

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA**

***PROTEÍNA OLIGOMÉRICA DA MATRIZ
CARTILAGINOSA/TROMBOSPONDINA 5 (COMP/TSP-5)
COMO BIOMARCADOR EM DIFERENTES ESTÁGIOS
FUNCIONAIS DA ARTRITE REUMATÓIDE.***

Fernanda Duarte de Andrade

Porto Alegre

2008

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA MÉDICA**

***PROTEÍNA OLIGOMÉRICA DA MATRIZ
CARTILAGINOSA/TROMBOSPONDINA 5 (COMP/TSP-5)
COMO BIOMARCADOR EM DIFERENTES ESTÁGIOS
FUNCIONAIS DA ARTRITE REUMATÓIDE.***

Fernanda Duarte de Andrade

Orientador: Dr. Henrique Luiz Staub

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica e
Ciências da Saúde, Área de Concentração em
Clínica Médica, da Pontifícia Universidade
Católica do Rio Grande do Sul

Porto Alegre

2008

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

A553p Andrade, Fernanda Duarte de
Proteína Oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina 5 (COMP/TSP-5) como biomarcador em diferentes estágios funcionais da artrite reumatóide / Fernanda Duarte de Andrade; orient. Henrique Luiz Staub. Porto Alegre: PUCRS; 2008.

48f.: gráf. il. tab.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina. Mestrado em Clínica Médica.

1. ARTRITE REUMATÓIDE/sangue. 2. LIGAÇÃO PROTEICA. 3. PROTEÍNAS ASSOCIADAS À MATRIZ CELULAR. 4. PROTEÍNA OLIGOMÉRICA. 5. TROMBOSPONDINAS. 6. MARCADORES BIOLÓGICOS. 7. TÉCNICA DE IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO DE MULTIPLICAÇÃO. 8. ANÁLISE DE VARIÂNCIA. 9. ESTUDOS TRANSVERSAIS. I. Staub, Henrique Luiz. II. Título.

C.D.D. 616.72
C.D.U. 616.72-002:612.12(043.3)
N.L.M. WE 346

Dedico este trabalho ao meu amor, Flávio, pelo carinho e companheirismo e por estar sempre junto a mim, estimulando toda esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Ao final deste trabalho, desejo agradecer a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para sua realização.

Em primeiro lugar ao meu orientador, Henrique Luiz Staub, médico reumatologista e apaixonado pela profissão, pela dedicação.

Aos meus pais, pois sem eles não teria chegado até aqui. Ao meu namorado pelo carinho e compreensão. Em especial ao meu irmão, pelo constante auxílio e apoio mesmo que distante.

Um agradecimento especial a Dra. Ana Lígia Bender, pelo estímulo e auxílio na realização deste trabalho. A Dra. Inês Guimarães da Silveira, médica reumatologista apaixonada pelo trabalho e pelos pacientes.

A toda a equipe da Reumatologia pelo auxílio.

Ao professor Mário Wagner, pela colaboração na análise estatística e pertinentes sugestões.

Aos pacientes, o motivo deste trabalho.

Aos colegas e amigos, que estiveram presentes durante este processo. Em especial à amiga Denise Souza, pela dedicação e carinho.

Aos funcionários do Curso de Pós-Graduação, pela competência e disponibilidade. Aos funcionários da Biblioteca, em especial à bibliotecária Rosária Maria Lúcia Prena Geremia.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES.....	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 ARTRITE REUMATÓIDE.....	3
2.1.1 Conceito.....	3
2.1.2 Epidemiologia	3
2.1.3 Etiopatogenia.....	4
2.1.4 Apresentação clínica da doença.....	5
2.1.5 Diagnóstico.....	7
2.1.5.1 Exame Físico	8
2.1.5.2 Radiologia.....	9
2.1.5.3 Laboratório	10
2.1.5.3.1 Fator reumatóide.....	10
2.1.5.3.2 Anticorpos anti-CCP	11
2.1.6 Prognóstico	12
2.1.7 Tratamento.....	12
2.2 PROTEÍNA OLIGOMÉRICA DA MATRIZ CARTILAGINOSA TROMBOSPONDINA 5 (COMP/TSP-5)	15
2.2.1 Conceito.....	15
3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	17
4 HIPÓTESES	18
4.1 HIPÓTESE OPERACIONAL.....	18
4.2 HIPÓTESE CONCEITUAL.....	18

5 OBJETIVO	19
6 PACIENTES E MÉTODOS	20
6.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	20
6.2 POPULAÇÕES	20
6.2.1 Critérios de inclusão para pacientes com AR.....	20
6.2.2 Critérios de exclusão para pacientes com AR	21
6.2.3 Critérios de inclusão para doadores de sangue.....	21
6.2.4 Critérios de exclusão para doadores de sangue	21
6.3 LOCAL.....	21
6.4 PERÍODO.....	22
6.5 METODOLOGIA.....	22
6.5.1 Dosagem da COMP/TSP-5, fator reumatóide e anticorpos anti-CCP.....	22
6.5.2 Classificação funcional de pacientes com AR	23
6.6 CONTROLE DO ERRO SISTEMÁTICO.....	24
6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
6.8 ÉTICA	25
7 RESULTADOS	26
8 DISCUSSÃO	30
8.1 GRAU FUNCIONAL E COMP/TSP-5.....	30
8.2 GRAU FUNCIONAL E FATOR REUMATÓIDE.....	34
8.3 GRAU FUNCIONAL E ANTI-CCP.....	35
9 CONCLUSÕES	38
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	“American College of Rheumatology” (Colégio Americano de Reumatologia)
Anti-CCP	Anticorpo anti-peptídeo citrulinado cíclico
AR	Artrite reumatóide
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CMP	Proteína extra-articular da matriz do colágeno
COMP/TSP-5	Proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina-5
HAQ	“Health assessment questionnaire”
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
IgG	Imunoglobulina de classe G
IgM	Imunoglobulina de classe M
IgA	Imunoglobulina de classe A
IL	Interleucina
TNF	“Tumoral necrosis factor”, fator de necrose tumoral
TSP	Trombospondina
VSG	Velocidade de sedimentação globular

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios de classificação para artrite reumatóide (AR) segundo o Colégio Americano de Reumatologia de 1987. ⁽²³⁾	8
Tabela 2. Estratificação de grau funcional para pacientes com artrite reumatóide de acordo com os critérios de Hochberg. ⁽⁸⁾	24
Tabela 3. Características das amostras estudadas.	26
Tabela 4. Estratificação de grau funcional nos pacientes com artrite reumatóide.	27
Tabela 5. Frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 (acima de 12 U/L) e distribuição dos níveis médios de COMP/TSP-5 nos diversos graus funcionais de pacientes com artrite reumatóide (AR) comparativamente a controles sadios.	27
Tabela 6. Distribuição dos 28 pacientes reumatóides com COMP/TSP-5 elevada (acima de 12 U/L) nos diversos graus funcionais.	28
Tabela 7. Distribuição dos 35 pacientes com AR fator reumatóide-positivos (níveis acima de 15 UI/ml) nos diversos graus funcionais.....	29
Tabela 8. Distribuição dos 36 pacientes reumatóides anti-CCP-positivos (níveis acima de 20 U/ml) nos diversos graus funcionais.....	29

LISTA DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Alterações inflamatórias da articulação reumatóide.	4
Figura 2. Deformidades articulares clássicas da AR em estágio avançado.....	6
Figura 3. Estrutura tridimensional da COMP/TSP-5	15
Figura 4. Valores médios de COMP/TSP-5 apresentados em gráfico para comparação de 5 grupos de indivíduos.....	28

RESUMO

Introdução: A artrite reumatóide (AR) é o exemplo clássico de artropatia crônica erosiva. É uma doença potencialmente severa e incapacitante. Seu curso e sua progressão são bastante variáveis. A proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina-5 (COMP/TSP-5) é considerada um potencial biomarcador de prognóstico na AR. Não há, entretanto, estudos detalhados acerca da associação entre grau funcional da AR e níveis séricos de COMP/TSP-5.

Objetivo: Avaliar os níveis séricos de COMP/TSP-5 em pacientes com AR estratificados para grau funcional e em controles saudáveis.

Pacientes e métodos: O estudo foi transversal controlado. Cinquenta e oito pacientes com AR, em acompanhamento no Ambulatório de Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS compuseram a população-alvo. A classificação de Hochberg foi utilizada para estimar grau funcional destes pacientes. O grupo-controle consistiu de 100 doadores de sangue consecutivamente selecionados. Os níveis de COMP/TSP-5 foram avaliados através de imunoenensaio enzimático (AnaMar MedicalTM, Lund, Suécia). Níveis acima de 12 U/L foram considerados positivos. A testagem para fator reumatóide foi efetuada por nefelometria. Anticorpos anti-CCP foram detectados por imunoenensaio enzimático. A comparação entre os grupos foi obtida por análise de variância. Um nível de significância de 5% foi considerado para valores P.

Resultados: A média de idade foi de 48±6 anos para o grupo-controle e de 54±14 anos para pacientes com AR (P>0,05). O sexo feminino predominou no grupo de pacientes com AR (P<0,05). Após ajuste para sexo e idade, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram de 7,0 U/L (IC95% 6,1-7,9) para o grupo-controle e de 12,6 U/L (IC95% 11,1-14,1) para o grupo de AR (P<0,01). Entre os pacientes com AR, 25 apresentaram grau funcional I (43,1%), 14 grau funcional II (24,13%), 10 grau funcional III (17,2%) e 9 grau funcional IV (15,5%). Com exceção de indivíduos de classe funcional III, pacientes de outras classes funcionais tiveram maior frequência de níveis superiores de COMP/TSP-5 superiores a 12 U/L do que controles (P<0,001). Em cada uma das classes funcionais, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores do que os do grupo-controle (P<0,05). Os 28 pacientes reumatóides com COMP/TSP-5 elevada distribuíram-se uniformemente entre as 4 classes funcionais (P=0,365). De forma similar, pacientes com AR positivos para fator reumatóide (P=0,360) e para anticorpos anti-CCP (P=0,450) se distribuíram homogeneamente em todas as classes funcionais.

Conclusões: Os níveis de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles. Os níveis médios de COMP/TSP-5 se mantiveram acima dos controles para todas as classes funcionais da doença. Com exceção da classe III, a positividade para COMP/TSP-5 foi mais frequente em todas as outras classes funcionais, comparativamente a controles. A testagem positiva para COMP/TSP-5, fator reumatóide e anticorpos anti-CCP, ocorreu uniformemente em todas as classes funcionais da doença. A presença destes biomarcadores associou-se a variados graus de incapacidade funcional na AR.

ABSTRACT

Introduction: Rheumatoid arthritis (RA) is a classic example of chronic erosive arthropathy. RA is a potentially severe and incapacitating disorder. Progression of disease is mostly variable among affected individuals. The cartilage oligomeric matrix protein/thrombospondin 5 (COMP/TSP-5) is considered as a potential prognostic biomarker of RA. Studies on the association of functional class of RA with serum levels of COMP/TSP-5 have not been available as yet.

Objective: To evaluate the serum levels COMP/TSP-5 in RA patients stratified for functional class and in healthy controls.

Patients and methods: The study was cross-sectional. Fifty-eight patients with RA followed in the Outpatient Rheumatology Clinic of São Lucas Hospital of PUCRS comprised the target population. The Hochberg classification was utilized to estimate the functional status of RA patients. The control group included 100 blood donors consecutively selected. Levels of COMP/TSP-5 were evaluated by immunoenzymatic assay (AnaMar Medical TM, Lund, Suécia). Levels above 12 U/I were considered positive. Testing for rheumatoid factor was carried out by nephelometry. Anti-CCP antibodies were detected by immunoenzymatic assay. Comparison of groups was obtained by analysis of variation. A 5% significance level was considered for P values.

Results: The medium age was 48±6 years for the control group and of 54±14 years for RA patients ($P>0.05$). The female gender predominated in patients with RA ($P<0.05$). After adjustment for sex and age, the average levels of COMP/TSP-5 were 7.0 U/L (95%CI 6.1-7.9) for the control group and of 12.6 U/L (95%CI 11.1-14.1) for patients with RA ($P<0.01$). Among RA patients, 25 showed functional class I (43.1%), 14 functional class II (24.13%), 10 functional class III (17.2%), and 9 class functional IV (15.5%). With the exception of individuals with class functional III, patients from the other functional status presented higher frequency of positive test for COMP/TSP-5 as compared to controls ($P<0.001$). In each of the functional classes, the average levels of COMP/TSP-5 were significantly higher than those of the control group ($P<0.05$). The 28 RA patients with elevated COMP/TSP-5 were distributed uniformly in all 4 functional classes ($P=0.65$). Similarly, RA patients with a positive test for rheumatoid factor ($P=0.36$) and anti-CCP antibodies ($P=0.45$) distributed homogeneously among all functional classes.

Conclusion: The levels of COMP/TSP-5 were significantly higher in RA patients than in controls. The average serum levels of the protein remained elevated as compared to controls in all 4 functional classes of RA patients. With the exception of class III, positivity for COMP/TSP-5 was more frequent in all other functional classes as compared to controls. Positive testing for COMP/TSP-5, rheumatoid factor, and anti-CCP antibodies occurred uniformly in all functional classes of disease. The presence of these biomarkers associated to variable levels of functional incapacity in RA patients.

1 INTRODUÇÃO

A artrite reumatóide (AR) é uma doença crônica de etiologia desconhecida. É uma afecção inflamatória potencialmente severa e incapacitante. Seu curso e progressão têm uma variação interindividual pronunciada⁽¹⁾.

Recentes avanços na composição tecidual das articulações e na fisiopatologia definiram uma série de biomarcadores que tem possibilitado uma melhor compreensão do prognóstico da AR. Alguns marcadores, como o fator reumatóide, são característicos da AR. Anticorpos anti-peptídeos citrulinados cítricos (anti-CCP) são, à luz dos dados atuais, mais específicos para AR do que o fator reumatóide. Ainda outros grupos de marcadores podem ser citados, como os propeptídeos do colágeno tipo III, as hialuronidases, a neopterina e o hialuronato. Os metabólitos da cartilagem tecido-específicos incluem os fragmentos de colágeno tipo II, a proteína extra-articular da matriz do colágeno (CMP) e a proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina-5 (COMP/TSP-5), foco de interesse de nosso estudo⁽²⁾.

Muitos estudos recentes sugerem a COMP/TSP-5 como biomarcador de dano articular em doenças reumatológicas, incluindo a AR^(3,4,5,6). Entretanto, poucos entre estes avaliam a relação entre níveis séricos de COMP/TSP-5 e capacidade funcional de pacientes com AR.

Em 1949, Otto Steinbrocker⁽⁷⁾ reportou originalmente as recomendações para estratificação funcional de pacientes com AR. Em 1991, Marc Hochberg e colaboradores revisaram as recomendações prévias de Steinbrocker. Esta última classificação, atualmente aceita pelo ACR (Colégio Americano de Reumatologia), adiciona critérios como sexo e idade e determina com mais exatidão as incapacidades profissionais.⁽⁸⁾

O uso desta atualizada classificação funcional permitiu que inúmeros estudos sobre qualidade de vida em pacientes com AR se tornassem mais confiáveis do ponto de vista científico. Além disso, a classificação permite conclusões mais acuradas acerca do impacto sócio-econômico perpetrado pela doença.⁽⁹⁾ Não menos importantemente, a estratificação funcional da AR em subgrupos proporciona uma análise mais precisa do papel dos biomarcadores nos variados estágios de incapacidade da doença. Nosso estudo

visa avaliar a relação de alguns destes biomarcadores, particularmente a COMP/TSP-5, com grau funcional da AR.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ARTRITE REUMATÓIDE

2.1.1 Conceito

A AR é uma doença auto-imune multissistêmica de etiologia desconhecida. A característica principal da doença é uma sinoviopatia inflamatória, em geral persistente. Achados sistêmicos (nódulos subcutâneos, fibrose pulmonar, síndrome seca, neuropatia periférica) podem ocorrer. Preferencialmente articulações sinoviais periféricas são acometidas de forma simétrica. A artrite é potencialmente erosiva, de natureza crônica e por vezes incapacitante. Sabe-se, atualmente, que até 50% dos indivíduos com AR cessam atividades profissionais nos primeiros 10 anos de doença. ⁽¹⁰⁾

2.1.2 Epidemiologia

A AR afeta em torno de 0,5 a 1% da população mundial. No Brasil, a prevalência estimada é de 0,2% a 1% ⁽¹¹⁾. Assim, a AR pode ser considerada como um sério problema de saúde pública em nosso país, com graves conseqüências clínicas, psíquicas, sociais e econômicas. Ao longo de décadas, várias medidas terapêuticas foram adotadas visando minimizar sintomas e incapacidades funcionais. Embora controlável com medidas medicamentosas, fisioterápicas e ortopédicas, a doença permanece sem cura definitiva. ^(12,13)

A doença ocorre em todas as raças e países ⁽¹⁴⁾. A maior incidência da AR se dá entre os 35-65 anos de idade. ⁽¹⁵⁾ As mulheres são até três vezes mais afetadas do que os homens. A prevalência aumenta com a idade, e nos grupos mais senis as diferenças de sexo não são tão marcantes. Embora a AR possa iniciar em qualquer idade, classicamente a doença se deflagra em mulheres na faixa etária de 40 a 50 anos. Quando diagnosticada antes dos 16 anos de idade, o quadro é denominado artrite idiopática da infância. ⁽¹⁶⁾

2.1.3 Etiopatogenia

A causa da doença ainda é desconhecida. Fatores genéticos, ambientais e hormonais estão envolvidos no surgimento e progressão da doença. Alguns dos fatores etiopatogênicos de importância na doença incluem: resposta imuno-inflamatória pós-infecção, polimorfismos genéticos nos antígenos de histocompatibilidade, hiperatividade humoral e celular e hiperfunção de citocinas pró-inflamatórias. O resultado histopatológico é uma sinóvia altamente celular (pannus) ⁽¹⁷⁾.

Sabidamente, a AR está associada a uma produção aumentada de uma série de citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e a interleucina 1 (IL-1), reconhecidas moléculas pró-inflamatórias. O TNF-alfa parece prover a maior participação no processo pró-inflamatório, enquanto a IL-1 é mediador-chave na lise ósteo-cartilaginosa. O bloqueio direto e in vivo destas moléculas inflamatórias se dá através da ação de citocinas como a IL-4 e a IL-10. A IL-10, a produzida por linfócitos T de linhagem 2 e dotada de efeito supressor sobre linfócitos T de linhagem 1, atua na diferenciação de células B. Potencialmente atua, em conjunção com a IL-4, na perpetuação da resposta humoral vista em pacientes com AR. ⁽¹⁸⁾

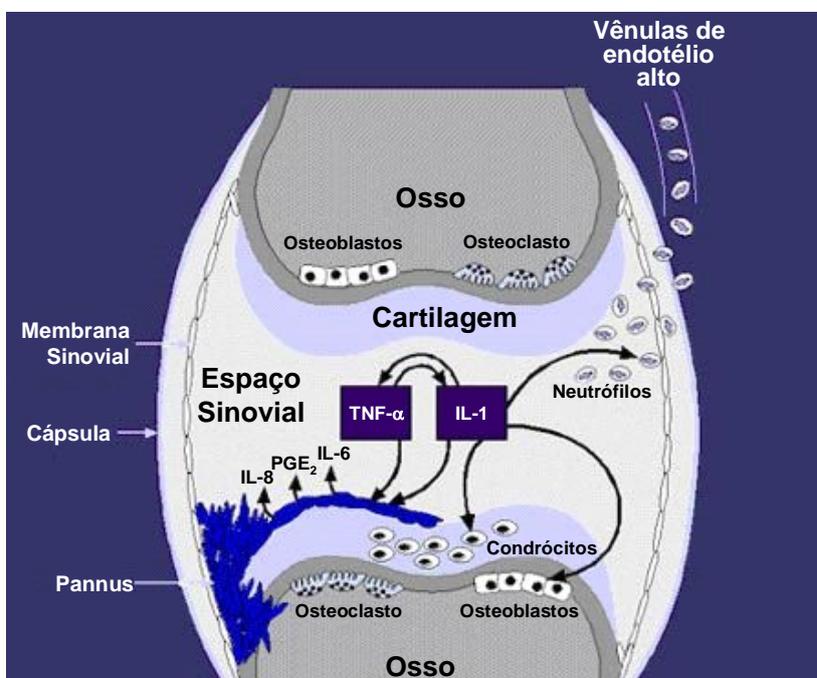


Figura 1. Alterações inflamatórias da articulação reumatóide. A entrada de leucócitos no espaço sinovial se dá através de vênulas de endotélio alto. A figura enfatiza o papel das citocinas pró-inflamatórias (principalmente TNF-alfa e IL-1) na formação do pannus intra-articular.

A perda de função articular decorre do dano irreversível da membrana sinovial, da cartilagem articular e do osso subcondral, mas também da inflamação de tecidos adjacentes como cápsula, tendões e ligamentos. Os principais fatores envolvidos na destruição da cartilagem são a incapacidade de os condrócitos manterem a homeostase do tecido e a ação de fatores secretados por células sinoviais inflamadas. Enzimas proteolíticas presentes no líquido sinovial agem diretamente na matriz cartilaginosa, o que contribui para a degradação articular. Os proteoglicanos da matriz são altamente suscetíveis à degradação por várias enzimas proteolíticas (catepsinas, elastases e metaloproteínases). As alterações iniciais da membrana sinovial se caracterizam pelo aumento da permeabilidade capilar, infiltração celular, neo-angiogênese. Posteriormente, ocorre formação do tecido de granulação, em que a membrana se torna hiperplasiada e hipertrofiada ⁽¹⁷⁾.

Anatomicamente, a sinóvia, as porções periféricas da cartilagem articular e os espaços medulares subcondrais são acometidos de forma precoce na inflamação reumatóide. Progressivamente, o pannus formado passa a erodir a cartilagem articular. Aderências fibróticas sinóvio-cartilaginosas podem se formar, o que acarreta clinicamente restrição articular. Com a progressão da doença, a porção esponjosa do osso se torna exposta. O resultado anátomo-patológico final pode ser a anquilose fibrótica da articulação, o que gera deformidades e graves incapacitações funcionais. ⁽¹⁹⁾

2.1.4 Apresentação clínica da doença

A AR cursa com manifestações articulares e extra-articulares. As últimas se associam à doença articular mais severa e à presença de fatores reumatóides ou anticorpos anti-CCP. A doença articular típica consiste de uma poliartrite de padrão simétrico e aditivo. O envolvimento articular é cíclico, caracterizado por freqüentes exacerbações e remissões, podendo se tornar crônico e destrutivo. Embora todas as articulações possam estar potencialmente envolvidas (principalmente as do esqueleto periférico), é incomum o acometimento das articulações interfalangeanas distais de mãos e da coluna dorso-lombar. Luxações de vértebras cervicais altas não são raras, entretanto. ⁽²⁰⁾

Os sintomas articulares, caracteristicamente, predominam no período matinal. A rigidez matinal costuma ser de longa duração em pacientes não-tratados. As mãos são particularmente rígidas em fases iniciais da doença. A rigidez matinal provavelmente

decorre do acúmulo de líquidos na articulação durante o período de repouso. Uma baixa secreção de cortisol endógeno e uma hipersecreção de prolactina (hormônio de ação pró-inflamatória) à noite possivelmente contribuam, em paralelo, para a rigidez matutina vista nos pacientes com AR. ^(21,22)

O acometimento de mãos é freqüentíssimo em pacientes reumatóides. Na fase inicial, é característico o edema de interfalangeanas proximais e de metacarpofalangeanas. Com o evoluir da doença, dedos “em boteira” (hiperflexão da interfalangeana proximal e hiperextensão da interfalangeana distal) e dedos “em pescoço de cisne” (comprometimento reverso do anterior) constituem deformidades típicas.

A mão funciona, por vezes, como instrumento de alta força de preensão, e outras vezes como um delicado instrumento de precisão. Anatomicamente, a porção radial da mão desempenha as funções mais delicadas. A porção ulnar, por sua vez, é a mais envolvida em situações em que se exige força. Estes achados explicam, pelo menos parcialmente, o predomínio do desvio ulnar na mão reumatóide. ⁽²²⁾



Figura 2. Deformidades articulares clássicas da AR em estágio avançado.

A figura ilustra o desvio ulnar e os dedos “em boteira” e em “pescoço de cisne”, este último caracterizado por hiperextensão da interfalangeana proximal e hiperflexão da interfalangeana distal.

Manifestações extra-articulares ocorrem em cerca de 10% dos pacientes com AR. Nódulos subcutâneos, oftalmopatias, pleuro-pericardite, neuropatias periféricas, vasculite cutânea, síndrome sicca e alterações hematológicas estão entre as manifestações sistêmicas atribuíveis ao processo reumatóide. Sintomas como febre, fadiga, perda de peso e dores musculares difusas podem acompanhar, ou mesmo preceder, o quadro articular. Atrofia de musculatura peri-articular pode ocorrer precocemente, contribuindo para a incapacidade funcional nas atividades diárias.⁽²²⁾

O início dos sintomas da doença pode ser insidioso ou agudo. Na forma insidiosa, os sintomas constitucionais predominam por semanas ou meses, até o aparecimento do quadro articular. Cerca de 50 a 70% dos pacientes cursam com esta forma de apresentação da doença. Na doença de início agudo, menos freqüente, o indivíduo é por vezes capaz de definir com precisão a data de início dos sintomas⁽²¹⁾. Cerca de 70% dos pacientes com doença ativa desenvolvem limitações articulares dentro dos dois primeiros anos da doença. Um percentual considerável de pacientes evolui com doença radiologicamente erosiva nos primeiros 24 meses se não corretamente tratados.⁽²³⁾

2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico da AR é clínico, laboratorial e radiológico. Os critérios do ACR de 1987⁽²²⁾, que devem sofrer modificações em breve, são ainda considerados padrão-ouro para classificação da doença. É possível que a presença de anticorpos anti-CCP seja considerada critério diagnóstico em uma próxima revisão do consenso de 1987. Os critérios de classificação de 1987, que foram utilizados neste estudo, podem ser vistos na tabela 1. Reitera-se que os critérios de 1 a 4 devem ter duração mínima de seis semanas. Diz-se que o paciente apresenta definitivamente AR quando preenche pelo menos 4 dos 7 critérios.⁽²³⁾

Tabela 1. Critérios de classificação para artrite reumatóide (AR) segundo o Colégio Americano de Reumatologia de 1987.⁽²³⁾

Critério	Definição
1. Artrite de 3 ou mais articulações	Edema ou derrame articular envolvendo pelo menos 3 grupos articulares, vista pelo médico e com envolvimento simultâneo.
2. Artrite de articulações de mãos	Artrite de punhos, interfalanganas proximais e/ou metacarpofalangeanas.
3. Artrite simétrica	Envolvimento bilateral simultâneo.
4. Rigidez matinal	Rigidez matinal de articulações de pelo menos 1 hora de duração.
5. Presença de fator reumatóide	Fator reumatóide positivo.
6. Nódulos reumatóides	Nódulos subcutâneos sobre proeminências ósseas, superfícies extensoras, ou regiões periarticulares.
7. Alterações radiológicas	Erosões ou osteoporose peri-articular, observadas em exame radiológico de mãos e punhos.

Para preencher critérios para AR, o paciente precisa apresentar pelo menos 4 dos 7 critérios. Os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por pelo menos 6 semanas.⁽²³⁾

Como visto, os critérios clássicos de 1987 para a AR priorizam a cronicidade do quadro articular. A simetria do envolvimento poliartístico, o acometimento de mãos, a rigidez matinal e a presença de fator reumatóide são também dados cardinais para o diagnóstico. Nódulos reumatóides, vistos em até 25% dos pacientes, compreendem a manifestação extra-articular mais freqüente da doença, e são considerados como um critério isolado para AR. Por fim, as alterações radiológicas (osteoporose peri-articular e, na seqüência, erosões) são também de importância na classificação destes pacientes.

O diagnóstico precoce da AR de acordo com os critérios de 1987, embora nem sempre possível, é crucial para uma boa evolução clínica. À luz dos dados atuais, o emprego imediato de terapias modificadoras da doença é capaz de prevenir erosões articulares, incapacidades funcionais e a sistematização da doença.⁽²³⁾

2.1.5.1 Exame Físico

Dor, edema e hiperemia são sinais importantes para quase todas as articulações acometidas no processo reumatóide. Em articulações profundas como ombros e quadris, a

dor de caráter inflamatório (noturna, que piora com o repouso, acompanhada de rigidez matinal) é o sintoma predominante. Aumento de volume e hiperemia em articulações interfalangeanas proximais, metacarpofalangeanas, punhos, joelhos, tornozelos e metatarsofalangeanas são característicos. O acometimento de pequenas articulações de mãos pode conferir caráter de “dedo em fuso”. Deve-se enfatizar que alterações inflamatórias de articulações pequenas de pés podem ser bastante precoces na doença. ⁽²²⁾

Na doença mais avançada, hipotrofias ou atrofias da musculatura peri-articular podem aparecer. Em casos mais graves, deformidades severas e anquilose articular podem ser notadas ⁽²⁴⁾. Os nódulos subcutâneos clássicos da AR em geral se localizam na face extensora de cotovelos ou joelhos, mas por vezes são detectados no couro cabeludo ou em vísceras como pulmões ou coração.

O exame físico geral e cuidadoso pode revelar sinais de hiperemia conjuntival atribuíveis a ceratoconjuntivite seca; o exame neurológico pode revelar disestesias compatíveis com neuropatia periférica reumatóide. Sinais de derrame pleural ou de fibrose intersticial pulmonar podem ser notados na ausculta pulmonar, e a presença de atrito pericárdico sugere o diagnóstico de pericardite reumatóide. O exame de pele pode ainda revelar púrpuras ou lesões urticariformes. Esplenomegalia e ulcerações cutâneas, associados à leucopenia, sugerem a presença de síndrome de Felty. ⁽²⁵⁾

2.1.5.2 Radiologia

Nas fases iniciais do processo reumatóide, as alterações radiológicas são mínimas ou inexistentes. Aumento de partes moles e osteoporose periarticular compreendem os achados mais precoces. Com a evolução da doença, sobrevêm diminuição do espaço articular, erosões do osso subcondral e, por fim, anquilose articular. Osteoartrose secundária, manifesta radiologicamente por osteofitose, pode ser notada em algumas articulações ⁽²⁶⁾.

O envolvimento de tendões, ligamentos e cápsulas pode resultar em subluxações ou luxações articulares, especialmente em mãos, pés e coluna cervical. Considerando-se o risco de subluxação ou luxação das vértebras C1-C2 (quadro potencialmente grave dada a eventual compressão de medula ou raízes cervicais), advoga-se o exame radiológico funcional da coluna cervical a cada ano, mesmo em pacientes sem queixas axiais. ⁽²⁶⁾

2.1.5.3 Laboratório

A avaliação laboratorial de pacientes com AR pode ser estratificada de acordo com a especificidade dos testes em questão. Como ocorre em várias doenças crônicas, anemia normocrômica e normocítica é bastante freqüente. Leucocitose e trombocitose podem ser vistas em fases mais ativas da doença. Proteínas de fase aguda como a velocidade de sedimentação globular (VSG), proteína-C reativa, alfa-1 glicoproteína ácida e haptoglobina são testes inespecíficos quase que invariavelmente alterados nas fases de agudização da doença. A monitoração seriada destas proteínas de fase aguda pode ser útil no acompanhamento terapêutico dos pacientes com AR. ⁽²⁷⁾

Não há testes de definido valor prognóstico na AR. O grau de especificidade e o potencial valor prognóstico de testes como fator reumatóide e anticorpos anti-CCP ⁽²⁷⁾ são discutidos adiante.

Embora alguns autores reportem que o aumento dos níveis séricos de COMP/TSP-5 se associe a uma maior probabilidade de dano articular na AR ^(28,29), os dados são ainda insipientes. Níveis persistentemente elevados de proteínas de fase aguda, de fator reumatóide e de anticorpos anti-CCP podem indicar doença mais grave. O acompanhamento através de exames de imagem articular (radiologia, ecografia, ressonância magnética) pode fornecer dados de interesse prognóstico e subsídios para modificações na terapêutica. ^(1,27)

2.1.5.3.1 Fator reumatóide

O diagnóstico sorológico da AR é fundamentado, até o presente momento e de acordo com os critérios de 1987 do ACR ⁽²³⁾, na presença do fator reumatóide. A testagem para fator reumatóide, seja pelo tradicional teste do látex, seja por ensaio imunoenzimático ou nefelometria, tem suas limitações metodológicas. A sensibilidade do teste é sabidamente baixa nos primeiros anos de doença. A especificidade do teste, como um todo, não pode ser considerada alta. O valor prognóstico do teste em termos de incapacidade funcional e qualidade de vida é também controverso. ⁽³⁰⁾ A relação entre classe funcional da AR e presença de fator reumatóide, um dos focos do corrente estudo, é pouco explorada na literatura.

Conceitualmente, o fator reumatóide clássico é uma imunoglobulina de classe IgM dirigida contra uma IgG anômala (estruturalmente modificada no conteúdo de sacarídeos). Este imunocomplexo IgM anti-IgG está presente em cerca de 70% dos pacientes com AR. Pacientes que testam negativo para o fator reumatóide clássico podem eventualmente apresentar fatores reumatóides atípicos (IgA anti-IgG, IgG anti-IgG); estes são primordialmente detectados em ensaios imuno-enzimáticos. ⁽³¹⁾

Embora títulos elevados de fator reumatóide sejam vistos caracteristicamente na AR, o teste pode ser positivo em muitas outras entidades clínicas. Síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistêmico e crioglobulinemia são exemplos de doenças do tecido conjuntivo onde o fator reumatóide pode ser detectado. A tireoidite auto-imune, entidade órgão-específica, eventualmente cursa com positividade para fator reumatóide. Tuberculose, hanseníase, síndrome da imunodeficiência adquirida e hepatite C compreendem doenças infecciosas potencialmente fator reumatóide-positivas. A baixa especificidade do teste é corroborada pela presença de teste positivo em cerca de 5% de adultos e em até 10% de pacientes da terceira idade. Desta forma, a solicitação do teste deve ser efetuada à luz de dados clínicos sugestivos de AR, o que vem a facilitar a interpretação do resultado. ⁽²⁷⁾

2.1.5.3.2 Anticorpos anti-CCP

A citrulina, unidade da filagrina, é um aminoácido não-essencial que somente pode ser incorporado a proteínas após clivagem da arginina por deaminases. A modificação estrutural da arginina gera citrulinização; esta ocorre em uma grande variedade de processos biológicos, incluindo a inflamação. O papel fisiopatológico dos mecanismos de citrulinização em doenças inflamatórias crônicas como a AR é de grande debate e interesse nos dias atuais. ^(32,33) Na AR, a descrição de auto-anticorpos específicos contra proteínas citrulinadas como a vimentina e, principalmente, contra peptídeos citrulinados cítricos (anticorpos anti-CCP) trouxe notórios acréscimos na investigação diagnóstica da doença. O teste para anticorpos anti-CCP pode ser de valor prognóstico na doença, adicionalmente. ^(32,33)

Anticorpos anti-CCP (dirigidos contra peptídeos citrulinados sintéticos em placas de fase sólida) são detectáveis em cerca de 80% dos pacientes com AR, e são altamente

específicos. A especificidade do teste para AR pode chegar a 90%, superior a do fator reumatóide. ⁽³⁴⁾ O teste é considerado pelo menos similar ao fator reumatóide em termos de sensibilidade; um resultado negativo, entretanto, não exclui AR. Nos últimos 4 anos, um número crescente de publicações indicam que o teste imuno-enzimático de segunda geração para anticorpos anti-CCP pode se tornar o marcador de escolha para diagnóstico de AR inicial. ⁽³⁴⁾

2.1.6 Prognóstico

Alguns fatores, quando presentes, se associam a uma evolução tempestuosa da AR. Início precoce da doença, fator reumatóide elevado e presença de anticorpos anti-CCP, provas de atividade inflamatória persistentemente altas, acometimento de mais de 20 articulações, erosões ósseas nos primeiros 2 anos da doença e manifestações extra-articulares são preditores de mau prognóstico global. ⁽³⁵⁾

A presença de anticorpos anti-CCP é usualmente precoce na doença, e pode predizer uma evolução mais agressiva. A susceptibilidade genética, exemplificada notoriamente pela presença do HLA DR4 e epitopos compartilhados, se associa à positividade para fator reumatóide e doença erosiva. A pesquisa de HLA DR4 entretanto, não é de custo-benefício definido em termos de diagnóstico e prognóstico da AR. Ao alto custo do teste, alia-se a ocorrência deste alelo em cerca de 20% da população caucasiana sadia. ⁽³⁵⁾

A longo prazo, o prognóstico da AR pode ser considerado como reservado. Cerca de 80% dos pacientes podem estar funcionalmente incapacitados após 20 anos de doença, e sua expectativa de vida é reduzida em uma proporção de 3 a 18 anos. ⁽³⁶⁾ Com a progressão da doença, os pacientes reumatóides desenvolvem limitações tanto em suas atividades de vida diária como no âmbito profissional, o que gera considerável impacto sócio-econômico para a sociedade. ⁽³⁷⁾

2.1.7 Tratamento

O tratamento da doença reumatóide é, indubitavelmente, multidisciplinar. Profissionais como reumatologistas, ortopedistas, fisioterapeutas, terapeutas ocupacionais e

psiquiatras ou psicólogos estão todos envolvidos neste complexo. Há décadas o tratamento global da AR deixou de ser paliativo para se tornar controlador da doença. Além do objetivo fundamental de minimizar a dor e a rigidez, a moderna abordagem terapêutica da doença visa deter os diversos tipos de incapacidade funcional. ^(38,39)

A compreensão, por parte do paciente, acerca da potencial cronicidade da doença é ponto de enorme importância no início do tratamento. Um vínculo adequado entre paciente e profissionais da saúde, incluindo-se aqui visitas regulares, cooperação com exames e uso adequado das medicações, certamente se traduz em melhor prognóstico a longo prazo. Em paralelo, devem ser objetivos primordiais dos profissionais da saúde a prevenção de incapacidades, a adaptação do paciente ao ambiente domiciliar e profissional e a melhora funcional dos pacientes. ^(38,39)

Em termos farmacológicos, é papel do reumatologista orientar o uso de drogas antiinflamatórias mas também de agentes modificadores da doença tão logo o diagnóstico de AR seja afirmado. Não há marcadores sorológicos específicos para a doença precoce. Achados clínicos, proteínas de fase aguda, anticorpos anti-CCP e avaliação radiológica compõem o manancial disponível para avaliação de doença inicial. ⁽¹⁾

Diversos grupos de antiinflamatórios (não-hormonais, corticóides) se encontram disponíveis no mercado farmacológico. Os efeitos colaterais globais dos antiinflamatórios não-hormonais (doença péptica, nefropatia) devem ser estritamente monitorizados. Por sua vez, a corticoterapia traz consigo a necessidade de se respeitar alguns preceitos: dose mínima diária possível, controle do peso e da glicemia, controle de massa óssea e controle oftalmológico dados os riscos de catarata e glaucoma. O uso intrassinovial de corticóides de depósito (metilprednisolona, triamcinolonas) é de grande benefício em exacerbações mono-articulares, mas deve ser efetuado em intervalos longos. ^(38,39)

A introdução imediata de drogas modificadoras da doença deve ser praxe na abordagem medicamentosa do paciente reumatóide. Diversas drogas imunomoduladoras (cloroquina, sulfasalazina) ou imunossupressoras (metotrexate, azatioprina, ciclosporina, leflunomide) podem ser utilizadas de forma isolada ou combinada. Mais modernamente, o advento de agentes biológicos (drogas anti-TNF, anti-receptor de IL-1, anti-IL-6, drogas anti-linfócito B) trouxe benefícios definidos para uma série de pacientes com doença refratária. São fármacos cujo uso deve ser discutido em toda a sua complexidade (custo

elevado, alta eficácia, efeitos colaterais consideráveis). O uso de agentes biológicos em fases mais precoces da doença tem sido altamente debatido nos últimos anos, mas não há consenso a respeito.^(38,39)

Como um todo, os agentes modificadores da doença promovem, em maior ou menor grau, o bloqueio dos mecanismos celulares e humorais que geram o processo inflamatório reumatóide. Deve-se reiterar que a terapia modificadora da doença é usualmente eficaz também nas manifestações extra-articulares da AR.^(38,39) Embora respeitando-se os aforismas gerais de terapia medicamentosa, a escolha do tratamento antiinflamatório, imunomodulador ou imunossupressor deve ser adaptada às necessidades e limitações individuais.⁽¹⁰⁾

No tratamento do paciente reumatóide como um todo, deve-se enfatizar o apoio ortopédico quando da necessidade de osteotomias, artrotomias, sinovectomias ou artroplastias, por exemplo. Não menos importante é o papel do terapeuta ocupacional em adequar o paciente ao seu meio domiciliar e profissional. A presença de uma doença virtualmente incapacitante em indivíduos jovens traz consigo, em muitas ocasiões, a necessidade de apoio psicológico ou psiquiátrico.⁽⁴⁰⁾

A fisioterapia é fundamental em todas as fases da doença. O tratamento fisioterapêutico de pacientes com AR visa: a) alívio da dor, obtenção de relaxamento e de proteção muscular; b) minimizar a rigidez e manter a mobilidade articular através de exercícios ativos e/ou passivos, respeitando-se os limites de dor e as amplitudes de movimento; c) minimizar a atrofia muscular e melhorar o trefismo através de exercícios isométricos ou isotônicos; d) prevenir deformidades e proteger a articulação, orientando-se o paciente para o adequado posicionamento nas horas de descanso; e) orientar o paciente para o uso de órteses quando necessário. O uso adequado de órteses poderá auxiliar na preservação de energia e na prevenção de deformidades articulares adicionais.^(24,17)

2.2 PROTEÍNA OLIGOMÉRICA DA MATRIZ CARTILAGINOSA TROMBOSPONDINA 5 (COMP/TSP-5)

2.2.1 Conceito

A COMP/TSP-5 é um membro da família das trombospondinas, conceitualmente proteínas da matriz extracelular. As trombospondinas foram originalmente descritas em 1971 como componentes de plaquetas. São uma família de glicoproteínas homólogas de distribuição variável, e com capacidade de ligação ao cálcio.⁽⁴¹⁾ Entre as funções das trombospondinas, inclui-se primordialmente a modulação do fenótipo celular durante o remodelamento tecidual.

As trombospondinas são divididas em 2 subgrupos, de acordo com a estrutura e propriedades. As trombospondinas do grupo A (laminas, tenascinas e matrilinas) contêm seqüências similares ao pró-colágeno, enquanto as proteínas do subgrupo B (trombospondinas 3,4 e COMP/TSP-5) não contêm esta região de homologia molecular com o pró-colágeno.^(42,43)

A COMP/TSP-5 é uma proteína não-colágena encontrada na matriz cartilaginosa das articulações. Foi originalmente descrita em 1992,⁽⁴⁴⁾ a princípio como um marcador prognóstico da AR^(45,46) e da osteoartrose^(47,48,49). A molécula é um pentâmero com peso molecular de 434 quilodaltons.⁽⁵⁰⁾ As cinco subunidades, idênticas, são ligadas por pontes dissulfeto.⁽⁵¹⁾ A COMP/TSP-5 se liga às moléculas de colágeno I e II de forma zinco-dependente.^(50,51) A figura 1 mostra a estrutura espacial da COMP/TSP-5.



Figura 3. Estrutura tridimensional da COMP/TSP-5.^(50, 51)

Além de primariamente presente na matriz cartilaginosa articular, a COMP/TSP-5 é também expressa na membrana sinovial, nos tendões e no humor vítreo. As elevações

séricas da COMP/TSP-5 são indicativas de dano cartilaginoso, inflamação sinovial e alterações ósseas.^(52,53,54)

De interesse, a COMP/TSP-5 é expressa em células musculares lisas de artérias normais e ateroscleróticas.⁽⁵⁵⁾ A proteína foi também isolada em tecido cardíaco de murinos adultos⁽⁵⁶⁾. A avaliação dos níveis séricos de COMP/TSP-5 em doenças vasculares é ainda embrionária na literatura. Recentemente, nosso grupo de pesquisa detectou níveis diminuídos de COMP/TSP-5 em pacientes com infarto agudo do miocárdio comparativamente a controles sadios. O significado deste achado é ainda enigmático (dados a serem publicados).

De acordo com Recklies et al, a COMP/TSP-5 é secretada não somente por condrócitos, mas também por fibroblastos articulares. A expressão da COMP/TSP-5 no tecido sinovial sugere que sinovites incrementam a síntese desta trombospondina a nível articular, com conseqüente aumento do nível sérico. Níveis elevados de COMP/TSP-5 no líquido sinovial sugerem processo inflamatório cartilaginoso e sinovial, e podem estar associados a erosões ósseas⁽⁵⁴⁾. A forma de eliminação da COMP/TSP-5 a partir da circulação é desconhecida.⁽⁵⁷⁾

O dano à cartilagem em doenças degradativas ou inflamatórias resulta, em parte, da diminuição de síntese de proteoglicanos e colágeno tipo II pelo condrócito. De forma paralela, citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF, IL-17) estimulam os condrócitos a produzir proteases que aumentam o dano à matriz cartilaginosa⁽⁵⁷⁾.

Quando rota em processos patológicos, a cartilagem libera fragmentos de proteínas matriciais (incluindo-se aqui a COMP/TSP-5) no líquido sinovial^(58,59) e sangue periférico. O processo de inflamação cartilaginosa e sinovial é, assim, uma fonte em potencial de geração de COMP/TSP-5. Como decorrência, a monitoração dos níveis séricos de COMP/TSP-5 ou de outras proteínas matriciais pode ser de utilidade no acompanhamento de doenças como AR^(60,61) e osteoartrose.⁽⁶²⁾

3 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A similaridade estrutural da COMP/TSP-5 com outros membros da família das trombospondinas suscita o interesse na investigação do seu nível sérico em diversas situações clínicas. A literatura recente tem sugerido a COMP/TSP-5 como marcador prognóstico de algumas afecções reumatológicas, entre elas a AR.

A avaliação dos níveis séricos de COMP/TSP-5 na AR poderá fornecer dados relevantes na compreensão do comportamento biológico desta proteína. Além disso, esta avaliação pode trazer novos dados para a compreensão da complexa etiopatogenia da inflamação reumatóide. Tendo em vista os vários estudos do grupo de Tore Saxne (Suécia) em que avaliaram o comportamento de vários biomarcadores de degradação de cartilagem (entre eles a COMP) em relação a diferentes indicadores de destruição articular.

4 HIPÓTESES

4.1 HIPÓTESE OPERACIONAL

Os níveis séricos de COMP/TSP-5 de pacientes com AR estratificados para classe funcional não diferem daqueles de controles sadios.

4.2 HIPÓTESE CONCEITUAL

Os níveis séricos de COMP/TSP-5 de pacientes com AR estratificados para classe funcional diferem daqueles de controles sadios.

5 OBJETIVO

Avaliar os níveis séricos de COMP/TSP-5 em pacientes com AR estratificados para classe funcional, comparativamente a controles sadios.

6 PACIENTES E MÉTODOS

6.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

- Delineamento: estudo transversal, controlado;
- Fator de exposição: COMP/TSP-5;
- Desfecho: indivíduos com AR estratificados para classe funcional;
- Variáveis secundárias: sexo, idade, tempo de doença, fator reumatóide, anticorpos anti-CCP.

6.2 POPULAÇÕES

Pacientes com AR, previamente selecionados de outros projetos de pesquisa do Serviço de Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS (ver abaixo), compuseram a população-alvo deste estudo. O diagnóstico de AR obedeceu aos critérios clássicos do ACR de 1987.⁽²³⁾ A população reumatóide foi estratificada para classe funcional, de acordo com metodologia descrita adiante. O protocolo utilizado na coleta de dados da população com AR consta em Anexos (A).

A população-controle consistiu de doadores de banco de sangue do Hospital São Lucas da PUCRS (idade mínima de 18 anos e máxima de 65 anos de idade. O protocolo para coleta de sangue de doadores consta em Anexos (B).

6.2.1 Critérios de inclusão para pacientes com AR

1. Idade acima de 18 anos;
2. Diagnóstico de AR de acordo com os critérios do ACR de 1987;⁽²³⁾
3. Diagnóstico de AR confirmado, no mínimo, 6 meses antes da entrada no estudo;

4. Exceto pela presença de AR, o paciente se encontrar em bom estado de saúde, baseado na história médica, no exame físico e em testes laboratoriais de rotina.

6.2.2 Critérios de exclusão para pacientes com AR

1. Doenças tireoideanas auto-imunes;
2. História de acidente vascular cerebral ou de ataque isquêmico transitório nos últimos dois anos;
3. Doença renal (insuficiência renal, glomerulopatia);
4. Diátese hemorrágica;
5. Infecção viral, bacteriana ou fúngica ativa;
6. Negativa do paciente em participar do estudo;
7. Pacientes com oosteoartrose;
8. Pacientes com história de cardiopatia isquêmica.

6.2.3 Critérios de inclusão para doadores de sangue

1. Idade entre 18 e 65 anos;

6.2.4 Critérios de exclusão para doadores de sangue

1. Doenças reumatológicas;
2. Cardiopatia isquêmica ou histórico de acidente vascular cerebral.

6.3 LOCAL

A coleta de dados clínicos foi realizada na Ambulatório de Reumatologia do Hospital São Lucas PUCRS, através de análise de prontuários e do banco de dados das seguintes pesquisadoras:

- Profa. Dra. Inês Guimarães da Silveira (Projeto: “Probabilidade de artrite reumatóide a partir da testagem para fator reumatóide e anticorpos anti-peptídeo citrulinado cíclico”);
- Profa. Dra. Ana Lígia Bender (Projeto: “Proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina 5 em doenças reumáticas prevalentes e infarto agudo do miocárdio”).

Todos os prontuários foram transcritos em protocolos previamente padronizados, contendo: idade, sexo, raça, peso corpóreo, tempo de doença, classificação funcional, fator reumatóide, anti-CCP, COMP/TSP-5 e tratamento medicamentoso.

6.4 PERÍODO

O período de inclusão dos pacientes com AR nos referidos protocolos ocorreu de abril a outubro de 2003. O período de coleta de amostras de sangue de doadores (grupo-controle) se deu entre outubro e dezembro de 2005. O material biológico foi mantido em biobanco a -20°C (sem ciclos de congelamentos e descongelamentos). A coleta de dados de prontuários foi realizada de março a agosto de 2007.

6.5 METODOLOGIA

6.5.1 Dosagem da COMP/TSP-5, fator reumatóide e anticorpos anti-CCP

A avaliação dos níveis séricos de COMP/TSP-5 foi efetuada através do sistema imunoenzimático COMP/TSP-5 AnaMarTM (Lund, Suécia), utilizando-se agitador IKA-Schüttler MTS (Alemanha), lavadora ELX50 (Biotec Instruments Inc., EUA) e leitora de microplacas ELX800 (BIOTEC Instruments Inc., EUA).

O ensaio COMP/TSP-5 AnaMarTM é um teste imunoenzimático de fase sólida baseado na técnica de “sanduíche” direto em que dois anticorpos monoclonais são dirigidos contra determinantes antigênicos separados na molécula da COMP/TSP-5. Durante a incubação, a COMP/TSP-5 da amostra reage com anticorpos anti-COMP/TSP-5

marcados com peroxidase e anticorpos anti-COMP/TSP-5 ligados à placa de microaglutinação. Um único passo de lavagem remove os anticorpos marcados com enzima não-ligados. O conjugado ligado é detectado por uma reação com tetrametilbenzidina. Esta reação é bloqueada pela adição de ácido, gerando um ponto final colorimétrico lido espectrofotometricamente a 450nm. O limite de detecção do sistema utilizado é <0,1 U/L e o coeficiente de variação interensaio <5%. A análise foi realizada conforme instruções do fabricante com curva de calibração (padrões de COMP/TSP-5 humana) e dois soros-controle incluídos em cada microplaca. Efeito “gancho” para altas doses (High Hook Effect) não foi descrito até 200 U/L. Níveis de COMP/TSP-5 acima de 12 U/L foram considerados positivos. ⁽⁶³⁾

A distribuição de pacientes reumatóides com teste positivo para fator reumatóide e para anticorpos anti-CCP nos diversos graus funcionais foi paralelamente avaliada, assim como o nível médio destes 2 auto-anticorpos em cada classe funcional. A testagem para fator reumatóide IgM foi efetuada através de analisador nefelométrico comercial BNII (Dade Behring, Marburg, Alemanha). Partículas de poliestireno recobertas com complexo antígeno-anticorpo de globulina humana/anti-globulina humana de ovelha são aglutinadas quando misturadas com amostras contendo fator reumatóide. A intensidade de luz dispersa é dependente do conteúdo de auto-anticorpo. O ponto de corte neste ensaio nefelométrico foi de 15 UI/ml. ^(10,64)

O teste imunoenzimático semiquantitativo para anti-CCP IgG de segunda geração foi efetuado como previamente descrito em estudo oriundo de nosso Hospital, e recentemente publicado. Níveis de anti-CCP acima de 20 U/ml foram considerados positivos. ⁽⁶⁴⁾

6.5.2 Classificação funcional de pacientes com AR

A classificação funcional de Hochberg ⁽⁸⁾, modificada de Steinbrocker ⁽⁷⁾, foi utilizada para avaliar a capacidade funcional dos pacientes reumatóides e para estratificar 4 subgrupos. Os dados acerca do grau funcional foram obtidos de dados de prontuário ou por telefone. A referida classificação funcional pode ser vista na tabela 2.

Tabela 2. Estratificação de grau funcional para pacientes com artrite reumatóide de acordo com os critérios de Hochberg.⁽⁸⁾

Grau funcional	Capacidade
Classe I	Capaz de realizar atividades usuais de vida diária (auto-cuidado*, vocacionais** e não- vocacionais***).
Classe II	Capaz de realizar atividades usuais de auto-cuidado* e vocacionais**, mas limitado em atividades não-vocacionais***.
Classe III	Capaz de realizar atividades usuais de auto-cuidado*, mas limitado em atividades vocacionais** e não-vocacionais***.
Classe IV	Limitado em realizar atividades usuais de auto-cuidado*, atividades vocacionais** e não-vocacionais***.

Atividades de auto-cuidado* incluem vestir-se, comer, banhar-se, usar o banheiro e os cuidados para com a aparência. Atividades vocacionais** incluem trabalho, estudo e afazeres domésticos. As atividades não-vocacionais*** incluem lazer e/ou atividades recreacionais.⁽⁸⁾

6.6 CONTROLE DO ERRO SISTEMÁTICO

O controle dos vieses de seleção estiveram fundamentados na definição das populações alvo (AR) e controle (doadores de banco de sange). O diagnóstico de AR obedeceu a critérios tradicionais e definidos⁽²³⁾. O grupo de doadores de banco de sangue foi entrevistado pela equipe de hemoterapeutas do banco de sangue do Hospital São Lucas da PUCRS, atenta aos critérios de exclusão do estudo. As populações alvo e controle provieram de centro terciário.

Em relação aos vieses de aferição, foram inicialmente minimizados a partir da definição do desfecho (pacientes com AR estratificados para grau funcional) e adequado armazenamento das amostras. Os controles foram selecionados de forma consecutiva e de forma padronizada pela equipe do banco de sangue. Os cuidados com armazenamento de amostras (ausência de hemólise, lipemia, contaminação bacteriana ou icterícia) contribuíram para tornar fidedignos os resultados das dosagens de COMP/TSP-5, fator reumatóide e anticorpos anti-CCP. As testagens foram efetuadas de acordo com instruções dos fabricantes, com curvas de calibração em duplicata a cada bateria realizada. Soros-controles com níveis baixos e altos foram testados a cada bateria para validar coeficientes de variação dos níveis de COMP/TSP-5.

Os vieses de confusão foram evitados pelo adequada definição das hipóteses, dos objetivos, do delineamento (no caso, transversal controlado) e de uma análise estatística pertinente a este delineamento.

6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos foram descritos por média \pm desvio padrão. Variáveis categóricas foram apresentadas como contagens e percentuais. A comparação de médias entre grupos foi realizada por ANOVA seguida de teste de post-hoc de Duncan. A comparação de dados categóricos foi realizada com o teste de qui-quadrado. O ajuste para idade e sexo foi realizado em modelo de análise e co-variância (ANCOVA). O nível de significância adotado foi de $\alpha = 0,05$. Os dados foram analisados com o programa SPSS versão 12.0.

6.8 ÉTICA

O estudo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital São Lucas da PUCRS (Anexo C), utilizou amostras cadastradas em biobancos. Os dados foram captados das bases de projetos de pesquisa (já citados) aprovados previamente pelo CEP do Hospital São Lucas da PUCRS (protocolo no CEP – ofício 112/03 em 7 de março de 2003 e protocolo no CEP – ofício 05/02740 em 28 de setembro de 2005), e/ou revisão de prontuários.

Até o corrente momento, não há dados de literatura que sugiram alterações na conduta clínica em face dos níveis séricos de COMP/TSP-5. Portanto, foi solicitada a dispensa de apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os resultados das dosagens de COMP/TSP-5 foram fornecidos aos pesquisadores responsáveis pelas bases.

7 RESULTADOS

Cinquenta e oito pacientes com AR, em acompanhamento no Serviço de Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS, compuseram a amostra final de nossa população alvo. Cem doadores sadios de biobanco de sangue foram utilizados como controles.

No grupo de 58 pacientes com AR, mulheres (84,5%) foram 5,4 vezes mais afetadas pela doença do que o sexo masculino (15,5%). O sexo feminino predominou fortemente em pacientes reumatóides comparativamente ao grupo-controle. A média de idade não diferiu de forma significativa entre os grupos.

Dos 58 pacientes com AR, 42 (73%) apresentavam doença há mais de 2 anos. A duração média de doença na população reumatóide foi de 9,2 anos, e um quarto dos pacientes apresentavam doença com mais de 10 anos de duração. A frequência de níveis de COMP/TSP-5 superiores a 12 U/L (níveis iguais ou acima de 12 U/L) foi significativamente maior em pacientes reumatóides (48,2%) do que em controles (4%). Após ajuste para sexo e idade, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles. Estes dados estão sumarizados na tabela 3.

Tabela 3. Características das amostras estudadas.

	Controles (n=100)	Artrite reumatóide (n=58)	P*
Sexo feminino	45 (45%)	49 (84,5%)	<0,05
Idade (anos)**	48 ±6	54±14	>0,05
Tempo médio de doença	-	9,2 anos	-
Tempo de doença > 2anos	-	42 (73%)	-
Tempo de doença > 10 anos	-	15 (25.8%)	-
Teste positivo para COMP/TSP-5***	4 (4%)	28 (48.2%)	<0,01
Níveis médios COMP/TSP-5 (U/L)****	7,0 ±3,0 (IC95% 6,1 a 7,9)	12,6 ±0,8 (IC95% 11,1 a 14,1)	<0,01

n: número de indivíduos

IC95%: intervalo de confiança de 95%

*Teste do qui-quadrado.

**Dados de contagem absoluta (média) ± desvio padrão

***Nível sérico acima de 12 U/L

****Níveis obtidos após ajuste para sexo e idade

Em termos de grau funcional, a maioria dos pacientes com AR apresentou classe funcional I. O sexo feminino predominou fortemente em todos os graus funcionais. O tempo médio de doença foi maior na classe funcional III. Estes dados estão sumarizados na tabela 4.

Tabela 4. Estratificação de grau funcional nos pacientes com artrite reumatóide.

Grau funcional	Frequência de pacientes	Sexo feminino	Tempo médio de doença
Classe I	25 (43,1%)	22 (88%)	6 anos (2 a 30 anos)
Classe II	14 (24,1%)	11 (78,6%)	6,5 anos (2 a 21 anos)
Classe III	10 (17,2%)	9 (90%)	14,5 anos (7 a 60 anos)
Classe IV	9 (15,5%)	7 (77,7%)	10 anos (4 a 20 anos)

A frequência de teste positivo para COMP/TSP-5, assim como a distribuição dos níveis médios de COMP/TSP-5 nas diversas classes funcionais de pacientes reumatóides, são mostrados na tabela 5. A frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 foi maior nas classes funcionais I, II e IV em relação aos controles, mas não em indivíduos com classe funcional III. Em cada uma das classes funcionais, os níveis médios de COMP/TSP-5 de pacientes com AR foram, significativamente, elevados em comparação aos controles.

Tabela 5. Frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 (acima de 12 U/L) e distribuição dos níveis médios de COMP/TSP-5 nos diversos graus funcionais de pacientes com artrite reumatóide (AR) comparativamente a controles sadios.

Grupo	COMP/TSP-5 elevada*	P**	Níveis médios de COMP/TSP-5	P**
Controles	4 (4%)	-	7,0 U/L (IC95% 6,1 a 7,9)	-
AR Classe I	11 (44%)	<0,001	13,8 U/L (IC95%: 11,2 a 16,3)	<0,001
AR Classe II	8 (57%)	<0,001	11,8 U/L (IC95%: 8,9 a 14,6)	<0,001
AR Classe III	3 (30%)	>0,05	10,3 U/L (IC95%: 7,0 a 13,7)	0,004
AR Classe IV	6 (66,6%)	<0,001	13,8 U/L (IC 95%: 10,5 a 17,2)	<0,001

*Níveis séricos acima de 12 U/L

**Valores obtidos após comparação de cada classe funcional da AR com o grupo-controle IC95%: intervalo de confiança de 95%.

O gráfico abaixo ilustra a distribuição dos valores médios de COMP/TSP-5 nos grupos analisados. As médias de COMP/TSP-5 de cada classe funcional de pacientes reumatóides foram, significativamente, mais altas do que a média do grupo-controle ($P < 0,05$).

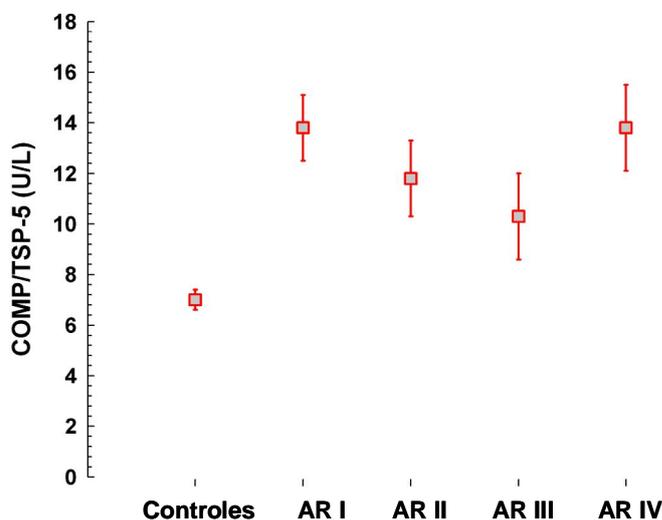


Figura 4. Valores médios de COMP/TSP-5 apresentados em gráfico para comparação de 5 grupos de indivíduos: controles, artrite reumatóide (AR) classe funcional I, AR classe II, AR classe III e AR classe IV.

Dos 58 pacientes com AR incluídos no estudo, 28 (48,2%) apresentaram níveis de COMP/TSP-5 acima de 12 U/L. A distribuição dos pacientes com AR e níveis elevados de COMP-TSP-5 nas diversas classes funcionais da doença é mostrada na tabela 6. Níveis altos de COMP/TSP-5 estiveram presentes de forma homogênea nas diversas classes funcionais de pacientes com AR. Os níveis médios de COMP/TSP-5 nos pacientes com teste alterado não diferiram, significativamente, entre os diversos graus funcionais da doença.

Tabela 6. Distribuição dos 28 pacientes reumatóides com COMP/TSP-5 elevada (acima de 12 U/L) nos diversos graus funcionais.

Grau funcional	Pacientes com COMP/TSP-5 elevada	Níveis médios de COMP/TSP-5
Classe I (25 pacientes)	11 (44%)	14,1 U/L ($\pm 1,9$)
Classe II (14 pacientes)	8 (57,1%)	12,1 U/L ($\pm 2,0$)
Classe III (10 pacientes)	3 (30%)	10,7 U/L ($\pm 2,4$)
Classe IV (9 pacientes)	6 (66,6%)	14,2 U/L ($\pm 2,4$)
Valor P médio entre grupos*	0,365	0,65

* Teste do qui-quadrado

Em paralelo, e para efeitos comparativos com os dados acerca do comportamento sorológico da COMP/TSP-5, analisou-se a distribuição da população reumatóide positiva para fator reumatóide e anti-CCP nas diversas classes funcionais.

Entre os 58 pacientes com AR, 35 (60,3%) foram positivos para fator reumatóide (ponto de corte 15 UI/ml). Os 35 pacientes fator reumatóide-positivos se distribuíram homogeneamente nas 4 classes funcionais. Os níveis médios de fator reumatóide não diferiram significativamente entre as 4 classes funcionais (tabela 7).

Tabela 7. Distribuição dos 35 pacientes com AR fator reumatóide-positivos (níveis acima de 15 UI/ml) nos diversos graus funcionais.

Grau funcional	Pacientes com FR elevado (>15UL/mL)	FR (média)
Classe I (25 pacientes)	15(60%)	260,3±89,1 UL/mL
Classe II (14 pacientes)	9 (64,2%)	381,5±165,16 UL/mL
Classe III (10 pacientes)	6 (60%)	60,7±23,74 UL/mL
Classe IV (9 pacientes)	5 (55,5%)	146,0±71,62 UL/mL
Total	35 (60,3%)	240,2±58,15 UL/mL
Valor P médio entre grupos*	0,360	0,330

FR: fator reumatóide

*Teste do qui-quadrado

Entre os 58 pacientes com AR, 36 (62%) foram positivos para anti-CCP (ponto de corte 20 U/ml). Os 36 pacientes anti-CCP-positivos se distribuíram homogeneamente nas 4 classes funcionais. Os níveis médios de anti-CCP não diferiram significativamente entre as 4 classes funcionais (tabela 8).

Tabela 8. Distribuição dos 36 pacientes reumatóides anti-CCP-positivos (níveis acima de 20 U/ml) nos diversos graus funcionais.

Grau funcional	Pacientes com anti-CCP elevado (>20 U/mL)	Anti-CCP (media)
Classe I (25 pacientes)	18 (72%)	87,8±14,14 U/mL
Classe II (14 pacientes)	8(57,1%)	68,8±19,12 U/mL
Classe III (10 pacientes)	5(50%)	72,0±27,98 U/mL
Classe IV (9 pacientes)	5(55,5%)	59,1±22,56 U/mL
Total	36 (62,0%)	70,0±9,53 U/mL
Valor P médio entre grupos*	0,450	0,736

Anti-CCP: anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado

*Teste do qui-quadrado

8 DISCUSSÃO

8.1 GRAU FUNCIONAL E COMP/TSP-5

A AR é uma doença habitualmente progressiva, caracterizada por poliartrite crônica erosiva e achados sistêmicos. O grau de incapacitação funcional de pacientes com AR é bastante variável. ⁽⁶⁵⁾ São raros os estudos que estratificam a AR em graus funcionais quando avaliam marcadores de atividade ou de prognóstico da doença. Foi nosso objetivo primordial avaliar o comportamento sorológico de um marcador de dano articular (COMP/TSP-5) em pacientes reumatóides já estratificados para classe funcional. Em paralelo, avaliamos a distribuição de pacientes positivos para fator reumatóide e anticorpos anti-CCP nos diversos graus funcionais de Hochberg ⁽⁸⁾.

A relação da COMP/TSP-5 (fator de exposição) com o desfecho (pacientes estratificados para grau funcional) foi analisada transversalmente em nosso estudo. Doença isquêmica cardíaca ou cerebral constituíram fatores de exclusão para os dois grupos de indivíduos testados, dada a eventual ocorrência de fenômenos imunológicos ou de alterações dos níveis de COMP/TSP-5 nestas circunstâncias. ⁽⁶⁶⁾ A tireopatia auto-imune compreendeu critério de exclusão para a população reumatóide, com base em protocolos prévios que utilizaram a mesma casuística.

Em nosso estudo, as mulheres foram 5,4 vezes mais afetadas pela AR do que os homens, dados próximos aos da literatura. ⁽⁶⁵⁾ Houve diferença significativa quando se comparou frequência de sexo feminino em AR com controles ($P < 0,05$). A média de idade não diferiu de forma significativa entre os grupos.

A média de idade de nossas pacientes com AR (54 anos) esteve de acordo com dados previamente publicados por Symmons, em que a maior incidência da doença se deu entre 35 a 65 anos de idade ⁽⁶⁶⁾ A duração média da doença (9,2 anos) foi relativamente alta, e um quarto de nossas pacientes apresentavam a doença há mais de uma década. De interesse, Krot et al relataram que sexo feminino e idade do início da doença foram preditores de desfecho funcional. ⁽⁶⁸⁾

Notoriamente, a frequência de teste positivo, para COMP/TSP-5 (nível acima de 12 U/L), foi mais significativa em nossa população reumatóide (48,2%) do que em controles (4%). O ponto de corte de 12 U/L foi utilizado com base em dados do fabricante (AnaMar MedicalTM, Suécia⁽⁶³⁾), achado corroborado em estudo recente em nosso Hospital. De acordo com estes dados, níveis acima de 12 U/L (obtidos por cálculo de razão de verossimilhança) se associaram fortemente à presença de AR e à osteoartrose (razões de chances 17,3 e 11,4, respectivamente - dados a serem publicados).

Em 256 doadores suecos (idade 19-73 anos), os níveis médios de COMP/TSP-5 foram de 10,6 U/L. ⁽⁶³⁾ Diferentemente, nossos dados em doadores de sangue (idade máxima 65 anos) apontam para um nível médio de 7,0 U/L. É possível que a idade máxima para doadores esteja envolvida nesta discrepância. Em termos gerais, os valores médios de COMP/TSP-5 de nossa população reumatóide se mostraram significativamente elevados em relação a controles sadios ($P < 0,01$). Reitera-se que estes valores médios foram obtidos de uma população reumatóide com duração média de doença de 9,2 anos.

Níveis elevados de COMP/TSP-5 são indicativos de alterações da cartilagem, de sinovite e de alterações do metabolismo ósseo. ⁽²⁰⁾ Um estudo associa a elevação sérica da proteína ao dano articular visto particularmente na AR. ⁽²⁹⁾ Níveis elevados de COMP/TSP-5 foram detectados na AR precoce, e teriam valor prognóstico na doença. ⁽²⁸⁾ Apenas um quarto de nossos pacientes com AR apresentavam doença precoce (<2 anos), não sendo nosso propósito a avaliação isolada deste grupo.

Para efeito de avaliação de grau funcional, utilizou-se a classificação de Hochberg, ⁽⁸⁾ na realidade uma estratificação atualizada do trabalho clássico de Steinbrocker ⁽⁷⁾. Atividades como auto-cuidado, domésticas, profissionais e de lazer são consideradas na referida classificação. Em nossa população reumatóide, à semelhança de dados obtidos de uma casuística de São Paulo ⁽⁶⁹⁾, houve predomínio incontestado das classes funcionais I e II. Em todos os graus funcionais, o sexo feminino predominou fortemente. Enquanto pacientes com classes funcionais I e II tiveram duração de doença ao redor de 6 anos, pacientes com classe funcional III e IV claramente apresentavam duração média de doença acima de 10 anos. Por este prisma, tempo de doença se comportou como parâmetro de doença mais incapacitante.

De interesse, Skoumal et al avaliaram níveis de COMP/TSP-5 em pacientes com AR, artrite psoriática, lúpus eritematoso sistêmico, esclerodermia, síndrome de Sjögren, vasculites e fenômeno de Raynaud. Somente na AR e na artrite psoriática, doenças com notório envolvimento articular, os níveis séricos se mostraram elevados. ⁽⁷⁰⁾

Nas diversas classes funcionais da AR (exceção da classe III), um teste positivo para COMP/TSP-5 foi mais freqüente em nossos pacientes com AR do que em controles. De interesse, os pacientes de classe funcional III apresentavam o maior tempo de duração de doença (14,5 anos). Quando da avaliação dos níveis médios de COMP/TSP-5, entretanto, documentou-se que em cada uma das classes funcionais os níveis foram significativamente mais altos do que os controles. Depreende-se, a partir destes dados, que as elevações da proteína, potencialmente associadas a dano sinovial e cartilaginoso, ocorrem nos variados estágios da doença.

Wisłowska et al estudaram os níveis de COMP/TSP-5 em 30 pacientes com AR e em 30 pacientes com osteoartrose. Os níveis médios (ao redor de 10,4U/L) foram semelhantes nos dois grupos. Na população reumatóide (tempo médio de doença de 14 anos), houve correlação entre níveis de COMP/TSP-5, escores de atividade da doença e idade dos pacientes. Os níveis da proteína foram elevados no líquido sinovial de pacientes com AR inicial, mas não naqueles com doença avançada ⁽³⁾.

Digno de nota, níveis elevados de COMP/TSP-5 foram descritos em 97% de pacientes com AR e osteoartrose, mas não houve relação deste achado com duração da doença e classe funcional. De acordo com o mesmo grupo de autores, pacientes com AR e nódulos reumatóides tiveram níveis de COMP/TSP-5 significativamente mais elevados do que pacientes reumatóides sem nódulos subcutâneos. ⁽³⁾

Em estudo que acompanhou 140 pacientes reumatóides por 12 anos, os níveis de COMP/TSP-5 foram significativamente mais elevados na AR do que em controles. Níveis mais altos de COMP/TSP-5 se associaram com a doença de longa duração e também com escores de atividade da doença. ⁽⁷¹⁾

Em estudo datado de 2003, Skoumal et al relataram correlação positiva entre os níveis de COMP/TSP-5 e a deterioração da cartilagem, avaliada pelo escala de Larssen em 62 pacientes reumatóides acompanhados por 5 anos. Os autores sugerem que a dosagem de

COMP/TSP-5 pode ser usada como marcador de degradação da cartilagem nestes pacientes.⁽¹⁷⁾ Os mesmos autores relataram, em 2006, que a corticoterapia venosa leva a uma significativa redução dos níveis COMP/TSP-5 na AR, dado que sugere a utilização do nível sérico desta proteína na monitoração terapêutica destes pacientes⁽⁵²⁾

Harberhauer et al examinaram a influência da corticoterapia nos níveis de COMP/TSP-5 em pacientes com AR. No grupo com longa duração da doença, a terapia prolongada com esteróides levou à normalização dos níveis de COMP/TSP-5. Doses intravenosas de esteróides levaram a quedas bruscas do nível da proteína, podendo ser consideradas condroprotetoras nesta circunstância.⁽⁷²⁾

De acordo com relato japonês, pacientes com AR e dano articular discreto tiveram níveis mais baixos de COMP/TSP-5 do que aqueles com dano severo ou mutilação articular. O estudo sugere que os níveis de COMP/TSP-5 refletem destruição cartilaginosa na AR.⁽⁷³⁾ Lindquist et al reportaram que níveis elevados de COMP/TSP-5 vistos em estágios iniciais da AR se associam a risco de alterações destrutivas de mãos e pés.⁽⁷⁴⁾ Concentrações de COMP/TSP-5 foram particularmente altas em pacientes com AR agressiva e com dano severo de articulação do quadril^(28,29).

No entanto, outros autores reportaram níveis diminuídos da proteína em estágios mais avançados da doença, provavelmente devido à degradação crônica da cartilagem.⁽⁷⁵⁾ Em termos hipotéticos, este achado pode estar de acordo com a baixa positividade para COMP/TSP-5 em nossos pacientes com classe funcional III, notadamente aqueles com doença de maior duração em nosso estudo.

Nenhum destes estudos^(3,28,29,51,52,73), diferentemente do nosso, considerou grau funcional da AR na análise dos dados. Por outro lado, não foi nosso propósito avaliar a relação de níveis de COMP/TSP-5 com marcadores de atividade da doença.

Quando analisamos estatisticamente os 28 pacientes com AR e teste positivo para COMP/TSP-5, verificamos que eles se distribuíram de forma homogênea nas 4 classes funcionais. Os níveis médios da proteína não diferiram de forma significativa entre os grupos. Níveis elevados de COMP/TSP-5 ocorreram mesmo em estágios funcionais iniciais da doença. Infere-se, a partir destes dados, que classe funcional não modifica o padrão de positividade para COMP/TSP-5 em pacientes com AR.

Em termos globais, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles. Os níveis médios de COMP/TSP-5 de pacientes reumatóides se mantiveram acima dos níveis médios dos controles em todos os graus funcionais da doença. Indivíduos de todas as classes funcionais (com exceção da classe funcional III) apresentaram positividade significativa para COMP/TSP-5 em relação aos doadores de banco de sangue. Um teste positivo para COMP/TSP-5 ocorreu homogeneamente em todas as classes funcionais. Grau funcional não parece discriminar pacientes reumatóides com COMP/TSP-5 elevada. O papel da COMP/TSP-5 como marcador prognóstico de dano articular na AR deve ser mais detalhado em estudos futuros.

8.2 GRAU FUNCIONAL E FATOR REUMATÓIDE

Um dos primeiros auto-anticorpos a serem descritos na literatura médica, o fator reumatóide é certamente o mais estudado até hoje. ⁽⁷⁶⁾ Diversos estudos advogam ser o fator reumatóide, um auto-anticorpo anti-porção Fc de IgG, um teste de valor diagnóstico e prognóstico na AR. ^(77,78) Níveis séricos de fator reumatóide acima de 200 UI/mL foram associados a uma alta probabilidade de AR, de acordo com dados recentes oriundos do Hospital São Lucas da PUCRS. ⁽⁷⁹⁾

Em nossa população de pacientes com AR, a frequência de teste positivo (níveis acima de 15 UI/mL em ensaio nefelométrico) foi de 60% dos casos, próxima da reportada na literatura. ^(77,78) A média global de valores para fator reumatóide (240 UI/mL) em nossos pacientes com AR esteve acima dos valores encontrados por Morozzi (49,3 UI/mL pré-tratamento com adalimumab e 39,7 UI/mL após 12 meses de tratamento). ⁽⁸⁰⁾ Em nossa casuística, os níveis médios de fator reumatóide não diferiram de forma significativa entre as 4 classes funcionais.

À semelhança dos dados obtidos por Santos et al ⁽⁸¹⁾, não obtivemos correlação entre positividade para o teste e predomínio de alguma das classes funcionais. Pacientes com teste positivo para fator reumatóide se distribuíram de forma homogênea em todos os graus de incapacidade funcional. Assim, conclui-se que positividade para fator reumatóide ocorreu independentemente do estágio funcional da doença.

8.3 GRAU FUNCIONAL E ANTI-CCP

O advento do anticorpo anti-CCP a prática reumatológica nos últimos anos trouxe consideráveis acréscimos para o diagnóstico e prognóstico da AR. Vários estudos evidenciam sua ocorrência em estágios precoces da AR. Além disso, os anticorpos anti-CCP parecem estar associados à doença mais erosiva e progressiva. ^(32,33,82) Estes estudos nos levaram a averiguar a distribuição de classes funcionais em pacientes reumatóides positivos para anti-CCP.

Embora muitos relatos associem a presença de anticorpos anti-CCP com doença reumatóide inicial ^(68,83), um outro estudo reporta estabilidade do anticorpo durante a evolução da doença. ⁽⁸⁴⁾ Nossos dados evidenciam frequência de teste positivo para anti-CCP em 62% dos casos de AR. O maior percentual de positividade para anti-CCP ocorreu em pacientes com classe funcional I (72%); entretanto, o dado careceu de relevância estatística quando comparado com outros graus funcionais.

Em estudo com 69 pacientes com AR inicial (menos de 3 meses de duração), a especificidade do anticorpo anti-CCP foi de 96% e a sensibilidade de 44%. O estudo confirma a alta especificidade do anticorpo para fases iniciais da doença. ⁽⁶⁾

De acordo com estudo realizado em Porto Alegre e recentemente publicado, a probabilidade de um paciente com teste positivo para anti-CCP apresentar AR é alta. Níveis séricos, acima de 50 U/mL aumentam fortemente a probabilidade de AR. Níveis séricos de anti-CCP abaixo de 10 U/mL, por sua vez, diminuiriam sobremaneira a probabilidade de doença. ⁽⁷⁹⁾ Digno de nota, positividade para anti-CCP parece se associar a AR futura tanto em pacientes com artrite indiferenciada quanto em assintomáticos. Níveis elevados iniciais do anticorpo se associam com progressão para doença erosiva. ⁽⁸⁵⁾

Um outro estudo brasileiro demonstrou sensibilidade de 80% para anticorpos anti-CCP na AR (tempo de doença de 12 anos, em média). Houve associação entre a presença do anticorpo na doença mais ativa e severa. ⁽⁸⁶⁾ Ainda outro estudo sediado no Brasil, avalizou, após análise de 4 grupos (AR, outras doenças reumáticas, doenças infecciosas e controles), a especificidade do anticorpo anti-CCP para o diagnóstico de AR. ⁽⁸⁷⁾

Nossos dados de delineamento transversal atestam um nível médio de anticorpos anti-CCP de 70 U/mL na população reumatóide. Diferentemente, o estudo de Morozzi et al reporta níveis médios do anticorpo ao redor de 360 U/mL, tanto antes quanto após o tratamento com adalimumab⁽⁸⁰⁾ Em nossa casuística, os níveis médios de anticorpos anti-CCP não diferiram de forma relevante entre as 4 funcionais.

Os dados da literatura não definem, inequivocamente, da associação entre a presença de anticorpos anti-CCP e a incapacidade funcional, medida pelo HAQ (health assessment questionnaire)⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾. De fato, há poucos estudos endereçando o binômio anticorpos anti-CCP-grau funcional da AR. De acordo com um relato japonês de 2004, o grau de positividade para anticorpos anti-CCP se tornava maior quanto maior o estágio de incapacidade funcional medida pela escala de Steinbrocker.⁽⁹¹⁾

Nossos dados demonstram que grau funcional não é parâmetro discriminativo para pacientes reumatóides anti-CCP-positivos. A distribuição dos casos anti-CCP-positivos foi uniforme em todas as classes funcionais. Assim, admite-se que o anticorpo possa funcionar como marcador da doença em quaisquer estágios de funcionalidade articular.

8.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Gostaríamos de reconhecer algumas limitações do corrente estudo:

- A) A amostra de pacientes com AR poderia ser maior, o que geraria dados mais fidedignos nas análises estatísticas (tanto as que envolvem a amostra global quanto aquelas que envolvem a casuística estratificada para grau funcional). Da amostra inicial de 68 casos de AR disponíveis no banco de dados, houve uma perda de 10 pacientes devido à ausência de dados acerca do estágio funcional de Hochberg;
- B) Embora a autora tenha colocado em prática o protocolo de Hochberg em outros pacientes com AR do Ambulatório de Reumatologia da PUCRS, os dados acerca do grau funcional para o corrente estudo foram obtidos através de prontuários ou telefone.
- C) Diferentemente dos dados acerca de COMP/TSP-5, não dispusemos, no banco de dados, das dosagens de fator reumatóide e anticorpos anti-CCP em doadores de sangue.

Assim ficamos impossibilitados de comparar positividade e níveis médios destes 2 auto-anticorpos nas duas populações.

- D) Tendo sido um estudo transversal e, portanto, não-prospectivo, nossos dados concernentes à relação biomarcadores-classe funcional estiveram restritos a um corte de tempo. Em pacientes reumatóides estratificados para grau de incapacidade, a dinâmica sorológica destes biomarcadores deveria ser idealmente avaliada através de uma coorte.

9 CONCLUSÕES

1. A testagem positiva para COMP/TSP-5 foi notoriamente mais freqüente na população reumatóide do que em doadores de sangue. Os níveis médios de COMP/TSP-5, tanto globais como os de cada classe funcional, foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles sadios;
2. Com exceção de indivíduos de classe funcional III, pacientes com AR de outros graus funcionais apresentaram maior freqüência de teste positivo para COMP/TSP-5 do que controles;
3. Um teste positivo para COMP/TSP-5, assim como para fator reumatóide e anticorpos anti-CCP, ocorreu uniformemente nas 4 classes funcionais de pacientes com AR. A presença destes biomarcadores ocorreu independentemente do estágio de incapacidade funcional medida pela escala de Hochberg.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roux-Lombard P, Eberhardt K, Saxne T, et al. Cytokines, metalloproteinases, their inhibitors and cartilage oligomeric matrix protein: relationship to radiological progression and inflammation in early rheumatoid arthritis. A prospective 5-year study. *British Society for Rheum.* 2001;40:544-51.
2. Wollheim F A. Predictors of joint damage in rheumatoid arthritis. *APMIS.* 1996;104:81-93.
3. Wislowska M, Jablonska B. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis and knee osteoarthritis. *Clin Rheum.* 2005;24:278-84.
4. Skoumal M, Haberhauer G, Feyertag J, et al. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP): a rapid decrease in patients with active rheumatoid arthritis undergoing intravenous steroid treatment. *Rheumatol.* 2006;26:1001-4.
5. Mansson B, Gülfe A, Goborek P, et al. Release of cartilage and bone macromolecules into synovial fluid: differences between psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum.* 2001;60:27-31.
6. Söderlin MK, Kastbom A, Kautiainen H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated (CCP) and levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in very early arthritis: relation to diagnosis and disease. *Scand J Rheumatol.* 2004;33:185-88.
7. Steinbrocker O, Traeger CH, Batterman RC. Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA.* 1949;140:659-62.
8. Hochberg Mc, Roland W, Dwosh I, et al. The American College of Rheumatology 1991 Revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1992;35:498-502.

9. Kremers HM, Nicola P, Crowson CS, et al. Therapeutic strategies in rheumatoid arthritis over a 40-year period. *J Rheumatol*. 2004;31:2366-73.
10. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. American College of rheumatology Ad Hoc Committee on clinical Guidelines. *Arthritis Rheum*. 1996;39:713-22.
11. Marques Neto JF, Gonçalves ET, Barros EFO, et al. Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. *Rev Bras Reumatol*. 1993;33:167-73.
12. Moreland LW, Russel AS, Paulus HE. Management of rheumatoid arthritis: the historical context. *J Rheumatol*. 2001;28:11431-52.
13. Mijiyawa M. Epidemiology and semiology of rheumatoid arthritis in the World countries. *Rev Rheum Engl*. 1995;62:121-6.
14. Gabriel SE, Pearson JE. Epidemiology and rheumatology arthritis. *Rheum Dis Clin*. 2001;27: 269-81.
15. Laurindo IEM, Pinheiro GRC, Ximenes AC, et al. Consenso brasileiro para o diagnóstico e tratamento da artrite reumatóide. *Rev Bras Reumatol*. 2002;42:355-61.
16. Hochberg M C. Adult and juvenile rheumatoid arthritis: Update. *Epidemiol*. 1990;12:247-52.
17. Ciconelli RM. Artrite Reumatóide. In: Sato EI. *Guia de Reumatologia*. ed 1. Barueri: Manole; 2006:85-97.
18. Joosten L A B, Luberts E, Helsen M M A, et.al. Protection against cartilage and bone destruction by systemic interleukin-4 treatment in established murine type II Collagen-induced arthritis. *Arthritis Res*. 1999;1:81-91.
19. Brashear R, Raney RB (eds). *Shands' Handbook of orthopaedic Surgery*.ed 9. Mosby, ST Louis;1978.

20. Panayi G S. Hormonal Control of rheumatoid inflammation. *Br Med Bull.* 1995;51:462-71.
21. Grassi W, De Angelis R, Lagamanna G, et al. The clinical features of rheumatoid arthritis. *Eur J Radiol.* 1998;27:18-24.
22. Tak PP, Breedveld FC. Current perspectives on synovitis. *Arthritis Res.* 1999;1:11-6.
23. Arnett F C, Edworthy S M, Bloch D A, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised-criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31:315-24.
24. Kisner C, Colby LA. *Exercícios Terapêuticos: Fundamentos e Técnicas.* Ed 3. São Paulo: Manole;1998.
25. Luqmani RA, Watts RA, Scott DGI, et al. Treatment of vasculitis in RA. *Ann Intern Med.* 1994;145:566-76.
26. Resnick D. Rheumatoid arthritis. In: *Bone and joint imaging.* Ed 2. Philadelphia: Saunders; 1996:210-34.
27. Wolfe F, Cathey MA, Roberts FK. The latex test revised. Rheumatoid factor testing in 8287 rheumatic disease patients. *Arthritis Rheum.* 1991;34:951-60.
28. Forslind K, Eberhardt K, Jonsson A, et al. Increased serum concentrations of cartilage oligometric matrix protein: a prognostic marker in early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol.* 1992;31:593-8.
29. Mansson B, Carey D, Alini M, et al. Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis: differences between rapid and slow progression of disease identified by serum makers of cartilage metabolism. *J Clin Invest.* 1995;95:1071-7.
30. Alessandri C, Bombardieri M, Papa N, et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti TNF-therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis.* 2004;63:1218-21.

31. Tighe H, Carson DA, Ighe H, et al. Rheumatoid Factors. In Kelley WN, Ruddy S, Harris ED, et al. Textbook of Rheumatology. Ed 5. Philadelphia:W.B. Saunders; 1997.241-246.
32. Vencovsky J, Machecek S, Sedova L, et al: Autoantibodies can be prognostic makers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:427-30.
33. Visser H, le Cessie S, Vos K, et al. How to diagnose rheumatoid arthritis early? A prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002;46:357-65.
34. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* 2000;43:155-63.
35. Chahade WH. Rheumatoid Arthritis: systemic manifestations, complications and unusual aspects. *Rev Esp Reumatol.* 1993;20:144-5.
36. Albani S, Carson DA. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Koopman WJ. Arthritis and Allied Conditions (ed). A textbook of Rheumatology. ED 13. Baltimore: Williams and Wikins; 1997.979-92.
37. Scott DL. Prognostic factors in early rheumatoid arthritis. *Rheumatol.* 2000;39:24-9.
38. Mottram PL. Past, present and future drug treatment for rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Immunol Cell Biol.* 2003;81:350-3.
39. Graudal N. The natural history and prognosis of rheumatoid arthritis: association of radiographic outcome with process variables, joint motion and immune proteins. *Scand J Rheumatol.* 2004;118:1-38.
40. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology Subcommittee on rheumatoid arthritis guidelines. *Arthritis Rheum.* 2002;46:328-46.
41. Adams JC. Functions of the conserved trombospondin carboxi-terminal cassette in cell-extracellular matrix interactions and signaling. *Int J. Biochem Cell Biol.* 2004;36:1102-14.

42. Engel J. Role of oligomerization domains in thrombospondins and other extracellular matrix proteins. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36:997-1004.
43. Adams J. Thrombospondins: Multifunctional Regulators of Cell interactions. *Ann Rev Cell Dev Biol.* 2001;17:25-51.
44. Hedbom E, Antonsson P, Hjerpe A, et al. Cartilage matrix proteins. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *J Biol Chem.* 1992;267:6132-6.
45. Fex E, Eberhardt K, Saxne T. Tissue-derived macromolecules and markers of inflammation in serum in early rheumatoid arthritis: relationship to development of joint in hands and feet. *Br J Rheumatol.* 1997;36:1161-5.
46. Wolheim FA, Eberhardt KB, Johnson U, et al. HLA DRB1* typing and cartilage oligomeric matrix protein (COMP) as predictors of joint destruction in recent-onset rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol.* 1997;36:847-9.
47. Petersson IF, Boegard T, Svensson B, et al. Changes in cartilage and bone metabolism identified by serum markers in early osteoarthritis of the knee joint. *Br J Rheumatol.* 1998;37:46-50.
48. Clark AG, Jordan JM, Vilim V, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects osteoarthritis presence and severity. *Arthritis Rheum.* 1999;42:2356-64.
49. Petersson IF, Boegard T, Svensson B, et al. Bone scan serum markers of bone cartilage in patients with knee pain and osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 1998;6:33-9.
50. Zaia J, Boynton RE, McIntosh A, et al. Post-translational modifications in cartilage oligomeric matrix protein. Characterization of the N-linked oligosaccharides by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Biol Chem.* 1997;272:14120-6.
51. Oldberg A, Antonsson P, Lindblom K, et al. COMP (cartilage oligomeric matrix protein) is structurally related to the thrombospondins. *J Biol Chem.* 1992;267:22346-50.

52. Dragomir A, Kraust V, Renner J, et al. Serum cartilage oligometric matrix protein and clinical signs and symptoms of potential pré-radiographic hip and knee pathology. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2002; 10: 687-91.
53. Di Cesare P, Hause N, Lehman D, et al. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is an abundant component of tendon. *FEBS Lett*. 1994;354:237-40.
54. Recklies AD, Baillargeon L, White C. Regulation of cartilage oligomeric matrix protein synthesis in human synovial cells and articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*. 1998;41:997-1006.
55. Riesenfeld R, Fenchel M, Chen H, et al. Cartilage oligomeric matrix protein (trombospondin-5) is expressed by human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:47-54.
56. Fang C, Carlsson CS, Leslie MP, et al. Molecular cloning, sequencing, and tissue and developmental expression of mouse cartilage oligomeric matrix protein (COMP). *J Orthop Res*. 2000;18:593-603.
57. Skoumal M, Kolazar G, Klinger A. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP): a predicting factor and a valuable parameter for disease management in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2003;32:156-61.
58. Di Cesare PE, Carlson CS, Stollerman ES, et al. Expression of cartilage oligomeric matrix protein by human synovium. *FEBS Lett*. 1997;412:249-52.
59. Rosenberg K, Olsson H, Mörgelin M, et al. Cartilage Oligomeric matrix Protein Shows High Affinity Zinc-dependent Interaction With Triple Helical Collagen. *J Biol Chem*. 1998;273:20397-403.
60. Saxne T, Heinegard D. Matrix Proteins: Potentials as body fluid markers of changes in the metabolism of cartilage and bone arthritis. *J Rheumatol*. 1995;22:74-4.
61. Mansson B, Geborek P, Saxne T. Cartilage and bone macromolecules in knee joint synovial fluid in rheumatoid arthritis: relation to development of knee or hip joint destruction. *Ann Rheum Dis*. 1997;56:91-6.

62. Clark AG, Jordan JM, Vilim V, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects osteoarthritis presence and severity. *Arthritis Rheum.* 1999;42:2356-64.
63. AnaMar Medical TM. Göteborg: 2006. COMP Elisa R 14-106-71. Directions for use. Enzyme Immunoassay. (atualizado 2004 oct.) : (p3-12) 2040/06. Disponível em:
<http://www.anamar.com/Biomakers/cartilageMakers/COMPElisa/AnaMarBrux.pdf>
64. Silveira IG. Probabilidade de artrite reumatóide a partir da testagem para fator reumatóide e anticorpos anti-peptídeo citrulinado cíclico [tese]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2005.
65. Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, et al. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:196-201.
66. Bender AL, Silveira IG, Bodanese LC, et al. Low cartilage oligomeric matrix protein (COMP/TSP-5) levels in acute myocardial infarction. Submetido para publicação. *Heart Vessels.*
67. Symmons DPM, Barret EM, Bankhead CR, et al. The incidence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: results from the Norfolk arthritis register. *Br J Rheumatol.* 1994;33:735-9.
68. Kroot EJJA, Jong BAW, van Leeuwen MA, et al. The prognostic value of the anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000;43:1831-5.
69. Louzada Junior P, Souza BDB, Toledo RA, et al. Descriptive analysis of demographical and clinical characteristics of patients with rheumatoid arthritis in the State of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Reumatol.* 2007;47:84-90.
70. Skoumal M, Haberbauer G, Feyetag, et al. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein are elevated in rheumatoid arthritis, but not in inflammatory rheumatic diseases such as psoriatic arthritis, Raynaud's syndrome, scleroderma, systemic lupus erythematosus, vasculitis and Sjögren's syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2004;6:73-4.

71. Scheinenberg MA, Pinheiro GRC, Andrade CAF, et al. Serum cartilage biomarkers in late rheumatoid arthritis. *Einsten*. 2006;4:1-3.
72. Haberhauer GF, Feyertag J, Kittl EM, et al. Rapid decrease of COMP serum levels in patients with active RA undergoing IV steroid treatment.[abstract] *Ann Rheum Dis*. 2003;62 (suppl.1):166.
73. Momohara S, Yamanaka H, Holledge MM, et al. Cartilage oligometric matrix protein in serum and synovial fluid of rheumatoid arthritis: potential use as a marker for joint cartilage damage. *Mod Rheumatol*. 2004;14:356-60.
74. Lindquist EK, Saxne T, Geborek P. Ten year outcome in a cohort of patients with early rheumatoid arthritis: health status, disease process, and damage. *Ann Rheum Dis*. 2002; 61:1055-9.
75. Neidhart M, Hause N, Paulsson M, et al. Small fragments of cartilage oligomeric matrix protein in synovial fluid and serum as markers for cartilage degradation. *Br J Rheum*. 1997;36:1151-60.
76. Vallbracht I, Rieber J, Opperman M, et al. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2004;63:1079-84.
77. Van der Heijde DMFM, Van Riel PLCM, Van Rijswijk MH. Influence of prognostic features on the final outcome in rheumatoid arthritis: a review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*. 1988;17:284-92.
78. Van Zeben D, Hazes JMW, Zwinderman AH, et al. Factor predicting outcome of rheumatoid arthritis: results of a follow-up study. *J Rheumatol*. 1993;20:1288-96.
79. Silveira IG, Burlingame RW, von Mühlen CA, et al. Anti-CCP antibodies have more diagnostic impact than rheumatoid factor (RF) in a population tested for RF. *Clin Rheumatol*. 2007;26:1883-89.
80. Morozzi G, Fabroni M, Bellisai F, et al. Low serum level of COMP, a cartilage turnover maker, predicts rapid and high ACR70 response adalimumab therapy in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2007;26:1335-8.

81. Santos WS, Fernandes AR, Silva NP, et al. Clinical significance of antiperinuclear factor and anti-stratum corneum antibody in rheumatoid arthritis. *Rev Bras reumatol.* 1997;37:309-16.
82. Bas S, Pernegern TV, Seitz M, et al. Diagnostic tests for rheumatoid arthritis : comparison of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-keratin antibodies and Ig-M rheumatoid factor. *Rheumatol.* 2002;41:809-14.
83. Bizzaro N, Mazzati G, Tonutti E, et al. Diagnostic accuracy of the anti-citruline Antibody Assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem.* 2001;47:1089-93.
84. Correa PA, Tobon GJ, Citera G, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis: relation with clinical features, cytokines and HLA-DRB1. *Biomédica.* 2004;24:140-52.
85. Van Venrooij WJ, Zendman AJ, Pruijn GJ. Autoantibodies to citrullinated antigens in (early) rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* 2006;6:37-41.
86. Pinheiro GC, Scheinberg MA, Aparecida da Silva M, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. *Ann Inter Med.* 2003;139:234-5.
87. Silva AF, Matos NA, Lima MAS, et al. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and severe rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol.* 2006;46:165-173.
88. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, et al. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (The Swedish TIRA project). *Ann Reum Dis.* 2004;63:1085-9.
89. Bas S, Genevay S, Meyer O, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatol.* 2003;42:677-80.
90. Jansen LM, van Schaardenburg D, van der Horst-Bruinsma I, et al. The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J Rheumatol.* 2003;30:1691-5.

91. Araki C, Hayashi N, Moriyama M, et al. Usefulness of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Rinsho Byori*. 2004; 52:966-72.

ANEXOS

ANEXO A – Protocolo Artrite reumatóide / COMP/TSP-5

Data: ____/____/____

Protocolo de artrite reumatóide / COMP/TSP-5

Registro do paciente: _____

Sexo: ()Feminino () Masculino

Idade: ____ anos

Raça: _____

Peso corpóreo: ____ Kg

Tempo de doença: _____

Classificação funcional: ()Grau I ()Grau II ()Grau III ()Grau IV

Fator reumatóide: _____

Anti-CCP: _____

COMP/TSP-5: _____

Tratamento medicamentoso: _____

ANEXO B - Questionário de Pré-Triagem Clínica para doação de Sangue no Serviço de Hemoterapia do Hospital São Lucas da PUCRS

Questões	Sim	Não
1 Você já doou sangue? Quando foi a última vez?		
2 Quantas vezes doou nos últimos 12 meses? (0) (1) (2) (3) (4) (5)		
3 Foi impedido de doar sangue alguma vez ou sentiu-se mal após alguma doação?		
4 Dormiu na noite passada?		
5 Há quanto tempo foi sua última refeição?	Hs	
6 Bebeu alguma bebida alcoólica nas últimas 24 horas?		
7 Costuma beber bebidas alcoólicas todos os dias?		
8 Tomou algum medicamento para dor de cabeça, nos últimos 7 dias?		
9 Teve diarreia na última semana?		
10 Teve algum problema de saúde nos últimos 30 dias, incluindo-se gripe, resfriado amigdalite, sinusite, labirintite?		
11 Tem asma, bronquite ou outro tipo de alergia?		
12 Fez alguma vacina nos últimos 12 meses? Qual?		
13 Perdeu peso nos últimos 3 meses? Quanto?		
14 Tem apresentado feridas ou manchas brancas na boca e língua?		
15 Notou aparecimento de manchas na pele ou ínguas (gânglios)?		
16 Nos últimos 15 dias, teve algum ferimento, abcesso ou furúnculo na pele?		
17 Você fez alguma tatuagem, acupuntura, colocou brinco ou <i>piercing</i> nos últimos 12 meses?		
18 Você teve gonorréia, sífilis ou outra doença sexualmente transmissível?		
19 Você teve contato sexual com parceiro(a) ocasional ou desconhecido nos últimos 12 meses, sem preservativo?		
20 Você teve contato sexual com prostitutas, garotas ou garotos de programa nos últimos 12 meses?		
21 Você deu ou recebeu dinheiro ou drogas em troca de relações sexuais nos últimos 12 meses?		
22 Você usou drogas (tóxicos) injetáveis alguma vez?		
23 Só para doadores do sexo masculino: você teve contato sexual com outro homem nos últimos 12 meses?		
24 Você tem vírus da AIDS, de hepatite B, da hepatite C ou HTLV-I?		
25 Você fez tratamento com hemodiálise ou recebeu transfusão de sangue nos últimos 12 meses?		
26 Teve contato sexual, nos últimos 12 meses, com pessoa enquadrada em alguma das situações incluídas nas questões 19 a 25?		
27 Você esteve preso/detido nos últimos 12 meses?		
28 Você teve algum acidente (com agulhas ou contato com mucosas – boca, olhos) com sangue ou outro material biológico que possa transmitir AIDS ou hepatite nos últimos 12 meses?		
29 Tem ou teve alguma dessas doenças: pressão alta, diabetes, malária, doença de Chagas, convulsões (ataque epilético), doença do coração, tuberculose, enfisema pulmonar, hanseníase, herpes zoster (cobreiro), dengue, toxoplasmose, câncer, derrame cerebral?		

30	Teve hepatite? Com que idade?		
31	Foi picado alguma vez pelo inseto transmissor da doença de Chagas (triatomíneo) popularmente chamado de “barbeiro”, “chupão”, “fincão”?		
32	Recebeu transplante de córnea ou implante de dura-máter (neurocirurgia)?		
33	É portador ou tem familiar portador de doença de Creutzfeldt-Jacob (encefalopatia espongiiforme humana)?		
34	Já fez tratamento, alguma vez, com algum destes medicamentos: testosterona (hormônio masculino), isotretinoína (Roacutan® - para acne), finasterida (Proscar®, Nasterol® - para próstata ou Propécia® - para queda de cabelo), acitretina (Neotigason® - para psoríase) ou etretionato (Tigason® - para psoríase)?		
35	Já sofreu alguma cirurgia ou endoscopia? Há quanto tempo?		
36	Fez algum tratamento dentário nos últimos 7 dias?		
37	Esteve em região de malária nos últimos 6 meses? (região norte ou centro-oeste)?		
38	Morou, nos últimos 3 anos, em região em que haja malária (região norte ou centro-oeste)?		
39	Está grávida? Está amamentando bebê com menos de um ano de idade?		
40	Teve parto ou abortamento nos últimos 4 meses?		
41	Esteve no Reino Unido por período(s) que soma(m) mais de 6 meses, de 1980 a 1996?		
42	Esteve na França, Portugal ou Irlanda por período(s) que soma(m) mais de 10 anos desde 1980?		

ANEXO C – Protocolo de aprovação do comitê de ética



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 0601/07-CEP

Porto Alegre, 31 de maio de 2007.

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo registro CEP 07/03697, intitulado: **“Proteína oligomérica da matriz cartilaginosa (COMP) como biomarcador em diferentes estágios da artrite reumatóide”**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Dr(a) Henrique Luiz Staub
N/Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000
Fone/Fax: (51) 3320-3345
E-mail: cep@pucrs.br
www.pucrs.br/prppg/cep

ANEXO D – Artigo submetido para publicação.

**NÍVEIS SÉRICOS DA PROTEÍNA OLIGOMÉRICA DA MATRIZ
CARTILAGINOSA/TROMBOSPONDINA 5 (COMP/TSP-5) EM
PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE ESTRATIFICADOS
PARA CLASSE FUNCIONAL.**

***SERUM LEVELS OF CARTILAGE OLIGOMERIC MATRIX
PROTEIN/THROMBOSPONDIN-5 (COMP/TSP-5) IN PATIENTS WITH
RHEUMATOID ARTHRITIS STRATIFIED FOR FUNCTIONAL CLASS.***

FERNANDA DUARTE DE ANDRADE¹ · ANA LÍGIA BENDER² · INÊS GUIMARÃES
DA SILVEIRA³ · HELGA STEIN⁴, HENRIQUE LUIZ STAUB⁵

¹Fisioterapeuta, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

²Doutora, Professora do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia. Coordenadora do Curso de Farmácia PUCRS.

³Doutora em Medicina e Mestre em Clínica Médica. Professora Assistente do Departamento de Medicina Interna/Reumatologia da Faculdade de Medicina PUCRS.

⁴Acadêmica de Fisioterapia da PUCRS.

⁵Doutor em Reumatologia e Mestre em Imunologia Clínica. Professor Adjunto de Clínica Médica/Reumatologia da Faculdade de Medicina PUCRS.

Endereço para correspondência:

Henrique Luiz Staub
Serviço de Reumatologia
Hospital São Lucas da PUCRS
Av. Ipiranga 6690, sala 220.
Porto Alegre, RS, Brasil. CEP: 90610-000
e-mail: henriquestaub@terra.com.br

Resumo

Objetivo: Avaliar os níveis séricos da proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina 5 (COMP/TSP-5), potencial marcador de dano articular, em pacientes com artrite reumatóide (AR) em diferentes graus funcionais e controles sadios.

Pacientes e métodos: O estudo foi transversal controlado. Cinquenta e oito pacientes com AR em acompanhamento no Ambulatório de Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS compuseram a população-alvo. A classificação de Hochberg foi utilizada para estimar grau funcional destes pacientes. O grupo-controle consistiu de 100 doadores de sangue consecutivamente selecionados. Os níveis de COMP/TSP-5 foram avaliados através imuno-ensaio enzimático (AnaMar MedicalTM, Lund, Suécia). Níveis acima de 12 U/I foram considerados positivos. A comparação entre os grupos foi obtida por análise de variância. Um nível de significância de 5% foi considerado para valores P. **Resultados:** A média de idade foi de 48 ± 6 anos para o grupo-controle e de 54 ± 14 anos para pacientes com AR ($P > 0,05$). O sexo feminino predominou no grupo de pacientes com AR ($P < 0,05$). Após ajuste para sexo e idade, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram de 7,0 U/L (IC95% 6,1-7,9) para o grupo-controle e de 12,6 U/L (IC95% 11,1-14,1) para o grupo de AR ($P < 0,01$). Entre os pacientes com AR, 25 apresentaram grau funcional I (43,1%), 14 grau funcional II (24,13%), 10 grau funcional III (17,2%) e 9 grau funcional IV (15,5%). Com exceção de indivíduos de classe funcional III, pacientes de outras classes funcionais tiveram maior frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 do que controles ($P < 0,001$). Em cada uma das classes funcionais, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores do que os do grupo-controle ($P < 0,05$). Os 28 pacientes reumatóides com COMP/TSP-5 elevada se distribuíram uniformemente entre as 4 classes funcionais ($P = 0,365$). **Conclusão:** Os níveis de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles. Os níveis médios da proteína se mantiveram acima dos controles em todas as classes funcionais da doença. Grau funcional não parece funcionar como parâmetro discriminativo em pacientes reumatóides com COMP/TSP-5 elevada.

Palavras chaves: artrite reumatóide, grau funcional, proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina 5 (COMP/TSP-5)

Abstract

Objective: To evaluate the serum levels of cartilage oligomeric matrix protein/thrombospondin-5 (COMP/TSP-5), a potential marker for articular damage, in patients with rheumatoid arthritis (RA) in different functional status and in healthy controls. **Patients and methods:** The study was cross-sectional. Fifty-eight patients with RA followed in the Outpatient Rheumatology Clinic of São Lucas Hospital of PUCRS comprised the target population. The Hochberg classification was utilized to estimate the functional status of RA patients. The control group included 100 blood donors consecutively selected. Levels of COMP/TSP-5 were evaluated by immunoenzymatic assay (AnaMar Medical TM, Lund, Suecia). Levels above 12 U/I were considered positive. Comparison of groups was obtained by analysis of variation. A 5% significance levels was considered for P values. **Results:** The medium age was 48±6 years for the control group and of 54±14 years for RA patients (P>0.05). The female gender predominated in patients with RA (P<0.05). After adjustment for sex and age, the average levels of COMP/TSP-5 were 7.0 U/L (95%CI 6.1-7.9) for the control group and of 12.6 U/L (95%CI 11.1-14.1) for patients with RA (P<0.01). Among RA patients, 25 showed functional class I (43.1%), 14 functional class II (24.13%), 10 functional class III (17.2%), and 9 class functional IV (15.5%). With the exception of individuals with class functional III, patients from the other functional status presented higher frequency of positive test for COMP/TSP-5 as compared to controls (P<0.001). In each of the functional classes, the average levels of COMP/TSP-5 were significantly higher than those of the control group (P<0.05). The 28 RA patients with elevated COMP/TSP-5 were distributed uniformly in all 4 functional classes (P=0.365). **Conclusion:** The levels of COMP/TSP-5 were significantly higher in RA patients than in controls. The average serum levels of the protein remained elevated as compared to controls in all 4 functional classes of RA patients. Functional status does not seem to behave as a discriminative parameter for RA patients with elevated COMP/TSP-5 levels.

Key words: rheumatoid arthritis, functional status, cartilage oligomeric matrix protein/thrombospondin-5 (COMP/TSP-5)

Introdução

A artrite reumatóide (AR) é uma doença auto-imune multissistêmica de etiologia desconhecida. A característica principal da doença é uma sinovite simétrica persistente, que acomete de forma preferencial as articulações periféricas. A artrite é potencialmente erosiva, e pode associar-se às manifestações extra-articulares. Sabe-se, atualmente, que até 50% dos pacientes cessam atividades profissionais nos primeiros 10 anos da doença. ⁽¹⁾

Com a progressão da doença, os pacientes com AR desenvolvem incapacidade para a realização de suas atividades da vida diária e profissional. O impacto econômico pode se tornar significativo para o paciente e para a sociedade. ⁽²⁾ Entretanto, o curso clínico da AR tem uma variação interindividual pronunciada ⁽³⁾.

A proteína oligomérica da matriz cartilaginosa/trombospondina 5 (COMP/TSP-5) é uma proteína não-colágena relevante para a homeostase da matriz extracelular. Foi inicialmente descrita como marcador prognóstico da AR e da osteoartrose em 1992. ⁽⁴⁾ É encontrada na cartilagem, sinóvia, tendão e vasos ⁽⁵⁾. Níveis séricos elevados de COMP/TSP-5 potencialmente indicam alterações na cartilagem, no metabolismo ósseo e/ou inflamações sinoviais. ⁽⁶⁾

A similaridade estrutural da COMP/TSP-5 com outros membros da família das trombospondinas suscita o interesse na investigação do seu nível sérico em diversas entidades clínicas. A avaliação dos níveis séricos da COMP/TSP-5 na AR poderá fornecer dados relevantes na compreensão do comportamento biológico desta proteína. Por fim, a relação dos níveis de COMP/TSP-5 com o estágio funcional da AR, objeto deste estudo, é ainda desconhecida.

Pacientes e métodos:

Em termos globais, 158 indivíduos foram incluídos no estudo. Cem indivíduos doadores de sangue sem histórico de doença reumática compuseram o grupo-controle. Cinquenta e oito pacientes oriundos do Ambulatório de Reumatologia do Hospital São Lucas da PUCRS constituíram a população-alvo. Todos os pacientes com AR preencheram os critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia de 1987 para a doença. ⁽⁷⁾ A classificação funcional de Hochberg ⁽⁸⁾ (tabela 1) foi utilizada para avaliar a capacidade funcional dos pacientes reumatóides e estratificar subgrupos. Os dados acerca do grau funcional foram obtidos quando da coleta de sangue para dosagem de COMP/TSP-5.

Tabela 1. Estratificação de grau funcional para pacientes com artrite reumatóide de acordo com os critérios de Hochberg. ⁽⁸⁾

<i>Grau funcional</i>	<i>Capacidade</i>
Classe I	Capaz de realizar atividades usuais de vida diária (auto-cuidado*, vocacionais** e não-vocacionais***).
Classe II	Capaz de realizar atividades usuais de auto-cuidado* e vocacionais**, mas limitado em atividades não-vocacionais ***.
Classe III	Capaz de realizar atividades usuais de auto-cuidado*, mas limitado em atividades vocacionais** e não-vocacionais***.
Classe IV	Limitado em realizar habilidades usuais de auto-cuidado*, atividades vocacionais** e não-vocacionais***.

Atividades de auto-cuidado* incluem vestir-se, comer, banhar-se, usar o banheiro e os cuidados para com a aparência. Atividades vocacionais** incluem trabalho, estudo e afazeres domésticos. As atividades não-vocacionais*** incluem lazer e/ou atividades recreacionais. ⁽⁸⁾

As dosagens de COMP/TSP-5 foram efetuadas através de ensaio imunoenzimático (ELISA), de acordo com descrição prévia (AnaMar Medical™, Lund, Suécia). Níveis acima de 12 U/L foram considerados positivos ⁽⁹⁾ A comparação entre os grupos foi obtida por análise de variância. Um nível de significância de 5% foi considerado para valores P.

Resultados

Características das populações estudadas

No grupo de 58 pacientes com AR, mulheres (84,5%) foram 5,4 vezes mais afetadas pela doença do que homens (15,5%). O sexo feminino predominou fortemente em pacientes reumatóides comparativamente ao grupo-controle. A média de idade não diferiu de forma significativa entre os grupos. A duração média de doença na população reumatóide foi de 9,2 anos; um quarto dos pacientes apresentavam doença de mais de 10 anos de duração. A frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 (níveis iguais ou acima de 12 U/L) foi significativamente maior em pacientes reumatóides (48,2%) do que em controles (4%). Após ajuste para sexo e idade, os níveis médios de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles. Estes dados estão sumarizados na tabela 2.

Tabela: 2 Características das amostras estudadas.

	<i>Controles (n=100)</i>	<i>Artrite reumatóide (n=58)</i>	<i>P*</i>
Sexo feminino	45 (45%)	49 (84,5%)	<0,05
Idade (anos)**	48 ±6	54±14	>0,05
Tempo médio de doença	-	9,2 anos	-
Tempo de doença > 2anos	-	42 (73%)	-
Tempo de doença > 10 anos	-	15 (25.8%)	-
Teste positivo para COMP/TSP-5***	4 (4%)	28 (48.2%)	<0,01
Níveis médios COMP/TSP-5 (U/L)****	7,0 ±3,0 (IC95% 6,1 a 7,9)	12,6 ±0,8 (IC95% 11,1 a 14,1)	<0,01

n: número de indivíduos

IC95%: intervalo de confiança de 95%

*Teste do qui-quadrado.

**Dados de contagem absoluta (média) ± desvio padrão

***Nível sérico acima de 12 U/L

****Níveis obtidos após ajuste para sexo e idade

Em termos de grau funcional, a maioria dos pacientes com AR apresentou classe funcional I. O sexo feminino predominou fortemente em todos os graus funcionais. O

tempo médio de doença foi maior nas classes funcionais III e IV. Estes dados estão sumarizados na tabela 3.

Tabela: 3 Estratificação de grau funcional nos pacientes com artrite reumatóide.

<i>Grau funcional</i>	<i>Frequência de pacientes</i>	<i>Sexo feminino</i>	<i>Tempo médio de doença</i>
Classe I	25 (43,1%)	22 (88%)	6 anos (2 a 30 anos)
Classe II	14 (24,1%)	11 (78,6%)	6,5 anos (2 a 21 anos)
Classe III	10 (17,2%)	9 (90%)	14,5 anos (7 a 60 anos)
Classe IV	9 (15,5%)	7 (77,7%)	10 anos (4 a 20 anos)

A frequência de teste positivo para COMP/TSP-5, assim como a distribuição dos níveis médios de COMP/TSP-5 nas diversas classes funcionais de pacientes reumatóides, são mostrados na tabela 4. A frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 foi maior nas classes funcionais I, II e IV em relação aos controles, mas não em indivíduos com classe funcional III. Em cada uma das classes funcionais, os níveis médios de COMP/TSP-5 de pacientes com AR foram significativamente elevados em comparação aos controles.

Tabela: 4 Frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 (acima de 12 U/L) e distribuição dos níveis médios de COMP/TSP-5 nos diversos graus funcionais de pacientes com artrite reumatóide (AR) comparativamente a controles sadios.

<i>Grupo</i>	<i>COMP/TSP-5 elevada*</i>	<i>P**</i>	<i>Níveis médios de COMP/TSP-5</i>	<i>P**</i>
Controles	4(4%)	-	7,0 U/L (IC95% 6,1 a 7,9)	-
AR Classe I	11(44%)	<0,001	13,8 U/L (IC95%: 11,2 a 16,3)	<0,001
AR Classe II	8(57%)	<0,001	11,8 U/L (IC95%: 8,9 a 14,6)	<0,001
AR Classe III	3(30%)	>0,05	10,3 U/L (IC95%: 7,0 a 13,7)	0,004
AR Classe IV	6(66,6%)	<0,001	13,8 U/L (IC 95%: 10,5 a 17,2)	<0,001

*Níveis séricos acima de 12 U/L

**Valores obtidos após comparação de cada classe funcional da AR com o grupo-controle

IC95%: intervalo de confiança de 95%.

O gráfico abaixo ilustra a distribuição dos valores médios de COMP/TSP-5 nos grupos analisados. As médias de COMP/TSP-5 de cada classe funcional de pacientes reumatóides foram significativamente mais altas do que a média do grupo-controle ($P < 0,05$).

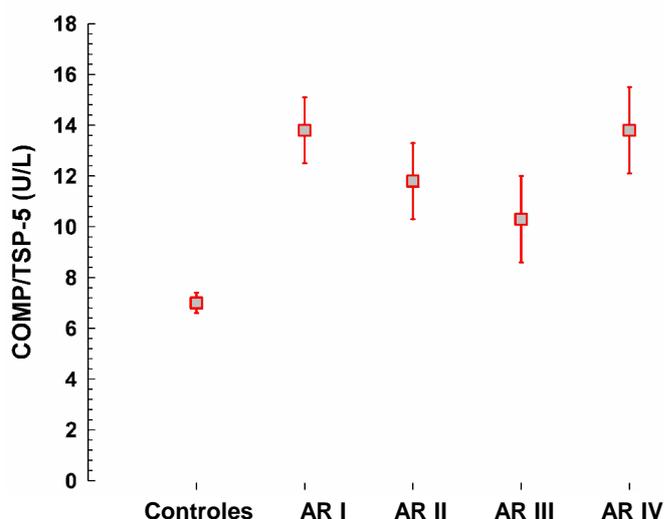


Figura 1. Valores médios de COMP/TSP-5 apresentados em gráfico para comparação de 5 grupos de indivíduos: controles, artrite reumatóide (AR) classe funcional I, AR classe II, AR classe III e AR classe IV.

Discussão

A AR é uma doença habitualmente progressiva, caracterizada por poliartrite crônica erosiva e achados sistêmicos. O grau de incapacitação funcional de pacientes com AR é bastante variável. ⁽¹⁰⁾ São raros os estudos que estratificam a AR em graus funcionais quando da avaliação de marcadores prognósticos da doença. Assim, foi nosso objetivo primordial avaliar o comportamento sorológico de um marcador de dano articular (COMP/TSP-5) em pacientes reumatóides estratificados para classe funcional. Por outro lado, não esteve entre as metas deste estudo a comparação de níveis de COMP/TSP-5 com escores clássicos de atividade da AR.

Em nosso estudo, as mulheres foram 5,4 vezes mais afetadas pela AR do que os homens, dados próximos daqueles da literatura. ⁽¹⁰⁾ Houve diferença significativa quanto se comparou frequência de sexo feminino em AR e controles ($P < 0,05$). As médias de idades não diferiram de forma significativa entre os grupos. A duração média da doença (9,2 anos) foi relativamente alta, e um quarto dos pacientes apresentavam doença há mais de uma década. De interesse, Krot et al relataram que sexo feminino e idade do início da doença foram preditores de desfecho funcional. ⁽¹¹⁾

Notoriamente, a frequência de teste positivo para COMP/TSP-5 (nível acima de 12 U/L) foi mais significativa em nossa população reumatóide (48,2%) do que em controles (4%). O ponto de corte de 12 U/L foi utilizado com base em dados do fabricante (AnaMar Medical TM, Suécia⁽⁹⁾), achado corroborado em estudo recente em nosso Hospital. De acordo com estes últimos dados, níveis acima de 12 U/L (obtidos por cálculo de razão de verossimilhança) se associaram fortemente à presença de AR e osteoartrose (razões de chances 17,3 e 11,4, respectivamente - dados a serem publicados).

Em 256 doadores suecos (idades entre 19 e 73 anos), os níveis médios de COMP/TSP-5 foram de 10,6 U/L. ⁽⁹⁾ Diferentemente, nossos dados em doadores de sangue

(idade máxima 65 anos) apontam para um nível médio de 7,0 U/L. É possível que a idade máxima para doadores esteja envolvida nesta discrepância. Em termos gerais, os valores médios de COMP/TSP-5 em nossa população reumatóide mostraram-se significativamente elevados em relação aos doadores de sangue ($P < 0,01$).

Níveis elevados de COMP/TSP-5 são indicativos de alterações da cartilagem, da sinóvia e do metabolismo ósseo ⁽¹²⁾ Um estudo associa a elevação sérica da proteína ao dano articular visto particularmente na AR. ⁽¹³⁾ Níveis elevados de COMP/TSP-5 foram detectados na AR precoce, e teriam valor prognóstico na doença. ⁽¹⁴⁾ Apenas um quarto de nossos pacientes com AR apresentavam doença precoce (<2 anos), não sendo nosso propósito a avaliação isolada deste grupo.

Para efeito de avaliação de grau funcional, utilizou-se a classificação de Hochberg ⁽⁸⁾, na realidade uma estratificação atualizada do trabalho clássico de Steinbrocker. ⁽¹⁵⁾ Atividades de auto-cuidado, domésticas, profissionais e de lazer são consideradas na referida classificação. Em nossa população reumatóide, houve predomínio incontestado das classes funcionais I e II. Enquanto pacientes com classes funcionais I e II tiveram duração de doença ao redor de 6 anos, pacientes com classe funcional III e IV claramente apresentavam duração média de doença acima de 10 anos. Por este prisma, tempo de doença se comportou como parâmetro de incapacidade funcional.

Nas diversas classes funcionais da AR (exceção da classe III), um teste positivo para COMP/TSP-5 foi mais freqüente do que em controles. De interesse, os pacientes de classe funcional III, onde esta relação não foi observada, apresentavam o maior tempo de duração de doença (14,5 anos). Entretanto, quando se avaliou níveis médios de COMP/TSP-5 documentou-se que em cada uma das classes funcionais os níveis foram significativamente mais altos do que os dos controles. Depreende-se, a partir destes dados,

que as elevações da proteína, potencialmente associadas a dano sinovial e cartilaginoso, ocorrem nos variados estágios da doença.

Wisłowska et al avaliaram os níveis de COMP/TSP-5 em 30 pacientes com AR (tempo médio de doença de 14 anos). Houve associação entre níveis de COMP/TSP-5, escores de atividade da doença e idade dos pacientes. Interessantemente, os níveis da proteína foram elevados no líquido sinovial de pacientes com doença inicial, mas não daqueles com quadro avançado. ⁽¹⁶⁾

Em estudo datado de 2003, Skoumal et al relataram correlação positiva entre níveis de COMP/TSP-5 e deterioração da cartilagem, avaliada pela escala de Lanssen em 62 pacientes reumatóides acompanhados por 5 anos. Os autores sugerem que a dosagem de COMP/TSP-5 pode ser usada como marcador de degradação da cartilagem nestes pacientes. ⁽¹⁷⁾

De acordo com relato japonês, pacientes com AR e dano articular severo tiveram níveis mais altos de COMP/TSP-5 do que aqueles com doença mais leve. O estudo sugere que os níveis de COMP/TSP-5 refletem destruição cartilaginosa na AR. ⁽¹⁸⁾ No entanto, outros autores reportaram níveis diminuídos da proteína em estágios mais avançados da doença, provavelmente devido à degradação crônica da cartilagem. ⁽¹⁹⁾ Em termos hipotéticos, este achado pode estar de acordo com a frequência insignificante de teste positivo para COMP/TSP-5 em nossos pacientes com classe funcional III, notadamente aqueles com doença de maior duração em nosso estudo. Nenhum dos estudos citados ^(12-14, 16-19), diferentemente do nosso, considerou grau funcional da AR na análise dos dados.

Quando analisamos estatisticamente os 28 pacientes com AR e teste positivo para COMP/TSP-5, verificamos que eles se distribuem de forma homogênea nas 4 classes funcionais. Os níveis médios da proteína não diferiram de forma significativa entre os grupos. Níveis elevados de COMP/TSP-5 ocorreram mesmo em estágios funcionais

iniciais da doença. Infere-se, a partir destes dados, que classe funcional não modifica o padrão de positividade para COMP/TSP-5 em pacientes com AR.

Em suma, os níveis de COMP/TSP-5 foram significativamente maiores em pacientes com AR do que em controles. Os níveis médios se mantiveram elevados em todos os graus funcionais da doença. Grau funcional não parece servir como parâmetro discriminativo na positividade para COMP/TSP-5 em pacientes com AR. O papel da COMP/TSP-5 como marcador prognóstico de dano articular na AR deve ser esclarecido em estudos futuros.

Agradecimentos

Agradeço à equipe da Reumatologia do Hospital São Lucas da PUC pela oportunidade. Ao Professor Mário Wagner pelo auxílio estatístico.

Bibliografia

1. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. American College of rheumatology Ad Hoc Committee on clinical Guidelines. *Arthritis Rheum.*1996;39:713-22.
2. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology Subcommittee on rheumatoid arthritis guidelines. *Arthritis Rheum.*2002;46:328-46
3. Lombard-Roux P, Eberhardt K, Saxne T, et al. Cytokines, metalloproteinases, their inhibitors and cartilage oligomeric matrix protein: relationship to radiological progression and inflammation in early rheumatoid arthritis. A prospective 5-year study. *British Society for Rheum.* 2001; 40:544-51.

4. Wollheim F A. Predictors of joint damage in rheumatoid arthritis. *APMIS*.1996;104:81-93.
5. Oldberg A, Antonsson P, Lindblom K, et al. COMP (cartilage oligomeric matrix protein) is structurally related to the thrombospondins. *J Biol Chem*.1992; 267:22346-50.
6. Dragomir A, Kraust V, Renner J, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein and clinical signs and symptoms of potential pré-radiographic hip and knee pathology. *Osteoarthritis and Cartilage*.2002;10:687-91.
7. Arnett F C, Edworthy S M, Bloch D A, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised-criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*.1998;31:315-24.
8. Hochberg Mc, Roland W, Dwosh I, et al. The American College of Rheumatology 1991 Revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*.1992;35:498-502.
9. AnaMar Medical TM. Göteborg: 2006. COMP Elisa R 14-106-71. Directions for use. Enzyme Immunoassay. (atualizado 2004 oct.): (p3-12) 2040/06. Disponível em: <http://www.anamar.com/Biomakers/cartilageMakers/COMPElisa/AnaMarBrux.pdf>
10. Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, et al. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*.2005;64:196-201.
11. Kroot EJJA, Jong BAW, van Leeuwen MA, et al. The prognostic value of the anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*.2000;43:1831-5.
12. Recklies AD, Baillargeon L, White C. Regulation of cartilage oligomeric matrix protein synthesis in human synovial cells and articular chondrocytes. *Arthritis Rheum*.1998;41:997-1006.

13. Mansson B, Carey D, Alini M, et al. Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis: Differences between rapid and slow progression of disease identified by serum markers of cartilage metabolism. *J Clin Invest.*1995;95:1071-7.
14. Forslind K, Eberhardt K, Jonsson A, et al. Increased serum concentrations of cartilage oligomeric matrix protein. A prognostic marker in early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol.*1992;31:593-8.
15. Steinbrocker O, Traeger CH, Batterman RC. Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA.*1949;140:659-62.
16. Wislowska M, Jablonska B. Serum cartilage oligometric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis and knee osteoarthritis. *Clin Rheum.*2004;24:278-84.
17. Skoumal M, Kolazar G, Klinger A. Serum levels of cartilage oligometric matrix protein: a predicting factor and a valuable parameter for disease management in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheum.*2003;32:156-61.
18. Momohara S, Yamanaka H, Holledge MM, et al. Cartilage oligometric matrix protein in serum and synovial fluid of rheumatoid arthritis: potential use as a marker for joint cartilage damage. *Mod Rheum.*2004;14:356-60.
19. Neidhart M, Hause N, Paulsson M, et al. Small fragments of cartilage oligomeric matrix protein in synovial fluid and serum as markers for cartilage degradation. *Br J Rheum.*1997;36:1151-60.