



Prevalência de anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados na artrite idiopática juvenil

The prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis

Sandra H. Machado¹, Carlos A. von Mühlen², João C. T. Brenol³,
Letícia Bisotto⁴, Ricardo Machado Xavier⁵

Resumo

Objetivos: Avaliar a presença de anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados em uma coorte de pacientes com artrite idiopática juvenil.

Métodos: A presença de anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados foi avaliada por ensaio imunoenzimático (ELISA) no soro de pacientes com artrite idiopática juvenil com idade inferior a 18 anos, acompanhados no ambulatório de reumatologia pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com tempo de diagnóstico de doença de, no mínimo, 6 meses. Também foi estudada a presença do fator reumatóide IgM e do fator antinuclear em células Hep-2.

Resultados: Foram analisadas amostras séricas de 45 pacientes com artrite idiopática juvenil. A presença de títulos elevados de anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados foi encontrada somente no soro de uma criança (2%), a qual apresentava quadro de poliartrite com fator reumatóide reagente.

Conclusões: O anticorpo contra peptídeos cíclicos citrulinados pode ser detectado em crianças com artrite idiopática juvenil, mas em frequência muito inferior aos adultos com artrite reumatóide. Torna-se importante avaliar se anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados podem identificar os pacientes com artrite idiopática juvenil com potencial de evolução para artrite reumatóide do adulto.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(6):491-4: Artrite idiopática juvenil, anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados, diagnóstico, imunologia.

Abstract

Objectives: To assess the presence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in a cohort of patients with juvenile idiopathic arthritis.

Methods: Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies was tested for with an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in serum samples of patients from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, all less than 18 years old and with previous diagnosis for at least 6 months. IgMRF (rheumatoid factor) and antinuclear antibodies in Hep-2 cells were also assayed.

Results: Serum samples were analyzed from 45 patients. The presence of high levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies was found in the serum of just one child (2%), who presented seropositive polyarthritis.

Conclusions: Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies can be detected in children with juvenile idiopathic arthritis, but much less frequently than in adults with rheumatoid arthritis. It still remains to be determined whether anti-cyclic citrullinated peptide antibodies can identify a subset of juvenile idiopathic arthritis patients with the potential to progress to adult rheumatoid arthritis.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(6):491-4: Juvenile idiopathic arthritis, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, diagnosis, immunology.

1. Mestre. Pediatra, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.
2. Professor titular, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS.
3. Doutor. Chefe do Serviço de Reumatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Professor adjunto, Departamento de Medicina Interna, UFRGS, Porto Alegre, RS.
4. Nutricionista. Mestranda em Ciências Médicas, UFRGS, P. Alegre, RS.
5. Doutor. Chefe do Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Professor adjunto, Departamento de Medicina Interna, UFRGS, Porto Alegre.

Artigo submetido em 11.01.05, aceito em 15.06.05.

Como citar este artigo: Machado SH, von Mühlen CA, Brenol JC, Bisotto L, Xavier RM. Prevalência de anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados na artrite idiopática juvenil. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81:491-4.

Introdução

A artrite idiopática juvenil (AIJ) é definida como uma doença de ocorrência antes dos 16 anos de idade, caracterizada primariamente pela presença de artrite persistente em uma ou mais articulações, por no mínimo 6 semanas, após exclusão de outras causas^{1,2}. O diagnóstico da AIJ é, até o momento, baseado na história clínica e exame físico, sendo a utilização de métodos complementares principalmente direcionada para a exclusão de outros diagnósticos e comorbidades. Não há exames laboratoriais considerados específicos para a sua definição diagnóstica. Os testes laboratoriais bioquímicos e marcadores sorológicos são úteis para auxiliar no diagnóstico diferencial, classificar o

subgrupo de AIJ, avaliar a extensão da inflamação, determinar o prognóstico e a resposta à terapia^{1,2}.

O diagnóstico de positividade sorológica da AIJ é restrito a pacientes com poliartrite de início mais tardio e que apresentam IgM- FR (+) detectado por nefelometria em 7 a 10% dos casos. Os fatores antinucleares (FAN), ou anticorpos antinucleares, podem ser encontrados em 2 a 70% das populações com AIJ estudadas, sendo essa variabilidade provavelmente em razão dos diferentes substratos utilizados na sua mensuração e distintos subtipos de AIJ. Foi detectada uma prevalência aumentada de FAN (entre 65 a 85%) no subtipo de AIJ relacionado à oligoartrite e uveíte¹⁻³.

Um novo auto-anticorpo, o anti-CCP (anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados), tem sido estudado nos últimos anos. A citrulina é um aminoácido modificado pós-tradução a partir de resíduos de arginina e está presente em alta frequência na cadeia peptídica da filagrina. As regiões ricas em citrulina parecem ser o alvo dos anticorpos antifilagrina, identificados na artrite reumatóide, daí o desenvolvimento de um peptídeo sintético rico em citrulina para o desenvolvimento de um ensaio imunoenzimático mais estável e padronizável^{4,5}. Schellekens *et al.*⁶ observaram que o anti-CCP é muito específico (96-98%) para a artrite reumatóide no adulto (AR), com uma sensibilidade de 60%. Alguns estudos têm mostrado a presença do anti-CCP em 60-75% dos pacientes com AR estabelecida⁷⁻⁹.

Apesar de razoavelmente bem explorados em pacientes adultos, a frequência dos auto-anticorpos na AIJ ainda não está bem estudada. Recentes estudos observando a prevalência de anti-CCP nos pacientes com AIJ têm observado que ele pode ser observado em pacientes com doença de início poliarticular, FR (+)¹⁰⁻¹³.

O objetivo deste estudo foi investigar a prevalência de anticorpos anti-CCP no soro de pacientes portadores de AIJ, avaliando sua utilidade como marcador sorológico nessa doença.

Pacientes e métodos

Foram estudados 45 pacientes consecutivos com AIJ em acompanhamento no Serviço de Reumatologia do nosso hospital no período de 1 de junho de 2003 a 31 de dezembro de 2003. O diagnóstico da AIJ foi realizado com base nos critérios da Liga Internacional das Associações de Reumatologistas (ILAR)¹⁴ para o diagnóstico da doença.

Foram incluídos todos os pacientes com idade de até 18 anos e com tempo de diagnóstico da doença de, no mínimo, 6 meses. Os pacientes com diagnóstico de outras doenças auto-imunes, inclusive síndromes de sobreposição, foram excluídos. Os responsáveis legais pelos pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do HCPA¹⁵.

Foram coletadas amostras de sangue venoso (2-3 ml) por venopunção periférica de todos os pacientes para a dosagem dos testes laboratoriais de rotina. Alíquotas do soro, obtidas após centrifugação, foram congeladas a -70 °C

até o ensaio, para os anticorpos anti-CCP, sendo realizado em um só momento para todas as amostras. Além do anti-CCP, foi avaliada a presença de anticorpos antinucleares (imunofluorescência indireta com células HEp-2) e fator reumatóide IgM (nefelometria, Sistema BN2, Behring, EUA).

A presença de anticorpos anti-CCP foi determinada por teste de ELISA de segunda geração (DIASTAT™, Axis-Shield Diagnostics, Escócia, Reino Unido). Foi utilizada, como ponto de corte para um resultado positivo, uma concentração superior a 10 U/ml, conforme sugerido pelo fabricante. Os controles negativos apresentaram concentrações abaixo de 5 U/ml.

Na análise estatística, foi empregada estatística descritiva para apresentação dos dados e foi utilizado, para comparação entre os valores das amostras, o teste *t* de Student.

Resultados

A idade e características clínicas dos 45 pacientes estudados estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados demográficos

Idade (média)	10 a 11 m (±4 a 1 m)
Tempo de doença (média)	6 a 10 m (±3 a 10 m)
Idade início da doença (média)	5 a 4 m (±3 a 1 m)
Subtipo	
Sistêmica	7 (16%)
Oligoartrite persistente	9 (20%)
Oligoartrite estendida	3 (7%)
Poliartrite FR (+)	5 (11%)
Poliartrite FR (-)	16 (35%)
Artrite psoriática	3 (7%)
Artrite c/ entesite	2 (4%)
Total	45 (100%)

Nesse grupo de 45 pacientes, 31 eram do sexo feminino (69%) e 14 do sexo masculino (31%). A idade dessas crianças variou entre 3 e 17 anos (média 10 a 11 m ± 4 a 1 m), sendo que a média de idade de início da artrite foi de 5 a 4 m (±3 a 10 m). Quarenta e seis por cento desses pacientes apresentaram a forma poliarticular de AIJ.

Os valores de anti-CCP para cada paciente são mostrados na Figura 1, separados de acordo com o subtipo de AIJ. Observamos que, com exceção de um paciente, todos os demais ficam dentro do ponto de corte estabelecido dentro da normalidade pelo laboratório.

Nessa amostra de pacientes, o FR IgM foi reagente em seis crianças (14%): cinco apresentavam doença poliarticular e uma apresentava doença oligoarticular estendida.

No subgrupo dos pacientes com poliartrite soropositiva (FR IgM reagente), encontramos apenas um caso com resultado anti-CCP reagente (1/5, 20%). Os demais sub-

grupos não apresentaram resultados anti-CCP reagentes. A diferença na incidência de anti-CCP entre os subtipos de AIJ não foi significativa.

Além disso, somente dois pacientes apresentaram FAN reagente, ambos com FR IgM e anti-CCP não reagentes e com forma oligoarticular de AIJ.

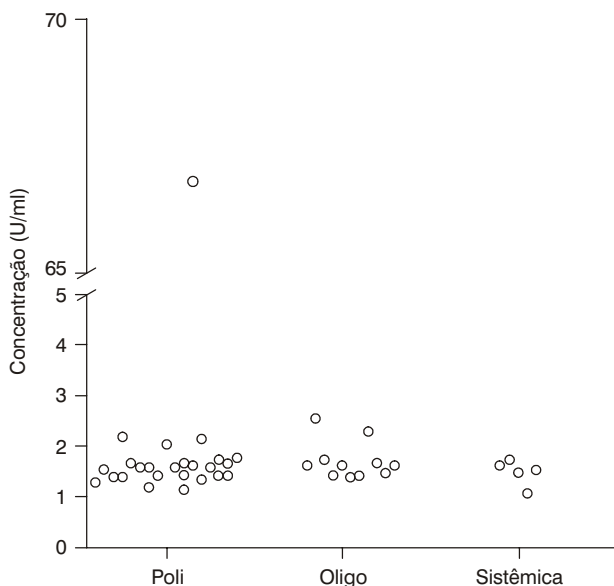


Figura 1 - Subgrupos de artrite idiopática juvenil e concentrações de anticorpos contra peptídeos cíclicos citrulinados

Discussão

Os anticorpos anti-CCP têm sido considerados um importante marcador sorológico para o diagnóstico de AR, bem como um possível marcador prognóstico para a progressão desfavorável da doença^{6,9}.

No presente estudo, foi demonstrado que, em discordância com o descrito para os pacientes adultos com AR, os anticorpos anti-CCP são raramente detectados em pacientes com AIJ. Somente em um caso de uma série de 45 pacientes com diagnóstico bem estabelecido de AIJ em diferentes subgrupos (\cong 2%), o anti-CCP foi identificado. Nossos achados assemelham-se aos de Avcin *et al.*¹², que encontraram positividade de anti-CCP em duas de 109 (1,8%) crianças com AIJ estudadas.

Em contraste, van Rossum *et al.*¹⁰ recentemente apresentaram dados de seu estudo com 71 pacientes com AIJ, dos quais 15% apresentaram anti-CCP reagente, sendo 73% desses pacientes FR reagente. Essa diferença nas freqüências do anti-CCP provavelmente é secundária a diferenças nas populações estudadas e nas técnicas dos ensaios, além de ser uma consequência da utilização de diferentes pontos de corte. No estudo de van Rossum *et*

*al.*¹⁰, o ponto de corte foi inferior àquele utilizado em nosso estudo e no estudo de Avcin *et al.*¹². A escolha de um ponto de corte mais elevado deve-se ao fato de termos optado por utilizar um ponto de corte similar ao empregado na dosagem do anti-CCP em AR no adulto. Assim, asseguramos uma maior especificidade do teste.

Low *et al.*¹¹ confirma a presença dos anticorpos anti-CCP em crianças com AIJ, correlacionando-os com a presença do FR (+), o que sugere um possível papel desses peptídeos antigênicos como marcadores de AIJ.

Recentemente, Lee & Schur¹⁶ analisaram a freqüência dos anticorpos anti-CCP em um grupo de pacientes adultos com diversas doenças reumáticas. Nesse grupo, o anti-CCP foi positivo em seis pacientes de 21 com AIJ com duração de doença superior a 21 anos, todos com FR reagente e com doença mais grave.

No presente estudo, o paciente anti-CCP positivo apresentava doença poliarticular e FR reagente, bem como idade de início mais tardio (13 anos). Essa observação, juntamente com os achados de outros autores¹⁴⁻¹⁶, indica a possibilidade de que esse auto-anticorpo possa ser um marcador de AIJ com potencial de evolução para forma típica de AR do adulto.

Nós observamos, neste estudo, que os anticorpos anti-CCP podem ser detectados em um pequeno número de pacientes com AIJ, especialmente naqueles que apresentam a forma poliarticular, FR (+), formas reconhecidamente mais graves de AIJ e que se assemelham, em sua evolução, à artrite reumatóide do adulto. Para esclarecer se esses raros pacientes com anti-CCP e FR reagentes constituem um grupo diferenciado de AIJ, com evolução e prognóstico semelhantes aos dos pacientes com AR do adulto, seriam necessários estudos prospectivos e com uma população maior de pacientes.

Referências

- Oliveira SK. Artrite idiopática juvenil. In: Oliveira SK, Azevedo EC, editors. Reumatologia Pediátrica. 1ª ed. Rio de Janeiro: REVINTER; 2001. p. 143-208.
- Cassidy JT, Petty RE. Juvenile rheumatoid arthritis. In: Cassidy JT, Petty RE, editors. Textbook of Pediatric Rheumatology. 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co.; 2001. p. 214-221.
- Nakamura RM. Progress in the use of biochemical and biological markers for evolution of rheumatoid arthritis. J Clin Lab Anal. 2000;14:305-13.
- Serra CR, Rodrigues SH, Stanjnok FR, Silva NP, Andrade LE. Antiperinuclear factor and antibodies to the stratum corneum of rat esophagus in juvenile idiopathic arthritis. J Pediatr. 1999;134:507-9.
- van Venroij WJ, Pruijn GJ. Citrullination: a small change for protein with great consequences for rheumatoid arthritis. Arthritis Res. 2000;2:249-51.
- Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Arthritis Rheum. 2000;43:155-63.
- Bizzaro N, Mazzant G, Tanutti E, Violate D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline assay for rheumatoid arthritis. Clin Chemistry. 2001;47:1089-93.
- Saraux A, Berthelot JM, Chales G, Le Henaff C, Mary JY, Thorel V, et al. Value of laboratory tests in early prediction rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2004;47:1089-93.

9. Gaalen FA, Linn-Rasker SP, Venrooij WJ, Jong BA. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis – A prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 2004;50:709-15.
10. van Rossum M, van Soesbergen R, de Kort S, ten Cate R, Zwinderman AH, de Jong B, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2003;30:825-8.
11. Low JM, Chauhan AK, Kietz DA, Daud U, Pepmueller PH, Moore TL. Determination of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the sera of patients with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol.* 2004;31:1829-33.
12. Avcin T, Cimaz R, Falcini F, Zulian F, Martini G, Simonini G, et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum.* 2002;61:608-11.
13. Moore TI, Chung AK, Pepmueller PH. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in juvenile rheumatoid arthritis patients. Abstracts of 65th Annual Scientific Meeting; Association of Rheumatology Health Professional 36th Annual Scientific Meeting; November 10-15, 2001; San Francisco, Califórnia. *Arthritis Rheum.* 2001;44:S338.
14. Petty RE, Southwood TR, Baum J, Bhattay E, Glass DN, Manners P, Maldonado-Cocco J, et al. Revision of the proposed classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: Durban, 1997. *J Rheumatol.* 1998;25:1991-10.
15. Diretrizes e Normas Reguladoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos- Resolução 1996 do Conselho Nacional de Saúde. Informe Epidemiológico do SUS, ano V, nº 2, 1996, supl 03.
16. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti – CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2003;62: 870-4.

Correspondência:
Ricardo Machado Xavier
Rua Ramiro Barcelos, 2350 6º andar, Rio Branco
Serviço de Reumatologia - HCPA
CEP 90035-903 – Porto Alegre, RS
Tel.: (51) 2101.8340
E-mail: rmaxavier@hcpa.ufrgs.br