



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANNA HERMÍNIA CASTRO GOMES DE AMORIM

**INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA SOBRE AS
MOLÉCULAS DE ADESÃO E TNF- α E SEUS RECEPTORES
EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE**

Londrina
2017

ANNA HERMÍNIA CASTRO GOMES DE AMORIM

**INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA SOBRE AS
MOLÉCULAS DE ADESÃO E TNF- α E SEUS RECEPTORES
EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação Centro de Ciências de Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção de título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Isaías Dichi.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Amorim, Anna Hermínia Castro Gomes de.

Influência da Síndrome Metabólica sobre as Moléculas de Adesão e TNF-a e seus Receptores em Pacientes com Artrite Reumatoide / Anna Hermínia Castro Gomes de Amorim. - Londrina, 2017.

74 f. : il.

Orientador: Isaiás Dichi.

Coorientador: Andréa Name Colado Simão.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, , 2017.

Inclui bibliografia.

1. Artrite Reumatoide - Tese. 2. Síndrome Metabólica - Tese. 3. Moléculas de Adesão - Tese. 4. Biomarcadores - Tese. I. Dichi, Isaiás. II. Simão, Andréa Name Colado. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. . IV. Título.

ANNA HERMÍNIA CASTRO GOMES DE AMORIM

**INFLUÊNCIA DA SÍNDROME METABÓLICA SOBRE AS
MOLÉCULAS DE ADESÃO E TNF- α E SEUS RECEPTORES EM
PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação Centro de Ciências de Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção de título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Isaías Dichi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Sayonara Rangel Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcell Alysson Batisti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 28 de novembro de 2017.

AGRADECIMENTOS

“A sabedoria vai além do que se pode aprender nos compêndios”, dizia um amigo-irmão. Tal é a grande lição que levo desse Trabalho. E é por esse aprendizado, ainda em broto, que devo meus mais humildes e sinceros agradecimentos a tantos.

Agradeço a Professora Andréa por ter sido como uma Mãe para mim, que praticamente pegou em minhas mãos para o auxílio, como minha Mãe fazia quando eu não sabia escrever, praticamente realizando tudo por mim.

Ao Professor Isaías, pela Confiança e Respeito no trabalho em Equipe, pela Sabedoria, Sutileza e Harmonia com que conduziu o projeto e pelas valiosas correções.

Minha gratidão à Lorena, pela Gentileza e Disponibilidade, e pelo trabalho tão bem realizado, fundamental para o artigo e o grande responsável pelas conclusões.

Meus agradecimentos ao Professor Marcell e à Professora Sayonara, que em muito contribuíram para o Enriquecimento do conteúdo dessa dissertação.

Todo meu carinho à Dra. Neide, que esteve ao meu lado em muitos Momentos em que estive prestes a desistir, e que não raras vezes aguentou meus lamúrios e dividiu tarefas.

Não menos importante, agradeço a todo o “time” da Imunologia e da Reumatologia, sem os quais esse trabalho não existiria. Sem os quais, aliás, muitos trabalhos não existiriam. Gente, como vocês conseguem? Admiração é a palavras que resume.

Por último, meu muito obrigada a pessoas tão especiais do meu convívio: meu Irmão, Claudio, que o tempo todo esteve a meu lado, ajudando, corrigindo – seja um texto, seja uma conduta ou uma postura –, dividindo Vida comigo; a meu Pai, Claudio Manoel, por ter compreendido as vezes em que não pude estar tão presente quanto queria, e ainda assim mantendo seu Apoio Incondicional; a minha Mãe, Helena, que acredito deva me olhar de onde ela está e pensar “ai, filha...”, com ares de “Senhor, dê um jeito nessa menina!”; a meu namorado, Wilian, que teve e dividiu experiências tão parecidas com as minhas nesse período: a Dissertação, os gatos e, acima de tudo, as Famílias; a minha cunhada Thayse e sua Família, por todo o apoio que têm nos dado há tempos – coisas de Valor tão alto que são impagáveis.

VIDA é em caixa alta. E Erros, doídos que são, também têm caixa alta; todos os cometemos, mas podemos aprender com eles. Ainda assim, a Vida merece caixa alta e, como ela, o que e quem é especial também merecem caixa alta, merecem destaque, merecem nosso Respeito e Consideração. A ABNT pode não concordar com essa norma, mas, no nosso Coração, quem dita as regras somos nós – e Deus.

“Isso também passa...”

AMORIM, Anna Hermínia Castro Gomes de. **Influência da síndrome metabólica sobre as moléculas de adesão e TNF- α e seus receptores em pacientes com artrite reumatoide.** 2017. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica autoimune do tecido conjuntivo cujas alterações predominantes ocorrem nas estruturas articulares, peri-articulares e tendinosas, por meio dos sinais inflamatórios (dor, calor, rubor, edema) advindos da membrana sinovial. Embora as manifestações articulares sejam características, trata-se de doença sistêmica, em que muitos órgãos podem estar envolvidos, principalmente em pacientes com doença articular mais grave. A AR é uma das doenças reumáticas inflamatórias mais frequentes. Tendo em vista a crescente prevalência de síndrome metabólica (SM) na população, entidade essa também considerada uma doença inflamatória, questionou-se a interferência dessa condição na AR. Desse modo, o objetivo do presente estudo é verificar se a presença de SM poderia modular o perfil dos marcadores de TNF- α , sTNFR-1, sTNFR-2 e disfunção endotelial em pacientes com AR. Para isso, foram selecionados 193 pacientes com AR, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 69 anos, sendo divididos em dois grupos: o primeiro sem SM (AR SM-, n = 124) e o segundo com SM (AR SM+, n = 69), e 143 doadores de sangue foram selecionados como grupo controle. O grupo AR SM+ mostrou maiores níveis de E-Selectin (p = 0,005) quando comparados com AR SM- e controles e maior P-Selectin (p = 0,007) quando comparado ao grupo controle, mas não ao AR SM-. Houve diferenças significativas nos níveis de PAI-1 (p < 0,001) entre os três grupos: AR SM+ apresentou a média mais alta, enquanto a AR SM- teve uma média intermediária. Encontramos diferenças significativas no TNF- α (p < 0,001) entre pacientes com AR sem ou com SM e controles. Os níveis de sTNFR-1 foram significativamente maiores (p = 0,001) em AR SM+ quando comparados aos controles. AR SM+ foi significativamente diferenciado de AR SM- por níveis aumentados de E-selectina (p = 0,020) e sTNFR-2 (p = 0,047). Também houve diferença entre AR SM- e controles pelo aumento da P-selectina (p = 0,024), PAI-1 (p = 0,005), sTNFR-2 (p = 0,002) e idade (p < 0,001), enquanto o AR SM+ foi diferente dos controles pelo aumento de PAI-1 (p = 0,011) e idade (p < 0,001). Assim, concluímos que a presença de SM pode modular o perfil de marcadores de disfunção inflamatória e endotelial em pacientes com AR. Os principais fatores que poderiam sofrer essa influência são o receptor de TNF tipo 2 e E-selectina.

Palavras-chave: Artrite reumatoide. Síndrome metabólica. TNF- α . Moléculas de adesão. Biomarcadores.

AMORIM, Anna Hermínia Castro Gomes de. **Influence of metabolic syndrome on adhesion molecules and TNF- α and its receptors in patients with rheumatoid arthritis.** 2017. 77f. Dissertation (Master's degree in Health Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2017.

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic connective tissue autoimmune disease whose predominant changes occur in the articular, peri-articular and tendon structures, through inflammatory signs (pain, heat, redness, edema) arising from the synovial membrane. Although the joint manifestations are characteristics, it is a systemic disease, in which many organs may be involved, especially in patients with more severe joint disease. RA is one of the most common inflammatory rheumatic diseases. Considering the increasing prevalence of metabolic syndrome (MetS) in the population, an entity that is also considered an inflammatory disease, we questioned the interference of this condition in RA. Thus, the objective of the present study was to verify if the presence of MetS could modulate the profile of TNF- α , sTNFR-1, sTNFR-2 and endothelial dysfunction markers in patients with RA. To that end, 193 RA patients of both sexes, aged between 18 and 69 years, were selected and divided into two groups: the first one without MetS (RA MetS-, n = 124) and the second with RA MetS+, n = 69), and 143 blood donors were selected as control group. The RA MetS+ group showed higher levels of E-selectin (p = 0.005) when compared to RA-MetS- and controls and higher P-selectin (p = 0.007) when compared to the control group, but not to RA-MetS. There were significant differences in the levels of PAI-1 (p < 0.001) among the three groups: RA-MetS+ presented the highest mean, while RA-MetS had an intermediate mean. We found significant differences in TNF- α (p < 0.001) among patients with RA without or with MetS and controls. The levels of sTNFR-1 were significantly higher (p = 0.001) in RA-MetS- when compared to controls. RA-MetS+ was significantly differentiated from RA-MetS- by increased levels of E-selectin (p = 0.020) and sTNFR-2 (p = 0.047). (P = 0.024), PAI-1 (p = 0.005), sTNFR-2 (p = 0.002) and age (p < 0.001), while RA-MetS+ was different from controls by increasing PAI-1 (p = 0.011) and age (p < 0.001). Thus, we conclude that the presence of MetS can modulate the profile of inflammatory and endothelial dysfunction markers in patients with RA. The main factors that could modulate this influence are the TNF receptor type 2 and E-selectin.

Keywords: Rheumatoid arthritis. Metabolic syndrome. TNF- α . Adhesion molecules. Biomarkers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Citocinas na artrite reumatoide.....	14
Figura 2. Articulações avaliadas no DAS28	19
Figura 3. Moléculas de adesão.....	23
Figura 4. Selectina regula o recrutamento inicial de leucócitos na resposta inflamatória.....	24
Figura 5. Marginação leucocitária	26
Figura 6. Sinalização normal e anormal através de receptores TNFR1 e TNFR2.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios de Classificação para Artrite Reumatoide (ACR-EULAR).....	17
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos graxos livres
AIDS	Síndrome da imunodeficiência humana adquirida
Anti-CCP	Anticorpos anti-peptídeo citrulinado
AR	Artrite reumatoide
AVE	Acidente vascular encefálico
CD4	<i>Cluster of differentiation type 4</i>
CD20	<i>Cluster of differentiation type 20</i>
DAC	Doença arterial coronariana
DAMP	Padrão molecular associado a dano endógeno
DAS28	<i>Disease Activity Score 28</i>
DCV	Doença cardiovascular
DM-2	Diabetes <i>melittus</i> tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EVA	Escala visual analógica
FR	Fator reumatoide
FS	Fibroblastos sinoviócitos
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HLA	Antígeno leucocitário humano
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	Molécula de adesão celular intercelular 1
IgSF	Superfamília de imunoglobulinas
IFD	Interfalangeana distal
IFP	Interfalangeana proximal
IgA, G e M	Imunoglobulinas, respectivamente, das classe A, G ou M
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MCF	Metacarpofalangeana
MHC	Complexo maior de histocompatibilidade
MMP	Metaloproteinase
MTF	Metatarsofalangeana
mTNF	TNF de membrana

NCEP-ATP III	National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (ou ATP III)
NF- $\kappa\beta$	Fator nuclear kappa beta
NO	Óxido nítrico
PAD	Pressão arterial diastólica
PAD-4	Peptidil arginina deaminase tipo IV
PAI-1	Inibidor do Ativador do Plasminogênio
PAMP	Padrão molecular associado a patógenos
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C Reativa
PECAM-1	Molécula de adesão celular endotelial plaquetária 1
PG	Prostaglandina
RI	Resistência insulínica
SM	Síndrome metabólica
sTNF	TNF solúvel
TACE	Enzima conversora de TNF- α
TGF- β	Fator de crescimento transformador do tipo β
Th1	T <i>helper</i> 1
TLR	Receptores <i>Toll-like</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral do tipo alfa
TNFR1	Receptor 1 de TNF (p55)
TNFR2	Receptor 2 de TNF (p75)
TRAF	Fatores associados ao receptor de TNF
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1
VHS	Velocidade de hemossedimentação
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Artrite Reumatoide	11
1.1.1	Definição e Dados Epidemiológicos	11
1.1.2	Fisiopatologia	12
1.1.3	Quadro Clínico e Exames Laboratoriais	15
1.1.4	Critérios de Classificação para Artrite Reumatoide	17
1.1.5	Escore de Atividade de Doença – DAS28.....	18
1.2	Síndrome Metabólica	19
1.3	O Processo Inflamatório	22
1.3.1	Moléculas de Adesão.....	23
1.3.2	Cascata de adesão	25
1.4	Moléculas de Adesão na Artrite Reumatoide	27
1.4.1	O Fator de Necrose Tumoral Alfa na Artrite Reumatoide	27
1.4.2.1	<i>Regulação de Receptores de TNF</i>	28
1.4.2.2	<i>Efeitos Biológicos das Células do TNF na Resposta Inflamatória</i>	30
1.4.2.3	OS INIBIDORES DO FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA.....	31
1.5	Artrite Reumatoide e Síndrome Metabólica	31
2	JUSTIFICATIVA	33
3	OBJETIVOS	34
3.1	Objetivo Geral	34
3.2	Objetivos Específicos	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	Delineamento do Estudo	35
4.2	População	35
4.2.1	Critérios de Inclusão.....	35
4.2.2	Critérios de Exclusão.....	36
4.3	Determinações Antropométricas e de Circunferência Abdominal, e Aferição da Pressão Arterial	36
4.4	Determinações de Artrite Reumatoide, DAS28 e Síndrome Metabólica	36

4.5	Análises Bioquímicas e Imunológicas	37
4.6	Marcadores de Disfunção Endotelial – Moléculas de Adesão e PAI-1	37
4.7	Determinação de TNF-A, TNFR-1 e TNFR-2 Solúveis	38
4.8	Análises Estatísticas	38
5	RESULTADOS	39
5.1	Artigo: “METABOLIC SYNDROME MODULATES INFLAMMATORY AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS: ROLE OF TNF RECEPTOR TYPE 2 AND E-SELECTIN”	39
6	CONCLUSÕES	58
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
	ANEXOS	70
	Anexo 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO ARTRITE REUMATOIDE	71
	Anexo 2 – Aprovação da Pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa	73
	Anexo 3 – E-mail de Submissão do Artigo à Revista	74

1 INTRODUÇÃO

1.1 Artrite Reumatoide

1.1.1 Definição e Dados Epidemiológicos

A artrite reumatoide (AR) - doença sistêmica autoimune do tecido conjuntivo cujas alterações predominantes ocorrem nas estruturas articulares, periarticulares e tendinosas - manifesta-se por meio dos sinais cardinais de inflamação, e o substrato anatômico mais característico desse acometimento está sediado na membrana sinovial. Como se trata de doença sistêmica, embora as manifestações articulares lhe sejam típicas, muitos órgãos podem estar envolvidos, sobretudo naqueles pacientes com doença articular mais grave (CARVALHO, 2014).

A AR é uma das doenças reumáticas mais frequentes. Sua incidência e prevalência apresentam variações entre as diferentes regiões geográficas do mundo. A maior parte das informações disponíveis vem da Europa e dos Estados Unidos, onde ocorre em cerca de 0,5% a 1% da população caucasiana, com taxas mais baixas entre os descendentes de asiáticos e africanos (MOTA, 2011).

Dados da América Latina e do Brasil são mais escassos. Com base em estudos feitos em diferentes países da região, pode-se estimar uma taxa de prevalência de 0,4% para todo o continente (CARDIEL, 2006). Estudo multicêntrico brasileiro, em amostras populacionais das macrorregiões do país, encontrou prevalência de até 1% da população adulta (MARQUES-NETO, 1993). Um estudo seccional com 3.038 pessoas residentes na cidade de Montes Claros, Minas Gerais, encontraram uma prevalência de 0,46% de AR (SENNA, 2004).

Embora possa iniciar-se em qualquer idade, a AR ocorre mais frequentemente na faixa dos 30 aos 50 anos (SILMAN, 2002). Na América Latina, estudo mostrou que a idade média de início da doença é por volta dos 40 anos (MOTA, 2011).

A doença acomete ambos os sexos, mas há predomínio do feminino na proporção de 3:1, segundo estudos feitos na Europa e nos Estados Unidos (BURMESTER, 2012). Na América Latina, essa proporção foi estimada em cerca de oito mulheres acometidas para cada homem (CARDIEL, 2006).

A prevalência da enfermidade é duas a dez vezes maior entre os parentes de primeiro grau de pacientes com AR. Além disso, a AR é considerada uma doença multifatorial, resultando da interação de fatores genéticos e ambientais, como o tabagismo, que contribuem para sua ocorrência e expressão (ALAMANOS, 2005).

A AR exerce um impacto significativo sobre os pacientes e a sociedade como um todo devido a sua morbi-mortalidade, interferindo na qualidade de vida e em custos econômicos,⁹ apesar dos tratamentos mais novos e efetivos. Por acometer pacientes em idade produtiva e podendo determinar importante limitação na capacidade funcional e laboral, custos indiretos devem ser também incorporados às análises de farmacoeconomia (SCHOELS, 2010).

No Brasil, assim como em outros países, os custos relacionados a AR são elevados, sendo os custos indiretos da doença maiores ainda nos pacientes com maior incapacidade funcional (AZEVEDO, 2008). Observa-se também um aumento da mortalidade quando se comparam os pacientes com a população geral, havendo redução da expectativa de vida em três a dez anos (ALAMANOS, 2005).

Além de ser uma condição com potencial de destruição articular, incapacidade funcional e redução da qualidade de vida, a AR é fator de risco independente para mortalidade precoce, muitas vezes associada a maior risco de morte por doenças cardiovasculares (SALMON, 2008).

Percebe-se então a importância de se considerarem o diagnóstico precoce e o tratamento adequado da AR como medidas prioritárias em saúde pública.

1.1.2 Fisiopatologia

Trata-se de doença em que há, desde a fase inicial pré-articular, perda da autotolerância e conseqüente autoimunidade traduzidas por ativação linfocitária e produção de autoanticorpos. Fatores neuroendócrinos, genéticos e ambientais determinam o aparecimento das manifestações articulares, com 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, 17 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), assim como prostaglandinas (PGs) e metaloproteinases (MMPs). Os resultados são a destruição da cartilagem articular e a erosão

óssea mediadas por fibroblastos, condrócitos e osteoclastos, e o resultado clínico, por sua vez, se traduz pela ocorrência das deformidades e incapacidade funcional (CARVALHO, 2014).

Recentemente, o papel de fibroblastos sinoviócitos (FS) na AR tem sido esclarecido, onde tais células têm lugar de destaque na destruição cartilaginosa articular ao produzirem MMPs, quimiocinas e citocinas inflamatórias. Alterações epigenéticas (metilação do DNA) tornam os FS resistentes a apoptose, aumentando expressão de MMP e IL-6 (KLEIN, 2012).

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 autotolerância. De particular interesse, a ação lesiva do tabagismo transformaria resíduos de arginina em citrulina, evento denominado citrulinização, mediado pela enzima peptidil arginina deaminase tipo IV (PAD-4) (SILMAN, 1996).

Bactérias e vírus também têm sido implicados na etiopatogênese da AR, como parvovírus, *Epstein-Barr*, micoplasma, *Mycobacterium* e bactérias da microbiota intestinal. Admite-se que, durante a infecção, a formação de imunocomplexos pode determinar o aparecimento do fator reumatoide (FR) (PIERINGER, 2013).

Além da resposta sistema imune adaptativa, o sistema inato também está envolvido na patogênese da AR. As células do sistema inato podem ser ativadas via receptores de reconhecimento de padrão. Entre eles, estão receptores *Toll*, que podem ser estimulados por padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e associados a dano endógeno (DAMPs). Sua estimulação ativa macrófagos, que são responsáveis pela produção de TNF- α , IL-1, 6, 12, 15, 18 e 23, apresentação de antígenos e fagocitose (CARVALHO, 2014).

Outro mecanismo na AR, e que se segue à ativação linfocitária em órgãos linfoides, é a presença de linfócitos T nas articulações. O complexo maior de histocompatibilidade de antígenos (MHC) de classe II (HLA) em células apresentadoras ativa células T CD4 (*cluster of differentiation type 4*)⁺. Os linfócitos T continuariam a responder aos antígenos próprios, perpetuando o processo inflamatório, mesmo sem persistência de exposição ao antígeno. As citocinas 6, 21, 23, a IL-1 β e o fator β de crescimento transformador (TGF- β) produzido pelos macrófagos estimulam a diferenciação do linfócito T *helper* 17 (Th17) (CARVALHO, 2014).

Este, por sua vez, produz as ILs 17RA, 17RC, 21, 22 e TNF- α . A IL-17 e o TNF- α agem para ativar fibroblastos e condrócitos ao mesmo tempo em que inibem a diferenciação dos linfócitos reguladores. Ativados, os linfócitos estimulam monócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais a produzirem mais citocinas, como IL-1, IL-6 e TNF- α , fundamentais no processo de inflamação da AR, além de MMPs. Assim, citocinas ativam outras citocinas e

células, criando uma rede de citocinas pró-inflamatórias (figura 1) (CARVALHO, 2014).

Figura 1. Citocinas na artrite reumatoide

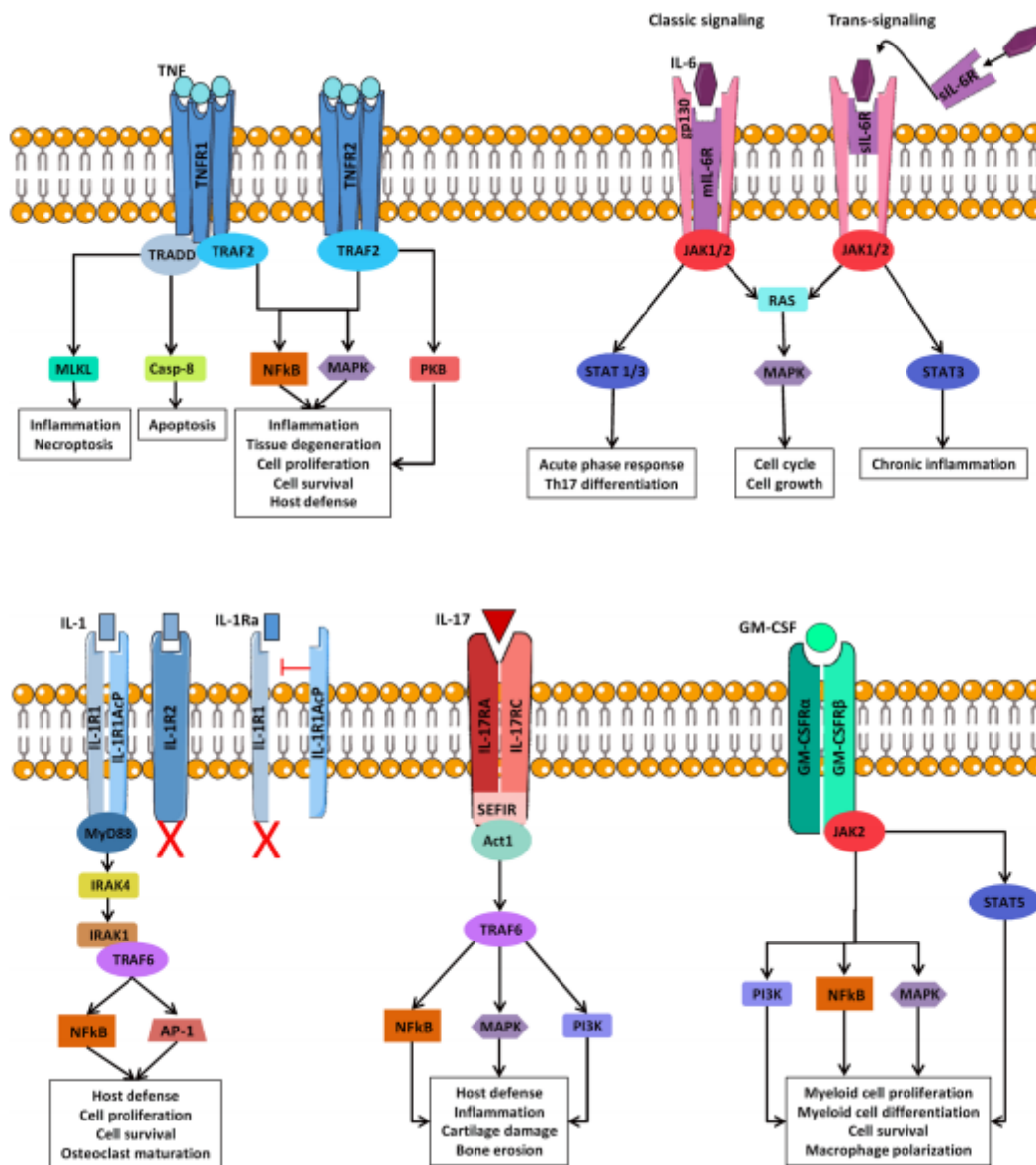


Figura 1. As vias de sinalização de TNF podem ligar dois receptores, TNFR1 e TNFR2, e sua sinalização requer um homotrímero. TNFR1 recruta a proteína TRADD para o seu domínio de morte, na ausência de TNFR2, leva à ativação de MLKL e caspase 8, que medeiam a morte celular. O recrutamento de TRAF2 leva à ativação de outras vias (MAPK, NFκB ou PKB), mediando as diferentes funções do TNF. A sinalização IL-6 ocorre de duas maneiras. A sinalização clássica é mediada por mIL-6R e trans-sinalização por sIL-6R. Ambos os mecanismos levam à ativação do JAK, que promove a ativação STAT ou Ras-MAPK, induzindo as funções da IL-6. IL-1 pode ligar dois receptores. A sinalização IL-1R1 passa pela proteína MyD88, que ativa o IRAK4. Então, IRAK1 que está associado ao TRAF6 é ativado pelo IRAK4, levando à ativação de NFκB e AP-1. IL-1R2 atua como um receptor de chamariz e, assim, a ligação de IL-1 não induz a transdução de sinal. A IL-17 liga um receptor heterodimérico composto por IL-17RA e IL-17RC. O SEFIR, seu domínio de sinalização conservado, recruta a ubiquitin ligase Act-1. Por sua vez, Act-1 recruta TRAF6 levando à ativação de NFκB, MAPK e PI3K. GM-CSF liga um receptor heterodimérico, composto por duas cadeias, GM-CSFRα e GM-CSFRβ que ativa JAK2. Isso leva à ativação de STAT5 ou PI3K, NFκB e MAPK, promovendo funções da GM-CSF. Adaptado de: Noak M, *in*: Semin Immunopathol (2017) 39:365–383 DOI 10.1007/s00281-017-0619-z

O TNF- α desempenha um papel importante ao proporcionar estímulo aos fibroblastos da sinóvia para a síntese da colagenase (enzima proteolítica) e estímulo à reabsorção óssea.

Além dos linfócitos T, estudos demonstram a importância dos linfócitos B na AR, presentes nos infiltrados inflamatórios sinoviais. As células B em maturação expressam a molécula CD20 na superfície. Os linfócitos T CD4 estimulam células B a produzir imunoglobulinas, incluindo o FR, que corresponde a autoanticorpos que têm a porção Fc da imunoglobulina da classe G (IgG) como seu antígeno (SOKOLOVE, 2012).

O FR promove a ativação do complemento por meio da formação de imunocomplexos com fixação de complemento estimulando a inflamação e levando a sinovite crônica, e títulos mais elevados de FR têm sido relacionados com doença mais grave (TROUW, 2013).

Os comprometimentos articular e periarticular têm início com alterações observadas na membrana sinovial. A sinovite, ao microscópio, é caracterizada por uma fase de exsudação, uma de infiltração celular e, finalmente, pela formação de tecido de granulação, que se trata de uma membrana sinovial hiperplasiada com a formação de tecido de granulação que recobre a cartilagem e o osso subcondral (*pannus*) (CARVALHO, 2014).

O *pannus* é um tecido invasivo composto por células que produzem grandes quantidades de enzimas destrutivas que progressivamente substitui a cartilagem hialina. Apresenta uma rica formação vascular, a angiogênese, 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 anquilose fibrosa ou óssea (CARVALHO, 2014).

1.1.3 Quadro Clínico e Exames Laboratoriais

A AR se instala de maneira insidiosa e progressiva na maioria das ocasiões, levando de semanas a meses até o seu estabelecimento completo. Os sintomas iniciais podem ser articulares e/ou sistêmicos. Em alguns pacientes, os sintomas iniciais consistem em astenia, fadiga, mal-estar, febre baixa ou dores musculoesqueléticas vagas antes do início das queixas articulares (BURMESTER, 2012; SCOTT, 2010).

Na AR, as articulações sinoviais mais frequentemente acometidas no início da doença são metacarpofalangeanas (MCFs), interfalangeanas proximais (IFPs), interfalangeanas dos polegares, punhos, ombros, joelhos e metatarsfalangeanas (MTFs). Com a evolução da

doença, outras articulações sinoviais costumam ser afetadas: tornozelos, cotovelos, IFPs dos pés, coluna cervical, esternoclaviculares, atemporomandibulares, coxofemorais, cricoaritenoides e, menos frequente, articulações entre os ossículos dos ouvidos e as interfalangeanas distais (IFDs) de mãos e pés. O acometimento articular é aditivo e simétrico (BURMESTER, 2012; HOCHBERG, 2015).

A dor é de ritmo inflamatório, com queixa de rigidez articular ao levantar-se pela manhã e após períodos de imobilização prolongada. Em geral, quanto maior a duração, maior é a atividade da doença (SCOTT, 2010; BRASINGTON, 2015).

As alterações locais de inflamação articular são frequentes: calor, edema com ou sem efusão (derrame articular), rubor (geralmente leve) e limitação de movimentos articulares. Nos casos de evolução mais longa ou quando o tratamento não se realizou de forma adequada, são comuns instabilidades e deformidades articulares (BURMESTER, 2012).

Os eventos cardiovasculares isquêmicos ocorrem cerca de uma década mais cedo nos pacientes com AR, sugerindo que, tal como o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM-2), essa doença é um fator de risco independente e significativo para doença arterial coronariana (DAC) (GABRIEL, 2008). É provável que a combinação de fatores de risco tradicionais e não tradicionais para DAC, como inflamação persistente, sejam importantes para o desenvolvimento da aterosclerose subclínica e clinicamente manifesta. Estudos têm demonstrado que indivíduos com AR têm risco até três vezes maior de novo evento cardiovascular quando comparados com indivíduos sem doenças inflamatórias, mesmo após correção para fatores de risco tradicionais para DAC. Ainda, pacientes com manifestações extra-articulares, em geral associadas a maior inflamação sistêmica, apresentam maior mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV) (SALMON, 2008; SOKOLOVE, 2012).

As alterações laboratoriais na AR não são específicas, mas há habitualmente um conjunto de achados que – adicionados à história clínica, ao exame físico e aos dados de exames de imagem – permitem a formulação do diagnóstico.

As provas de atividade inflamatória são os marcadores laboratoriais mais utilizados para avaliar o grau de atividade da AR e a evolução do processo inflamatório. As mais usadas são a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a dosagem de proteína C reativa (PCR). É importante lembrar que PCR e VHS variam também com a idade e o sexo, e a VHS pode sofrer influência de fatores como níveis de hemoglobina, gravidez e hipoalbuminemia (MOTA, 2011). Sobretudo a PCR pode sofrer interferência de alterações da SM.

Alguns anticorpos são potenciais marcadores diagnósticos na AR, como FR e diversos

anticorpos antiproteínas e peptídeos citrulinados, incluindo anti-CCPs (MOTA, 2011).

A pesquisa do FR encontra-se positiva em 70% a 80% dos pacientes com AR. O FR é constituído por autoanticorpos de diferentes classes de imunoglobulinas (IgM, IgG e IgA) dirigidos contra determinantes antigênicos do fragmento Fc das IgG. Sua utilidade como teste diagnóstico é limitada, já que 30% a 50% dos pacientes, no início do quadro, podem ser soronegativos para esse autoanticorpo. Também é encontrado em pacientes com síndrome de Sjögren, lúpus eritematoso sistêmico, e em várias doenças infecciosas crônicas, como síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), doença de Chagas, tuberculose, sífilis, hanseníase, hepatite crônica; bem como em 5% a 10% de pessoas saudáveis, sobretudo em idosos. Assim, a negatividade do FR não exclui o diagnóstico de AR e sua positividade deve ser interpretada de acordo com os achados clínicos. Na AR, a presença do FR está associada a pior prognóstico da doença. Níveis mais elevados se associam a doença agressiva, presença de nódulos reumatoides e manifestações extra-articulares (MOTA, 2011; BURMESTER, 2012).

O anti-CCP demonstrar boa aplicabilidade clínica e pode ser detectado em aproximadamente 70% a 80% dos soros de pessoas com AR, com especificidade de 90% a 98%. Raramente é detectado em outras doenças, mas pode estar presente na tuberculose ativa. Como aparece precocemente durante a evolução da doença, sua detecção é útil para auxiliar no diagnóstico nas fases iniciais da enfermidade, especialmente naqueles casos em que há dúvida diagnóstica e o FR é negativo. Existe evidência de que a presença de anti-CCP tem correlação com evolução mais grave da AR, podendo ser usado como indicador de progressão e prognóstico (ALARCON, 2007; MOTA, 2011; BURMESTER, 2012).

1.1.4 Critérios de Classificação para Artrite Reumatoide

Um grupo de trabalho conjunto da ACR e da Liga Européia Contra o Reumatismo (EULAR) desenvolveu uma abordagem para a classificação da AR em uma fase inicial de evolução da doença. O sistema de classificação tem como objetivo identificar, entre os indivíduos com quadro recente de artrite inflamatória, os fatores que melhor discriminam pacientes com alto risco para evoluir com doença persistente e/ou erosiva *versus* aqueles que não apresentam este risco (ALETAKA, 2010).

Para que os critérios de classificação (tabela 1) possam ser aplicados, dois requisitos obrigatórios devem ser atendidos: 1) evidência clínica de sinovite ativa no momento do exame

em pelo menos uma articulação (exceto naquelas normalmente envolvidas na osteoartrite – IFDs, 1ª MTF e 1ª carpometacarpiana); 2) é exigido julgamento clínico, pois os critérios só podem ser aplicados quando outras possíveis causas de sinovite (por exemplo, lúpus eritematoso sistêmico e gota) forem excluídas. A seguir, um sistema de pontuação baseado em medidas que são usadas na prática clínica é aplicado, e a doença será classificada como AR se um total de 6 ou mais pontos (de um valor máximo de 10) for atingido a partir da pontuação obtida em cada um dos quatro diferentes domínios (ALETaha, 2010).

Tabela 1. Critérios de Classificação para Artrite Reumatoide (ACR-EULAR)

Envolvimento articular	
1 grande articulação	0
2-10 grandes articulações	1
1-3 pequenas articulações (com ou sem envolvimento de grandes articulações)	2
4-10 pequenas articulações (com ou sem envolvimento de grandes articulações)	3
> 10 articulações (pelo menos 1 pequena articulação)	5
Sorologia (pelo menos o resultado de um teste é necessário)	
FR negativo e anti-CCP negativo	0
FR positivo em baixo título* ou anti-CCP positivo em baixo título*	2
FR positivo em alto título** ou anti-CCP positivo em alto título**	3
Provas de fase aguda (pelo menos o resultado de um teste é necessário)	
PCR normal e VHS normal	0
PCR anormal ou VHS anormal	1
Duração dos sintomas	
< 6 semanas	0
≥ 6 semanas	1

Fonte: Aletaha et. Al., 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria

* Baixo título: menor do que três vezes o limite superior da normalidade

** Alto título: maior ou igual do que três vezes o limite superior da normalidade

1.1.5 Escore de Atividade de Doença – DAS28

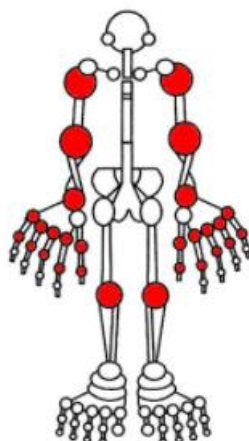
A atividade inflamatória na AR não pode ser medida usando-se uma variável única (FRANSEN, 2005; PINHEIRO, 2007). Por isso, foram desenvolvidos e validados os índices compostos de atividade de doença, como o *Disease Activity Score* (DAS) e o DAS28, seu derivado, que empregam mais de um dos parâmetros descritos (FUCHS, 1989; PREVOO,

1995; FRANSEN, 2005).

No cálculo do DAS28 emprega-se a contagem de 28 articulações (figura 2) quanto à presença de dor e edema; VHS ou PCR e, de forma opcional, a avaliação da saúde geral pelo paciente por meio de escala visual analógica (EVA), cujos valores vão de 0 a 100 (FUCHS, 1989; PREVOO, 1995). Uma calculadora própria para o DAS28 pode ser obtida gratuitamente pelo *site* www.das-score.nl. De acordo com seu valor, o nível de atividade é interpretado, para os diferentes escores de atividade, como abaixo:

- Remissão $\leq 2,4$
- Atividade leve $\leq 3,6$
- Atividade moderada $\leq 5,5$
- Atividade alta $> 5,5$

Figura 2. Articulações avaliadas no DAS28



A monitorização sistemática da atividade inflamatória serve a vários objetivos na prática clínica: reconhecer se o tratamento escolhido é realmente necessário e se está sendo efetivo, avaliar se a inflamação permanece sob controle e ajustar a dose das drogas empregadas (FRANSEN, 2005; PINHEIRO, 2007).

1.2 Síndrome Metabólica

A síndrome metabólica (SM) é definida por diversos fatores interligados fisiológicos, bioquímicos, clínicos e metabólicos que aumentam diretamente o risco de DCV e DM-2

(KAUR, 2014). Adiposidade visceral, resistência à insulina, liberação excessiva de ácidos graxos livres (AGL) e citocinas inflamatórias pelos adipócitos viscerais, estresse oxidativo, dislipidemia aterogênica, hiperglicemia, disfunção endotelial, hipertensão e estado de hipercoagulabilidade são os vários fatores que constituem a síndrome (GRUNDY, 2005).

A presença de SM confere um aumento de cinco vezes no risco para DM-2, em duas a três vezes para acidente vascular encefálico (AVE), em três a quatro vezes para infarto agudo do miocárdio (IAM) e de duas vezes o risco para morrerem em consequência de um desses distúrbios, independentemente de história prévia de eventos cardiovasculares (GRUNDY, 2005; WILSON, 2005; GRASSI, 2009).

Nesse trabalho, foi utilizada a classificação para síndrome metabólica adaptada de National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) (GRUNDY, 2005), devendo preencher pelo menos três dos cinco critérios da tabela 2:

Tabela 2. Componentes da síndrome metabólica segundo o NCEP-ATP III

Componentes	Níveis
Obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal <ul style="list-style-type: none"> • Homens • Mulheres 	> 94 cm > 80 cm
Triglicerídeos	≥ 150 mg/dL ou em uso de tratamento para hipertrigliceridemia
HDL Colesterol <ul style="list-style-type: none"> • Homens • Mulheres 	< 40 mg/dL < 50 mg/dL
Pressão Arterial	≥ 130 mmHg ou ≥ 85 mmHg ou em uso de anti-hipertensivos
Glicemia de jejum	≥ 100 mg/dL ou em uso de hipoglicemiantes

Fonte: Adaptado de Grundy *et. al*, Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome, 2005

A presença da SM vem aumentando na maioria dos países em função da crescente obesidade e hábitos de vida sedentários, e se eleva a cada década de vida (LAM, 2015; CORNIER, 2008). Embora rara antes dos 20 anos, tem sido relatada em crianças e adolescentes obesos (RIZZO, 2013). A SM tem relação direta com o grau de adiposidade, de

modo que, em ordem decrescente, afeta indivíduos obesos, com sobrepeso e com peso normal (PARK 2003; RIZZO, 2013; KAUR, 2014).

A prevalência mundial de SM, pelos critérios do NCEP-ATP III, variou de 8 a 43% em homens e 7 a 56% em mulheres (CAMERON, 2004). Numa revisão sistemática brasileira, envolvendo nove estudos transversais e utilizando os mesmos critérios de SM, as taxas variaram de 14,9 a 65,3%; a prevalência média foi de 29,8% na área urbana, 20,1% na área rural e 41,5% nas indígenas, com prevalência global média de 29,5% (VIDIGAL, 2013).

Na gênese da SM estão envolvidos fatores genéticos e ambientais. A SM parece decorrer do excesso de tecido adiposo visceral e da diminuição do tecido adiposo subcutâneo, levando a maior liberação de AGL e citocinas inflamatórias na circulação, entre outros achados (KAHN, 2000; MCGARRY, 2002; GODOY-MATOS, 2010; KAUR, 2014).

Os adipócitos viscerais são células maiores do que os subcutâneos, se multiplicam pouco, são metabolicamente mais ativos e apresentam atividade lipolítica mais acentuada. Ademais, eles acumulam menos AGL e possuem grande capacidade de secretar citocinas inflamatórias, tais como TNF- α , IL-6, além de PCR e de inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) (HALBERG, 2008; KAUR, 2014). Primariamente, a SM parece ser decorrente de uma desproporção na distribuição de adipócitos subcutâneos e viscerais (KAHN, 2000; GODOY-MATOS, 2010).

O excesso de citocinas pró-inflamatórias (principalmente TNF- α e IL-6) resulta numa inflamação localizada no tecido adiposo que se propaga para uma inflamação sistêmica, associada ao desenvolvimento de comorbidades relacionadas à obesidade, resistência à insulina (RI), estresse oxidativo e aterosclerose (HALBERG, 2008; KAUR, 2014; SRIKANTHAN, 2016). A participação dessas citocinas na gênese da RI se daria por inibirem diretamente a ativação do receptor da insulina, dificultando o transporte intracelular da glicose (KAUR, 2014; SRIKANTHAN 2016).

O excesso de PAI-1, junto com o aumento dos níveis dos fatores VIII e V, respondem por um estado de hipercoagulabilidade, que favorece a ocorrência de eventos vasculares trombóticos (como IAM e trombose venosa profunda) (KAUR, 2014; SRIKANTHAN, 2016).

Outra característica da SM e outras condições associadas à resistência insulínica são níveis baixos de adiponectina, uma adipocina com propriedades anti-inflamatórias e antiaterogênicas (KAUR, 2014). Adicionalmente, ela aumenta a sensibilidade à insulina, bem como inibe enzimas da gliconeogênese hepática, reduzindo, assim, a produção endógena de glicose (GODOY-MATOS, 2010; BALSAN, 2015; BAHIA, 2016).

A SM pode ter complicações clínico-laboratoriais, comentadas a seguir, que implicam alta morbi-mortalidade (PARK, 2003; GODOY-MATOS, 2003; KAUR, 2014; LAM, 2015).

A dislipidemia em pacientes com SM é altamente aterogênica. Caracteriza-se por hipertrigliceridemia e níveis baixos de HDL (lipoproteína de alta densidade), associados ao aumento de partículas de LDL (lipoproteína de baixa densidade), mais aterogênicas (CORNIER, 2008; KAUR, 2014; LAM, 2015), aumentando o risco cardiovascular desses pacientes (GRASSI, 2009; MOTTILLO, 2010). A combinação de fatores de risco (HDL baixo, hipertrigliceridemia, hipotensão, aumento do PAI-1, hiperinsulinemia e hipoadiponectinemia, entre outros) faz dessa população um grupo de indivíduos altamente suscetíveis a DCV, com risco até três vezes maior para evento cardiovascular, até quatro vezes para morte por doença arterial coronariana (DAC) e até 2,4 para morte por qualquer causa (WILSON, 2005).

A incidência de DM-2 é até cinco vezes maior em pacientes com SM em comparação a um grupo de pacientes sem a síndrome (WILSON, 2005; GRASSI, 2009). A hiperinsulinemia, associada a hiperleptinemia, redução do óxido nítrico e aumento da endotelina-1, levaria à vasoconstrição periférica e retenção de líquidos, reduzindo o fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética e ocasionando a RI (GODOY-MATOS, 2003; CORNIER, 2008; KAUR, 2014).

1.3 O Processo Inflamatório

A inflamação é um processo crucial nos mecanismos de defesa normais contra vários patógenos, sendo os leucócitos os principais mediadores celulares da inflamação. Ela é caracterizada pelo acúmulo de leucócitos no tecido afetado devido à migração de leucócitos circulantes para fora dos vasos sanguíneos, processo que é ativamente mediado e controlado pelos leucócitos e citocinas que produzem, e pelo endotélio vascular (ZARBOCK, 2008). No entanto, respostas inflamatórias excessivas ou não controladas podem levar à inflamação patológica observada em muitas desordens inflamatórias, como na AR e na SM.

A passagem de leucócitos da corrente sanguínea para o tecido é importante para a vigilância de antígenos estranhos e para o rápido acúmulo de leucócitos num local de resposta inflamatória ou lesão tecidual (LEY, 2007).

A adesão endotelial de leucócitos envolve interações dinâmicas entre leucócitos e

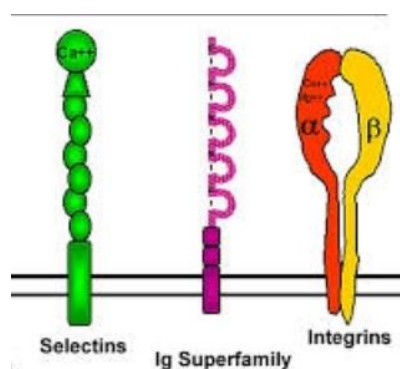
células endoteliais. Essas interações são mediadas por várias famílias de moléculas de adesão, cada uma das quais participa em uma fase diferente do processo. A expressão superficial e a ativação dessas moléculas durante uma resposta inflamatória é rigorosamente controlada em condições normais (NOURSHARGH, 2014).

1.3.1 Moléculas de Adesão

Três famílias de moléculas de adesão são de particular importância para o processo de adesão leucócito-endotelial (figura 3) (KANSAS, 1996):

- Selectinas: medeiam primariamente a marginação e o rolamento celular. Estão localizadas em leucócitos e células endoteliais;
- Integrinas: localizadas em leucócitos e envolvidas no rolamento, mas são mais importantes para a adesão no endotélio vascular;
- Membros da superfamília de imunoglobulinas (IgSF) de proteínas: moléculas importantes para a adesão firme e transmigração, e são amplamente expressas em células endoteliais.

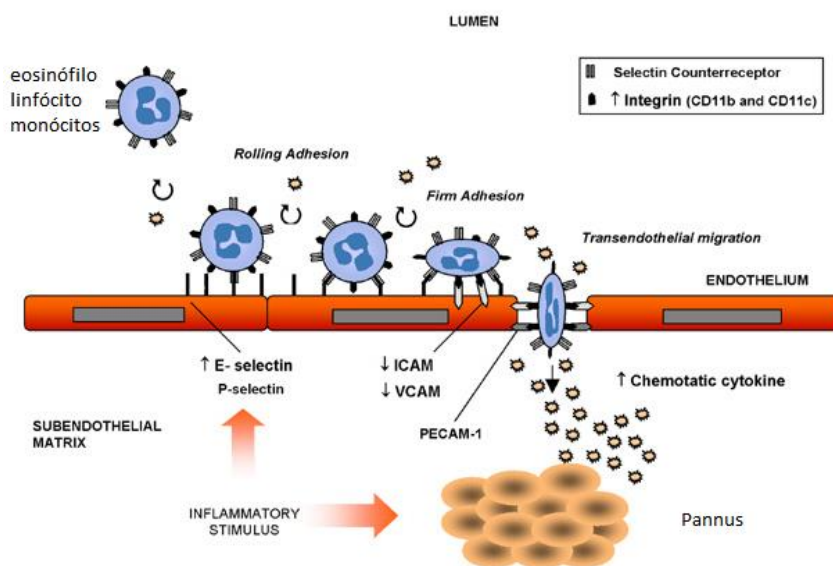
Figura 3. Moléculas de adesão



Fonte: Catholic High School's Anatomy/Physiology Senior Elective Course

As selectinas são glicoproteínas transmembranas de tipo I expressas em leucócitos e células endoteliais. Existem três selectinas, E-, P- e L-selectina, denominadas para o tipo de célula em que foram originalmente identificadas (endotélio, plaquetas e leucócitos). Todas as três selectinas partilham características estruturais semelhantes e um domínio semelhante, a lectina N-terminal, que é crucial para a ancoragem do ligante (KANSAS, 1996) (figura 4).

Figura 4. Selectina regula o recrutamento inicial de leucócitos na resposta inflamatória.



Fonte: Adaptado de Pados *et al.*, 2007

A P-selectina (também chamada de molécula de diferenciação 62P ou CD62P) está envolvida no recrutamento precoce de leucócitos durante a resposta inflamatória. É constitutivamente expressa e armazenada em grânulos secretores dentro de células endoteliais. Uma vez que o endotélio é estimulado por mediadores inflamatórios, estes grânulos se fundem com a membrana plasmática, aumentando a expressão superficial (KANSAS, 1996).

A E-selectina (CD62E) é sintetizada e expressa em células endoteliais e leucócitos após estimulação por vários mediadores inflamatórios tais como IL-1, endotoxina e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (KANSAS, 1996).

A L-selectina (CD62L) só é expressa em leucócitos, ao contrário das outras duas selectinas, e medeia o recrutamento de linfócitos em locais endoteliais do tecido linfático (KANSAS, 1996).

As integrinas são amplamente responsáveis pela adesão de leucócitos a células endoteliais. São compostas por heterodímeros de cadeias de proteínas α e β covalentemente associadas, e nomeadas de acordo com as cadeias α e β específicas presentes. Os membros anteriores das subclasses β 1 e β 2 das integrinas são os principais responsáveis pela migração de leucócitos para áreas de inflamação (CARLOS, 1994; BERLIN, 1995).

Eosinófilos, linfócitos e monócitos expressam a molécula β 1 da integrina dimérica chamada antígeno muito tardio 4 (VLA-4), que se liga à molécula de adesão de células vasculares endoteliais 1 (VCAM-1, uma proteína da IgSF) e é crítica para o acúmulo destes

tipos de células em locais de infecção crônica (CARLOS, 1994; BERLIN, 1995).

Todas as integrinas leucocitárias $\beta 2$ partilham uma subunidade $\beta 2$ comum (CD18) e diferem nas suas cadeias α . As três integrinas são expressas constitutivamente e devem ser "ativadas" para se tornarem adesivas para seus ligantes (CARLOS, 1994; BERLIN, 1995).

As moléculas da IgSF expressas em células endoteliais interagem com integrinas em leucócitos e estão envolvidas na adesão firme e na transmigração. As moléculas desta família importantes na adesão leucócito-endotelial são: molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), ICAM-2 e VCAM-1. Números variáveis destas moléculas são expressos na superfície das células endoteliais tanto constitutivamente como após a ativação celular (KELLY, 2007).

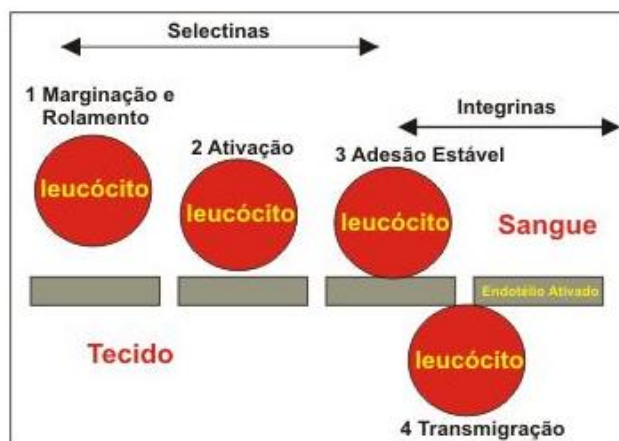
A ICAM-1 é expressa constitutivamente em níveis baixos nas células endoteliais e não aumenta após a estimulação celular. A VCAM-1 é sintetizada apenas por estimulação com múltiplos fatores, como IL-1, TNF- α e endotoxina. A molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias 1 (PECAM-1 ou CD31) é um membro da IgSF que é expresso em níveis baixos na maioria dos leucócitos e das plaquetas, mas em níveis elevados no endotélio, localizado nas junções intercelulares. O PECAM-1 está envolvido na migração transendotelial dos fagócitos, principalmente na migração através da membrana basal subendotelial (DUNCAN, 1999).

1.3.2 Cascata de Adesão

Em condições normais, os leucócitos se movem rapidamente na circulação, transportados no fluxo laminar do sangue, e seu da corrente sanguínea para o tecido ocorre em passos distintos (WAGNER, 2008), num processo dito marginação leucocitária (figura 5).

Inicialmente, em condições de fluxo, as moléculas de adesão soltas da parede do vaso provocam a rotação dos leucócitos no endotélio, principalmente em vênulas pós-capilares. Este passo transitório e reversível é um pré-requisito para a ativação de leucócitos. Seguem-se a adesão, a aderência estável e a transmigração através do endotélio vascular. Cada um destes passos envolve moléculas de adesão diferentes e pode ser regulado de forma distinta (WAGNER, 2008).

Figura 5. Marginação leucocitária



Em resposta a estímulos inflamatórios locais, as células endoteliais tornam-se ativadas e aumentam dramaticamente a expressão superficial das selectinas. As selectinas interagem com ligantes de hidratos de carbono na superfície dos leucócitos (WAGNER, 2008).

A interação de selectinas nas células endoteliais com os seus ligantes nos leucócitos resulta em rotação lenta dos leucócitos nas paredes dos vasos adjacentes ao local da lesão. As células de rolamento se desprenderão se o fluxo for interrompido porque a força da ligação das P e L-selectinas aos seus ligantes é aumentada pela força de cisalhamento. A ligação às selectinas liga os leucócitos, expondo-os a quimiocinas. Nenhuma adesão estável ocorre nesta fase muito precoce da cascata (FINGER, 1996; LAWRENCE, 1997).

O rolamento lento permite aos leucócitos mostrarem as quimiocinas que estão sendo sintetizadas no microambiente local. O rolamento é reversível até que as integrinas dos leucócitos se tornem suficientemente ativadas. As quimiocinas e seus receptores fornecem os sinais de ativação para integrinas (FINGER, 1996). As integrinas ativadas na superfície de leucócitos mediam então a adesão, por uma rede de sinalização intracelular complexa, transmitindo sinais regulatórios para a superfície celular que induzem mudanças conformacionais em moléculas de integrina, e emergem como um reguladores-chave da sua ativação (LAWRENCE, 1997).

Assim, o controle da função da integrina ocorre através de sinais que se originam dentro do citoplasma celular em resposta a alterações no estado da célula. Em resposta a sinais de ativação, as integrinas superficiais sofrem uma transição de baixa a alta afinidade, com separação das caudas citoplasmáticas das subunidades α e β e abertura do sítio de ligação. Estas alterações são importantes para a detenção de leucócitos (ALON, 2008).

A transmigração pelas paredes venulares é o passo final no processo de migração de

leucócitos no tecido. Ocorre sobretudo em junções entre células endoteliais (MULLER, 2003), onde um leucócito temporariamente preso em um local distante da junção deve "rastejar" para um próximo local, enquanto resiste ao destacamento (ALON, 2004). Moléculas específicas, como PECAM-1, estão nesses locais de junção e medeiam a migração transendotelial de leucócitos (NOURSHARGH S, 2006).

1.4 Moléculas de Adesão na Artrite Reumatoide

O crescimento de novos vasos sanguíneos (neovascularização) sinoviais é uma das primeiras respostas histopatológicas na AR. Este evento é acompanhado pela transudação de fluido e pela transmigração de linfócitos para a sinóvia e de leucócitos polimorfonucleares para o líquido sinovial. Na sinóvia madura da AR, a massa do tecido é demasiada mesmo para os capilares novos e o resultado é a isquemia de tecido local (DISTLER, 2004).

A hipóxia sinovial relativa está associada a uma produção aumentada do fator de transcrição indutor de hipóxia 1 (HIF-1), que ativa a transcrição de genes que são de importância vital na angiogênese, incluindo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o receptor de VEGF (DISTLER, 2004).

Sem novos vasos sanguíneos, não haveria nutrientes para suportar a sinóvia altamente catabólica da AR (COLVILLE-NASH, 1992; FIRESTEIN, 1999; ZEKANECZ, 2010). A nova formação capilar é induzida e/ou estabilizada pelo HIF-1 e por fatores angiogênicos gerados pelas células sinoviais. Uma das principais citocinas pró-inflamatórias, o TNF pode indiretamente estimular a angiogênese (DEBUSK, 2003).

À medida que os novos vasos se desenvolvem, as citocinas produzidas na sinóvia em resposta ao TNF (como IL-1, IL-6, IFN- γ e substância P) ativam as células endoteliais para produzir moléculas de adesão, tais quais ICAM-1, VCAM-1, P-selectina e E-selectina. Estas moléculas agilizam a adesão dependente da ativação dos leucócitos, facilitando assim a diapedese e extravasamento na sinóvia (GERRISTSEN, 1992; LALLY, 2005).

1.4.1 O Fator de Necrose Tumoral Alfa na Artrite Reumatoide

O TNF- α é uma citocina pleiotrópica e pró-inflamatória que desempenha papel

fundamental na origem e na progressão da AR, produzida principalmente por monócitos e macrófagos. O TNF- α sintetizado é inserido na membrana celular. Posteriormente, a enzima conversora de TNF- α (TACE) cliva este TNF- α ligado a células para liberá-lo na circulação. Tanto o TNF solúvel (sTNF) como o TNF de membrana (mTNF) são biologicamente ativos ao interagir com qualquer um dos dois receptores distintos, receptor 1 de TNF (TNFR1, p55) e receptor 2 de TNF (TNFR2, p75), expresso em uma grande variedade de células-alvo (PESCHON, 1998).

A sinalização do receptor de TNF ocorre por duas vias: um braço tem proteínas de domínio que levam à apoptose, e outro é uma via de sinalização que passa por uma série de quinases, levando à ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (MAGYARI, 2014).

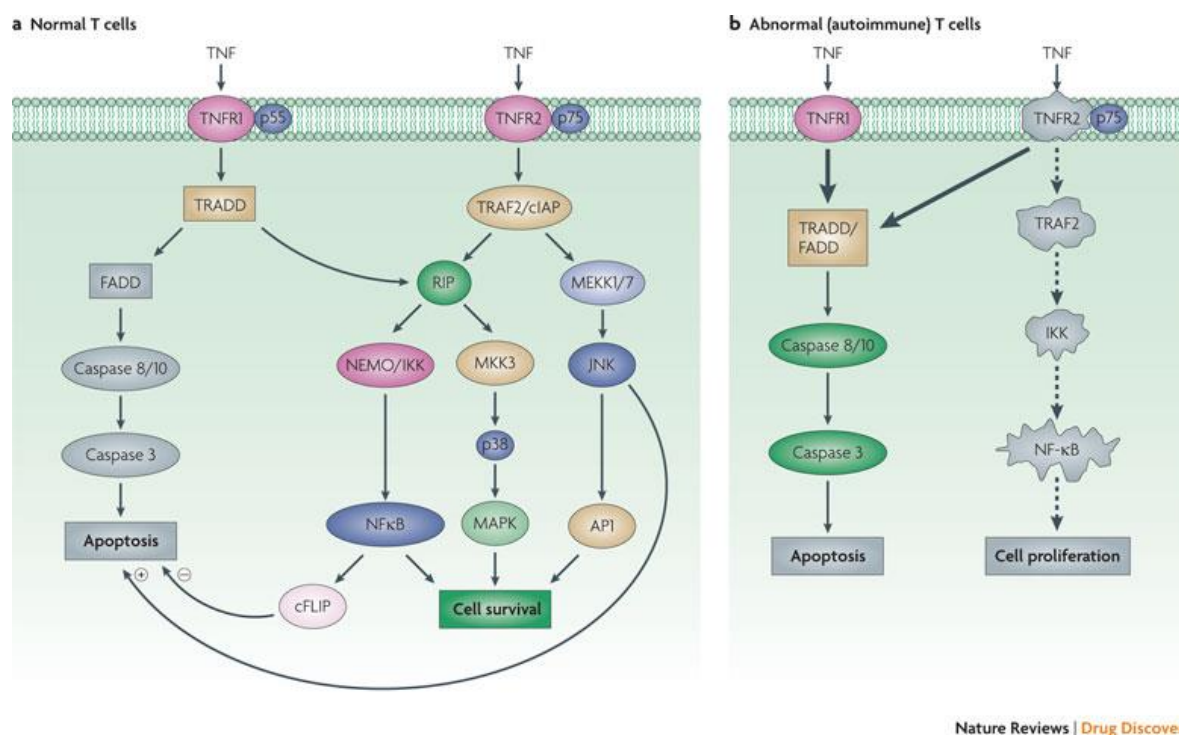
O mecanismo de ação dos antagonistas do TNF- α baseia-se na neutralização do sTNF e do mTNF, e tem um efeito mais global na inflamação do que o bloqueio de outras citocinas. A interrupção das vias do sinal mediadas pelo TNF tem numerosas consequências: apoptose, inibição da citocina pró-inflamatória e liberação de quimiocinas, mas também ativação celular de condrócitos, osteoclastos e células endoteliais, redução do acúmulo de leucócitos e angiogênese, e aumento do número de células T reguladoras (MAGYARI, 2014).

1.4.2.1 Regulação de Receptores de TNF

Os receptores de TNF podem ter entre um e quatro domínios de repetição de cisteína, permitindo um grande grau de diversidade (figura 6). A relação entre ligantes e receptores na superfamília TNF nem sempre é 1:1. Em vez disso, muitas citocinas da família TNF ligam mais de um receptor, como o TNF que interage com TNFR1 e TNFR2 (KIM, 2017).

Os receptores de TNF sinalizam pelo recrutamento ordenado de uma série de complexos. A maioria dos receptores da família de TNF sinaliza através do recrutamento de proteínas adaptadoras multifuncionais chamadas fatores associados ao receptor de TNF (TRAFs). As proteínas TRAF se ligam a sequências curtas de aminoácidos nas caudas intracelulares dos receptores, resultando em TRAF 1 a 6. Cada parte do trímero TRAF se liga a um tipo de receptor, resultando em uma estrutura que reflete o complexo TNF-TNFR na parte externa da célula (KIM, 2017).

Figura 6. Sinalização normal e anormal através de receptores TNFR1 e TNFR2



Fonte: Faustman *et al.*, 2010.

TNF sinalizando através de TNFR1 e TNFR2 em células T normais em comparação com células T anormais (auto-ímmunes). O fator de necrose tumoral (TNF) liga o TNF receptor 1 (TNFR1) e TNFR2 para estimulação de dois eventos de sinalização opostos. Em geral, a sinalização TNFR1 exclusiva resulta no gatilho de uma cascata que pode resultar em apoptose. Isso depende do tipo de célula, do estado de ativação da célula e do ciclo celular. Em contraste, um sinal exclusivo de TNFR2, especialmente em células T altamente ativadas, induz vias de sobrevivência celular que podem resultar em proliferação celular. b | Verificaram-se que as células T autoreativas na doença humana e murina apresentam defeitos proteicos na via de sinalização de TNFR2 em diferentes níveis. Esses defeitos de sinalização em vários locais ao longo da via TNFR2 resultam em blocos para ineficiências na via TNFR2 para a sobrevivência celular ou proliferação celular. Isso então sugere células T autoreativas para preferencialmente usar a via TNFR1 e a apoptose seletiva ocorre. AP1, proteína ativadora 1; cFLIP, proteína inibitória tipo FLICE celular (também conhecida como CFLAR); CIAP, inibidor celular da proteína da apoptose; FADD, domínio da morte associado a Fas; IKK, inibidor da quinase B; JNK, quinase N N-terminal; MAPK, proteína quinase ativada por mitogênio; MEKK, quinase quinase quinasa ativada por mitógeno; MKK3, proteína quinase quinase 3 ativada por mitógenos de especificidade dupla; NEMO, modulador essencial do factor nuclear -AB (NF- δ B); RIP, proteínas que interagem com o receptor; TRADD, domínio de morte associado a TNFR1; TRAF, fator associado ao receptor de TNF

As interações de TNF-TNFR1 promovem sobretudo produção de citocinas pró-inflamatórias, e morte celular raramente é observada, como ocorre na AR. O TNF que atua em TNFR1 é um amplificador chave de respostas inflamatórias inatas e choque séptico (KOLLIAS, 2005).

Os pacientes com AR apresentam níveis elevados de TNF- α em seus fluidos sinoviais, e TNF no fluido sinovial correlaciona-se com as erosões ósseas (CHU, 1991).

O TNFR1, mas não o TNFR2, contém o domínio da morte celular programada;

consequentemente, a sinalização via TNFR1 pode levar à apoptose celular mediada por caspase. No entanto, com algumas diferenças, ambos TNFR podem se ligar ao fator 2 associado ao TNFR (TRAF2) e ativar a p38 MAP kinase (p38MAPK), a proteína-1 (AP-1) ativada e as vias de fator nuclear kB (NF- κ), levando à inflamação e à sobrevivência celular (FAUSTMAN, 2010; KIM, 2017).

Devido à expressão diferencial de TNFR, a sinalização de TNF- α é principalmente mediada por TNFR1 na maioria das células, mas também por TNFR2 em células imunes. Além disso, o TNFR1 pode ser ativado tanto pelo TNF- α ligado à mTNF quanto pelo sTNF, enquanto o TNFR2 pode ser ativado apenas pelo mTNF (FAUSTMAN, 2010; KIM, 2017).

Na maioria das linhagens celulares e tecidos primários coexistem ambos receptores de TNF, embora o TNFR2 seja mais expresso em células de linhagem hematopoética. Os tipos de receptores de TNF mostram um padrão muito mais limitado de expressão celular *in vivo* e são altamente regulados por lesão tecidual isquêmica ou inflamatória (REMMERS, 2007).

Esta expressão regulada de receptores de TNF, que ocorre em diversos tecidos, provavelmente resultará de mudanças tanto na taxa de síntese quanto na perda de receptores.

Uma série de estímulos, incluindo TNF, IL-1, IL-10 e ativador de plasminogênio tecidual tipo 1 (PAI-1), aumenta a expressão de TNFR2 através da ativação transcricional, enquanto a expressão de TNFR1 é mais comumente reduzida por esses estímulos (MURPHY, 2000; KAPPOS, 2006; KING, 2008).

1.4.2.2 Efeitos Biológicos das Células do TNF na Resposta Inflamatória

Embora os receptores de TNF sejam diferentemente expressos numa ampla gama de células e tecidos, muitos dos efeitos pró-inflamatórios do TNF podem ser explicados com base nos efeitos do TNF sobre o endotélio vascular e nas interações de leucócitos endoteliais. Em resposta ao TNF, as células endoteliais promovem inflamação, exibindo, num padrão temporal, espacial e anatômico diferentes combinações de moléculas de adesão para leucócitos, incluindo E-selectina, ICAM-1 e VCAM-1. Em combinação com a liberação de quimiocinas (incluindo IL-8, MCP-1 e IL-10), essas respostas levam ao recrutamento de diferentes populações de leucócitos independentes do reconhecimento de antígenos (HOCHBERG, 1976; HOCHBERG, 2014).

Além disso, muitas das características clássicas da inflamação podem ser produzidas por efeitos locais de TNF em células endoteliais. A expressão induzida por TNF da ciclo-oxigenase 2 pode aumentar a produção pelas células endoteliais de PGI₂, resultando em

vasodilatação, causando "rubor" e "calor" através do aumento do fluxo sanguíneo local. Com a maior permeabilidade vascular mediada pelo TNF, há aumento da passagem transendotelial de fluidos e macromoléculas, formando o “edema”. Além disso, a expressão induzida por TNF de proteínas pró-coagulantes, como o fator tecidual, e a redução da regulação da proteína anticoagulante, como o TNF de trombosmodulina, podem causar trombose intravascular, gerando “dor” (HOCHBERG, 1976; HOCHBERG, 2014).

1.4.2.3 Os Inibidores do Fator de Necrose Tumoral Alfa

Atualmente, os inibidores de TNF- α aprovados no Brasil são: infliximabe, um anticorpo monoclonal IgG1 bivalente humano quimérico (75% humano, 25% camundongo); certolizumabe pegol, uma proteína humanizada com sequências de aminoácidos derivadas de anticorpo monoclonal anti-TNF de camundongo e inseridas em domínios humanos; adalimumabe e golimumabe, anticorpos monoclonais totalmente humanos; etanercept, proteína de fusão dimérica composta por sTNFR2 e porção Fc de IgG1 humana, cuja ação primária é ligar e inativar TNF- α e linfotoxina- α solúvel e celular (XIXI, 2013).

Outra maneira de bloquear o TNF- α em fluidos biológicos é inibindo o TACE até a redução de 95% da produção de TNF. Os inibidores de TACE estão em desenvolvimento, mas, mesmo depois de mais de uma década, nenhum inibidor de TACE passou pelos ensaios clínicos de fase 2 (MAGYARI, 2014).

1.5 Artrite Reumatoide e Síndrome Metabólica

Pesquisas científicas sobre AR levaram à elaboração de recomendações sobre diagnóstico precoce de manifestações articulares, medições adequadas de atividade inflamatória e danos ósseos e tratamento baseado em metas, que foram consolidadas em diretrizes similares de várias organizações como a Sociedade Brasileira de Reumatologia (SBR), o Colégio Americano de Reumatologia (ACR) e a Liga Europeia contra o Reumatismo (EULAR).

À medida que estratégias de tratamento das manifestações articulares se expandiram em termos de opções e eficácia, surgiu uma preocupação maior com as doenças associadas, particularmente as DCV, que se tornaram a principal responsável pela diminuição da sobrevida nesta população, apesar dos avanços significativos na terapia medicamentosa.

Atualmente, recomenda-se uma investigação e monitoramento precoce dos fatores de risco tradicionais para DCV, uma vez que sua presença está associada a um aumento da atividade clínica da AR, com pior prognóstico e com aumento de DCV (FERRAZ-AMARO, 2013).

O estado inflamatório crônico, um estilo de vida sedentário e o uso de antiinflamatórios não esteroides (AINEs) e corticosteroides determinam a ativação de vários mecanismos prejudiciais à circulação e a predisposição à SM. A AR e SM compartilham mecanismos patogênicos, como aumento de radicais livres, deficiência de sistemas antioxidantes, aumento de citocinas pró-inflamatórias, lesão endotelial e formação e desestabilização de placas ateroscleróticas (FERRAZ-AMARO, 2013).

Embora a identificação de SM em pacientes com AR seja muito variável, dependendo das populações estudadas e dos critérios de classificação utilizados, sua prevalência vem aumentando e determina um risco adicional de DCV (FERRAZ-AMARO, 2013).

Um melhor conhecimento da prevalência de SM e suas associações em diferentes grupos de pacientes resulta em subsídios para melhorar estratégias preventivas.

A comunidade científica ainda discute se a avaliação do risco de DCV deve ser realizada por instrumentos utilizados na população em geral, ou por instrumentos adaptados para AR, para permitir uma avaliação de risco mais confiável, a fim de reduzir a morbidade e a mortalidade.

2 JUSTIFICATIVA

Visto que pacientes com AR apresentam alto risco de apresentar SM, e que o processo inflamatório presente na AR resulta em alterações metabólicas importantes; considerando que a SM é uma doença inflamatória crônica que aumenta o risco cardiovascular em pacientes com AR; que tanto a AR quanto a SM interferem em componentes inflamatórios e isso gera um perfil de comportamento de marcadores séricos, como moléculas de adesão e citocinas; que não são de nosso conhecimento, até o momento, artigos que tenham avaliado se a presença de SM altera os níveis das moléculas de adesão e TNF e seus receptores em pacientes com AR; este estudo propõe-se a avaliar a influência da síndrome metabólica sobre as moléculas de adesão e TNF- α e seus receptores em pacientes com artrite reumatoide.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar se a presença de SM poderia modular o perfil dos marcadores de TNF- α , sTNFR-1, sTNFR-2, e disfunção endotelial através dos metabólitos do NO, moléculas de adesão e PAI-1 em pacientes com AR.

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar a influência da síndrome metabólica sobre as moléculas de adesão, PAI-1 e TNFa e seus receptores em pacientes com artrite reumatoide.

Mensurar os níveis de marcadores séricos da SM, da inflamação e da disfunção endotelial em indivíduos controles e em pacientes com AR.

Verificar se a presença de SM poderia estar associada a níveis séricos diferentes de marcadores inflamatórios e da disfunção endotelial entre os paciente com AR.

Identificar se há algum marcador que possa predizer ou estar associado à presença de AR com e sem SM.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento do Estudo

Estudo observacional, transversal, tipo caso-controle envolvendo indivíduos acompanhados no ambulatório de Reumatologia do Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário (AEHU) de Londrina, e indivíduos doadores de sangue no Hemocentro Regional de Londrina (HRL).

4.2 População

Foram selecionados 193 pacientes com diagnóstico de AR atendidos no ambulatório de Reumatologia do AEHU. As consultas foram realizadas por dois reumatologistas na mesma data da coleta de sangue.

O grupo controle foi composto por 143 indivíduos doadores de sangue atendidos no HRL.

Os serviços citados atendem à demanda da área geográfica da 17ª Regional de Saúde do Paraná.

Todos indivíduos assinaram termo de consentimento livre e esclarecido antes da realização de qualquer procedimento (anexo 1). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, sob parecer em anexo 2.

4.2.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos os indivíduos portadores de AR que preencheram os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) e da Liga Europeia de Reumatologia (EULAR) 2010, entre 18 e 70 anos, de ambos os sexos (ALETAHA, 2010). A mesma idade foi seguida no grupo controle.

4.2.2 Critérios de Exclusão

No grupo controle, os critérios de exclusão foram a presença de doença autoimune, cardíaca, renal ou hepática, uso de medicamentos anti-inflamatórios ou de suplemento nutricional com atividade antioxidante. No grupo de pacientes, foram excluídos aqueles com outras comorbidades associadas, como doenças infecciosas agudas ou crônicas, outras doenças autoimunes, doença hepática ou renal, idade menor de 18 anos e maior de 70 anos.

Os grupos foram controlados por sexo, idade e etnia.

Informações referentes ao estilo de vida, duração da AR, tabagismo (sim ou não), manifestações extra-articulares, uso de anti-inflamatórios não esteroidais, corticosteroides, drogas modificadoras de curso da doença (DMCDs), agentes biológicos (medicamentos), anti-hipertensivos, fibratos, hipolipemiantes e hipoglicemiantes foram obtidas durante a consulta clínica destes pacientes.

4.3 Determinações Antropométricas e de Circunferência Abdominal, e Aferição da Pressão Arterial

O peso corporal foi aferido utilizando balança eletrônica com escala de 0,1kg, com indivíduos vestindo roupas leves, sem sapatos, pela manhã. A altura foi aferida por meio de estadiômetro com escala de 0,1 cm. Índice de massa corpórea (IMC) foi calculado segundo a fórmula: peso (kg) dividido pela altura (m) elevada ao quadrado.

A circunferência abdominal (CA) foi medida com fita métrica macia na escala de 0,1 cm, com o paciente em pé, na região média entre a última costela e a crista ilíaca.

A medida da pressão arterial foi aferida com o paciente sentado, no membro superior esquerdo, após repouso de 30 minutos. Foram realizadas três medidas da pressão arterial, com intervalo de 1 minuto entre elas. A média das medidas foi utilizada para análise.

4.4 Determinações de Artite Reumatoide, DAS28 e Síndrome Metabólica

Os indivíduos foram classificados como sendo portadores de AR pelo critérios de classificação da ACR-EULAR com pontuação ≥ 6 (tabela 1).

O estado da atividade da doença foi determinado usando o índice DAS28.

Os pacientes com AR foram divididos em dois grupos: o primeiro grupo sem SM (AR SM-, n = 124) e o segundo grupo com SM (AR SM+, n = 69).

SM foi definido se três ou mais dos seguintes cinco critérios fossem atendidos: 1) circunferência da cintura ≥ 94 cm nos homens e 80 cm nas mulheres, 2) níveis de triglicérides (TGL) em jejum ≥ 150 mg/dL, 3) lipoproteína de alta densidade (HDL) ≤ 40 mg/dL em homens ou ≤ 50 mg/dL em mulheres; 4) pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg (ou uso de medicação anti-hipertensiva) e 5) níveis de glicose em jejum ≥ 100 mg/dL ou uso de hipoglicemiante (GRUNDY, 2005).

4.5 Análises Bioquímicas e Imunológicas

Após o jejum durante 12 horas, os pacientes foram submetidos à seguinte análise de sangue laboratorial: glicose e perfil lipídico (TGL, colesterol total, LDL, HDL) foram avaliados por um autoanalisador bioquímico (Dimension Dade AR, Dade Behring, Deerfield, IL, EUA), usando os kits Dade Behring. A insulina foi avaliada por imunensaio com micropartículas de quimioluminiscência (Architect, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, EUA). A avaliação do modelo de homeostase - IR (HOMA-IR) foi utilizada como medida de substituição da resistência à insulina e calculada da seguinte forma: $\text{HOMA-IR} = \text{jejum de insulina (uU/mL)} \times \text{jejum de glicemia (nmol/L)} / 22,5$ (HAFFNER, 1997). RI foi considerado quando $\text{HOMA-IR} \geq 2.114$ (CHUNG, 2008).

4.6 Marcadores de Disfunção Endotelial – Moléculas de Adesão e PAI-1

Os níveis de PECAM-1, VCAM-1, ICAM-1, E-selectina, P-selectina e PAI-1 foram determinados pelo Painel 6-Plex de Aderência Magnética Humana (Novex Life Technologies, Frederick, Estados Unidos da América) para Luminex Plataforma ®.

Os níveis de metabólitos de NO do soro (NOx) foram avaliados pela concentração de nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻) de acordo com a reação de Griess, complementada pela redução de nitrato a nitrito com cádmio (PANIS, 2012). Os valores foram expressos em μM .

4.7 Determinação de TNF-A, TNFR-1 E TNFR-2 Solúveis

O TNF- α , o sTNFR-1 e o sTNFR2 foram determinados pelo kit personalizado Human Magnetic 3-plex Custom, um painel TNF Superfamily, que detecta essas três moléculas ao mesmo tempo (Novex Life Technologies, Frederick, Estados Unidos da América) para a Luminex Plataforma [®].

4.8 Análises Estatísticas

Foram utilizadas análises de tabelas de contingência (teste χ^2) para avaliar as diferenças entre as características categóricas (dados demográficos) dos três grupos de estudo (controles e pacientes sem e com SM). Diferenças laboratoriais em marcadores de disfunção endotelial e inflamatórios em pacientes com AR e sem SM e controles foram determinadas com análise de variância (ANOVA) ou testes de Kruskal-Wallis. ANOVA ou teste de Kruskal-Wallis (pós teste de Bonferroni ou Dunn corrigido por Bonferroni em $p < 0,05$) foi utilizado para examinar comparações múltiplas entre os três grupos de estudo (controles e pacientes sem e com SM). A análise de regressão logística multivariada foi empregada para delinear os preditores significativos de pacientes com SM e AR sem SM *versus* controles utilizando-se variáveis com p menor do que 0,1 na comparação entre os grupos. Testes de homogeneidade de variância foram realizados quando apropriado (teste de Kolmogorov-Smirnov). Grau de liberdade (df) também foi demonstrado. Todos os testes foram bi-caudais, e um valor $p < 0,05$ foi usado para significância estatística. As análises foram realizadas com SPSS v20.0 (IBM, EUA) e a figura foi criada no GraphPad Prisma.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos neste trabalho foram apresentados e discutidos em um artigo científico intitulado: **“Metabolic Syndrome Modulates Inflammatory and Endothelial Dysfunction in Patients with Rheumatoid Arthritis: Role of TNF receptor Type 2 and E-Selectin”** e submetido à revista Immunologic Research, com fator de impacto 2.905, conforme e-mail em Anexo 3.

5.1 Artigo: “METABOLIC SYNDROME MODULATES INFLAMMATORY AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS: ROLE OF TNF RECEPTOR TYPE 2 AND E-SELECTIN”

Metabolic Syndrome Modulates Inflammatory and Endothelial Dysfunction in Patients with Rheumatoid Arthritis: Role of TNF receptor Type 2 and E-Selectin

Andréa Name Colado Simão¹, Anna Hermínia Castro Gomes de Amorim², Lorena Flor da Rosa Franchi Santos³, Tatiana Mayumi Veiga Iriyoda⁴, Neide Tomimura Costa², Fabiano Aparecido de Medeiros⁵, Marcelo Cândido de Sá⁵, Bruno Alexandre Sekiguchi⁶, Daniela Frizon Alfieri⁶, Tamires Flauzino⁶, Marcell Alysson Batisti Lozovoy¹, Edna Maria Vissoci Reiche¹, Isaias Dichi⁷.

1. Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – University of Londrina, Brazil
2. Department of Rheumatology, University of Londrina, Londrina, PR, Brazil
3. Pos-Graduate Program in Experimental Pathology, University of Londrina, PR, Brazil.
4. Department of Rheumatology, Pontifical Catholic University of Paraná (PUC/PR), Londrina, PR, Brazil.
5. Pos-Graduate Program in Clinical and Laboratory Pathophysiology, University of Londrina, PR, Brazil.
6. Pos-Graduate Program in Health Sciences, University of Londrina, PR, Brazil.
7. Department of Internal Medicine – University of Londrina, Brazil.

* Corresponding author: Andréa Name Colado Simão.

Postal address: Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – Rua Robert Koch, n 60. University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil. CEP: 86038-440. Tel.: +55-43-3371-2321; Fax: +55-43-3371-2619.

E-mail address: deianame@yahoo.com.br

ABSTRACT

Objective: To verify if the presence of metabolic syndrome (MetS) could modulate the profile of TNF- α , sTNFR-1, sTNFR-2, and endothelial dysfunction markers in patients with rheumatoid arthritis (RA). **Material and methods:** 193 RA patients, of both sexes, aged from 18 to 69 years, were enrolled and divided into two groups: the first without MetS (RA MetS⁻, n= 124) and the second with MetS (RA MetS⁺, n= 69). 143 healthy individuals were selected as control group. **Results:** RA MetS⁺ showed higher (p=0.005) E-Selectin levels when compared to RA MetS⁻ and controls, and higher P-Selectin (p=0.007) when compared to the control group but not to RA MetS⁻. There were significant differences in PAI-1 levels (p<0.001) between the three groups: RA MetS⁺ presented the highest mean, whereas RA MetS⁻ had an intermediary mean. We found significant differences in TNF- α (p<0.001) between RA patients without or with MetS and controls. sTNFR-1 levels were significantly higher (p=0.001) in RA MetS⁺ when compared to controls. RA MetS⁺ was significantly differentiated from RA MetS⁻ by increased levels of E-Selectin (p=0.020) and sTNFR-2 (p=0.047). RA MetS⁻ was significantly differentiated from controls by increased P-Selectin (p=0.024), PAI-1 (p=0.005), sTNFR-2 (p=0.002) and age (p<0.001), whereas RA MetS⁺ was significantly differentiated from controls by increased PAI-1 (p=0.011) and age (p<0.001). **Conclusion:** The presence of MetS can modulate the profile of inflammatory and endothelial dysfunction markers in patients with RA. The main factors, which could modulate this influence, are TNF receptor type 2 and E-Selectin.

Keywords: Rheumatoid arthritis, metabolic syndrome; TNF- α ; adhesion molecules; TNF receptors

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory and systemic autoimmune disease characterized by the presence of rheumatoid factor (RF) and anti-citrullinated protein antibodies (ACPA), and clinically by extensive synovitis that results in erosions of articular cartilage and marginal bone leading to joint destruction. The pathogenesis of RA is a multistep process that starts with the development of autoimmunity, continues with inflammation, and finally induces bone destruction. These factors coexist with diverse conditions, such as vascular disease, cognitive dysfunction and metabolic syndrome (MetS) [1].

Previous studies showed higher frequencies of MetS in patients with RA [2,3] that ranged from 14 to 56% [4]. This variation can be explained by differences in the definition of MetS along with differences in ethnicity, geographic area, study design, and studied population [5]. Recently, a northeastern region study from Brazil demonstrated a MetS prevalence of 51.3% in RA patients [6]. The systemic effects mediated by proinflammatory cytokines in RA, such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α), impact on metabolism and may contribute to the increased prevalence of MetS and atherosclerosis associated with RA [7].

In RA, TNF- α is considered as one of the factors responsible for favoring insulin resistance (IR) and dyslipidemia, which are important features of the MetS. TNF- α effects are mediated through its receptors, TNF receptor type 1 (TNFR-1) and TNF receptor type 2 (TNFR-2). TNFR-1, the most important signaling receptor for TNF- α , is expressed by all human tissues in the membrane of all cell types with the exception of erythrocytes. TNFR-2 is expressed in immune cells and can bind both TNF- α and TNF- β , and lymphotoxin alfa (LT α) [8]. Additionally, TNF- α generated within the inflamed synovium of RA patients is released into the systemic circulation and putatively affects endothelial cells [9].

Several components of MetS have been associated with endothelial dysfunction (ED) and increased adhesion molecules levels [10]. The precise pathophysiological mechanisms of ED in RA are still not clear, but ED is reflected by high levels of nitric oxide (NO) and leukocyte adhesion molecules [e.g., platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-Selectin, and P-Selectin] [11], and by a shift towards prothrombotic activity of the endothelium [12].

Given the important role of TNF- α and its receptors as well as the endothelial dysfunction markers, such as adhesion molecules and NO in the progression of RA, it is crucial to elucidate the possible components that could modulate the disease and other associated metabolic abnormalities in RA patients. Thus, the aim of the present study was verify if the presence of MetS could modulate the profile of TNF- α , sTNFR-1, sTNFR-2, and

endothelial dysfunction markers in patients with RA.

Subjects and Methods

Subjects

This cross-sectional study included 193 patients with RA, aged between 18 and 70 years and 143 healthy individuals from the same geographic area as a control group. The patients were recruited at the Rheumatology Ambulatory of the University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil. The patients were classified according to the rheumatoid arthritis classification criteria [13] and disease activity status was determined using Disease Activity Score 28 (DAS28 score) [14]. RA patients were divided into two groups: the first group without MetS (RA MetS⁻, n= 124) and the second group with MetS (RA MetS⁺, n= 69). MetS was defined if three or more of the following five criteria were met: 1) waist circumference \geq 94 cm in men and 80 cm in women, 2) fasting triglyceride levels \geq 150 mg/dl, 3) high density lipoprotein (HDL) \leq 40 mg/dl in men or \leq 50 mg/dl in women; 4) blood pressure \geq 130/85 mmHg (or antihypertensive medication use), and 5) fasting glucose levels \geq 100 mg/dl or the use of antidiabetic medication [15].

Information about lifestyle and medical history were obtained at clinical evaluation. None of the subjects was receiving a specific diet. The individuals of both groups did not smoke and did not drink alcohol regularly. None of the participants in the study presented heart, renal, thyroid, hepatic, gastrointestinal, oncological or other autoimmune diseases, and none had a clinically evident infection or was receiving estrogen replacement therapy. This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki. The Ethical Committee of the University of Londrina, Paraná, Brazil approved all procedures involving human subjects. Written informed consent was obtained from all patients.

Anthropometric measurements and blood pressure evaluation

Body weight was assessed to the nearest 0.1 kg using electronic scales with individuals wearing light clothing and no shoes. Body height was assessed to the nearest 0.1 cm by using a stadiometer. Body Mass Index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height (m) squared. The waist circumference (WC) was measured with a soft tape in the region between the last rib and the iliac crest always in the standing position. Blood pressure (BP) was measured with a calibrated sphygmomanometer on the left arm of seated patients after 5 minutes of rest [16].

Biochemical and Immunological biomarkers

After fasting for 12 hours, the patients underwent the following laboratory blood analysis: glucose and lipid profile [triglycerides (TG), total cholesterol, low density lipoprotein (LDL) and high density lipoprotein (HDL)] were evaluated by a biochemical autoanalyzer (Dimension Dade AR, Dade Behring, Deerfield, IL, USA), using Dade Behring kits. Insulin was evaluated by chemiluminescence microparticle immunoassay (Architect, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA). The homeostasis model assessment-IR (HOMA-IR) was used as a surrogate measurement of insulin resistance [17] and calculated as follows: $\text{HOMA-IR} = \text{insulin fasting (uU/mL)} \times \text{glucose fasting (nmol/L)} / 22.5$. IR was considered when $\text{HOMA-IR} \geq 2.114$ [18].

Endothelial Dysfunction Markers

Adhesion Molecules and Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 (PAI-1) and NO (nitric oxide) metabolites determination

Levels of PECAM-1, VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin, and PAI-1 were determined by Human Magnetic Adhesion 6-Plex Panel (Novex Life Technologies, Frederick, United States of America) for Luminex® platform. Serum NO metabolite (NOx) levels were assessed by nitrite (NO₂⁻) and nitrate (NO₃⁻) concentration according to the Griess reaction, supplemented by the reduction of nitrate to nitrite with cadmium [19]. The values were expressed as micromolar.

Soluble TNF- α , TNFR-1 and TNFR-2 determination

TNF- α , sTNFR-1 and sTNFR-2 were determined by Human Magnetic 3-plex Custom kit, a TNF Superfamily Panel, that detects these three molecules at the same time (Novex Life Technologies, Frederick, United States of America) for Luminex® platform.

Statistical Analysis

Analyses of contingency tables (χ^2 test) were used to evaluate the differences between the categorical characteristics (demographic data) of the three study groups (controls and patients without and with MetS). Differences in laboratorial, endothelial dysfunction and inflammatory markers data between RA patients with and without MetS and controls were ascertained using analyses of variance (ANOVA) or Kruskal-Wallis tests. ANOVA or Kruskal-Wallis test (post test of Bonferroni or Dunn corrected by Bonferroni at $p < 0.05$) was used to examine multiple comparisons between the three study groups (controls and patients without and with MetS).

Multinomial logistic regression analysis was employed to delineate the significant predictors of MetS and RA patients without MetS versus controls using the endothelial dysfunction and inflammatory markers and age. Tests for homogeneity of variance were carried out when appropriate (Kolmogorov-Smirnov test). Degree of freedom (df) was also demonstrated. All tests were two-tailed, and a p value of 0.05 was used for statistical significance. Analyses were performed with SPSS v20.0 (IBM, USA) and the figure was created in GraphPad Prisma.

Results

Demographic and Laboratorial Characteristics in RA Patients

We included, in this study, 143 healthy controls, 124 RA patients without MetS and 69 RA patients with MetS. Seventy nine of the RA patients without MetS were treated with methotrexate, 54 with leflunomide, 90 with corticosteroids, 59 with antimalarial medications and 3 with anti-CD20. 48 of the RA patients with MetS were treated with methotrexate, 37 with leflunomide, 42 with corticosteroids, 26 with antimalarial medications, and none of them with anti-CD20. There were no significant differences of treatment with methotrexate ($p=0.507$), leflunomide ($p=0.233$), corticosteroids ($p=0.130$), antimalarial medications ($p=0.239$) and anti-CD20 ($p=0.554$) between these two groups (data not shown). DAS28 was 3.68 (± 0.13) for RA patients without MetS and 3.93 (± 0.18) for RA patients with MetS. There were no significant differences in disease activity ($p=0.271$) between RA groups (data not shown).

Table 1 shows the demographic and laboratorial characteristics of controls and RA patients without and with MetS included in this study. We found that controls were younger ($p<0.001$) than RA patients and subsequently age was used as an additional explanatory variable in logistic regression analyses. As expected, there were no significant differences in female:male ratio ($p=0.918$) and self-reported ethnicity ($p=0.724$) since these variables were controlled. In contrast, there were significant differences in all parameters related to MetS between groups, except in cholesterol ($p=0.556$) and LDL ($p=0.303$) levels. RA patients with MetS showed higher values of BMI, WC, glucose, and TG and lower HDL levels ($p<0.001$) when compared to RA patients without MetS and controls. RA patients demonstrated higher SBP and DBP ($p<0.001$) when compared to the control group. We also found significant differences in insulin levels and HOMA-IR ($p<0.001$) between the three groups: RA MetS+ group presented the highest mean, whereas MetS- had an intermediary mean for both parameters.

Endothelial Dysfunction and Inflammatory Markers in RA Patients

Table 2 shows the outcome of ANOVA and Kruskal-Wallis tests performed on the different endothelial dysfunction markers that were evaluated in the present study. The results of these univariate statistical analyses were used to delineate the significant explanatory variables to be used as determinants of independent association with MetS in subsequent multinomial logistic regression analyses. We found no significant differences in PECAM-1 ($p=0.489$), ICAM-1 ($p=0.645$), VCAM-1 ($p=0.218$) and NO ($p=0.201$) when RA patients and controls were compared. RA patients with MetS showed higher E-Selectin ($p=0.005$) when compared to RA patients without MetS and controls, and higher P-Selectin ($p=0.007$) when compared to the control group but not to RA MetS- group. There were significant differences in PAI-1 levels ($p<0.001$) between the three groups: RA MetS+ group presented the highest mean, whereas MetS- had an intermediary mean.

Figure 1 shows the outcome of ANOVA and Kruskal-Wallis tests performed on the inflammatory markers that were evaluated in the present study. We found significant differences in TNF- α ($p<0.001$) between RA patients without or with MetS and controls. sTNFR-1 levels was significantly higher ($p=0.001$) in RA patients with MetS when compared to controls. sTNFR-2 levels demonstrated only a trend in the comparison between RA MetS- group and controls ($p=0.088$) and between RA groups ($p=0.084$).

Association of inflammatory biomarkers, endothelial dysfunction markers, and MetS.

Table 3 shows the outcome of a multinomial logistic regression analysis with the two subgroups of RA patients and controls as dependent variables and the biomarkers and age as explanatory variables. RA patients with MetS were significantly differentiated from RA patients without MetS by increased levels of E-Selectin ($p=0.020$) and sTNFR-2 ($p=0.047$). RA patients without MetS were significantly differentiated from controls by increased P-Selectin ($p=0.024$), PAI-1 ($p=0.005$), sTNFR-2 ($p=0.002$) and age ($p<0.001$); and RA patients with MetS were significantly differentiated from controls by increased PAI-1 ($p=0.011$) and age ($p<0.001$).

Table 4 shows the outcome of a Spearman Correlation between inflammatory biomarkers and other metabolic markers related to MetS. We found significant and positive correlation between **PECAM-1** and glucose ($r=0.214$, $p<0.05$); **ICAM-1** and DBP ($r=0.222$, $p<0.05$) and HOMA-IR ($r=0.186$, $p<0.05$); **E-Selectin** and WC ($r=0.282$, $p<0.01$), BMI ($r=0.290$, $p<0.01$), glucose ($r=0.264$, $p<0.01$), insulin ($r=0.252$, $p<0.05$), HOMA-IR ($r=0.340$, $p<0.01$) and TG ($r=0.304$, $p<0.01$); **PAI-1** and WC ($r=0.208$, $p<0.05$), BMI ($r=0.301$, $p<0.01$), glucose ($r=0.281$, $p<0.01$), insulin ($r=0.289$, $p<0.01$), HOMA-IR ($r=0.379$, $p<0.01$) and TG ($r=0.301$, $p<0.01$); **NO** and WC ($r=0.213$, $p<0.05$); **sTNFR-1** and WC ($r=0.347$, $p<0.01$) and BMI ($r=0.262$, $p<0.01$); and **sTNFR-2** and WC

($r=0.354$, $p<0.01$). We also found significant and negative correlation between **E-Selectin** and HDL ($r=-0.236$, $p<0.01$); **PAI-1** and HDL ($r=-0.223$, $p<0.05$); and **sTNFR-1** and DBP ($r=-0.198$, $p<0.05$) and HDL ($r=-0.225$, $p<0.05$).

Discussion

The main finding of the present study was that the presence of MetS influences the inflammatory process in RA patients as demonstrated by increased levels of E-Selectin and sTNFR-2; besides, increased levels of P-Selectin and PAI-1 were associated with RA independently of the presence of MetS. The second major finding of this study was that patients with MetS presented higher levels of E-Selectin and PAI-1 than those without MetS or controls. Although some studies have demonstrated association between disease activity and the presence of MetS in RA patients [6,20], we did not find this result probably due to moderate activity of our patients and small number of participants in RA MetS+ group.

TNF- α signals act largely in a paracrine manner through TNFRs, p55 (TNFR1), and p75 (TNFR2) [21]. Soluble TNFRs are increased in obesity and correlate with plasma insulin and leptin levels [22]. We found higher levels of TNF- α in RA patients compared to controls and a trend to increased sTNFR-1 and sTNFR-2 levels. Previously, different authors reported markedly elevated levels of TNF- α in RA [23], sTNFR-1 in RA [24] and MetS [25,26], and sTNFR-2 in MetS [25,27].

Our results still showed that RA patients without MetS may be significantly differentiated from controls and from RA patients with MetS by increased sTNFR-2 levels. Zhang and Xiao (2017) suggested that sTNFR-2, which is upregulated in response to prolonged TNF- α stimulation, may act as an immunosuppressor in fibroblast-like synoviocytes for the prevention of overwhelming inflammatory reactions [28]. Our findings might reflect the cellular attempt to antagonize the TNF- α effect by cleavage of the surface receptors and the considerable increase in sTNFR-2 probably indicates the preferential shedding of this receptor induced by TNF- α during the inflammatory state [29]. Additionally, expanded adipose tissue can be a source of proinflammatory cytokines, which could play a role in the development of insulin resistance as well as atherogenesis [30]. There are studies showing an increase in adipose tissue expression of TNF- α in human obesity as well as an increased plasma concentration of its soluble receptors sTNFR-1 and sTNFR-2 [31]. Therefore, in the current study, the presence of MetS resulted in an additional increase in sTNFR-2 levels in patients with RA.

We also found significant and positive correlation between sTNFR-1 and WC and BMI; negative correlation between sTNFR-1 and HDL; and positive correlation between sTNFR-2 and WC. Moon; Kim; Song

(2004) observed that sTNFR-1 and sTNFR-2 were directly correlated with TG and DBP, and TG respectively in obese adolescents [32].

Regarding the adhesion molecules, our results showed that increased levels of E-Selectin were associated with the presence of MetS in RA patients. Other studies have already demonstrated increased E-Selectin levels in RA [11] or in patients with MetS [33]. Investigators have suggested that E-Selectin levels may be regulated by the proinflammatory adipocytokine TNF- α and also by adiponectin, an adipocytokine with anti-inflammatory, anti-diabetogenic and an anti-atherogenic property that may inhibit E-Selectin levels. These two adipocytokines could inhibit each other's production in adipose tissue [34,35]. Therefore, according to the present study, it is feasible to suggest that the main factors, which could modulate the influence of the presence of MetS in RA are sTNFR-2 and E-Selectin.

In addition, we found that RA patients may be significantly differentiated from controls by increased P-Selectin levels. Studies have already identified P-Selectin as a marker for systemic inflammation in RA [36,37] and elevated P-Selectin levels have been associated with atherosclerotic complications [38]. Thus, P-Selectin seems to be competent to initiate and perpetuate endothelial inflammation and could be considered as a biomarker for several inflammatory diseases [39].

We demonstrated significant and positive correlation between PECAM-1 and glucose; ICAM-1 and DBP and HOMA-IR; E-Selectin and WC, BMI, glucose, insulin, HOMA-IR and TG; and negative correlation between E-Selectin and HDL. Guzmán-Guzmán and colleagues (2016) already found some of these adhesion molecules related with components of MetS, such as levels of E-Selectin associated with low HDL, while the levels of ICAM-1 was associated with impaired SBP in young people independently of other traditional risk factors [40].

In the present study, PAI-1 presented higher levels in RA which significantly differentiated the patients from the controls. Similarly, Dimitroulas and colleagues (2013) described that patients with RA with abnormal triglyceride levels and IR had higher PAI-1 levels [41]. In this way, unlike E-selectin, which is associated with increased total fat volume, but not with regional fat distribution [34], abdominal fat is a great source of PAI-1 [42]. Thus, high plasma levels of this molecule are expected in RA patients with MetS, since PAI-1 is considered an obesity biochemical marker, and central obesity is one of main the components of MetS [43].

To the best of our knowledge, this is the first *in vivo* human study to demonstrate the modulation that MetS could exert on TNF- α , its receptors, and adhesion molecules in patients with RA and that several MetS components are correlated with TNF- α , sTNFR1, sTNFR2 and endothelial dysfunction. Kodaman and

colleagues (2016) already demonstrated that correlations between PAI-1 and the factors that define MetS (BMI, mean arterial pressure, HDL, TG, and glucose) were generally stronger than the correlations between the factors themselves in a West African population [44]. These results corroborate the hypothesis that inflammation, endothelial dysfunction and metabolic changes are interrelated factors that could influence each other.

There are limitations in the current study that may be considered. First, the cross-sectional design does not allow for inference causality. Second, although the minimum number of patients has been reached by the calculation of the sample size, a greater number of patients would probably confer more strength to the statistical results, mainly in the RA MetS+ group.

Altogether, the data of the current study suggest that the presence of MetS can modulate the profile of inflammatory and endothelial dysfunction markers in patients with RA. The main factors, which could modulate this influence, are TNF receptor type 2 and E-selectin. P-Selectin and PAI-1 were associated with RA independently of the presence of MetS. Our findings strongly suggest that physicians should screen the presence of MetS in RA patients in an attempt to decrease the inflammatory process and the endothelial dysfunction, thus reducing the risk of cardiovascular consequences.

Ethical approval

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Conflicts of interest, if applicable

The authors inform that there is no conflict of interest.

Grants, if applicable

Not applicable

References

1. McInnes I. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 2011;365:2205–2019.
2. Dąbrowski P, Majdan M. [Insulin resistance and metabolic syndrome - a different image of disorders in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis]. *Wiad. Lek.* [Internet]. 2015;68:235–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26753206>
3. Ferraz-Amaro I, González-Juanatey C, López-Mejias R, Riancho-Zarrabeitia L, González-Gay MA. Metabolic Syndrome in Rheumatoid Arthritis. 2013;2013.
4. Lee S-G, Kim J-M, Lee S-H, Kim K-H, Kim J-H, Yi J-W, et al. Is the frequency of metabolic syndrome higher in South Korean women with rheumatoid arthritis than in healthy subjects? *Korean J. Intern. Med.* [Internet]. 2013;28:206–15. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3604611&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
5. Hallajzadeh J, Safiri S, Mansournia MA, Khoramdad M, Izadi N, Almasi-Hashiani A, et al. Metabolic syndrome and its components among rheumatoid arthritis patients: A comprehensive updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12:1–21.
6. Gomes KWP, Luz AJP, Felipe MR de B, Beltrão LA, Sampaio AXC, Rodrigues CEM. Prevalence of metabolic syndrome in rheumatoid arthritis patients from Northeastern Brazil: Association with disease activity. *Mod. Rheumatol.* [Internet]. 2017;7595:1–6. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14397595.2017.1316813>
7. Chimenti MS, Tucci P, Candi E, Perricone R, Melino G, Willis AE. Metabolic profiling of human CD4+ cells following treatment with methotrexate and anti-TNF-alpha infliximab. *Cell Cycle* [Internet]. 2013;12:3025–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23974102>
8. Maruotti N, D'Onofrio F, Cantatore FP. Metabolic syndrome and chronic arthritis: effects of anti-TNF- α therapy. *Clin. Exp. Med.* 2014;15:433–8.
9. Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining How “High-Grade” Systemic Inflammation Accelerates Vascular Risk in Rheumatoid Arthritis. *Circulation.* 2003;108:2957–63.
10. Scharam MT, Stehouwer CDA. Cellular adhesion molecules and type 2 diabetes. *Horm Metab Res.* 2005;37:49–55.
11. Klimek E, Skalska A, Kwaśny-Krochin B, Surdacki A, Sulicka J, Korkosz M, et al. Differential associations of inflammatory and endothelial biomarkers with disease activity in rheumatoid arthritis of short duration. *Mediators Inflamm.* Hindawi Publishing Corporation; 2014;2014.
12. Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and its alterations in cardiovascular diseases: Life style intervention. *Biomed Res. Int.* Hindawi Publishing Corporation; 2014;2014.
13. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62:2569–81.
14. Prevoo MLL, Van't Hof MA, Kuper HH, Van Leeuwen MA, Van De Putte LBA, Van Riel PLCM. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995;38:44–8.
15. Grundy SM, Cleeman JJ, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA et al. American Heart Association, National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112:2735-52.

16. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults. *Jama* [Internet]. 2014;1097:1–14. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1791497%5Cnhttp://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2013.284427>
17. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* [Internet]. 1997;20:1087–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9203442>
18. Chung CP, Oeser A, Solus JF, Gebretsadik T, Avalos I, Sokka T, et al. Inflammation-Associated Insulin Resistance: Differential Effects in Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus Define Potential Mechanisms. 2008;58:2105–12.
19. Panis C, Herrera ACSA, Victorino VJ, Campos FC, Freitas LF, De Rossi T, et al. Oxidative stress and hematological profiles of advanced breast cancer patients subjected to paclitaxel or doxorubicin chemotherapy. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012;133:89–97.
20. Tantayakom P, Koolvisoot A, Arromdee E, Chiowchanwisawakit P, Muangchan C, Katchamart W. Metabolic syndrome is associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Jt. Bone Spine* [Internet]. *Société française de rhumatologie*; 2016;83:563–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2015.10.016>
21. Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat. Rev. Immunol.* [Internet]. 2003;3:745–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12949498>
22. Bullo M, García-Lorda P, Megias I, Salas-Salvado J. Systemic Inflammation , Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor , and Leptin Expression. *Obes.Res.* 2003;11:525–31.
23. Taylor PC, Michael Peters A, Paleolog E, Chapman PT, Elliott MJ, McCloskey R, et al. Reduction of chemokine levels and leukocyte traffic to joints by tumor necrosis factor α blockade in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000;43:38–47.
24. Sennikov S V., Alshevskaya AA, Shkaruba NS, Chumasova OA, Sizikov AE, Lopatnikova JA. Expression of TNF α membrane-bound receptors in the peripheral blood mononuclear cells (PMBC) in rheumatoid arthritis patients. *Cytokine* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;73:288–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2015.01.015>
25. Kowalska I, Strackowski M, Nikolajuk A, Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Otziomek E, et al. Insulin resistance, serum adiponectin, and proinflammatory markers in young subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism.* 2008;57:1539–44.
26. You T, Ryan AS, Nicklas BJ. The metabolic syndrome in obese postmenopausal women: Relationship to body composition, visceral fat, and inflammation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89:5517–22.
27. Reilly MP, Rohatgi A, McMahon K, Wolfe ML, Pinto SC, Rhodes T, et al. Plasma Cytokines, Metabolic Syndrome, and Atherosclerosis in Humans. *J. Investig. Med.* [Internet]. 2007;55:26–35. Available from: <http://jim.bmj.com/lookup/doi/10.2310/6650.2007.06013>
28. Zhang H, Xiao W. TNFR1 and TNFR2 differentially mediate TNF- α -induced inflammatory responses in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Cell Biol. Int.* 2017;41:415–22.
29. Valle Y, Ledezma-Lozano IY, Torres-Carrillo N, Padilla-Gutierrez JR, Navarro-Hernandez RE, Vazquez-Del Mercado M, et al. Circulating TNFRI and TNFRII levels correlated with the disease activity score (DAS28) in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* [Internet]. 2009;38:332–5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1957913

30. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Review series Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2006;116:1793–801.
31. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Rapid Publication Obesity and Insulin Resistance. *J. Clin. Invest.* 1995;95:2409–15.
32. Moon Y-S, Kim D-H, Song D-K. Serum tumor necrosis factor-alpha levels and components of the metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism.* 2004;53:863–7.
33. Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Nikołajuk A, Otziomek E, Górska M, Kowalska I, et al. Relationships of serum soluble E-selectin concentration with insulin sensitivity and metabolic flexibility in lean and obese women. *Endocrine.* 2014;45:422–9.
34. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T, Horikami K, Hirao K, et al. High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2002;51:932–4.
35. Trøseid M, Lappegård KT, Mollnes TE, Arnesen H, Seljeflot I. Changes in serum levels of E-selectin correlate to improved glycaemic control and reduced obesity in subjects with the metabolic syndrome. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2005;65:283–90.
36. Bhatia GS, Sosin MD, Patel J V., Grindulis KA, Khattak FH, Davis RC, et al. Plasma indices of endothelial and platelet activation in Rheumatoid Disease: Relationship to cardiovascular co-morbidity. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2009;134:97–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2008.01.038>
37. Ertenli I, Kiraz S, Arici M, Haznedaroglu IC, Calgüneri M, Celik I, et al. P-selectin as a circulating molecular marker in rheumatoid arthritis with thrombocytosis. *J. Rheumatol.* [Internet]. 1998;25:1054–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9632062>
38. Burger P, Wagner D. Platelet P selectin facilitates atherosclerotic lesion development. *Blood.* 2003;101:2661–6.
39. Habets KLL, Huizinga TWJ, Toes REM. Platelets and autoimmunity. *Eur. J. Clin. Invest.* 2013;43:746–57.
40. Guzmán-Guzmán IP, Zaragoza-García O, Vences-Velázquez A, Castro-Alarcón N, Muñoz-Valle JF, Parra-Rojas I. Concentraciones circulantes de MCP-1, VEGF-A, sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectina y sVE-cadherina: su relación con componentes del síndrome metabólico en población joven. *Med. Clin. (Barc).* 2016;147:427–34.
41. Dimitroulas T, Douglas KMJ, Panoulas VF, Toms T, Smith JP, Trehan GJ, et al. Derangement of hemostasis in rheumatoid arthritis: Association with demographic, inflammatory and metabolic factors. *Clin. Rheumatol.* 2013;32:1357–64.
42. Barnard SA, Pieters M, De Lange Z. The contribution of different adipose tissue depots to plasma plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. *Blood Rev.* [Internet]. Elsevier Ltd; 2016; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268960X16300200>
43. Alessi MC, Juhan-Vague I. Metabolic syndrome, haemostasis and thrombosis. *Thromb. Haemost.* 2008;99:995–1000.
44. Kodaman N, Aldrich MC, Sobota R, Asselbergs FW, Brown NJ, Moore JH, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and diagnosis of the metabolic syndrome in a West African population. *J. Am. Heart Assoc.* 2016;5.

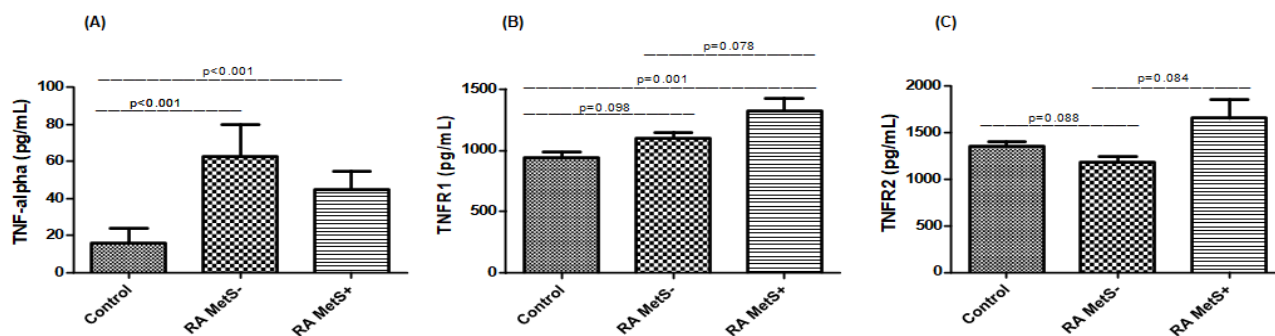


Fig 1 (A) TNF- α , (B) TNFR1 and (C) TNFR2 values obtained by ANOVA and Kruskal-Wallis tests in Rheumatoid Arthritis (RA) patients with and without metabolic syndrome (MetS) and controls. ANOVA with post test Bonferroni. Data are expressed as mean (\pm SEM). Kruskal-Wallis with post test Dunn and Bonferroni correction. Data are expressed as median (25–75%). TNF- α : tumor necrosis factor alpha; TNFR1: TNF receptor type 1; TNFR2: TNF receptor type 2. The figure was created in GraphPad Prisma and shows significant differences ($p < 0.05$) and also trends ($0.05 < p < 0.1$) between groups. Non-significant data are not shown.

Table 1. Demographic and laboratorial parameters in control group and Rheumathoid Arthritis (RA) patients with or without Metabolic Syndrome (MetS).

Parameters	Control (A) (n=143)	RA MetS- (B) (n=124)	RA MetS+ (C) (n=69)	p-value
Gender (F/M)	121 /22)	105/19	57/12	0.918
Ethnicity (C/NC)	102/41	85/39	51/18	0.724
Age (years)	40.0 (32.0-47.0) ^{B,C}	55.0 (45.0-63.0) ^A	58.0 (51.0-63.0) ^A	<0.001
BMI (kg/m ²)	24.67 (22.07-27.02) ^C	25.66 (22.77-29.38) ^C	30.88 (27.14-34.52) ^{A,B}	<0.001
WC (cm)	89.0 (82.0-96.0) ^C	91.0 (82.0-100.0) ^C	103.0 (94.0-114.0) ^{A,B}	<0.001
SBP (mmHg)	110 (100-120) ^{B,C}	130 (120-141) ^A	140 (120-152) ^A	<0.001
DBP (mmHg)	72 (67-80) ^{B,C}	80 (74-90) ^A	90 (80-100) ^A	<0.001
Glucose (mg/dL)	87.0 (83.0-93.0) ^C	87.0 (82.0-93.0) ^C	101.0 (90.0-125.0) ^{A,B}	<0.001
Insulin (uU/mL)	7.7 (0.30) ^{B,C}	9.5 (0.5) ^{A,C}	15.1 (1.7) ^{A,B}	<0.001
HOMA-IR	1.68 (0.08) ^{B,C}	2.12 (0.12) ^{A,C}	5.04 (1.28) ^{A,B}	<0.001
Triglycerides (mg/dL)	93 (63-119) ^C	96 (67-119) ^C	171 (117-241) ^{A,B}	<0.001
Cholesterol (mg/dL)	196 (166-219)	187 (165 -221)	198 (167-227)	0.556
HDL (mg/dL)	58 (49-68) ^C	60 (50-71) ^C	44 (39-53) ^{A,B}	<0.001
LDL (mg/dL)	114.3 (94.2-137.4)	104.0 (86.0-137.0)	107.0 (86.0-147.4)	0.303

Chi-square test. Data were expressed as absolute number and percentage (%). ANOVA with post test Bonferroni. Data are expressed as mean (\pm SEM). Kruskal-Wallis with post test Dunn and Bonferroni correction. Data are expressed as median (25–75%). A, B, C significant difference (Bonferroni or Dunn) at $p < 0.05$. F: female; M: male; C: caucasian; NC: not caucasian; BMI: body mass index; WC: waist circumference; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein.

Table 2. Endothelial dysfunction in control group and Rheumatoid Arthritis (RA) patients with or without metabolic syndrome (MetS).

Parameters	Control	RA MetS-	RA MetS+	p-value
PECAM-1 (pg/mL)	24.400 (891)	24.549 (1.220)	26.473 (1.498)	0.489
ICAM-1 (pg/mL)	77.350 (57.664-691.752)	89.502 (56.277-380.629)	103.885 (59.411-517.742)	0.645
VCAM-1 (pg/mL)	637.446 (31.403)	581.377 (26.501)	608.721 (45.130)	0.218
E-Selectin (pg/mL)	96.268 (56.989-121.891) ^C	87.186 (55.788-116.180) ^C	127.977 (90.140-160.385) ^{A,B}	0.005
P-Selectin (pg/mL)	88.921 (8.717) ^C	99.458 (6.104)	116.260 (7.068) ^A	0.007
PAI-1 (pg/mL)	45.027 (6.695) ^{B,C}	64.301 (4.956) ^{A,C}	91.836 (7.199) ^{A,B}	<0.001
NO (μM)	11.0 (8.95-14.62)	10.38 (8.69-13.18)	12.14 (8.63-16.92)	0.201

ANOVA with post test Bonferroni. Data are expressed as mean (\pm SEM). Kruskal-Wallis with post test Dunn and Bonferroni correction. Data are expressed as median (25–75%). A, B, C significant difference (Bonferroni or Dunn) at $p < 0.05$. PECAM-1: platelet endothelial cell adhesion molecule 1; ICAM-1: intercellular adhesion molecule 1; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1; PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor type-1; NO: nitric oxide.

Table 3. Multinomial logistic regression analysis with Rheumthoid Arthritis (RA) patients with (C) and without (B) Metabolic Syndrome (MetS) as dependent variables (healthy controls as the reference group or group A) and the listed biomarkers and age as explanatory variables.

Parameters	df	Wald	p-value	OR	95% IC
E-Selectin (pg/mL)	1	AxB= 0.166	0.683	1.000	1.000 - 1.000
		AxC= 2.580	0.108	1.000	1.000 - 1.000
		BxC= 5.448	0.020	1.000	1.000 - 1.000
P-Selectin (pg/mL)	1	AxB= 5.107	0.024	1.000	1.000 - 1.000
		AxC= 3.269	0.071	1.000	1.000 - 1.000
		BxC= 0.107	0.744	1.000	1.000 - 1.000
PAI-1 (pg/mL)	1	AxB= 27.707	0.005	1.000	1.000 - 1.000
		AxC= 6.528	0.011	1.000	1.000 - 1.000
		BxC= 0.007	0.932	1.000	1.000 - 1.000
TNF-α (pg/mL)	1	AxB= 1.845	0.174	1.014	0.994 - 1.035
		AxC= 1.363	0.243	1.012	0.992 - 1.033
		BxC= 0.460	0.498	1.002	0.997 - 1.007
TNFR1 (pg/mL)	1	AxB= 1.389	0.239	1.001	0.999 - 1.033
		AxC= 2.329	0.127	1.002	1.000 - 1.004
		BxC= 0.303	0.582	1.000	0.998 - 1.001
TNFR2 (pg/mL)	1	AxB= 9.186	0.002	0.998	0.997 - 0.999
		AxC= 2.352	0.125	0.999	0.998 - 1.000
		BxC= 3.947	0.047	0.999	0.998 - 1.000
Age (years)	1	AxB= 22.961	<0.001	1.168	1.096 - 1.244
		AxC= 21.094	<0.001	1.184	1.102 - 1.273
		BxC= 0.368	0.544	0.986	0.943 - 1.032

df: degree of freedom; OR: odds Ratio; CI: confidence interval (lower-upper limit); PAI-1: plasminogen activator inhibitor type-1; TNF- α : tumor necrosis factor alpha; TNFR1: TNF receptor type 1; TNFR2: TNF receptor type 2.

Table 4. Spearman Correlation between inflammatory biomarkers, such as PECAM-1, ICAM-1, VCAM-1, E- and P-Selectin, PAI-1, NO, TNF- α , TNFR1 and TNFR2, and other metabolic markers related to Metabolic Syndrome (MetS).

Parameters	SBP	DBP	WC	BMI	Glucose	Insulin	HOMA-IR	HDL	TG
PECAM-1 (pg/mL)	0.046	0.061	0.111	0.027	0.214*	0.044	0.134	-0.090	0.040
ICAM-1 (pg/mL)	0.173	0.222*	0.047	-0.017	0.176	0.127	0.186*	-0.047	0.018
VCAM-1 (pg/mL)	-0.089	-0.059	0.011	-0.150	0.156	-0.051	0.003	-0.072	-0.025
E-Selectin (pg/mL)	0.166	0.165	0.282**	0.290**	0.264**	0.252*	0.340**	-0.236**	0.304**
P-Selectin (pg/mL)	0.072	0.176	0.125	0.133	0.231**	0.130	0.219*	-0.162	0.265**
PAI-1 (pg/mL)	0.036	0.172	0.208*	0.301**	0.281**	0.289**	0.379**	-0.223*	0.301**
NO (μM)	0.057	-0.043	0.213*	0.122	0.043	0.050	0.038	-0.098	0.138
TNF-α (pg/mL)	0.020	-0.118	-0.091	-0.094	-0.062	-0.001	-0.005	0.005	0.148
TNFR1 (pg/mL)	-0.043	-0.198*	0.347**	0.262**	0.119	0.106	0.140	-0.255*	0.104
TNFR2 (pg/mL)	-0.017	-0.042	0.354**	0.192	0.073	0.166	0.150	-0.139	0.115

* $p < 0.05$. ** $p < 0.01$. PECAM-1: platelet endothelial cell adhesion molecule 1; ICAM-1: intercellular adhesion molecule 1; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1; PAI-1: plasminogen activator inhibitor type-1; NO: nitric oxide; TNF- α : tumor necrosis factor alpha; TNFR1: TNF receptor type 1; TNFR2: TNF receptor type 2; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; WC: waist circumference; BMI: body mass index; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL: high density lipoprotein; TG: triglycerides.

6 CONCLUSÕES

A presença de SM pode modular o processo inflamatório em pacientes com AR, como demonstrado pelo aumento dos níveis de E-selectina e sTNFR-2. Além disso, os níveis aumentados de P-selectina e PAI-1 foram associados à AR independentemente da presença de SM.

Além disso, os pacientes com SM apresentaram níveis mais elevados de E-selectina e PAI-1 do que aqueles sem SM ou controles. Não encontramos associação entre a atividade da doença e a presença de SM em pacientes com AR provavelmente devido à atividade moderada de nossos pacientes e o pequeno número de participantes no grupo AR SM+.

Encontramos níveis mais elevados de TNF- α em pacientes com AR em comparação com os controles e uma tendência para o aumento dos níveis sTNFR-1 e sTNFR-2.

Nossos resultados ainda mostraram que os pacientes com AR sem SM podem ser significativamente diferentes dos controles e de pacientes com AR com SM pelo aumento dos níveis de sTNFR-2. Na tentativa celular de antagonizar o efeito TNF- α por clivagem dos receptores de superfície, há um aumento considerável no sTNFR-2, provavelmente indicando o aumento preferencial desse receptor induzido pelo TNF- α no estado inflamatório (VALLE, 2009). Além disso, o tecido adiposo expandido pode ser uma fonte de citocinas pró-inflamatórias, desempenhando um papel no desenvolvimento da resistência à insulina, bem como na aterogênese (SHOELSON, 2006). Logo, no presente estudo, a presença de SM resultou em um aumento adicional nos níveis de sTNFR-2 em pacientes com AR.

Também encontramos correlação significativa e positiva entre sTNFR-1 e CA e IMC; correlação negativa entre sTNFR-1 e HDL; e correlação positiva entre sTNFR-2 e CA.

Em relação às moléculas de adesão, nossos resultados mostraram que o aumento dos níveis de E-selectina foi associado à presença de SM em pacientes com AR. De acordo com o presente estudo, é viável sugerir que os principais fatores, que podem modular a influência da presença de SM em AR são sTNFR-2 e E-selectina.

Além disso, descobrimos que os pacientes com AR podem ser significativamente diferentes dos controles pelo aumento dos níveis de P-selectina. A P-selectina tem papel importante para iniciar e perpetuar a inflamação endotelial e pode ser considerada como um biomarcador para várias doenças inflamatórias (HABETS, 2013).

Demonstramos correlação significativa e positiva entre PECAM-1 e ICAM-1 com componentes da SM, e correlação negativa entre E-selectina e HDL. No presente estudo, os

pacientes com AR apresentaram níveis mais elevados de PAI-1, com diferença significativa entre pacientes e controles. Desta forma, diferentemente da E-selectina, que está associada ao aumento do volume total de gordura, a gordura abdominal é uma ótima fonte de PAI-1 (BARNARD, 2016). Assim, altos níveis desta molécula são esperados em pacientes com AR e SM, uma vez que o PAI-1 é considerado um marcador bioquímico de obesidade e a obesidade central é um dos principais componentes da SM (ALESSI, 2008).

Em nosso conhecimento, este é o primeiro estudo humano *in vivo* que demonstra que a SM poderia modular os níveis de TNF- α , seus receptores e moléculas de adesão em pacientes com AR, e que vários componentes de SM estão correlacionados com TNF- α , sTNFR1, sTNFR2 e disfunção endotelial. Esses resultados corroboram a hipótese de que a inflamação, a disfunção endotelial e as alterações metabólicas podem influenciar-se mutuamente.

Existem limitações no presente estudo a serem consideradas. Primeiro, o desenho transversal não permite a causalidade de inferência. Segundo, embora o número de pacientes tenha sido alcançado pelo cálculo do tamanho amostral, um número maior de pacientes provavelmente conferiria mais força aos resultados, principalmente no grupo AR SM +.

Em conjunto, os dados do estudo atual sugerem que a presença de SM pode modular o perfil de marcadores de disfunção inflamatória e endotelial em pacientes com AR. Os principais fatores que podem modular essa influência são o TNFR2 e a E-selectina. A P-selectina e o PAI-1 foram associados à AR independentemente da presença de SM.

Nossos achados sugerem fortemente que os médicos devem examinar a presença de SM em pacientes com AR na tentativa de diminuir o processo inflamatório e a disfunção endotelial, reduzindo assim o risco de consequências cardiovasculares.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos dados demonstraram que a presença de SM pode modular o perfil de marcadores de disfunção inflamatória e endotélica em pacientes com AR. Os principais fatores que poderiam modular essa influência são o receptor de TNF tipo 2 e E-selectina.

Na prática clínica, em indivíduos portadores concomitantemente de AR e SM, haja vista a semelhança no que tange aos marcadores inflamatórios entre as duas entidades, existe, com certa frequência, a dúvida quanto à possibilidade de o paciente estar com a artrite em atividade ou não. Isso porque é possível que o paciente esteja clinicamente bem, mas com marcadores inflamatórios (VHS e PCR) aumentados. O que tem se observado é que, embora tais pacientes não apresentem artrite ao artralgia ao exame físico, pode existir uma atividade subclínica da doença, que também tem potencial deformante.

Até o presente momento, no intuito de verificar que há atividade subclínica, podem ser utilizados exames de imagem, como a ressonância magnética ou a ultrassonografia com Power Doppler articular. Em caso de alteração nesses exames, mesmo com o paciente sem queixas, é possível considerar que a doença esteja em baixa atividade e, em consequência, tomar uma decisão sobre possível otimização terapêutica.

Quanto às limitações dos exames de imagem citados, ambos são de alto custo. No caso da ultrassonografia, é importante considerar que é um exame cujo resultado dependete tanto da aptidão do médico que o realiza, quanto da qualidade do aparelho utilizado, o que pode gerar vieses no resultado. Sobre a ressonância, é um exame que exige contraste endovenoso para maior sensibilidade do teste, levando a maior risco de reações adversas pelo contraste, como anafilaxia ou lesão renal.

Assim, identificar marcadores, que possam isolar a atividade da artrite reumatoide das variáveis que sofrem interferência também pela síndrome metabólica, pode ser de valia clínica, principalmente no que tange à decisão terapêutica.

Futuros estudos são necessários para melhorar a compreensão sobre a fisiopatologia da AR e da SM, e permitir a implementação de novos biomarcadores para o monitoramento da resposta ao tratamento da AR, reduzindo possíveis erros induzidos por interferência da SM, e com isso propor novos alvos terapêuticos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSKA A, KARCZEWSKA-KUPCZEWSKA M, NIKOŁAJUK A, OTZIOMEK E, GÓRSKA M, KOWALSKA I, STRĄCZKOWSKI M. Relationships of serum soluble E-selectin concentration with insulin sensitivity and metabolic flexibility in lean and obese women. **Endocrine**, vol.45, pp.422-9, 2014.

AGGARWAL BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. **Nature Reviews Immunology**, vol.3, pp.745-56, 2003.

ALAMANOS Y, DROSOS AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. **Autoimmunity Reviews**, vol.4, n°3, pp.130-6, 2005.

ALARCON RT, ANDRADE LEC. Anticorpos antiproteínas citrulinadas e a artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, vol.47, n°3, pp.180-7, 2007.

ALESSI MC, JUHAN-VAGUE I. Metabolic syndrome, haemostasis and thrombosis. **Thrombosis and Haemostasis**, vol.99, pp.995-1000, 2008.

ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN AJ, FUNOVITS J, FELSON DT, BINGHAM CO, BIRNBAUM NS, BURMESTER GR, BYKERK VP, COHEN MD, COMBE B, COSTENBADER KH, DOUGADOS M, EMERY P, FERRACCIOLI G, HAZES JMW, HOBBS K, HUIZINGA TWJ, KAVANAUGH A, KAY J, KVIEN TK, LAING T, MEASE P, MÉNARD HA, MORELAND LW, NADEN RL, PINCUS T, SMOLEN JS, STANISLAWSKA-BIERNAT W, SYMMONS D, TAK PP, UPCHURCH KS, VENCOVSKY' J, WOLFE F, HAWKER G. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. **Arthritis and Rheumatism**, vol.62, n.°9, pp.2569-81, 2010.

ALON R, LEY K. Cells on the run: shear-regulated integrin activation in leukocyte rolling and arrest on endothelial cells. **Current Opinion in Cell Biology**, vol.20, n°5, p.525, 2008.

ALON R, LUSCINSKAS FW. Crawling and INTEGRating apical cues. **Nature Immunology**, vol.5, n°4, p.351, 2004.

AZEVEDO ABC, FERRAZ MB, CICONELLI RM. Indirect Costs of Rheumatoid Arthritis in Brazil. **Value in Health**, vol.11, n°5, 2008.

BALSAN GA, VIEIRA JL, OLIVEIRA AM, PORTAL VL. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. **Revista da Associação Médica Brasileira**, vol.61, n°1, pp.72-80, 2015.

BARNARD SA, PIETERS M, DE LANGE Z. The contribution of different adipose tissue depots to plasma plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. **Blood Reviews**, vol.30, n°6, pp.421-9, 2016.

BERLIN C, BARGATZE RF, CAMPBELL JJ, VON ANDRIAN UH, SZABO MC, HASSLEN SR, NELSON RD, BERG EL, ERLANDSEN SL, BUTCHER EC. Alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. **Cell**, vol.80, n°3, p.413, 1995.

BHATIA GS, SOSIN MD, PATEL J V., GRINDULIS KA, KHATTAK FH, DAVIS RC, LIP GY. Plasma indices of endothelial and platelet activation in Rheumatoid Disease: Relationship to cardiovascular co-morbidity. **International Journal of Cardiology**, vol.134, pp.97-103, 2009.

BRASINGTON JR. RD. Clinical Features of rheumatoid arthritis. In: HOCHBERG MC, SILMAN AJ, SMOLEN JS, WEINBLATT ME, WEISMAN MH. *Rheumatology*. 6ª edição. Philadelphia: Elsevier, 2015. 1976 p.

BULLO M, GARCÍA-LORDA P, MEGIAS I, SALAS-SALVADO J. Systemic Inflammation, Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor and Leptin Expression. **Obesity Research**, vol.11, pp.525–31, 2011.

BURGER P, WAGNER D. Platelet P selectin facilitates atherosclerotic lesion development. **Blood**, vol.101, pp.2661-6, 2003.

BURMESTER GR, PRATT AG, SCHERER HU, VAN-LAAR JM. Rheumatoid Arthritis: pathogenesis and clinical features. In: Bijlsma JWJ, editor. **EULAR textbook on Rheumatic Diseases**. Londres: BMJ group; pp.206–31, 2012.

CAMERON AU, SHAW JE, ZIMMET PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. **Endocrinology Metabolism Clinics of North America**, vol.33, n°2, pp.351-75, 2004.

CARDIEL MH et al. First Latin American position paper on the pharmacological treatment of rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, Oxford, vol.45, sup.45, p.ii7-22, 2006.

CARLOS TM, HARLAN JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. **Blood**, vol.84, n°7, p.2068, 1994.

CHU CQ, FIELD M, FELDMANN M, MAINI RN. Localization of tumor necrosis factor alpha in synovial tissues and at the cartilage-pannus junction in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheumatology**, vol.34, pp.1125-32, 1991.

CHUNG CP, OESER A, SOLUS JF, GEBRETSADIK T, SHINTANI A, AVALOS I, SOKKA T, RAGGI P, PINCUS T, STEIN CM. Inflammation-associated insulin resistance: differential effects in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus define potential mechanisms. **Arthritis and Rheumatism**, vol. 58, n°7, pp.2105-12, 2008.

COLVILLE-NASH PR, SCOTT DL. Angiogenesis and rheumatoid arthritis: pathogenic and therapeutic implications. **Annals of Rheumatic Disease**, vol.51, n°7, p.919, 1992.

CORNIER MA, DABELEA D, HERNANDEZ TL, LINDSTROM RC, STEIG AJ, STOB NR, VAN PELT RE, WANG H, ECKEL RH. The metabolic syndrome. **Endocrine Reviews**, vol.29, pp.777-822, 2008.

DEBUSK LM, CHEN Y, NISHISHITA T, CHEB J, THOMAS JW, LIN PC. Tie2 receptor tyrosine kinase, a major mediator of tumor necrosis factor alpha-induced angiogenesis in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheumatology**, vol.48, p.2461, 2003.

DELGADO-VEGA AM, MARTÍN J, GRANADOS J, ANAYA JM. Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis: what to expect from Latin America? **Biomedica**, Bogotá, vol.26, n°4, pp.562-884, 2006.

DIMITROULAS T, DOUGLAS KMJ, PANOULAS VF, TOMS T, SMITH JP, TREHARNE GJ, NIGHTINGALE P, HODSON J, KITAS GD. Derangement of hemostasis in rheumatoid arthritis: Association with demographic, inflammatory and metabolic factors. **Clinical Rheumatology**, vol.32, pp.1357-64, 2013.

DISTLER JH, WENGER RH, GASSMANN M, KUROWSKA M, HIRTH A, GAY S, DISTLER O. Physiologic responses to hypoxia and implications for hypoxia-inducible factors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheumatology**, vol.50, n°1, p.10, 2004.

DUNCAN GS, ANDREW DP, TAKIMOTO H, KAUFMAN SA, YOSHIDA H, SPELLBERG J, DE LA POMPA JL, ELIA A, WAKEHAM A, KARAN-TAMIR B, MULLER WA, SENALDI G, ZUKOWSKI MM, MAK TW. Genetic evidence for functional redundancy of Platelet/Endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1): CD31-deficient mice reveal PECAM-1-dependent and PECAM-1-independent functions. **Journal of Immunology**, vol.162, n°5, p.3022, 1999.

ERTENLI I, KIRAZ S, ARICI M, HAZNEDAROGLU IC, CALGÜNERI M, CELIK I, KIRAZLIS. P-selectin as a circulating molecular marker in rheumatoid arthritis with thrombocytosis. **The Journal of Rheumatology**, vol.25, pp.1054-8, 1998.

FAUSTMAN D, DAVIS M. TNF receptor 2 pathway: drug target for autoimmune diseases. **Nature Reviews Drug Discovery**, vol.9, pp. 482-93, 2010.

FERRAZ-AMARO I, GONZÁLEZ-JUANATEY C, LÓPEZ-MEJIAS R, RIANCHO-ZARRABEITIA L, GONZÁLEZ-GAY MA. Metabolic Syndrome in Rheumatoid Arthritis. **Mediator of Inflammation**, vol.2013, p.11, 2013.

FINGER EB, PURI KD, ALON R, LAWRENCE MB, VON ANDRIAN UH, SPRINGER TA. Adhesion through L-selectin requires a threshold hydrodynamic shear. **Nature**, vol.379, n°6562, p.266, 1996.

FIRESTEIN GS. Starving the synovium: angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. **Journal of Clinical Investigation**, vol.103, n°1, p.3, 1999.

FOLKMAN J, D'AMORE PA. Blood vessel formation: what is its molecular basis? **Cell**, vol.87, p.1153, 1996.

FRANSEN J, VAN RIEL PLCM. The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. **Clinical and Experimental Rheumatology**, vol.23, s. 39, s93-9, 2005.

FUCHS HA, BROOKS RH, CALLAHAN LF, PINCUS T. A simplified twenty-eighth-joint quantitative articular index in rheumatoid arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, vol.32, n°5, pp.531-7, 1989.

GABRIEL SE. Cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis. **The American Journal of Medicine**, vol.121, n°10, s. 1, S:9-14, 2008.

GALARZA-DELGADO DA, ESQUIVEL-VALERIO JA, GARZA-ELIZONDO MA, GÓNGORA-RIVERA F, MUÑOZ-DE HOYOS JL, SERNA-PEÑA G. Carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis and rheumatoid nodules. *Reumatología Clínica*, vol.9, n°3, pp.136-41, 2013.

GERRITSEN ME, KELLEY KA, LIGON G, PERRY CA, SHEN CP, SZCZEPANSKI A, CARLEY WW. Regulation of the expression of intercellular adhesion molecule 1 in cultured human endothelial cells derived from rheumatoid synovium. **Arthritis Rheumatology**, vol. 36, p.593, 1993.

GODOY-MATOS AF, BAHIA LR, DOMINGUES RC, SICURO F, TAMBASCIA M, GELONEZE B, KRAEMER-AGUIAR LG, BOUSKELA E. Adiponectin is related to lipid content in non-intramyocellular diabetic adults. **Journal of Endocrinological Investigation**, vol.33, n°6, pp.382-7, 2010.

GODOY-MATOS AF, MOREIRA RO, GUEDES EP. Aspectos neuroendócrinos da síndrome metabólica. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, vol.47, n°4, pp.410-2, 2003.
GOMES KWP, LUZ AJP, FELIPE MR DE B, BELTRÃO LA, SAMPAIO AXC, RODRIGUES

CEM. Prevalence of metabolic syndrome in rheumatoid arthritis patients from Northeastern Brazil: Association with disease activity. **Modern Rheumatology**, vol.9, pp.1-6, 2017.

GRASSI G, SERAVALLE G, QUARTI-TREVANO F, DELL'ORO R, BOMBELLI M, MANCIA G. Metabolic syndrome and cardiometabolic risk: an update. **Blood Pressure**, vol.18, n°1-2, pp.7-16, 2009.

GRUNDY SM, CLEEMAN JI, DANIELS SR, DONATO KA, ECKEL RH, FRANKLIN BA, GORDON DJ, KRAUSS RM, SAVAGE PJ, SMITH SC JR, SPERTUS JA, COSTA F; AMERICAN HEART ASSOCIATION; NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**, vol.112, n°17, pp.2735-52, 2005.

GUZMÁN-GUZMÁN IP, ZARAGOZA-GARCÍA O, VENCES-VELÁZQUEZ A, CASTRO-ALARCÓN N, MUÑOZ-VALLE JF, PARRA-ROJAS I. Concentraciones circulantes de MCP-1, VEGF-A, sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectina y sVE-cadherina: su relación con componentes del síndrome metabólico en población joven. **Medicina Clínica (Bare)**, vol.147, pp.427-34, 2016.

HABETS KLL, HUIZINGA TWJ, TOES REM. Platelets and autoimmunity. **European Journal of Clinical Investigation**, vol.43, pp.746-57, 2013.

HAFFNER SM, MIETTINEN H, STERN MP. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. **Diabetes Care**, vol.20, pp.1087-92, 1997.

HALBERG N, WERNSTEDT-ASTERHOLM I, SCHERER PE. The adipocyte as an endocrine cell. **Endocrinology Metabolism Clinics of North America**, vol.37, n°3, 2008.

HOTAMISLIGIL GS, ARNER P, CARO JF, ATKINSON RL, SPIEGELMAN BM. Rapid Publication Obesity and Insulin Resistance. **Journal of Clinical Investigation**, vol.95, pp.2409-15, 1995.

KAHN BB, FLIER JS. Obesity and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, vol.106, n°4, pp.473-8, 2000.

KANSAS GS. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. **Blood**, vol.88, n°9, p.3259, 1996.

KAPPOS L, ANTEL J, COMI G, MONTALBAN X, O'CONNOR P, POLMAN CH, HAAS T, KORN AA, KARLSSON G, RADUE EW; FTY720 D2201 STUDY GROUP. Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. **The New England Journal of Medicine**, vol.355, pp.1124-40, 2006.

KAUR J. A comprehensive review on metabolic syndrome. **Cardiology Research and Practice**, vol.2014, art. 943162, 2014.

KELLY M, HWANG JM, KUBES P. Modulating leukocyte recruitment in inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, vol.120, n°1, p.3, 2007.

KIM EY, MOUDGIL KD. Immunomodulation of autoimmunity arthritis by pro-inflammatory cytokines. **Cytokine**, vol.98, pp.87-96, 2017.

KING C, TANGYE SG, MACKAY CR: T follicular helper (TFH) cells in normal and dysregulated immune responses. **Annual Review of Immunology**, vol.26, pp.741-66, 2008.

KLEIN K, OSPELT C, GAY S. Epigenetic contributions in the development of rheumatoid arthritis. **Arthritis Research and Therapy**, vol.14, n°6, p.227, 2012.

KLIMEK E, SKALSKA A, KWAŚNY-KROCHIN B, SURDACKI A, SULICKA J, KORKOSZ M, FEDAK D, KIERZKOWSKA I, WIZNER B, GRODZICKI TK. Differential associations of inflammatory and endothelial biomarkers with disease activity in rheumatoid arthritis of short duration. **Mediators of Inflammation**, 11p, 2014.

KODAMAN N, ALDRICH MC, SOBOTA R, ASSELBERGS FW, BROWN NJ, MOORE JH, WILLIAMS SM. Plasminogen activator inhibitor-1 and diagnosis of the metabolic syndrome in a West African population. **Journal of the American Heart Association**, vol.5, n°10, 2016.

KOLLIAS G. TNF pathophysiology in murine models of chronic inflammation and autoimmunity. **Seminars Arthritis Rheumatism**, vol.34, pp.3-6, 2005.

KOWALSKA I, STRACZKOWSKI M, NIKOLAJUK A, ADAMSKA A, KARCZEWSKA-KUPCZEWSKA M, OTZIOMEK E, KINALSKA I, GORSKA M. Insulin resistance, serum adiponectin, and proinflammatory markers in young subjects with the metabolic syndrome. **Metabolism**, vol.57, pp.1539-44, 2008.

LALLY F, SMITH E, FILER A, STONE MA, SHAW JS, NASH GB, BUCKLEY CD, RAINGER GE. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. **Arthritis Rheumatology**, vol.52, p.3460, 2005.

LAM DW, LEROITH D. METABOLIC SYNDROME. IN: DE GROOT LJ, CHROUSOS G, DUNGAN K, FEINGOLD KR, GROSSMAN A, HERSHMAN JM, KOCH C, KORBONITS M, MCLACHLAN R, NEW M, PURNELL J, REBAR R, SINGER F, VINIK A. Metabolic Syndrome. **Endotext** [Internet]. South Dartmouth: MDText.com, Inc; 2000-2015.

LAWRENCE MB, KANSAS GS, KUNKEL EJ, LEY K. Threshold levels of fluid shear promote leukocyte adhesion through selectins (CD62L,P,E). **Journal of Cellular Biology**, vol.136, n°3, p.717, 1997.

LEY K, LAUDANNA C, CYBULSKY MI, NOURSHARGH S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. **Nature Reviews Immunology**, vol.7, n°9, p.678, 2007.

MAGYARI L, VARSZEGI D, KOVESDI E, SARLOS P, FARAGO B, JAVORHAZY A, SUMEGI K, BANFAI Z, MELEGH B. Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnosis and clinical implications. **World Journal of Orthopedics**, vol.5, n°4, pp.516-36, 2014.

MARQUES-NETO JF, GONÇALVES ET, LANGEN LFOB, CUNHA MFL, RADOMINSKI S, OLIVEIRA SM et al. Multicentric study of the prevalence of adult rheumatoid arthritis in Brazilian population samples. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, vol.33, p.169-73, 1993.

MATSUMOTO K, SERA Y, ABE Y, TOMINAGA T, HORIKAMI K, HIRAO K, UEKI Y, MIYAKE S. High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, vol.51, pp.932-4, 2002.

MCGARRY JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. **Diabetes**, vol.51, n°1, pp.7-18, 2002.

MOON Y-S, KIM D-H, SONG D-K. Serum tumor necrosis factor-alpha levels and components of the metabolic syndrome in obese adolescents. **Metabolism**, vol.53, pp.863-7, 2004.

MOTA LMH, CRUZ BA, BRENOL CLV, PEREIRA IAP, FRONZA LSR, BERTOLO MB, FREITAS MVC, SILVA NA, LOUZADA-JÚNIOR P, GIORGI RDN, LIMA RAC, PINHEIRO GRC. Consenso da Sociedade Brasileira de Reumatologia 2011 para o diagnóstico e avaliação inicial da artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, vol.51, n.3, p.207-19, 2011.

MOTTILLO S, FILION KB, GENEST J, JOSEPH L, PILOTE L, POIRIER P, RINFRET S, SCHIFFRIN EL, EISENBERG MJ. The metabolic syndrome and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American College of Cardiology**, vol.56, n°14, pp.1113-32, 2010.

MULLER WA. Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. **Trends in Immunology**, vol.24, n°6, p.327, 2003.

MURPHY PM, BAGGIOLINI M, CHARO IF, HÉBERT CA, HORUK R, MATSUSHIMA K, MILLER LH, OPPENHEIM JJ, POWER CA. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. **Pharmacological Reviews**, vol.52, pp.145-76, 2000.

NOACK M., MIOSSEC P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*, vol. 39, pp. 365-83, 2017.

NOURSHARGH S, ALON R. Leukocyte migration into inflamed tissues. **Immunity**, vol.41, n°5, pp.694-707, 2014.

NOURSHARGH S, KROMBACH F, DEJANA E. The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, vol.80, n°4, pp.714-8, 2006.

O'SHEA JJ, SIMS J, SIEGEL RM, FARBER JM. Cytokines. In: HOCHBERG MC, SILMAN AJ, SMOLEN JS, WEINBLATT ME, WEISMAN MH. *Rheumatology*. 6ª edição. Philadelphia: Elsevier, 2015. 1976 p.

PANIS C, HERRERA ACSA, VICTORINO VJ, CAMPOS FC, FREITAS LF, DE ROSSI T, COLADO SIMÃO AN, CECHINI AL, CECHINI R. Oxidative stress and hematological profiles of advanced breast cancer patients subjected to paclitaxel or doxorubicin chemotherapy. **Breast Cancer Research and Treatment**, vol.133, n°1, pp.89-97, 2012.

PARK YW, ZHU S, PALANIAPPAN L, HESHKA S, CARNETHON MR, HEYMSFIELD SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. **Archives of Internal Medicine**, vol.163, n°4, pp.427-36, 2003.

PAZOS MDC, NADER HB. Effect of photodynamic therapy on the extracellular matrix and associated components. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol.40, pp.1025-35, 2007.

PESCHON JJ, TORRANCE DS, STOCKING KL, GLACCUM MB, OTTEN C, WILLIS CR, CHARRIER K, MORRISSEY PJ, WARE CB, MOHLER KM. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. **Journal of Immunology**, vol.160, pp.943-52, 1998.

PIERINGER H, STUDNICKA-BENKE A. What is causing my arthritis, doctor? A glimpse beyond the usual suspects in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **QJM**, vol.106, n°3, pp.219-28, 2013.

PINHEIRO GRC. Instrumentos de medida da atividade da artrite reumatoide – por que e como empregá-los. **Revista Brasileira de Reumatologia**, vol.47, n°5, pp.362-365, 2007.

PINTO MRC, BERTOLO MB, KAKEHASI AM, CARVALHO MAP. In: CARVALHO MAP. Reumatologia: diagnóstico e tratamento. 4ª edição. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014. 725 p.

PREVOO ML, VAN'T HOF MA, KUPER HH, VAN LEEUWEN MA, VAN DE PUTTE LB, VAN RIEL PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, vol.38, n°1, pp.44-8, 1995.

REILLY MP, ROHATGI A, MCMAHON K, WOLFE ML, PINTO SC, RHODES T, GIRMAN C, RADER DJ. Plasma Cytokines, Metabolic Syndrome, and Atherosclerosis in Humans. **Journal of Investigative Medicine**, vol.55, pp.26-35, 2007.

REMMERS EF, PLENGE RM, LEE AT, GRAHAM RR, HOM G, BEHRENS TW, DE BAKKER PI, LE JM, LEE HS, BATLIWALLA F, LI W, MASTERS SL, BOOTY MG, CARULLI JP, PADYUKOV L, ALFREDSSON L, KLARESKOG L, CHEN WV, AMOS CI, CRISWELL LA, SELDIN MF, KASTNER DL, GREGERSEN PK. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **The New England Journal of Medicine**, vol.357, pp.977-86, 2007.

RIZZO ACB, GOLDBERG TBL, SILVA CC, KUROKAWA CS, NUNES HRC, CORRENTE JE. Metabolic syndrome risk factors in overweight, obese, and extremely obese brazilian adolescents. **Nutrition Journal**, vol.12, p.19, 2013.

SALMON JE, ROMAN MJ. Subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **The American Journal of Medicine**, vol.121, n°10, pp.3-8, 2008.

SANO H, FOROUGH R, MAIER JAM, CASE JE, JACKSON A, ENGLEKA K, MACIAG T, WILDER RL. Detection of high levels of heparin binding growth factor-1 (acidic fibroblast growth factor) in inflammatory arthritic joints. **Journal of Cell Biology**, vol.110, p.1417, 1990.

SCHOELS M, WONG J, SCOTT DL, ZINK A, RICHARDS P, LANDEWÉ R, SMOLEN JS, ALETAHA D. Economic aspects of treatment options in rheumatoid arthritis: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. **Annals of Rheumatic Diseases**, vol.69, n°6, pp.995-1003, 2010.

SCOTT DL, WOLFE F, HUIZINGA TW. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, vol.376, n°9746, pp.1094-108, 2010.

SENNA ER, BARROS ALP, SILVA EO, COSTA IF, PEREIRA LVB, CICONELLI RM, FERRAZ MB. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. **The Journal of Rheumatology**, vol 31, n°3, pp.594-97; 2004.

SENNIKOV S V., ALSHEVSKAYA AA, SHKARUBA NS, CHUMASOVA OA, SIZIKOV AE, LOPATNIKOVA JA. Expression of TNF α membrane-bound receptors in the peripheral blood mononuclear cells (PMBC) in rheumatoid arthritis patients. **Cytokine**, vol.73, pp.288-94, 2015.

SHOELSON SE, LEE J, GOLDFINE AB. Review series Inflammation and insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, vol.116, pp.1793–801, 2016.

SILMAN AJ, NEWMAN J, MACGREGOR AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis: Results from a nationwide study of disease-discordant twins. **Arthritis and Rheumatism**, vol.39, n°5, pp.732-5, 1996.

SILMAN AJ, PEARSON JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. **Arthritis Research**, vol.4, sup.3, pp.265-72, 2002.

SOKOLOVE J, BROMBERG R, DEANE KD, LAHEY LJ, DERBER LA, CHANDRA PE, EDISON JD, GILLILAND WR, TIBSHIRANI RJ, NORRIS JM, HOLERS VM, ROBINSON WH. Autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression of rheumatoid arthritis. **PloS One**, vol.7, n°5, e. 35296, 2012.

SRIKANTHAN K, FEYH A, VISWESHWAR H, SHAPIRO JI, SODHI K. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population. **Internal Journal of Medical Sciences**, vol.13, n°1, pp.25-38, 2016.

SZEKANECZ Z, BESENYEI T, SZENTPÉTERY A, KOCH AE. Angiogenesis and vasculogenesis in rheumatoid arthritis. **Current Opinion in Rheumatology**, vol.22, n°3, p.299, 2010.

TANTAYAKOM P, KOOLVISOOT A, ARROMDEE E, CHIOWCHANWISAWAKIT P, MUANGCHAN C, KATCHAMART W. Metabolic syndrome is associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. **Joint Bone Spine**, vol.83, n°5, pp.563-7, 2016.

TAYLOR PC, MICHAEL PETERS A, PALEOLOG E, CHAPMAN PT, ELLIOTT MJ, MCCLOSKEY R, FELDMANN M, MAINI RN. Reduction of chemokine levels and leukocyte traffic to joints by tumor necrosis factor α blockade in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, vol.43, pp.38-47, 2000.

TRØSEID M, LAPPEGÅRD KT, MOLLNES TE, ARNESEN H, SELJEFLOT I. Changes in serum levels of E-selectin correlate to improved glycaemic control and reduced obesity in subjects with the metabolic syndrome. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, vol.65, pp.283-90, 2005.

TROUW LA, HUIZINGA TW, TOES RE. Autoimmunity in rheumatoid arthritis: different antigens--common principles. **Annals of Rheumatic Diseases**, vol.72, sup.2, pp.132-6, 2013.

TURESSON C, MATTESSON EL. EXTRA-ARTICULAR FEATURES OF RHEUMATOID ARTHRITIS AND SYSTEMIC INVOLVEMENT. IN: HOCHBERG MC, SILMAN AJ, SMOLEN JS, WEINBLATT ME, WEISMAN MH. Rheumatology. 6ª edição. Philadelphia: Elsevier, 2015. 1976 p.

VALLE Y, LEDEZMA-LOZANO IY, TORRES-CARRILLO N, PADILLA-GUTIERREZ JR, NAVARRO-HERNANDEZ RE, VAZQUEZ-DEL MERCADO M, PALAFOX-SÁNCHEZ CA, ARMENDÁRIZ-BORUNDA J, MUÑOZ-VALLE JF. Circulating TNFRI and TNFRII levels correlated with the disease activity score (DAS28) in rheumatoid arthritis. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, vol.38, pp.332-5, 2009.

VIDIGAL FC, BRESSAN J, BABIO N, SALAS-SALVADÓ J. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. **BMC Public Health**, vol.13, p.1198, 2013.

VLODAVSKY I, FOLKMAN J, SULLIVAN R, FRIDMAN R, ISHAI-MICHAELI R, SASSE J, KLAGSBURN M. Endothelial cell-derived basic fibroblast growth factor: synthesis and deposition into subendothelial extracellular matrix. **Proceedings of National Academy of Sciences**, vol. 84,

p.2292, 1987.

WAGNER DD, FRENETTE PS. The vessel wall and its interactions. **Blood**, vol.111, n°11, p.5271, 2008.

WILSON PW, D'AGOSTINO RB, PARISE H, SULLIVAN L, MEIGS JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. **Circulation**, vol.112, n°20, pp.3066-72, 2005.

XIXI MA, SHENGQUAN, XU. TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis. *Biomedical Reports*, vol.1, n°2; 174-88, 2013.

YELIN EH. Musculoskeletal conditions and employment. **Arthritis Care and Research**, vol.8, n°4, pp.311-7, 1995.

YOU T, RYAN AS, NICKLAS BJ. The metabolic syndrome in obese postmenopausal women: Relationship to body composition, visceral fat, and inflammation. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, vol.89, pp.5517–22, 2004.

ZARBOCK A, LEY K. Mechanisms and consequences of neutrophil interaction with the endothelium. **American Journal of Pathology**, vol.172, n°1, p.1, 2008.

ZHANG H, XIAO W. TNFR1 and TNFR2 differentially mediate TNF- α -induced inflammatory responses in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. **Cell Biology International**, vol.41, pp.415-22, 2017.

ANEXOS

**Anexo 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - GRUPO
ARTRITE REUMATOIDE**

Título da pesquisa:

**“AVALIAÇÃO DAS MOLÉCULAS DE ADESÃO E DO TNF- α E SEUS
RECEPTORES EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE E SÍNDROME
METABÓLICA: ASSOCIAÇÃO COM O DAS 28”**

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo(a) a participar da pesquisa **“AVALIAÇÃO DAS MOLÉCULAS DE ADESÃO E DO TNF- α E SEUS RECEPTORES EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE E SÍNDROME METABÓLICA: ASSOCIAÇÃO COM O DAS 28”**, realizada no Hospital Universitário de Londrina (HU) da Universidade Estadual de Londrina. O objetivo da pesquisa é pesquisar a interferência da síndrome metabólica (SM) em pacientes com artrite reumatoide (AR). A sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: avaliação clínica pelo médico reumatologista e coleta de sangue. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Serão realizados testes laboratoriais para confirmação do diagnóstico e prognóstico de artrite reumatoide, determinação da atividade da doença, perfil metabólico, resposta imunológica, estresse oxidativo e outras análises que se façam necessárias. Os benefícios esperados são 1) o conhecimento da prevalência de SM em pacientes com AR, de uma amostra da população brasileira, permite estratificação de risco cardiovascular, o que implica em manejo mais adequado de acordo com as características da nossa população; 2) o entendimento da fisiopatologia que envolve as alterações do estresse oxidativo e inflamação na AR possibilita melhor monitoramento da doença e desenvolvimento de novas intervenções medicamentosas. Informamos que o(a) senhor (a) não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa. Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar (médica

reumatologista Tatiana Mayumi Veiga Iriyoda – (43) 3371-2218), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock nº60, ou no telefone (43) 3371-2490. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Londrina, _____ de _____ de 2016.

Pesquisadores Responsáveis:

- **Tatiana Mayumi Veiga Iriyoda** - telefone: (43) 99615-5476

RG: 197.669-5

- **Andréa Name Colado Simão** - telefone: (43) 99627-8181

RG: 6.226.736-4

_____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar voluntariamente da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

Obs: Caso o participante da pesquisa seja menor de idade, deve ser incluído o campo para assinatura do menor e do responsável.

Anexo 2 – Aprovação da Pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa

← → ↻ plataformabrasil.saude.gov.br/visao/publico/indexPublico.jsf

Plataforma Brasil


[Público](#) [Pesquisador](#) [Alterar Meus Dados](#) Anna Herr

Você está em: [Público](#) > [Buscar Pesquisas Aprovadas](#) > [Detalhar Projeto de Pesquisa](#)

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

- DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO, FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES E FREQUÊNCIA DE SÍNDROME METABÓLICA EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOÍDE.
 Pesquisador Responsável: Andréa Name Colado Simão
 Contato Público: Andréa Name Colado Simão
 Condições de saúde ou problemas estudados: artrite reumatóide
 Descritores CID - Gerais: Artrite reumatoide nao especificada
 Descritores CID - Especificos: Artrite reumatoide nao especificada
 Descritores CID - da Intervenção:
 Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 25/02/2013



- DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias
 Cidade: LONDRINA

- DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 5231 - Universidade Estadual de Londrina - UEL
 Endereço: LABESC - Sala 14
 Telefone: (43)3371-5455
 E-mail: cep268@uel.br

- CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

- CENTRO(S) COPARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

Anexo 3 – E-mail de Submissão do Artigo à Revista

● IMRE-D-17-00209 - Submission Notification to co-author

Entrada ★



● **Immunologic Research (IMRE)** <em@editorialmanager.com>

Para: Anna Herminia Castro Gomes de Amorim



26 de set às 12:14 ★

Re: "Metabolic Syndrome Modulates Inflammatory and Endothelial Dysfunction in Patients with Rheumatoid Arthritis: Role of TNF receptor Type 2 and E-Selectin"

Full author list: Andréa Name Colado Simão, Ph.D.; Lorena Flor da Rosa Franchi Santos, MSc; Anna Herminia Castro Gomes de Amorim, MD; Tatiana Mayumi Veiga Iriyoda; Marcell Alysson Batisti Lozovoy, Ph.D; Neide Tomimura Costa, MD; Ph.D; Fabiano Aparecido de Medeiros, MSc; Marcelo Cândido de Sá, MSc; Bruno Aleandre Sekiguchi, MSc; Daniela Frizon Alfieri, Ph.D; Tamires Flauzino, Ph.D; Luana Aparecida Cossentini, Ph.D; Edna Maria Vissoci Reiche, Ph.D; Isaías Dichi, Ph.D

Dear dr Amorim,

We have received the submission entitled: "Metabolic Syndrome Modulates Inflammatory and Endothelial Dysfunction in Patients with Rheumatoid Arthritis: Role of TNF receptor Type 2 and E-Selectin" for possible publication in Immunologic Research, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Ph.D Andréa Name Colado Simão who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office
Immunologic Research