

Maria Raquel da Costa Pinto

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE  
INTERLEUCINA 33 E DO RECEPTOR SOLÚVEL ST2 E A  
PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM PACIENTES  
COM ARTRITE REUMATOIDE**

Universidade Federal de Minas Gerais  
Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto  
Belo Horizonte – MG

2014

Maria Raquel da Costa Pinto

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA  
33 E DO RECEPTOR SOLÚVEL ST2 E A PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE  
SUBCLÍNICA EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Saúde do Adulto (área de concentração em Ciências Clínicas).

Orientador: Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade  
Co-orientadora: Profa. Adriana Maria Kakehasi

Belo Horizonte  
2014

P659e Pinto, Maria Raquel da Costa.  
Estudo da associação entre os níveis sérios de interleucina 33 e do receptor solúvel ST2 e a presença de aterosclerose subclínica em pacientes com artrite reumatoide [manuscrito]. / Maria Raquel da Costa Pinto. -- Belo Horizonte: 2014.  
118f.: il.  
Orientador: Marcus Vinícius Melo de Andrade.  
Co-Orientador: Adriana Maria Kakehasi.  
Área de concentração: Saúde do Adulto.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.  
1. Artrite Reumatoide. 2. Aterosclerose. 3. Interleucinas. 4. Receptores de Interleucina. 5. Fatores de Risco. 6. Estudos Transversais. 7. Dissertações Acadêmicas. I. Andrade, Marcus Vinícius Melo de. II. Kakehasi, Adriana Maria. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WE 346



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA 33  
E DO RECEPTOR SOLÚVEL ST2 E A PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE  
SUBCLÍNICA EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE**

**MARIA RAQUEL DA COSTA PINTO**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS CLÍNICAS.

Aprovada em 24 de julho de 2014, pela banca constituída pelos membros:

*Marcus V Andrade*

Prof(a). Marcus Vinicius Melo de Andrade - Orientador  
UFMG

*Adriana Maria Kakehasi*

Prof(a). Adriana Maria Kakehasi  
UFMG

*Gilda Aparecida Ferreira*

Prof(a). Gilda Aparecida Ferreira  
UFMG

*Ivanio Alves Pereira*

Prof(a). Ivanio Alves Pereira  
UFSC / UNISUL

Belo Horizonte, 24 de julho de 2014.



## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA MARIA RAQUEL DA COSTA PINTO

Realizou-se, no dia 24 de julho de 2014, às 13:30 horas, Faculdade de Medicina da UFMG, Avenida Professor Alfredo Balena 190, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada "ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA 33 E DO RECEPTOR SOLÚVEL ST2 E A PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE", apresentada por MARIA RAQUEL DA COSTA PINTO, número de registro 2012656093, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Marcus Vinicius Melo de Andrade - Orientador (UFMG), Prof(a). Adriana Maria Kakehasi (UFMG), Prof(a). Gilda Aparecida Ferreira (UFMG), Prof(a). Ivanio Alves Pereira (UFSC / UNISUL).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
Belo Horizonte, 24 de julho de 2014.

Prof(a). Marcus Vinicius Melo de Andrade ( Doutor )

Prof(a). Adriana Maria Kakehasi ( Doutor )

Prof(a). Gilda Aparecida Ferreira ( Doutor )

Prof(a). Ivanio Alves Pereira ( Doutor )

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

### **Reitor**

Prof. Jaime Arturo Ramírez

### **Vice-Reitora**

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

### **Pró-Reitor de Pós- Graduação**

Prof. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

### **Pró-Reitora de Pesquisa**

Profa. Adelina Martha dos Reis

## **FACULDADE DE MEDICINA**

### **Diretor**

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

### **Vice-Diretor**

Prof. Humberto José Alves

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO**

### **Coordenadora**

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

### **Subcoordenador**

Prof. Paulo Caramelli

### **Colegiado**

#### **Representantes Docentes**

Profa. Tereza Cristina de Abreu Ferrari

Profa. Valéria Maria de Azeredo Passos

Profa. Gilda Aparecida Ferreira

Prof. Paulo Caramelli

Profa. Rosângela Teixeira

Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade

#### **Representante Discente**

Andréa de Lima Bastos

Ao meu amado Angelo

Aos meus queridos pais

À Mafalda e ao Manolo, pela companhia nas longas horas de trabalho e estudo

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Marcus Vinícius Melo Andrade, pela contribuição na minha formação.

À minha co-orientadora, Professora Adriana Maria Kakehasi, pela inestimável ajuda na condução e conclusão deste trabalho, pelos ensinamentos e pela amizade.

À Professora Cristina Costa Duarte Lanna, coordenadora do Serviço de Reumatologia, pelo apoio e pela valiosa participação na banca da qualificação.

Ao Professor Marcos Roberto de Sousa pelas contribuições e sugestões na banca de qualificação.

Ao Adriano José de Souza pela realização das ultrassonografias dos pacientes.

Ao Wilson Campos Tavares Júnior pela avaliação das radiografias dos pacientes.

À equipe do Laboratório de Fisiopatologia Cirúrgica pela participação na realização das dosagens das citocinas.

À acadêmica Monaliza Angela da Rocha pela participação na realização dos procedimentos clínicos e laboratoriais do protocolo do estudo.

Às acadêmicas Carla Oliveira Vinhal e Amanda Cristina de Carvalho Miranda pela ajuda na entrevista dos pacientes, nos procedimentos laboratoriais e na revisão dos prontuários.

À colega Fabiana de Miranda Moura pelo apoio e valiosa ajuda na coleta de sangue dos pacientes.

À equipe de preceptores e assistentes dos ambulatórios de artrite reumatoide, em especial à colega Débora Cerqueiro Calderaro, pelo apoio sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

À Neusa Beata e Vânia pela ajuda com as agendas e prontuários.

À Professora Gilda Aparecida Ferreira, pelo exemplo, amizade e constante incentivo.

Aos demais colegas do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas, em especial à Flávia Patrícia Santos, pelo apoio e pelos bons momentos de convivência.

Aos pacientes que doaram, além das amostras de sangue, tempo e paciência para que fosse possível a realização deste trabalho

Aos meus irmãos, sobrinhos, afilhados, demais familiares e amigos que souberam entender minhas ausências e que agora se alegram junto comigo

## RESUMO

### Introdução

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune crônica e sistêmica que cursa com poliartrite periférica, resultado de inflamação sinovial. Além de apresentar grande potencial para destruição articular, a AR também constitui um fator de risco independente para mortalidade precoce por doença cardiovascular (DCV). Tanto os fatores de risco tradicionais quanto a inflamação inerente à doença estão implicados na disfunção endotelial e nos eventos cardiovasculares presentes na AR. A interleucina 33 (IL-33) é uma citocina associada, em modelos animais, à amplificação da inflamação articular. Em pacientes com AR, foi descrito aumento dos seus níveis séricos, o que sugere que essa citocina tenha um potencial papel na fisiopatologia da doença. A participação dessa citocina em eventos cardiovasculares também vem sendo estudada e aparentemente ela exerce função protetora no desenvolvimento de aterosclerose.

### Objetivo

Verificar a associação dos níveis séricos da IL-33 e do seu receptor solúvel (sST2) com a presença de aterosclerose subclínica em carótidas, avaliada por ultrassonografia, em um grupo de pacientes com artrite reumatoide.

### Métodos

Estudo transversal observacional em pacientes com AR, sem DCV aterosclerótica manifesta. Os pacientes foram submetidos a avaliação clínica e laboratorial. Foi calculado o Escore de Risco Cardiovascular Global (Framingham) em 10 anos. Utilizou-se a ultrassonografia de alta resolução das artérias carótidas para avaliação da presença de placas ateroscleróticas e da espessura do complexo médio-intimal (EMI) na parede da carótida comum. Os níveis séricos de IL-33 e de sST2 foram medidos pelo método ELISA.

### Resultados

Cento e dois pacientes foram incluídos, 92,5% mulheres, com média ( $\pm$ DP) de idade de 55,5 ( $\pm$ 10) anos e de tempo de doença de 17,6 ( $\pm$ 9,5) anos. Oitenta e quatro (82,4%) pacientes apresentavam fator reumatoide e/ou anti-CCP positivos. As prevalências dos fatores de risco tradicionais para doença aterosclerótica coronariana (DAC) foram: 11,8% de tabagismo, 16,7% de diabetes, 17,6% de histórico familiar de DCV prematura, 52% de síndrome metabólica, 58,8% de hipertensão arterial, 63,7% de dislipidemia e 90% de obesidade central. A prevalência de placa em carótidas foi de 23,5% e a EMI mediana (IIq) foi de 0,7 (0,6 – 0,8) mm. A EMI da carótida comum e o tempo de doença foram associadas de maneira independente à presença de placa. Um aumento de 0,1 mm na EMI aumentou em 5,3 vezes a chance de presença de placa (IC95%: 2,88 – 983,37) e para cada ano a mais de tempo de doença houve um aumento de 6% de chance de ocorrência de placa (IC95%: 1,01 – 1,12). Idade, escore de risco cardiovascular e uso atual de metotrexato (MTX) foram os fatores independentes associados à medida da EMI. Observou-se que para o aumento de um ano na idade e de uma unidade no escore de risco cardiovascular houve um aumento de 0,004 mm e de 0,012 mm, respectivamente, na EMI (IC95%: 0 – 0,007 e 0,007 – 0,016). Por outro lado, o uso de MTX se associou à redução de 0,07 mm na EMI (IC95%: -0,117 – -0,013). Sessenta e oito (66,7%) pacientes apresentaram níveis séricos de IL-33 acima do limite mínimo de detecção, com valor mediano de 69,1 (31,6 – 114,5) pg/mL. O nível sérico mediano de sST2 foi de 469,8 (336,3 – 651) pg/mL. Não se encontrou associação entre os níveis séricos de IL-33 ou de sST2 e presença de placa ou EMI.

**Conclusões**

Neste grupo de pacientes com AR estabelecida os níveis séricos de IL-33 e do receptor solúvel ST2 não se associaram à aterosclerose subclínica, estimada pela medida da EMI e pesquisa de placa em carótidas. Fatores de risco tradicionais para doença aterosclerótica (idade e escore de risco cardiovascular) e tempo de doença foram associados à EMI e à presença de placa, enquanto o uso do MTX se relacionou a menor espessura do complexo médio-intimal.

## ABSTRACT

### Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic autoimmune disease, which comprises inflammation of the synovia, resulting in peripheral polyarthritis. Apart from presenting great potential for articular damage, RA is also an independent risk factor for early cardiovascular disease (CVD) and mortality. Traditional risk factors and also inflammation inherent to the disease are implicated in endothelial dysfunction and cardiovascular events in RA. Interleukin 33 (IL-33) is a cytokine related to amplification of the articular inflammation, in animal models. Elevated IL-33 serum levels have been described in RA patients, suggesting a possible participation of this cytokine in the physiopathology of the disease. The role of IL-33 in cardiovascular events is also under investigation and it seems that this cytokine has a protective effect in the development of atherosclerosis.

### Objective

To verify the association of the serum levels of IL-33 and its soluble receptor (sST2) with the presence of carotid subclinical atherosclerosis, evaluated by ultrasonography, in a group of RA patients.

### Methods

Cross-sectional observational study in RA patients, free from atherosclerotic CVD. The patients were submitted to clinical evaluation, physical exam and blood sample collection. The General Cardiovascular Risk Score (Framingham) was calculated. Carotid high-resolution ultrasonography evaluated the presence of atherosclerotic plaques and the intima-media thickness (IMT) of common carotid artery wall. IL-33 and sST2 serum levels were measured by ELISA.

### Results

102 patients were included, 92,5% women, with mean ( $\pm$ SD) age of 55,5 ( $\pm$ 10) years old and mean disease duration of 17,6 ( $\pm$ 9,5) years. Eighty-four (82,4%) patients had seropositive RA. The traditional cardiovascular risk factors prevalence were: 11,8% of smoking, 16,7% of diabetes, 17,6% history of premature CVD in first degree relatives, 52% of metabolic syndrome, 58,8% of hypertension, 63,7% of dyslipidaemia and 90% of central obesity. The prevalence of carotid plaque was 23,5% and the median of IMT was 0,7 (0,6 – 0,8) mm. Common carotid IMT and duration of RA were independent factors associated with the presence of plaque. An increase of 0,1 mm in IMT increased by 5,3 times the chance of plaque (CI95%: 2,88 – 983,37) and each additional year of RA duration increased by 6% the chance of plaque presence (IC95%: 1,01 – 1,12). Age, cardiovascular risk score and current methotrexate (MTX) use were independent factors associated with IMT. Each additional year of age and each additional unit in cardiovascular risk score increased by 0,003 mm and 0,012 mm, respectively the IMT (CI95%: 0 – 0,007 and 0,007 – 0,016). On the other hand, MTX use was associated with a reduction of 0,07 mm in IMT (CI95%: -0,117 – -0,013). Sixty-eight (66,7%) patients had IL-33 serum levels above the detection limit with a median value of 69,1 (31,6 – 114,5) pg/mL. The median sST2 serum level was 469,8 (336,3 – 651) pg/mL. There was not association between IL-33 or sST2 serum levels and presence of plaque or IMT.

### Conclusions

IL-33 and sST2 serum levels were not associated with subclinical atherosclerosis, estimated by IMT measurement and search of carotid plaques, in this group of established RA patients.

Traditional risk factors for atherosclerosis (age and cardiovascular risk score) and disease duration were associated with IMT and presence of plaque, while MTX was related to smaller intima-media thickness.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ACC: artéria carótida comum

AINE: anti-inflamatório não esteroide

AR: artrite reumatoide

c-HDL: colesterol HDL (high density lipoprotein)

c-LDL: colesterol LDL (low density lipoprotein)

CCP: peptídeo cíclico citrulinado (do inglês: cyclic citrullinated peptide)

CDAI: índice clínico de atividade da doença (do inglês: clinical disease activity index)

CIA: artrite induzida por colágeno (do inglês collagen induced arthritis)

CPEs: células progenitoras endoteliais

DAC: doença aterosclerótica coronariana

DAS28: escore de atividade da doença em 28 articulações (do inglês: disease activity score)

DCV: doença(s) cardiovascular(es)

DMCD: droga modificadora do curso da doença

DP: desvio padrão

ECV: evento(s) cardiovascular(es)

EMI: espessura do complexo médio-intimal

EVA: escala visual analógica

FS: fibroblasto(s) sinoviócito(s)

FR: fator reumatoide

HAQ-DI: health assessment questionnaire disability index

IC: intervalo de confiança

Iq: intervalo interquartil

IL: interleucina

IMC: índice de massa corporal

LS: líquido sinovial

MCP-1: monocyte chemotactic protein-1

MMP: metaloproteinase

NAD: número de articulações dolorosas ao exame físico

NAE: número de articulações edemaciadas ao exame físico

ON: óxido nítrico

OR: odds ratio

PAS: pressão arterial sistólica

PAD: pressão arterial diastólica

PCR: proteína C reativa

RCV: risco cardiovascular

RM: rigidez matinal

RNA: ácido ribonucleico (do inglês: ribonucleic acid)

RNAm: RNA mensageiro

SBC: Sociedade Brasileira de Cardiologia

TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$  (do inglês: tumor necrosis factor)

VHS: velocidade de hemossedimentação

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS</b> .....	<b>15</b>
1.1	ARTRITE REUMATOIDE .....	15
1.2	INTERLEUCINA-33 E SEU RECEPTOR ST2 .....	21
1.2.1	<i>IL-33/ST2 e Artrite Reumatoide</i> .....	22
1.2.2	<i>IL-33/ST2 e outras doenças reumáticas</i> .....	29
1.2.3	<i>IL-33/ST2 e doenças não reumáticas</i> .....	30
1.2.4	<i>IL-33/ST2 e Aterosclerose</i> .....	31
1.3	ARTRITE REUMATOIDE E ATEROSCLEROSE .....	32
1.3.1	<i>Artrite reumatoide, aterosclerose e ultrassonografia de artérias carótidas</i> .....	36
1.4	JUSTIFICATIVA .....	38
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>39</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	39
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	39
<b>3</b>	<b>ARTIGO: NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA 33 E DO SEU RECEPTOR SOLÚVEL ST2 NÃO ESTÃO RELACIONADOS À PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE</b> .....	<b>53</b>
3.1	INTRODUÇÃO .....	56
3.2	METODOLOGIA .....	59
3.2.1	<i>Pacientes</i> .....	59
3.2.2	<i>Métodos</i> .....	60
3.3	RESULTADOS .....	64
3.3.1	<i>Características clínicas e laboratoriais dos pacientes</i> .....	64
3.3.2	<i>Fatores associados à ocorrência de placas</i> .....	67
3.3.3	<i>Fatores associados à medida da espessura do complexo médio-intimal</i> .....	68
3.4	DISCUSSÃO .....	72
<b>4.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>85</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>86</b>
	APÊNDICE A: INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES DA AMOSTRA ESTUDADA .....	86
	APÊNDICE B: PROJETO DE PESQUISA .....	88
	APÊNDICE C: INSTRUMENTOS UTILIZADOS .....	99
	<i>Ficha de avaliação transversal</i> .....	99

<i>Ficha de revisão de prontuário</i> .....	102
<i>Health Assessment Questionnaire - disability index</i> .....	107
<i>Critérios diagnósticos de artrite reumatoide</i> .....	109
<i>Escalas visuais analógicas</i> .....	111
<i>Ficha de avaliação ultrassonográfica</i> .....	112
<i>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</i> .....	113
<i>Tabela com valores de referência para a espessura do complexo médio-intimal</i> .....	115
<b>ANEXOS</b> .....	<b>116</b>
ANEXO 1: CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA .....	116
ANEXO 2: ATA DA DEFESA .....	117
ANEXO 3: DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO .....	118

# 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

## 1.1 ARTRITE REUMATOIDE

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória sistêmica crônica de origem autoimune que tem a sinovite periférica como principal manifestação histopatológica, podendo evoluir com destruição articular e incapacidade funcional. Seus sinais e sintomas podem variar de queixas articulares como dor, rigidez, edema e prejuízo da função a queixas constitucionais como fadiga, limitações no trabalho e nas atividades cotidianas. As manifestações extra-articulares não são incomuns e incluem anemia, nódulos subcutâneos, ceratoconjuntivite seca, vasculite cutânea e fibrose pulmonar. Aproximadamente dois terços dos pacientes apresentam positividade para o fator reumatoide ou para o anticorpo contra o peptídeo cíclico citrulinado (anti-CCP).<sup>1,2</sup>

Esta doença acomete 0,5 a 1% da população, tem distribuição mundial e ocorre em ambos os sexos, com predominância feminina (duas a quatro mulheres para cada homem). Na população latino-americana, a prevalência é cerca de 0,5%.<sup>3</sup> Estudo multicêntrico brasileiro, em amostras populacionais das macrorregiões do país, encontrou prevalência de até 1% da população adulta.<sup>4</sup> Senna e colaboradores, em um estudo seccional de 3.038 pessoas residentes na cidade de Montes Claros, Minas Gerais, encontraram uma prevalência de 0,46% de AR.<sup>5</sup>

Pacientes com AR apresentam morbidade e mortalidade aumentadas em relação à população geral, sendo que um terço das pessoas acometidas não se encontrarão aptas para o trabalho após 10 anos de doença.<sup>8,9</sup> Nos Estados Unidos, na década de 1990, as taxas de incapacidade para o trabalho em diferentes grupos de pacientes com AR variavam entre 51 a 60%.<sup>11</sup> Por acometer pacientes em idade produtiva podendo determinar importante limitação na capacidade funcional e laboral, custos indiretos relacionados a esse contexto devem ser também incorporados às análises de farmacoeconomia.<sup>10</sup>

Estima-se que a sobrevivência dos pacientes esteja diminuída em uma década.<sup>8,12</sup> A doença representa risco aumentado para o desenvolvimento de doença cardiovascular, o que, em parte, é atribuído ao processo inflamatório sistêmico persistente.<sup>13</sup> De fato, além de ser uma condição com potencial para destruição articular, incapacidade funcional e redução da

qualidade de vida, a AR constitui um fator de risco independente para mortalidade precoce, associada ao maior risco de morte por doenças cardiovasculares (DCV).<sup>13</sup> Esse grupo de doenças pode ser considerado a principal causa de mortalidade na população com AR, totalizando aproximadamente metade das mortes observadas em coortes internacionais.<sup>14,15</sup>

A etiologia precisa da AR ainda não foi elucidada e sua fisiopatologia é multifatorial e complexa. Acredita-se que tanto componentes ambientais, como o tabagismo, quanto genéticos influenciam o seu desenvolvimento.<sup>16</sup> Trata-se de doença em que há, desde a fase inicial pré-articular, perda da auto-tolerância e consequente autoimunidade, traduzidas pela ativação linfocitária e produção de auto-anticorpos. Fatores neuroendócrinos, genéticos e ambientais determinam o aparecimento das manifestações articulares, fase caracterizada pelo desequilíbrio entre citocinas pró- e anti-inflamatórias e recrutamento articular de macrófagos, neutrófilos, células T, B e natural killers, além de ativação de fibroblastos, osteoclastos e condrócitos. Esse influxo celular é responsável por inflamação sinovial crônica, cujos mediadores principais são as citocinas interleucina (IL)-1, IL-17 e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), assim como prostaglandinas e metaloproteinases (MMPs). A destruição da cartilagem articular e a erosão óssea mediadas por fibroblastos, condrócitos e osteoclastos são os resultados histopatológicos de todo esse processo, traduzido clinicamente pela ocorrência das deformidades e incapacidade funcional.<sup>2</sup>

Ainda que sua causa seja desconhecida, a existência de agregação familiar indica o caráter hereditário da AR.<sup>3</sup> Da mesma forma que outras afecções autoimunes, do ponto de vista genético, esta é uma doença complexa, sua herança é poligênica e não segue um padrão mendeliano.<sup>17</sup> A concordância entre gêmeos monozigóticos é de 15 a 30% e em dizigóticos de 5%. Vários genes estão relacionados à AR, com evidências mais estabelecidas para a doença soropositiva.<sup>18</sup>

O principal predisponente genético é o antígeno leucocitário humano (HLA – do inglês human leukocyte antigen) DRB1. Seus alelos contêm uma sequência de cinco aminoácidos, QKRAA ou QQRAA ou KKRAA (Q - glutamina, K - lisina, R - arginina, A - alanina) na região 70-74, chamada epítipo compartilhado (em inglês shared epitope). Os produtos dos alelos HLA-DRB1 são também chamados de HLA-DR ou antígenos ou moléculas DR, por exemplo HLADR4 ou DR13. A prevalência de dois alelos susceptíveis em um único indivíduo confere maior susceptibilidade genética à AR, além de marcar pacientes com

doença de evolução grave. A presença dessa sequência de aminoácidos na AR parece relacionar-se à seleção de linfócitos T, apresentação antigênica, alteração da afinidade peptídica, mimica molecular com antígenos microbianos e aceleração da apoptose linfocitária. Os pacientes portadores do epítipo compartilhado HLA-DRB1 são aqueles em que o tabagismo parece determinar um risco maior de aparecimento da AR.<sup>2</sup> Em estudo realizado na Universidade Estadual de Campinas em pacientes com AR, observou-se que o antígeno HLA-DR1 foi o mais frequente, e a presença do HLA-DR4 esteve associada aos casos mais graves, com títulos de fator reumatoide mais elevados, maior número de erosões ósseas e pior grau na classificação funcional. Os HLA-DR1\*0101, HLA-DRB1\*0401 e \*0404 foram os subtipos observados após a tipagem genômica.<sup>19</sup> Outro estudo brasileiro com 412 pacientes e 215 controles também avaliou a genética relacionada à AR e encontrou associação entre os alelos HLA-DRB1\*0401, \*0404, \*0405 e DRB1\*0901 e a doença.<sup>20</sup>

Vários trabalhos confirmam que a contribuição dos genes HLA para variação genética e risco de desenvolver AR corresponde a cerca de um terço da susceptibilidade genética da doença<sup>3</sup>. Isso indica que além dos genes HLA, existe também a participação de um conjunto de múltiplos genes não HLA. Em realidade, vários genes, cada um com uma pequena contribuição, já foram associados ao risco de desenvolvimento de AR. Ainda assim, as descobertas genéticas correntes explicam apenas 16% da variância da doença, enquanto acredita-se que uma maior porcentagem do risco para AR soropositiva seja genético.<sup>18,21</sup> Dentre os vários diferentes genes não HLA relacionados à AR, o PTPN22 (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22) e o CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4) estão entre os mais importantes.<sup>2</sup> Ademais, vários polimorfismos de genes do sistema da matriz extra-celular foram identificados como fatores de risco. Exemplificando, em um estudo com pacientes brasileiros de ascendência europeia, diferenças significativas foram observadas no genótipo e nas frequências de alelos entre pacientes com AR e controles para o polimorfismo da MMP-3, que também esteve associado às manifestações extra-articulares.<sup>22</sup>

A epigenética define variações das expressões fenotípicas dos genes devido a modificações no DNA em consequência outra que não alteração em sua sequência. Diferentes mecanismos da epigenética, como metilação do DNA, e acetilação e desacetilação de histonas, são descritos em AR e seus resultados incluem aumento ou diminuição da transcrição genética. A membrana sinovial normal é composta principalmente por células chamadas sinoviócitos, que

são divididos em dois tipos: os que são semelhantes a macrófagos e os semelhantes a fibroblastos.<sup>23</sup> O papel dos sinoviócitos semelhantes a fibroblastos – ou fibroblastos sinoviócitos (FS) – na AR tem sido esclarecido, mostrando que essas células ocupam lugar de destaque na destruição cartilaginosa articular ao produzirem MMPs, quimiocinas e citocinas inflamatórias. Em parte, alterações epigenéticas (metilação do DNA) tornam os FS resistentes à apoptose e determinam aumento da expressão de MMP e IL-6.<sup>24</sup>

Como fatores desencadeantes do processo de doença postula-se que, em indivíduos geneticamente predispostos, a homeostasia imunológica seja rompida por fatores externos, levando à perda da auto-tolerância. De particular interesse, a relação entre tabagismo a artrite reumatoide tornou possível o reconhecimento de um fator de risco passível de intervenção.<sup>25</sup> Esse fator é importante não somente para o aparecimento da doença como também está relacionado à gravidade, com a concomitância de manifestação extra-articular e presença do fator reumatoide. A ação lesiva do tabagismo e outros agressores brônquicos seria responsável pela transformação de resíduos de arginina em citrulina, evento denominado citrulinização, mediada pela enzima peptidil arginina deaminase tipo IV (PAD4). Comportando-se como um neoepítipo, esse “novo” aminoácido dá origem, por perda de tolerância, a uma reação contra proteínas citrulinadas que pode ser identificada pela pesquisa de anticorpos anti-peptídeo citrulinado (anti-CCP). Diferentes aminoácidos citrulinados presentes em diferentes proteínas, como alfa enolase, fibrinogênio, colágeno, vimentina e fibronectina, podem ser detectados pelos ensaios anti-CCPs. O processo de citrulinização pode ocorrer em diferentes tipos de inflamação e muitos indivíduos passam então a apresentar anticorpos contra proteínas citrulinadas. Naqueles portadores do HLA-DRB1 há maior avidéz do anticorpo pelo neoepítipo, aumentando significativamente o risco de evolução para doença. Estes anticorpos estão presentes por anos antes do início de sintomas de AR, evidenciando que o fenômeno da autoimunidade precede a doença clínica.<sup>26</sup>

Microrganismos também têm sido implicados na etiopatogênese da AR, entre eles os vírus Epstein-Barr e parvovírus, o micoplasma, o *Mycobacterium* e as bactérias da microbiota intestinal. Há também evidências indicando que pacientes com AR apresentam maior incidência de doença periodontal. A infecção pela bactéria *Porphyromonas gingivalis*, que expressa a enzima PAD4, desencadearia uma resposta autoimune a partir da citrulinização de proteínas e isso explicaria a presença de anticorpos contra o peptídeo citrulinado e o desenvolvimento posterior da doença clínica nesses pacientes.<sup>2</sup>

O mecanismo da localização articular que se segue à perda de tolerância e autoimunidade sistêmica não está esclarecido. Seria de se imaginar que um antígeno articular pudesse explicar a resposta imunológica e conseqüente migração celular inflamatória para a membrana sinovial mas, apesar de inúmeros esforços, nenhum antígeno articular tem sido relacionado à AR.<sup>27</sup>

Não somente o sistema imune adaptativo mas também o inato está envolvido na patogênese da AR. As células do sistema inato podem ser ativadas via receptores de reconhecimento de padrão. Entre os vários receptores desse grupo estão os receptores Toll (Toll-like receptors) que podem ser estimulados por padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) como também por padrões moleculares associados ao dano endógeno (DAMPs). Sua estimulação, seja por seqüências proteicas bacterianas, ligantes virais ou fragmentos teciduais danificados ativa macrófagos que, entre outras ações, são responsáveis pela produção de TNF $\alpha$ , interleucinas (IL-1, -6, -12, -15, -18 e -23), apresentação de antígenos e fagocitose.<sup>2</sup>

Outro mecanismo envolvido na AR e que se segue à ativação linfocitária nos órgãos linfoides é a presença de linfócitos T nas articulações. O complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de classe II (HLA) nas células apresentadoras, por meio de processamento de peptídeos, ativa células T CD4+. Os linfócitos T continuariam a responder aos antígenos próprios, perpetuando o processo inflamatório, mesmo sem a persistência da exposição. As citocinas IL-6, IL-21, IL-23, IL-1 $\beta$  e TGF $\beta$  produzidos pelos macrófagos estimulam a diferenciação do linfócito Th17. Este, por sua vez, produz IL-17, IL-21, IL-22 e TNF $\alpha$ . IL-17 e TNF $\alpha$  agem sinergicamente para ativar fibroblastos e condrócitos ao mesmo tempo em que inibem a diferenciação dos linfócitos reguladores. Ativados, os linfócitos estimulam os monócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais a produzirem mais citocinas, como IL-1, IL-6 e TNF $\alpha$ , fundamentais no processo de inflamação da AR, além de MMPs. Assim, citocinas ativam outras citocinas e outras células, criando uma rede de citocinas pró-inflamatórias.<sup>2</sup>

Além dos linfócitos T, estudos demonstram a importância dos linfócitos B na AR. Esses linfócitos estão presentes nos infiltrados inflamatórios sinoviais e nos centros germinais. Os linfócitos T CD4 estimulam células B a produzir imunoglobulinas, incluindo o fator reumatoide (FR), que corresponde a auto-anticorpos que têm a fração cristalizável (Fc) da molécula de IgG como seu antígeno. O FR promove a ativação do complemento por meio da formação de imunocomplexos mas, seu papel específico na AR não está ainda totalmente

esclarecido. O FR pode ser de qualquer classe de imunoglobulina (IgM, IgG ou IgA), mas a sua maioria é da classe M, sendo que os testes comumente empregados na rotina laboratorial detectam apenas essa classe. Títulos mais elevados de FR têm sido relacionados a doença mais grave.<sup>2</sup>

Os comprometimentos articular e periarticular têm início com alterações observadas na membrana sinovial. A sinovite, ao microscópio, pode ser caracterizada por uma fase de exsudação, uma de infiltração celular e, finalmente, pela formação de um tecido de granulação. Na fase de exsudação, a congestão e o edema são mais acentuados na superfície interna da membrana sinovial, particularmente próximo às bordas da cartilagem articular, havendo formação de derrame no espaço articular. Na fase de infiltração, a célula mais abundante é o linfócito T, com predominância de auxiliares/indutores (células CD4). A fase crônica é caracterizada por uma membrana sinovial hiperplasiada, com a formação de um tecido de granulação que recobre a cartilagem e o osso subcondral (pannus). O pannus é um tecido invasivo composto por células que produzem grandes quantidades de enzimas destrutivas que progressivamente substitui a cartilagem hialina. O novo tecido apresenta uma rica formação vascular, que é fundamental para o desenvolvimento e a manutenção da fase crônica. O tecido conjuntivo recém-formado tem capacidade de maturação pluripotencial e pode apresentar metaplasia em tecido sinovial, cartilaginoso hialino, fibroso ou ósseo. O resultado final é a anquilose fibrosa ou óssea.<sup>2</sup>

Os avanços no conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos na AR levaram ao desenvolvimento de terapias efetivas para o seu controle. O benefício do uso dos medicamentos biológicos, que agem pelo bloqueio de citocinas ou de seus receptores, ou ainda atuando nos linfócitos B e T, alterou de modo expressivo o manejo da doença. Ainda assim, a despeito das opções terapêuticas disponíveis, existem necessidades não atendidas no tratamento da doença, principalmente se levarmos em conta que parcela significativa das pessoas acometidas não alcançam remissão ou nem mesmo resposta parcial satisfatória.

O entendimento preciso da diversidade e complexidade dos mecanismos etiopatogênicos reguladores, bem como a elucidação das particularidades individuais na AR oferecem oportunidades de identificação de marcadores biológicos de comportamento patológico, ao mesmo tempo que fornece perspectivas futuras para intervenção sobre alvo específico,

poupando funções fisiológicas. Existem ainda muitas lacunas no conhecimento sobre esses mecanismos, permitindo que sejam abertas novas e diversas linhas de investigação.

## **1.2 INTERLEUCINA-33 E SEU RECEPTOR ST2**

A poliartrite periférica, característica clínica principal da AR, é o resultado da inflamação sinovial. Um infiltrado composto por um grande número de células do sistema imune inato e adaptativo invade a membrana sinovial, levando ao aumento das camadas celulares, neovascularização e formação de folículos e centros germinativos. Ocorre hiperplasia de fibroblastos sinoviócitos (FS) que se tornam componentes do pannus reumatoide, mediando a inflamação e a destruição articular.<sup>28</sup> Os FS são células mesenquimais com características distintas de outras linhagens de fibroblastos.<sup>29</sup> Nas articulações sinoviais não inflamadas, essas células asseguram a integridade estrutural e funcional da membrana, controlando a composição do fluido sinovial e da matriz extracelular. Na AR, essas células são as principais produtoras locais de interleucina 6 (IL-6) e potenciais produtoras de interleucina 33 (IL-33).<sup>29,30</sup>

A IL-33 é um membro da família da IL-1, que inclui IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-18, descrito pela primeira vez por Schmitz e colaboradores em 2005.<sup>31</sup> Da mesma forma que essas outras citocinas, considera-se que a IL-33 desempenhe funções de modulação da resposta imunológica. Entretanto, de forma diferente da IL-1 $\beta$  e da IL-18, que promovem principalmente respostas associadas aos linfócitos T helper dos tipos 1 e 17 (Th1/Th17), a IL-33 predominantemente induz a produção de citocinas pelos linfócitos T helper do tipo 2 (Th2), como IL-5 e IL-13.<sup>31</sup>

A IL-33 é um ligante para o receptor ST2, um membro da superfamília IL1R/TLR. O gene do ST2 codifica três isoformas da proteína ST2 em humanos: ST2L, uma forma transmembrana; ST2 solúvel (sST2), uma forma secretada e a forma expressa principalmente nos órgãos gastrintestinais, ST2V. Enquanto o ST2L promove a ação da IL-33 nos processos inflamatórios dependentes de Th2, o sST2 age como um receptor chamariz, ou seja, funciona como um inibidor da interação do ST2L com a IL-33. Os níveis de sST2 estão aumentados em várias condições inflamatórias – como asma, infarto agudo do miocárdio e sepse – e já foram

relacionados com a atenuação da resposta inflamatória induzida por Th2, atuando provavelmente pelo sequestro de IL-33.<sup>31</sup>

Em humanos, o RNA mensageiro (RNAm) da IL-33 foi encontrado inicialmente de forma predominante na pele e em tecidos do pulmão (fibroblastos da derme, células epiteliais de pequenas vias aéreas e células da musculatura lisa brônquica).<sup>31</sup> Posteriormente, a expressão do RNAm da IL-33 foi descrita em adipócitos,<sup>32</sup> fibroblastos sinoviais<sup>33</sup> e em células endoteliais.<sup>34</sup> A origem da IL-33 in vivo não está totalmente esclarecida, mas parece que as células endoteliais, como as da membrana sinovial, constituem fonte importante, assim como os macrófagos e fibroblastos.<sup>33-36</sup> A IL-33 é produzida no meio intracelular como pró-IL-33 e, após sofrer clivagem, é secretada no meio extracelular como IL-33 madura.<sup>37</sup> Sua forma ativa é liberada como resultado de necrose celular e funciona como um gatilho inflamatório, agindo portanto como um sinal endógeno de perigo.<sup>38,39</sup> Adicionalmente a esse mecanismo de liberação por células lesionadas, um mecanismo alternativo de clivagem da forma inativa pela caspase-1 para sua forma ativa foi descrito in vitro, mas a evidência disponível é conflituosa<sup>40</sup>, pois a relevância desta enzima in vivo é discutível.<sup>41</sup>

A sinalização IL-33/ST2 age como um sistema intracelular que participa da resposta antígeno-alérgico, da autoimunidade e dos processos de fibrose.<sup>42</sup> As funções ou efeitos da IL-33 se fazem presentes em diversos tipos celulares e motivaram estudos sobre a sua participação e de seu receptor em diferentes condições clínicas, reumáticas e não reumáticas.

### **1.2.1 IL-33/ST2 e Artrite Reumatoide**

Existem fortes evidências vindas de estudos em animais e humanos de que a IL-33 está envolvida na patogênese da AR.<sup>31,43,44</sup> Sabendo-se que pode ser produzida por FS, já se demonstrou in vitro e na membrana sinovial reumatoide in vivo que a IL-33, agindo por meio da ligação ao receptor ST2, participa da ativação de macrófagos, atua sobre a migração de neutrófilos e promove a degranulação de mastócitos mediada por autoanticorpos,<sup>31,45,46</sup> podendo amplificar a inflamação articular.<sup>47</sup> Demonstrou-se também a presença do receptor ST2 em FS e que a ligação da IL-33 a este receptor deflagra a ativação das vias intracelulares de sinalização – vias MAP cinases p38, ERK e JNK. Isso leva à produção de MMPs e

citocinas pelos FS ativados, podendo constituir um importante mecanismo fisiopatológico na AR.<sup>41,47</sup>

O primeiro estudo a avaliar a associação da IL-33 com processo inflamatório articular em modelos animais de artrite foi o de Xu e colaboradores.<sup>35</sup> Esses autores demonstraram que a IL-33 aumentou a resposta inflamatória no modelo de CIA (do inglês collagen induced arthritis). Os mecanismos propostos para essa indução de inflamação articular foram: ativação dos mastócitos com consequente aumento da secreção das citocinas inflamatórias IL-6 e IL-1 $\beta$  e estímulo às células T CD4+, o que levaria à produção de IL-5 e IL-13. Este último mecanismo aumentaria a ativação dos linfócitos B e a produção de imunoglobulinas, agravando a inflamação articular, estimulando a degranulação de mastócitos e a formação de complexos imunes com colágeno.

Verri e colaboradores demonstraram no modelo experimental de artrite induzida pela albumina bovina metilada que a IL-33 é um potente atrativo químico para neutrófilos, promovendo seu recrutamento para o sítio articular.<sup>47</sup> A IL-33 foi produzida principalmente por FS e macrófagos. Embora a natureza exata da indução da síntese de IL-33 por essas células seja ainda desconhecida, ela provavelmente envolve o efeito de citocinas inflamatórias produzidas pelas células T e por macrófagos após o desafio com antígeno específico.

Palmer e colaboradores detectaram a expressão de IL-33 em amostras de tecido sinovial humano, em cultura de FS de pacientes com AR e em culturas de FS de camundongos com CIA.<sup>48</sup> A IL-33 também foi encontrada em células endoteliais do tecido sinovial normal e inflamado. FS de pacientes com AR expressaram constitutivamente níveis baixos dessa citocina que aumentaram, assim como a expressão do seu RNAm, após o tratamento com IL-1 $\beta$  ou TNF- $\alpha$ . A conclusão foi que a IL-33 é produzida localmente nos tecidos inflamados e que a sua neutralização pode exercer efeitos terapêuticos na AR, pois no modelo animal de CIA, a administração de um anticorpo bloqueador do ST2L atenuou a gravidade da artrite e reduziu a destruição articular, associando-se à diminuição na produção de interferon- $\gamma$ , bem como com uma redução na produção de IL-17. Esses resultados são mais uma indicação de que a IL-33 é produzida localmente em articulações inflamadas e que a neutralização de sua ação tem um efeito de melhora do curso da artrite.<sup>48,49</sup>

Kunisch e colaboradores conduziram um estudo com FS de pacientes com AR para analisar

os efeitos da IL-33 na síntese dos mediadores pró-inflamatórios IL-6, IL-8, MCP-1 e das MMP-1 e MMP-3, induzida por TNF- $\alpha$ .<sup>30</sup> Foi demonstrado que o TNF $\alpha$  induziu nos FS a expressão do RNAm da IL-33 e a síntese de proteínas, mediadas pela via de sinalização MAP cinase p38. A expressão da IL-33 aumentou a produção de IL-6, IL-8 e MMP-3 induzida por TNF $\alpha$ . De forma contrária, a inibição da IL-33 reduziu a síntese de IL-33, IL-6, IL-8 e MCP-1. Os autores identificaram a IL-33 como um agente de regulação e ampliação das ações dos FS induzidas pelo TNF- $\alpha$ , destacando o papel central dessa citocina na perpetuação dos processos inflamatórios e destrutivos na AR. A Figura 1 sintetiza os mecanismos propostos para a participação da IL-33 na inflamação articular da AR.

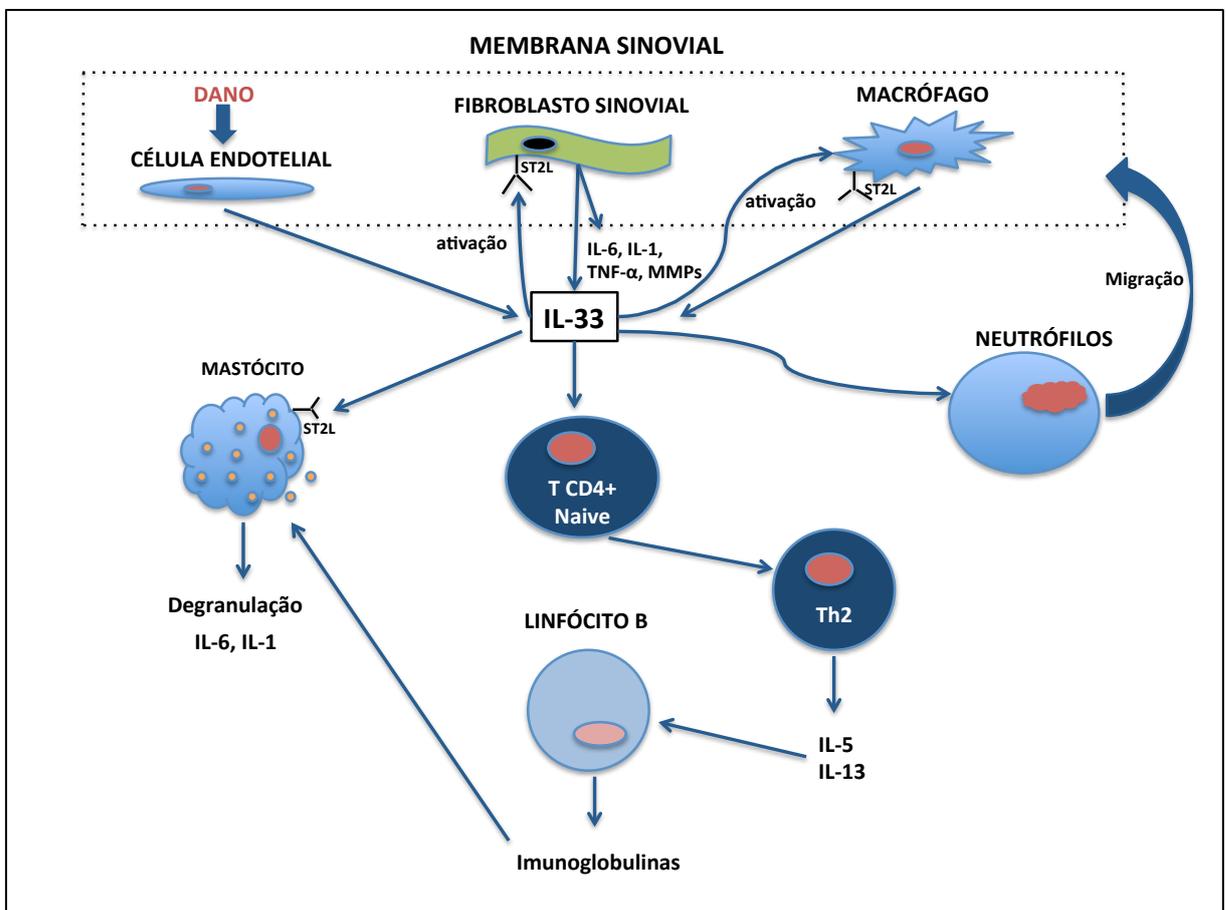


FIGURA 1: Mecanismos da participação da IL-33 na inflamação articular da AR. Os fibroblastos sinoviais (FS) são os principais produtores locais de IL-6 e de IL-33. As células endoteliais da membrana sinovial e macrófagos também são fontes de IL-33. Sua forma bioativa também é liberada como resultado de dano celular. A IL-33, por meio da ligação ao receptor ST2, promove a ativação de macrófagos, a migração de neutrófilos para o sítio articular, a produção de MMPs e citocinas por FS ativados. Promove estímulo às células T CD4+ naive para diferenciação em Th2, o que leva à produção de IL-5 e IL-13. Este último mecanismo aumenta a ativação dos linfócitos B e a produção de imunoglobulinas. Em relação os mastócitos, promove a degranulação mediada por autoanticorpos e sua ativação com consequente aumento da secreção das citocinas inflamatórias IL-6 e IL-1 $\beta$ .

O primeiro estudo a identificar níveis elevados de IL-33 no soro e no líquido sinovial (LS) de pacientes com AR foi o de Matsuyama e colaboradores, que comparou-os a pacientes com doenças infecciosas e com indivíduos saudáveis.<sup>50</sup> Nos pacientes com AR, os níveis séricos de IL-33 correlacionaram-se positivamente com a atividade inflamatória medida pelo escore de atividade da doença em 28 articulações (DAS28). O número de articulações dolorosas e edemaciadas foi maior no grupo em que se detectou IL-33, enquanto os níveis de proteína C reativa (PCR), IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  não diferiram entre os grupos. Os níveis séricos de IL-33 foram mais altos nos pacientes com AR, especialmente no grupo com atividade inflamatória elevada da doença. A IL-33 foi detectada em todas as amostras de LS dos pacientes que foram submetidos a artrocentese. Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisadores conduziu novo estudo em que se avaliou a IL-33 sérica de pacientes com AR, após 3 meses de tratamento com droga anti-TNF $\alpha$ .<sup>51</sup> Houve diminuição dos níveis naqueles que responderam bem ao tratamento e não houve alteração nos não-respondedores. No LS de 6 pacientes, a IL-33 manteve-se alta em 3 refratários ao anti-TNF $\alpha$ , discretamente elevada em 2 respondedores moderados e indetectável em 1 paciente em remissão. Já no LS de 17 pacientes que não haviam recebido a droga, houve correlação dos níveis da IL-33 com os da citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$ .

Outras pesquisas com dosagens de IL-33 e sST2 no soro e no LS de pacientes com AR vêm sendo realizadas. Além dos de Matsuyama e colaboradores, outros seis estudos, mostrados na Tabela 1, foram publicados até o momento.

Mu e colaboradores encontraram maior porcentagem de detecção de IL-33, além de níveis mais elevados, no soro de pacientes com AR em relação aos controles.<sup>52</sup> Houve correlação positiva da dosagem sérica com os níveis de anti-CCP e FR. Da mesma maneira que ocorreu no trabalho de Matsuyama e colaboradores,<sup>51</sup> após o tratamento com agente anti-TNF $\alpha$ , houve queda dos níveis séricos da citocina. Talbot-Ayer e colaboradores confirmaram que os níveis séricos e no LS da IL-33 dos pacientes com AR eram mais altos do que os dos controles com osteoartrite.<sup>53</sup> A IL-33 não foi detectada nem no soro e nem no LS de pacientes com artrite psoriásica. Entretanto, devido ao pequeno número de pacientes incluídos, apenas 11, não se pode concluir sobre a aparente especificidade da IL-33 para AR.<sup>54</sup>





Em outro estudo com 24 pacientes, observou-se redução dos níveis de IL-33 após 3 e 6 meses do início do tratamento com etanercepte, uma droga anti-TNF $\alpha$ .<sup>55</sup> A IL-33 correlacionou-se positivamente com número de articulações dolorosas, PCR, DAS28, contagem global de leucócitos e inversamente com contagem de hemácias e nível de hemoglobina. Em 81 pacientes coreanos com AR, também foram encontrados níveis de IL-33 no soro e no LS mais elevados quando comparados aos níveis de indivíduos saudáveis e com osteoartrite.<sup>43</sup> Houve correlação entre os níveis séricos de IL-33 e os de IL-1 $\beta$  e IL-6. As concentrações séricas de sST2 também foram mais altas nos pacientes com AR quando comparados aos controles saudáveis. Os níveis de sST2 e IL-33 diminuíram junto com a PCR após a introdução de imunossupressores nos pacientes virgens de tratamento.

Xiangyang e colaboradores analisaram os níveis de IL-33 no soro de pacientes com AR e investigaram a importância fisiopatológica dessa citocina.<sup>56</sup> Os níveis foram mais elevados em pacientes com AR do que em controles saudáveis e correlacionaram-se positivamente com níveis de MMP-3, positividade para anticorpos contra proteínas citrulinadas e com o fator reumatoide. Houve também uma forte correlação com a pontuação do escore de Sharp / Van der Heijde modificado de dano radiográfico, mas não se constatou correlação com outros parâmetros de inflamação, como velocidade de hemossedimentação (VHS), PCR e DAS28. Também foi demonstrado que o nível sérico de IL-33 encontrava-se mais aumentado nos pacientes com pneumopatia intersticial em comparação com pacientes sem acometimento pulmonar, sugerindo que a IL-33 pode estar associada à doença pulmonar intersticial da AR.

Mais recentemente, Tang e colaboradores, em estudo com 120 pacientes com AR, também encontraram níveis de IL-33 sérica mais elevados nos pacientes em relação aos controles com osteoartrite.<sup>57</sup> Houve correlação positiva com os valores de DAS28, VHS, FR e imunoglobulinas. Os valores da IL-33 do soro correlacionaram-se com os do LS. O sST2 foi detectado no soro de 24,1% dos pacientes com AR e em nenhum com osteoartrite. Não se observou correlação dos valores do sST2 com os de IL-33 no soro ou no LS.

Os estudos com pacientes confirmam a relação da IL-33 com a AR, pela demonstração de que os níveis séricos e no LS foram significativamente mais altos nos pacientes com a doença do que nos controles.<sup>43,50,52,53,56,57</sup> Também foi encontrada uma significativa correlação entre os níveis de IL-33 e marcadores de inflamação, como IL-1 $\beta$ , IL-6, PCR, DAS28, e os anticorpos FR e anti-CCP.<sup>43,50-52,55-57</sup> Por fim, o tratamento com drogas antirreumáticas, reduziu os níveis

séricos da IL-33.<sup>43,51,52,55,58</sup> Esses dados despertam grande interesse quanto à utilização da IL-33 como um marcador de atividade inflamatória, resposta ao tratamento e prognóstico na AR. Em conjunto, os estudos em modelos animais, células humanas e pacientes sugerem que, além de estar envolvida na patogênese da AR, a IL-33 pode refletir o grau de inflamação dos pacientes e pode ser um bom biomarcador da doença, além de constituir um potencial alvo terapêutico. Entretanto, mais pesquisas ainda são necessários para o esclarecimento do seu exato papel na AR.

### **1.2.2 IL-33/ST2 e outras doenças reumáticas**

O binômio IL-33/ST2 tem sido investigado em diversas doenças reumáticas. Em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES), foram encontrados níveis séricos de sST2 maiores em comparação ao dos controles saudáveis e houve correlação positiva com a atividade da doença pelo índice SLEDAI e com os níveis séricos do anticorpo anti-DNA. Os pacientes apresentaram correlação inversa entre sST2 e níveis de complemento sérico C3, sugerindo que o sST2 pode constituir um marcador de atividade da doença. O nível sérico de IL-33 foi comparável ao de controles sadios e não mostrou correlação com níveis de sST2, atividade do LES ou acometimento de órgãos específicos.<sup>59</sup>

Na espondilite anquilosante, um estudo encontrou níveis séricos de IL-33 e sST2 significativamente maiores nos pacientes em comparação aos controles. Ao contrário do que ocorreu em pacientes com LES, o receptor sST2 não se correlacionou com atividade da doença.<sup>60</sup>

Terras e colaboradores encontraram níveis séricos elevados de IL-33 em pacientes com esclerose sistêmica em comparação a controles sadios.<sup>61</sup> Nesses pacientes, a IL-33 se associou a doença precoce e ao acometimento microvascular. Os autores acreditam que futuramente a IL-33 poderá auxiliar na predição do surgimento de úlceras digitais recorrentes.

A IL-33 e o seu receptor também têm sido relacionados às vasculites sistêmicas. Em pacientes com doença de Behçet, os níveis séricos de IL-33 foram superiores nos pacientes com doença ativa em comparação com controles saudáveis ou com aqueles com doença inativa.<sup>62</sup> Ciccia e colaboradores identificaram níveis significativamente maiores de IL-33 e sST2 nas artérias inflamadas de pacientes com arterite de células gigantes.<sup>63</sup> Além disso, as artérias dos

pacientes tratados com glicocorticoides apresentaram uma menor expressão da citocina. Foi interessante notar que a expressão aumentada de IL-33 não esteve relacionada a um aumento concomitante das citocinas do grupo Th2, sugerindo que a IL-33 poderia agir precocemente na doença promovendo a inflamação arterial, além de modular a resposta imune inata via regulação da ação de macrófagos. Avaliando pacientes com púrpura de Henoch-Schönlein, Chen e colaboradores demonstraram que os níveis séricos de IL-33, mas não de sST2, estavam elevados na fase aguda da doença voltando aos níveis normais na fase de convalescença.<sup>64</sup> Nessa análise, os níveis séricos da citocina estavam correlacionados com a gravidade da doença e com as concentrações séricas do anticorpo anti-endotélio do tipo IgA e do anticorpo anticardiolipina IgA.

### **1.2.3 IL-33/ST2 e doenças não reumáticas**

Nos processos infecciosos, a IL-33 promove maior expressão dos receptores de superfície ligantes de citocinas do tipo de CXCR2, os quais se associam à migração de neutrófilos para o sítio infeccioso e à eliminação bacteriana. Demonstrou-se que pacientes que não se recuperaram de um evento séptico expressaram significativamente menos CXCR2 do que aqueles que se curaram. Além disso, indivíduos sépticos não sobreviventes apresentaram concentrações séricas mais elevadas de sST2 em comparação com os sobreviventes. Sabendo-se que sST2 é um receptor inibidor da IL-33, esses achados sugerem que a IL-33 se associe a um resultado favorável na sepse clínica.<sup>65,66</sup>

Níveis séricos de sST2 estão aumentados em pacientes com exacerbação aguda de asma e pacientes com asma crônica têm concentrações pulmonares elevadas de IL-33.<sup>19</sup>

A participação da IL-33 e do seu receptor ST2 já foi descrita em diversas outras doenças de etiopatogênias distintas, como infecções por parasitos intestinais, por protozoários (*Leishmania major*, *Toxoplasma gondii*), por *Pseudomonas aeruginosa*, por vírus (respiratório sincicial, influenza, imunodeficiência humana, hepatites B e C), na doença de Alzheimer, na insuficiência renal crônica, na pancreatite aguda e em alguns tipos de neoplasias.<sup>42,65</sup>

#### 1.2.4 IL-33/ST2 e Aterosclerose

Além de participar dos mecanismos fisiopatológicos da AR, a sinalização IL-33/ST2 parece também desempenhar um papel no processo de aterosclerose.<sup>67</sup> A IL-33 e o receptor ST2 são expressos nas células endoteliais venosas humanas e no endotélio arterial coronariano.<sup>68,69</sup> Miller e colaboradores demonstraram que a administração de IL-33 para camundongos deficientes de apolipoproteína E (ApoE<sup>-/-</sup>) – que expressam IL-33 e receptor ST2 na aorta torácica e desenvolvem espontaneamente aterosclerose semelhante à humana – induziu a produção de citocinas Th2 e de anticorpos anti-LDL oxidada o que desempenharia papel protetor contra aterosclerose. Isso reduziu de forma significativa o desenvolvimento de placas ateroscleróticas no seio aórtico dos animais. De modo contrário, os camundongos tratados com sST2 desenvolveram placas ateroscleróticas significativamente maiores. Os resultados indicaram uma participação da relação IL-33/sST2 no controle do balanço Th1/Th2 e na geração de auto-anticorpos protetores na aterosclerose.<sup>68</sup>

Por outro lado, foi demonstrado que nas células endoteliais humanas a IL-33 induz a ativação inflamatória evidenciada pelo aumento da permeabilidade vascular, da produção de citocinas inflamatórias e da estimulação da angiogênese.<sup>69</sup> Demyanets e colaboradores demonstraram pela primeira vez que a IL-33 está presente nas áreas de lesões ateroscleróticas humanas onde estimula a expressão das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1, E-selectina e da quimiocina MCP-1.<sup>70</sup> Dado o fato de que a expressão dessas moléculas em lesões ateroscleróticas tem sido relatada como aumentada durante a aterogênese e que isso parece estar diretamente associado com a progressão da placa<sup>71</sup>, os pesquisadores inferiram que a IL-33 pode contribuir com os eventos precoces de disfunção endotelial do desenvolvimento de lesões ateroscleróticas na parede vascular.<sup>70</sup> Os autores argumentam que a utilização de camundongos com aterosclerose de início recente e a ausência de estudo da carotídea nos experimentos de Miller e colaboradores<sup>68</sup> poderiam explicar os resultados conflitantes.<sup>70</sup> Além disso, a ação da via Th2 no desenvolvimento aterosclerótico depende do estágio e local da lesão, assim como do modelo experimental adotado.

Entretanto, outros estudos confirmam um papel protetor para o complexo IL-33/ST2 na aterosclerose, obesidade e na remodelação cardíaca em humanos. A IL-33 e o seu receptor sST2 parecem desempenhar um papel favorável na evolução da aterogênese, além de proteger o coração contra a ação de forças deletérias responsáveis pela distensão, hipertrofia e fibrose

muscular.<sup>72</sup> Em humanos, essa citocina reduz a apoptose dos cardiomiócitos, melhorando a função ventricular através de supressão da atividade da caspase-3 e do aumento da expressão de proteínas inibidoras da apoptose. Níveis séricos elevados de sST2 medidos imediatamente após o infarto agudo do miocárdio se correlacionaram diretamente com os níveis séricos de creatinofosfoquinase e inversamente com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Os níveis de sST2 foram superiores nos pacientes que evoluíram para óbito ou que desenvolveram insuficiência cardíaca congestiva. De forma complementar, um ensaio clínico que avaliou pacientes nas primeiras 12 horas após síndrome coronariana aguda com elevação do segmento ST demonstrou que nível aumentado de sST2 na avaliação inicial foi preditor de insuficiência cardíaca.<sup>67</sup>

Conclui-se que o melhor esclarecimento do papel da IL33 e da sua interação com o sST2 nos mecanismos da aterogênese e doença cardiovascular constitui um campo amplo para pesquisas.

### **1.3 ARTRITE REUMATOIDE E ATEROSCLEROSE**

A AR, além de ser uma condição com potencial para destruição articular, incapacidade funcional e redução da qualidade de vida, constitui fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs) e mortalidade precoce.<sup>13</sup> A mortalidade cardiovascular na AR aumenta em proporção com a duração da doença e as DCVs constituem a principal causa de mortalidade dos pacientes, levando a aproximadamente metade dos óbitos observados.<sup>14,15,73</sup> Está bem estabelecido que a AR representa um aumento de risco para DCV de aproximadamente duas a três vezes, quando se comparam os pacientes a indivíduos sem doenças inflamatórias, mesmo após correção para fatores de risco tradicionais para doença aterosclerótica coronariana (DAC).<sup>74-76</sup>

Um grande estudo retrospectivo, usando o banco de dados “UK General Practice Database”, revelou que pacientes com AR tem um risco de eventos cardiovasculares 30-60% mais alto em relação aos pacientes com osteoartrite ou aos indivíduos sem doença articular inflamatória.<sup>77</sup> Em uma coorte populacional incidente de pacientes com AR acompanhados por aproximadamente 15 anos, houve aumento significativo no risco de mortalidade geral, morte por DCV, cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca em comparação aos

controles.<sup>76</sup> Em outra coorte formada apenas por mulheres, aquelas com história de AR por mais de 10 anos apresentaram um risco três vezes mais alto de infarto do miocárdio quando comparadas àquelas sem a doença.<sup>74</sup> Um estudo de Ajeganova e colaboradores examinou o efeito de fatores específicos da AR inicial no risco cardiovascular (RCV), estratificando o grupo de pacientes por idade ao início da doença.<sup>78</sup> Dentre os 741 pacientes incluídos, os investigadores observaram 177 eventos cardiovasculares (ECV) e 151 mortes, das quais 50% foram relacionadas a DCV, ocorridos durante um período de observação média de 13 anos. Dentre os pacientes com aparecimento da AR antes dos 65 anos, a taxa de incidência de ECV foi 1,0 por 100 pessoas/ano e a mortalidade por qualquer causa foi 0,8 por 100 pessoas/ano. Para os pacientes com início da AR a partir dos 65 anos, essas taxas foram respectivamente de 5,6 e 4,2 por 100 pessoas/ano. Esses achados foram consistentes com observações prévias<sup>76</sup> que confirmam que a idade é um determinante central de DCV tanto em indivíduos com AR quanto naqueles sem a doença.<sup>78</sup>

O padrão de DCV na população com AR apresenta características peculiares, uma vez que parece ocorrer cardiopatia isquêmica silenciosa e morte súbita mais frequentemente do que nos pacientes sem doenças inflamatórias.<sup>79</sup> De maneira significativa, os ECV ocorrem aproximadamente uma década mais cedo nos pacientes com AR,<sup>80</sup> sugerindo que, de maneira similar ao diabetes mellitus, essa doença é um fator independente de risco para infarto do miocárdio e cardiopatia isquêmica precoce.<sup>81</sup> Da mesma forma que em outros grupos de pacientes com taxas elevadas de DCV, a maior causa subjacente da elevação do risco é a progressão acelerada de aterosclerose.<sup>82</sup> A causa da aterosclerose precoce e acelerada não está completamente elucidada, mas é provável que a combinação de fatores de risco tradicionais para DAC e não tradicionais – mais precisamente os mecanismos específicos da AR, como a inflamação sistêmica, a desregulação imune e a imuno-senescência precoce – sejam importantes para o aparecimento e desenvolvimento da aterosclerose subclínica e clinicamente manifesta.<sup>13,83,84</sup>

Marcadores de inflamação sistêmica, como VHS elevada, presença de vasculite e de doença pulmonar intersticial, conferem um risco significativamente mais alto de morte cardiovascular entre os pacientes com AR, mesmo após ajuste para fatores de risco tradicionais como tabagismo, diabetes e hipertensão.<sup>75</sup> Da mesma forma, pacientes com manifestações extra-articulares, geralmente associadas à maior inflamação sistêmica, apresentam maior mortalidade por DCV.<sup>83</sup> No estudo de Ajeganova e colaboradores, a positividade para o fator

reumatoide e para o anticorpo contra o peptídeo cíclico citrulinado, a área sob a curva da PCR, a VHS e a escala visual analógica de dor foram associados a um maior risco para DCV entre os pacientes com início da AR antes dos 65 anos. Já no grupo de início a partir dos 65 anos, um melhor prognóstico em relação a DCV foi associado com redução da PCR, da VHS e do escore do Health Assessment Questionnaire durante o primeiro ano, assim como o uso regular de metotrexato. Nesse grupo, o uso regular de glicocorticoides (GC) aumentou o risco de DCV.<sup>78</sup> Esses achados corroboram as hipóteses do papel significativo da inflamação da AR no RCV, assim como demonstraram os conhecidos efeitos metabólicos deletérios dos GC que se somaram aos fatores de RCV tradicionais.<sup>78,84</sup>

A aterosclerose acelerada poderia ser explicada em parte pela exposição a inflamação sistêmica crônica a que os pacientes com AR estão submetidos, uma vez que a inflamação é sabidamente um importante determinante para aterosclerose.<sup>85</sup> Existem evidências de que pacientes com AR apresentam alterações na função e na morfologia vascular, quando comparados com controles saudáveis pareados por sexo e idade, e que essas alterações podem ser melhoradas com o tratamento anti-inflamatório.<sup>86</sup> Vários estudos sugerem a existência de um efeito benéfico do tratamento com agentes anti-fator de necrose tumoral alfa (anti-TNF $\alpha$ ) na doença cardiovascular.<sup>87-90</sup> Entretanto, apesar do efeito benéfico do tratamento, a associação entre a inflamação sistêmica e alterações dos vasos não é claramente evidente na literatura, que consiste principalmente em estudos transversais,<sup>86,91</sup> existindo ainda uma necessidade de maior confirmação em mais estudos longitudinais. Um estudo publicado em 2012, mostrou que os fatores de risco tradicionais para DCV, como hipertensão, dislipidemia e resistência à insulina, mas não a inflamação relacionada à AR, foram associados com a função endotelial micro e macrovascular em pacientes com AR.<sup>91</sup> Os fatores de risco tradicionais também parecem ser preditores da progressão de placa em carótida nessa população.<sup>92</sup> É possível que a inflamação sistêmica relacionada à AR seja mediadora da associação entre os fatores de risco tradicionais e as alterações vasculares, já que alguns pesquisadores relataram que os marcadores de inflamação sistêmica apenas se associaram com anormalidades vasculares na presença de fatores de risco tradicionais para DCV.<sup>93</sup>

Os mediadores inflamatórios circulantes podem afetar a parede das artérias e promover diferentes estágios de aterosclerose, desde disfunção endotelial e desenvolvimento de placa, até sua ruptura.<sup>94,95</sup> O endotélio é a camada mais interna dos vasos e desempenha um papel central na sua homeostase.<sup>96,97</sup> Sob circunstâncias fisiológicas, apresenta um fenótipo

quiescente que modula a permeabilidade, a coagulação e a vasodilatação.<sup>97</sup> O dano ao endotélio promovido por estímulos nocivos como estresse oxidativo e mediadores inflamatórios resulta na sua disfunção, primariamente por meio da redução do óxido nítrico (ON), molécula anti-aterogênica.<sup>96</sup> Independentemente de sua causa subjacente, a aterosclerose é iniciada por uma ativação inflamatória sistêmica crônica do endotélio que leva ao estado de disfunção de suas células<sup>98</sup> e ao resultante dano à barreira endotelial. Como resultado, lipoproteínas e leucócitos acumulam-se no espaço subendotelial e levam à formação das estrias de gordura que podem subsequentemente progredir para placas ateroscleróticas mais avançadas. À primeira vista, o fato de a disfunção endotelial ser um denominador comum na diabetes, hipertensão, obesidade, insuficiência renal, hipercolesterolemia e também na AR é notável, já que a base fisiopatológica dessas doenças é bastante diferente.<sup>97</sup>

A morbidade cardiovascular em um paciente individual depende não apenas da perda ou redução da luz vascular devido à aterosclerose, mas também da incapacidade de se adaptar, após o estreitamento ou oclusão do vaso, por meio dos mecanismos de regeneração e da formação de circulação colateral. Em conjunto com a ativação crônica das células endoteliais, a aterosclerose prematura nos pacientes com AR pode também ser causada pela inabilidade de células progenitoras endoteliais (CPEs) circulantes em reparar e regenerar as porções danificadas dos vasos. Isso ocorre provavelmente como consequência de uma disfunção das células endoteliais no estroma da medula óssea, o que impede a mobilização das CPEs para a circulação.<sup>97</sup> A observação de que os níveis de potentes mobilizadores de CPEs, como eritropoetina, fator de crescimento de fibroblastos e VEGF, estão elevados nos pacientes com AR, sem que isso resulte em níveis elevados de CPEs,<sup>99</sup> favorece ainda mais esse conceito. Também foi demonstrado que CPEs migram para a membrana sinovial reumatoide,<sup>100</sup> mais provavelmente para participar dos processos que levam ao aumento da vascularidade do tecido inflamado. Como consequência, o recrutamento de CPEs para a sinóvia poderia também contribuir para sua diminuição na circulação, dessa forma reduzindo o seu potencial de manutenção da integridade endotelial sistêmica a longo prazo.<sup>101</sup> Sob circunstâncias normais, as células mieloides CD14+ podem adotar um fenótipo pró-angiogênico e desempenhar um importante papel na remodelação vascular e formação de colaterais. A inflamação crônica na AR pode alterar a composição dos subtipos dessas células,<sup>102</sup> de forma que percam sua capacidade de atuar na formação e remodelamento de colaterais, promovendo um aumento do RCV.<sup>97</sup>

### 1.3.1 Artrite reumatoide, aterosclerose e ultrassonografia de artérias carótidas

A aterosclerose se desenvolve como um processo patológico sistêmico difuso e já está presente vários anos antes que a primeira manifestação clínica ocorra.<sup>103</sup> A partir do final da década de 1980, avanços técnicos e na resolução da ultrassonografia trouxeram a oportunidade de se quantificar e monitorar de forma não invasiva a aterosclerose desde suas lesões precursoras até a doença oclusiva.<sup>104</sup> O estudo da morfologia vascular e medida da espessura do complexo médio-intimal (EMI) das artérias carótidas com o uso da ultrassonografia de alta resolução é das formas não invasivas de avaliação da aterosclerose inicial pré-clínica mais amplamente utilizadas. O complexo médio-intimal é o local da deposição lipídica na formação da placa aterosclerótica e consiste em células endoteliais, tecido conjuntivo e músculo liso.<sup>105</sup> O aumento da sua espessura é considerado um fenótipo intermediário da aterosclerose, ou seja, um fenômeno mais precoce que a formação de placa.<sup>106</sup> Alterações na EMI representam uma sequência de eventos resultantes da diminuição da biodisponibilidade de NO, assim como um aumento nos níveis de vasoconstritores, como a endotelina-1, o que ao longo do tempo leva ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, fatores de adesão de leucócitos, ativação de fatores pró-trombóticos, proliferação de células da musculatura lisa e, por fim, formação de placas ricas em lipídios.<sup>96</sup>

As artérias carótidas são um local apropriado para a avaliação não invasiva de aterosclerose devido às suas características de acessibilidade, tamanho e limitada movimentação das paredes. As carótidas retratam de forma adequada a aterosclerose sistêmica devido à grande coincidência de alterações nesta localização com doença em outros leitos arteriais,<sup>104,107,108</sup> inclusive coronariano.<sup>109</sup> Tanto o aumento da EMI e quanto a presença de placas estão associados de forma independente com os fatores de RCV e com aterosclerose generalizada, como também são fortes preditores de infarto do miocárdio e de acidente vascular encefálico na população geral.<sup>110</sup> Estimativas de risco ajustadas para gênero e idade mostram que uma diferença absoluta na EMI de 0,1 mm está associada com um risco 10 a 15% mais alto de infarto do miocárdio e 13 a 18% mais alto para acidente vascular encefálico.<sup>108</sup> Além disso, constituem bons preditores de eventos cardíacos futuros em pacientes com DCV.<sup>111-114</sup> A ultrassonografia de carótidas também tem sido largamente utilizada como uma ferramenta não invasiva na avaliação do RCV em populações de alto risco, como a de indivíduos com AR.<sup>115</sup> Nos pacientes com AR, a aterosclerose em carótidas foi fortemente associada com eventos

cardiovasculares futuros<sup>116,117</sup> e a ultrassonografia de carótidas é considerada uma ferramenta útil para a estratificação do RCV nesses indivíduos.<sup>118</sup>

Para pacientes com AR e baixo RCV, a doença representa um fator de risco independente para aumento da EMI<sup>119,120</sup> e essa alteração foi associada com a duração e a gravidade da doença.<sup>119</sup> Vários estudos avaliaram a EMI das artérias carótidas em pacientes com AR, sem manifestações clínicas de doença aterosclerótica, comparando-os a controles.<sup>119-135</sup> Foram observadas medidas de EMI significativamente maiores nos indivíduos com AR,<sup>119-123,125-127,129-131,133,134</sup> mas esses achados não se confirmaram na totalidade dos estudos. Kobayashi e colaboradores observaram que a EMI na região do bulbo/carótida interna foi maior entre os pacientes, mas não encontraram diferença no valor da EMI medida na ACC entre pacientes e controles.<sup>132</sup> Também não se observou diferença de medida nos estudos de del Rincón e colaboradores<sup>124</sup> e de Schott e colaboradores.<sup>135</sup> Já Roman e colaboradores descreveram um grupo de pacientes com AR apresentando medidas menores de EMI em relação aos controles.<sup>128</sup> A divergência desses resultados é consequência mais provavelmente de diferenças metodológicas, principalmente no que se refere à definição de EMI, assim como o exame de diferentes sítios nas carótidas.<sup>132</sup> Em 2011, uma metanálise sobre a medida da EMI de carótidas em pacientes com AR comparados a controles foi publicada.<sup>115</sup> Os pesquisadores realizaram uma revisão sistemática da literatura publicada entre janeiro de 1996 e dezembro de 2008 e selecionaram 22 estudos. Em 17 deles, os pacientes com AR apresentaram EMI aumentada de forma significativa em relação aos controles e a diferença média geral de EMI entre os pacientes e controles foi 0,09 mm (IC95% = 0,07-0,11 mm). Os autores concluíam que os resultados corroboram o uso da EMI em estudos observacionais e que um próximo passo seria a determinação da sua utilidade como marcador de risco cardiovascular em mais estudos prospectivos de AR.

A prevalência de pacientes com AR, sem doença aterosclerótica manifesta, que apresentam placa em carótida varia na literatura. São descritas frequências que vão de 7% até 74%.<sup>89,124,125,128,129,131-133,135-137</sup> Observa-se uma maior prevalência de placas nos pacientes com AR em comparação aos controles,<sup>92,124,125,128,131,132</sup> entretanto alguns pesquisadores não encontraram diferença entre os grupos.<sup>121,133,135</sup> Essas variações tanto de frequência quanto na comparação com grupos controles se devem provavelmente às diferenças na definição de placas entre os estudos e às diferenças entre as populações analisadas.

No Brasil, pesquisadores realizaram um estudo com 71 pacientes com AR e 53 indivíduos controles saudáveis, pareados por sexo e idade, que foram submetidos à ultrassonografia de carótidas.<sup>138</sup> Não se incluíram indivíduos tabagistas, com diabetes, hipertensão, insuficiência renal, hepatopatia, síndrome nefrótica, hipotireoidismo ou em uso de estatina. A frequência de placas nos pacientes foi maior em relação aos controles (14,1% versus 1,9%; valor-p: 0,02) e não houve diferença significativa entre as médias de EMI entre os dois grupos (0,72mm nos pacientes e 0,67mm nos controles; valor-p: 0,07).

#### **1.4 JUSTIFICATIVA**

Diante das evidências atuais da participação do sistema IL-33/sST2 na patogênese e evolução tanto da AR quanto da doença aterosclerótica, surgiu o interesse em avaliar a associação entre os níveis séricos de IL33 e seu receptor solúvel com a presença de aterosclerose subclínica em pacientes com AR. Até o momento não existem relatos de estudos clínicos com pacientes em que se tenha avaliado a relação entre a citocina e a aterosclerose subclínica. A importância de se determinar o papel de citocinas específicas na AR e sua relação com doença cardiovascular está no fato de que essa compreensão pode apresentar no futuro uma aplicação clínica na determinação de marcadores de risco e de prognóstico, assim como identificar novos alvos terapêuticos. Finalizando, destaca-se a importância do reconhecimento dos pacientes com maior atividade da doença e com fatores de risco cardiovascular para uma abordagem mais efetiva dessas condições.

Este trabalho será apresentado na forma de um artigo original contendo as análises e discussões dos resultados da pesquisa.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Verificar a possível associação dos níveis séricos de IL-33 e de sST2 com a presença de aterosclerose subclínica em artérias carótidas, avaliada por ultrassonografia, em um grupo de pacientes com artrite reumatoide acompanhados no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Determinar a presença e a frequência de fatores de risco tradicionais para doença arterial coronariana na população estudada.
- 2) Determinar a frequência de placa aterosclerótica e a medida da espessura do complexo médio-intimal em carótidas na população estudada.
- 3) Determinar os fatores associados à presença de placa aterosclerótica e à medida da espessura do complexo médio-intimal de carótidas na população estudada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2010;376(9746):1094-1108.
2. Pinto MRC, Bertolo MB, Kakehasi AM, Carvalho MAP. Artrite Reumatoide. In: Carvalho MAP, Lanna CCD, Bertolo MB, Ferreira GA, eds. *Reumatologia Diagnóstico e Tratamento*. 4<sup>a</sup> ed. São Paulo: AC Farmacêutica / GEN - Grupo Editorial Nacional; 2014:303-328.
3. Delgado-Vega AM, Martín J, Granados J, Anaya JM. Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis: what to expect from Latin America? *Biomedica*. 2006;26(4):562-584.
4. Marques-Neto JF, Gonçalves ET, Langen LFOB, Cunha MFL, Radominski S, Oliveira SM. Multicentric study of the prevalence of adult rheumatoid arthritis in Brazilian population samples. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 1993;33:169-173.
5. Senna ER, De Barros AL, Silva EO, et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol*. 2004;31(3):594-597.
6. Cardiel MH, PANLAR, GLADAR. First Latin American position paper on the pharmacological treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45 Suppl 2:ii7-ii22.
7. Cardiel MH, Pons-Estel BA, Sacnun MP, et al. Treatment of early rheumatoid arthritis in a multinational inception cohort of Latin American patients: the GLADAR experience. *J Clin Rheumatol*. 2012;18(7):327-335.
8. Pincus T, Callahan LF, Sale WG, Brooks AL, Payne LE, Vaughn WK. Severe functional declines, work disability, and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years. *Arthritis Rheum*. 1984;27(8):864-872.
9. Doran MF, Pond GR, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in incidence and mortality in rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, over a forty-year period. *Arthritis Rheum*. 2002;46(3):625-631.
10. Schoels M, Wong J, Scott DL, et al. Economic aspects of treatment options in rheumatoid arthritis: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(6):995-1003.

11. Yelin EH. Musculoskeletal conditions and employment. *Arthritis Care Res.* 1995;8(4):311-317.
12. Neovius M, Simard JF, Askling J, Group AS. How large are the productivity losses in contemporary patients with RA, and how soon in relation to diagnosis do they develop? *Ann Rheum Dis.* 2011;70(6):1010-1015.
13. Salmon JE, Roman MJ. Subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 2008;121(10 Suppl 1):S3-8.
14. Wallberg-Jonsson S, Ohman ML, Dahlqvist SR. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive rheumatoid arthritis in Northern Sweden. *J Rheumatol.* 1997;24(3):445-451.
15. Myasoedova E, Gabriel SE. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: a step forward. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22(3):342-347.
16. Glossop JR, Dawes PT, Matthey DL. Association between cigarette smoking and release of tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors by peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(10):1223-1229.
17. Worthington J. Investigating the genetic basis of susceptibility to rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2005;25 Suppl:16-20.
18. de Vries RR, van der Woude D, Houwing JJ, Toes RE. Genetics of ACPA-positive rheumatoid arthritis: the beginning of the end? *Ann Rheum Dis.* 2011;70 Suppl 1:i51-54.
19. Bertolo MB, Costallat LTL, Persoli LB, Costa FF. Alelos HLA-DRB1 e prognóstico da artrite reumatoide em pacientes brasileiros. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2001;41(3):151-156.
20. Gómez UMJ, Coelho ALE, Triguinho AR, et al. Estudo da frequência dos alelos de HLA-DRB1 em pacientes brasileiros com artrite reumatoide. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2011;51(5):474-483.
21. Stahl EA, Raychaudhuri S, Remmers EF, et al. Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet.* 2010;42(6):508-514.

22. Scherer S, de Souza TB, de Paoli J, et al. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2010;30(3):369-373.
23. Miguel RCC, Resende GG, Garcia PP, Gresta LT. O tecido conjuntivo e sistema musculoesquelético. In: Carvalho MA, Lanna CCD, Bertolo MB, Ferreira GA, eds. *Reumatologia - Diagnóstico e Tratamento*. 4<sup>a</sup> ed. São Paulo: AC Farmacêutica / GEN - Grupo Editorial Nacional; 2014:3 - 13.
24. Klein K, Ospelt C, Gay S. Epigenetic contributions in the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(6):227.
25. Silman AJ, Newman J, MacGregor AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum.* 1996;39(5):732-735.
26. Sokolove J, Bromberg R, Deane KD, et al. Autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression to rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2012;7(5):e35296.
27. Pieringer H, Studnicka-Benke A. What is causing my arthritis, doctor? A glimpse beyond the usual suspects in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *QJM.* 2013;106(3):219-228.
28. Bottini N, Firestein GS. Duality of fibroblast-like synoviocytes in RA: passive responders and imprinted aggressors. *Nat Rev Rheumatol.* 2013;9(1):24-33.
29. Bartok B, Firestein GS. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev.* 2010;233(1):233-255.
30. Kunisch E, Chakilam S, Gandesiri M, Kinne RW. IL-33 regulates TNF- $\alpha$  dependent effects in synovial fibroblasts. *Int J Mol Med.* 2012;29(4):530-540.
31. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity.* 2005;23(5):479-490.
32. Wood IS, Wang B, Trayhurn P. IL-33, a recently identified interleukin-1 gene family member, is expressed in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;384(1):105-109.

33. Palmer G, Talabot-Ayer D, Viatte S, Lamacchia C, Gabay C. The new interleukin (IL)-1 family cytokine IL-33 is expressed by human synovial fibroblasts and its production is increased by IL-1 beta and TNF alpha. *The Annals of the Rheumatic Disease*. 2008;67(Suppl 1):A27 - A28.
34. Carriere V, Roussel L, Ortega N, et al. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(1):282-287.
35. Xu D, Jiang HR, Kewin P, et al. IL-33 exacerbates antigen-induced arthritis by activating mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(31):10913-10918.
36. Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel 'alarmin'? *PLoS One*. 2008;3(10):e3331.
37. Liew FY, Pitman NI, McInnes IB. Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(2):103-110.
38. Oshikawa K, Kuroiwa K, Tago K, et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(2):277-281.
39. Smithgall MD, Comeau MR, Yoon BR, Kaufman D, Armitage R, Smith DE. IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. *Int Immunol*. 2008;20(8):1019-1030.
40. Cayrol C, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(22):9021-9026.
41. Manetti M, Ibba-Manneschi L, Liakouli V, et al. The IL1-like cytokine IL33 and its receptor ST2 are abnormally expressed in the affected skin and visceral organs of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(3):598-605.
42. Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Saito H, Nakae S. IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases. *Allergol Int*. 2010;59(2):143-160.
43. Hong YS, Moon SJ, Joo YB, et al. Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci*. 2011;26(9):1132-1139.

44. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(6):429-442.
45. Chackerian AA, Oldham ER, Murphy EE, Schmitz J, Pflanz S, Kastelein RA. IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. *J Immunol.* 2007;179(4):2551-2555.
46. Xu D, Jiang HR, Li Y, et al. IL-33 exacerbates autoantibody-induced arthritis. *J Immunol.* 2010;184(5):2620-2626.
47. Verri WA, Souto FO, Vieira SM, et al. IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(9):1697-1703.
48. Palmer G, Talabot-Ayer D, Lamacchia C, et al. Inhibition of interleukin-33 signaling attenuates the severity of experimental arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009;60(3):738-749.
49. Bourgeois E, Van LP, Samson M, et al. The pro-Th2 cytokine IL-33 directly interacts with invariant NKT and NK cells to induce IFN-gamma production. *Eur J Immunol.* 2009;39(4):1046-1055.
50. Matsuyama Y, Okazaki H, Tamemoto H, et al. Increased levels of interleukin 33 in sera and synovial fluid from patients with active rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2010;37(1):18-25.
51. Matsuyama Y, Okazaki H, Hoshino M, et al. Sustained elevation of interleukin-33 in sera and synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis non-responsive to anti-tumor necrosis factor: possible association with persistent IL-1 $\beta$  signaling and a poor clinical response. *Rheumatol Int.* 2012;32(5):1397-1401.
52. Mu R, Huang HQ, Li YH, Li C, Ye H, Li ZG. Elevated serum interleukin 33 is associated with autoantibody production in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2010;37(10):2006-2013.
53. Talabot-Ayer D, McKee T, Gindre P, et al. Distinct serum and synovial fluid interleukin (IL)-33 levels in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis. *Joint Bone Spine.* 2012;79(1):32-37.
54. Talabot-Ayer D, Gabay C, Palmer G. Reply to Xie et al. about the article "Distinct serum and synovial fluid interleukin (IL)-33 levels in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis". *Joint Bone Spine.* 2013;80(1):117-118.

55. Kageyama Y, Torikai E, Tsujimura K, Kobayashi M. Involvement of IL-33 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: the effect of etanercept on the serum levels of IL-33. *Mod Rheumatol*. 2012;22(1):89-93.
56. Xiangyang Z, Lutian Y, Lin Z, Liping X, Hui S, Jing L. Increased levels of interleukin-33 associated with bone erosion and interstitial lung diseases in patients with rheumatoid arthritis. *Cytokine*. 2012;58(1):6-9.
57. Tang S, Huang H, Hu F, et al. Increased IL-33 in synovial fluid and paired serum is associated with disease activity and autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:985301.
58. Xie Q, Wang SC, Zhong J, Li J. Therapeutic potential of IL-33 in rheumatoid arthritis: a comment about the article by Talabot-Ayer D, et al., "Distinct serum and synovial fluid interleukin (IL)-33 levels in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis", *Joint Bone Spine* 2012;79:32-7. *Joint Bone Spine*. 2013;80(1):116-117.
59. Mok MY, Huang FP, Ip WK, et al. Serum levels of IL-33 and soluble ST2 and their association with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(3):520-527.
60. Li GX, Wang S, Duan ZH, Zeng Z, Pan FM. Serum levels of IL-33 and its receptor ST2 are elevated in patients with ankylosing spondylitis. *Scand J Rheumatol*. 2013;42(3):226-231.
61. Terras S, Opitz E, Moritz RK, Höxtermann S, Gambichler T, Kreuter A. Increased serum IL-33 levels may indicate vascular involvement in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(1):144-145.
62. Hamzaoui K, Kaabachi W, Fazaa B, Zakraoui L, Mili-Boussen I, Haj-Sassi F. Serum IL-33 levels and skin mRNA expression in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(3 Suppl 77):6-14.
63. Ciccica F, Alessandro R, Rizzo A, et al. IL-33 is overexpressed in the inflamed arteries of patients with giant cell arteritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(2):258-264.
64. Chen T, Jia RZ, Guo ZP, Cao N, Li MM, Jiao XY. Elevated serum interleukin-33 levels in patients with Henoch-Schönlein purpura. *Arch Dermatol Res*. 2013;305(2):173-177.
65. Liew FY. IL-33: a Janus cytokine. *Ann Rheum Dis*. 2012;71 Suppl 2:i101-104.

66. Alves-Filho JC, Sônego F, Souto FO, et al. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. *Nat Med*. 2010;16(6):708-712.
67. Miller AM, Liew FY. The IL-33/ST2 pathway--A new therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 2011;131(2):179-186.
68. Miller AM, Xu D, Asquith DL, et al. IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J Exp Med*. 2008;205(2):339-346.
69. Choi YS, Choi HJ, Min JK, et al. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood*. 2009;114(14):3117-3126.
70. Demyanets S, Konya V, Kastl SP, et al. Interleukin-33 induces expression of adhesion molecules and inflammatory activation in human endothelial cells and in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(9):2080-2089.
71. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(6917):868-874.
72. Kunes P, Holubcová Z, Kolácková M, Krejsek J. The counter-regulation of atherogenesis: a role for interleukin-33. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2010;53(3):125-129.
73. Sen D, González-Mayda M, Brasington RD. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2014;40(1):27-49.
74. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2003;107(9):1303-1307.
75. Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum*. 2005;52(3):722-732.
76. Kremers HM, Crowson CS, Therneau TM, Roger VL, Gabriel SE. High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum*. 2008;58(8):2268-2274.
77. Watson DJ, Rhodes T, Guess HA. All-cause mortality and vascular events among patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, or no arthritis in the UK General Practice Research Database. *J Rheumatol*. 2003;30(6):1196-1202.

78. Ajeganova S, Andersson ML, Frostegård J, Hafström I. Disease Factors in Early Rheumatoid Arthritis Are Associated with Differential Risks for Cardiovascular Events and Mortality Depending on Age at Onset: A 10-year Observational Cohort Study. *J Rheumatol*. 2013;40(12):1958-1966.
79. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, et al. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum*. 2005;52(2):402-411.
80. Gabriel SE. Cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis. *Am J Med*. 2008;121(10 Suppl 1):S9-14.
81. Lindhardsen J, Ahlehoff O, Gislason GH, et al. The risk of myocardial infarction in rheumatoid arthritis and diabetes mellitus: a Danish nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):929-934.
82. Del Rincón I, O'Leary DH, Freeman GL, Escalante A. Acceleration of atherosclerosis during the course of rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2007;195(2):354-360.
83. Frostegård J. Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(9):1776-1785.
84. Liang KP. Cardiovascular Risk in Rheumatoid Arthritis (RA): Does It Matter If RA Is Diagnosed in Early or Late Age? *J Rheumatol*. 2013;40(12):1945-1947.
85. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-126.
86. Sandoo A, Veldhuijzen van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. Vascular function and morphology in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(11):2125-2139.
87. Dixon WG, Watson KD, Lunt M, et al. Reduction in the incidence of myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis who respond to anti-tumor necrosis factor alpha therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum*. 2007;56(9):2905-2912.
88. Ferrante A, Giardina AR, Ciccia F, et al. Long-term anti-tumour necrosis factor therapy reverses the progression of carotid intima-media thickness in female patients with active rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2009;30(2):193-198.

89. Giles JT, Post WS, Blumenthal RS, et al. Longitudinal predictors of progression of carotid atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(11):3216-3225.
90. Jacobsson LT, Turesson C, Gülfe A, et al. Treatment with tumor necrosis factor blockers is associated with a lower incidence of first cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2005;32(7):1213-1218.
91. Sandoo A, Kitas GD, Carroll D, Veldhuijzen van Zanten JJ. The role of inflammation and cardiovascular disease risk on microvascular and macrovascular endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional and longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):R117.
92. Zampeli E, Protogerou A, Stamatelopoulos K, et al. Predictors of new atherosclerotic carotid plaque development in patients with rheumatoid arthritis: a longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(2):R44.
93. del Rincón I, Freeman GL, Haas RW, O'Leary DH, Escalante A. Relative contribution of cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis clinical manifestations to atherosclerosis. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3413-3423.
94. Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining how "high-grade" systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003;108(24):2957-2963.
95. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Martin J. Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35(1):8-17.
96. Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J.* 2010;4:302-312.
97. van Zonneveld AJ, de Boer HC, van der Veer EP, Rabelink TJ. Inflammation, vascular injury and repair in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69 Suppl 1:i57-60.
98. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115(10):1285-1295.
99. Grisar J, Aletaha D, Steiner CW, et al. Depletion of endothelial progenitor cells in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2005;111(2):204-211.

100. R ger B, Giurea A, Wanivenhaus AH, et al. Endothelial precursor cells in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50(7):2157-2166.
101. Paleolog E. It's all in the blood: circulating endothelial progenitor cells link synovial vascularity with cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther.* 2005;7(6):270-272.
102. Schaper W. Collateral circulation: past and present. *Basic Res Cardiol.* 2009;104(1):5-21.
103. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993;362(6423):801-809.
104. Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part I: incidence and progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(6):1484-1490.
105. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation.* 1993;87(3 Suppl):II56-65.
106. Mackinnon AD, Jerrard-Dunne P, Sitzer M, Buehler A, von Kegler S, Markus HS. Rates and determinants of site-specific progression of carotid artery intima-media thickness: the carotid atherosclerosis progression study. *Stroke.* 2004;35(9):2150-2154.
107. Crouse JR, Craven TE, Hagan AP, Bond MG. Association of coronary disease with segment-specific intimal-medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation.* 1995;92(5):1141-1147.
108. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 1997;96(5):1432-1437.
109. Khoury Z, Schwartz R, Gottlieb S, Chenzbraun A, Stern S, Keren A. Relation of coronary artery disease to atherosclerotic disease in the aorta, carotid, and femoral arteries evaluated by ultrasound. *Am J Cardiol.* 1997;80(11):1429-1433.
110. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med.* 1998;128(4):262-269.

111. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med.* 1999;340(1):14-22.
112. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke.* 2006;37(1):87-92.
113. Longstreth WT, Shemanski L, Lefkowitz D, O'Leary DH, Polak JF, Wolfson SK. Asymptomatic internal carotid artery stenosis defined by ultrasound and the risk of subsequent stroke in the elderly. The Cardiovascular Health Study. *Stroke.* 1998;29(11):2371-2376.
114. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(2):93-111; quiz 189-190.
115. van Sijl AM, Peters MJ, Knol DK, et al. Carotid intima media thickness in rheumatoid arthritis as compared to control subjects: a meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2011;40(5):389-397.
116. Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Martin J, Gonzalez-Gay MA. Carotid intima-media thickness predicts the development of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2009;38(5):366-371.
117. Evans MR, Escalante A, Battafarano DF, Freeman GL, O'Leary DH, del Rincón I. Carotid atherosclerosis predicts incident acute coronary syndromes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(5):1211-1220.
118. Corrales A, González-Juanatey C, Peiró ME, Blanco R, Llorca J, González-Gay MA. Carotid ultrasound is useful for the cardiovascular risk stratification of patients with rheumatoid arthritis: results of a population-based study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(4):722-727.
119. Kumeda Y, Inaba M, Goto H, et al. Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002;46(6):1489-1497.

120. Ristić GG, Lepić T, Glisić B, et al. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness: impact of anti-inflammatory treatment. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(6):1076-1081.
121. Jonsson SW, Backman C, Johnson O, et al. Increased prevalence of atherosclerosis in patients with medium term rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2001;28(12):2597-2602.
122. Park YB, Ahn CW, Choi HK, et al. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: morphologic evidence obtained by carotid ultrasound. *Arthritis Rheum*. 2002;46(7):1714-1719.
123. Alkaabi JK, Ho M, Levison R, Pullar T, Belch JJ. Rheumatoid arthritis and macrovascular disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2003;42(2):292-297.
124. Del Rincón I, Williams K, Stern MP, Freeman GL, O'Leary DH, Escalante A. Association between carotid atherosclerosis and markers of inflammation in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Arthritis Rheum*. 2003;48(7):1833-1840.
125. Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Testa A, Revuelta J, Garcia-Porrúa C, Gonzalez-Gay MA. Increased prevalence of severe subclinical atherosclerotic findings in long-term treated rheumatoid arthritis patients without clinically evident atherosclerotic disease. *Medicine (Baltimore)*. 2003;82(6):407-413.
126. Gerli R, Sherer Y, Vaudo G, et al. Early atherosclerosis in rheumatoid arthritis: effects of smoking on thickness of the carotid artery intima media. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1051:281-290.
127. Grover S, Sinha RP, Singh U, Tewari S, Aggarwal A, Misra R. Subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis in India. *J Rheumatol*. 2006;33(2):244-247.
128. Roman MJ, Moeller E, Davis A, et al. Preclinical carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 2006;144(4):249-256.
129. Daza L, Aguirre M, Jimenez M, Herrera R, Bollain JJ. Common carotid intima-media thickness and von Willebrand factor serum levels in rheumatoid arthritis female patients without cardiovascular risk factors. *Clin Rheumatol*. 2007;26(4):533-537.
130. Kerekes G, Szekanecz Z, Dér H, et al. Endothelial dysfunction and atherosclerosis in rheumatoid arthritis: a multiparametric analysis using imaging techniques and laboratory markers of inflammation and autoimmunity. *J Rheumatol*. 2008;35(3):398-406.

131. Stamatelopoulos KS, Kitas GD, Papamichael CM, et al. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis versus diabetes: a comparative study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(10):1702-1708.
132. Kobayashi H, Giles JT, Polak JF, et al. Increased prevalence of carotid artery atherosclerosis in rheumatoid arthritis is artery-specific. *J Rheumatol.* 2010;37(4):730-739.
133. Targońska-Stepniak B, Drelich-Zbroja A, Majdan M. The relationship between carotid intima-media thickness and the activity of rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol.* 2011;17(5):249-255.
134. Chatterjee Adhikari M, Guin A, Chakraborty S, Sinhamahapatra P, Ghosh A. Subclinical atherosclerosis and endothelial dysfunction in patients with early rheumatoid arthritis as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilatation: an observational study. *Semin Arthritis Rheum.* 2012;41(5):669-675.
135. Schott LL, Kao AH, Cunningham A, et al. Do carotid artery diameters manifest early evidence of atherosclerosis in women with rheumatoid arthritis? *J Womens Health (Larchmt).* 2009;18(1):21-29.
136. Rojas-Villarraga A, Ortega-Hernandez OD, Gomez LF, et al. Risk factors associated with different stages of atherosclerosis in Colombian patients with rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2008;38(2):71-82.
137. Corrales A, Parra JA, González-Juanatey C, et al. Cardiovascular risk stratification in rheumatic diseases: carotid ultrasound is more sensitive than Coronary Artery Calcification Score to detect subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(11):1764-1770.
138. Pereira I, Laurindo I, Burlingame R, et al. Auto-antibodies do not influence development of atherosclerotic plaques in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2008;75(4):416-421.

### **3 ARTIGO: Níveis Séricos de Interleucina 33 e do seu Receptor Solúvel ST2 Não Estão Relacionados à Presença de Aterosclerose Subclínica em Pacientes com Artrite Reumatoide**

Maria Raquel Costa Pinto<sup>1</sup>, Adriana Maria Kakehasi<sup>1</sup>, Adriano José Souza<sup>2</sup>, Wilson Campos Tavares Jr<sup>3</sup>, Monaliza Angela Rocha<sup>1</sup>, Cyntia Gabriele Michel Cardoso Trant<sup>1</sup>, Marcus Vinicius Melo de Andrade<sup>1</sup>

1. Laboratório de Fisiopatologia Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Minas Gerais (UFMG)
2. Conrad Diagnóstico por Imagem, Belo Horizonte, MG
3. Ecoar Medicina Diagnóstica, Belo Horizonte, MG

Autor responsável:

Marcus Vinicius Melo de Andrade

Avenida Alfredo Balena, 190 – sala 290 - Santa Efigênia

Belo Horizonte – MG CEP 30130-100

andradem@medicina.ufmg.br

# NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA 33 E DO RECEPTOR SOLÚVEL ST2 NÃO ESTÃO RELACIONADOS À PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE

## RESUMO

**Introdução:** a artrite reumatoide (AR), além de apresentar grande potencial para destruição articular, também constitui fator de risco para mortalidade precoce por doença cardiovascular (DCV). Tanto os fatores de risco tradicionais quanto a inflamação inerente à doença estão implicados na disfunção endotelial e nos eventos cardiovasculares. A interleucina 33 (IL-33) é uma citocina associada, em modelos animais, à amplificação da inflamação articular. Em pacientes com AR, foi descrito aumento dos níveis séricos de IL-33, sugerindo um potencial papel na fisiopatologia da doença. A participação dessa citocina em eventos cardiovasculares também vem sendo estudada e aparentemente ela exerce função protetora no desenvolvimento de aterosclerose.

**Objetivo:** verificar a associação dos níveis séricos da IL-33 e do seu receptor solúvel (sST2) com a presença de aterosclerose subclínica em carótidas, avaliada por ultrassonografia, em um grupo de pacientes com artrite reumatoide.

**Métodos:** estudo transversal observacional em pacientes com AR, sem DCV aterosclerótica manifesta. Os pacientes foram submetidos a avaliação clínica e laboratorial. Foi calculado o Escore de Risco Cardiovascular Global (Framingham) em 10 anos. A ultrassonografia de alta-resolução das artérias carótidas avaliou a presença de placas ateroscleróticas e a espessura do complexo médio-intimal (EMI) da parede arterial na carótida comum. Os níveis séricos de IL-33 e de sST2 foram medidos pelo método ELISA.

**Resultados:** 102 pacientes foram incluídos, 92,5% mulheres, com média ( $\pm$ DP) de idade de 55,5 ( $\pm$ 10) anos e de tempo de doença de 17,6 ( $\pm$ 9,5) anos. Oitenta e quatro (82,4%) pacientes apresentavam fator reumatoide e/ou anti-CCP positivos. A prevalência de placa em carótidas foi de 23,5% e a EMI mediana (IIq) foi de 0,7 (0,6 – 0,8) mm. Um aumento de 0,1 mm na EMI aumentou em 5,3 vezes a chance de presença de placa (IC95%: 2,88 – 983,37) e para cada ano a mais de tempo de doença houve um aumento de 6% de chance de ocorrência de placa (IC95%: 1,01 – 1,12). Observou-se que para o aumento de um ano na idade e de uma unidade no escore de risco cardiovascular houve um aumento de 0,004 mm e de 0,012 mm, respectivamente, na EMI (IC95%: 0 – 0,007 e 0,007 – 0,016). Por outro lado, o uso de MTX se associou à redução de 0,07 mm na EMI (IC95%: -0,117 – -0,013). Sessenta e oito (66,7%) pacientes apresentaram níveis séricos de IL-33 acima do limite mínimo de detecção, com valor mediano de 69,1 (31,6 – 114,5) pg/mL. O nível sérico mediano de sST2 foi de 469,8 (336,3 – 651) pg/mL. Não se encontrou associação entre os níveis séricos de IL-33 ou de sST2 e a medida da EMI ou a presença de placa.

**Conclusões:** neste grupo de pacientes com AR estabelecida os níveis séricos de IL-33 e do receptor solúvel ST2 não se associaram à aterosclerose subclínica, estimada pela medida da EMI e pesquisa de placa em carótidas. Fatores de risco tradicionais para doença aterosclerótica (idade e escore de risco cardiovascular) e tempo de doença foram associados à EMI e à presença de placa, enquanto o uso do MTX se relacionou a menor espessura do complexo médio-intimal.

Palavras-chave: artrite reumatoide, risco cardiovascular, aterosclerose, interleucina-33, sST2

## ABSTRACT

**Introduction:** rheumatoid arthritis (RA), apart from presenting great potential of articular damage, is also an independent risk factor for early cardiovascular disease (CVD) and mortality. Traditional risk factors and also inflammation inherent to the disease are implicated in endothelial dysfunction and cardiovascular events in RA. Interleukin 33 (IL-33) is a cytokine related to amplification of the articular inflammation, in animal models. Elevated IL-33 serum levels have been described in RA patients, suggesting a possible participation of this cytokine in the physiopathology of the disease. The role of IL-33 in cardiovascular events is also under investigation and it seems that this it has a protective effect in the development of atherosclerosis.

**Objective:** to verify the association of the serum levels of IL-33 and its soluble receptor (sST2) with the presence of carotid subclinical atherosclerosis, evaluated by ultrasonography, in a group of RA patients.

**Methods:** cross-sectional observational study in RA patients, free from atherosclerotic CVD. The patients were submitted to clinical and laboratorial evaluation. The General Cardiovascular Risk Score (Framingham) was calculated. Carotid high-resolution ultrasonography evaluated the presence of atherosclerotic plaques and the intima-media thickness (IMT) of common carotid artery wall. IL-33 and sST2 serum levels were measured by ELISA.

**Results:** 102 patients were included, 92,5% women, with mean ( $\pm$ SD) age of 55,5 ( $\pm$ 10) years and mean disease duration of 17,6 ( $\pm$ 9,5) years. Eighty-four (82,4%) patients had seropositive RA. The prevalence of carotid plaque was 23,5% and the median of IMT was 0,7 (0,6 – 0,8) mm. An increase of 0,1 mm in IMT increased by 5,3 times the chance of plaque (CI95%: 2,88 – 983,37) and each additional year of RA duration increased by 6% the chance of plaque presence (IC95%: 1,01 – 1,12). Each additional year of age and each additional unit in cardiovascular risk score increased by 0,003 mm and 0,012 mm, respectively the IMT (CI95%: 0 – 0,007 and 0,007 – 0,016). On the other hand, MTX use was associated with a reduction of 0,07 mm in IMT (CI95%: -0,117 – -0,013). Sixty-eight (66,7%) patients had IL-33 serum levels above the detection limit with a median value of 69,1 (31,6 – 114,5) pg/mL. The median sST2 serum level was 469,8 (336,3 – 651) pg/mL. There was not association between IL-33 and sST2 serum levels with IMT and presence of plaque.

**Conclusions:** in this group of established RA patients, IL-33 and sST2 serum levels were not associated with subclinical atherosclerosis, estimated by IMT measurement and search of carotid plaques. Traditional risk factors for atherosclerosis (age and cardiovascular risk score) and disease duration were associated with IMT and presence of plaque, while MTX was related to smaller intima-media thickness.

Key-words: rheumatoid arthritis, cardiovascular risk, atherosclerosis, interleukin-33, sST2

### 3.1 INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória sistêmica crônica de origem autoimune que pode evoluir com destruição articular e incapacidade funcional.<sup>1,2</sup> Acomete 0,5 a 1% da população, tem distribuição mundial e ocorre em ambos os sexos, com predominância feminina.<sup>3</sup> Sua etiologia precisa ainda não foi elucidada e sua fisiopatologia é multifatorial e complexa. Acredita-se que tanto componentes ambientais, como o tabagismo, quanto genéticos influenciam o seu desenvolvimento.<sup>4</sup>

A poliartrite periférica, característica clínica principal da AR, é o resultado da inflamação sinovial. Nas articulações afetadas, ocorre hiperplasia de fibroblastos sinoviócitos (FS) que se tornam componentes do pannus reumatoide, mediando a inflamação e a destruição articular.<sup>5</sup> Essas células são importantes produtoras locais de interleucinas inflamatórias, dentre elas a interleucina 33 (IL-33).<sup>6,7</sup> A IL-33 é um membro da família da IL-1 descrito pela primeira vez por Schmitz e colaboradores em 2005.<sup>8</sup> De maneira semelhante às outras citocinas desse grupo, considera-se que a IL-33 desempenha funções de modulação da resposta imunológica, mas, ao contrário das outras, induz predominantemente a produção de citocinas pelos linfócitos T helper do tipo 2 (Th2) e não a resposta Th1. A IL-33 é um ligante para o receptor ST2, um membro da superfamília IL1R/TLR. O gene do ST2 codifica três isoformas da proteína ST2 em humanos: ST2L, uma forma transmembrana que promove a ação da IL-33 nos processos inflamatórios dependentes de Th2; ST2 solúvel (sST2), uma forma secretada e ST2V, forma expressa principalmente nos órgãos gastrintestinais. Os níveis de sST2 estão aumentados em várias condições inflamatórias e já foi relacionado com a atenuação da resposta inflamatória induzida por Th2, atuando provavelmente pelo sequestro de IL-33.<sup>8</sup>

A sinalização IL-33/ST2 age como um sistema intracelular que participa da resposta antígeno-alérgico, da autoimunidade e dos processos de fibrose.<sup>9</sup> Evidências provenientes de estudos em animais e em humanos demonstram possível participação da IL-33 na patogênese da AR.<sup>8,10</sup> A forma ativa da IL-33 é liberada como resultado de dano celular e, por meio da ligação ao receptor ST2, promove a ativação de macrófagos, a migração de neutrófilos para o sítio articular, a produção de metaloproteinases (MMPs) e citocinas por FS ativados. As células T CD4+ naive são estimuladas pela IL-33 para diferenciação em Th2 e produção de IL-5 e IL-13, citocinas que agem na ativação dos linfócitos B, levando ao aumento da produção de imunoglobulinas. Em relação os mastócitos, a IL-33 promove a degranulação

mediada por autoanticorpos e sua ativação com consequente aumento da secreção das citocinas inflamatórias IL-6 e IL-1 $\beta$ .<sup>8,11-15</sup> Por causa dessas ações descritas, postula-se que a neutralização de IL-33 pode exercer efeitos terapêuticos na AR.<sup>16,17</sup>

Os estudos com pacientes confirmam a relação da IL-33 com a AR, pela demonstração de que os níveis séricos e no LS foram significativamente mais altos nos pacientes com a doença do que nos controles.<sup>18-23</sup> Também foi encontrada uma significativa correlação entre os níveis de IL-33 e marcadores de inflamação, como IL-1 $\beta$ , IL-6, PCR, DAS28, e os anticorpos FR e anti-CCP.<sup>18,19,21-25</sup> Por fim, o tratamento com drogas anti-reumáticas reduziu os níveis séricos da IL-33.<sup>19,21,24-26</sup> Esses dados despertam grande interesse quanto à utilização da IL-33 como um marcador de atividade inflamatória, resposta ao tratamento e prognóstico na AR. Em conjunto, os estudos em modelos animais, células humanas e pacientes sugerem que, além de estar envolvida na patogênese da AR, a IL-33 pode refletir o grau de inflamação dos pacientes e pode ser um bom biomarcador da doença, além de constituir um potencial alvo terapêutico. Entretanto, mais pesquisas ainda são necessários para o esclarecimento do seu exato papel na AR.

Além de participar dos mecanismos fisiopatológicos da AR, a sinalização IL-33/ST2 parece também desempenhar um papel no processo de aterosclerose.<sup>27</sup> A IL-33 e o receptor ST2 são expressos nas células endoteliais venosas humanas e no endotélio arterial coronariano.<sup>28,29</sup> Miller e colaboradores demonstraram que a administração de IL-33 para camundongos deficientes de apolipoproteína E (ApoE<sup>-/-</sup>) reduziu de forma significativa o desenvolvimento de placas ateroscleróticas no seio aórtico dos animais.<sup>28</sup> De modo contrário, os camundongos tratados com sST2 desenvolveram placas ateroscleróticas significativamente maiores. Os resultados indicavam uma participação da relação IL-33/sST2 no controle do balanço Th1/Th2 e na geração de auto-anticorpos protetores na aterosclerose.<sup>28</sup> Por outro lado, foi demonstrado que nas células endoteliais humanas a IL-33 induz a ativação inflamatória evidenciada pelo aumento da permeabilidade vascular, da produção de citocinas inflamatórias e da estimulação da angiogênese.<sup>29</sup> Demyanets e colaboradores mostraram pela primeira vez que a IL-33 está presente nas áreas de lesões ateroscleróticas humanas e que estimula a expressão das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1, E-selectina e da quimiocina MCP-1 em células endoteliais de artérias coronárias e de veias umbilicais.<sup>30</sup> Dado o fato de que a expressão dessas moléculas em lesões ateroscleróticas tem sido relatada como aumentada durante a aterogênese e que isso parece estar diretamente associado com a progressão da

placa<sup>31</sup>, os pesquisadores inferiram que a IL-33, na realidade, poderia contribuir com os eventos precoces de disfunção endotelial envolvidos no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas na parede vascular.<sup>30</sup> Ainda assim, existem outras evidências de que a IL-33 desempenha um papel favorável na evolução da aterogênese, além de proteger o coração contra a ação de forças deletérias responsáveis pela distensão, hipertrofia e fibrose muscular,<sup>32</sup> após eventos isquêmicos.<sup>27</sup>

O entendimento dos mecanismos envolvidos na aterogênese é de grande importância para a Reumatologia, em especial no estudo da AR. Além de ser uma condição com potencial para destruição articular, incapacidade funcional e redução da qualidade de vida, a AR constitui um fator de risco independente para mortalidade precoce, associada ao maior risco de morte por doenças cardiovasculares (DCV).<sup>33</sup> Esse grupo de doenças pode ser considerado a principal causa de mortalidade na população com AR, totalizando aproximadamente metade das mortes observadas.<sup>34,35</sup> A AR representa para os pacientes um aumento de risco para DCV de aproximadamente duas a três vezes,<sup>36-38</sup> mesmo após correção para fatores de risco tradicionais para doença aterosclerótica coronariana (DAC).<sup>36-41</sup> Os eventos cardiovasculares (ECV) ocorrem aproximadamente uma década mais cedo nos pacientes com AR,<sup>42</sup> sugerindo que, de maneira similar ao diabetes mellitus, essa doença é um fator independente de risco para infarto do miocárdio e cardiopatia isquêmica precoce.<sup>43,44</sup> Da mesma forma que em outros grupos de pacientes com taxas elevadas de DCV, a maior causa subjacente da elevação do risco é a progressão acelerada de aterosclerose.<sup>45</sup> A causa da aterosclerose precoce e acelerada não está completamente elucidada, mas é provável que a combinação de fatores de risco tradicionais para doença aterosclerótica e não tradicionais – mais precisamente os mecanismos específicos da AR, como a inflamação sistêmica, a desregulação imune e a imuno-senescência precoce – sejam importantes para o aparecimento e desenvolvimento da aterosclerose subclínica e clinicamente manifesta.<sup>33,46,47</sup> De fato, a aterosclerose acelerada poderia ser explicada em parte pela exposição a inflamação sistêmica crônica a que os pacientes com AR estão submetidos, uma vez que a inflamação é sabidamente um importante determinante para aterosclerose.<sup>48</sup> Os mediadores inflamatórios circulantes podem afetar a parede das artérias e promover diferentes estágios de aterosclerose, desde disfunção endotelial e desenvolvimento de placa, até sua ruptura.<sup>49,50</sup> É possível também que a inflamação sistêmica relacionada à AR seja mediadora da associação entre os fatores de risco tradicionais e as alterações vasculares, já que alguns pesquisadores relataram que os marcadores de inflamação sistêmica apenas se associaram com anormalidades vasculares na presença de

fatores de risco tradicionais para DCV.<sup>51-53</sup> Em conjunto com a ativação crônica das células endoteliais, a aterosclerose prematura nos pacientes com AR pode também ser causada pela inabilidade de células progenitoras endoteliais circulantes em reparar e regenerar as porções danificadas dos vasos.<sup>54</sup>

A aterosclerose se desenvolve como um processo patológico sistêmico difuso e já está presente vários anos antes que a primeira manifestação clínica ocorra.<sup>55</sup> A avaliação da morfologia vascular com o uso da ultrassonografia de alta resolução das artérias carótidas e medida da espessura do complexo médio-intimal (EMI) é das formas não invasivas de avaliação da aterosclerose inicial pré-clínica mais amplamente utilizadas.<sup>56</sup> O aumento da EMI é considerado um fenótipo intermediário da aterosclerose, ou seja, é um fenômeno mais precoce do que a formação de placa.<sup>57</sup> Tanto o aumento da EMI e quanto a presença de placas estão associados de forma independente com os fatores de RCV e com aterosclerose generalizada<sup>58,59</sup>, como também são fortes preditores de ECV futuros<sup>60-64</sup> tanto na população geral quanto em pacientes de alto risco, como a de indivíduos com AR.<sup>65</sup>

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de se verificar a possível associação dos níveis séricos de IL-33 e de sST2 com a presença de aterosclerose subclínica em artérias carótidas, avaliada por ultrassonografia, em um grupo de pacientes com AR.

## **3.2 METODOLOGIA**

Este estudo transversal foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em 10/01/2012 e conduzido no Ambulatório de Reumatologia, anexo Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG, e no Laboratório de Fisiopatologia Cirúrgica da Faculdade de Medicina da UFMG.

### **3.2.1 Pacientes**

Pacientes com artrite reumatoide definida segundo os critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia, 1987<sup>66</sup> ou ACR/EULAR, 2010<sup>67</sup> com mais de seis meses de sintomas e idade acima de 18 anos foram convidados a participar. Os critérios de exclusão

foram: doença aterosclerótica manifesta (definida por histórico ou presença de angina, infarto agudo do miocárdio, procedimentos de revascularização coronariana, estenose coronariana verificada em angiografia, acidente vascular encefálico ou ataque isquêmico transitório, diagnóstico angiográfico ou ultrassonográfico de estenose de carótida e insuficiência arterial periférica); presença de insuficiência cardíaca, fibrilação atrial, marca-passo ou desfibrilador implantados; presença de outras doenças do tecido conjuntivo (síndromes de sobreposição), com exceção para a Síndrome de Sjögren secundária; presença de sinais e/ou sintomas de infecção ou história de infecção recente. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, antes da realização de qualquer procedimento.

### **3.2.2 Métodos**

Os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e a um exame físico completo, que incluiu contagem de articulações edemaciadas e dolorosas. Informações relacionadas à doença, critérios diagnósticos, manifestações clínicas e laboratoriais, presença de manifestações extra-articulares, comorbidades – incluindo fatores de risco para doença coronariana – e tratamentos atuais e prévios, assim como cálculo da dose acumulada de prednisona, foram obtidas por entrevista e por revisão dos prontuários. Foram analisados resultados dos exames laboratoriais de até quatro meses antes ou depois da avaliação: hemograma, proteína C reativa, creatinina, glicemia de jejum, colesterol total, colesterol HDL (c-HDL), colesterol LDL (c-LDL) e triglicérides.

Mediu-se a pressão arterial sistêmica dos pacientes, em posição sentada, após pelo menos cinco minutos de descanso e, para os tabagistas, pelo menos trinta minutos após o último cigarro. Foram feitas duas a três medidas para cada indivíduo e, para fins de análises, utilizou-se a média das pressões sistólica (PAS) e diastólica (PAD). A presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi definida como  $PAS \geq 140$  ou  $PAD \geq 90$ <sup>68</sup> ou uso de medicação anti-hipertensiva.

Os pacientes foram pesados e medidos em balança mecânica com régua antropométrica, sem os sapatos, para o cálculo do índice de massa corporal.

Os pacientes foram considerados como tabagistas se relatassem o consumo de qualquer tipo ou quantidade de tabaco nos últimos 30 dias; como ex-tabagistas se tivessem consumido qualquer tipo ou quantidade de tabaco por qualquer período de suas vidas, mas que estivessem abstêmios de tabaco nos últimos 30 dias; e como não tabagistas se informassem nunca terem consumido nenhum tipo de tabaco.<sup>69</sup>

O histórico familiar de DCV prematura foi definido como infarto agudo do miocárdio, angina, insuficiência cardíaca congestiva, morte por causa cardíaca, revascularização coronariana, acidente vascular encefálico, endarterectomia de carótida, cirurgia arterial ou angioplastia para doença arterial aterosclerótica em pais, irmãos ou filhos com início do primeiro sintoma ou diagnóstico antes dos 55 anos para homens e antes dos 65 anos para mulheres.<sup>70</sup>

A presença de diabetes mellitus (DM) foi definida segundo os critérios da American Diabetes Association.<sup>71</sup> Os pacientes em uso de hipoglicemiantes (orais ou insulina) também foram classificados como diabéticos. A presença de dislipidemia foi definida como uso de drogas hipolipemiantes ou triglicérides  $> 150$  mg/dl ou c-HDL  $< 50$  mg/dL para mulheres e  $< 40$  mg/dL para homens ou c-LDL  $> 160$  mg/dL.<sup>70</sup> A definição da meta do valor c-LDL foi feita após a estratificação do risco cardiovascular pelo cálculo do Escore de Risco Global,<sup>72</sup> segundo as recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia.<sup>70</sup> A obesidade abdominal, ou central, foi considerada presente quando a circunferência da cintura fosse  $\geq 94$  cm para os homens e  $\geq 80$  cm para as mulheres. A síndrome metabólica (SMet) foi definida de acordo com os critérios da International Diabetes Federation.<sup>73</sup>

Radiografias de mãos/punhos e antepés em PA, realizadas nos 12 meses anteriores ou seguintes à avaliação dos pacientes foram analisadas por um único médico radiologista, cego para os dados dos pacientes, com a determinação do escore total de Sharp/van der Heijde modificado.<sup>74</sup> Houve boa concordância intra-observador (coeficiente de correlação intraclasse: 0,958).

Os pacientes responderam ao questionário de incapacidade funcional (HAQ-DI),<sup>75,76</sup> na sua versão validada para o português, e às escalas visuais analógicas (EVAs), variando de 0 a 100 milímetros, sobre dor e estado global de atividade da doença. Também foi empregada uma EVA de avaliação pela pesquisadora da atividade global da doença do paciente. Foram calculados os índices compostos de atividade da doença CDAI e DAS28 de quatro variáveis,

com utilização da VHS colhida no dia da avaliação e a EVA de atividade de doença pelo paciente.<sup>77</sup>

### ***Dosagens de IL-33 e de sST2***

No mesmo dia em que os pacientes foram avaliados, foram colhidas amostras de sangue em veia periférica para determinação da VHS (método de Westergren) e obtenção de soro. O soro de todos foi fracionado em alíquotas de 500mcL que foram armazenadas em refrigerador, a uma temperatura de -70° C. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e, em seguida, as dosagens de IL-33 e de sST2 foram feitas pelo método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), seguindo as recomendações do fabricante dos kits (Human IL-33 DuoSet Economy Pack e sST2 DuoSet-ELISA sandwich assay, ambos R&D System Inc, Minneapolis, MN, USA).

### ***Ultrassonografia de carótidas***

A presença de aterosclerose subclínica foi avaliada pela ultrassonografia em modo B das artérias carótidas com a pesquisa de placas ateroscleróticas e determinação da EMI, de acordo com diretrizes previamente estabelecidas.<sup>64,78</sup> Foi utilizado equipamento de alta resolução, marca Philips, modelo IE 33, sonda linear de 3 a 9 MHz, com software arterial específico. As artérias carótidas comum, interna e externa, direita e esquerda, foram analisadas com varredura transversal e longitudinal em busca de placas ateroscleróticas, definidas como estruturas focais que fazem protrusão em direção ao lúmen arterial com pelo menos 0,5 mm ou medindo mais de 50% do valor da EMI adjacente, ou que apresentam uma EMI maior que 1,5 mm. Foi realizada a medida da EMI na parede posterior da artéria carótida comum (ACC) distal direita e esquerda, na região localizada de um a dois centímetros da sua bifurcação, em local livre de placa. Foram obtidas imagens no eixo longitudinal, onde o segmento arterial é mais perpendicular ao feixe de ultrassom, com ajuste adequado do ganho e da profundidade. Utilizaram-se os acessos anterior, posterior ou esternocleidomastoideo, perfazendo-se a imagem mais retilínea possível e com o padrão de dupla linha bem definido para ser selecionada e realizada a medida. Após o término do exame, com o uso de um programa de detecção automática de margens (interface luz-intima e média-adventícia), medidas da EMI eram realizadas em um segmento de 10 mm da ACC e a média dessas medidas calculada para cada lado, direito e esquerdo. Considerou-se, para análise estatística, o maior valor médio de

EMI obtido, lado direito ou esquerdo, de cada paciente. Para a classificação da EMI como alterada ou não utilizou-se como parâmetro os valores do estudo Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.<sup>64</sup> Foram considerados alterados os valores acima do percentil 75 para os grupos distintos de acordo com sexo, idade, raça e lado direito ou esquerdo.

Todos os exames foram realizados por um único profissional experiente no método, cego para as condições clínicas dos pacientes, dentro do prazo máximo de 90 dias da avaliação médica. Houve boa concordância intra-observador (coeficiente de correlação intra-classe de 98,7% para a medida de EMI e coeficiente Kappa de 100% para a presença de placa).

### *Análise estatística*

Inicialmente foi feita uma análise descritiva das variáveis investigadas por meio de tabelas de distribuição de frequências e medidas de tendência central. Utilizou-se em todas as análises o software estatístico SPSS na versão 15.0.

Na análise univariada, para avaliar os fatores associados à ocorrência de placa aterosclerótica, na comparação das variáveis categóricas foram realizados os testes qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher. Na comparação das variáveis numéricas foram utilizados os testes t-Student ou teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Utilizou-se o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Na análise multivariada foi utilizado o modelo de regressão logística binária. Após ajuste do modelo final, foi avaliada a estimativa do Odds Ratio (OR) ajustado com respectivo Intervalo de Confiança de 95% (IC95%). Avaliou-se o ajuste do modelo por meio da estatística de Hosmer & Lemeshow.

Na análise univariada, para avaliar os fatores associados aos resultados da medida da EMI, na comparação das variáveis categóricas foram realizados os testes de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis. Na comparação das variáveis numéricas foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Optou-se por utilizar testes não paramétricos porque a distribuição da EMI apresentou uma leve assimetria. Na análise multivariada, utilizou-se o modelo de regressão linear. Avaliou-se o ajuste do modelo final por meio da estimativa do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e gráficos de diagnóstico. Optou-se por não realizar a transformação dos

valores para se obter uma distribuição normal porque os resíduos do modelo para a EMI apresentaram distribuição muito próxima do normal.

a análise dos gráficos dos resíduos mostrou um bom ajuste ao modelo.

Para a entrada das variáveis preditoras no modelo das análises multivariadas foi considerado um valor-p menor que 0,15 na análise univariada. Utilizou-se o critério forward para a entrada das variáveis e para a sua permanência no modelo final foi adotado um nível de significância de 5%.

### **3.3 RESULTADOS**

#### **3.3.1 Características clínicas e laboratoriais dos pacientes**

Entre março de 2012 a agosto de 2013, dentre os 325 pacientes com diagnóstico de AR em acompanhamento nos ambulatórios do serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG, 102 foram incluídos neste estudo. As características demográficas e clínicas dos pacientes incluídos, além dos medicamentos em uso, são apresentados na Tabela 1.

A prevalência de tabagismo foi de 11,8%, de diabetes mellitus foi 16,7% e 17,6% dos pacientes apresentavam história familiar de DCV prematura. A frequência de síndrome metabólica foi 52%, de hipertensão arterial foi 58,8%, de dislipidemia 63,7% e obesidade central 90%. Sessenta e quatro (62,7%) pacientes foram classificados dentro da categoria de alto risco cardiovascular pelo Escore de Risco Global<sup>72</sup> e apenas 22 (21,6%) tinham níveis de c-LDL dentro da meta terapêutica estimada segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia<sup>70</sup> (Tabela 2). A mediana (intervalo interquartil – IIq) da EMI medida na ACC foi 0,7 (0,6 – 0,8) mm e 18,6% dos pacientes apresentaram esta medida aumentada. Encontrou-se placa aterosclerótica em 24 (23,5%) pacientes (Tabela 3). Trinta e seis pacientes (35,3%) apresentavam placa e/ou aumento de EMI.

Para a IL-33 e o sST2, as concentrações mínimas de detecção, segundo o fabricante dos kits de ELISA, são 23,4 e 31,2 pg/ml, respectivamente. Os indivíduos foram considerados como IL-33 ou sST2 positivos se apresentassem dosagens séricas acima dos limites mínimos de

detecção. Os níveis séricos estavam acima do limite de detecção de IL-33 em 68 (66,7%) pacientes e os de sST2 em 101 (99%). Determinou-se também a taxa da concentração sérica de IL-33 em relação o valor do sST2 (Tabela 3). Não houve correlação entre os valores de IL-33 e sST2 ( $r=0,123$ ;  $p=0,319$ ).

TABELA 1: Características demográficas e clínicas dos pacientes

<b>Variável</b>	<b>Valor</b>
<b>Idade (anos - média ± DP)</b>	55,5 ± 10
<b>Idade no início dos sintomas (anos - média ± DP)</b>	37,9 ± 11,9
<b>Tempo de doença (anos - média ± DP)</b>	17,6 ± 9,5
<b>Sexo Feminino (n (%))</b>	94 (92,5)
<b>Pós-menopausa (n (% das pacientes mulheres))</b>	71 (75,5)
<b>Cor não branca (n (%))</b>	74 (72,5)
<b>AR Soropositiva (n (%))<sup>⊗</sup></b>	84 (82,4)
<b>Manifestação extra-articular<sup>§</sup> (n (%))</b>	23 (22,5)
<b>DAS28 (média ± DP)</b>	4 ± 1,4
<b>CDAI (média ± DP)</b>	13,4 ± 11,7
<b>HAQ-DI (mediana (IIq))</b>	0,8 (0,3 – 1,4)
<b>Escore Sharp/van der Heijde<sup>¶</sup> (mediana (IIq))</b>	38 (10 – 75,5)
<b>PAS/PAD (mmHg - média ± DP)</b>	123 ± 13 / 77,5 ± 8,6
<b>Circunferência de cintura (cm - média ± DP)</b>	94,5 ± 10,8
<b>IMC (média ± DP)</b>	27,5 ± 4,7
<b>Medicamentos em uso (n pacientes (%))</b>	
Hipoglicemiante oral e/ou insulina	14 (13,7)
Hipolipemiante	28 (27,5)
Anti-hipertensivo	54 (52,9)
DMCD	91 (89,2)
Metotrexato	66 (64,7)
Leflunomida	42 (41,2)
Anti-TNF $\alpha$	15 (14,7)
Anti-inflamatório não esteroide	22 (21,6)
Prednisona	62 (60,8)
<b>Dose diária de prednisona (mg - mediana (IIq))</b>	2,5 (0 – 5)
<b>Dose acumulada de prednisona (g - média ± DP)</b>	21,8 ± 15,7

DP: desvio-padrão; AR: artrite reumatoide; DAS28: disease activity score com contagem de 28 articulações; CDAI: índice clínico de atividade da doença; HAQ-DI: Health assessment questionnaire disability index; IIq: intervalo interquartil; IMC: índice de massa corporal; DMCD: droga modificadora do curso da doença

⊗: número de pacientes com fator reumatoide e/ou anti-CCP positivos, em qualquer título, em qualquer momento da evolução clínica

§: número de pacientes que apresentaram manifestação extra-articular em qualquer momento do curso clínico

¶: escore total de Sharp/Van der Heijde modificado (0-448)

TABELA 2: Exames laboratoriais e fatores de risco tradicionais para DAC

Variável	Valor
<b>Exames laboratoriais</b>	
c-HDL (mg/dL – média ± DP)	58,4 ± 16,1
c-LDL (mg/dL – média ± DP)	110,6 ± 28
CT/c-HDL (mediana (IIq))*	3,5 (2,8 – 4,1)
Triglicérides (mg/dL - mediana (IIq))	112 (81 – 165,5)
Glicemia de jejum (mg/dL - mediana (IIq))	89 (79 – 97)
PCR (mg/L - mediana (IIq))	8,3 (4,9 – 16,9)
VHS (mm/h - mediana (IIq))	22 (15 – 32)
<b>Fatores de risco tradicionais para DAC (n (%))</b>	
Tabagismo atual	12 (11,8)
Diabetes mellitus	17 (16,7)
Histórico familiar de DCV prematura	18 (17,6)
Síndrome metabólica	53 (52)
Hipertensão arterial sistêmica	60 (58,8)
Dislipidemia	65 (63,7)
Obesidade central	88,2 (90)
<b>Escore de Risco Cardiovascular Global<sup>¶</sup> (mediana (IIq))</b>	<b>7,1 (4,1 – 11,6)</b>
<b>Alto risco cardiovascular<sup>#</sup> (n (%))</b>	<b>64 (62,7)</b>
<b>c-LDL dentro da meta terapêutica (SBC)<sup>#</sup> (n (%))</b>	<b>22 (21,6)</b>

DAC: doença aterosclerótica coronariana; DP: desvio-padrão; IIq: intervalo interquartil; PCR: proteína C reativa; VHS: velocidade de hemossedimentação; DCV: doença cardiovascular; SBC: Sociedade Brasileira de Cardiologia

\*: índice colesterol total dividido pelo c-HDL

¶: D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-753.

#: segundo a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(4 Supl 1): 1-20

TABELA 3: Resultados das ultrassonografias de carótidas e dosagens de IL-33 e sST2

Variável	Valor
EMI - ACC (mm - mediana (IIq))	0,7 (0,6 – 0,8)
EMI aumentada (n (%))	19 (18,6)
Placa aterosclerótica (n (%))	24 (23,5)
IL-33 positivos (n (%))	68 (66,7)
IL-33 (pg/mL - mediana (IIq)) <sup>#</sup>	32,1 (0 – 78,7)
IL-33 (pg/mL - mediana (IIq)) <sup>§</sup>	69,1 (31,6 – 114,5)
sST2 positivos (n (%))	101 (99)
sST2 (pg/mL - mediana (IIq))*	469,8 (336,3 – 651)
IL-33/sST2 (mediana (IIq)) <sup>¶</sup>	0,1 (0 – 0,3)

EMI: espessura do complexo médio-intimal; ACC: artéria carótida comum; IIq: intervalo interquartil

#: considerando valores abaixo do nível de detecção como zero

§: considerando apenas os 68 indivíduos com dosagens acima do limite de detecção

\*: considerando apenas os 101 indivíduos com dosagens acima do limite de detecção

¶: taxa de IL-33 sobre sST2

### 3.3.2 Fatores associados à ocorrência de placas

Os pacientes que apresentaram placa tiveram maior média de idade (59,9 versus 54,2 anos;  $p=0,014$ ) e maior tempo médio de doença (21,9 versus 16,3 anos;  $p=0,011$ ). As mulheres que estavam no período de pós-menopausa apresentaram maior prevalência de placa (29,6% versus 8,7%;  $p=0,043$ ) do que as demais. Os pacientes com placa apresentaram maior mediana de EMI (0,8 mm versus 0,6 mm;  $p=0,001$ ). Nenhum paciente com c-LDL dentro da meta terapêutica apresentou placa, enquanto que para os demais a prevalência foi de 30% ( $p=0,003$ ). Os pacientes com placa tiveram maiores escores de Risco Cardiovascular Global (8,7 versus 6,3;  $p=0,048$ ) (Tabela 4).

Não houve associação entre os valores de IL-33 e de sST2 com a ocorrência de placa ( $p>0,05$ ) (Tabela 4). Nenhum medicamento em uso se correlacionou com a ocorrência de placa. Também não houve correlação com sexo, raça, idade ao início da AR, presença de manifestações extra-articulares, positividade para FR ou anti-CCP, PCR, VHS, lípides séricos, índices compostos de atividade da doença, HAQ-DI, tabagismo, HAS, diabetes mellitus e dislipidemia.

Na análise multivariada, observou-se que o aumento de 0,1 mm na EMI representou um aumento de 5,3 vezes (OR: 53,2; IC95% 2,88 – 983,37) na chance de presença de placa e que cada ano a mais de doença aumentou em 6% (OR: 1,06; IC95% 1,01 – 1,12) a chance de ocorrência de placa (Tabela 5).

TABELA 4: Comparação entre os pacientes com e sem placas ateroscleróticas

Variável	Placa ausente (n= 78)	Placa presente (n= 24)	Valor-p
Idade (anos - média ± DP)	54,2 ± 9,8	59,9 ± 9,7	0,014****
Tempo doença (anos-média ± DP)	16,3 ± 9,7	21,9 ± 8	0,011****
Pós-menopausa (n (%)):			
Não	21 (91,3)	2 (8,7)	0,043*
Sim	50 (70,4)	21 (29,6)	
c-LDL na meta# (n (%))			
Não	56 (70)	24 (30)	0,003*
Sim	22 (100)	0 (0)	
Escore RCV Global (mediana (IIq))	6,3 (2,9 – 11,6)	8,7 (6,2 – 11,8)	0,048***
EMI (mm - mediana (IIq))	0,6 (0,6 – 0,8)	0,8 (0,7 – 0,9)	0,001***
IL-33 (n (%)) <sup>❖</sup> : positivos	52 (76,5)	16 (23,5)	1*
negativos	26 (76,5)	8 (23,5)	
IL-33 (pg/mL - mediana (IIq)) <sup>§</sup>	33,1 (0 – 78,7)	12,1 (0 – 85,8)	0,856***
IL-33 (pg/mL - mediana (IIq)) <sup>⌘</sup>	69,1 (33,1-124,3)	70,6 (12,1 – 90,1)	0,745***
sST2 (pg/mL - mediana (IIq)) <sup>¶</sup>	461,7 (316,6 – 651)	485,9 (372,9-649)	0,675***
IL-33/sST2 (mediana (IIq)) <sup>‡</sup>	0,1 (0 – 0,3)	0,1 (0 – 0,3)	0,965***

\*:Qui-quadrado; \*\*\*:Teste de Mann-Whitney; \*\*\*\*:Teste T

DP: desvio-padrão; NAD: número de articulações dolorosas ao exame físico; IIq: intervalo interquartil; HAS: hipertensão arterial sistêmica; RCV: risco cardiovascular; AINE: anti-inflamatório não esteroide; EMI: espessura do complexo médio-intimal

¶: escore total de Sharp/Van der Heijde modificado (0-448)

#: valores do c-LDL dentro da meta terapêutica, segundo a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Supl 1): 1-20

❖: IL-33 positivos: nível sérico de IL-33 ≥ 23,4 pg/mL; IL-33 negativos: nível sérico de IL-33 < 23,4 pg/mL

§: considerando valores abaixo do nível de detecção como zero

⌘: considerando apenas os 68 indivíduos com dosagens acima do limite de detecção

¶: em 101 pacientes com níveis detectáveis

‡: taxa de IL-33 sobre sST2

TABELA 5: Análise multivariada dos fatores associados à ocorrência de placa

	Valor-p	OR	IC 95% para OR	
			Limite inferior	Limite superior
EMI (mm)	0,008	53,2	2,88	983,37
Tempo de doença (anos)	0,025	1,06	1,01	1,12

OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança

Valor-p do teste de Hosmer & Lemeshow = 0,51

### 3.3.3 Fatores associados à medida da espessura do complexo médio-intimal

Observou-se correlação significativa e direta entre a medida da EMI e a idade dos pacientes ( $r=0,613$ ;  $p<0,001$ ), o tempo de doença ( $r=0,224$ ;  $p:0,024$ ) e a idade do paciente ao início dos sintomas de AR ( $r=0,334$ ;  $p:0,001$ ). Da mesma forma, houve correlação com a PAS medida

no dia da avaliação ( $r=0,282$ ;  $p: 0,004$ ), a glicemia de jejum ( $r=0,263$ ;  $p: 0,008$ ) e o Escore de Risco Cardiovascular Global ( $r=0,591$ ;  $p<0,001$ ). Quanto à dose diária de prednisona, a correlação foi inversa, isto é, à medida em que a dose era maior, observou-se redução do valor da EMI ( $r= -0,205$ ;  $p: 0,039$ ) (Tabela 6).

As medidas da EMI foram mais elevadas entre os pacientes com histórico de manifestações extra-articulares ( $p=0,014$ ), diagnóstico de HAS ( $p=0,001$ ), diabetes mellitus ( $p=0,003$ ) e síndrome metabólica ( $p=0,037$ ) e, entre as mulheres, naquelas que se encontravam no período de pós-menopausa ( $p=0,001$ ). Os valores da EMI também foram mais elevados nos pacientes com RCV classificado como alto pelo Escore Global de Risco ( $p<0,001$ ). De forma contrária, os pacientes em uso de metotrexato e aqueles com c-LDL dentro da meta terapêutica apresentaram medidas mais baixas de EMI (valor- $p$ : 0,005 e 0,012, respectivamente) (Tabela 7).

Não houve correlação entre a medida da EMI e gênero, raça, positividade para FR e anti-CCP, índices compostos de atividade da doença, tabagismo, diagnóstico de dislipidemia, dose acumulada de prednisona, VHS e PCR, níveis de c-LDL e escore total de Sharp/van der Heijde. Também não houve correlação com os níveis séricos de IL-33 e sST2 ou com a taxa IL-33/sST2 (Tabelas 6 e 7).

Permaneceram no modelo final, associadas à EMI, as variáveis idade ( $p: 0,024$ ; IC95% 0 – 0,007), Escore de Risco Cardiovascular Global ( $p<0,001$ ; IC95% 0,007 – 0,016) e uso de metotrexato ( $p: 0,015$ ; IC95% -0,117 – -0,013). Observou-se que, para o aumento de 1 ano na idade do paciente, há um acréscimo de 0,004 mm na EMI. Com o aumento de 1 unidade no Escore de Risco Cardiovascular Global, há um aumento de 0,012 mm na EMI. Os pacientes que estavam usando metotrexato na época da avaliação apresentaram uma redução de 0,065 mm na medida da EMI (Tabela 8). Este modelo explica 45,2% da variabilidade dos dados e apresenta bom ajuste segundo os gráficos diagnósticos.

TABELA 6: Correlação entre características clínicas e laboratoriais e a EMI

<b>Variável</b>	<b>Coefficiente*</b>	<b>Valor-p</b>
Idade (anos)	0,613	<0,001
Tempo de doença (anos)	0,224	0,024
Idade no início dos sintomas (anos)	0,334	0,001
Intervalo: início sintomas e 1 <sup>a</sup> consulta reumatológica (anos)	0,204	0,040
Glicemia de jejum (mg/dL)	0,263	0,008
PAS (mmHg)	0,282	0,004
Escore de Risco Cardiovascular Global	0,591	<0,001
Dose diária de prednisona em uso	-0,205	0,039
IL-33 (pg/mL)§	-0,77	0,439
IL-33 (pg/mL)¶	-0,035	0,775
sST2 (pg/mL)#	0,002	0,981
IL-33/sST2¶	-0,071	0,566

\*: coeficiente de correlação de Spearman

EMI: espessura do complexo médio-intimal; Iq: intervalo interquartil; DP: desvio-padrão; PDN: prednisona; PCR: proteína C reativa; VHS: velocidade de hemossedimentação; PAS: pressão arterial sistêmica

§: considerando valores abaixo do nível de detecção como zero

¶: considerando apenas os 68 indivíduos com dosagens acima do limite de detecção

#: em 101 pacientes com níveis detectáveis

¶: taxa de IL-33 sobre sST2

TABELA 7: Correlação entre características demográficas, clínicas e laboratoriais e a EMI

<b>Variável</b>		<b>EMI (mm - mediana (IIq))</b>	<b>Valor-p</b>
Pós-menopausa	Não	0,60 (0,55 – 0,65)	0,001*
	Sim	0,71 (0,6 – 0,8)	
Manifest extra-articulares	Não	0,65 (0,58 – 0,76)	0,014*
	Sim	0,72 (0,63 – 0,88)	
HAS	Ausente	0,60 (0,55 – 0,71)	0,001*
	Presente	0,72 (0,63 – 0,81)	
Uso de anti-hipertensivo	Não	0,62 (0,56 – 0,71)	0,001*
	Sim	0,73 (0,63 – 0,81)	
Diabetes mellitus	Ausente	0,65 (0,58 – 0,76)	0,003*
	Presente	0,84 (0,63 – 0,95)	
Uso hipoglicem/insulina	Não	0,65 (0,58 – 0,76)	0,001*
	Sim	0,84 (0,7 – 1,02)	
LDL na meta terapêutica#	Não	0,7 (0,6 – 0,8)	0,012*
	Sim	0,6 (0,6 – 0,7)	
Síndrome metabólica	Ausente	0,64 (0,58 – 0,74)	0,037*
	Presente	0,71 (0,6 – 0,84)	
Uso atual de metotrexato	Não	0,75 (0,62 – 0,87)	0,005*
	Sim	0,63 (0,58 – 0,73)	
Classificação do RCV¶	Alto	0,73 (0,61 – 0,84)	<0,001**
	Intermediário	0,71 (0,64 – 0,77)	
	Baixo	0,6 (0,54 – 0,64)	
IL-33 positivo§	Não	0,69 (0,59 – 0,85)	0,449*
	Sim	0,66 (0,59 – 0,78)	

\*: Teste de Mann-Whitney; \*\*: Teste de Kruskal Wallis

EMI: espessura do complexo médio-intimal; IIq: intervalo interquartil; AR: artrite reumatoide; HAS: hipertensão arterial sistêmica; RCV: risco cardiovascular

#: valores do c-LDL dentro da meta terapêutica, segundo a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Supl 1): 1-20

¶: segundo o Escore de Risco Global

§: IL-33 positivo: nível sérico de IL-33  $\geq$  23,4 pg/mL

TABELA 8: Melhor modelo preditivo para a medida da EMI (regressão linear)

	Valor-p	Coeficiente	IC 95% para coeficiente	
			Limite inferior	Limite superior
Idade	0,024	0,004	0,000	0,007
Escore de Risco Global	<0,001	0,012	0,007	0,016
Uso de metotrexato	0,015	-0,065	-0,117	-0,013

IC: intervalo de confiança

Coefficiente de Determinação  $R^2 = 45,2\%$

### 3.4 DISCUSSÃO

O presente estudo não encontrou associação entre os níveis séricos de IL-33 e de seu receptor solúvel com a aterosclerose subclínica nos pacientes com AR. Devido às prováveis flutuações dos seus níveis ao longo do curso da doença, é possível que a dosagem da IL-33 e do sST2 em um único momento não reflita de forma acurada a sua participação nos mecanismos de alteração da morfologia vascular e de desenvolvimento de placa ao longo do tempo. Além disso, como a IL-33 é liberada após a ocorrência de dano celular para então se ligar ao seu receptor e promover ativação celular, é possível também que o binômio IL-33/ST2 exerça seus efeitos predominantemente durante os eventos cardiovasculares agudos. Adicionalmente, não se pode afirmar com certeza se os níveis séricos refletem de forma adequada as concentrações teciduais da IL-33.

Em um terço dos pacientes não foi possível detectar nível sérico da IL-33. De forma semelhante, em outros estudos, não se detectou a IL-33 na totalidade das amostras de soro e já se descreveu que o tratamento da AR pode ocasionar uma redução nos níveis séricos da citocina.<sup>19,21,24,25</sup> No estudo de Matsuyama e colaboradores, em que 94% dos pacientes faziam uso de DMCD, apenas 50,8% das amostras apresentaram IL-33 acima dos limites de detecção.<sup>18</sup> Já Mu e colaboradores encontraram IL-33 detectável 42,2% dos indivíduos, sendo que 65% deles estava em uso DMCD.<sup>19</sup> É possível, então, que a utilização de pelo menos uma DMCD por 90% da população deste estudo possa ter ocasionado uma redução nos níveis da citocina, até valores abaixo do limite de detecção, ou mesmo levado a uma real ausência de IL-33 circulante.

A medida da EMI foi escolhida como o marcador indireto de alteração precoce da morfologia vascular nos pacientes com AR, sem histórico de doença aterosclerótica manifesta, devido à sua associação independente com aterosclerose generalizada e eventos cardíacos futuros.<sup>58-64</sup> Da mesma forma, realizou-se também a pesquisa de placas, pois a sua detecção é útil para discriminar, em uma população sem DAC, os indivíduos que estão em maior risco de apresentar um evento coronariano.<sup>79</sup> Nesta amostra de pacientes com AR, observou-se que 36 (35,3%) pacientes apresentavam aumento da EMI e/ou presença de placa. É possível que o conhecimento da existência de alterações morfológicas vasculares ainda em um estágio assintomático possa proporcionar uma motivação adicional para que os pacientes façam

modificações nos seus hábitos de vida e tenham uma melhor adesão ao tratamento medicamentoso.<sup>80</sup>

Tanto fatores relacionados à AR – tempo de doença e uso do MTX – quanto fatores de risco tradicionais para DAC – idade e Escore de Risco Cardiovascular Global – foram associados à presença de aterosclerose subclínica. Esses achados estão de acordo com o conceito de que a interação entre fatores próprios da AR com os fatores de risco tradicionais levam à maior morbi-mortalidade cardiovascular dos pacientes em relação à população geral.<sup>33,46,47,51</sup>

Os pacientes que apresentaram placas tinham AR por mais tempo e maiores medianas de EMI. Para cada ano a mais de tempo de doença houve um aumento de 6% de chance de ocorrência de placa em carótida. De fato, já se descreveu em outros estudos que um maior tempo de duração da doença está relacionado à presença de placa aterosclerótica em pacientes com AR.<sup>81-83</sup> Portanto, o tempo de evolução da doença pode representar um marcador indireto de acúmulo inflamatório. Neste estudo, observou-se que um aumento de 0,1 mm na EMI aumentou em 5,3 vezes a chance de presença de placa. Estudos transversais na população geral relataram associação positiva entre a EMI na artéria carótida comum e a presença de placas nas carótidas,<sup>80,84,85</sup> associação também já observada em populações com AR.<sup>83,86</sup> Por outro lado, a idade – fator sabidamente associado à aterosclerose – não foi um fator independente de risco para a presença de placa, nesta amostra de pacientes.

A única droga que apresentou alguma correlação significativa com a aterosclerose subclínica foi o MTX. Seu uso foi um fator de proteção em relação ao espessamento do complexo médio-intimal. Este resultado é consistente com estudos prévios em que o tratamento com MTX relacionou-se a menores medidas de EMI. Ristic e colaboradores encontraram uma correlação negativa entre a EMI e a duração do tratamento combinado com MTX e cloroquina.<sup>87</sup> Georgiadis e colaboradores descreveram uma redução da EMI de carótida em pacientes com AR de início recente, um ano após o início do tratamento com MTX, associado a 7,5 mg de prednisona.<sup>88</sup> Observaram também uma melhora do perfil lipídico, relacionada principalmente ao aumento dos níveis de c-HDL.<sup>89</sup> Entretanto, essa melhora pode ter resultado mais da diminuição da inflamação do que do uso específico do medicamento. De toda forma, as evidências atuais sugerem que o MTX está associado à redução do risco de ECV em pacientes com AR, embora o mecanismo desse provável benefício ainda não tenha sido completamente determinado. Acredita-se que seja multifatorial e complexo, não sendo

possível afirmar se seus efeitos na redução de DCV são devidos a uma ação direta nas lesões ateroscleróticas ou se resultam da redução na inflamação sistêmica provocada pela AR.<sup>90</sup>

A idade é um determinante central de DCV.<sup>38</sup> Além disso, é um dos mais fortes determinantes da EMI, que sabidamente aumenta de 0,01 a 0,02 mm por ano, na população geral.<sup>84,91</sup> Na avaliação da nossa amostra, encontrou-se também um aumento da EMI relacionado à idade, em concordância com estudos prévios em pacientes com AR.<sup>83,87,92-95</sup> Além da idade, não houve associação significativa de nenhum outro fator de risco tradicional de forma individual com a EMI, na análise multivariada. Entretanto, para o Escore de Risco Cardiovascular Global, que combina vários fatores de risco, encontrou-se associação independente.

A inflamação crônica, a principal característica da AR, exerce um papel crucial na aterosclerose acelerada.<sup>49</sup> Neste estudo, nenhum dos marcadores inflamatórios ou de atividade da doença avaliados (VHS, PCR, DAS28 e CDAI) apresentou correlação com a ocorrência de placa ou com a medida da EMI. A mesma observação foi relatada por outros autores.<sup>83,92,94,96</sup> Uma possível explicação para a ausência de associação é que, devido à natureza flutuante da inflamação na AR, a avaliação de marcadores em um estudo transversal pode não refletir adequadamente o efeito acumulativo do insulto inflamatório crônico à parede vascular.<sup>87,97</sup>

Os fatores associados de forma independente com a medida da EMI e com a presença de placas ateroscleróticas nas carótidas não foram os mesmos. Isso pode refletir o fato de que, apesar de esses dois fenômenos serem correlatos, eles refletem diferentes estágios e aspectos da aterogênese e têm diferentes determinantes.<sup>79,80,85,98</sup> O espessamento difuso adaptativo da parede da carótida, medido pela EMI, que ocorre como uma resposta à idade e à hipertensão arterial, reflete mais apropriadamente a arteriosclerose do que a formação de placa. Essa última seria um processo focal mais relacionado a processos ateroscleróticos como inflamação, oxidação e disfunção endotelial.<sup>79,98</sup> No presente estudo, o diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica e os níveis de PAS também foram associados à EMI pela análise univariada. Entretanto, na análise multivariada, não se mantiveram no modelo final como fatores independentes associados.

Desenvolveu-se este estudo para identificar uma possível associação entre os níveis séricos de IL-33 e de sST2 com aterosclerose na AR, mas nenhum dos dois se correlacionou com a EMI ou placas. Demonstrou-se que pacientes com níveis séricos detectáveis de IL-33 não

apresentaram diferença em relação à presença de placas ateroscleróticas e medida da EMI em carótidas, comparados aos pacientes sem níveis detectáveis. Não se encontrou relato de nenhum outro estudo que tenha avaliado essa possível associação. O papel da IL-33 e do sST2 na AR tem sido estudado e as evidências são de que estão envolvidos na patogênese da doença<sup>8,10</sup> e que seus valores séricos são associados com marcadores de inflamação e atividade da doença.<sup>18,23,25</sup> Da mesma forma, estão implicados nos fenômenos de desenvolvimento de aterosclerose e remodelação cardíaca.<sup>27,32</sup> A interação, entretanto, da IL-33 sérica e seu receptor solúvel com a aterosclerose em pacientes com AR ainda precisa ser melhor elucidada. No momento, ainda não é possível precisar se a IL-33 participa dos dois processos – AR e aterosclerose – exercendo efeitos antagônicos sobre os vasos, já que possivelmente amplifica ou é marcador de inflamação na AR mas, ao mesmo tempo, exerce um efeito protetor em relação à aterosclerose. Essa hipótese retrata o quão complexa pode ser a avaliação da interação entre IL-33/sST2, aterosclerose e artrite reumatoide.

Concluindo, apesar das evidências de que o sistema IL-33/sST2 está implicado nos processos de aterogênese e na fisiopatologia da AR, os níveis séricos não se associaram à aterosclerose subclínica nestes pacientes com AR estabelecida. A presença de placas e a EMI foram associadas ao tempo de doença, idade, escore de risco cardiovascular e uso de metotrexato, fatores já previamente descritos como associados à aterosclerose subclínica na AR.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2010;376(9746):1094-1108.
2. Pinto MRC, Bertolo MB, Kakehasi AM, Carvalho MAP. Artrite Reumatoide. In: Carvalho MAP, Lanna CCD, Bertolo MB, Ferreira GA, eds. *Reumatologia Diagnóstico e Tratamento*. 4<sup>a</sup> ed. São Paulo: AC Farmacêutica / GEN - Grupo Editorial Nacional; 2014:303-328.
3. Delgado-Vega AM, Martín J, Granados J, Anaya JM. Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis: what to expect from Latin America? *Biomedica*. 2006;26(4):562-584.
4. Glossop JR, Dawes PT, Matthey DL. Association between cigarette smoking and release of tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors by peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(10):1223-1229.
5. Bottini N, Firestein GS. Duality of fibroblast-like synoviocytes in RA: passive responders and imprinted aggressors. *Nat Rev Rheumatol*. 2013;9(1):24-33.
6. Bartok B, Firestein GS. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev*. 2010;233(1):233-255.
7. Kunisch E, Chakilam S, Gandesiri M, Kinne RW. IL-33 regulates TNF- $\alpha$  dependent effects in synovial fibroblasts. *Int J Mol Med*. 2012;29(4):530-540.
8. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005;23(5):479-490.
9. Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Saito H, Nakae S. IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases. *Allergol Int*. 2010;59(2):143-160.
10. McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(6):429-442.

11. Chackerian AA, Oldham ER, Murphy EE, Schmitz J, Pflanz S, Kastelein RA. IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. *J Immunol.* 2007;179(4):2551-2555.
12. Xu D, Jiang HR, Kewin P, et al. IL-33 exacerbates antigen-induced arthritis by activating mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(31):10913-10918.
13. Xu D, Jiang HR, Li Y, et al. IL-33 exacerbates autoantibody-induced arthritis. *J Immunol.* 2010;184(5):2620-2626.
14. Manetti M, Ibba-Manneschi L, Liakouli V, et al. The IL1-like cytokine IL33 and its receptor ST2 are abnormally expressed in the affected skin and visceral organs of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(3):598-605.
15. Verri WA, Souto FO, Vieira SM, et al. IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(9):1697-1703.
16. Palmer G, Talabot-Ayer D, Lamacchia C, et al. Inhibition of interleukin-33 signaling attenuates the severity of experimental arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009;60(3):738-749.
17. Bourgeois E, Van LP, Samson M, et al. The pro-Th2 cytokine IL-33 directly interacts with invariant NKT and NK cells to induce IFN-gamma production. *Eur J Immunol.* 2009;39(4):1046-1055.
18. Matsuyama Y, Okazaki H, Tamemoto H, et al. Increased levels of interleukin 33 in sera and synovial fluid from patients with active rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2010;37(1):18-25.
19. Mu R, Huang HQ, Li YH, Li C, Ye H, Li ZG. Elevated serum interleukin 33 is associated with autoantibody production in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2010;37(10):2006-2013.
20. Talabot-Ayer D, McKee T, Gindre P, et al. Distinct serum and synovial fluid interleukin (IL)-33 levels in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis. *Joint Bone Spine.* 2012;79(1):32-37.
21. Hong YS, Moon SJ, Joo YB, et al. Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci.* 2011;26(9):1132-1139.

22. Xiangyang Z, Lutian Y, Lin Z, Liping X, Hui S, Jing L. Increased levels of interleukin-33 associated with bone erosion and interstitial lung diseases in patients with rheumatoid arthritis. *Cytokine*. 2012;58(1):6-9.
23. Tang S, Huang H, Hu F, et al. Increased IL-33 in synovial fluid and paired serum is associated with disease activity and autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:985301.
24. Matsuyama Y, Okazaki H, Hoshino M, et al. Sustained elevation of interleukin-33 in sera and synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis non-responsive to anti-tumor necrosis factor: possible association with persistent IL-1 $\beta$  signaling and a poor clinical response. *Rheumatol Int*. 2012;32(5):1397-1401.
25. Kageyama Y, Torikai E, Tsujimura K, Kobayashi M. Involvement of IL-33 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: the effect of etanercept on the serum levels of IL-33. *Mod Rheumatol*. 2012;22(1):89-93.
26. Xie Q, Wang SC, Zhong J, Li J. Therapeutic potential of IL-33 in rheumatoid arthritis: a comment about the article by Talabot-Ayer D, et al., "Distinct serum and synovial fluid interleukin (IL)-33 levels in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis", *Joint Bone Spine* 2012;79:32-7. *Joint Bone Spine*. 2013;80(1):116-117.
27. Miller AM, Liew FY. The IL-33/ST2 pathway--A new therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 2011;131(2):179-186.
28. Miller AM, Xu D, Asquith DL, et al. IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J Exp Med*. 2008;205(2):339-346.
29. Choi YS, Choi HJ, Min JK, et al. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood*. 2009;114(14):3117-3126.
30. Demyanets S, Konya V, Kastl SP, et al. Interleukin-33 induces expression of adhesion molecules and inflammatory activation in human endothelial cells and in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(9):2080-2089.
31. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(6917):868-874.
32. Kunes P, Holubcová Z, Kolácková M, Krejsek J. The counter-regulation of atherogenesis: a role for interleukin-33. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2010;53(3):125-129.

33. Salmon JE, Roman MJ. Subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 2008;121(10 Suppl 1):S3-8.
34. Wallberg-Jonsson S, Ohman ML, Dahlqvist SR. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive rheumatoid arthritis in Northern Sweden. *J Rheumatol.* 1997;24(3):445-451.
35. Myasoedova E, Gabriel SE. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: a step forward. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22(3):342-347.
36. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003;107(9):1303-1307.
37. Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum.* 2005;52(3):722-732.
38. Kremers HM, Crowson CS, Therneau TM, Roger VL, Gabriel SE. High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2268-2274.
39. Watson DJ, Rhodes T, Guess HA. All-cause mortality and vascular events among patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, or no arthritis in the UK General Practice Research Database. *J Rheumatol.* 2003;30(6):1196-1202.
40. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, et al. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum.* 2005;52(2):402-411.
41. Ajeganova S, Andersson ML, Frostegård J, Hafström I. Disease Factors in Early Rheumatoid Arthritis Are Associated with Differential Risks for Cardiovascular Events and Mortality Depending on Age at Onset: A 10-year Observational Cohort Study. *J Rheumatol.* 2013;40(12):1958-1966.
42. Gabriel SE. Cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis. *Am J Med.* 2008;121(10 Suppl 1):S9-14.
43. Lindhardsen J, Ahlehoff O, Gislason GH, et al. The risk of myocardial infarction in rheumatoid arthritis and diabetes mellitus: a Danish nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(6):929-934.

44. Peters MJ, van Halm VP, Voskuyl AE, et al. Does rheumatoid arthritis equal diabetes mellitus as an independent risk factor for cardiovascular disease? A prospective study. *Arthritis Rheum.* 2009;61(11):1571-1579.
45. Del Rincón I, O'Leary DH, Freeman GL, Escalante A. Acceleration of atherosclerosis during the course of rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis.* 2007;195(2):354-360.
46. Frostegård J. Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(9):1776-1785.
47. Liang KP. Cardiovascular Risk in Rheumatoid Arthritis (RA): Does It Matter If RA Is Diagnosed in Early or Late Age? *J Rheumatol.* 2013;40(12):1945-1947.
48. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-126.
49. Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining how "high-grade" systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003;108(24):2957-2963.
50. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Martin J. Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35(1):8-17.
51. del Rincón I, Freeman GL, Haas RW, O'Leary DH, Escalante A. Relative contribution of cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis clinical manifestations to atherosclerosis. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3413-3423.
52. Sandoo A, Kitas GD, Carroll D, Veldhuijzen van Zanten JJ. The role of inflammation and cardiovascular disease risk on microvascular and macrovascular endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional and longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):R117.
53. Zampeli E, Protogerou A, Stamatelopoulos K, et al. Predictors of new atherosclerotic carotid plaque development in patients with rheumatoid arthritis: a longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(2):R44.
54. van Zonneveld AJ, de Boer HC, van der Veer EP, Rabelink TJ. Inflammation, vascular injury and repair in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69 Suppl 1:i57-60.
55. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993;362(6423):801-809.

56. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. 1993;87(3 Suppl):II56-65.
57. Mackinnon AD, Jerrard-Dunne P, Sitzer M, Buehler A, von Kegler S, Markus HS. Rates and determinants of site-specific progression of carotid artery intima-media thickness: the carotid atherosclerosis progression study. *Stroke*. 2004;35(9):2150-2154.
58. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med*. 1998;128(4):262-269.
59. Kawamori R, Yamasaki Y, Matsushima H, et al. Prevalence of carotid atherosclerosis in diabetic patients. Ultrasound high-resolution B-mode imaging on carotid arteries. *Diabetes Care*. 1992;15(10):1290-1294.
60. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340(1):14-22.
61. Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J*. 2010;4:302-312.
62. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006;37(1):87-92.
63. Longstreth WT, Shemanski L, Lefkowitz D, O'Leary DH, Polak JF, Wolfson SK. Asymptomatic internal carotid artery stenosis defined by ultrasound and the risk of subsequent stroke in the elderly. The Cardiovascular Health Study. *Stroke*. 1998;29(11):2371-2376.
64. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008;21(2):93-111; quiz 189-190.
65. van Sijl AM, Peters MJ, Knol DK, et al. Carotid intima media thickness in rheumatoid arthritis as compared to control subjects: a meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum*. 2011;40(5):389-397.

66. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31(3):315-324.
67. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569-2581.
68. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003;289(19):2560-2572.
69. Karpouzas GA, Malpeso J, Choi TY, Li D, Munoz S, Budoff MJ. Prevalence, extent and composition of coronary plaque in patients with rheumatoid arthritis without symptoms or prior diagnosis of coronary artery disease. *Ann Rheum Dis.* 2013. Published Online First: July 25, 2013 doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203617.
70. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Suppl 1):1-20.
71. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2013;36 Suppl 1:S67-74.
72. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008;117(6):743-753.
73. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006;23(5):469-480.
74. van der Heijde D. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol.* 1999;26(3):743-745.
75. Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum.* 1980;23(2):137-145.
76. Fries JF, Spitz PW, Young DY. The dimensions of health outcomes: the health assessment questionnaire, disability and pain scales. *J Rheumatol.* 1982;9(5):789-793.
77. Fransen J, Stucki G, van Riel P. The merits of monitoring: should we follow all our rheumatoid arthritis patients in daily practice? *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(6):601-604.

78. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis.* 2012;34(4):290-296.
79. Plichart M, Celermajer DS, Zureik M, et al. Carotid intima-media thickness in plaque-free site, carotid plaques and coronary heart disease risk prediction in older adults. The Three-City Study. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):917-924.
80. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the British Regional Heart Study. *Stroke.* 1999;30(4):841-850.
81. Roman MJ, Moeller E, Davis A, et al. Preclinical carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med.* 2006;144(4):249-256.
82. Abu-Shakra M, Polychuck I, Szendro G, et al. Duplex study of the carotid and femoral arteries of patients with rheumatoid arthritis: a controlled study. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35(1):18-23.
83. Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Testa A, Revuelta J, Garcia-Porrúa C, Gonzalez-Gay MA. Increased prevalence of severe subclinical atherosclerotic findings in long-term treated rheumatoid arthritis patients without clinically evident atherosclerotic disease. *Medicine (Baltimore).* 2003;82(6):407-413.
84. Veller MG, Fisher CM, Nicolaides AN, et al. Measurement of the ultrasonic intima-media complex thickness in normal subjects. *J Vasc Surg.* 1993;17(4):719-725.
85. Zureik M, Ducimetière P, Touboul PJ, et al. Common carotid intima-media thickness predicts occurrence of carotid atherosclerotic plaques: longitudinal results from the Aging Vascular Study (EVA) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(6):1622-1629.
86. Pereira I, Laurindo I, Burlingame R, et al. Auto-antibodies do not influence development of atherosclerotic plaques in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2008;75(4):416-421.
87. Ristić GG, Lepić T, Glisić B, et al. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness: impact of anti-inflammatory treatment. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49(6):1076-1081.

88. Georgiadis AN, Voulgari PV, Argyropoulou MI, et al. Early treatment reduces the cardiovascular risk factors in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients. *Semin Arthritis Rheum.* 2008;38(1):13-19.
89. Georgiadis AN, Papavasiliou EC, Lourida ES, et al. Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis: effect of early treatment--a prospective, controlled study. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(3):R82.
90. Westlake SL, Colebatch AN, Baird J, et al. The effect of methotrexate on cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49(2):295-307.
91. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, et al. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke.* 1993;24(9):1297-1304.
92. Kumeda Y, Inaba M, Goto H, et al. Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002;46(6):1489-1497.
93. Del Rincón I, Williams K, Stern MP, Freeman GL, O'Leary DH, Escalante A. Association between carotid atherosclerosis and markers of inflammation in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Arthritis Rheum.* 2003;48(7):1833-1840.
94. Alkaabi JK, Ho M, Levison R, Pullar T, Belch JJ. Rheumatoid arthritis and macrovascular disease. *Rheumatology (Oxford).* 2003;42(2):292-297.
95. Daza L, Aguirre M, Jimenez M, Herrera R, Bollain JJ. Common carotid intima-media thickness and von Willebrand factor serum levels in rheumatoid arthritis female patients without cardiovascular risk factors. *Clin Rheumatol.* 2007;26(4):533-537.
96. Jonsson SW, Backman C, Johnson O, et al. Increased prevalence of atherosclerosis in patients with medium term rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2001;28(12):2597-2602.
97. Sandoo A, Chanchlani N, Hodson J, Smith JP, Douglas KM, Kitas GD. Classical cardiovascular disease risk factors associate with vascular function and morphology in rheumatoid arthritis: a six-year prospective study. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(6):R203.
98. Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part I: incidence and progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(6):1484-1490.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este trabalho foi o primeiro registro formal das características clínico-laboratoriais dos pacientes com AR tratados no serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Além de constituir um projeto de pesquisa de pós-graduação, foi desenvolvido dentro de um conjunto de ações pensadas com o intuito de proporcionar um melhor atendimento e tratamento aos pacientes no que diz respeito não só à abordagem da sua doença em si, mas também das várias comorbidades que os acometem. A partir dele, está sendo possível conhecer melhor nossa população e obter um maior entendimento das áreas em que a assistência prestada atinge os objetivos desejados e onde há déficits no alcance das metas.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A: INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES DA AMOSTRA ESTUDADA

TABELA 1: Manifestações extra-articulares (23 pacientes dos 102 participantes)

<b>Manifestação</b>	<b>N (% em 23) (% em 102)</b>
Síndrome de Sjögren secundária	7 (30,4) (6,9)
Nódulo reumatoide	6 (26,1) (4,9)
Fibrose pulmonar	4 (17,4) (3,9)
Esclerite	3 (13) (2,9)
Derrame pleural / pleurite	1 (4,3) (0,98)
Pericardite	1 (4,3) (0,98)
Síndrome de Felty	1 (4,3) (0,98)
Vasculite cutânea	1 (4,3) (0,98)
Subluxação C1-C2	1 (4,3) (0,98)

TABELA 2: Estratificação do Risco Cardiovascular, segundo SBC

<b>Categoria de Risco</b>	<b>N (%)</b>
Baixo	30 (29,4)
Intermediário	8 (7,8)
Alto	64 (62,8)

SBC: Sociedade Brasileira de Cardiologia

BAIXO RISCO: aqueles com probabilidade < 5% de apresentarem os principais eventos cardiovasculares

RISCO INTERMEDIÁRIO: homens com risco calculado  $\geq 5\%$  e  $\leq 20\%$  e mulheres com risco calculado  $\geq 5\%$  e  $\leq 10\%$  ou pacientes com risco calculado < 5% mas com história familiar positiva para doença cardiovascular prematura

ALTO RISCO: pacientes com diabetes mellitos ou com doença renal crônica ou com aterosclerose documentada pela ultrassonografia de carótidas ou risco calculado > 20% para homens e > 10% para mulheres

OBS: pacientes com risco intermediário são reclassificados como alto risco se apresentarem história familiar positiva para doença cardiovascular prematura, diagnóstico de síndrome metabólica ou medida da EMI > 1mm

Após a realização da ultrassonografia de carótidas, 1 paciente de baixo risco e 14 de risco intermediário foram reclassificados para alto risco devido ao achado de placa aterosclerótica (os dados mostrados acima já consideram essa reclassificação).

(Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Suppl 1):1-20 e D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008; 117(6):743-753)

TABELA 3: Frequência das alterações nos lipídios séricos

	N (%)
Uso de hipolipemiante	28 (27,5)
Triglicérides $\geq$ 150	34 (33,3)
c-HDL baixo (< 40 para homens e < 50 para mulheres)	29 (28,4)
c-LDL $\geq$ 160	4 (3,9)
c-LDL $\geq$ 130	25 (24,5)
c-LDL > 100	61 (59,8)
c-LDL acima da meta terapêutica	80 (78,4)*

\*23 (30,6%) em uso de hipolipemiante

Meta terapêutica do c-LDL de acordo com o risco cardiovascular – alto risco: < 70; risco intermediário: < 100; baixo risco: < 130 ou < 100 na presença HAS.

(Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Suppl 1):1-20 e Pereira IA, Mota LMH, Cruz BA et al. Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre o manejo de comorbidades em pacientes com artrite reumatoide)

TABELA 4 – Características das placas ateroscleróticas

	N	%
<b>Número de placas por paciente</b>		
0	78	76,5
1	16	15,7
2	3	2,9
3	3	2,9
4	2	2
<b>Presença de placa (n=24)</b>		
Bilateral	8	33,3
Unilateral	16	66,7
<b>Grau de estenose das placas</b>		
<20	11	45,8
20-50	11	45,8
>50	2	8,3

## APENDICE B: PROJETO DE PESQUISA

### PROCOLO DE PESQUISA

#### I.1. TÍTULO DO PROJETO:

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA 33 E SEU RECEPTOR SOLÚVEL E A PRESENÇA DE ATROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM CARÓTIDAS, EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE**

#### I.2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL\*

Nome Orientador: Marcus Vinícius Melo de Andrade  
Identidade: M2720437 CPF: 909992156-04  
Endereço: Av. Alfredo Balena 190, 2º andar, sala 295. Santa Efigênia, Belo Horizonte MG.

Correspondência: Av. Alfredo Balena 190, 2º andar, sl 295. Sta Efigênia, Belo Horizonte, MG.

Telefone: 31 3409-9762 Fax: Correio eletrônico:  
[andradem@medicina.ufmg.br](mailto:andradem@medicina.ufmg.br)

Nome Aluno: Maria Raquel da Costa Pinto  
Identidade: M7570058 CPF: 028552516-64  
Endereço: Rua Genoveva de Souza 1241, apto 502. Sagrada Família, Belo Horizonte MG.

Correspondência: R Genoveva de Souza 1241 / 502. Sagrada Família, Belo Horizonte MG.

Telefone: 31 3409-9532 / 31 9991-9107 Fax: Correio eletrônico: [mraraquel@terra.com.br](mailto:mraraquel@terra.com.br)

#### I.3. INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, FACULDADE DE MEDICINA, DEPARTAMENTO APARELHO LOCOMOTOR

#### I.4. PROJETO APROVADO EM

\_\_\_\_\_  
Diretor da Unidade

\_\_\_\_\_  
Chefe do Departamento

\_\_\_\_\_  
Recebido na Comissão de Ética da UFMG em

\_\_\_\_\_  
Para o relator em

\_\_\_\_\_  
Parecer avaliado em reunião de

\_\_\_\_\_  
Aprovado: Diligência/pendências:

\_\_\_\_\_  
Não aprovado:

## II. TÍTULO DO PROJETO

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA 33 E SEU RECEPTOR SOLÚVEL E A PRESENÇA DE ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM CARÓTIDAS, EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE

## III. SUMÁRIO DO PROJETO (NÃO EXCEDA O ESPAÇO ABAIXO)

A artrite reumatóide (AR) é uma doença autoimune crônica e sistêmica que cursa com poliartrite periférica, resultado de inflamação sinovial. Além do seu grande potencial para destruição articular, a AR também é comprovadamente um fator de risco independente para mortalidade precoce por doença cardiovascular (DCV). A interleucina 33 (IL-33) é uma citocina descoberta recentemente que está associada, em modelos animais, à amplificação da inflamação articular. Em humanos, foi descrito aumento dos níveis séricos de IL-33 em pacientes com AR, sugerindo potencial papel na fisiopatologia da doença. Também vem sendo estudado o papel dessa interleucina em eventos cardiovasculares, mas seu exato papel nesse contexto ainda está por se definir. Alguns estudos mostraram efeito protetor em relação ao desenvolvimento de placas ateroscleróticas e outros evidenciaram efeito ativador de células endoteliais. A relação entre níveis séricos de IL-33 e seu receptor ST2 e a presença de lesões ateroscleróticas subclínicas em AR ainda não foi estudada. **Objetivo do estudo:** Trata-se de um estudo transversal cujo objetivo primário é verificar a possível associação entre os níveis séricos de IL-33 e de seu receptor solúvel ST2 (sST2) e a presença de aterosclerose subclínica em pacientes com AR. **Métodos:** Serão estudados pacientes adultos com diagnóstico de AR, incluídos de maneira consecutiva dentre os indivíduos já em acompanhamento no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Não serão incluídos indivíduos que apresentem doença aterosclerótica manifesta ou outras doenças do tecido conjuntivo. Os pacientes serão submetidos à avaliação clínica e responderão a questionários de qualidade de vida e incapacidade funcional (HAQ e SF-36). Será colhida uma amostra de sangue em veia periférica para a determinação dos níveis séricos de IL-33 e de sST2. Informações clínicas e epidemiológicas de cada indivíduo serão pesquisadas por questionários específicos e pela revisão dos prontuários. A atividade da AR será medida por meio do cálculo do índice *Disease Activity Score* em 28 articulações (DAS28). A avaliação da presença de aterosclerose subclínica será feita utilizando-se exame ultrassonográfico das artérias carótidas com pesquisa de placas ateroscleróticas e determinação da espessura do complexo médio-intimal da parede arterial. **Relevância:** Os resultados poderão contribuir para melhor compreensão dos fatores envolvidos na associação da AR com as doenças cardiovasculares, além de avaliar a participação da IL-33 nessa interface.

Palavras-chave (8 palavras, no máximo): *artrite reumatóide, interleucina 33, aterosclerose, risco cardiovascular*

Data prevista para o início do projeto: março de 2012

Data prevista para o encerramento: fevereiro de 2014

Declaração de apoio institucional

Eu confirmo ter lido este protocolo e, se a proposta for financiada, o trabalho será realizado e administrado pelo Departamento/Instituição, de acordo com as condições gerais do edital e das normas do Conselho Nacional de Saúde. Eu também confirmo que o Pesquisador Principal é funcionário desta instituição.

Nome:

Data:

Cargo:

## IV. DESCRIÇÃO DA PESQUISA

### IV.1. Objetivos da pesquisa / Hipóteses a testar

#### Objetivo Geral:

Verificar a possível associação dos níveis séricos de IL-33, sST2 e taxa IL-33/sST2 com a presença de aterosclerose subclínica em carótidas, avaliada por ultrassonografia dessas artérias, em um grupo de pacientes com artrite reumatóide acompanhados no Serviço de Reumatologia, Ambulatório Bias Fortes, do Hospital das Clínicas da UFMG.

#### Objetivos Específicos:

1. Determinar os níveis séricos de IL-33, sST2 e taxa de IL-33/sST2 no grupo de pacientes estudados e avaliar a correlação destes com a atividade da AR, determinada pelo índice *Disease Activity Score* em 28 articulações (DAS28).
2. Determinar a presença e a frequência de fatores de risco tradicionais para doença arterial coronariana (DAC) na população estudada.
3. Determinar a porcentagem de pacientes com placa aterosclerótica e a medida da espessura do complexo médio-intimal em carótidas nessa amostra e verificar os possíveis fatores associados à sua presença (fatores de risco tradicionais para DAC e características clínicas, laboratoriais e de tratamento da artrite reumatóide).

### IV.2. Antecedentes científicos, relevância e justificativa da pesquisa (explicitando as referências bibliográficas)

A artrite reumatóide (AR) é uma doença sistêmica crônica de origem autoimune que acomete as articulações sinoviais, em geral com distribuição simétrica. Acomete 0,5 a 2% da população, tem distribuição mundial e ocorre em ambos os sexos, com predominância feminina (2-4 mulheres para cada homem) (SENNA *et al.*, 2004, DELGADO-VEGA *et al.*, 2006). Sua etiologia ainda não foi completamente elucidada e sua fisiopatologia é multifatorial e complexa. Acredita-se que tanto componentes ambientais, como o tabagismo, quanto genéticos influenciam o seu aparecimento (GLOSSOP *et al.*, 2006). A poliartrose periférica, característica clínica principal da doença, é o resultado da inflamação sinovial. Os fibroblastos da membrana sinovial inflamada são produtores de diversas citocinas, dentre elas a interleucina 33 (IL-33), e de metaloproteinasas, importantes enzimas no processo de degradação da cartilagem articular (VERRI *et al.*, 2010).

A IL-33 é o membro mais recentemente descoberto da família da IL-1, que inclui a IL-1 $\beta$  e a IL-18. Da mesma forma que essas duas citocinas, considera-se que a IL-33 desempenha funções de modulação da resposta imunológica (SCHMITZ *et al.*, 2005). Entretanto, de forma diferente da IL-1 $\beta$  e da IL-18, que promovem principalmente respostas associadas aos linfócitos T *helper* do tipo 1 (Th1), a IL-33 predominantemente induz a produção de citocinas pelos linfócitos T *helper* do tipo 2 (Th2), como IL-5 e IL-13, e a produção de imunoglobulina. Sabe-se que a IL-33 liga-se ao receptor ST2 (SCHMITZ *et al.*, 2005). O gene do ST2 codifica duas isoformas da proteína: ST2L, uma forma transmembrana, e ST2 solúvel (sST2), uma forma secretada que atua como um inibidor da IL-33. O ST2L é preferencialmente expresso nas células Th2, mas não nas Th1 (XU, 1998).

É sabido que a sinalização IL-33/ST2 age como um sistema intracelular que participa da resposta antígeno-alérgico, da autoimunidade e dos processos de fibrose. Existem fortes evidências de que essa sinalização esteja envolvida na patogênese da AR, já tendo sido especificamente mapeada na membrana sinovial reumatóide (SCHMITZ *et al.*, 2005; HONG *et al.*, 2011). Também foi demonstrado que a IL-33 está associada à ativação de fibroblastos em modelos animais, podendo amplificar a inflamação articular (VERRI *et al.*, 2010). Hong e colaboradores em um estudo com 81 pacientes coreanos com AR encontraram níveis de IL-33

no soro e no líquido sinovial significativamente mais elevados nesses pacientes quando comparados aos níveis de indivíduos sadios e daqueles com osteoartrite. As concentrações séricas de sST2 também foram mais altas nos pacientes de AR quando comparados aos controles saudáveis. Os níveis de sST2 e da IL-33 diminuíram junto com a proteína C reativa após o início do uso de imunossupressores nos pacientes de AR virgens de tratamento (HONG *et al*, 2011). Esses resultados sugerem que a IL-33 está envolvida na patogênese da AR e que pode refletir o grau de inflamação dos pacientes.

Além de participar dos mecanismos fisiopatológicos da AR, a sinalização IL-33/ST2 está atualmente sob investigação quanto ao seu papel no processo de aterosclerose (MILER *et al*, 2011). A IL-33 e o receptor ST2 são expressos nas células endoteliais venosas humanas e no endotélio arterial coronariano, assim como na aorta torácica de camundongos deficientes de apolipoproteína E (ApoE<sup>-/-</sup>) (MILLER *et al*, 2008; CHOI *et al*, 2009). Miller e colaboradores demonstraram que a administração de IL-33 para tais camundongos induziu a produção de citocinas Th2 e de anticorpos anti-LDL oxidada que desempenhariam papel protetor contra aterosclerose. Isso reduziu de forma significativa o desenvolvimento de placas ateroscleróticas no seio aórtico dos animais. De modo contrário, os camundongos tratados com sST2 desenvolveram placas ateroscleróticas significativamente maiores. Esses resultados apontam um novo papel para a relação IL-33/ST2 no controle do balanço Th1/Th2 e na geração de autoanticorpos protetores na aterosclerose (MILLER *et al*, 2008). Entretanto, já foi demonstrado que nas células endoteliais humanas a IL-33 induz a ativação inflamatória evidenciada pelo aumento da permeabilidade vascular, da produção de citocinas inflamatórias e da estimulação da angiogênese (CHOI *et al*, 2009). Demyanets e colaboradores em um estudo recente comprovaram pela primeira vez que a IL-33 está presente nas áreas de lesões ateroscleróticas humanas e que estimula a expressão das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1, E-selectina e da quimiocina MCP-1 em células endoteliais de artérias coronárias e de veias umbilicais (DEMYANETS *et al*, 2011). Dado o fato de que a expressão dessas moléculas em lesões ateroscleróticas tem sido relatada como aumentada durante a aterogênese, o que parece estar diretamente associado com a progressão da placa (LIBBY, 2002), os autores postularam que a IL-33 pode contribuir com os eventos precoces de disfunção endotelial envolvidos no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas na parede vascular (Demyanets *et al*, 2011). Como se pode ver, o papel exato da participação da IL-33 e da sua interação com o sST2 nos mecanismos da aterogênese ainda está por se definir.

Os pacientes com AR apresentam morbidade e mortalidade aumentadas em relação à população geral, estimando-se que sua sobrevivência esteja diminuída em uma década (PINCUS *et al.*, 1984). De fato, além de ser uma condição com potencial para destruição articular, incapacidade funcional e redução da qualidade de vida, a AR constitui um fator de risco independente para mortalidade precoce dos pacientes em comparação a indivíduos da população geral. Essa mortalidade precoce muitas vezes está associada ao maior risco de morte por doenças cardiovasculares (DCV) (SALMON *et al*, 2008). Realmente, esse grupo de doenças pode ser considerado a principal causa de mortalidade na população com AR, totalizando aproximadamente metade das mortes observadas em coortes internacionais (WALBERG-JONSSON *et al*, 1997 e MYASOEDOVA *et al*, 2010). Como exemplo, temos que, em uma coorte de pacientes com AR inicial acompanhada por aproximadamente 15 anos, foi constatado um aumento significativo no risco de mortalidade geral e morte por DCV, cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca em comparação aos controles (KREMERS *et al.*, 2008). Gabriel descreveu que os eventos cardiovasculares ocorrem aproximadamente uma década mais cedo nos pacientes com AR (GABRIEL, 2008), sugerindo que, assim como o *diabetes mellitus*, essa doença é um fator de risco independente e significativo para doença arterial coronariana (DAC). A causa da aterosclerose precoce e acelerada não está completamente elucidada, mas é provável que a combinação de fatores de risco tradicionais

para DAC e fatores de risco não tradicionais, como a inflamação persistente, sejam importantes para o aparecimento e desenvolvimento da aterosclerose subclínica e clinicamente manifesta nos pacientes (FROSTEGARD, 2005 e SALMON *et al*, 2008). Estudos têm demonstrado que indivíduos com AR possuem risco até três vezes maior de novo evento cardiovascular quando comparados a indivíduos sem doenças inflamatórias mesmo após correção para fatores de risco tradicionais para DAC. Ainda, pacientes com manifestações extra-articulares, geralmente associadas à maior inflamação sistêmica, apresentam maior mortalidade por DCV (FROSTEGARD, 2005).

Os mediadores inflamatórios circulantes podem influenciar a integridade da parede arterial, onde promovem diferentes estágios de aterosclerose, desde disfunção endotelial e desenvolvimento de placa até sua ruptura (SATTAR *et al*, 2003; GONZALEZ-GAY *et al*, 2005). A aterosclerose se desenvolve como um processo patológico sistêmico difuso e já está presente vários anos antes que a primeira manifestação clínica ocorra. Técnicas não invasivas têm sido desenvolvidas para se detectar alterações vasculares associadas com a aterosclerose inicial pré-clínica. Dessas, a avaliação da espessura do complexo médio-intimal da parede de carótidas (EMI) é das mais amplamente utilizadas. A medida da EMI está associada de forma independente ao aumento do risco de DCV na população geral (O'LEARY *et al*, 1999). Este método também já foi amplamente utilizado na avaliação de populações de alto risco para DCV, como a de pacientes com AR (VAN SIJL *et al*, 2011). Estima-se que uma diferença de 0,1mm na EMI de carótidas esteja associada a aumento de 10 a 15% no risco de infarto do miocárdio e de 13 a 18% no risco de acidente vascular encefálico (BOTS *et al*, 1997). De fato, Gonzalez-Juanatey e colaboradores comprovaram que a EMI apresentou um alto poder preditivo para o desenvolvimento de eventos cardiovasculares ao longo do período de cinco anos de seguimento de 47 pacientes com AR sem doença cardiovascular clinicamente evidente à época da realização do exame (GONZALEZ-JUANATEY *et al*, 2009).

Concluindo, com o estudo proposto pretende-se avaliar a possível associação dos níveis séricos de IL-33 e sST2 com a aterosclerose subclínica em pacientes com AR. Acredita-se que esta pesquisa possa proporcionar uma melhor compreensão da variabilidade clínica e laboratorial da AR no nosso meio, assim como da sua associação com DCV, tendo como enfoque a participação da IL-33 sérica nessa interface. Até o momento presente, segundo nosso conhecimento, não se estudou a participação dessa interleucina no processo aterosclerótico em pacientes com AR. Além disso, o estudo da IL-33 e sua relação com o seu receptor solúvel *in vivo* tem sua importância na identificação de novos alvos terapêuticos, representados pelas diversas citocinas implicadas na fisiopatologia da AR. Finalizando, o reconhecimento dos pacientes com maior atividade da doença e com fatores de risco cardiovascular permite uma abordagem mais efetiva dessas condições.

#### **Referências:**

- BOTS ML, HOES AW, KOUDSTAAL PJ, HOFMAN A, GROBEE DE: Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997; 96 (5): 14432-7.
- CHOI YS, CHOI HJ, MIN JK, PYUN BJ, MAENG YS, PARK H *et al*: Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood* 2006; 114: 3117-3126.
- DELGADO-VEGA AM, MARTÍN J, GRANADOS J, ANAYA JM: Epidemiologia genética de la artritis reumatóide: qué esperar de América Latina? *Biomédica* 2006; 26: 562-84.
- DEMYANETS S, KONYA V, KASTL SP, KAUN C, RAUSCHER S, NIESSNER A *et al*: Interleukin-33 induces expression of adhesion molecules and inflammatory activation in human endothelial cells and in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 2080-2089.

FROSTEGARD J: Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1776-1785.

GABRIEL SE: Cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2008; 121(10 Suppl 1):S9-14.

GLOSSOP JR, DAWES PT, MATTEY DL: Association between cigarette smoking and release of tumor necrosis factor  $\alpha$  and its soluble receptors by peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2006; 45: 1233-1229.

GONZALEZ-GAY MA, GONZALEZ-JUANATEY C, MARTIN J: Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35(1): 8-17.

GONZALEZ-JUANATEY C, LLORCA J, MARTIN J, GONZALEZ-GAY MA: Carotid intima-media thickness predicts the development of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Seminars Arthritis Rheum* 2009, 38: 366-371.

HONG YS, MOON SJ, JOO YB, JEON CH, CHO ML, JU JH *et al*: Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with Rheumatoid Arthritis. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 1132-1139.

KREMERS HM, CROWSON CS, THERNEAU TM, ROGER VL, GABRIEL SE: High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2268-74.

LIBBY P: Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874.

MILLER AM, XU D, ASQUITH DL, DENBY L, LI Y, SATTAR N *et al*: IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J Exp Med* 2008; 205: 339-346.

MILLER AM, LIEW FY: The IL33/ST2 pathway – a new therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol Therap* 2011; 131: 179-186.

MYASOEDOVA E, GABRIEL SE: Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: a step forward. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22:342-7.

O'LEARY DH, POLAK JF, KRONMAL RA, MANOLIO TA, BURKE GL, WOLFSON SK Jr: Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340 (1): 14-22.

PINCUS T, CALLAHAM LF, SALE WG, BROOKS AL, PAYNE LE, VAUGHN WK: Severe functional declines, work disability, and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years. *Arthritis Rheum* 1984; 27(8): 864-72.

SALMON JE, ROMAN M: Subclinical atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis and systemic Lupus Erythematosus. *Am J Med*, 2008, 121: S3-S8.

SATTAR N, McCAREY DW, CAPELL H, McINNES IB: Explaining how “high-grade” systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003; 108(24): 2957-63.

SCHMITZ J, OWYANG A, OLDHAM E, SONG Y, MURPHY E, McCLANAHAN TK *et al*: IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005; 23: 479-490.

SENNA ER, DE BARROS AL *et al*: Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol* 2004; 31(3): 594-7.

VAN SIJL AM, PETERS MJ, KNOL DK *et al*: Carotid intima media thickness in rheumatoid arthritis as compared to control subjects: a meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum* 2011; 40: 389-387.

VERRI WA Jr, SOUTO FO, VIEIRA SM, ALMEIDA SC, FUKADA SY, XU D *et al*: IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis* 2010; 69 (9): 1697 – 1703.

WALBERG-JONSSON S, OHMAN ML, DAHLQVIST SR: Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive rheumatoid arthritis in Northern Sweden. *J Rheumatol* 1997; 24: 445-451.

XU D, CHAN WL, LEUNG BP, HUANG F, WHEELER R, PIEDRAFITA D *et al*: Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. *J Exp Med* 1998; 187: 787-794.

#### **IV.3. Descrição detalhada e ordenada do projeto de pesquisa (material e métodos, casuística)**

Este projeto constitui parte da pesquisa intitulada: “Avaliação longitudinal clínica, laboratorial, de imagem e em qualidade de vida de pacientes com Artrite Reumatóide acompanhados pelo Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais”, já enviada para aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, conforme comprovante anexado ao final.

O presente projeto trata de uma pesquisa delineada como estudo transversal. Serão estudados pacientes com 18 anos ou mais de idade, de ambos os sexos, com diagnóstico confirmado de artrite reumatóide (AR), segundo os critérios classificatórios do Colégio Americano de Reumatologia (*American College of Rheumatology - ACR*), 1987 e/ou da Liga Européia contra o Reumatismo/ACR (*EULAR/ACR*), 2010 (ANEXO I). Os pacientes serão incluídos de maneira consecutiva dentre os 290 indivíduos já em acompanhamento nos ambulatórios de Artrite Reumatóide do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Estima-se uma amostra de cem pacientes como representativa da população estudada. Após a coleta dos dados, realização dos procedimentos da pesquisa e obtenção dos resultados referentes aos primeiros trinta pacientes, será realizado novo cálculo da amostra para ajuste do seu tamanho.

Durante visita periódica ao Serviço de Reumatologia, os pacientes serão convidados a participar do estudo. Todos terão acesso à leitura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO II) e esclarecimento de dúvidas, para então assiná-lo antes da realização de qualquer procedimento. Não serão incluídos pacientes que apresentem doença aterosclerótica manifesta (definida por histórico ou presença de angina *pectoris*, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico e insuficiência arterial periférica) ou outras doenças do tecido conjuntivo (síndromes de sobreposição), com exceção para a Síndrome de Sjögren secundária.

Os pacientes serão submetidos à avaliação clínica e epidemiológica, em seguida será realizado um exame físico completo, com contagem de articulações edemaciadas e dolorosas, realizados pela investigadora, segundo protocolo específico do estudo (ANEXO III). No mesmo dia, responderão aos questionários de qualidade de vida e incapacidade funcional (SF-36 e HAQ) (ANEXOS IV e V), nas suas versões validadas para o Brasil. A aplicação desses questionários será realizada por membros treinados da equipe de pesquisa, cegos para o estado de atividade da AR e demais informações clínicas e laboratoriais. As informações sobre critérios diagnósticos, manifestações clínicas e laboratoriais, co-morbidades - incluindo fatores de risco para doença coronariana - assim como os tratamentos atuais e prévios, serão obtidas por questionário desenvolvido para o estudo e por revisão dos prontuários (ANEXO VI). Serão coletados dados de exames laboratoriais realizados pelos pacientes, segundo o protocolo para o atendimento em AR do Serviço de Reumatologia (ANEXO VII). Será colhida amostra única de sangue em veia periférica (15 ml) para a determinação dos níveis séricos de IL-33 e do seu receptor sST2. Para maior conveniência dos participantes, todos os procedimentos acima citados serão realizados em um único dia, coincidindo com uma data de consulta de rotina no serviço previamente agendada. Exceção será feita para a coleta de dados dos prontuários, que poderá ser realizada em qualquer momento a partir da assinatura do TCLE.

A intensidade da atividade da AR será avaliada pelo cálculo do índice *Disease Activity Score* em 28 articulações, o DAS28. Para esse cálculo, serão utilizadas quatro variáveis: contagem de 28 articulações (lado direito e esquerdo: ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais das mãos e joelhos) quanto à presença de dor e edema, velocidade de hemossedimentação (VHS) na primeira hora e escala visual analógica de saúde geral / atividade global da doença avaliada pelo paciente, cujos valores variam de zero a cem. O valor da VHS utilizado será aquele realizado pelo paciente como parte da rotina de avaliação, feito na data mais próxima à do exame físico desta pesquisa. Serão usadas calculadoras apropriadas para a determinação do valor do DAS28. Os pacientes serão classificados de acordo com a tabela abaixo:

DAS28 < 2,6	Remissão (doença inativa)
2,6 < DAS28 ≤ 3,2	Atividade leve
3,2 < DAS28 ≤ 5,1	Atividade moderada
DAS28 > 5,1	Atividade elevada

A avaliação da presença de aterosclerose subclínica será feita utilizando-se a ultrassonografia das artérias carótidas com a pesquisa de placas ateroscleróticas e determinação da espessura do complexo médio-intimal (EMI). Será utilizado equipamento de ultrassonografia de alta resolução com *software* arterial específico. As artérias carótidas comum, interna e externa, direita e esquerda, serão analisadas em múltiplos planos em busca de placas ateroscleróticas, definidas como área de protrusão em direção ao lúmen do vaso com espessura, no mínimo, 50% maior que a espessura da área ao redor. A EMI será medida na parede posterior da artéria carótida comum distal direita e esquerda, imediatamente antes do bulbo. Serão realizadas três medidas e calculada a média. Será considerada, para análise estatística, a maior média, direita ou esquerda, de cada paciente. Todos os exames serão realizados por um único profissional experiente no método, cego para as condições clínicas e fatores de risco dos pacientes, no mesmo serviço de ultrassonografia especializado. O agendamento dos exames será feito segundo a disponibilidade dos pacientes e sem ônus para o projeto ou para o indivíduo da pesquisa (vide declaração do examinador, Dr. Adriano José de Souza, anexada ao final). O intervalo aceito entre a avaliação clínica dos pacientes, com coleta de sangue, e a realização da ultrassonografia será de quatro semanas.

As dosagens da IL-33 e de seu receptor serão feitas pelo método de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), seguindo as recomendações do fabricante dos kits (Human IL-33 DuoSet Economy Pack e sST2 DuoSet-ELISA sandwich assay, ambos R&D System Inc, Minneapolis, MN, USA).

Será utilizado o pacote estatístico SPSS versão 12.0 para armazenamento e análise dos dados. As variáveis categóricas serão apresentadas como número (%) e as contínuas como média e desvio padrão (DP) ou mediana e intervalo interquartil (IIq) de acordo com sua distribuição. A análise multivariada será realizada utilizando-se a regressão logística e a regressão linear múltipla, sendo considerado significativo  $p < 0,05$ .

A data prevista para início do estudo é março de 2012, com previsão de término em fevereiro de 2014.

#### IV.4. Plano de coleta e análise dos dados

Este projeto está previsto para ser realizado em 24 meses, período estimado para a avaliação da amostra de pacientes, análise dos dados obtidos e redação do material científico.

ATIVIDADES/SEMESTRE	1 <sup>o</sup>	2 <sup>o</sup>	3 <sup>o</sup>	4 <sup>o</sup>
Ética	x			
Pesquisa Bibliográfica	x	x	x	x
Inclusão de pacientes	x	x		
Coleta prospectiva de dados	x	x	x	
Montagem de banco de dados	x	x	x	
Análise dos resultados		x	x	x
Resultados finais e elaboração do material científico para publicação			x	x

#### IV.5. Análise crítica dos possíveis riscos e benefícios

Não há risco para os pacientes, já que se trata de estudo observacional.

#### IV.6. Plano de divulgação dos resultados

Os resultados desta pesquisa serão divulgados em forma de resumo e pôsteres em eventos científicos e por meio de envio de artigos para publicação em periódicos nacionais e internacionais.

#### IV.7. Explicação dos critérios para interromper ou suspender a pesquisa

Não se aplica.

#### IV.8. Local da pesquisa (detalhar as instalações dos serviços, centros, comunidades e instituições nas quais se processarão as várias etapas da pesquisa; Demonstrativo da existência de infraestrutura necessária ao desenvolvimento da pesquisa e para atender os eventuais problemas dela resultantes):

O estudo será conduzido no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Bias Fortes, localizado à Alameda Álvaro Celso, 175, 2<sup>o</sup> andar. As dosagens da IL-33 e de seu receptor serão feitas no Laboratório de Fisiopatologia Cirúrgica (LabCir) localizado na Faculdade de Medicina da UFMG, sala 295. O exame ultrassonográfico arterial de todos os pacientes será realizado na Clínica Radiológica CONRAD, localizada à Rua dos Otoni, 909, bairro Santa Efigênia, Belo Horizonte. Todos os locais possuem infraestrutura adequada aos procedimentos da pesquisa.

#### IV.9. Orçamento financeiro detalhado (recursos, fontes e destinação, bem como a forma e o valor da remuneração do pesquisador) - preencher as folhas específicas

Não se aplica. Os procedimentos serão realizados sem ônus para o paciente ou para o hospital.

**IV.10. Explicitação de existência ou não de acordo preexistente quanto à propriedade das informações geradas (demonstrando a inexistência de qualquer cláusula restritiva quanto à divulgação pública dos resultados, a menos que se trate de caso de obtenção de patenteamento; neste caso, os resultados devem se tornar públicos tão logo se encerre a etapa de patenteamento). Se houver acordo ou contrato, incluí-lo.**

Não se aplica.

**IV.12. Declaração que os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não.**

Declaro que os resultados da pesquisa se tornarão públicos, sejam eles favoráveis ou não.

**IV.13. Declaração sobre o uso e destinação do material e/ou dados coletados**

Os dados serão coletados e armazenados pelos investigadores e mantidos em sigilo. Os dados obtidos serão utilizados apenas para os fins deste estudo. A confidencialidade dos sujeitos de pesquisa está garantida.

## V. INFORMAÇÕES RELATIVAS AOS SUJEITOS DA PESQUISA

**V.1. Descrição das características da população a estudar (tamanho, faixa etária, sexo, cor (classificação do IBGE), estado geral de saúde, classes e grupos sociais, etc. Caso se trate de pesquisa em grupos vulneráveis, justificar as razões para o envolvimento destes grupos).**

Serão incluídos pacientes com diagnóstico de artrite reumatóide, com mais de 18 anos, sem restrição de sexo, cor ou nível sócio-econômico, dentre os 290 indivíduos já em acompanhamento no ambulatório de Artrite Reumatóide do serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Essa população não constitui grupo vulnerável.

**V.2. Descrição dos métodos que possam afetar diretamente os sujeitos da pesquisa**

A metodologia na pesquisa não inclui procedimento que possa afetar negativamente os sujeitos da pesquisa.

**V.3. Identificação das fontes de material para a pesquisa (tais como espécimens, registros e dados a serem obtidos de seres humanos), com indicações se esse material será usado especificamente para os propósitos da pesquisa ou se será usado para outros fins**

Serão fonte de material para a pesquisa os dados colhidos por ocasião dos atendimentos de rotina dos pacientes, bem como os registros dos atendimentos progressos no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Também serão utilizados os dados e resultados dos exames laboratoriais aos quais rotineiramente os pacientes são submetidos e os resultados obtidos pela dosagens de citocinas e pela ultrassonografia de carótidas. Todas as informações serão utilizadas exclusivamente para fins da pesquisa, sendo mantidas a confidencialidade dos sujeitos da pesquisa.

**V.4. Descrição do plano de recrutamento de indivíduos e os procedimentos a serem seguidos**

Os pacientes atendidos regularmente no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG e que preencherem critérios de inclusão serão consecutivamente convidados a participar da pesquisa. Terão tempo para leitura e esclarecimentos sobre o termo de consentimento livre e esclarecido e, após assinarem o documento, serão encaminhados para os procedimentos do estudo.

**V.5. Anexar o formulário de consentimento livre e esclarecido (de acordo com o item IV da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde), específico para a pesquisa, para a apresentação do Comitê de Ética em Pesquisa, com informações sobre as circunstâncias nas quais o consentimento será obtido, quem irá tratar de obtê-lo e a natureza das informações a serem fornecidas aos sujeitos da pesquisa**

Em anexo (ANEXO II). O projeto já foi aprovado pela Câmara Departamental, pela gerência da Unidade Funcional (Anexo Bias Fortes) e encaminhado ao COEP-UFMG.

O CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO SERÁ OBTIDO APÓS CONVITE VERBAL AO PACIENTE PARA PARTICIPAR DA PESQUISA. ISSO SERÁ FEITO PELA PESQUISADORA, QUE IRÁ INFORMAR AO INDIVÍDUO SOBRE O SIGILO EM RELAÇÃO À SUA IDENTIDADE E QUE O ESTUDO NÃO ENVOLVE PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS OU TESTES TERAPÊUTICOS DE QUALQUER NATUREZA. SERÃO INFORMADOS OS OBJETIVOS E QUAIS PROCEDIMENTOS SERÃO FEITOS. SERÁ EXPLICITADO QUE A PARTICIPAÇÃO É VOLUNTÁRIA E QUE A RECUSA EM TOMAR PARTE NÃO ACARRETERÁ NENHUM PREJUÍZO AOS SEUS TRATAMENTO E ACOMPANHAMENTO HABITUAIS NO AMBULATÓRIO. OS POSSÍVEIS PARTICIPANTES TERÃO INTEIRA LIBERDADE DE ESCLARECER SUAS DÚVIDAS EM RELAÇÃO AO PROJETO ANTES DE ASSINAR O TERMO DE CONSENTIMENTO.

**V.6. Descrição de quaisquer riscos, com avaliação de sua possibilidade e gravidade**

Não há riscos adicionais para os sujeitos de pesquisa.

**V.7. Descrição das medidas para proteção ou minimização de quaisquer riscos eventuais (quando apropriado, descrever as medidas para assegurar os necessários cuidados à saúde, no caso de danos aos indivíduos; e os procedimentos para monitoramento de coleta de dados para prover a segurança dos indivíduos, incluindo as medidas de proteção a confidencialidade das informações obtidas)**

Os dados serão coletados e manipulados apenas pelos pesquisadores, sendo garantido a alimentação e manutenção de banco de dados apenas pela pesquisadora candidata à pós-graduação e seus orientadores.

**V.8. Explicitar se há previsão de ressarcimento de gastos (quais) aos sujeitos da pesquisa (a importância referente não poderá ser de tal monta que possa interferir na decisão do indivíduo ou responsável de participar ou não da pesquisa)**

Não há previsão de qualquer pagamento aos sujeitos da pesquisa.

**TERMO DE COMPROMISSO**

Declaramos que todos os pesquisadores envolvidos cumprirão os termos da Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde. Termo em anexo.

**VI. QUALIFICAÇÃO DOS PESQUISADORES**

*Curriculum vitae* simplificado (modelo PRPq) do pesquisador responsável e de cada um dos demais participantes.

Marcus Vinícius Melo de Andrade lattes <http://lattes.cnpq.br/7574097294884590>

Maria Raquel da Costa Pinto lattes <http://lattes.cnpq.br/4225793554079091>

## APÊNDICE C: INSTRUMENTOS UTILIZADOS

### Ficha de avaliação transversal

AMBULATÓRIO DE ARTRITE REUMATÓIDE  
SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS – UFMG

#### Identificação:

Registro SAME: _____	Número do protocolo AR: _____ / _____
Data do protocolo: ____ / ____ / _____	Data de nascimento: ____ / ____ / _____
Endereço: _____	Nº: _____
Complemento: _____ Bairro: _____	Cidade: _____ Estado: ____
Telefone: (____) _____ - _____	Naturalidade: _____

#### Dados Demográficos:

<b>Gênero:</b> 0.Feminino ( )                      1. Masculino ( )
<b>Estado civil</b> (1. Casado 2. Solteiro 3. Separado 4. Viúvo 5. União estável): ____
<b>Cor</b> (Auto-referenciada: 1. Branca 2. Preta 3. Amarela 4. Parda 5. Indígena): ____
<b>Tipo de residência</b> (1. Zona urbana 2. Zona rural): ____
<b>Saneamento básico</b> (0. Não 1. Sim 9. NSA):
Água encanada: ____                      Rede de esgoto: ____                      Luz Elétrica: ____
<b>Anos de estudo:</b> ____ anos                      Escolaridade: ____
(1. analfabeto 2. ensino fundamental incompleto 3. ensino fundamental completo 4. ensino médio incompleto 5. ensino médio completo 6. ensino superior incompleto 7. ensino superior completo)
<b>Ocupação</b> (1. Desempregado 2. Aposentado 3. Pensionista 4. Trabalho no domicílio sem renda 5. Trabalho no domicílio com renda 6. Estudante 7. Trabalho informal 8. Trabalho formal 9. Afastamento INSS – com renda 10. Outro):
Início dos sintomas da Artrite Reumatóide: ____                      Atual: ____
<b>Afastamento trabalho ou auxílio da pela AR - qquer momento</b> (0. Não 1. Sim 9. NSA):

#### História Familiar (parentes de primeiro grau) (0. Não 1. Sim 9. NSA/ Não sabe)

AR ____
Doença reumática inflamatória ____                      Qual: _____
Doença auto-imune ____                      Qual: _____
Evento Coronariano ____                      Qual: _____

#### História obstétrica (0. Não 1. Sim 9. NSA/ Não sabe)

G ____ P ____ A ____    Obs: _____
Método contraceptivo (pacientes do sexo masculino também): _____
Pós-menopausa: ____    Data: ____ / ____ / _____                      FSH: ____ U/L    Data: ____ / ____ / _____
(Amenorréia por doze meses ou Amenorréia por menos de doze meses ou irregularidade menstrual com FSH acima de 40 U/L ou Uso de terapia de reposição hormonal)

#### Hábitos (0. Não 1. Sim 9. NSA/ Não sabe)

Tabagismo: ____ (cig/dia: ____; anos ____; anos/maço: ____)	Etilismo: ____
Atividade física: ____    Qual: _____	Frequência: _____

#### Tratamento não medicamentoso (0. Nunca 1. Atual 2. No passado 3. Passado e Atual)

Fisioterapia ____	Terapia Ocupacional ____
-------------------	--------------------------

Registro SAME: \_\_\_\_\_ Número do protocolo AR: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

### Artrite Reumatóide

Data de início de sintomas: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Data de diagnóstico \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1ª consulta reumatologista: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ 1ª reumatologia HC \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Maior tempo de duração da rigidez matinal desde o início dos sintomas: \_\_\_ minutos

Manifestações extra-articulares: \_\_\_\_\_

Comorbidades: \_\_\_\_\_

**Sorologia** (0. negativo 1. Positivo título baixo 2. Positivo título alto 9. NSA/Não dosado)

FR: \_\_\_ (Valor e VR: \_\_\_\_\_ data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_) **(Repeti-lo, se necessário)**

**Anti-CCP:** \_\_\_ (Valor e VR: \_\_\_\_\_ data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_) **(Pedir, se nunca tiver feito)**

**Tratamento medicamentoso atual** (0. Não 1. Sim 9. NSA/ Não sabe)

PDN \_\_\_ (\_\_\_, \_\_\_ mg/dia) AINH fixo \_\_\_ Ácido fólico \_\_\_ Cálcio \_\_\_ Vitamina D \_\_\_

ATM \_\_\_ (Qual/Dose: \_\_\_\_\_) MTX VO \_\_\_ SC \_\_\_ (\_\_\_, \_\_\_ mg/sem)

Leflunomida \_\_\_ Outro DMARD sintético \_\_\_ (Qual/Dose: \_\_\_\_\_)

Agente biológico \_\_\_ (Qual/Dose: \_\_\_\_\_)

Outros: \_\_\_\_\_

**Modificado na última consulta?** \_\_\_ (Se afirmativo, marcar nova coleta em seis meses)

**Últimas radiografias (data):** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (Se feitas há mais de um ano, solicitar novas)

Qualquer erosão: \_\_\_ (0. Ausência de erosões 1. Presença de erosões 9. Não avaliado / não sabe)

	Pesquisadora	Radiologista
Mãos		
Pés		

**Últimos exames** Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Hb:	Ht:	VCM:	HCM:	PLTs:
LG:	Seg:	Eo:	Mono:	Lyn:
Baso:	PCR:	Glic:	Ur:	Cr:
Colest T:	HDL:	LDL:	VLDL:	TRIGL:

**Data do próximo retorno:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**Preenchido por:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Registro SAME: \_\_\_\_\_ Número do protocolo AR: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

**Exame Físico** (0. Não 1. Sim 9. NSA/ Não sabe)

Classe funcional (Steinbrocker): \_\_\_\_\_ Fadiga: \_\_\_\_\_

Rigidez matinal: \_\_\_\_\_ (minutos: \_\_\_\_\_) Dor inflamatória: \_\_\_\_\_ Dor mecânica: \_\_\_\_\_

PAS \_\_\_\_\_ PAD \_\_\_\_\_ / PAS \_\_\_\_\_ PAD \_\_\_\_\_ / PAS \_\_\_\_\_ PAD \_\_\_\_\_

FC: \_\_\_\_\_ bpm / FC: \_\_\_\_\_ bpm / FC: \_\_\_\_\_ bpm

Circunf abdominal \_\_\_\_\_ cm. Peso \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ Kg. Altura \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ cm. IMC \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_

**Exame Articular** (Azul: dor, Preto: edema, Vermelho: dor + edema, X: operada):

**Contagem articular:**

	<b>28</b>	<b>GLOBAL</b>
<b>DOR</b>		
<b>EDEMA</b>		

**DAS28:** \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ **CDAI:** \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_

EVA paciente global: \_\_\_\_\_ EVA médico: \_\_\_\_\_

VHS: \_\_\_\_\_ /1h PCR: \_\_\_\_\_ mg/dl

**Deformidades** (0. Não 1. Sim 9. NSA/Não sabe):

<b>Dedos</b>		<b>Joelhos</b>		<b>Artelhos</b>	
Fuso	_____	Valgo	_____	Hálux valgus	_____
Botoeira	_____	Varo	_____	Em martelo	_____
Pescoço de cisne	_____	<b>Tornozelos</b>		Desvios	_____
Polegar em Z	_____	Valgo	_____	Sobreposições	_____
<b>Mãos</b>		Varo	_____	<b>Nódulo reumatóide</b>	_____
Desvio ulnar	_____	<b>Pés</b>			_____
Subluxação/Luxação	_____	Queda arco longitudinal	_____		_____
Atrofia interósseos	_____	Queda arco metatarsiano	_____		_____
Dorso de camelo	_____				
Diminuição da oclusão	_____				

**HAQ:** \_\_\_\_\_ **SF36:** \_\_\_\_\_

Funcionamento físico:	<i>Rol físico:</i>	Dor:	Saúde geral:	Vitalidade:
Funcionamento social:	<i>Rol emocional:</i>	Saúde mental:	Escore físico:	Escore mental:

**Preenchido por:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Ficha de revisão de prontuário**

**BANCO DE DADOS – REVISÃO DE PRONTUÁRIO (Pag 1 de 5)**

Registro SAME: \_\_\_\_\_

Número do protocolo AR: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Artrite Reumatóide:**

Data de início de sintomas: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Data de diagnóstico \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

1ª consulta reumatologista: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ 1ª reumatologia HC \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Critérios diagnósticos (0. Não 1. Sim 9. NSA) ACR, 1987**

<b>PRIMEIRA CONSULTA/EXAME HC-UFGM</b>		
Rigidez matinal >1h		_____
Artrite de 3 ou mais áreas		_____
Artrite de IFP, MCF ou punho		_____
Artrite simétrica		_____
Nódulo subcutâneo		_____
FR positivo		_____
Título		_____
Alteração radiográfica: Erosões Osteopenia periarticular		_____
Total de critérios:		_____
<b>ATÉ ÚLTIMA CONSULTA HC-UFGM</b>		<b>Data 1ª apresentação</b>
Rigidez matinal >1h		____/____/____
Artrite de 3 ou mais áreas		____/____/____
Artrite de IFP, MCF ou punho		____/____/____
Artrite simétrica		____/____/____
Nódulo subcutâneo		____/____/____
FR positivo		____/____/____
Títulomais alto		____/____/____
Alteração radiográfica: Erosões Osteopenia periarticular		____/____/____
Total de critérios:		_____

**ACR/EULAR, 2010:**

<b>PRIMEIRA CONSULTA/EXAME HC-UFGM</b>		
<b>Envolvimento articular</b>		<b>0-5</b>
1 articulação média-grande		0
2-10 articulações média-grande		1
1-3 articulações pequenas		2
4-10 articulações pequenas		3
> 10 articulações pelo menos 1 pequenas		5
<b>Sorologia</b>		<b>0-3</b>
FR e anti-CCP negativos		0
FR e/ou anti-CCP títulos baixos (≤ 3vezes limite superior)		2
FR e/ou anti-CCP títulos altos (>3vezes o limite superior)		3
<b>Duração da sinovite</b>		<b>0-1</b>
< 6 semanas		0
≥ 6 semanas		1
<b>Provas inflamatórias</b>		<b>0-1</b>
VHS e PCR normais		0
VHS e/ou PCR elevados		1
<b>Total</b>		

**BANCO DE DADOS – REVISÃO DE PRONTUÁRIO (Pag 2 de 5)  
ACR/EULAR, 2010**

<b>ATÉ ÚLTIMA CONSULTA HC-UFMG</b>		<b>Data 1ª apresentação</b>
<b>Envolvimento articular</b>	<b>0-5</b>	
1 articulação média-grande	0	/ /
2-10 articulações média-grande	1	/ /
1-3 articulações pequenas	2	/ /
4-10 articulações pequenas	3	/ /
> 10 articulações pelo menos 1 pequenas	5	/ /
<b>Sorologia</b>	<b>0-3</b>	
FR e anti-CCP negativos	0	/ /
FR e/ou anti-CCP títulos baixos ( $\leq$ 3vezes limite superior da normalidade)	2	/ /
FR e/ou anti-CCP títulos altos (>3vezes o limite superior da normalidade)	3	/ /
<b>Duração da sinovite</b>	<b>0-1</b>	
< 6 semanas	0	/ /
$\geq$ 6 semanas	1	/ /
<b>Provas inflamatórias</b>	<b>0-1</b>	
VHS e PCR normais	0	/ /
VHS e/ou PCR elevados	1	/ /
<b>Total</b>		

**Alteração sorológica (0. Não 1. Sim 9. NSA)**

FAN: _____	Valor: _____	Data: ___/___/___
Anti-Ro: _____	Valor: _____	Data: ___/___/___
Anti-La: _____	Valor: _____	Data: ___/___/___
Anti-CCP: _____	Valor: _____	Data: ___/___/___

**Manifestações extra-articulares (0. Não 1. Sim 9. NSA)**

<b>Manifestação</b>	<b>Até última consulta HC</b>	<b>Data 1ª apresentação</b>
Sintomas constitucionais	_____	/ /
Doença pulmonar:		/ /
Pneumonite intersticial/Fibrose	_____	/ /
Nódulo	_____	/ /
Derrame pleural/Pleurite	_____	/ /
Úlcera vasculítica	_____	/ /
Neuropatia compressiva Local: _____	_____	/ /
Olho seco (Av OFL)	_____	/ /
Pericardite	_____	/ /
Síndrome de Felty	_____	/ /
Linfadenopatia	_____	/ /
Púrpura palpável	_____	/ /
Esclerite / Episclerite	_____	/ /
Neuropatia não compressiva Local: _____	_____	/ /
Outra _____	_____	/ /

**BANCO DE DADOS – REVISÃO DE PRONTUÁRIO (Pag 3 de 5)**

Registro SAME: \_\_\_\_\_

Número do protocolo AR: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Preenchido por: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Cirurgia articular e biópsia**

<b>Procedimento</b>	<b>0.Não 1.Sim</b>	<b>Data</b>	<b>Localização</b>
Biópsia sinovial	_____	____/____/____	_____
Sinovectomia	_____	____/____/____	_____
Artroplastia total	_____	____/____/____	_____
Artrodese	_____	____/____/____	_____
Reparo tendinoso	_____	____/____/____	_____
Realinhamento ósseo	_____	____/____/____	_____
Outra: _____	_____	____/____/____	_____
Outra: _____	_____	____/____/____	_____

**Infecções (0. Não 1. Sim 9. NSA)**

Artrite séptica: _____ Nº: _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
Osteomielite: _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
Bursite séptica: _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
Discite: _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
Piomiosite: _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
Herpes Zoster: _____ Nº _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
TBC: _____	Localização: _____	Data: ____/____/____
Hepatite C: _____		Data: ____/____/____
Hepatite B: _____		Data: ____/____/____
Pneumonia: _____		Data: ____/____/____
ITU repetição: _____		Data: ____/____/____
Outra: _____	<b>Qual:</b> _____	Data: ____/____/____

**BANCO DE DADOS – REVISÃO DE PRONTUÁRIO (Pag 4 de 5)**

**Comorbidades (0. Não 1. Sim 9. NSA)**

<b>Comorbidade</b>	<b>Qualquer momento</b>	<b>Última avaliação</b>	<b>Data em que se manifestou 1ª vez</b>
<b>Aterosclerose</b>			/ /
<i>Angina pectoris</i> estável			/ /
S. coronariana aguda			/ /
Angioplastia/CRVM			/ /
Insuficiência cardíaca congestiva			/ /
Acidente vascular cerebral isquêmico			/ /
Acidente vascular cerebral hemorrágico			/ /
Acidente vascular cerebral não definido			/ /
Doença arterial periférica			/ /
<b>Fatores de risco para DAC</b>			
HF positiva para Evento Coronariano			/ /
Tabagismo			/ /
Hipertensão Arterial Sistêmica			/ /
TGLs $\geq$ 150 mg/dl			/ /
HDL <50 mg/dl			/ /
HDL < 40 mg/dl			/ /
LDL $>$ 160 mg/dl			/ /
LDL $\geq$ 130 mg/dl			/ /
LDL > 100 mg/dl			/ /
Diabetes mellitus			/ /
<b>Aparelho Respiratório</b>			
DPOC			/ /
Asma brônquica			/ /
Bronquiectasia			/ /
<b>Aparelho digestório</b>			
Úlcera péptica			/ /
HDA Etiologia			/ /
Cirrose Hepática Etiologia			/ /
<b>Anemia</b>			
Ferropriva			/ /
Doença Crônica			/ /
Outra			/ /
<b>Doença Renal Crônica</b>			/ /
<b>Hipotireoidismo</b>			/ /
<b>Neoplasia Qual</b>			/ /
<b>Catarata</b>			/ /
<b>SOA</b>			
Fibromialgia			/ /
Osteoartrite primária			/ /
Osteoartrite secundária			/ /
Osteoporose			/ /
Osteonecrose–Local			/ /
Síndrome de Sjögren			/ /
Outra doença reumática			/ /

**BANCO DE DADOS – REVISÃO DE PRONTUÁRIO (Pag 5 de 5)**

**Tratamento medicamentoso (0. Nunca 1. Atual 2. No passado 3. Passado e Atual)**

<b>DMARDs</b>	<b>Uso</b>	<b>Dose</b>	<b>Dose máxima</b>	<b>Data de início (primeiro curso)</b>	<b>Data de término (último curso)</b>	<b>Razão do término*</b>
Dif cloroquina	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Hidroxicloroq	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
MTX oral	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
MTX SC	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Sulfassalazina	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Leflunomida	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Azatioprina	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Ouro	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Ciclosporina	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Ciclofosfamida	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Anti-TNF	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Anti-CD20	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Outro:	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Prednisona	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Metilpredn EV	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
AINH Fixo	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Analgésico	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Antidepressivo	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Ácido fólico	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Cálcio	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Vitamina D	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Bisfosfonato	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Anti-hipert	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Hipolipemiant e	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___
Hipoglicem	___	_____	_____	___/___/___	___/___/___	___

\*1.ineficácia, 2.toxicidade / intolerância, 3.não necessário, 4.abandono de tratamento, 5.outro

**Dose acumulada de prednisona: \_\_\_\_\_**

## Health Assessment Questionnaire - disability index

NOME:	Número de identificação:			
REGISTRO:	Preenchido por:			
DATA:	ESCORE:			
<b>HAQ - Questionário de Capacidade Funcional (Página 1 de 2)</b>				
Por favor, marque a resposta que melhor descreve sua capacidade habitual DURANTE A SEMANA PASSADA:	<b>0 Sem QUALQUER Dificuldade</b>	<b>1 Com ALGUMA Dificuldade</b>	<b>2 Com MUITA Dificuldade</b>	<b>3 Incapaz de fazer</b>
<p><b>A. Vestir-se e cuidar-se</b>, Você é capaz de:</p> <p>1. Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar suas roupas? <input type="checkbox"/></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Lavar sua cabeça e seus cabelos? <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p><b>B. Levantar-se</b>, Você é capaz de:</p> <p>3. Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços? <input type="checkbox"/></p> <p>4. Deitar-se e levantar-se da cama? <input type="checkbox"/></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p><b>C. Comer</b>, Você é capaz de:</p> <p>5. Cortar um pedaço de carne? <input type="checkbox"/></p> <p>6. Levar à boca um copo ou uma xícara cheio de café, leite ou água? <input type="checkbox"/></p> <p>7. Abrir um saco de leite comum? <input type="checkbox"/></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p><b>D. Caminhar</b>, Você é capaz de:</p> <p>8. Caminhar em lugares planos? <input type="checkbox"/></p> <p>9. Subir cinco degraus? <input type="checkbox"/></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p>Por favor, selecione quaisquer AJUDA OU DISPOSITIVOS que você usualmente utiliza para qualquer uma dessas atividades (marque com um "X"):</p> <p>1. <input type="checkbox"/> Bengala</p> <p>2. <input type="checkbox"/> Andador</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Muletas</p> <p>4. <input type="checkbox"/> Cadeira de rodas</p> <p>5. <input type="checkbox"/> Dispositivos usados para se vestir (gancho para botões, puxador de zíper, calçador de sapatos com haste longa, etc.)</p> <p>6. <input type="checkbox"/> Utensílios especiais ou construídos</p> <p>7. <input type="checkbox"/> Cadeira especial ou construída</p> <p>8. <input type="checkbox"/> Outros (Especificar: _____)</p> <p>Por favor, selecione quaisquer categorias nas quais você usualmente necessita de AJUDA DE OUTRA PESSOA (marque com um "X"):</p> <p>9. <input type="checkbox"/> Vestir-se e cuidar-se</p> <p>10. <input type="checkbox"/> Levantar-se</p> <p>11. <input type="checkbox"/> Comer</p> <p>12. <input type="checkbox"/> Caminhar</p>				

**HAQ - Questionário de Capacidade Funcional (Página 2 de 2)**

Por favor, marque a resposta que melhor descreve sua capacidade habitual DURANTE A SEMANA PASSADA:	0 Sem QUALQUER Dificuldade	1 Com ALGUMA Dificuldade	2 Com MUITA Dificuldade	3 Incap az de fazer
<p><b>E. Higiene</b>, Você é capaz de:</p> <p>10. Lavar seu corpo inteiro e seca-lo após o banho?</p> <p>11. Tomar um banho de chuveiro?</p> <p>12. Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário?</p> <p><b>F. Alcançar</b>, Você é capaz de:</p> <p>13. Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5kg que está posicionado pouco acima da cabeça?</p> <p>14. Curvar-se para pegar suas roupas no chão?</p> <p><b>G. Preensão</b>, Você é capaz de:</p> <p>15. Segurar-se em pé no ônibus ou metrô?</p> <p>16. Abrir potes ou vidros de conservas que tenham sido previamente abertos?</p> <p>17. Abrir e fechar torneiras?</p> <p><b>H. Outras atividades</b>, Você é capaz de:</p> <p>18. Fazer compras nas redondezas onde mora?</p> <p>19. Entrar e sair de um ônibus?</p> <p>20. Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e rodo para água?</p>				
<p>Por favor, selecione quaisquer AJUDA OU DISPOSITIVOS que você usualmente utiliza para qualquer uma dessas atividades (marque com um "X"):</p> <p>13. <input type="checkbox"/> Assento para privada elevado</p> <p>14. <input type="checkbox"/> Assento para banho</p> <p>15. <input type="checkbox"/> Abridor de potes (para potes previamente abertos)</p> <p>16. <input type="checkbox"/> Corrimão para banho</p> <p>17. <input type="checkbox"/> Utensílios com cabo longo para poder alcançar as coisas</p> <p>18. <input type="checkbox"/> Utensílios com cabo longo no banho (tais como escova para as costas)</p> <p>19. <input type="checkbox"/> Outros (Especificar: _____)</p> <p>Por favor, selecione quaisquer categorias nas quais você usualmente necessita de AJUDA DE OUTRA PESSOA (marque com um "X"):</p> <p>20. <input type="checkbox"/> Higiene</p> <p>21. <input type="checkbox"/> Alcançar</p> <p>22. <input type="checkbox"/> Preensão e abertura</p> <p>23. <input type="checkbox"/> Tarefas domésticas</p> <p>Assinatura do paciente: _____ Data: _____</p>				

<p><b>MAIORES ESCORES DOS COMPONENTES:</b></p> <p><b>A:</b>      <b>C:</b>      <b>E:</b>      <b>G:</b></p> <p><b>B:</b>      <b>D:</b>      <b>F:</b>      <b>H:</b></p>	<p align="center"><b>ESCORE DO HAQ:</b></p> <p align="center">(Média aritmética dos escores dos componentes)</p>
--	--

## **Critérios diagnósticos de artrite reumatoide**

### **Critérios revisados de classificação da Artrite Reumatóide do Colégio Americano de Reumatologia (ACR), 1987:**

- i. Rigidez matinal: rigidez matinal periarticular ou articular com duração de pelo menos uma hora antes da melhora máxima possível;
- ii. Artrite em três ou mais áreas articulares: pelo menos três áreas articulares devem apresentar artrite ou derrame articular observados por um médico. As quatorze áreas possíveis são (direitas ou esquerdas): IFP, MCF, punho, cotovelo, joelho, tornozelo e MTF.
- iii. Artrite nas articulações das mãos em pelo menos uma das seguintes áreas: punho, MCF ou IFP.
- iv. Artrite simétrica: comprometimento simultâneo das mesmas áreas articulares (como definidas em ii) em ambos os lados do corpo; o comprometimento bilateral de IFP, MCF ou MTF é aceitável sem simetria absoluta.
- v. Nódulos reumatóides: nódulos subcutâneos sobre as proeminências ósseas, ou superfícies extensoras ou em regiões periarticulares, observados por um médico.
- vi. Fator reumatóide sérico positivo.
- vii. Alterações ao exame radiográfico: alterações típicas da AR nas mãos ou punhos, incluindo erosões ou osteopenia periarticular.

Para a classificação de um paciente no grupo com AR é necessária a presença de quatro dos sete critérios. Os critérios um a quatro devem estar presentes durante pelo menos seis semanas. Os pacientes com outros diagnósticos clínicos não são excluídos.

IFP: interfalangeana proximal, MCF: metacarpofalangeana, MTF: metatarsofalangeana.

ARNETT FC, EDWORTHY SM, BLOCH DA, McSHANE DJ, FRIES JF, COOPER NS *et al*: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.

**Cr terios diagn sticos (ACR/EULAR, 2010):**

<b>Domínios</b>	<b>Pontos</b>
<b>Envolvimento articular</b>	
1 articula�o média-grande	0
2-10 articula�es m�dias-grandes	1
1-3 articula�es pequenas	2
4-10 articula�es pequenas	3
Mais de 10 articula�es pequenas	5
<b>Sorologia</b>	
Fator Reumatóide e Anti-CCP negativos	0
Fator Reumatóide e/ou Anti-CCP em títulos baixos ( $\leq 3$ vezes o limite superior da normalidade)	2
Fator Reumatóide e/ou Anti-CCP em títulos altos ( $> 3$ vezes o limite superior da normalidade)	3
<b>Dura�o da Sinovite</b>	
Menos de seis semanas	0
Seis semanas ou mais	1
<b>Provas inflamatórias</b>	
VHS e PCR normais	0
VHS e/ou PCR elevado (s)	1

Para a classifica o de um paciente no grupo com AR   necess rio que haja pelo menos 6 pontos.

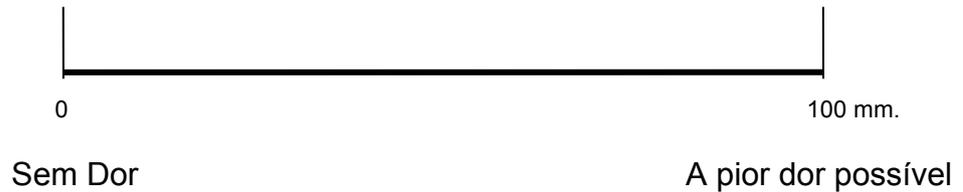
Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569-2581.

## Escalas visuais analógicas

### 1) Escalas do paciente

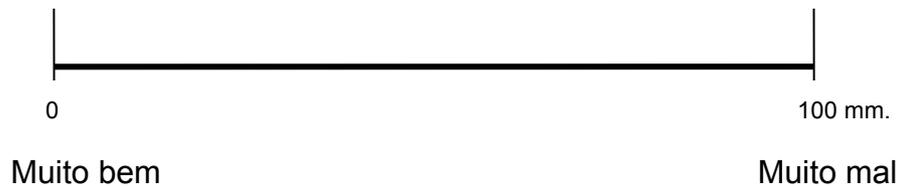
#### 1. Dor

Em média, quanta dor sentiu durante a última semana devido a sua doença?



#### 2. Avaliação global em relação à atividade da doença

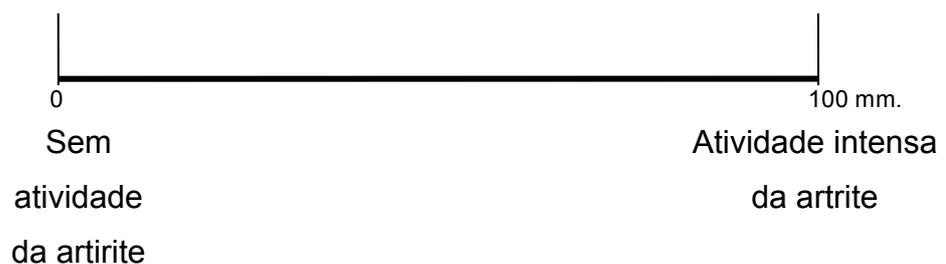
Considerando todas as formas como a artrite o afeta, em média, como tem se sentido durante a última semana?



### 2) Escala do médico

#### Avaliação global em relação à atividade da doença

Como avalia a atividade da artrite de seu paciente?



Ficha de avaliação ultrassonográfica

ESTUDO ULTRA-SONOGRÁFICO DE CARÓTIDAS

PROJETO ARTRITE REUMATÓIDE

Nome: \_\_\_\_\_

Registo: \_\_\_\_\_ Número de identificação: \_\_\_\_\_

Data do exame: \_\_\_\_\_

(0. Não 1. Sim 9. Não realizado)

CARÓTIDA DIREITA:	CARÓTIDA ESQUERDA:
<b>Comum:</b> ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL: ____ . ____ mm Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1.Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)	<b>Comum:</b> ESPESSURA MÉDIO-INTIMAL: ____ . ____ mm Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1. Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)
<b>Bulbo:</b> Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1.Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)	<b>Bulbo:</b> Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1. Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)
<b>Interna:</b> Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1.Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)	<b>Interna:</b> Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1. Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)
<b>Externa:</b> Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1.Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)	<b>Externa:</b> Placa aterosclerótica: ____ Grau de estenose: _____ % Ecogenicidade (0. Ecogênica 1. Ecoluscente) Homogeneidade (0. Homogênea 1. Heterogênea) Superfície (0. Lisa 1. Irregular) Cálcio (0. Ausente 1. Presente)

## **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

### UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Pesquisa:** AVALIAÇÃO LONGITUDINAL CLÍNICA, LABORATORIAL, DE IMAGEM E EM QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE ACOMPANHADOS PELO SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**Coordenador:** Profa. Adriana Maria Kakehasi

**Pesquisadores:** Dra. Maria Raquel da Costa Pinto, Dra. Rosa Weiss Telles, Dra. Débora Cerqueira Calderaro.

Prezada(o) Sra./Sr.,

Você foi convidada(o) a participar do estudo intitulado “Avaliação longitudinal clínica, laboratorial, de imagem e em qualidade de vida de pacientes com artrite reumatoide acompanhados pelo serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais”.

O objetivo deste projeto é estudar as características clínicas (incluindo exames de laboratório e radiografias), evolução e o tratamento da Artrite Reumatoide em um grupo de pacientes tratados no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Não existem muitas informações sobre sua doença, a Artrite Reumatoide, baseadas em pacientes do Brasil e de Minas Gerais. A maioria das informações é de populações europeias e norte-americanas. Além disso, ainda não se conhece a causa exata da doença, não dispomos de cura definitiva e cada pessoa ou grupo podem apresentar manifestações diversas.

Como vemos, existe uma necessidade de que pesquisas contínuas sejam realizadas para que se conheça melhor o comportamento da Artrite Reumatoide e o perfil dos pacientes atendidos neste serviço. Este estudo é importante para que se possa conhecer como de fato é esta doença nas nossas populações e para que no futuro se possam estabelecer programas de tratamento e assistência mais adequados à nossa realidade.

Nesta pesquisa serão analisados os dados obtidos no prontuário referentes à sua história médica, ao exame físico e aos dados de exames laboratoriais e radiológicos, avaliados pelos pesquisadores no Ambulatório de Reumatologia da UFMG.

Os procedimentos do estudo – coletas de informações relativas à sua doença e tratamento, exames laboratoriais, exames radiológicos e coleta de sangue – não são diferentes daqueles que você faria como parte da avaliação e seguimento de rotina com o seu médico. As exceções serão:

- coleta de sangue para armazenamento e pesquisa de proteínas produzidas em decorrência da inflamação causada pela sua doença, assim como para estudo de características genéticas relacionadas à Artrite Reumatoide;

- aplicação de questionários para avaliação de sintomas de depressão e ansiedade, do nível de limitações no dia-a-dia e de qualidade de vida;

- realização de um exame de ultrassonografia das artérias carótidas (localizadas no pescoço). Para esse exame não é necessário preparo ou jejum e não há injeção de contraste. Ele dura aproximadamente trinta minutos e será agendado conforme sua disponibilidade. Este exame será feito na Clínica Conrad, à rua dos Otoni, 909 Santa Efigênia. O exame avalia a espessura da parede das artérias e sua importância está no fato de que alterações detectadas podem significar risco aumentado de doenças cardiovasculares no futuro.

A equipe médica que já faz o seu atendimento continuará a ser a responsável pelo seu tratamento e manterá a total liberdade nas decisões, não havendo nenhuma limitação por estar participando deste estudo.

Serão realizadas radiografias de algumas partes do seu corpo (mãos e pés), caso já tenha se passado mais de um ano desde o último exame. A quantidade de sangue retirada é na ordem de 15 ml (uma colher de sopa). As amostras serão identificadas com códigos numéricos de tal maneira que não você não poderá ser identificado. Se, durante a sua consulta, conforme a indicação do seu médico houver necessidade de mudança dos seus medicamentos ou início de outra medicação para a artrite, prevemos a coleta de nova amostra de sangue para uma segunda dosagem de proteínas da inflamação, seis meses após o início do novo tratamento.

Não se espera que você tenha nenhum risco por participar deste estudo, a não ser o das punções venosas para coleta das amostras de sangue, de maneira idêntica aos exames regulares que o tratamento e acompanhamento da sua doença exigem. As informações obtidas podem não ter relação direta com a sua doença ou com seu tratamento, mas poderão servir para compreender melhor como a Artrite Reumatoide afeta a nossa população.

As informações serão de uso científico e não serão divulgadas para outros fins. Todos os dados referentes aos pacientes são confidenciais. Em nenhum momento haverá liberação de identidade ou quaisquer dados que possam levar à identificação do paciente, ou seja, será feito todo o possível para preservar a sua identidade.

A sua participação neste estudo é totalmente voluntária e a sua recusa em participar não afetará de nenhuma maneira o relacionamento com a equipe médica que lhe assiste. Uma vez que você tenha aceitado participar, você permanece com o direito de retirar seu consentimento em qualquer momento. Em caso de dúvidas, entrar em contato com Dra. Maria Raquel ou Profa. Adriana ou o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP).

**Endereço para contato** (pesquisadores): Al. Álvaro Celso 179, 2º andar, Ambulatório Bias Fortes. Santa Efigênia, Belo Horizonte, MG. tel: (31) 3409-9532. E-mail: [dramariaraquel@gmail.com](mailto:dramariaraquel@gmail.com)

**Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP):** Av. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar – SL 2005 – CEP: 31.270-901 – BH/MG – Tel: (031) 3409-4592 – Fax: (31) 3409-4516 – e-mail: [prpq@coep.ufmg.br](mailto:prpq@coep.ufmg.br)

***Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento para ler antes de assiná-lo, que os detalhes do projeto me foram explicados e que mantereí uma cópia deste consentimento em meu poder.***

Nome do paciente: \_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Nome da testemunha: \_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador: \_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

## Tabela com valores de referência para a espessura do complexo médio-intimal

(Extraída de: Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008;21(2):93-111; quiz 189-190)

### Appendix 1 Common carotid artery carotid intima-media thickness values and percentiles from large North American cohort studies

D. Common carotid artery carotid intima-media thickness values from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis Study (Robyn L. McClelland, PhD, personal communication, January 2007)<sup>6</sup>

Mean far wall-right																
Age, y/percentile	White male				White female				Black male				Black female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.52	0.57	0.65	0.72	0.51	0.55	0.65	0.72	0.58	0.61	0.71	0.74	0.55	0.60	0.65	0.71
50th	0.62	0.68	0.77	0.83	0.58	0.65	0.75	0.83	0.67	0.74	0.85	0.85	0.64	0.71	0.76	0.83
75th	0.71	0.81	0.92	0.97	0.67	0.76	0.87	0.93	0.80	0.92	0.99	1.02	0.74	0.81	0.92	0.96

Age, y/percentile	Chinese male				Chinese female				Hispanic male				Hispanic female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.54	0.56	0.62	0.66	0.55	0.54	0.59	0.67	0.53	0.60	0.65	0.71	0.51	0.57	0.65	0.63
50th	0.64	0.70	0.73	0.79	0.60	0.63	0.71	0.77	0.62	0.67	0.78	0.81	0.58	0.69	0.76	0.78
75th	0.73	0.83	0.92	0.98	0.70	0.77	0.84	0.96	0.73	0.82	0.90	0.92	0.67	0.77	0.87	0.92

Mean far wall-left																
Age, y/percentile	Chinese male				Chinese female				Hispanic male				Hispanic female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.55	0.57	0.62	0.69	0.49	0.52	0.58	0.64	0.55	0.61	0.68	0.72	0.51	0.58	0.62	0.68
50th	0.63	0.70	0.72	0.84	0.58	0.63	0.71	0.76	0.64	0.72	0.80	0.86	0.58	0.68	0.72	0.77
75th	0.73	0.84	0.86	0.97	0.67	0.72	0.87	0.94	0.75	0.85	0.98	0.97	0.68	0.79	0.86	0.91

Age, y/percentile	White male				White female				Black male				Black female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.54	0.57	0.67	0.71	0.50	0.55	0.63	0.70	0.56	0.63	0.69	0.72	0.54	0.59	0.63	0.68
50th	0.63	0.69	0.81	0.85	0.58	0.64	0.73	0.80	0.69	0.75	0.82	0.85	0.63	0.67	0.76	0.78
75th	0.78	0.82	0.95	1.00	0.67	0.75	0.85	0.94	0.81	0.92	0.99	1.02	0.73	0.80	0.90	0.91

## **ANEXOS**

### **ANEXO 1: CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

## **ANEXO 2: ATA DA DEFESA**

## **ANEXO 3: DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**