

PERFIL DE CITOCINAS EM PACIENTES COM GOTA: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICOS E ATIVIDADE INFLAMATÓRIA

Rochelle Iasmyn Nunes da Rocha¹; Claudia Diniz Lopes Marques²

¹Estudante do Curso de Medicina – CCS – UFPE; E-mail: chellenrocha@live.com, ²Docente/pesquisador do Depto de Medicina Clínica – CCS – UFPE. E-mail: claudia.reumatologia@gmail.com.

Sumário: A gota é considerada uma doença auto inflamatória, caracterizada pela ativação da imunidade inata. No entanto, a associação da expressão de citocinas com as manifestações clínicas da doença não é bem compreendida. Avaliamos o perfil sérico de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, IL-18, IL-22 e IL-23) e descrevemos sua relação com dados clínicos e laboratoriais em um grupo de pacientes com gota. Realizado estudo transversal, observacional, incluindo 39 pacientes portadores de gota (GG) e 34 indivíduos sem história prévia de artrite (GC), todos do sexo masculino, avaliando as seguintes variáveis: idade, tempo de diagnóstico, fase clínica da gota, índice de massa corpórea (IMC), presença de comorbidades como diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia (DLP), presença de tofos ou deformidades. Citocinas séricas, velocidade de hemossedimentação (VHS), proteína C reativa (PCR) e uricemia foram mensurados. Níveis séricos da IL-18 foram significativamente mais elevados em pacientes em relação ao GC ($p=0.0013$). Encontramos correlação positiva da IL-18 com VHS ($r= 0,43$, $p=0,0073$), PCR ($r= 0,47$, $p=0,0025$) e níveis séricos de IL-6 ($r=0,36$, $p=0.023$). Foi encontrada associação entre níveis séricos de IL-6 e presença de tofos ($p=0,005$) e de deformidades ($p=0,0008$), bem como correlação com VHS ($r=0,41$, $p=0.011$) e PCR ($r=0,48$, $p=0,02$).

Palavras-chave: citocinas; gota; IL-6;IL-18; manifestações clínicas

INTRODUÇÃO

A gota é uma doença inflamatória crônica, sendo considerada a artrite inflamatória mais frequente em homens acima de 40 anos. É associada à hiperuricemia sustentada e é causada pela deposição de cristais de monourato de sódio (MUS) nos tecidos articulares e periarticulares [1]. É considerada uma doença auto inflamatória, que apresenta como principal característica a ativação da imunidade inata. A presença de cristais livres de ácido úrico causaria a oligomerização e atividade disfuncional de macromoléculas inflamassomo NPRL3 com conseqüente hiperatividade da caspase-1. Como resultado deste processo ocorre aumento da secreção de citocinas inflamatórias, como a IL-1 β e IL-18 [2], que desencadeariam uma cascata de mediadores pró-inflamatórios, levando à ativação endotelial e ao recrutamento leucocitário. As principais citocinas que têm descrição de envolvimento secundário nesse processo são IL-8 (recrutamento e ativação de neutrófilos) [3], IL-6 (amplificação do processo inflamatório, possível contribuição para indução de dano ósseo) [4], TNF α (ativação pró-inflamatória, maturação e aumento da taxa de transformação de monócitos em macrófagos) [5]. Há na literatura várias evidências experimentais de como comportam-se as moléculas envolvidas na ativação da imunidade inata perante o estímulo por MUS, com aumento da produção de IL-1 β , IL-6 e IL-17 [2]. Tais evidências se traduzem, na prática clínica, como base para desenvolver novas medicações, ou para justificar o uso de medicações existentes para o tratamento do

processo inflamatório relacionado à gota [6]. Contudo, existem poucos estudos que abordam a correlação entre manifestações clínicas e a expressão de citocinas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) - Brasil, um estudo de corte transversal, observacional, de base hospitalar, com grupo de comparação. Os pacientes foram selecionados utilizando-se os seguintes critérios de inclusão: idade acima de 18 anos; diagnóstico de gota, de acordo com os critérios do American College of Rheumatology (ACR); e acompanhamento clínico regular no nosso serviço. Os critérios de exclusão foram: não consentimento em participar do estudo; ser portador de outra condição clínica que cause hiperuricemia, como doenças mieloproliferativas, anemia hemolítica, psoríase, sarcoidose, insuficiência renal aguda ou crônica com clearance <30 , intoxicação alcoólica, cetoacidose diabética, acidose láctica, doença por depósito de glicogênio tipo I, hipo e hiperparatireoidismo ou infecções concomitantes. O grupo de comparação (GC) foi composto por voluntários selecionados aleatoriamente, sem história clínica ou diagnóstico de gota e sem relato de artrite prévia, que não apresentavam nenhuma doença reumatológica ou estavam em uso de imunossuppressores. Foram incluídos apenas indivíduos do sexo masculino em ambos os grupos. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE.

Os participantes foram avaliados para presença de comorbidades, como diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia (DLP) e obesidade e registradas medicações em uso. Foram examinados para presença de artrite (crise), tofos e deformidades. Definida gota ativa como a presença de artrite em paciente com gota aguda ou crônica, e período intercrise como o período livre de sintomas em paciente com diagnóstico confirmado de gota. Após avaliação clínica, foram coletadas amostras de sangue e mensurados velocidade de hemossedimentação (VHS) pelo método de Westergreen (BD bioscience), proteína C reativa (PCR) por nefelometria (valor de referência: $< 8\text{mg/l}$) e ácido úrico (Beckman Coulter - valor de referência: $3.5 - 7.2\text{ mg/dL}$).

As citocinas foram mensuradas pela técnica de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) sanduiche, seguindo protocolo recomendado pelos fornecedores. As citocinas avaliadas e os respectivos fornecedores foram: IL-1 β e IL-6 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA); IL-8, IL-17a e IL-23 (eBioscience, San Diego, CA, USA); IL-18 e IL-22 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Os limites de detecção foram: IL-1 β (1.95pg/ml), IL-6 (4.69 pg/ml), IL-8 (1.95pg/ml), IL-17 (3.91 pg/ml), IL-18 (46.875pg/ml), IL-22 (15.625pg/ml) e IL-23 (15.625pg/ml).

Os valores dos dados são indicados em mediana e variância para dados não paramétricos e média \pm erro padrão da média (EPM) para os dados com distribuição gaussiana. Para verificar a distribuição das variáveis contínuas entre os grupos, foi utilizado o teste de Mann-Whitney, para dados não paramétricos, e o teste t de *student*, para dados paramétricos. Para avaliar a correlação entre os grupos foi utilizado o teste de Spearman para os dados quantitativos não paramétricos, e o teste de correlação de Pearson para os dados paramétricos. Todos os testes foram calculados assumindo-se significância de 5% ($p<0,05$). O software utilizado para análise foi o Prisma, versão 6.01.

RESULTADOS

O GG consistiu de 39 pacientes, todos do sexo masculino, com média de idade de $58,2 (\pm 1,6)$ anos, com duração média de doença de $11 (\pm 1,9)$ anos. O GC consistiu de 34 voluntários do sexo masculino, com média de idade de $54,3 (\pm 1,8)$ anos. Embora os grupos

tenham se mostrado homogêneos para idade e raça, observamos frequência significativamente maior de hipertensão e dislipidemia no GG.

Para avaliar o grau de inflamação utilizamos provas de atividade inflamatória (VHS e PCR), que demonstraram diferença significativa entre os grupos, o mesmo tendo ocorrido em relação à uricemia.

Foi realizada a dosagem sérica de citocinas nos grupos GG e GC. Os valores encontrados para as medianas (m) dos níveis séricos das citocinas foram, para GG: 1,95 para IL-1 β ; 18,12 para IL-8; 3,9 para IL-17a; 4,69 para IL-6; 71,8 para IL-22; e 15,6 para IL-23. E para o GC: 1,95 para IL-1 β ; 27,6 para IL-8; 3,9 para IL-17a; 4,69 para IL-6; 64,3 para IL-22; e 15,6 para IL-23.

O nível sérico de IL-18 encontrado no GG foi significativamente mais elevado ($p=0.0013$) que no GC. Para a IL-18 (dado de distribuição normal) a média (M) e respectivos erros padrão da média (EPM) foram 62.701,0 ($\pm 2.399,0$) no GG e 52.597,0 ($\pm 1.805,0$) no GC. A avaliação da diferença entre as distribuições das citocinas nos GG e GC, não demonstrou significância estatística para as demais citocinas estudadas.

Analisando a correlação entre os níveis séricos de citocinas e as provas de atividade inflamatória (PCR e VHS) encontramos significativa correlação positiva destes tanto com os níveis séricos de IL-18, quanto com os de IL-6, para indivíduos do GG. Não foi encontrada correlação entre as citocinas dosadas e o nível sérico de ácido úrico.

Na avaliação da distribuição do nível sérico das citocinas em relação aos dados clínicos, encontramos associação entre os níveis séricos de IL-6 e a presença de deformidades ($p=0,0008$) e de tofos ($p=0,0053$) no GG. Não encontramos relação entre nenhuma das citocinas dosadas com outros dados clínicos. Não encontramos associação da presença de artrite com os níveis dosados de citocinas, embora tenha existido uma tendência a associação da presença de artrite com os níveis de IL-6 ($p=0,054$).

DISCUSSÃO

Vários estudos vêm sendo realizados sobre doenças inflamatórias crônicas buscando entender o desencadeamento molecular do processo inflamatório, e sua relação com as manifestações clínicas destas doenças. Assim, objetivamos correlacionar características clínicas e laboratoriais usualmente avaliadas em pacientes portadores de gota, com as citocinas para as quais já existem dados experimentais demonstrando participação na patogênese desta doença.

Verificamos diferenças na taxa de indivíduos hipertensos e dislipidêmicos entre o GG e o GC. Há relação entre hiperuricemia e hipertensão, dislipidemia e resistência à insulina [7]. Assim, distribuímos os pacientes entre grupos determinados pela presença ou ausência de HAS e DLP, porém não encontramos diferença nos níveis de citocinas.

Quando avaliamos o nível sérico das citocinas dosadas especificamente em pacientes com gota, encontramos elevação apenas de IL-18 em pacientes em relação a controles, e correlação de IL-18 e IL-6 com atividade inflamatória. A IL-18 é uma citocina com propriedades pró inflamatórias e imunorreguladoras, envolvida na imunidade adaptativa através da ativação da resposta Th1. Estas propriedades da IL-18 podem estar relacionadas à perpetuação do processo inflamatório na gota, especialmente na gota crônica. Não encontramos diferença para a IL-18 em relação à presença de tofos ou ao tempo de doença, contudo não avaliamos os pacientes para tempo de persistência dos sintomas na crise.

Nossos resultados demonstraram significativa associação da IL-6 com a presença de deformidade e de tofos. Encontramos também correlação dos níveis séricos de PCR e VHS com essa citocina em pacientes com gota. Estes dados podem refletir o papel da IL-6 na gravidade da doença, sugerindo papel prognóstico. A IL-6 é uma citocina pró-

inflamatória, que pode ter sua produção desencadeada pela exposição de sinoviócitos e monócitos ao ácido úrico, estando envolvida na imunidade inata, bem como fazer parte da via Th2 na imunidade adaptativa. A IL-6 tem ação sobre ativação sinovial e sobre a regulação da osteoclastogênese, sendo bem reconhecida a associação a dano ósseo em outras patologias inflamatórias.

A elevação sérica da IL-6 vem sendo correlacionada na população geral com maior frequência de eventos e mortalidade cardiovascular. Esta correlação pode ser especialmente relevante para os portadores de gota, uma vez que exacerbação da atividade inflamatória, assim como hiperuricemia, predispõem pacientes com gota a um maior risco cardiovascular que a população geral [8]. A IL-6 pode ter papel direto no aumento dos riscos nestes pacientes.

CONCLUSÕES

Encontramos diferença significativa nos níveis séricos de IL-18 entre pacientes e controles. A IL-18 demonstrou correlacionar-se com a intensidade da expressão sistêmica do processo inflamatório. O nível sérico de IL-6 também correlacionou-se com aumento de VHS e PCR, e foi associado com a presença de tofos e deformidades, podendo ser marcador prognóstico ou influenciar negativamente a evolução desta patologia. Não foram observadas outras associações estatisticamente significativas entre os níveis séricos das citocinas avaliadas e parâmetros clínicos ou laboratoriais da doença. Não encontramos associação significativa entre o uso de medicações para o tratamento da gota e a expressão de citocinas.

AGRADECIMENTOS

Profundos agradecimentos a Nara Gualberto Cavalcanti, Claudia Diniz Lopes Marques, Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Laboratório de Inovação Terapêutica Suely Galdino (LINAT-SG), Programa de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC / PIBIC-Af) e CNPq por todo o apoio oferecido.

REFERÊNCIAS

1. Edwards, N.L., Gout. Clinical Features, in Primer on the Rheumatic Diseases, J.H. Klippel, Editor. 2011: Boston - MA. p. 241-249.
2. Martinon, F., et al., Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 2006. 440(7081): p. 237-41.
3. Terkeltaub, R., et al., Monocyte derived neutrophil chemotactic factor/interleukin-8 is a potential mediator of crystal-induced inflammation. *Arthritis Rheum* 1991. 34(7): p. 894-903.
4. Guerne, P.A., et al., Synovium as a source of interleukin 6 in vitro. Contribution to local and systemic manifestations of arthritis. *J Clin Invest*, 1989. 83(2): p. 585-92.
5. di Giovine, F.S., et al., Urate crystals stimulate production of tumor necrosis factor alpha from human blood monocytes and synovial cells. Cytokine mRNA and protein kinetics, and cellular distribution. *J Clin Invest*, 1991. 87(4): p. 1375-81.
6. Moll, M. and J.B. Kuemmerle-Deschner, Inflammasome and cytokine blocking strategies in autoinflammatory disorders. *Clin Immunol*, 2013. 147(3): p. 242-75.
7. Billiet, L., et al., Review of Hyperuricemia as New Marker for Metabolic Syndrome. *ISRN Rheumatol*, 2014. 2014: p. 852954.
8. Meek, I.L., H.E. Vonkeman, and M.A. van de Laar, Hyperuricaemia: a marker of increased cardiovascular risk in rheumatic patients: analysis of the ACT-CVD cohort. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014. 15(174): p. 174.