumatol* (2016) 65(1):1–10. doi:10.3233/CH-162067
25. Bozan N, Alpaycı M, Aslan M, Cankaya H, Kiroglu AF, Turan M, et al. Mean platelet volume, red cell distribution width, platelet-to-lymphocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratios in patients with ankylosing spondylitis and their relationships with high-frequency hearing thresholds. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2016) 273(11):3663–72. doi:10.1007/s00405-016-3980-y
26. Resorlu H, Resorlu M, Gokmen F, Akbal A, Adam G, Komurcu E, et al. Association between mean platelet volume and bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis and diagnostic value of diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *J Phys Ther Sci* (2015) 27(4):1137–40. doi:10.1589/jpts.27.1137
27. Yazici S, Yazici M, Erer B, Erer B, Calik Y, Bulur S, et al. The platelet functions in patients with ankylosing spondylitis: anti-TNF-alpha therapy decreases the mean platelet volume and platelet mass. *Platelets* (2010) 21(2):126–31. doi:10.3109/09537100903470306
28. Canpolat F, Akpınar H, Eskioglu F. Mean platelet volume in psoriasis and psoriatic arthritis. *Clin Rheumatol* (2010) 29(3):325–8. doi:10.1007/s10067-009-1323-8
29. Soyuncu S, Turkbeyler IH, Pehlivan Y, Soyulu G, Goktepe MF, Bilici M, et al. Mean platelet volume seems to be a valuable marker in patients with systemic sclerosis. *Inflammation* (2014) 37(1):100–6. doi:10.1007/s10753-013-9716-x
30. Ozdemir R, Karadeniz C, Doksoz O, Celegen M, Yozgat Y, Guven B, et al. Are mean platelet volume and platelet distribution width useful parameters in children with acute rheumatic carditis? *Pediatr Cardiol* (2014) 35(1):53–6. doi:10.1007/s00246-013-0738-9
31. Liu R, Gao F, Huo J, Yi Q. Study on the relationship between mean platelet volume and platelet distribution width with coronary artery lesion in children with Kawasaki disease. *Platelets* (2012) 23(1):11–6. doi:10.3109/09537104.2011.586073
32. Peng Q, Chen C, Wu Q, Yang Y. [Meta-analyses of the associations of genome-wide association study-linked gene loci with Kawasaki disease]. *Chin J Pediatr* (2013) 51(8):571–7. doi:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2013.08.004
33. Liu S, Ren J, Han G, Wang G, Gu G, Xia Q, et al. Mean platelet volume: a controversial marker of disease activity in Crohn's disease. *Eur J Med Res* (2012) 17(1):27. doi:10.1186/2047-783X-17-27
34. Yüksel O, Helvacı K, Başar O, Köklü S, Caner S, Helvacı N, et al. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets* (2009) 20(4):277–81. doi:10.1080/09537100902856781
35. Malachowska B, Tomasiak B, Szadkowska A, Baranowska-Jazwiecka A, Wegner O, Mlynarski W, et al. Altered platelets' morphological parameters in children with type 1 diabetes – a case-control study. *BMC Endocr Disord* (2015) 15(1):17. doi:10.1186/s12902-015-0011-8
36. Myrup B, Bregengaard C, Petersen LR, Winther K. Platelet aggregation and fatty acid composition of platelets in type 1 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* (1991) 204(1–3):251–61. doi:10.1016/0009-8981(91)90236-6
37. Ulu S, Ulu MS, Ahsen A, Yucedag F, Aycecek A, Celik S. Increased levels of mean platelet volume: a possible relationship with idiopathic sudden hearing loss. *Eur Arch Oto Rhino Laryngol* (2013) 270(11):2875–8. doi:10.1007/s00405-013-2348-9
38. Yüksel F, Karataş D. Can platelet indices be new biomarkers for subjective tinnitus? *J Craniofac Surg* (2016) 27(5):e420–4. doi:10.1097/SCS.0000000000002693
39. Rifatoglu EN, Sen BB, Ekiz Ö, Dogramaci AC. Mean platelet volume and eosinophilia relationship in patients with bullous pemphigoid. *Platelets* (2014) 25(4):264–7. doi:10.3109/09537104.2013.784735
40. Confino-Cohen R, Chodick G, Shalev V, Leshno M, Kimhi O, Goldberg A. Chronic urticaria and autoimmunity: associations found in a large population study. *J Allergy Clin Immunol* (2012) 129(5):1307–13. doi:10.1016/j.jaci.2012.01.043
41. Joergensen MK, Bathum L. Reference intervals for mean platelet volume and immature platelet fraction determined on a sysmex XE5000 hematology analyzer. *Scand J Clin Lab Invest* (2016) 76(2):172–6. doi:10.3109/00365513.2015.1124448
42. Ibrahim H, Nadipalli S, Usmani S, DeLao T, Green L, Kleiman NS. Detection and quantification of circulating immature platelets: agreement between flow cytometric and automated detection. *J Thromb Thrombolysis* (2016) 42(1):77–83. doi:10.1007/s11239-016-1338-3
43. Jung H, Jeon H-K, Kim H-J, Kim S-H. Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia. *Korean J Lab Med* (2010) 30(5):451. doi:10.3343/kjlm.2010.30.5.451
44. Cannavo I, Ferrero-Vacher C, Sudaka I, Aquaronne D, Berthier F, Raynaud S. [Assessment of an immature platelet fraction (IPF%) in the diagnosis of thrombocytopenia]. *Ann Biol Clin (Paris)* (2010) 68(4):415–20. doi:10.1684/abc.2010.0449
45. Moraes D, Munhoz TP, Pinheiro da Costa BE, Hentschke MR, Sontag F, Silveira Lucas L, et al. Immature platelet fraction in hypertensive pregnancy. *Platelets* (2016) 27(4):333–7. doi:10.3109/09537104.2015.1101060
46. Enz Hubert RM, Rodrigues MV, Andreguetto BD, Santos TM, de Fátima Pereira Gilberti M, de Castro V, et al. Association of the immature platelet fraction with sepsis diagnosis and severity. *Sci Rep* (2015) 5:8019. doi:10.1038/srep08019
47. Muronoi T, Koyama K, Nunomiya S, Lefor AK, Wada M, Koinuma T, et al. Immature platelet fraction predicts coagulopathy-related platelet consumption and mortality in patients with sepsis. *Thromb Res* (2016) 144:169–75. doi:10.1016/j.thromres.2016.06.002
48. Naz A, Mukry SN, Shaikh MR, Bukhari AR, Shamsi TS. Importance of immature platelet fraction as predictor of immune thrombocytopenic purpura. *Pak J Med Sci* (2016) 32(3):575–9. doi:10.12669/pjms.323.9456
49. Adly AAM, Ragab IA, Ismail EAR, Farahat MM. Evaluation of the immature platelet fraction in the diagnosis and prognosis of childhood immune thrombocytopenia. *Platelets* (2015) 26(7):645–50. doi:10.3109/09537104.2014.969220
50. Miyazaki K, Koike Y, Kunishima S, Ishii R, Danbara M, Horie R, et al. Immature platelet fraction measurement is influenced by platelet size and is a useful parameter for discrimination of macrothrombocytopenia. *Hematology* (2015) 20(10):587–92. doi:10.1179/1607845415Y.00000000021
51. Lancé MD, Sloep M, Henskens YM, Marcus MA. Mean platelet volume as a diagnostic marker for cardiovascular disease: drawbacks of preanalytical conditions and measuring techniques. *Clin Appl Thromb Hemost* (2012) 18(6):561–8. doi:10.1177/1076029612458147

**Conflict of Interest Statement:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2017 Schmoeller, Picarelli, Paz Munhoz, Poli de Figueiredo and Staub. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Pró-Reitoria de Graduação  
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar  
Porto Alegre - RS - Brasil  
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564  
E-mail: [prograd@pucrs.br](mailto:prograd@pucrs.br)  
Site: [www.pucrs.br](http://www.pucrs.br)