



# REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



## Comunicação breve

### A hepcidina-25 dá uma indicação da eficácia terapêutica do tocilizumab na artrite reumatoide – Relação entre a atividade da doença na artrite reumatoide e a anemia



### Hepcidin-25 gives an indication of the therapeutic effectiveness of tocilizumab in rheumatoid arthritis – Relationship between disease activity of rheumatoid arthritis and anemia

Satoshi Suzuki<sup>a,b,\*</sup>, Souichiro Nakano<sup>a,b</sup>, Seiichiro Ando<sup>a</sup>, Ran Matsudaira<sup>a</sup>, Yoshinori Kanai<sup>a</sup>, Kenjiro Yamanaka<sup>a</sup> e Yoshinari Takasaki<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Kyoundo Hospital, Sasaki Institute, Department of Rheumatology and Internal Medicine, Tóquio, Japão

<sup>b</sup> Juntendo University School of Medicine, Department of Rheumatology and Internal Medicine, Tóquio, Japão

#### INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

##### Histórico do artigo:

Recebido em 16 de junho de 2015

Aceito em 24 de julho de 2016

On-line em 17 de setembro de 2016

#### Introdução

O tratamento para a AR melhorou rapidamente desde o advento dos agentes biológicos. No entanto, embora os agentes biológicos tenham um efeito maior em comparação com os fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARD) convencionais, o custo dessas novas terapias continua a ser extremamente alto.<sup>1</sup> Os pacientes nos quais os agentes biológicos são eficazes têm melhores oportunidades de emprego em consequência da redução na atividade da doença. Isso significa que a relação custo-eficácia do tratamento é válida. No entanto, nos casos em que a administração de agentes biológicos não está associada à resposta, a atividade da doença

durante o período de tratamento e a progressão dos danos articulares impõem uma carga incalculável sobre os pacientes e sobre todo o sistema de saúde. Por essa razão, a identificação de fatores que podem prever a eficácia dos agentes biológicos em cada paciente antes da administração é uma questão essencial; atualmente são pesquisadas terapias sob medida que usam polimorfismos de nucleotídeo único (SNP). No Japão, os produtos biológicos atualmente disponíveis para uso na AR incluem aqueles voltados para o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  (infliximab, etanercept, adalimumabe, golimumab e certolizumab pegol), o tocilizumab (TCZ), que tem como alvo a IL-6, e o abatacept, que tem como alvo o CD80/86. Relatou-se previamente a relação entre a terapia com TNF- $\alpha$  e autoanticorpos (anticorpos anti-dsDNA e anticorpos

\* Autor para correspondência.

E-mail: [satsuzu@juntendo.ac.jp](mailto:satsuzu@juntendo.ac.jp) (S. Suzuki).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2016.07.004>

0482-5004/© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Tabela 1 – Características dos pacientes**

Pacientes	Sexo	Idade (anos)	Duração (anos)	Hb (g/dL)	PCR (mg/dL)	MMP3 (ng/mL)	CDAI (CDAI 24 semanas depois)	MTX (mg/semana)	PSL (mg/dia)	Biológicos anteriores
1	F	78	4	13,0	0,8	96	8,0 (6,2)	8	4	ETN
2	M	58	2	13,6	2,3	258	34,2 (24,9)	7,5	10	-
3	F	73	3	11,4	5,1	243	31,6 (29,7)	-	-	-
4	F	51	4	11,1	2,7	170	26,0(1,0)	10	10	INF
5	F	61	7	12,5	0,6	284	16,3 (4,0)	8	7,5	-
6	F	46	7	13,3	1,8	176	14,3 (10,9)	6	8	INF
7	F	49	13	13,6	0,2	-	19,5 (1,1)	-	-	ETN
8	F	73	21	10,0	0,1	150	16,0 (24,0)	10	7,5	-
9	F	60	20	12,4	3,2	714	24,5 (40,0)	6	4	INF
10	F	39	6	10,1	4,2	403	29,2 (8,0)	8	4	INF

CDAI, índice clínico de atividade da doença; ETN, etanercept; Hb, hemoglobina; INF, infliximab; MMP3, metaloproteínas de matriz 3; MTX, metotrexato; PCR, proteína C-reativa; PSL, prednisolona.

anti-SS-A) em pacientes com respostas insuficientes.<sup>2</sup> No presente estudo, examinaram-se os fatores preditivos para o efeito terapêutico dos produtos biológicos, com foco no efeito do TCZ na melhoria da anemia da inflamação crônica via inibição direta da sinalização da IL-6 mediada por receptor.<sup>3</sup> A hepcidina-25, uma das principais causas da anemia da inflamação crônica,<sup>4</sup> foi medida no soro de pacientes com AR. Compararam-se os níveis séricos de hepcidina-25 com os dados clínicos e os níveis de citocinas para examinar se a hepcidina-25 poderia atuar como um fator preditivo da eficácia do TCZ.

## Material e métodos

### Pacientes

Os 10 pacientes selecionados para inclusão no estudo já haviam sido internados na Divisão de Medicina Interna e Reumatologia do Instituto Sasaki do Hospital Kyoundo entre setembro de 2008 e setembro de 2010. Os pacientes tinham começado o tratamento com TCZ durante esse período e eram virgens para agentes biológicos ou tinham mudado de outros agentes biológicos para TCZ. Todos os pacientes com AR atendiam aos critérios revisados de 1987 do *American College of Rheumatology* (ACR) para a classificação da artrite reumatoide.<sup>5</sup> De acordo com a Declaração de Helsinque e as diretrizes do Conselho de Revisão Institucional do Hospital Kyoundo, obteve-se um termo de consentimento por escrito de todos os pacientes antes do início do estudo. As características dos 10 pacientes são mostradas na [tabela 1](#).

### Métodos

Mensuraram-se os níveis de hepcidina-25 e IL-6 antes da introdução do TCZ e três meses após a introdução. As amostras de soro foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A hepcidina-25 sérica, que se acredita seja a forma de hepcidina com maior bioatividade, foi medida com o uso de um ensaio de imunoadsorção enzimática (Elisa) (kit Hecpídina-25 EIA; Bachem, Bubendorf, Suíça). Mediu-se também a IL-6 sérica com o uso do método Elisa (kit Human IL-6 Quantikine Elisa; R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA). A hepcidina-25 e a IL-6

foram medidas com o protocolo Elisa sanduíche. Os resultados dos exames de rotina feitos durante a avaliação geral no Hospital Kyoundo, incluindo hemoglobina sérica, proteína C-reativa (PCR) e velocidade de hemossedimentação (VHS), também foram usados em nossa análise. A atividade da doença na AR foi avaliada pelo índice clínico de atividade da doença (CDAI). O teste t de Student foi usado para análise estatística. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## Resultados

### Eficácia terapêutica do TCZ em pacientes com AR

Os resultados do CDAI nos pacientes antes e depois do tratamento com TCZ são mostrados na [fig. 1A](#).

Seis meses após o início do tratamento com TCZ, observaram-se níveis mais baixos de CDAI em oito de 10 pacientes.

### Comparação dos níveis séricos de hepcidina-25 em pacientes com AR e indivíduos saudáveis

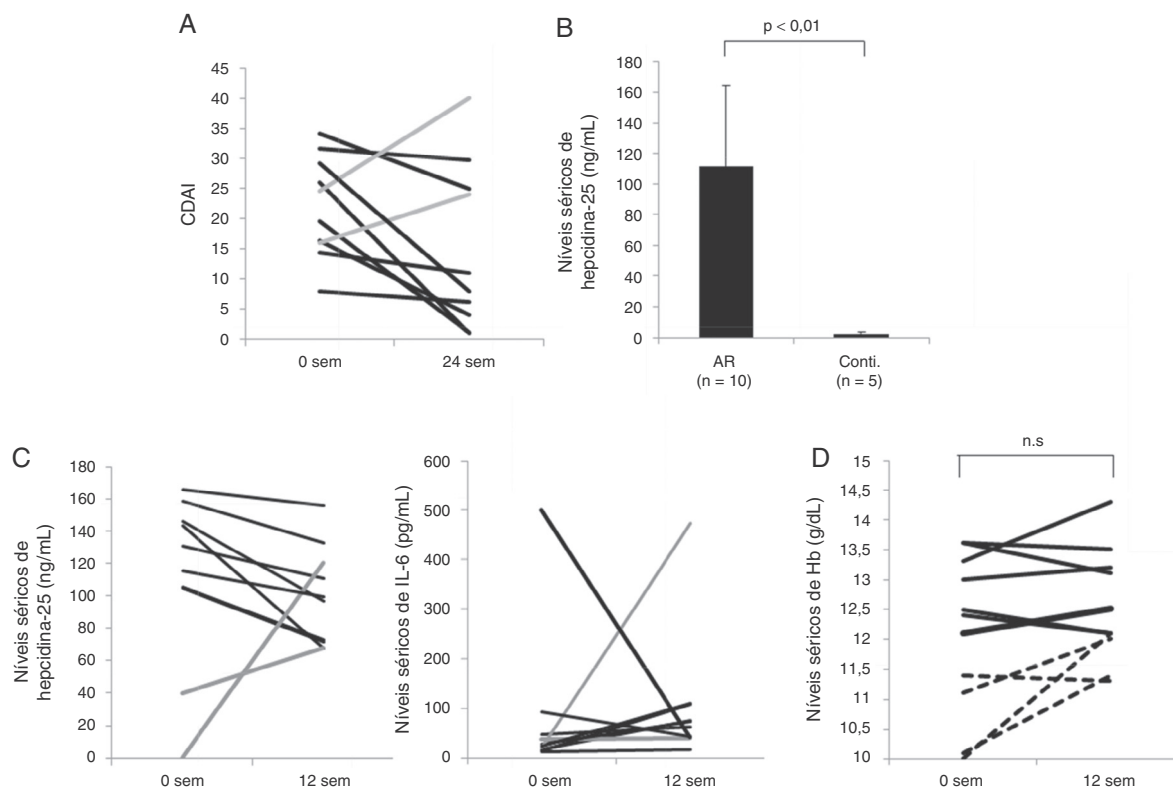
Em uma comparação da hepcidina-25 sérica em pacientes com AR antes do tratamento com TCZ e em indivíduos saudáveis, os níveis de hepcidina-25 eram significativamente mais altos em pacientes com AR ([fig. 1B](#)).

### Alterações na hepcidina-25 e IL-6 em pacientes com AR

Os níveis séricos de hepcidina-25 e IL-6 em pacientes com AR antes da administração de TCZ e 12 semanas (três meses) após a administração são mostrados na [fig. 1C](#).

### Hepcidina-25

Os níveis séricos de hepcidina-25 estavam elevados em oito de 10 pacientes antes da administração de TCZ; nesses oito pacientes, os níveis diminuíram após o tratamento com TCZ. No entanto, nos dois pacientes que tinham níveis relativamente baixos antes da administração, o tratamento com TCZ esteve associado a um aumento na hepcidina-25. Esses resultados refletiram a eficácia do tratamento com TCZ. Nos oito pacientes que exibiram uma diminuição na hepcidina-25, o



**Figura 1 – A**, seis meses após o início do tratamento com TCZ, o CDAI foi inferior em oito de 10 pacientes e, por conseguinte, o TCZ foi considerado eficaz. Verificou-se que o TCZ foi ineficaz em dois de 10 pacientes; **B**, em uma comparação dos níveis séricos de hepcidina-25 em pacientes com AR e indivíduos saudáveis, encontrou-se que a hepcidina-25 está significativamente elevada em pacientes com AR ( $p < 0,01$ ); **C**, observaram-se níveis séricos elevados de hepcidina-25 antes da administração de TCZ e diminuídos três meses após o início do tratamento. No entanto, dois de 10 pacientes tinham níveis pré-administração que eram relativamente baixos; esses níveis aumentaram após o tratamento com TCZ. Esses dois casos foram consistentes com os dois pacientes nos quais o TCZ foi considerado ineficaz seis meses após o início do tratamento. A linha cinza indica os mesmos pacientes que a linha cinza na [fig. 1A](#); **D**, examinaram-se os níveis séricos de hemoglobina três meses após a administração de TCZ. Observaram-se níveis de hemoglobina elevados em cinco de 10 pacientes. Observaram-se níveis elevados em três de quatro pacientes nos quais a anemia estava presente antes de receber tratamento ( $Hb < 12$  g/dL, linha pontilhada).

tratamento com TCZ foi eficaz, enquanto nos últimos dois pacientes determinou-se que o tratamento com TCZ foi ineficaz.

#### IL-6

Como o TCZ é um antagonista do receptor de IL-6, sabe-se que os níveis séricos de IL-6 aumentam temporariamente após a administração.<sup>6</sup> No presente estudo, os níveis aumentaram na maior parte dos pacientes após a administração de TCZ; no entanto, foi observado um decréscimo em três pacientes.

#### Relação entre a hepcidina-25 e a anemia

Observaram-se alterações nos níveis séricos de hemoglobina três meses após o início do tratamento com TCZ em comparação com o nível de hemoglobina pré-TCZ ([fig. 1D](#)). Os níveis de hemoglobina, um indicador geral de anemia, aumentaram em cinco de 10 pacientes após a administração de TCZ. Quando a análise foi limitada aos pacientes nos quais a anemia estava presente antes de receber tratamento

( $Hb < 12$  g/dL), a maior parte dos pacientes mostrou um aumento nos níveis de hemoglobina.

#### Discussão

A hepcidina é um hormônio peptídico produzido no fígado. Existem várias isoformas conhecidas da hepcidina, incluindo a hepcidina-20 e a hepcidina-22; a hepcidina-25 tem a maior bioatividade e considera-se que tem uma forte relação com o metabolismo do ferro.<sup>7</sup> O ferro ingerido por via oral é absorvido pelas células epiteliais intestinais. Na presença de deficiência de ferro, o ferro é liberado para o sangue periférico. Quando há presença de deficiência de ferro, o ferro é excretado pelas fezes conforme as células epiteliais são descartadas no lúmen intestinal. A maior parte do ferro absorvido no trato intestinal é armazenada no fígado. O fígado fornece ao sangue periférico uma quantidade adequada de ferro para uso na produção de eritrócitos na medula óssea. Eritrócitos velhos são aprisionados e destruídos pelo sistema reticuloendotelial e o ferro

é absorvido pelo sistema e novamente liberado para o sangue periférico. No caso de doenças inflamatórias crônicas como a AR, há um excesso de produção de IL-6. Quando a IL-6 se liga aos seus receptores no fígado, é produzida hepcidina-25. A hepcidina-25 se liga à ferroportina, expressa em hepatócitos e macrófagos reticuloendoteliais, leva à inibição da absorção intestinal de ferro e à inibição da liberação de ferro pelo sistema reticuloendotelial e hepatócitos; juntos, esses fatores resultam no desenvolvimento de anemia.<sup>8,9</sup> A expressão da hepcidina é suprarregulada pelo ferro e inflamação e infrarregulada pela anemia e hipóxia.<sup>10</sup>

Com base nesse conhecimento, considera-se que os pacientes com AR com atividade da doença elevada e níveis séricos elevados de 25-hepcidina são especialmente influenciados pela IL-6<sup>11</sup>; prediz-se que o tratamento com TCZ seja particularmente eficaz nesses pacientes. No entanto, no presente estudo, o TCZ não foi eficaz em dois casos, embora os níveis séricos de IL-6 antes do tratamento estivessem anormalmente elevados; em um desses casos, os níveis séricos de hepcidina-25 estavam baixos (fig. 1 C). Relatou-se anteriormente que embora a anemia da inflamação crônica possa estar presente em pacientes com AR, também foi observado um baixo nível de hepcidina, que é fortemente indicativo de deficiência de ferro.<sup>12</sup> No presente estudo, observou-se importante deficiência de ferro em pacientes que tinham níveis séricos de IL-6 anormalmente elevados associados a baixos níveis de hepcidina-25.

Concluiu-se que como os níveis séricos de hepcidina-25 diminuíram após a administração de TCZ e foi observada melhoria da anemia associada, o TCZ pode melhorar a anemia da inflamação crônica.

Os pacientes que tinham altos níveis de hepcidina-25 antes da administração de TCZ e níveis mais baixos três meses após o tratamento ainda foram avaliados como tendo tido uma boa resposta seis meses após o tratamento. Com base nisso, considera-se que a hepcidina-25 pode atuar como um fator preditivo para a eficácia do tratamento com TCZ. No entanto, é preciso ter cuidado na determinação de casos de anemia por deficiência de ferro. A medição da hepcidina pode ser facilmente feita e pode-se esperar o uso da hepcidina como um indicador clínico em pacientes com AR.

### Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

### REFERÊNCIAS

1. van der Velde G, Pham B, Machado M, Ieraci L, Witteman W, Bombardier C, et al. Cost-effectiveness of biologic response modifiers compared to disease-modifying antirheumatic drugs for rheumatoid arthritis: a systematic review. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63:65-78.
2. Matsudaira R, Tamura N, Sekiya F, Ogasawara M, Yamanaka K, Takasaki Y. Anti-Ro/SSA antibodies are an independent factor associated with an insufficient response to tumor necrosis factor inhibitors in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38:2346-54.
3. Isaacs JD, Harari O, Kobold U, Lee JS, Bernasconi C. Effect of tocilizumab on haematological markers implicates interleukin-6 signalling in the anaemia of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15:R204.
4. Masson C. Rheumatoid anemia. *Joint Bone Spine*. 2011;78:131-7.
5. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988;31:727-35.
6. Nishimoto N, Hashimoto J, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, et al. Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab. *Ann Rheum Dis*. 2007;66:1162-7.
7. Park CH, Varole EV, Waring EJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2011;276:7806-10.
8. Yoshizaki K. A new therapeutic strategy for autoimmune and chronic inflammatory disease based on clinical results using IL-6 blocking therapy with a humanized anti-IL-6 receptor antibody. *Yakugaku Zasshi*. 2009;129:667-74.
9. Hashizume M, Mihara M. The roles of interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis*. 2011;ID765624, 8 pages.
10. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002;110:1037-44.
11. Manal Aly AK, Amal Mohamad EB, Salwa AME, Abeer SG. Serum hepcidin: a direct link between anemia of inflammation and coronary artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38:2153-9.
12. Pagani A, Nai A, Corna G, Bosurgi L, Rovere-Querini P, Camaschella C, et al. Low hepcidin accounts for the proinflammatory status associated with iron deficiency. *Blood*. 2011;118:736-46.