

Associação entre os níveis séricos de potenciais biomarcadores com a presença de fatores relacionados à atividade clínica e ao mau prognóstico em espondiloartrites

John Londono¹, Maria Consuelo Romero-Sanchez², Viviana Garcia Torres³, Wilson A. Bautista⁴, Diego Jaimes Fernandez⁵, Julitte de Avila Quiroga⁶, Rafael Valle-Oñate⁷, Ana María Santos⁸, Juan Francisco Medina⁹

RESUMO

Introdução: Biomarcadores séricos, tradicionalmente associados à atividade inflamatória e mau prognóstico em doenças reumáticas, não apresentam a mesma relação nas espondiloartrites. **Objetivo:** Estabelecer uma associação entre os níveis séricos de biomarcadores com a presença de fatores associados com a atividade clínica e com o mau prognóstico nas espondiloartropatias. **Métodos:** Sessenta e dois pacientes (13 com artrite reativa, 19 com espondilite anquilosante e 30 com espondiloartropatia indiferenciada) foram comparados a 46 controles sadios. Foram realizadas avaliações clínicas, radiológicas e laboratoriais. Os resultados foram analisados de acordo com a presença de uveíte, entesite, lombalgia inflamatória, artrite, HLA-B27 e comprometimento das articulações sacroilíacas. Os biomarcadores utilizados foram: VHS, PCRus, SAA, LBP, FSC-M e MMP-3, além da dosagem dos níveis séricos das citocinas: IL-17, IL-6, IL-1 α , TNF- α , IFN- γ , e IL-23. **Resultados:** Quarenta e três (69,4%) pacientes eram homens. A média de idades foi de 31,9 \pm 9,9 anos, enquanto a idade média para o aparecimento dos sintomas foi de 26,9 \pm 7,3 anos. HLA-B27 foi positivo em 26 (41,9%) dos pacientes, lombalgia inflamatória esteve presente em 42 (67,7%), artrite em 44 (71,0%) e entesite em 34 (54,8%) pacientes. Os níveis séricos de IL-17, IL-23, TNF- α , IL-6, IL-1 α e PCRus foram mais elevados em pacientes com espondiloartropatia em comparação com os controles. Os valores de PCRus (P = 0,04), IL-6 (P = 0,003), IL-1 α (P = 0,03), e LBP (P = 0,03) se associaram de maneira significativa com presença de HLA-B27, dor lombar inflamatória e artrite. **Conclusão:** O aumento dos níveis séricos de PCRus, IL-6, IL-1 α e LBP apresentaram associação com fatores relacionados a atividade clínica e mau prognóstico em pacientes com espondiloartrites.

Palavras-chave: espondiloartrite, espondiloartropatias, artrite reativa, espondilite anquilosante, espondiloartrite anquilosante, doenças reumatológicas, entesite, dor lombar, artrite, biomarcadores

© 2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

Espondiloartrite (EpA) é um grupo heterogêneo de doenças inflamatórias crônicas que compartilham manifestações clínicas

e radiológicas. Essas doenças estão associadas à presença de antígeno leucocitário humano B27 (*human leukocyte antigen*, HLA-B27), que leva a uma tendência para associação familiar.¹⁻³ As doenças a seguir compreendem EpA: espondilite

Recebido em 17/10/2011. Aprovado, após revisão, em 08/05/2012. Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse. Comitê de Ética: Faculdade de Medicina da Universidade de La Sabana. Suporte Financeiro: Universidade de La Sabana.

- Universidade de La Sabana; Universidade de Navarra.
1. Médico, PhD(c), Universidade de Navarra, Universidade de La Sabana
 2. PhD., Imunologia, Hospital Militar Central, Universidade de La Sabana; Instituto UIBO, Universidade del Bosque
 3. Médico, Reumatologia, Hospital Militar Central, Universidade de La Sabana
 4. Médico, Reumatologia, Hospital Militar Central, Universidade Militar de Nova Granada
 5. Médico, MsC (c), Reumatologia, Hospital Militar Central, Universidade de La Sabana
 6. MsC., Imunologia, Universidade del Bosque
 7. Médico, Reumatologia, Hospital Militar Central; Professor da Universidade de La Sabana
 8. Aluna de Pós-Graduação, Departamento de Biologia, Universidade de Los Andes
 9. Médico, PhD, Centro de Pesquisas Médicas Aplicadas na Área de Geneterapia e Hepatologia – CIMA; Professor de Medicina Interna, Universidade de Navarra
- Correspondência para: John Londono. Campus Universitario del Puente del Comun, Km 7 – Autopista Norte de Bogota, D.C. P.O.Box: 250001. Chia, Cundinamarca, Colombia. E-mail: john.londono@unisabana.edu.co

anquilosante (EA), artrite reativa (ARe), artrite psoriásica (APs), artrite associada a doença inflamatória intestinal e espondiloartrite indiferenciada (EpAi).⁴

A apresentação clínica da EpA caracteriza-se por comprometimento de articulações do esqueleto axial e periférico, entesite e manifestações extra-articulares. Em conjunto com a EA, a EpAi é o subtipo mais comum, com prevalência entre 0,7% e 2,0% na população geral.³

Tradicionalmente, o subtipo de doença e sua progressão, com o passar do tempo, têm sido correlacionados com fatores prognósticos como raça, gênero, idade por ocasião do surgimento e envolvimento precoce do esqueleto axial.⁵⁻⁷

Em estudos realizados na América Latina, os tipos mais frequentes de EpA apresentados foram EpAi e ARe. Os estágios iniciais dessas doenças estão associados ao comprometimento inflamatório articular e à entesite dos membros inferiores.⁷⁻⁹

Algumas características relacionadas ao surgimento da doença, como idade de surgimento, HLA-B27, duração dos sintomas do primeiro episódio e gênero masculino, entre outras, podem determinar a expressão clínica e a evolução da EpA. Em geral, os homens apresentam formas mais graves e exibem maior comprometimento axial, enquanto as mulheres têm maior comprometimento articular periférico e menos sacroilíte.² Nos casos de EA juvenil, o comprometimento da articulação do quadril é considerado fator para mau prognóstico a longo prazo.⁹ Outros marcadores de gravidade da doença são: velocidade de hemossedimentação (VHS) > 30 mm/hora, baixa resposta a agentes anti-inflamatórios não esteroidais (AINE), amplitude de movimento limitada, limitação da coluna vertebral lombar, dactilite, oligoartrite e idade no surgimento da doença inferior a 16 anos.¹⁰

Existe predisposição genética para ocorrência da doença, o que fica evidenciado por sua robusta associação com HLA-B27, especialmente no caso de EA, em que 90% dos pacientes são positivos para esse alelo.¹¹ Pacientes com EpA e HLA-B27 exibem sintomas articulares mais graves e prolongados, maior comprometimento axial dos quadris e manifestações extra-articulares mais frequentes – por exemplo, uveíte e envolvimento cardíaco.

Recentemente, estudos genômicos de pacientes com EA identificaram e validaram outros *loci*, além do HLA-B27, envolvidos na patogênese dessa doença. Tais genes são a aminopeptidase 1 do retículo endoplasmático (ERAP-1), o receptor interleucina 23 (IL-23R), o receptor IL-1 (IL-1RII) e dois *loci* que codificam genes desconhecidos. O risco atribuído a populações com os três genes associados é de 90%, 26% e 1%, respectivamente.¹²⁻¹⁴

Os principais desafios para o tratamento da EpA estão ligados à falta de biomarcadores associados à atividade da doença, e também à impossibilidade de prever a lesão articular e a resposta ao tratamento. Estudos recentemente publicados concentraram-se na possível contribuição de marcadores biológicos solúveis que foram selecionados com base no presente entendimento de seu papel na inflamação e/ou de sua associação com a remodelagem da matriz articular.¹⁵

Os biomarcadores podem dar informações que esclarecem o prognóstico, a atividade da doença e a patogênese da EpA.¹⁶

A VHS e a proteína C-reativa (PCR) são dois biomarcadores atualmente utilizados para a avaliação da atividade inflamatória da doença. Mas esses biomarcadores não possuem as melhores características de especificidade, sensibilidade e reprodutibilidade. Esses marcadores da inflamação oferecem baixa correlação com o grau de atividade em pacientes com EpA.¹⁷

Recentemente, foram propostos outros biomarcadores para atividade de EpA, inclusive metaloproteinase 3 (MMP-3),¹⁸ IL-1 α ,¹⁹ IL-6,²⁰ fator estimulador de colônia de macrófago (M-CSF)²¹ e proteína de ligação de lipopolissacarídeo (LBP).²² A IL-17 situa-se entre os biomarcadores recentemente avaliados, mas não foi informada associação com a atividade da doença.¹² No entanto, recentemente foram descritos níveis séricos de IL-17 e IL-23 significativamente elevados em pacientes com EA em comparação a controles saudáveis, sugerindo que essas duas citocinas desempenham papéis críticos na patogênese da EA.²³

O objetivo deste estudo foi estabelecer a associação entre biomarcadores potenciais para EpA com a presença de fatores associados à atividade e mau prognóstico em pacientes nos estágios iniciais da doença.

PACIENTES E MÉTODOS

Amostras de sangue foram coletadas de 62 pacientes com diagnóstico de EpA, de acordo com os critérios de classificação estabelecidos pelo *European Spondyloarthritis Study Group* (ESSG, Grupo Europeu de Estudo da Espondiloartrite).²⁴ Desses pacientes, 43 eram homens e 19 mulheres, e os pacientes foram coletados consecutivamente e conforme a conveniência. Os pacientes compareceram na Clínica de EpA do Hospital Militar Central entre janeiro de 2010 e maio de 2011. Treze indivíduos foram diagnosticados com ARe, com base na proposta para diagnóstico descrita no Terceiro Workshop Internacional sobre ARe em Berlim.²⁵ Dezenove pacientes foram diagnosticados com EA com base nos critérios modificados de Nova Iorque, e 30 pacientes foram diagnosticados com EpAi

em conformidade com os critérios de classificação do ESSG. Por ocasião do estudo, todos os pacientes receberam AINE e sulfasalazina (1,5–2 g/dia). Nenhum dos pacientes recebeu tratamento com agentes biológicos ou com glicocorticoides intra-articulares ou sistêmicos. Quarenta e seis indivíduos saudáveis foram incluídos no estudo, como controles. As amostras séricas dos controles saudáveis participantes foram obtidas no banco do Hospital Militar Central de indivíduos sem doenças inflamatórias, autoimunes ou infecciosas, e foram levados em consideração o gênero e a idade.

O estágio da atividade da doença foi medido pelo índice *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index* (BASDAI),²⁶ e o estado funcional foi avaliado pelo índice *Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index* (BASFI).²⁷ Todas as medidas relacionadas à atividade da doença e à função física dos pacientes foram realizadas conforme recomendação da *Assessment of SpondyloArthritis International Society* (ASAS).²⁸ Todos os pacientes receberam AINE e sulfasalazina, mas nenhum recebeu terapia biológica ou corticoides intra-articulares ou sistêmicos.

Amostras séricas

As amostras séricas foram preparadas a partir de 3 mL de sangue venoso sem anticoagulante, em conformidade com a técnica de rotina. Todas as amostras (soros de pacientes com EpA e participantes saudáveis) foram centrifugadas durante 10 minutos a 2.500 rpm, e foram subsequentemente congeladas a -80°C até sua avaliação, com um lapso de tempo não superior a dois meses após sua obtenção. As amostras séricas de pacientes e controles foram coletadas e processadas simultaneamente em intervalos de tempo. Da mesma forma, as amostras de sangue foram coletadas simultaneamente com os parâmetros de atividade clínica.

Análise de citometria de fluxo

Na citometria de fluxo, utilizou-se um *Cytometric Bead-Array* (CBA Flex Set) para medir os níveis séricos de citocinas (IL-17, IL-6, IL-1 α , TNF- α e INF- γ). As pérolas de captura, os anticorpos de detecção conjugados com PE, os controles e as amostras séricas dos pacientes e dos controles saudáveis foram incubados conjuntamente para formar complexos em sanduíche. As amostras foram coletadas com o uso de um citômetro de fluxo FACS Canto IITM. Os dados foram adquiridos com o programa FACS DIVA, e os resultados foram gerados em formato gráfico e tabular utilizando o programa BD FACS, criando um *gate* marcador com base em 1.800 eventos de controle para cada citocina; os níveis estão expressos como médias \pm desvio padrão (DP) em pg/mL.

Ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA)

Os níveis séricos foram determinados para IL-23, MMP-3, amiloide sérico A (SAA) e M-CSF (R & D Systems) por ELISA utilizando anticorpos pareados de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras séricas foram analisadas em duplicada. Os valores para cada citocina em um grupo de participantes foram expressos na forma de médias \pm DP em pg/mL.

Os níveis de proteína C-reativa ultrasensível (PCRus) e de LBP foram analisados por quimioluminescência. No mesmo dia foram realizadas comparações entre amostras. O valor de referência que considerou positivo o PCRus foi 0,9 mg/dL.

O projeto foi realizado sob os princípios da Declaração de Helsinque, tendo sido aprovado pela Comissão de Ética da instituição. Todos os participantes tinham previamente assinado um formulário de consentimento informado, e a confidencialidade foi mantida.

Análise estatística

Na análise dos dados utilizou-se o pacote estatístico SPSS 17.0 para Windows. Para a avaliação das variáveis contínuas foram utilizadas medidas de tendência central e de dispersão; para a comparação entre grupos de variáveis quantitativas com distribuição paramétrica foi utilizado o teste *t* de Student para amostras independentes. As variáveis categóricas foram apresentadas em gráficos de frequência e percentuais; quando necessários, foram utilizados os testes do qui-quadrado e exato de Fisher para comparação dos grupos. Consideramos um valor $P < 0,05$ como estatisticamente significativo. Levamos em consideração a distribuição por gênero e a idade média dos pacientes e dos controles, mas não foi realizada uma análise pareada.

RESULTADOS

Características gerais da população

Os dados demográficos, informações gerais e características relacionadas à doença de todos os 62 pacientes estão ilustrados na Tabela 1.

Histórico ligado ao surgimento da doença

Os sintomas mais frequentes no início da doença foram artrite e dor lombar inflamatória (DLI), seguidos por entesopatia (Tabela 2).

Atividade da doença

Por ocasião da avaliação dos pacientes, a atividade da doença foi classificada como moderada ou grave para a maioria dos

Tabela 1

Dados demográficos (espondiloartrite, n = 62)

Idade* (anos)	31,9 ± 9,9
Idade no surgimento dos sintomas* (meses)	26,9 ± 7,3
Tempo de evolução* (anos)	5,01 ± 5,7
Gênero, M (%)	43 (69,4)
Relação de gênero, M:F	3:1
HLA-B27 (+)	26 (41,9)
EA	20 (32)
EpAi	29 (47)
ARe	13 (21)

*Média ± DP.

EA: espondilite anquilosante; EpAi: espondiloartrite indiferenciada; ARe: artrite reativa.

Tabela 2

Sintomas presentes no início da doença (espondiloartrite, n = 62)

Dor lombar inflamatória	67,7%
Artrite	71,0%
Entesite	54,8%
Infecção – diarreia	29,0%
Uveíte – anterior	12,9%
Dor glútea	17,7%
Dactilite	19,4%

pacientes (atividade moderada se BASDAI caísse entre 4–6,9, e grave se BASDAI ≥ 7). O padrão de comprometimento da doença foi distribuído como se segue: 38 (61,3%) pacientes exibiam envolvimento periférico, sete (11,3%) tinham envolvimento axial e quatro (6,5%) pacientes exibiam envolvimento misto (Tabela 3).

Os diferentes marcadores séricos quantificados nos pacientes e nos controles estão descritos nas Tabela 4 e 5. Dentro de cada marcador sérico associado com inflamação (IL-17, IL-23, TNF- α , IL-6, IL-1 α e PCRus) foram observadas diferenças estatisticamente significativas em comparação aos controles, e os níveis de citocinas estavam mais altos em pacientes com EpA. Os níveis de IFN- γ , MMP-3, SAA e M-CSF também estavam mais elevados em pacientes com EpA, em comparação aos controles – mas essas diferenças não foram estatisticamente significativas (Tabela 4). Os dados para atividade dos marcadores clínicos e biológicos estão descritos na Tabela 5.

Os diferentes marcadores de inflamação foram correlacionados com fatores para mau prognóstico no início da doença, inclusive HLA-B27 e os precedentes de DLI e artrite, conforme mostra a Tabela 6. A expressão de marcadores, por exemplo, PCRus (P = 0,04), IL-6 (P = 0,003), IL-1 α (P = 0,03) e LBP

Tabela 3

Variáveis clínicas relacionadas à atividade da doença

Atividade da doença determinada pelo examinador, EVA 0–10*	5,4 ± 2,0
Atividade da doença determinada pelo paciente, EVA 0–10*	6,5 ± 2,4
Rigidez matinal (min)	46,3 ± 35,7
Teste de Schober**	4,9 ± 5,5
Expansão torácica* (cm)	4,2 ± 1,3
Distância entre o occipúcio e a parede* (cm)	0,05 ± 0,4
Teste de Patrick**	27 (43,5)
Envolvimento periférico**	38 (61,3)
Envolvimento axial**	7 (11,3)
Envolvimento misto**	4 (6,5)
BASDAI*	6,1 ± 2,0
BASFI*	5,8 ± 2,3
PCRus (mg/L)*	9,4 ± 16,5
VHS (mm/hora)*	13,5 ± 13,8

*Média ± DP **Frequência n (%)

PCRus: proteína C-reativa ultrasensível; VHS: velocidade de hemossedimentação.

Tabela 4

Comparação de marcadores séricos de inflamação em pacientes com espondiloartrite e em controles saudáveis

Marcador	EpA (n = 62)	Controles (n = 46)	P
IL-17 (pg/mL)	52,54 ± 87,12	13,73 ± 26,40	0,000
IL-23 (pg/mL)	4,76 ± 2,93	3,12 ± 0,717	0,000
TNF- α (pg/mL)	24,20 ± 36,35	15,95 ± 12,67	0,000
IL6 (pg/mL)	48,24 ± 73,73	20,14 ± 4,56	0,000
IFN- γ (pg/mL)	0,88 ± 2,95	0,56 ± 1,22	0,615
IL-1 α (pg/mL)	46,0 ± 23,22	42,23 ± 30,84	0,001
MMP-3 (ng/mL)	21,42 ± 21,83	18,05 ± 9,96	0,900
SAA (ng/mL)	853,7 ± 946,2	282,49 ± 371,94	0,001
M-CSF (pg/mL)	102,48 ± 67,86	34,74 ± 33,40	0,001
LBP (μ g/mL)	7,54 ± 3,71	3,5 ± 1,8	0,045
VHS (mm/hora)	17,08 ± 13,87	3,8 ± 0,7	0,003
PCRus (mg/L)	8,31 ± 16,7	1,13 ± 0,88	0,020

Os resultados estão expressos em média ± DP.

EpA: espondiloartrite; IL: interleucina; TNF- α : fator-alfa de necrose tumoral; IFN- γ : interferon gama; MMP-3: metaloproteinase 3; SAA: amiloide sérico A; M-CSF: fator estimulante de colônia de macrófagos; LBP: proteína de ligação de lipopolissacarídeo; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCRus: proteína C-reativa ultrasensível.

(P = 0,03), foi significativamente maior em pacientes que se apresentaram com fatores de mau prognóstico associados ao início da doença *versus* pacientes que não se apresentaram com fatores de mau prognóstico (Tabela 6).

Tabela 5

Dados de atividade no grupo de espondiloartrite e subtipos

	EpA	EA	EpAi	ARe
BASDAI	6,1 ± 2,0	6,4 ± 2,0	6,2 ± 1,6	5,7 ± 2,7
BASFI	5,8 ± 2,3	5,4 ± 2,3	5,9 ± 2,1	5,9 ± 2,7
VHS (mm/hora)	17,1 ± 13,8	13,4 ± 12,8	15,2 ± 10,4	26,7 ± 18,1
PCRus (mg/L)	8,31 ± 16,7	7,9 ± 16,4	4,5 ± 9,9	22,4 ± 22,2
LBP (µg/mL)	7,5 ± 3,7	0,53 ± 2,4	6,6 ± 3,5	10,0 ± 4,8
SAA (ng/mL)	853,7 ± 946,2	752,5 ± 871,8	652,0 ± 820,2	1459,7 ± 1124,7

Os resultados estão expressos em média ± DP.

EpA: espondiloartrite; EA: espondilite anquilosante; EpAi: espondiloartrite indiferenciada; ARe: artrite reativa; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCRus: proteína C-reativa ultrasensível; LBP: proteína de ligação de lipopolissacarídeo; SAA: amiloide sérico A.

Tabela 6

Fatores de mau prognóstico em pacientes com espondiloartrite: HLA-B27+, DLI e artrite. Descrição da construção do mau prognóstico como variáveis de grupo

	Fatores (+) n = 9	Fatores (-) n = 53	P
VHS (mm/hora)	21,6 ± 16,3	16,3 ± 13,6	0,4
PCRus (mg/L)	21,1 ± 26,0	7,4 ± 13,9	0,04
SAA (ng/mL)	1312,9 ± 1184,8	786,6 ± 894,9	0,4
MMP-3 (ng/mL)	29,4 ± 32,6	20,1 ± 19,8	0,7
M-CSF (pg/mL)	87,2 ± 33,1	106,5 ± 71,9	0,9
IL-6 (pg/mL)	79,8 ± 55,3	43,3 ± 76,2	0,003
IL-1α (pg/mL)	56,1 ± 30,6	43,7 ± 21,7	0,03
TNF-α (pg/mL)	19,4 ± 5,4	24,7 ± 39,6	0,5
IL-17 (pg/mL)	69,3 ± 69,1	49,3 ± 90,9	0,06
IL-23 (pg/mL)	4,9 ± 2,9	4,8 ± 3,0	0,8
INF-γ (pg/mL)	0,6 ± 1,2	0,9 ± 3,2	0,68
LBP (µg/mL)	9,9 ± 4,5	7,2 ± 3,4	0,03

Os resultados estão expressos em média ± DP. Valores P estatisticamente significativos em pacientes com EpA contra fatores de mau prognóstico (P < 0,05).

DLI: dor lombar inflamatória; VHS: velocidade de hemossedimentação; PCRus: proteína C-reativa ultrasensível; SAA: amiloide sérico A; MMP-3: metaloproteinase 3; M-CSF: fator estimulante de colônia de macrófagos; IL: interleucina; TNF-α: fator-alfa de necrose tumoral; INF-γ: interferon gama; LBP: proteína de ligação de lipopolissacarídeo.

DISCUSSÃO

O presente estudo comparou níveis sanguíneos de citocinas em uma população de pacientes com EpA em seus estágios iniciais (menos de cinco anos de evolução) com um grupo de controles. Os níveis de IL-17, IL-23, TNF-α, IL-6, IL-1α e PCRus estavam mais altos em pacientes em comparação aos controles. Os níveis de PCRus, IL-6, IL-1α e LBP também estavam significativamente elevados em pacientes com fatores associados a mau prognóstico, por exemplo, EpA, DLI e

artrite, quando comparados a pacientes sem fatores para mau prognóstico.

Em sua maioria, os estudos relacionados a marcadores inflamatórios em pacientes com EpA têm sido realizados em populações de pacientes com EA; em contraste, a população deste estudo consistiu de pacientes com ARe e EpAi, além de EA.^{29,30}

Em nosso estudo, os níveis de PCRus foram mais altos em pacientes com EpA, quando comparados aos controles, demonstrando correlação com a presença de fatores de mau prognóstico. No caso de EA, apenas 40%–60% dos pacientes exibiam elevação. Pacientes sem valores elevados podem ter a doença clinicamente ativa, o que, em geral, aponta para uma fraca correlação entre os níveis dessa proteína e a atividade clínica da doença em EA. Os níveis de PCR comum foram comparados aos níveis de PCRus como parâmetros de mensuração da atividade em um grupo de pacientes com EA, pertencentes à coorte alemã de EpA. PCRus exibiu melhor correlação com PCR comum com parâmetros clínicos de atividade da doença em pacientes com EpA axial.³¹ Como resultado, PCRus pode ter desempenho melhor que PCR para avaliação da atividade da doença em pacientes com EpA axial.

A IL-6 é uma das principais citocinas já propostas como biomarcadores em pacientes com EpA, estando significativamente elevada na população do presente estudo quando comparada aos controles. Esta é uma citocina pleotrópica bem conhecida por induzir a síntese de diversas proteínas hepáticas. Níveis elevados de IL-6 são observados em pacientes com EA, em comparação a indivíduos saudáveis, o que revela uma correlação entre IL-6 e anquilose vertebral e atividade da doença.³² Também foi observado aumento dos níveis dessa citocina em pacientes com EpA; observou-se redução dos níveis duas semanas depois do tratamento em pacientes que responderam ao tratamento, e também reduções persistentes em um acompanhamento de três anos. Por essas

razões, a IL-6 é considerada uma citocina com valor potencial para monitoramento da atividade da doença e da resposta ao tratamento em pacientes com EpA.³³ As principais diferenças na população no presente estudo são que o estudo precedente foi realizado com base apenas em pacientes com EA e APs, enquanto o presente estudo incluiu pacientes com EA, ARe e EpAi. Da mesma forma, os pacientes participantes no estudo precedente receberam terapia biológica, mas em nosso estudo os pacientes não foram expostos a esse tratamento. A IL-6 também demonstrou correlação com os escores BASDAI e com as imagens por ressonância magnética (IRM) em termos de inflamação em um estudo de fase III de infliximabe. Foram observadas reduções significativas nos níveis de IL-6 e de outros marcadores após uso de infliximabe, em comparação com placebo. Além disso, os níveis de IL-6 tinham correlação com o número de articulações periféricas inflamadas.³⁴

Recentemente, o papel da IL-23 e da IL-7 na patogênese da EpA vem acumulando interesse considerável, porque estudos genéticos demonstraram associações com polimorfismos no receptor de IL-23 em pacientes com EA e doença de Crohn. A IL-23 induz a polarização de linfócitos T CD4 virgens em células *T-helper* 17 (Th-17), o que leva à produção de IL-17, uma citocina proinflamatória encontrada em níveis elevados no soro e no líquido sinovial de pacientes com EpA e artrite reumatoide (AR).¹⁵ Dois estudos corroboraram, recentemente, o papel de IL-17 na patogênese da EpA em seres humanos.

Em um deles, os níveis de IL-17 estavam elevados em pacientes com EA estabelecida e ativa, em comparação aos controles, correlacionando com a atividade da doença. De modo parecido com nossa população, os pacientes não receberam medicamentos imunomoduladores ou medicamentos para a modificação do metabolismo ósseo. A idade média (42 vs. 31 anos, respectivamente) e a duração média da doença (14 vs. 5 anos, respectivamente) foram mais elevadas em comparação ao nosso estudo. Os níveis séricos de IL-17 foram mais altos em pacientes *versus* controles.³⁵

No outro estudo, os níveis sinoviais de IL-17 estavam mais altos em pacientes com ARe e EpAi, em comparação com pacientes com AR e osteoartrite.³⁶ Porém, em um estudo de pacientes com EpA, os níveis séricos estavam mais elevados que nos controles, e não houve correlação com atividade da doença ou redução com a terapia anti-TNF- α .³⁷ Um estudo recentemente publicado de pacientes com EA demonstrou que os níveis séricos de IL-17 e IL-23 estavam significativamente mais altos em pacientes com EA, em comparação aos controles. No entanto, não foi observada associação entre os níveis séricos de IL-17 e IL-23 com atividade clínica e parâmetros laboratoriais.²³

Outra citocina que estava elevada na população em estudo, quando comparada aos controles, foi a IL-1 α . Há informações limitadas relacionadas ao papel dessa citocina como marcador de inflamação em pacientes com EpA. A avaliação dessa e de outras citocinas, por exemplo, TGF- β , IFN- γ e IL-10, não tem sido muito esclarecedora.¹⁵ Um estudo que identificou quais reagentes de fase aguda e citocinas teriam utilidade na monitoração do tratamento com infliximabe em pacientes com EA analisou 22 citocinas, tendo demonstrado que IL-1 α sérica diferenciava pacientes respondentes ao tratamento na sexta semana, com sensibilidade de 84,9% e especificidade de 53,8%. Provavelmente a IL-1 α sérica foi gerada pelos compartimentos articulares, porque os níveis de líquido sinovial estavam mais elevados que os níveis séricos correspondentes. Portanto, essa citocina é considerada como biomarcador potencial em pacientes com EpA.¹⁹

A LBP é uma proteína de ligação de endotoxina que funciona de maneira coordenada para facilitar a resposta total do hospedeiro contra infecções bacterianas gram-negativas. Sua estrutura, função e mobilização permitem uma resposta proinflamatória altamente sensível contra pequenas concentrações de bactérias no início da infecção bacteriana. Mais tarde, essa resposta permite a eficiente eliminação de bactérias viáveis e seus remanescentes, além da eliminação da inflamação derivada da endotoxina.³⁸ Essa proteína está incluída no grupo de biomarcadores diagnósticos ou de atividade propostos para EpA.³² No presente estudo, observamos níveis significativamente elevados de LBP em pacientes que apresentavam fatores de mau prognóstico no início da doença.

Recentemente, demonstrou-se que mais um reagente de fase aguda, SAA, estava elevado em pacientes com EpA e tinha correlação com PCR, VHS e BASDAI.¹⁵ Na população de nosso estudo, os níveis de SAA foram mais altos em pacientes com EpA, em comparação com os controles. Essa proteína é membro da família das apolipoproteínas, sendo primariamente sintetizada no fígado e no líquido sinovial por monócitos e por macrófagos ativados.^{32,39} Sua relação com a atividade da doença de SpA foi avaliada em um estudo de pacientes com EA e conjuntamente com VHS e PCR, que foram comparados com BASDAI. Houve boa correlação entre SAA e VHS, PRC e BASDAI; portanto, os autores propuseram SAA como candidato para biomarcador de atividade.⁴⁰ Assim, SAA se situa entre os reagentes de fase aguda que funcionam mais apropriadamente como prognosticadores da resposta ao tratamento em pacientes com TNF- α , juntamente com PCR e IL-6.¹⁵ Uma combinação de níveis basais elevados de PCR e SAA revela maior valor prognóstico para resposta clínica (81%) em pacientes com EA tratados com anti-TNF.⁴¹

Nosso estudo documentou níveis de concentração sérica de MMP-3 elevados em pacientes com TNF- α , em comparação com indivíduos saudáveis. Um importante conjunto de dados avaliou MMP-3 como um biomarcador que reflete a atividade da doença, por ser expresso em uma série de células intra-articulares, como macrófagos, fibroblastos, e condrócitos, e em resposta a diversos estímulos e citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α .⁴²

Em um estudo recentemente publicado, foi observada uma fraca correlação com PCR, mas não com BASDAI, no início do estudo.⁴³ Também foram observadas correlações fracas entre as mudanças em MMP-3 e as mudanças em PCR e BASDAI em pacientes que foram medicados com adalimumabe.⁴⁴ Em outros artigos, não foi observada correlação entre MMP-3 e VHS ou BASDAI.^{45,46} Essas discrepâncias podem refletir o fenótipo da doença, especialmente sua prevalência relativa à inflamação periférica ativa nas diferentes coortes. Em particular, foi demonstrada uma correlação significativa entre os níveis séricos de MMP-3 e o grau histopatológico de inflamação sinovial no joelho em pacientes com EpA predominantemente periférica.⁴⁷ Por outro lado, a redução de MMP-3 no líquido sinovial e no soro é proporcional à redução no grau de inflamação na histopatologia, após o tratamento com infliximabe. Do mesmo modo, MMP-3 é um significativo prognosticador independente de progressão radiográfica em pacientes com EA, sobretudo naqueles pacientes com lesão radiográfica preexistente.⁴³

Ainda existem desafios importantes no campo da EpA. Primeiramente, a avaliação da gravidade da doença, especialmente o grau de inflamação, fica prejudicada pela baixa sensibilidade e especificidade dos sinais e sintomas. Do mesmo modo, os biomarcadores utilizados na prática clínica, como PCR e VHS, carecem de sensibilidade e especificidade para EpA; além disso, a avaliação da inflamação por meio de IRM é dispendiosa, e o acesso a especialistas com experiência em sua interpretação não está amplamente disponível.

Em segundo lugar, a avaliação do prognóstico fica comprometida pela lenta progressão das alterações radiográficas, porque deverão transcorrer pelo menos dois anos de acompanhamento, antes que uma alteração possa ser confiavelmente detectada. No entanto, alguns pacientes realmente exibem rápida progressão. A capacidade de previsão da progressão é limitada, e os dados atualmente disponíveis apenas favorecem a pontuação basal das lesões radiográficas e a inflamação detectada por IRM como prognosticadores de futura progressão.

Por último, a avaliação dos prognosticadores de resposta ao tratamento identificou idade, estado funcional basal, PCR, e escore para inflamação pelo IRM; mas a capacidade prognóstica

desses parâmetros é limitada. Encontrar melhores parâmetros prognosticadores é uma necessidade importante ainda não satisfeita, pois a terapia biológica é cara e aproximadamente 40% dos pacientes não respondem ao tratamento.^{48,49}

Durante os últimos anos, aumentou o uso de biomarcadores solúveis detectáveis no sangue periférico e na urina, em resposta aos desafios nesse campo. Mas nenhum artigo publicado conseguiu detectar um grupo de biomarcadores que possam prever, com certo grau de precisão, um mau prognóstico em pacientes nos estágios iniciais da doença – que é a principal contribuição desse estudo no campo da EpA.

CONCLUSÕES

O aumento de PCRus, IL-6, IL-1 α e LBP nos níveis sanguíneos está correlacionado com a presença de fatores de mau prognóstico e inflamação persistente observados nos estágios iniciais da EpA.

REFERENCES

REFERÊNCIAS

1. Khan MA. Espondilite anquilosante: introductory comments on its diagnosis and treatment. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 Suppl 3:iii3–7.
2. Sieper J, Braun J, Rudwaleit M, Boonen A, Zink A. Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 Suppl 3:iii8–18.
3. Zochling J, van der Heijde D, Burgos-Vargas R, Collantes E, Davis JC Jr., Dijkmans B *et al.* ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(4):442–52.
4. Zeidler H, Mau W, Khan MA. Undifferentiated spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1992; 18(1):187–202.
5. Khan MA, Kushner I, Braun WE. Comparison of clinical features in HLA-B27 positive and negative patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1977; 20(4):909–12.
6. Burgos-Vargas R, Vázquez-Mellado J, Cassis N, Duarte C, Casarín J, Cifuentes M *et al.* Genuine ankylosing spondylitis in children: a case-control study of patients with early definite disease according to adult onset criteria. *J Rheumatol* 1996; 23(12):2140–7.
7. Londoño J, González L, Ramírez A, Santos P, Avila L, Santos A *et al.* Caracterización de las espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos. *Rev Colomb Reumatol* 2005; 12(3):195–207.
8. Burgos-Vargas R, Vázquez-Mellado J. The early clinical recognition of juvenile-onset ankylosing spondylitis and its differentiation from juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38(6):835–44.
9. Burgos-Vargas R, Pacheco-Tena C, Vázquez-Mellado J. Juvenile-onset spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1997; 23(3):569–98.
10. Amor B, Santos RS, Nahal R, Listrat V, Dougados M. Predictive factors for the longterm outcome of spondyloarthropathies. *J Rheumatol* 1994; 21(10):1883–7.
11. Khan MA, Kellner H. Immunogenetics of spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1992; 18(4):837–64.

12. Layh-Schmitt G, Colbert RA. The interleukin-23/interleukin-17 axis in spondyloarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20(4):392–7.
13. Brown MA. Genetics of ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22(2):126–32.
14. Reveille JD, Sims AM, Danoy P, Evans DM, Leo P, Pointon JJ *et al*. Genome-wide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42(2):123–7.
15. Maksymowych WP. Biomarkers in spondyloarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2010; 12(5):318–24.
16. Maksymowych WP. What do biomarkers tell us about the pathogenesis of ankylosing spondylitis? *Arthritis Res Ther* 2009; 11(1):101.
17. Spoorenberg A, van der Heijde D, de Klerk E, Dougados M, de Vlam K, Mielants H *et al*. Relative value of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in assessment of disease activity in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1999; 26(4):980–4.
18. Chen CH, Lin KC, Yu DT, Yang C, Huang F, Chen HA *et al*. Serum matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in ankylosing spondylitis: MMP-3 is a reproducibly sensitive and specific biomarker of disease activity. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(4):414–20.
19. Romero-Sánchez C, Robinson WH, Tomooka BH, Londoño J, Valle-Oñate R, Huang F *et al*. Identification of acute phase reactants and cytokines useful for monitoring infliximab therapy in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2008; 27(11):1429–35.
20. Bal A, Unlu E, Bahar G, Aydog E, Eksioglu E, Yorgancioglu R. Comparison of serum IL-1 beta, sIL-2R, IL-6, and TNF-alpha levels with disease activity parameters in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2007; 26(2):211–5.
21. Yang C, Gu J, Rihl M, Baeten D, Huang F, Zhao M *et al*. Serum levels of matrix metalloproteinase 3 and macrophage colony-stimulating factor 1 correlate with disease activity in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2004; 51(5):691–9.
22. Heumann D, Bas S, Gallay P, Le Roy D, Barras C, Mensi N *et al*. Lipopolysaccharide binding protein as a marker of inflammation in synovial fluid of patients with arthritis: correlation with interleukin 6 and C-reactive protein. *J Rheumatol* 1995; 22(7):1224–9.
23. Mei Y, Pan F, Gao J, Ge R, Duan Z, Zeng Z *et al*. Increased serum IL-17 and IL-23 in the patient with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2011; 30(2):269–73.
24. Dougados M, van der Linden S, Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A *et al*. The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 1991; 34(10):1218–27.
25. Kingsley G, Sieper J. Third International Workshop on Reactive Arthritis. 23-26 September 1995, Berlin, Germany. Report and abstracts. *Ann Rheum Dis* 1996; 55(8):564–84.
26. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 1994; 21(12):2286–91.
27. Calin A, Jones SD, Garrett SL, Kennedy LG. Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *Br J Rheumatol* 1995; 34(8):793–4.
28. van der Heijde D, Calin A, Dougados M, Khan MA, van der Linden S, Bellamy N. Selection of instruments in the core set for DC-ART, SMARD, physical therapy, and clinical record keeping in ankylosing spondylitis. Progress report of the ASAS Working Group. Assessments in Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol* 1999; 26(4):951–4.
29. de Vlam K. Soluble and tissue biomarkers in ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010; 24(5):671–82.
30. Chen HA, Chen CH, Liao HT, Lin YJ, Chen PC, Chen WS *et al*. Factors associated with radiographic spinal involvement and hip involvement in ankylosing spondylitis. *Semin Arthritis Rheum* 2011; 40(6):552–8.
31. Poddubnyy DA, Rudwaleit M, Listing J, Braun J, Sieper J. Comparison of a high sensitivity and standard C reactive protein measurement in patients with ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(7):1338–41.
32. Romero-Sánchez C, Londoño J, De Ávila J, Valle-Oñate R. Biomarkers for spondyloarthropathies. State of the art. *Rev Med Chil* 2010; 138(9):1179–85.
33. Pedersen SJ, Hetland ML, Sørensen IJ, Ostergaard M, Nielsen HJ, Johansen JS. Circulating levels of interleukin-6, vascular endothelial growth factor, YKL-40, matrix metalloproteinase-3, and total aggrecan in spondyloarthritis patients during 3 years of treatment with TNF α inhibitors. *Clin Rheumatol* 2010; 29(11):1301–9.
34. Visvanathan S, Wagner C, Marini JC, Baker D, Gathany T, Han J *et al*. Inflammatory biomarkers, disease activity and spinal disease measures in patients with ankylosing spondylitis after treatment with infliximab. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(4):511–7.
35. Wendling D, Cedoz JP, Racadot E, Dumoulin G. Serum IL-17, BMP-7, and bone turnover markers in patients with ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 2007; 74(3):304–5.
36. Singh R, Aggarwal A, Misra R. Th1/Th17 cytokine profiles in patients with reactive arthritis/undifferentiated spondyloarthropathy. *J Rheumatol* 2007; 34(11):2285–90.
37. Wendling D, Cedoz JP, Racadot E. Serum and synovial fluid levels of p40 IL12/23 in spondyloarthropathy patients. *Clin Rheumatol* 2009; 28(2):187–90.
38. Weiss J. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): structure, function and regulation in host defence against Gram-negative bacteria. *Biochem Soc Trans* 2003; 31(Pt 4):785–90.
39. Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 1999; 265(2):501–23.
40. Lange U, Boss B, Teichmann J, Klör HU, Neeck G. Serum amyloid A – an indicator of inflammation in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2000; 19(4):119–22.
41. de Vries MK, van Eijk IC, van der Horst-Bruinsma IE, Peters MJ, Nurmohamed MT, Dijkmans BA *et al*. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level, and serum amyloid A protein for patient selection and monitoring of anti-tumor necrosis factor treatment in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2009; 61(11):1484–90.
42. Zhu J, Yu DT. Matrix metalloproteinase expression in the spondyloarthropathies. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18(4):364–8.
43. Maksymowych WP, Landewé R, Conner-Spady B, Dougados M, Mielants H, van der Tempel H *et al*. Serum matrix metalloproteinase 3 is an independent predictor of structural damage progression in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2007; 56(6):1846–53.
44. Maksymowych WP, Rahman P, Shojania K, Olszynski WP, Thomson GT, Ballal S *et al*. Beneficial effects of adalimumab on biomarkers reflecting structural damage in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2008; 35(10):2030–7.

45. Woo JH, Lee HJ, Sung IH, Kim TH. Changes of clinical response and bone biochemical markers in patients with ankylosing spondylitis taking etanercept. *J Rheumatol* 2007; 34(8):1753–9.
46. Appel H, Janssen L, Listing J, Heydrich R, Rudwaleit M, Sieper J. Serum levels of biomarkers of bone and cartilage destruction and new bone formation in different cohorts of patients with axial spondyloarthritis with and without tumor necrosis factor- α blocker treatment. *Arthritis Res Ther* 2008; 10(5):R125.
47. Vandooren B, Kruithof E, Yu DT, Rihl M, Gu J, De Rycke L *et al.* Involvement of matrix metalloproteinases and their inhibitors in peripheral synovitis and down-regulation by tumor necrosis factor α blockade in spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9):2942–53.
48. Vastesaeger N, van der Heijde D, Inman RD, Wang Y, Deodhar A, Hsu B *et al.* Predicting the outcome of ankylosing spondylitis therapy. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(6):973-81.
49. Pedersen SJ, Sørensen IJ, Lambert RG, Hermann KG, Garnero P, Johansen JS *et al.* Radiographic progression is associated with resolution of systemic inflammation in patients with axial spondylarthritis treated with tumor necrosis factor inhibitors: a study of radiographic progression, inflammation on magnetic resonance imaging, and circulating biomarkers of inflammation, angiogenesis, and cartilage and bone turnover. *Arthritis Rheum* 2011; 63(12):3789–800.