IVÂNIO ALVES PEREIRA

***Aterosclerose na artrite reumatóide e sua
associação com auto-imunidade humoral***

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Reumatologia

Orientador: Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto

São Paulo
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pereira, Ivânio Alves

Aterosclerose na artrite reumatóide e sua associação com auto-imunidade humoral / Ivânio Alves Pereira. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Reumatologia.

Orientador: Eduardo Ferreira Borba Neto.

Descritores: 1.Aterosclerose 2.Artrite reumatóide 3.Auto-imunidade
4.Arteriosclerose 5.Cardioplipinas 6.Síndrome antifosfolípídica 7.Proteínas do
choque térmico 8.Anticorpos anticardioplipina 9.Lipase lipoprotéica

USP/FM/SBD-424/06

Para minha querida e amada esposa, e grande companheira Benilde, eu dedico esta tese, fruto do seu esforço conjunto, do seu auxílio e incentivo constantes, o que tornou possível a realização deste estudo.

Para as minhas lindas filhas, Marina e Júlia, pelo amor, carinho e convívio diário, eu também dedico esta tese, em retribuição ao melhor presente do mundo, poder ser pai de vocês.

Aos meus pais Ivan e Marlene, exemplo de honestidade e respeito, eu dedico esta tese, por tudo que eles puderam me dar. Os seus grandes ensinamentos das experiências já vividas e dos seus valores, me estimulam a dar continuidade aos meus estudos, e foram importantes para investir na realização desta tese. Sou muito feliz por ter o privilégio de ter este pai e mãe.

Aos meus irmãos Ivan, Ivano e Ivanildo, meus grandes amigos, dedico esta tese como um agradecimento do companherismo e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Eduardo Ferreira Borba Neto, grande amigo, brilhante pesquisador clínico, pelo seu grande estímulo na realização de todas as etapas deste curso de doutorado, pela sua competente orientação, permanente disponibilidade e apoio para a realização desta pesquisa.

À Dra. Ieda Maria Magalhães Laurindo, coordenadora do ambulatório de artrite reumatóide do Serviço de Reumatologia do HC-FMUSP, pela valiosa co-orientação, incentivo para a realização desta tese e explícita ansiedade pelos resultados.

À Prof^ª. Dra. Eloísa Bonfá, chefe do Serviço de Reumatologia do HC-FMUSP, pela oportunidade que me deu de retornar a esta instituição na qualidade de pós-graduando, pelo estímulo, apoio e confiança depositada em mim na realização desta tese.

À Prof^ª. Dra Rosa Maria Rodrigues Pereira, pela amizade, motivação científica, apoio e incentivo na realização desta tese.

À Dra. Vilma S. T. Viana, responsável pelo Laboratório de Imunidade Humoral do Serviço de Reumatologia do HC-FMUSP, pelo apoio e auxílio na realização de parte dos auto-anticorpos testados nesta tese.

Às funcionárias Elaine P. Leon e Margarete Vendramini do Laboratório de Imunidade Humoral do Serviço de Reumatologia do HC-FMUSP pela amizade, apoio e auxílio na realização de testes laboratoriais desta tese.

À Prof^ª. de estatística da Universidade Anhembi Morumbi-SP Cecília Aparecida Vaiano Farhat, pela sua valiosa colaboração, orientação e permanente disponibilidade na análise estatística desta tese.

À Prof^ª. Dra. Silvia Modesto Nassar, professora de estatística da Universidade Federal de Santa Catarina, pela sua orientação estatística na elaboração desta tese.

À Prof^ª. Dra. Maria de Lourdes Rovares, chefe do laboratório do Hospital Universitário da UFSC, pelo apoio na realização de vários exames laboratoriais desta tese.

Ao Prof. Udson Piazza, ex-coordenador da disciplina de reumatologia da UFSC, pela amizade, apoio e incentivo na realização desta tese.

À Dra. Adriana Fontes Zimmermann, médica assistente do Serviço de Reumatologia da UFSC, pela amizade, incentivo e contribuição na realização desta tese.

À Dra. Lisiane Enriconi dos Anjos, Prof^ª. de patologia clínica da UNISUL, pela sua contribuição na realização desta tese e pela sua orientação sobre as técnicas laboratoriais utilizadas.

Ao Dr. José Antônio Carvalho, médico cardiologista, pela amizade, apoio e pela realização do ultra-som das artérias carótidas nos pacientes deste estudo.

Aos funcionários do laboratório do Hospital Universitário da UFSC, pelo auxílio na coleta, manuseio e realização de testes laboratoriais desta tese.

Às funcionárias da secretaria do Serviço de Reumatologia da FMUSP Maria de Fátima C. da Silva e Cláudia Reis de Oliveira pelo auxílio, competência e carinho com que lidam com os pós-graduandos.

Ao Dr. Rufus Berlingame, médico pesquisador clínico da Inova Diagnostics, Inc, San Diego-USA, pela valiosa colaboração na realização da pesquisa de parte dos auto-anticorpos desta tese.

À Inova Diagnostics, Inc., San Diego, EUA, pela colaboração na realização dos testes sorológicos.

À Clenice Rodrigues Machado, Prof^ª. de língua portuguesa do Instituto Estadual de Educação de Santa Catarina, pelo seu auxílio na revisão e correção de gramática desta tese.

Ao Prof. Dr. Roger Walz do Depto de Clínica Médica da UFSC pela amizade e auxílio na realização desta tese.

Aos Prof.s Dr. Henrique Staub e Carlos Alberto Von Müllen do Hospital São Lucas de Porto Alegre pela amizade, apoio e incentivo na realização desta tese.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com :

Referências : Adaptado de *International committee of medical journal editors (Vancouver)*

Universidade de São Paulo. Faculdade de medicina. Serviço de biblioteca e documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. São Paulo : Serviço de biblioteca e documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 - INTRODUÇÃO-----	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA -----	7
2.1 - Aspectos clínicos da artrite reumatóide -----	8
2.2 - Inflamação como um mecanismo patogênico da aterosclerose -----	16
2.3 – Auto-imunidade na patogênese da aterosclerose -----	22
2.3.1 – Anticorpos contra proteínas de choque térmico e aterosclerose -----	23
2.3.2 – Anticorpos anti-fosfolípidos e beta2-glicoproteína 1 e aterosclerose -----	27
2.4 – Patogênese da doença aterosclerótica na artrite reumatóide -----	30
2.5 – Aterosclerose subclínica de carótidas na artrite reumatóide -----	37
3 - JUSTIFICATIVA-----	40
4 - OBJETIVOS-----	43
5 – CASUÍSTICA E MÉTODOS -----	45
5.1 - Desenho do estudo-----	46
5.2 - Casuística-----	46
5.2.1 – Grupo de estudo -----	46
5.2.2 – Grupo controle -----	47
5.2.3 – Critérios de exclusão para os grupos 1 e 2 -----	47

5.3 – Local da pesquisa -----	48
5.4 – Procedimentos -----	48
5.5 - Análise estatística-----	58
5.6 – Aspectos éticos -----	58
6 – RESULTADOS -----	60
7 – DISCUSSÃO -----	85
8 – CONCLUSÕES -----	101
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	104
10 – ANEXOS -----	162

LISTA DE ABREVIATURAS:

aCL - anticorpos anticardiolipina

ACR – *American College of Rheumatology* (Colégio Americano de Reumatologia)

AR - artrite reumatóide

AVC - acidente vascular cerebral

Beta2-gp1 - beta2glicoproteína 1

CCP – *cyclic citrullinated peptide* (peptídeo citrulinado cíclico)

Cols.- colaboradores

Colest.- colesterol total

DAS – *disease activity score* (escore de atividade da doença)

DMARDs – *disease-modifying antirheumatic drugs* (drogas anti-reumáticas modificadoras da doença)

ELISA - ensaio de imunoabsorção ligado a enzima

FR - fator reumatóide

HAQ – *health assessment questionnaire* (questionário de avaliação da saúde)

HAS – hipertensão arterial sistêmica

HDL - lipoproteína de alta densidade

Hsp – proteína de choque térmico

HT - hematócrito

HB - hemoglobina

IAM - infarto agudo do miocárdio

IC - intervalo de confiança

IDAS - índice de atividade da doença simplificado

IFP - interfalângiana

Ig - imunoglobulina

IL - interleucina

IMC - índice de massa corporal

IMT – *intimo-medial thickness* (espessura da camada íntimo-medial)

LDL - lipoproteína de baixa densidade

LDLox - lipoproteína de baixa densidade oxidada

LES - lúpus eritematoso sistêmico

Lp-PLA2 - fosfolipase A2 associado à lipoproteína

LPL - lipoproteína lipase

MCF- metacarpofalângiana

PA - pressão arterial

PAPP-A - proteína plasmática A associada à gestação

PCR - proteína C reativa

RANK - receptor ativador do fator nuclear NF-kappa beta

SAF - síndrome anti-fosfolipídica

TAB - tabela

TG – triglicerídeos

TGO - transaminase glutâmica oxalacética

TGP - transaminase glutâmica pirúvica

TNF - fator de necrose tumoral

tPA - ativador de plasminogênio tecidual

TSH - hormônio tireo-estimulador

US – ultra-som

VHS- velocidade de hemossedimentação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características demográficas e laboratoriais dos pacientes com artrite reumatóide e indivíduos do grupo controle

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes com artrite reumatóide de acordo com as classes funcionais

Tabela 3 – Parâmetros clínicos dos pacientes com artrite reumatóide

Tabela 4 – Características do tratamento dos pacientes com artrite reumatóide

Tabela 5 - Níveis de lipoproteínas em pacientes com artrite reumatóide de acordo com o uso de antimaláricos

Tabela 6 -Presença de placas de aterosclerose e medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide e no grupo controle

Tabela 7 - Correlações entre a medida da IMT da carótida comum e os parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes com artrite reumatóide

Tabela 8 - Prevalência de placas de aterosclerose e medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide, com e sem nódulos reumatóides

Tabela 9 - Correlação da idade e dos níveis de lipoproteínas com a medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide e nos indivíduos do grupo controle

Tabela 10 – Associação entre a presença de placas de aterosclerose e os parâmetros clínicos e laboratoriais nos pacientes com artrite reumatóide

Tabela 11 - Níveis de lipoproteínas e associação com a presença de placas nos pacientes com artrite reumatóide

Tabela 12 - Presença de placas nas carótidas em pacientes portadores de artrite reumatóide com faixa etária abaixo e acima dos 50 anos

Tabela 13 - Medida da IMT da carótida em pacientes portadores de artrite reumatóide, com faixa etária abaixo e acima dos 50 anos

Tabela 14 – Presença de placas de aterosclerose nos pacientes com artrite reumatóide de acordo com o tempo de doença

Tabela 15 - Medida da IMT das carótidas e sua associação com o tempo de doença em pacientes com artrite reumatóide

Tabela 16 – Presença de auto-anticorpos contra cardiolipina (IgG, IgM), Hsp 60, Hsp 65, beta2-glicoproteína (IgG, IgM e IgA), CCP e LPL nos pacientes com artrite reumatóide e nos indivíduos do grupo controle

Tabela 17 - Títulos dos anticorpos contra cardiolipina (IgG e IgM), beta2-gp1 IgG, beta2-gp1 IgM, beta2-gp1 IgA, Hsp 60 e Hsp 65 nos pacientes com artrite reumatóide e nos indivíduos do grupo controle

Tabela 18 – Medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide em relação a presença dos auto-anticorpos

Tabela 19 - Correlações dos títulos dos anticorpos com a medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide e no grupo controle

Tabela 20 - Associação entre a positividade dos anticorpos nos pacientes com artrite reumatóide e a presença de placas de aterosclerose

Tabela 21 – Títulos dos anticorpos nos pacientes com artrite reumatóide e a sua associação com placas de aterosclerose

Tabela 22 – Correlações dos níveis de anticorpos anti-beta2-gp1 IgG, IgM e IgA e parâmetros clínicos de atividade nos pacientes com artrite reumatóide

Tabela 23 – Correlações dos níveis de anticorpos contra proteínas de choque térmico Hsp 60, Hsp 65 e CCP2 e parâmetros clínicos na artrite reumatóide

Tabela 24 – Correlações dos níveis de anticorpos contra cardiolipina IgG e IgM e parâmetros clínicos na artrite reumatóide

Tabela 25 – Análise de fatores de risco para a presença de placas de aterosclerose

RESUMO

Pereira IA. Aterosclerose na artrite reumatóide e sua associação com auto-imunidade humoral. **São Paulo, 2006. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.**

Objetivos: Muitas questões permanecem sobre as causas da aterosclerose acelerada nos pacientes com doenças inflamatórias sistêmicas como a artrite reumatóide (AR). Estudos na população geral sugeriram que além da inflamação existe uma participação patogênica da auto-imunidade na aterosclerose e discutem a possível associação dos anticorpos contra fosfolípidos e proteínas de choque térmico (Hsp). O objetivo deste estudo foi investigar a presença de anticorpos contra fosfolípidos, beta2-glicoproteína 1 (beta2-gp1), lipoproteína lipase (LPL) e Hsp em pacientes com AR e avaliar a associação entre estes anticorpos com a presença de aterosclerose subclínica de carótidas.

Métodos: Anticorpos contra cardiolipina (aCL) IgG e IgM, beta2-gp1 IgG, IgM e IgA, Hsp 60 e Hsp 65 foram testados por ELISA em um grupo de 71 pacientes com AR comparado com 53 indivíduos controles não portadores de AR, de idade e sexo similar. Foram excluídos os pacientes com HAS, diabetes melitos e os fumantes em ambos os grupos. Níveis de lipoproteínas, parâmetros clínicos da AR, questionário de avaliação de saúde (HAQ), escore de atividade da doença (DAS) 28, velocidade de hemossedimentação (VHS) e proteína C reativa (PCR) foram avaliadas. A associação entre a presença dos anticorpos aCL, beta2-gp1, Hsp 60 e Hsp 65 com os parâmetros clínicos de atividade da doença, com a presença das placas de aterosclerose e com a medida da espessura íntimo-medial (IMT) da carótida comum, usando ultra-som (US) modo B de alta resolução foram pesquisadas.

Resultados: A idade média no grupo com AR foi $48,93 \pm 12,31$ vs. $45,37 \pm 9,37$ no grupo controle saudável ($p = 0,20$); 90,1% no grupo com AR eram do sexo feminino vs. 86,8% no grupo controle ($p = 0,56$); índice de massa corporal (IMC) foi $25,72 \pm 4,57 \text{ kg/m}^2$ no grupo com AR vs. $26,40 \pm 4,52 \text{ kg/m}^2$ no grupo controle ($p = 0,69$); Os níveis de colesterol, LDL, triglicerídeos e a relação CT/HDL não foram diferentes quando comparamos os 2 grupos ($p > 0,05$). O nível de HDL foi maior no grupo com AR vs. grupo controle com $60,56 \pm 14,40 \text{ mg/dl}$ e $54,52 \pm 11,55$ respectivamente ($p = 0,05$). A média da medida da IMT foi $0,721 \pm 0,16$ mm na AR e $0,667 \pm 0,14$ mm no grupo controle, e a IMT dos pacientes com AR foi maior naqueles com idade acima dos 50 anos ($P < 0,001$). No grupo com AR, 14,1% dos pacientes tinham placas nas carótidas vs. 1,9% dos indivíduos saudáveis ($p = 0,02$) e no grupo com AR, as placas foram mais frequentes nos pacientes acima dos 50 anos ($p = 0,004$). No grupo AR, 5,6% tinham anticorpos aCL IgG vs. 3,8% no grupo controle ($p > 0,05$); 14,1% apresentavam aCL IgM vs. 7,5% ($p > 0,05$); 43,7% tinham anti-beta2-gp1 IgA vs. 40,8% no grupo controle ($p > 0,05$). A prevalência de anti-beta2-gp1 IgG e IgM e anti-LPL não foi diferente entre os pacientes com AR e o grupo controle ($p > 0,05$). A presença dos anticorpos anti-Hsp 60 e 65 na AR e no grupo controle não foram diferentes ($p > 0,05$), mas os títulos de anticorpos contra Hsp 65 e beta2-gp1 IgM foram maiores no grupo com AR ($p = 0,007$ e $p = 0,03$ respectivamente). Nós não encontramos associação entre a presença e os títulos

dos anticorpos aCL IgG e IgM, beta2-gp1 IgG, IgM e IgA, LPL e Hsp 60 e 65 com a presença de placas nas carótidas ou com a medida da IMT ($p > 0,05$).

Discussão: Este estudo confirma achados anteriores da maior prevalência de aterosclerose carotídea nos pacientes com AR e sua correlação com idade, colesterol e LDL. Embora tenha se encontrado uma tendência a maior presença de anticorpos nos pacientes com AR, não houve relação entre a presença da aterosclerose mais prevalente nos pacientes com AR, com a auto-imunidade dirigida contra cardiolipina, beta2-gp1 ou Hsp.

Descritores: Aterosclerose, Artrite reumatóide, Auto-imunidade, Arteriosclerose, Cardiolipina, Síndrome antifosfolipídica, Proteínas de choque térmico, Anticorpos anticardiolipina, Lípase lipoprotéica

SUMMARY

Pereira IA. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis and its relationship with humoral autoimmunity. São Paulo, 2007. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Purpose: Many questions remain unanswered about the causes of accelerated atherosclerosis in patients with inflammatory systemic diseases such as rheumatoid arthritis (RA). Some studies have suggested the role of autoimmunity besides inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis in general population and have also discussed the possible association with antibodies directed to phospholipids and heat shock proteins (Hsp). The aim of this study was to investigate the presence of antibodies against phospholipids, beta2-glycoprotein1 (beta2-gp1), lipoprotein lipase (LPL) and Hsp in RA subjects and evaluate the association between these antibodies with the presence of subclinical carotid atherosclerosis.

Methods: Tests to antibodies against cardiolipin (aCL) IgG and IgM, beta2-gp1 IgG, IgM and IgA, Hsp 60 and Hsp 65 were done by ELISA test in a group of 71 RA subjects compared with 53 age and sex-matched non-RA subjects. Smoking, diabetic and hypertensive patients were excluded in both groups. The lipoprotein levels, clinical parameters of RA, Health Assessment Questionnaire (HAQ), Disease Activity Score (DAS) 28, Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) and C-Reactive Protein (CRP) were evaluated. The association between the presence of antibodies against cardiolipin, beta2-gp1 and Hsp 60 and 65 with the clinical parameters of disease activity in RA, and with the presence of plaques and mean intimo-medial thickness (IMT) of common carotid using high-resolution B-mode ultrasound were assessed.

Results: Mean age in RA group was 48.93 ± 12.31 vs. 45.37 ± 9.37 in healthy control group ($p = 0.20$); 90.1% were women in RA group vs. 86.8% in healthy control ($p = 0.56$); body mass index (BMI) were 25.72 ± 4.57 in RA group vs. 26.40 ± 4.52 in healthy control ($p = 0.69$). The levels of cholesterol, LDL, triglycerides, CT/HDL didn't have difference between the two groups ($p > 0.05$). The HDL was higher in RA group vs. control group with 60.56 ± 14.40 mg/dl and 54.52 ± 11.55 respectively ($p = 0.05$). The mean IMT was 0.721 ± 0.16 mm in RA and 0.667 ± 0.14 mm in control group, and the IMT was higher in patients older than 50 years among RA subjects ($p < 0.001$). In RA subjects, 14.1% had carotid plaques vs. 1.9% in healthy controls ($p = 0.02$). In RA group, the carotid plaques were more frequent in patients older than 50 years ($p = 0.004$). In RA group, 5.6% had antibodies against cardiolipin IgG vs. 3.8% in control group ($p > 0.05$); 14.1% in RA group had anti-cardiolipin IgM vs. 7.5% ($p > 0.05$); 43.7% had anti-beta2-gp1 IgA vs 40.8% in control group ($p > 0.05$). The presence of anti-beta2-gp1 IgG and IgM, and anti-LPL didn't have significant difference between the groups ($p > 0.05$). The prevalence of antibodies to Hsp 60 and Hsp 65 were similar in RA and in control group ($p > 0.05$), but the titers of antibodies against Hsp 65 and beta2-gp1 IgM were higher in RA group ($p = 0.007$ and $p = 0.03$ respectively). We didn't find relationship between antibodies against cardiolipin IgG and IgM, or beta2-gp1 IgG, IgM and IgA, LPL, Hsp 60 and 65 with mean IMT or plaque carotid ($p > 0.05$).

Discussion: This study confirms the great prevalence of carotid atherosclerosis in RA subjects and its correlation with age, cholesterol and LDL . Although it was found a tendency to have more autoantibodies in RA subjects, there weren't any link between atherosclerosis in RA with autoimmunity against cardiolipin, beta2-gp 1, LPL or Hsp.

Descriptors: Atherosclerosis, Rheumatoid arthritis, Autoimmunity, arteriosclerosis, anti-phospholipid; lipoprotein lipase; cardiolipin, Heat shock proteins, beta2-glycoprotein 1

1 - INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um grande avanço na abordagem diagnóstica nos pacientes com artrite reumatóide (AR), quando novos testes laboratoriais como os anticorpos anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP), aliados aos métodos de imagem como o ultra-som (US) e a ressonância magnética (RM) das articulações acometidas, auxiliaram no diagnóstico precoce e na melhor caracterização das formas clínicas iniciais, testes que podem ser preditores de maior ou menor severidade futura (JANSEN, 2003; MCGONAGLE, 1999; McQUEEN, 2001; VAN VENROOIJ, 2005; RANTAPÄ-DAHLQVIST, 2003; NIELEN, 2004; VAN GAALEN, 2004; WAKEFIELD, 2000; LEE, 2003; FORSLIND, 2004). Em relação ao tratamento, recentemente houve uma mudança de paradigma da terapêutica na AR, em que se inicia o tratamento em fase mais precoce e de forma mais agressiva, o que têm contribuído também para a mudança favorável da evolução clínica destes pacientes (KRISHNAN, 2003; PUOLAKKA, 2005; LANDEWÉ, 2003; VAN AKEN, 2004; VAN DER HEIDE, 1996). O maior entendimento dos mecanismos imunopatogênicos da inflamação reumatóide e o reconhecimento da importância da participação de algumas células e citocinas envolvidas, permitiu a criação de alguns agentes biológicos que atuam por atingir ou bloquear estas células ou citocinas alvos (McINNES, 2005; SINGH, 2005; POLLARD, 2005). Apesar destas conquistas nos métodos diagnósticos e no aumento do número de drogas efetivas recentemente disponíveis para o tratamento desta patologia, a mortalidade ainda

é maior do que a da população normal e a expectativa de vida se mantém reduzida em 3 a 10 anos (GABRIEL, 1999; MITCHELL, 1986; ALAMANOS, 2005). Na AR severa, o índice de mortalidade aumentada compara-se aquele encontrado nos pacientes com linfoma e doença coronariana com comprometimento tri-arterial (PINCUS, 1986). A aterosclerose acelerada na AR determina uma maior incidência de doença coronariana nestes pacientes, a qual é responsável pela principal causa da maior mortalidade, quando comparado com a população normal (PRIOR, 1984; JACOBSON, 1993; MYLLYKANGAS, 1995; WALLBERG-JONSSON, 1997; WOLFE, 2003; WATSON, 2003; TURESSON, 2004; SOLOMON, 2003; MARADIT-KREMERS, 2005). Inúmeros estudos em AR têm confirmado a maior frequência de aterosclerose carotídea, doença cérebro-vascular isquêmica e principalmente coronariana, por diversos métodos diagnósticos como o US de carótidas, a cintilografia de perfusão do miocárdio e a angiografia das artérias coronárias (WALLBERG-JONSSON, 2001; PARK, 2002; KUMEDA, 2002; GONZALES-JUANATEY, 2003; DEL RINCON, 2003). A aterosclerose na população normal tem sido relacionada com marcadores inflamatórios sistêmicos como o fibrinogênio e principalmente a proteína C reativa (PCR), o que está de acordo com o fato de a aterosclerose ser decorrente de um processo inflamatório na artéria, o que tem até mesmo levado alguns autores a sugerir a mudança da nomenclatura de aterosclerose para aterosclerite (DANESH, 1998; ROSS, 1999; LIBBY, 2002; LI, 2004; PAOLETTI, 2004; FICHTLSCHERER, 2004; WILLERSON, 2004; DORIA, 2005). Além da inflamação, pesquisas recentes também sugerem a participação da auto-imunidade na patogênese da aterosclerose, com estudos que demonstraram a associação da aterosclerose com

anticorpos contra antígenos expressos nas placas de ateroma como anticorpos contra LDL oxidada (LDLox), proteínas de choque térmico (Hsp) 60 e Hsp 65, anticorpos contra fosfolípidos de membrana e contra beta2-glicoproteína1 (beta2-gp1) (HOPPICHLER, 1996; GROMADZKA, 2001; XU, 2000; BURIAN, 2001; ZHU, 2004; ZAMPIERI, 2005; HOSHIDA, 2005; MEHTA, 2005; GHAYOUR-MOBARHAN, 2005; MANDAL, 2005; BINDER, 2005; FROSTEGARD, 2005; TOUBI, 2005; STAUB, 2006; MATSUURA, 2006).

Atualmente existem inúmeros estudos na população geral com doença coronariana, a procura de novos fatores de risco independentes que sejam preditores da aterosclerose, todos com um objetivo claro e importante, o de aumentar o reconhecimento precoce da presença da aterosclerose subclínica, tentando estabelecer assim medidas de prevenção geral ou mesmo medidas terapêuticas mais precoces (BLAKE, 2002; FICHTLSCHERER, 2004; FRUCHART, 2004; FYFE, 1997; PACKARD, 2000; BLANKENBERG, 2002; RIDKER, 2001; RIDKER, 2004).

Na AR, a maior frequência e maior mortalidade cardiovascular são decorrentes da participação de múltiplos fatores patogênicos da lesão aterosclerótica (SATTAR, 2003; SNOW, 2005). Alguns estudos, por exemplo, demonstram a ocorrência de disfunção endotelial na AR, a qual é secundária à inflamação vascular difusa decorrente da doença (KLOCKE, 2003; WONG, 2003; HURLIMANN, 2002; RAZA, 2005). Outro fator patogênico importante da aterosclerose nos pacientes com AR é a dislipoproteinemia, que é comumente observada e associa-se não somente à presença da doença ativa, mas também pode ser secundária ao tratamento utilizado em alguns pacientes (PARK, 2002; VAN DOORNUM, 2002; DURSUNOGLU, 2005). Na AR, as

alterações das lipoproteínas mais comuns são a redução do HDL, o aumento da relação LDL/HDL colesterol e o aumento do LDL colesterol, o qual é mais aterogênico, já que este se acumula na íntima da artéria e fica sujeito a modificação química do tipo oxidação (PARK, 1999; HURT-CAMEJO, 2001).

A dislipoproteinemia nas doenças reumáticas auto-imunes é bastante freqüente, e tem sido estudada de forma mais exaustiva no lupus eritematoso sistêmico (LES), uma doença também associada com aterosclerose acelerada, e que como a AR não é secundária apenas aos fatores de risco clássicos (BORBA, 1997; SELZER, 2004; SOLOMON, 2004; CARVALHO, 2004).

Além da dislipoproteinemia e inflamação endotelial, que contribuem para o processo de aterosclerose mais freqüente na AR, é importante que novos estudos elucidem se existe participação da auto-imunidade na aterosclerose nesta doença. Considerando que a incidência dos anticorpos contra LDLox, contra fosfolípidos de membrana e proteínas do choque térmico estão presentes na AR de forma mais freqüente que na população normal e nestes já foram associados com aterosclerose (SALONEN, 1992; XU, 1993; HOPPEL, 1996; PALINSKI, 2000; XU, 2000; ZHU, 2004; SHERER, 2005), é importante avaliarmos se existe associação destes anticorpos com a aterosclerose mais freqüente nesta doença.

A constatação já definida de que a mortalidade de causa cardiovascular na AR é maior que a da população normal e as evidências de que mecanismos intrínsecos da doença reumatóide desencadeiam aterosclerose acelerada e precoce, confirmam, assim, a necessidade de que estes fatores patogênicos sejam ainda melhor elucidados. A similaridade da inflamação da sinovite reumatóide com a inflamação que ocorre na gênese da placa de ateroma torna a

AR um modelo experimental in vivo para o avanço das pesquisas sobre o complexo mecanismo inflamatório e auto-imune na aterosclerose (PASCERI, 1999).

A realização de estudos não invasivos como US de carótidas que reconheçam a presença da aterosclerose na fase pré-clínica e correlacionem estes achados com parâmetros clínicos são valiosos, principalmente após estudos recentes terem demonstrado que a doença coronariana nos pacientes com AR é mais freqüentemente silenciosa, com maior incidência de infarto agudo do miocárdio (IAM) silencioso e morte súbita de causa cardiovascular (MARADIT-KREMERS, 2005; DOUGLAS, 2006).

A nossa hipótese a ser confirmada é de que a aterosclerose clinicamente manifesta por estudo de US de artérias carótidas na AR seja secundária, não somente a participação das lipoproteínas alteradas, inflamação sistêmica, disfunção endotelial decorrentes de atividade da doença e do uso de drogas do tipo glicocorticóides, mas estejam associadas a um processo auto-imune presente na doença. A pesquisa da participação de auto-anticorpos contra fosfolípídeos, Hsp, beta2-gp1 e lipoproteína lipase (LPL) na AR e sua associação com a presença de aterosclerose carotídea poderá determinar um entendimento maior e uma mudança de abordagem clínica e terapêutica na aterosclerose do paciente com AR.

2 – REVISÃO DA LITERATURA

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - ASPECTOS CLÍNICOS DA ARTRITE REUMATÓIDE

A AR é uma doença auto-imune inflamatória sistêmica crônica de etiologia desconhecida, que determina um custo social e econômico importante, considerando a freqüente incapacidade para o trabalho que a doença determina (SILMAN, 1993; ALLAIRE, 1996; VERSTAPPEN, 2005). É uma doença que tem um predomínio 2 a 3 vezes maior no sexo feminino, acomete cerca de 0,5% a 1% da população adulta e tem uma incidência anual de 0,02% a 0,05% (LAWRENCE, 1998; ALAMANOS, 2005). A doença se caracteriza pelo acometimento da membrana sinovial, podendo levar a destruição ósteo-articular. Embora o quadro clínico seja preferencialmente poliarticular, manifestações sistêmicas inespecíficas como febre, perda de peso, fadiga, anemia e outras manifestações extra-articulares demonstram ser esta uma doença sistêmica. No passado a AR freqüentemente evoluía de forma desfavorável, considerando que a maioria dos pacientes apresentavam deformidades articulares irreversíveis e redução da capacidade funcional. Constitui a causa mais comum de poliartrite crônica e caracteriza-se por um padrão de acometimento simétrico das grandes e pequenas articulações, principalmente das mãos e pés. O comprometimento articular decorre da intensa inflamação da membrana sinovial, a qual determina a invasão da cartilagem e erosão do osso subcondral por um processo infiltrativo e destrutivo local, conhecido como pannus reumatóide (FLEMING,

1976). Há uma concordância de que a AR é uma doença de patogênese complexa e multifatorial, resultante da interação de fatores ambientais e genéticos. Inúmeros fatores de risco para o aparecimento da AR têm sido sugeridos, ainda que não estejam totalmente definidos e incluem além do sexo feminino, a presença de história familiar positiva, idade avançada, exposição a sílica e tabagismo (ALAMANOS, 2005; HARRISON, 2002; WILSON, 1999; ALBANO, 2001; GORMAN, 2006). De forma contrária, outros fatores ambientais podem reduzir a incidência da AR e incluem o uso de contraceptivo oral (VESSEY, 1987; KUDER, 2002). Além do tabagismo ser considerado um fator de risco para o aparecimento da AR, ele está também relacionado com a severidade da doença, manifestação extra-articular e presença do fator reumatóide (FR). Os pacientes portadores do epítipo compartilhado HLA DRB1 são aqueles em que o tabagismo parece determinar um risco maior de aparecimento da AR, e neste subgrupo, recentemente tem-se demonstrado a possibilidade de que o tabagismo modifique proteínas humanas, levando estas a citrulinização e formação de neo-antígenos, com conseqüente auto-imunidade (KLARESKOG, 2006).

Alguns estudos tentaram correlacionar a presença de infecções com o aparecimento da AR, mas não existem evidências epidemiológicas até o momento que definam o real papel causal das infecções na AR. Dentre os agentes infecciosos sugeridos cabe ressaltar o parvovírus, o vírus da rubéola, o vírus Epstein-Barr e a *Borrelia Burgdorferi* (ALAMANOS, 2005). Fatores sócio-econômicos, tais como o estado conjugal do paciente, o seu nível de escolaridade e a sua ocupação profissional parecem influenciar mais o curso e o

prognóstico da AR, do que o risco do aparecimento da doença (PINCUS, 1984; SILMAN, 1993).

Fatores genéticos estão associados à ocorrência e a severidade da AR. Em gêmeos monozigóticos a taxa de concordância da AR é em torno de 30 a 50 por cento, quando um dos gêmeos é acometido pela doença. Os genes HLA-DR do complexo de histocompatibilidade maior estão associados com a AR e participam da apresentação do antígeno às células T. A associação destes genes HLA-DR com a AR é no momento a evidência mais forte do papel da genética na patogênese e frequência da doença. A terceira região hipervariável da cadeia DR beta, especialmente a sequência dos aminoácidos 70 a 74 é a que está associada à doença (NEPPON, 1989). O epítipo de susceptibilidade ou epítipo reumatóide é a sequência glutamina-leucina-arginina-alanina-alanina (QKRAA) ou QRRAA. Esta sequência é encontrada nos múltiplos genes HLA-DR associados com a doença, incluindo os genes HLA-DR4, DR14, e DR1, e se correlacionam com a severidade da doença, com as formas erosivas e com as manifestações extra-articulares (WEYAND, 1992; GORMAN, 2004; IOANNIDIS, 2002).

Na patogênese da AR, além da predisposição genética e da duvidosa participação viral, auto-imunidade tem um papel fundamental e foi primeiramente demonstrada pela auto-reatividade do FR. O FR está presente em imunocomplexos na AR e fixa complemento. Além dos imunocomplexos formados com o FR, as células T estão presentes em maior quantidade nos infiltrados inflamatórios da sinovite da AR (FOX, 1997). Apesar do infiltrado maior de células T na membrana sinovial e no líquido sinovial, verificou-se que o perfil de citocinas mais expressas no local na AR são a interleucina

(IL)15, IL18, fator de necrose tumoral (TNF)-alfa, fator estimulador de colônias de macrófagos derivadas dos macrófagos e fibroblastos, ao contrário da IL2 e gama-interferon, produtos das células T (FIRENSTEIN, 2003). A análise detalhada do infiltrado linfocitário de células T na AR revela também uma maior participação de células Th1 que expressam receptores CCR5 e CXCR3 (QIN, 1998). É de conhecimento que os macrófagos e fibroblastos na membrana sinovial produzem citocinas que ativam outras citocinas e outras células, criando assim uma rede de citocinas pró-inflamatórias. Intervenções terapêuticas eficazes contra estas citocinas, como os bloqueadores do TNF e IL1 confirmam a participação na AR.

A patogênese das erosões ósseas na AR decorrem não somente da inflamação sinovial e do pannus invadindo o osso subcondral, mas de um desequilíbrio entre o ligante do RANK (receptor ativador do fator nuclear NF- κ B), a osteoprotegerina (OPG) e o RANK, os quais são fundamentais no processo de maturação e ativação dos osteoclastos (PEREIRA, 2004). O ligante do RANK em situações normais é expresso apenas pelos osteoblastos, mas na AR ele é também expresso pelos linfócitos T e fibroblastos sinoviais, estando presente em maior quantidade na membrana sinovial inflamada (KONG, 1999; TAKAYANAGI, 2000; MIRANDA-CARÚS, 2006). O ligante do RANK se liga ao seu receptor na superfície dos osteoclastos (RANK), permitindo que estes se tornem maduros e ativos, na presença de TNF e fator estimulador de colônia de macrófagos. A OPG é um receptor solúvel que se liga ao ligante do RANK impedindo que este se ligue ao RANK, seu receptor natural no osteoclasto, exercendo assim um efeito inibidor de reabsorção óssea. O ligante do RANK e a OPG estão aumentados na AR, mas são normalizados após o

tratamento com os bloqueadores do TNF (ZTOLKOWSKA, 2002). Estudos confirmam que os anti-TNF podem reduzir ou prevenir a progressão da lesão cartilaginosa e óssea na AR (KLARESKOG, 2004; BREEDVELD, 2006).

Além dos linfócitos T, estudos recentes demonstram a importância dos linfócitos B sinoviais na AR. Células B estão presentes nos infiltrados inflamatórios sinoviais e nos centros germinais. As células B em maturação expressam a molécula CD20 na superfície, e a importância dos linfócitos B na AR se confirma com os resultados iniciais favoráveis do uso do anticorpo monoclonal anti-CD20 (rituximabe), o qual depleta linfócitos B (EDWARDS, 2004).

O diagnóstico da AR baseia-se na presença de pelo menos 4 de 7 critérios definidos pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) e revisados em 1988 (ARNETT, 1988). Estes critérios incluem a presença de rigidez matinal prolongada, artrite de 3 ou mais articulações, artrite das articulações das mãos, artrite simétrica, nódulo reumatóide presente, FR positivo e alterações radiográficas. Embora os critérios auxiliem no diagnóstico da doença, eles não são essenciais para o diagnóstico em casos individuais. É importante ressaltar que estes critérios são de classificação, e foram estabelecidos em pacientes com poliartrite crônica estabelecida, com média de tempo de doença de cerca de 8 anos, permitindo a classificação dos pacientes com AR, mas estes critérios estão ausentes em muitos pacientes com AR de início recente (SARAUX, 2001). Alguns componentes dos critérios da AR são frequentemente ausentes no início, como as alterações radiográficas, o FR e os nódulos reumatóides, o que determina uma sensibilidade de apenas 40

a 60% e especificidade de 80 a 90% destes critérios na AR de início recente (MACHOLD, 2002; HARRISON, 1998; VISSER, 2002; ALETAHA, 2005).

O prognóstico da doença é pior nos pacientes que apresentam FR positivo em títulos altos, doença erosiva ao raio X, nódulos reumatóides, nos portadores do epítipo compartilhado dos genes do HLA-DR e nos portadores de manifestações extra-articulares da doença (ERHARDT, 1989; PINCUS, 1984). As manifestações extra-articulares da AR são mais frequentes nos pacientes que apresentam comprometimento articular severo, nos portadores de FR em altos títulos, e incluem a presença de nódulos reumatóides, esclerite, episclerite, vasculite, envolvimento pulmonar intersticial, pleurite, pericardite, amiloidose e outras manifestações menos frequentes. A presença destas manifestações extra-articulares está associada a uma sobrevida menor (VOLLERSTEIN, 1986; SUZUKI, 1994; TURESSON, 2002). Além das manifestações extra-articulares da AR, outro determinante de impacto no prognóstico da doença inclui a presença de co-morbidades significantes, tais como doença cardiovascular, osteoporose, infecção, doença péptica e doença maligna linfoproliferativa (DECHANT, 2004; MIKULS, 2003). A mortalidade aumentada na AR decorre de vários fatores, tais como, o maior número de infecções nestes pacientes, a maior incidência de insuficiência renal, e a maior incidência de problemas gastro-intestinais. Em anos recentes, tem se tornado evidente que as mortes por causas cardiovasculares são bem mais frequentes nos pacientes com AR do que na população normal (MITCHELL, 1986; MYLLYKANGAS, 1995; GABRIEL, 1999). Em uma coorte de 448 pacientes com AR seguidos por 22 anos, a doença cardiovascular foi responsável por 34 % da mortalidade excessiva observada (SYMMONS, 1998). Em outro estudo

de 898 óbitos em pacientes com AR, 361 decorreram de doença cardiovascular, seguido pelas doenças cérebro-vasculares (WOLFE, 1994). A maior incidência de mortalidade cardiovascular nos pacientes com AR não é explicada por vasculite sistêmica ou pelos fatores de risco clássicos para doença cardiovascular já definidos na população normal (SOLOMON, 2004).

Em relação ao tratamento da AR, os objetivos atuais são a prevenção ou o controle da lesão articular, a manutenção ou melhora da capacidade funcional, a redução da dor e a tentativa de obter a remissão da doença (KWOH, 2002). Estudos recentes mostraram que existe um grande benefício na resposta ao tratamento, quando se iniciam as drogas anti-reumáticas modificadoras da doença (DMARDs) em sua fase inicial e de forma mais agressiva (EGSMOSE, 1995; VAN DER HEIDE, 1996; LARD, 2001; MOTTONEN, 2002; NELL, 2002; BREEDVELD, 2004). No passado, a clássica pirâmide terapêutica que consistia em um tratamento conservador na fase inicial da doença deu chance para que muitos pacientes tivessem mais erosões e deformidades irreversíveis antes do uso de drogas mais efetivas. A ineficácia do esquema terapêutico proposto pela pirâmide terapêutica da AR levou à mudança daquele paradigma de tratamento (PINCUS, 1990). O tratamento ideal da AR deve iniciar com a educação do paciente sobre a doença, sobre os riscos de deformidades articulares e perda de capacidade funcional, assim como a orientação sobre os riscos e benefícios das opções terapêuticas disponíveis (KWOH, 2002). Drogas antiinflamatórias não hormonais (AINH) e glicocorticóides, que podem ser utilizados como injeção intra-articular ou como baixa dose oral, podem ser considerados para o controle dos sintomas articulares, embora não mudem a evolução natural da doença, se utilizados de forma isolada (VAN

EVERDINGEN, 2002). Assim, todos os pacientes com AR são candidatos ao uso de drogas anti-reumáticas modificadoras da doença (DMARDs), que têm o objetivo de impedir a sua progressão, além de impedir o aparecimento de lesões articulares permanentes. Os DMARDs comumente utilizados na AR devem ser iniciados preferencialmente até 3 meses e incluem os anti-maláricos (difosfato de cloroquina e sulfato de hidroxicloroquina), sulfassalazina, metotrexate, leflunomida, etanercepte, adalimumabe, anakinra e infliximabe. Outros menos utilizados atualmente incluem a azatioprina, d-penicilamina, sais de ouro, minociclina e ciclosporina (KWOH, 2002). Estudos recentes têm mostrado que as combinações de DMARDs são mais efetivas do que monoterapia, embora alguns autores discutam que a maior eficácia da terapia de combinação dos DMARDs possa ser secundário ao uso concomitante dos glicocorticóides (O'DELL, 2002; MOTTONEN, 1999; PINCUS, 1999; KREMER, 2002; BREEDVELD, 2006). O uso das drogas modificadoras de resposta biológica, anti-TNF alfa, anti-IL1 que têm como alvo terapêutico as citocinas específicas importantes no processo inflamatório, tem ocupado atualmente um papel importante na terapêutica da AR (WEINBLATT, 1999; KEYSTONE, 2001; BRESHNIHAN, 1998; KLARESKOG, 2004; BREEDVELD, 2006). Os bloqueadores do TNF têm se mostrado bastante efetivos nos pacientes com AR e incluem o infliximabe, que é um anticorpo monoclonal quimérico anti-TNF, o etanercepte, um receptor solúvel do TNF e o adalimumabe, um anticorpo monoclonal anti-TNF totalmente humanizado. Estes bloqueadores do TNF quando utilizados como monoterapia são tão efetivos quanto o metotrexate em reduzir a atividade da doença, assim como em retardar o aparecimento de erosões, mas a sua maior eficácia no tratamento

ocorre apenas quando estes são utilizados de forma combinada com o metotrexate (LIPSKY, 2000; WEINBLATT, 2003; KLARESKOG, 2004; BREEDVELD, 2006). Novos agentes biológicos que têm como alvo as outras citocinas como a IL6, IL15, IL18, as moléculas de co-estimulação da interação entre as células B e T (CTLA4-Ig) e as moléculas de superfície de células B (anti-CD 20-rituximab) tem mostrado resultados favoráveis e sugerem uma perspectiva futura ainda melhor para o tratamento da AR (PUPPO, 2005; NISHIMOTO, 2004; KREMER, 2003; EDWARDS, 2004; SINGH, 2005; COHEN, 2006).

2.2 - INFLAMAÇÃO COMO UM MECANISMO PATOGÊNICO DA ATEROSCLEROSE:

Em cerca de 50% dos pacientes com doença coronariana aterosclerótica na população normal, não existem fatores de risco clássicos para a aterogênese como hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo, diabetes melitos (DM) e hipercolesterolemia, o que demonstra a necessidade de um maior entendimento do processo de formação da aterosclerose (ROSS, 1993). A aterosclerose é uma doença arterial progressiva caracterizada pela formação de placas que emergem da camada íntima das artérias. O termo ateroma é uma palavra derivada do latim que significa graxa e foi inicialmente utilizado em 1755 por Albrecht Von Halles para designar a placa depositada na camada mais interna da parede da artéria, a qual relembra um abscesso ou cisto contendo material de aspecto purulento (CAPRON, 1996). Do ponto de vista patológico, o termo aterosclerose difere da arteriosclerose, sendo que arteriosclerose significa

espessamento e rigidez da artéria e aterosclerose refere-se à formação de placas inflamatórias com macrófagos carregados de lipídios e proliferação de células musculares lisas que podem ulcerar e liberar citocinas inflamatórias (STARY, 1995). Na patogênese das placas de aterosclerose, os estudos no passado apenas enfatizavam a relação direta dos níveis elevados de colesterol com a aterogênese, porém nos últimos 15 anos apareceram evidências crescentes de que a inflamação e alguns mecanismos imunológicos possuem um papel importante tanto no início como na progressão da aterosclerose, na conversão de uma placa estável em uma placa instável e na trombose superposta que ocorre na placa de aterosclerose (LIBBY, 2002; WICK, 2004; BADR, 2004; DORIA, 2005; PAOLETTI, 2004). Estas afirmações são baseadas em um grande número de estudos mostrando um maior número de macrófagos, monócitos e linfócitos T nas placas de ateromas, assim como a observação da presença de PCR, componentes do complemento e proteína amilóide A sérica no interior destas placas. Modelos animais de aterosclerose induzidos por dieta rica em colesterol tem mostrado que as células que primeiro se aderem ao endotélio são os monócitos, através da maior expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais ativadas, entre estas principalmente a molécula de adesão vascular VCAM 1. Os monócitos uma vez aderidos às células endoteliais, migram entre estas para as camadas subendoteliais por um processo de diapedese, através do auxílio de um gradiente químico. Os macrófagos, uma vez localizados na camada íntima das artérias, se tornam ativos e passam então a expressar receptores lixeiros na sua superfície que fagocitam as partículas de LDLox. Os macrófagos ativados se tornam, então, carregados destas partículas de lipoproteínas modificadas e passam a ser

chamados de células espumosas, devido às gotículas de lipídios no seu citoplasma. As células espumosas e também os linfócitos T presentes na íntima produzem ou induzem a liberação de uma variedade de mediadores inflamatórios que amplificam o processo inflamatório, tais como as citocinas pró-inflamatórias (IL1, TNF-alfa), os fatores de crescimento, as moléculas de adesão e as metaloproteinases da matrix. Estes mediadores inflamatórios aumentam o recrutamento de outras células inflamatórias para o local, aumentam a migração e a proliferação das células endoteliais, amplificam a proliferação das células da camada do músculo liso dos vasos, promovem a quebra do colágeno da camada fibrosa da superfície da placa de ateroma e induzem maior agregação das plaquetas, causando na última etapa trombose local, perda do óxido nítrico endotelial e liberação de radicais livres do oxigênio. As metaloproteinases da matrix podem degradar a matrix extracelular, a qual faz parte da capa fibrosa espessa da placa de ateroma, o que leva como consequência à menor espessura desta capa, instabilidade da placa e maior tendência a ruptura. Embora se saiba que o tamanho das placas seja importante, na medida que elas reduzem o fluxo sanguíneo arterial para órgãos vitais, o principal risco é a ruptura da placa e não a obstrução total do lúmen arterial pela sua espessura, já que a ruptura pode desencadear o surgimento do IAM ou de acidente vascular cerebral (AVC) (BADR, 2004). Este processo inflamatório que ocorre na parede das artérias e contribui para a formação da placa de aterosclerose, apresenta muitas similaridades com os aspectos patológicos do processo inflamatório encontrado na inflamação da membrana sinovial da AR (ROSS, 1999; GERLI, 2004).

Em relação à imunidade celular, os linfócitos T presentes nas placas têm importante papel na patogênese das lesões ateroscleróticas. Camundongos com depleção de células CD4 reduzem a formação de lesões de aterosclerose, e outros que apresentam imunodeficiência celular, quando recebem células CD4 transferidas de animais imunocompetentes aumentam o tamanho das lesões ateroscleróticas (EMESON, 1996; ZHOU, 2000). Uma resposta imune celular específica dirigida contra as Hsp, LDLox e beta2-gp1 tem sido encontrada em modelos animais de aterosclerose (SHERER, 2002).

Do ponto de vista epidemiológico, os estudos prospectivos na população geral têm demonstrado uma relação entre os níveis de PCR e o risco futuro de eventos cardiovasculares (RIDKER, 1998). Os níveis elevados da proteína amiloide A sérica, IL6 e os níveis de moléculas de adesão intercelulares solúveis têm sido também correlacionadas com eventos cardiovasculares futuros (RIDKER, 1998; RIDKER, 2000).

Recentemente, novos fatores de riscos independentes para doença cardiovascular aterosclerótica foram reconhecidos e estudados na população normal. Entre estes temos as enzimas pró-aterogênicas, que incluem a fosfolipase A2 associado à lipoproteína (Lp-PLA2), a mieloperoxidase e a proteína plasmática A associado à gestação (PAPP-A). A Lp-PLA2 na circulação está associado ao LDL colesterol e pode contribuir diretamente para a aterogênese, por hidrolisar fosfolipídios em fragmentos pró-aterogênicos e por gerar lisolecitina a qual tem propriedades pró-inflamatórias. A fosfolipase A2 secretora é uma proteína de fase aguda cujo nível plasmático correlaciona-se com a PCR, a qual é também um fator de risco independente de doença coronariana (HURT-CAMEJO, 2001).

Níveis plasmáticos da enzima mieloperoxidase estão elevados em pacientes com doença cardiovascular angiograficamente documentada e esta enzima está mais expressa em placas de arteriosclerose instáveis, prontas a sofrer ruptura (ZHANG, 2001; SUGIYAMA, 2001). A ativação de leucócitos nas placas instáveis leva à imediata secreção de mieloperoxidase pelos leucócitos e à geração de oxidantes que são importantes na defesa do hospedeiro. A mieloperoxidase está ligada ao desenvolvimento de placas de arteriosclerose frágeis, carregadas de lipídios. Esta enzima ativa uma cascata de proteases que interferem na estabilidade e na trombogenicidade da placa, aumentando a produção de lipídios oxidados trombogênicos e citotóxicos, e também o consumo local de óxido nítrico, levando a vasoconstricção (EISERICH, 2002). Um estudo recente mostrou que os níveis plasmáticos de mieloperoxidase em pacientes com dor torácica foram preditores de um risco maior de IAM, maior necessidade de revascularização coronariana, ou morte de causa cardiovascular em 30 dias e 6 meses após a apresentação. Mesmo naqueles pacientes que não tiveram evidência de necrose miocárdica, definidas por um nível de troponina T não elevada, os níveis elevados de mieloperoxidase iniciais, foram também preditores de um prognóstico adverso (BRENNAN, 2003).

A PAPP-A é uma metaloproteinase ligada ao zinco, de alto peso molecular que é classicamente mensurada na gestação no sangue materno, usada para o diagnóstico fetal da síndrome de Down. Ela está presente em quantidades fisiológicas em níveis muito menores na população masculina e feminina não gestante. A PAPP-A tem um papel pró-aterogênico, e atualmente sabe-se que ela é uma ativadora específica do fator de crescimento insulina-like I, um

mediador da aterosclerose. Recentemente um estudo mostrou que esta enzima é produzida pelas células musculares lisas dos vasos e está expressa em maiores quantidades nas células das placas ateroscleróticas, na matrix extra-celular das placas instáveis com erosões e nas placas com rupturas, mas não nas placas estáveis (BAYES-GENIS, 2001). Em pacientes com IAM, os padrões de liberação da PAPP-A são variáveis e aumentos marcantes podem ocorrer tão tardiamente como 30 horas, após o início da dor torácica (QIN, 2002). Um estudo mostrou que os níveis de PAPP-A estão elevados em pacientes hospitalizados com síndrome coronariana aguda, mesmo com níveis de troponina normais, foram preditores de morte cardiovascular, IAM ou revascularização do miocárdio em um período de seguimento de 6 meses (LUND, 2003).

A OPG, também conhecida como fator inibidor dos osteoclastos, é uma citocina antagonista, membro da família dos receptores do TNF (SIMONET, 1997). Recentemente, demonstrou-se que a OPG é produzida não somente no osso, mas em vários tecidos, incluindo o sistema cardiovascular, pulmões, rins, tecido imune e parede dos vasos sanguíneos em roedores. Camundongos deficientes em OPG desenvolvem osteoporose severa e calcificações vasculares da aorta e artérias renais (BUCAY, 1998). Em modelos animais de calcificações arteriais induzidas por warfarin ou intoxicação pela vitamina D, a administração subcutânea de OPG impediu o aparecimento de lesões vasculares (PRICE, 2001). A OPG está expressa em maior quantidade nas células endoteliais da camada muscular lisa dos vasos coronarianos e ela aumenta a sobrevivência destas células, por interferir na sua apoptose (MALYANKAR, 2000). Estudo em homens que foram submetidos à angiografia coronariana por suspeita de doença

coronariana mostraram que os níveis de OPG foram significativamente maiores naqueles com doença avançada (SCHOPPET, 2003). No sistema vascular, os níveis de OPG aumentados podem estar relacionados à lesão endotelial, hiperplasia da íntima, hipertrofia das células musculares lisas ou calcificação de placas avançadas (SCHOPPET, 2002). Um estudo avaliou a concentração de OPG em um grupo de 490 mulheres idosas (acima de 65 anos), e neste estudo, níveis elevados de OPG foram associados com mortalidade global, mortalidade cardiovascular e diabetes melitos (BROWNER, 2001).

2.3 - AUTO-IMUNIDADE NA PATOGÊNESE DA ATEROSCLEROSE

Estudos recentes em modelos animais demonstraram a participação da imunidade humoral na patogênese da aterosclerose. A imunização ativa de camundongos deficientes em receptor de LDL colesterol com cardiolipina ou com beta2-gp1 induziu o aumento das lesões de aterosclerose (GEORGE, 1997; AFEK; 1999). Anticorpos IgG e IgM contra LDLox foram encontrados no plasma de animais e humanos, formando imunocomplexos com a LDLox presente nas lesões de aterosclerose (YLA-HERTTUALA, 1994). A LDLox é o tipo de LDL que mais sofre captação pelos macrófagos, os quais se transformam em células espumosas que são características no processo de aterosclerose. Estudos demonstraram que anticorpos anti-LDLox se correlacionam com a progressão e extensão da aterosclerose e com outros fatores de risco clássicos para doença coronariana (SALONEN, 1992; RYAN, 1998; PALINSKI, 2000). Em uma análise de múltiplas variáveis, Bergmark e cols. (1995) demonstraram que anti-LDLox se correlacionou melhor com doença vascular periférica do

que as lipoproteínas. Níveis elevados de anti-LDLox tem sido também encontrados em pacientes com doenças reumáticas auto-imunes, como esclerose sistêmica, vasculites sistêmicas e LES (WU, 1999).

2.3.1 - ANTICORPOS CONTRA PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO E ATEROSCLEROSE

Processos imuno-inflamatórios que contam com a participação das Hsp têm atraído grande interesse como fatores patogênicos auto-imunes do desenvolvimento da aterosclerose (WICK, 2001). Evidências crescentes de que as Hsp estão envolvidas na patogênese da doença vascular aterosclerótica tem sido publicadas. As Hsp ou chaperoninas como eram conhecidas, são uma família de proteínas encontradas nas células de todos os organismos, altamente conservadas, ou seja, com alta homologia sequencial entre as espécies, desde aquelas encontradas nas bactérias até as de origem humana (YOUNG, 1989; MORIMOTO, 1993). O termo Hsp deriva dos primeiros estudos realizados há 40 anos que demonstraram que as glândulas salivares das larvas de *Drosophila*, quando expostas ao calor, induziam genes específicos que passavam a expressar uma nova família de proteínas (RITOSSA, 1962). Atualmente acredita-se que este termo não seja o mais adequado, considerando a possibilidade da geração deste grupo de proteínas sob outros estímulos diversos, sendo o termo mais apropriado proteínas de estresse (MEHTA, 2005).

As Hsp têm a sua síntese e expressão aumentadas pelas células endoteliais, quando estas são estimuladas por temperaturas elevadas, e também por hipertensão arterial, infecções, estresses oxidativos, exposição à citocinas,

deficiência nutricional, radiação ultra-violeta, toxinas incluindo LDL colesterol, isquemia e reperfusão (MEHTA, 2005). As Hsp são agrupadas em várias famílias de acordo com o seu peso molecular, como Hsp 10, Hsp 40, Hsp 60, Hsp 70, Hsp 90 e Hsp 100, com funções fisiológicas diferentes (JOLLY, 2000; MEHTA, 2005). As Hsp estão de uma forma geral envolvidas funcionalmente na manutenção da conformação estrutural correta de várias proteínas celulares (PATTERSON, 2002). Dentro de cada família de Hsp há algumas que são constitutivas ou fisiologicamente expressas e outras que são induzidas. As proteínas membros da família das Hsp 60 e 65 são proteínas imunogênicas, as quais estão envolvidas no desenvolvimento da aterogênese (LAMB, 2002; BENAGIANO, 2005). As Hsp 60 se localizam de forma seletiva nas regiões das artérias com lesões ateroscleróticas (KOL, 1998).

Lesões similares à aterosclerose foram induzidas em coelhos que apresentavam níveis de colesterol normais, após a sua imunização com Hsp 65 de micobactérias ou Hsp 65 recombinante. Neste estudo, os linfócitos T isolados das lesões ateroscleróticas responderam especificamente as Hsp 65 in vitro (XU, 1992; XU, 1993). A imunização de camundongos C57BL/6J com a proteína Hsp 65 também aumentou a presença de aterosclerose aórtica (GEORGE, 1999). Da mesma forma, a imunização de ratos com a vacina BCG, a qual contém grandes quantidades de Hsp 65, aumentou o processo aterogênico (GEORGE, 2001). Lamb e cols. (2002) demonstraram que coelhos imunizados através do uso da vacina BCG, e alimentados com dieta rica em colesterol passaram a apresentar o aumento de anticorpos anti-Hsp 60 e também o aumento da quantidade de placas de aterosclerose. Harats e cols. (2002) mostraram em um estudo de tolerância oral em camundongos deficientes do

receptor de LDL colesterol que a ingestão oral de quantidades variáveis de Hsp 65 seguida pela posterior imunização com *Mycobacterium tuberculosis* ou Hsp 65 determinou não apenas menor reatividade linfocitária contra Hsp 65, mas também menos aterosclerose.

A Hsp 60 pode induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos, tais como o TNF alfa, assim como pode induzir a produção das moléculas de adesão pelas células endoteliais e metaloproteinases degradadoras da matrix, o que sugere ser este um mecanismo de instabilidade da placa (KOL, 1998; MANDAL, 2004). As Hsp 60 induzem oxidação celular da LDL, ativação dos macrófagos e produção de IL6 (KALAYOGLU, 1999; KOL, 1999; KOL, 2000).

Do ponto de vista clínico, estudos têm demonstrado a associação de níveis elevados de Hsp 60 solúvel com outros fatores de risco para aterosclerose, como com os níveis de LDL colesterol (XU, 2000; GHAYOUR-MOBARHAN, 2005). De forma interessante, foi demonstrado que os títulos de anti-Hsp 60 e anti-Hsp 65 reduziram com o uso das estatinas (GLAYOUR-MOBARHAN, 2005).

Níveis plasmáticos elevados de anticorpos séricos contra Hsp 65 de micobactérias têm sido associado com aterosclerose coronariana de carótidas, períodos pós-infarto do miocárdio e também com re-estenose pós-angioplastia coronariana (XU, 1993; HOPPICHLER, 1996; MUKHERJEE, 1996; XU, 1999). Hoshida e cols. (2005) encontraram níveis de anticorpos IgG contra Hsp 60 humana significativamente mais elevados em pacientes com síndrome coronariana aguda, quando comparados com um grupo de pacientes com

doença coronariana estável e outro grupo controle com coronárias normais. Neste estudo, os autores também mostraram níveis séricos elevados de anticorpos IgM contra *Chlamydia pneumoniae* nos pacientes com síndrome coronariana aguda. Outro estudo interessante foi realizado por Huittinen e cols. (2002), que relataram que a presença de níveis elevados de anticorpos contra Hsp 60 IgA, mas não IgG, foi preditor de um evento coronariano futuro.

Existem discordâncias sobre a possível correlação dos níveis de anticorpos contra Hsp 65 de micobactérias, ou contra Hsp 60 humana e níveis de anticorpos IgM contra *Chlamydia pneumoniae* (MAYR, 1999; HOSHIDA, 2005). Discute-se que, após o paciente ter sido infectado pela *Chlamydia*, ocorre o aumento da expressão coronariana das Hsp 60 das *Chlamydias*, ou das Hsp 60 humanas, as quais desencadeiam a formação de anticorpos contra as Hsp nas placas ateromatosas, levando a um evento isquêmico agudo. A homologia sequencial entre as Hsp de microorganismos infectantes e as Hsp humanas gera a possibilidade de uma relação patogênica de infecção no processo de aterosclerose. As infecções com microorganismos contendo proteínas Hsp homólogas podem desencadear uma resposta auto-imune por mimetismo molecular. Outras possibilidades patogênicas das Hsp na aterosclerose incluem as teorias que discutem a capacidade direta das Hsp homólogas se tornarem imunogênicas por modificação estrutural, resultante de oxidação ou alteração metabólica. Uma teoria diferente é a interação de antígenos de infectantes ou auto-antígenos com as Hsp 60 humanas, formando assim imuno-complexos, em que as células B e T passam a reconhecer as Hsp 60 e desencadeiam assim uma resposta imune (LAMB, 2002; HOSHIDA, 2005). Estas reações auto-imunes

contra Hsp expressas nos leitos vasculares podem contribuir tanto para o início como para a perpetuação do processo de aterosclerose (MANDAL, 2004).

2.3.2 - ANTICORPOS ANTI-FOSFOLIPÍDEOS E BETA2-GLICOPROTEINA 1 E ATEROSCLEROSE

Anticorpos contra fosfolipídeos estão presentes em várias doenças reumáticas auto-imunes, principalmente o LES. Eles reagem contra antígenos da cardiolipina, e contra proteínas ligadas à cardiolipina como a beta2-gpl, que é também conhecida como apolipoproteína H. A presença destes anticorpos pode determinar o aparecimento de manifestações clínicas diversas, as quais são na maioria das vezes trombóticas venosas ou arteriais, caracterizando assim a presença da síndrome antifosfolipídica (SAF), que é atualmente considerada a coagulopatia adquirida mais freqüente (HUGHES, 1986). Um estudo demonstrou que a imunização de camundongos com beta2-gpl determinou a formação não só de anticorpos contra beta2-gpl, mas também contra a cardiolipina, e determinou o aparecimento de manifestações da SAF (GHARAVI, 1992).

Além das trombozes vasculares, os anticorpos anti-fosfolipídeos têm também sido associado à aterosclerose (SHOENFELD, 1998; SHERER, 2005; MATSUURA, 2006). Estudos caso-controles têm mostrado a associação de anticorpos anti-cardiolipina (aCL) com AVC e com o IAM (ANGELINI, 1994; CHAKRAVARTY, 1990; KUSHNER, 1990; HESS, 1991; NAGARAJA, 1997; TUHRIM, 1999; BREY, 2001). A associação da aCL com a aterosclerose foi

também demonstrada através de estudos em animais experimentais, onde a imunização de camundongos deficientes em receptor de LDL colesterol com cardiolipina resultou em altos títulos de aCL e aterosclerose acelerada (GEORGE, 1997). Vaarala e cols. (1995) relataram que níveis elevados de anticorpos anti-cardiolipina são um fator de risco independente para IAM ou morte súbita cardiovascular em homens adultos. Em uma análise retrospectiva de 1519 pacientes com anticorpos contra fosfolipídios, dos quais 637 apresentavam SAF, a oclusão arterial das carótidas, coronárias e artérias periféricas foram mais associadas com anti-cardiolipina IgG ou IgM, contrário aos fenômenos trombóticos venosos que foram mais frequentes nos pacientes com anticoagulante lúpico, o que sugere a participação de anti-cardiolipina no início e progressão da aterosclerose (SOLTESZ, 2003). Um estudo em 42 pacientes com anticorpos contra fosfolipídios demonstrou que a presença de aCL foi um fator preditor independente do aumento da IMT no US de carótidas (AMES, 2002).

A beta2-gp1 é uma glicoproteína circulante, e é considerada o antígeno alvo dos anticorpos anti-fosfolipídios, e da mesma forma que os anticorpos contra cardiolipina, os anticorpos contra beta2-gp1 têm também sido implicados no processo imuno-patológico da aterosclerose (HARATS, 2001). Estudos demonstram a maior expressão de beta2-gp1 junto aos linfócitos T CD4 nas lesões de aterosclerose (GEORGE, 1999). Modelos animais de camundongos deficientes em receptor de LDL colesterol quando imunizados com beta2-gp1 desenvolvem anticorpos contra beta2-gp1 e mais aterogênese. A transferência de linfócitos T destes camundongos imunizados com beta2-gp1 para outros camundongos determina o mesmo processo de maior aterogênese, o que não

ocorreu quando se depletou as células T (GEORGE, 2000). Anticorpos contra beta2-gp1 aumentam a expressão das moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1, e selectina) pelas células endoteliais, e aumentam a produção de IL6. O acréscimo de fluvastatina aboliu este efeito por bloquear a expressão de NF kapa Beta pelas células endoteliais (MERONI, 2000). A LDLox liga-se a beta2-gp1 formando complexos estáveis LDLox/ beta2-gp1 potencialmente patogênicos no processo de aterosclerose (LOPEZ, 2005). Alguns anticorpos contra beta2-gp1 reconhecem beta2-gp1 apenas quando estes formam complexos com a LDLox. O complexo é então captado pelos macrófagos e pelas células espumosas, via ligação aos receptores gama Fc (HORKKO, 1996).

Um estudo de tolerância oral através da ingestão de beta2-gp1 humana ou bovina em camundongos deficientes do receptor de LDL colesterol alimentados com dieta aterogênica e previamente imunizados com beta2-gp1 mostrou reatividade diminuída dos linfócitos de linfonodos contra a beta2-gp1 e mostrou a redução da extensão das lesões. Neste estudo a tolerância oral não alterou a expressão de beta2-gp1 nas placas de aterosclerose. Outro dado interessante foi que, a tolerância oral com beta2-gp1 também determinou reatividade reduzida contra a LDLox em camundongos previamente imunizados com LDL oxidada (GEORGE, 2004).

Estudos clínicos demonstraram a associação de anticorpos contra beta2-gp1 com AVC isquêmico e com doença coronariana (CHEN, 2001; FARSI, 1999). No nosso meio, Staub e cols. (2003) realizou um estudo que demonstrou que os pacientes que apresentavam títulos elevados de anti-beta2-gp1 IgA e anti-Hsp 60 e 65 IgG tiveram mais acidente vascular cerebral isquêmico. Este mesmo grupo também encontrou associação do isotipo IgA do anticorpo contra

beta2-gp1 com infarto do miocárdio e com doença vascular periférica (RANZOLIN, 2004; FRANK, in press).

2.4 - PATOGÊNESE DA DOENÇA ATEROSCLERÓTICA NA ARTRITE REUMATÓIDE

Alguns estudos, não concordantes, têm mostrado que os pacientes com AR apresentam alterações nos níveis de lipoproteínas, diferentes da população normal, com níveis reduzidos de HDL colesterol e níveis elevados de colesterol total, os quais sofrem influências da atividade da doença e do tratamento da AR (ASANUMA, 1999; PARK, 2002; VAN DOORNUM, 2002; McMAHON, 2005; DURSUNOGLU, 2005). O controle da atividade da AR através da utilização de AINH, associado a glicocorticóides e sais de ouro num período de 9 meses aumentou de forma mais significativa os níveis previamente baixos de HDL, e aumentou menos os níveis de LDL e colesterol total (LAZAVERIC, 1992). O uso de agentes antimaláricos em pacientes com AR tem efeitos benéficos no perfil de lipoproteínas, com redução dos níveis de LDL colesterol e aumento dos níveis de HDL colesterol (LEE, 2000; MUNRO, 1997). A prevalência da síndrome X (síndrome metabólica) em pacientes com AR, não se mostrou diferente da população normal e embora encontrada em 24% de uma amostra de pacientes brasileiros, não houve correlação das alterações das lipoproteínas, glicose, hipertensão arterial sistêmica (HAS), circunferência abdominal e índice de massa corporal (IMC) com parâmetros de atividades de doença, capacidade funcional e a resposta terapêutica (SOUZA, 2003).

A obesidade é um fator de risco clássico para doença cardiovascular coronariana na população normal, porém, um estudo recente em pacientes com AR comparou o IMC com a mortalidade cardiovascular e demonstrou que um IMC baixo (menor que 20 kg/m²), que geralmente está mais associado com AR ativa, foi um preditor de mortalidade cardiovascular, contrário ao que vemos na população normal (KREMERS, 2004).

Há poucos estudos definindo a participação dos fatores de risco clássico para doença cardiovascular na AR. A prevalência de DM não é maior nos pacientes com AR (WALLBERG-JONSSON, 1999), embora exista maior prevalência de resistência insulínica, assim como em outras doenças inflamatórias sistêmicas (SVENSON, 1987; PAOLISSO, 1991). A resistência à insulina nos pacientes com AR se correlaciona com os parâmetros de atividade da doença, e embora os glicocorticóides sejam diabetogênicos, e aumentem a resistência periférica de insulina, a utilização de prednisolona em pacientes com AR melhorou a resistência insulínica, devido ao seu efeito antiinflamatório (DRESSEIN, 2002; HALLGREN, 1983). O hábito de fumar é um importante fator de risco para aterosclerose na população normal e o fumo tem sido descrito também como um fator de risco importante para o aparecimento da AR (SILMAN, 1996; UHLIG, 1999; PADYUKOV, 2004). A relação do fumo com a AR é dose dependente, ou seja, existe uma correlação do fumo com a severidade da doença e também com a presença do fator reumatóide (HARRISON, 2002; SAAG, 1997; TURESSON, 2003). Porém, os estudos não têm demonstrado que o fumo seja um preditor independente de mortalidade cardiovascular na AR. Da mesma forma que o fumo, os outros fatores clássicos de risco para doença cardiovascular na população normal não justificam a maior

incidência da aterosclerose acelerada nos pacientes com AR (DEL RINCON, 2001; VAN DOORNUM, 2002; SOLOMON, 2004).

Embora os marcadores de severidade da AR tenham sido relacionados com maior mortalidade global, não se têm encontrado parâmetros clínicos específicos da doença relacionados com mortalidade cardiovascular (WOLFE, 1994).

O uso de glicocorticóides e DMARDs na AR não aumentam o aparecimento de doença cardiovascular, e estudos com metotrexate têm mostrado inclusive uma redução da mortalidade cardiovascular (WALLBERG-JONSSON, 1997; KRAUSE, 2000; CHOI, 2002; KRISHNAN, 2004; SUISSA, 2006). A maioria dos estudos da utilização de bloqueadores de TNF na terapêutica de pacientes com AR têm conferido efeitos benéficos na função endotelial e melhora da resistência a insulina, ainda que Van Doornum e cols. (2005) tenham mostrado resultados não concordantes (HÜRLIMANN, 2002; GONZALEZ-JUANATEY, 2004; MÄKI-PETÄJÄ, 2006). O uso de bloqueadores do TNF tem também reduzido o risco de morte e internação secundária à doença cardiovascular (JACOBSSON, 2005).

O papel de alguns novos possíveis fatores de risco para aterosclerose descritos na população normal, como a homocisteína e a lipoproteína (a) não estão ainda definidos na AR, embora estudos nesta doença também já tenham mostrado níveis elevados (ASANUMA, 1999; PARK, 1999; RANTAPAA-DAHLQVIST, 1991; ROUBENOFF, 1997; HERMANZ, 1999; LEE, 2000; DURSUNOGLU, 2005). Estudos recentes têm mostrado que um subgrupo de pacientes com AR exibe um maior número de células CD4⁺/CD28⁻, as quais produzem gama-interferon e induzem a ativação de células Th1, com a

conseqüente produção de uma variedade de diferentes citocinas pró-inflamatórias. Esta alteração encontrada na AR está também descrita na evolução da aterosclerose e tem sido considerada importante nos pacientes que cursam com angina instável (LUZZO, 1999). As células T CD4⁺ CD28⁻, presentes em maior quantidade nos pacientes com AR, são provavelmente estimuladas por auto-antígenos endoteliais, infiltram as placas ateroscleróticas e devido ao potencial pró-inflamatório promovem lesão vascular. Um estudo recente confirmou o papel das células T CD4⁺ CD28⁻ no desencadeamento da aterosclerose precoce da AR, quando os autores demonstraram que pacientes com AR com expansão CD4⁺ CD28⁻ tinham maior espessura íntimo-medial e maior disfunção endotelial, comparados com o grupo de pacientes com AR sem expansão destas células (GERLI, 2004).

Considera-se que o processo inflamatório na AR seja mediado por células T, as quais podem desencadear além da inflamação articular, o início da inflamação da parede dos vasos sanguíneos. O próprio FR circulante e outros complexos imunes podem também causar a lesão direta das células endoteliais. As citocinas pró-inflamatórias circulantes liberadas na AR podem contribuir para o processo inflamatório na parede dos vasos, similar àquele produzido nas articulações destes pacientes. O TNF alfa e a IL6 na AR induzem a síntese hepática da PCR, a qual, como já demonstrado em indivíduos normais, tem um significado prognóstico na doença cardiovascular secundário à aterosclerose na população normal. A PCR induz à expressão das moléculas de adesão (ICAM 1, VCAM 1 e E-selectina) nas células endoteliais, o que sugere um papel patogênico direto da PCR na aterosclerose (PASCERI, 2000). Na AR os marcadores de inflamação sistêmica conferem

maior risco de mortalidade cardiovascular e níveis de PCR foram correlacionados com aterosclerose de carótida (MARADIT-KREMERS, 2005; GONZALES-GAY, 2005). A mortalidade cardiovascular aumentada que ocorre nos pacientes com AR é mais freqüente naqueles pacientes com doença mais difusa, com comprometimento pulmonar e vasculite, associado a marcadores de inflamação elevados, o que poderia sugerir a hipótese de vasculite reumatóide como desencadeadora da aterosclerose (MARADIT-KREMERS, 2005). Porém, os estudos sugerem que a disfunção endotelial, mais do que vasculite propriamente dita, está presente nos pacientes com AR e esta disfunção independe da faixa etária do paciente, da duração da doença, do grau de atividade e da presença e níveis de fator reumatóide (BERGHOLM, 2002).

Estudos com US de alta sensibilidade da artéria braquial que avaliam de forma não invasiva a função endotelial pela medida da vasodilatação mediada por fluxo sanguíneo pós-oclusão e isquemia foram realizados em pacientes com AR e demonstraram menor vasodilatação dependente do endotélio, o que indica ser a inflamação crônica da AR o fator responsável pela disfunção endotelial inicial, a qual inicia o processo de aterosclerose precoce e acelerada, e leva a eventos clínicos cardiovasculares (GONZALEZ-JUANATEY, 2003; VAUDO, 2004). Na AR a disfunção endotelial é mais intensa nos pacientes portadores do HLA-DRB1*0404 e epítipo compartilhado (GONZALEZ-GAY, 2004).

É interessante o relato de um paciente com AR ativa, associado a esclerite e vasculite, que foi submetido a pulsoterapia com metilprednisolona e posterior uso de prednisona, ciclosporina e metotrexate devido as manifestações extra-articulares. Este paciente apresentou melhora de um defeito de perfusão

miocárdica na cintilografia, sugerindo a possibilidade de disfunção endotelial, já que o paciente em questão não apresentava lesões ateromatosas significantes (RAZA, 2005).

Na população normal, estudos mostraram que os marcadores de fibrinólise em níveis alterados, tais como fibrinogênio, fator de von Willebrand e o inibidor do ativador do plasminogênio foram preditores de IAM (MA, 1999; THOGERSEN, 1998). Estes parâmetros alterados de fibrinólise e a maior incidência de IAM têm uma justificativa clínica, considerando o papel patogênico da trombose superposta na placa de aterosclerose instável como fator desencadeador da síndrome coronariana aguda (LIBBY, 2001). A inflamação sistêmica pode estar associada a um estado de aumento da coagulação devido à trombocitose, aos níveis elevados de fibrinogênio, ao fator de von Willebrand e ao inibidor do ativador do plasminogênio (BEVILACQUA, 1986). Em pacientes com AR a importância destes elementos pró-trombóticos como preditores da maior incidência de eventos cardiovasculares secundários à aterogênese acelerada não estão ainda definidos, devido não só ao pequeno número de estudos sobre o assunto, mas também à necessidade de exclusão de pacientes portadores de patologias que interferem na mensuração destes parâmetros de fibrinólise, como DM e terapia de reposição hormonal. Estudos demonstrando níveis elevados de fibrinogênio, fator de von Willebrand, ativador de plasminogênio tecidual (tPA), D-dímero da fibrina e inibidor do ativador do plasminogênio (PAI) significativamente elevados foram preditores de eventos cardiovasculares em pacientes com AR (Mc ENTERTON, 2001; WALLBERG-JONSSON, 2000; WALLBERG-JONSSON, 2002; BUSSO, 2002). Estudos que esclareçam o papel das enzimas pró-aterogênicas

mieloperoxidase e PAPP-A na maior incidência de doença cardiovascular aterogênica em pacientes com AR não foram ainda realizados. Da mesma forma, estudos que estabeleçam associação dos níveis de OPG e ligante do RANK em AR e aterosclerose não têm sido realizados, tendo sido conduzido apenas estudos que correlacionam os níveis de OPG e RANK ligante com maior ou menor severidade de lesões erosivas ósseas focais, assim como maior ou menor incidência de osteoporose nestes pacientes.

Existem evidências da participação da imunidade humoral na patogênese e no curso clínico da AR, as quais se confirmam não somente pela correlação dos níveis de FR com a severidade e com a presença de manifestações extra-articulares, mas também com os recentes bons resultados terapêuticos do uso de drogas que depletam linfócitos B, como o rituximabe (EDWARDS, 2004). Apesar disso, o papel da imunidade humoral na patogênese da aterosclerose na AR não tem sido ainda esclarecido.

Os anticorpos mais relacionados com aterosclerose já estudados em modelos animais e na população geral, como os anticorpos contra LDL oxidada, cardiolipina, beta2-gp1 e contra Hsp 60 e 65, estão presentes de forma mais freqüente na AR do que na população normal, mas necessitam ser ainda correlacionados com a aterosclerose. Em relação aos anticorpos contra cardiolipina na AR estudos têm mostrado prevalência de 15 a 20 por cento, sem associação com qualquer manifestação clínica da SAF e a associação com aterosclerose clínica não tem sido pesquisada (MERKEL, 1996; SCHERER, 2005). Estudos têm demonstrado a indução de anticorpos contra fosfolipídios com o uso de bloqueadores de TNF nos pacientes com AR (FERRARO-PEYRET, 2004). Na população normal, os níveis elevados de anti-LDLox têm

sido associados com aterosclerose e também com doenças reumáticas auto-imunes como em pacientes com LES e pacientes com AR (SALONEN, 1992; INOUE, 2002; BERGMARK, 1995; CVETKOVIC, 2002; GOMEZ-ZUMAQUERO, 2004). Estudo recente em AR demonstrou níveis elevados de auto-anticorpos IgG contra LDLox e correlação positiva com aterosclerose de carótidas, o que sugere ser a auto-imunidade presente na AR um determinante de risco para o processo de aterogênese (WADA, 2005).

2.5 - ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA DE CARÓTIDAS NA ARTRITE REUMATÓIDE

A aterosclerose acelerada coronariana e cérebro-vascular são responsáveis pela maior mortalidade dos pacientes com AR, o que determina uma ocorrência duas vezes maior de IAM, maior mortalidade cardiovascular e menor expectativa de vida (MYLLYKANGAS-LUOSUJARVI, 1995; WALLBERG-JONSSON, 1997; RIISE, 2001; FISCHER, 2004; TURESSON, 2004). Embora esteja definido que os pacientes com AR têm maior morbidade e mortalidade cardiovascular, um estudo analisou a distribuição dos fatores de riscos clássicos para aterosclerose na população com AR, e não encontrou maior prevalência de HAS, DM, sedentarismo, obesidade e história familiar de IAM em idade precoce. O único fator de risco mais freqüente nas mulheres com AR em comparação com as mulheres sem AR foi o hábito prévio de ingestão alcoólica e tabagismo (SOLOMON, 2004). Assim, os mecanismos pelos quais a AR leva a aterosclerose acelerada não estão completamente entendidos e continuam a ser profundamente estudados (DEL RINCON, 2005). Pesquisas

atuais estão tentando explicar qual é a relação da inflamação sistêmica e auto-imunidade presentes na AR com a aterosclerose e o aparecimento de eventos cardiovasculares clínicos futuros.

Estudos clínicos que detectam a presença de aterosclerose subclínica por meio de um instrumento não invasivo como o US de artérias carótidas têm se tornado promissores uma vez que eles auxiliam no diagnóstico precoce de aterosclerose difusa, como também permitem o controle precoce das variáveis clínicas que predizem aterosclerose e os eventos cardiovasculares clínicos futuros (BOTS, 1996; HEISS, 1991). Em um estudo prospectivo de seguimento de 6,2 anos em 4476 adultos não portadores de AR e que não apresentavam evidências de doença cardiovascular, a espessura da camada íntimo-medial (IMT) aumentada se relacionou com maior incidência de IAM e AVC (O'LEARY, 1999). Além da medida da IMT, a presença de placas de ateroma no US de carótidas tem sido considerada uma variável que indica um maior risco de doença cardiovascular no futuro, quando comparado com o aumento da IMT, e a presença de placas é considerada um fator de risco independente de IAM (CHAMBLESS, 1997; DEL SOL, 2001; ABU-SHAKRA, 2005). Muitos investigadores têm demonstrado que pacientes com AR apresentam maior espessura média da IMT das carótidas, quando comparado com a medida da IMT da população sem AR (PARK, 2002; KUMEDA, 2002; RODRIGUES, 2002; WADA, 2005). A ausência de critérios uniformes na avaliação da aterosclerose em pacientes com AR pode justificar os poucos estudos com resultados discordantes (DEL RINCON, 2003; ROMAN, 2006).

Um estudo demonstrou que o aumento da IMT em pacientes com AR se correlacionou com o tempo de doença e com parâmetros de inflamação, tais como os níveis de PCR dosados no momento do exame (DEL RINCON, 2003).

Roman e cols. (2006) demonstraram ser a prevalência de aterosclerose subclínica, definida pela presença de placas de ateroma identificadas no US das artérias carótidas, três vezes maior em um grupo de pacientes com AR, quando comparado com um grupo controle pareado por idade, sexo e etnia. A presença de placas neste estudo não se correlacionou com a presença de HAS, tabagismo, uso de glicocorticóides e níveis de HDL baixo, embora no grupo controle neste estudo havia mais pacientes tabagistas, mais pacientes com HAS e mais pacientes com menor HDL (ROMAN, 2006). Dois outros estudos também demonstraram maior espessura da IMT de carótidas em pacientes com AR, mas não encontraram a presença aumentada de placas de ateroma (WALLBERG-JONSSON, 2001; PARK, 2002). Alguns aspectos destes dois estudos necessitam ser considerados, um deles é que uma das pesquisas clínicas foi realizada em pacientes da Coreia, sugerindo aos autores que a baixa prevalência de placas encontradas estava de acordo com o fato de a aterosclerose e a doença cardíaca isquêmica serem menos frequentes naquela população (PARK, 2002). No outro estudo, realizado na Suécia, discute-se o fato de ter sido feita a leitura do US apenas da artéria carótida direita, e que, nos resultados os autores compilaram junto na análise estatística a presença da aterosclerose das artérias femorais (WALLBERG-JONSSON, 2001).

3 - JUSTIFICATIVA

3 - JUSTIFICATIVA:

A análise detalhada da pesquisa efetuada na literatura médica indexada no Medline mostrou que existem poucos estudos abordando auto-imunidade e sua relação com doença aterosclerótica nos pacientes com AR, justificando assim a realização desta pesquisa. Na AR, apesar da prevalência da aterosclerose ser aumentada, e desta ter grande importância, já que contribui de forma mais importante para uma maior mortalidade e morbidade, os estudos realizados não respondem questões importantes, tais como:

Estão auto-anticorpos contra fosfolipídios, beta2-glicoproteína 1, lipoproteína lípase e proteínas de choque térmico envolvidos na aterosclerose na AR?

Estes auto-anticorpos contra fosfolipídios beta2-glicoproteína 1, lipoproteína lípase e proteínas de choque térmico se correlacionam com outros fatores de risco para doença cardiovascular, como dislipidemia neste subgrupo da população?

Estão estes auto-anticorpos associados aos marcadores de atividade desta doença e associados com a presença de manifestações extra-articulares?

Poderão ser estes anticorpos considerados fatores de risco independentes para doença cardiovascular na população com AR?

A resposta a algumas destas questões justificou a realização do estudo em questão. As hipóteses neste estudo pesquisadas são de que a auto-imunidade presente nos pacientes com AR possa ser um fator

contribuinte para eventos clínicos cardiovasculares nesta população de pacientes. A definição da participação da auto-imunidade alterada na AR no processo de aterogênese poderá determinar a mudança de abordagem clínica, com o objetivo final de reduzir a incidência dos eventos cardiovasculares.

4 - OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

- Analisar a medida da espessura íntimo-medial da artéria carótida comum e a presença de placas de aterosclerose nos pacientes com AR e comparar com o grupo controle;
- Investigar a presença de anticorpos anti-beta2-gp1, anti-Hsp 60 e 65, anti-cardiolipina e anti-LPL em um grupo de pacientes com AR e comparar com um grupo controle de indivíduos saudáveis.
- Avaliar se há correlação entre a presença e os títulos dos anticorpos anti-beta2-gp1, anti-Hsp 60 e 65, anti-cardiolipina e anti-LPL com a presença de parâmetros clínicos de atividade da doença, com o perfil de lipoproteínas e com a prevalência de aterosclerose de carótida subclínica nos pacientes com AR;

5 – CASUÍSTICA E MÉTODOS

5 - CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 – DESENHO DO ESTUDO:

Trata-se de um estudo clínico caso-controle que analisou a presença de anticorpos anti-fosfolipídeos contra cardiolipina, beta2-gp1, proteínas de choque térmico Hsp 60 e 65, CCP e lipoproteína lipase em um grupo de pacientes de uma coorte com AR (grupo 1), comparado com um grupo controle de indivíduos saudáveis (grupo 2).

5.2 - CASUÍSTICA:

5.2.1 – GRUPO DE ESTUDO (GRUPO 1)

Critérios de inclusão:

O grupo 1 do estudo constou de 71 pacientes portadores de AR, diagnosticados de acordo com os critérios do ACR, revisados em 1987 (anexo 1) (ARNET, 1988). Os pacientes do grupo 1 foram incluídos a partir do atendimento seqüencial de cerca de 235 pacientes do ambulatório de AR do serviço de reumatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram incluídos no estudo os pacientes com idade entre 18 e 70 anos. Após assinarem consentimento livre e esclarecido foram examinados pelo pesquisador, preencheram questionário do protocolo de pesquisa, foram submetidos à realização de US das artérias carótidas e a coleta de amostra de sangue venoso periférico.

5.2.2 – GRUPO CONTROLE (GRUPO 2)

Critérios de inclusão:

O grupo controle incluiu 53 indivíduos voluntários saudáveis (grupo 2), funcionários do hospital ou oriundos da comunidade local, que após assinarem o consentimento livre e esclarecido, foram examinados pelo pesquisador, preencheram o questionário, foram submetidos à realização de US de artérias carótidas e a coleta de amostra de sangue venoso periférico para a análise laboratorial.

5.2.3 - CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO PARA OS GRUPOS 1 E 2:

Não foram incluídos no estudo os pacientes com AR e indivíduos saudáveis que fossem tabagistas nos últimos 5 anos e os portadores de doenças que interferem de forma significativa na severidade, precocidade ou frequência dos achados de aterosclerose, tais como os portadores de DM, HAS, insuficiência renal, hepatopatia crônica, síndrome nefrótica e hipotireoidismo. Os pacientes foram considerados portadores de DM quando tivessem pelo menos duas glicemias de jejum maior ou igual a 126mg/dl, ou estivessem em uso de hipoglicemiante oral e/ou insulina (REPORT OF THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS, 1997). A HAS foi definida como PA sistólica maior ou igual a 140mmHg e/ou PA diastólica maior ou igual a 90mmHg,

em pelo menos duas ocasiões (anotadas no prontuário ou aferidas no exame clínico durante o estudo), ou uso contínuo de anti-hipertensivos (THE SEVENTH REPORT OF THE JOINT NATIONAL COMMITTEE ON PREVENTION, DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE: THE JNC 7 REPORT, 2003). Insuficiência renal foi definida como creatinina maior ou igual a 3,0 mg/dl. Foram excluídas do estudo as pacientes gestantes, e todos aqueles que estivessem usando drogas hipolipemiantes do tipo estatinas ou fibratos nos últimos 3 meses e, ainda, aqueles que não cumpriram as etapas do estudo, incluindo a prévia assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, a resposta ao questionário, a realização do US das artérias carótidas e a coleta de sangue para a análise laboratorial.

5.3 - LOCAL DA PESQUISA:

Ambulatório de AR do Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina – Estado de Santa Catarina, Brasil.

5.4 - PROCEDIMENTOS:

Os pacientes selecionados do grupo 1 foram avaliados utilizando os seguintes instrumentos:

1 - Resposta ao questionário contendo as informações de dados sócio-demográficos, pesquisa de história de doença vascular secundário à aterosclerose em familiares (pais e irmãos) e manifestações clínicas da doença, incluindo a pesquisa de manifestações extra-articulares, contagem de articulações com dor e edema no exame físico (anexo 2). Foram considerados como tendo história familiar positiva aqueles pacientes com presença de história de IAM ou AVC em parentes de primeiro grau com idade menor de 55 anos (sexo masculino) ou abaixo de 65 anos (mulheres).

2 - Aplicação de questionário de análise de saúde funcional (HAQ) nos pacientes do grupo 1, já validado no nosso meio (FERRAZ, 1990) (anexo 3). O HAQ avalia oito áreas das funções diárias de um indivíduo. O paciente relata sua dificuldade em realizar cada atividade em uma escala de zero a três. O maior escore em cada uma das oito áreas é somado e a sua média aritmética resulta no escore total do HAQ. O escore varia de zero (excelente função) a três (muito ruim).

3 - Cálculo dos escores quantitativos de avaliação da atividade da doença DAS 28 e IDAS (anexo 4). O DAS 28 é um escore composto, cujo cálculo se baseia no número de articulações sensíveis (número total- 28 articulações) e no número de articulações com edema (número total-28 articulações), além da medida da VHS e da avaliação global da doença pelo paciente (PREVOO, 1995; VAN GESTEL, 1998). O IDAS é um escore composto de avaliação da atividade da AR que é realizada pela soma de 5 parâmetros, que inclui o número de articulações sensíveis, número de

articulações com edema (baseado também numa avaliação total de 28 articulações), avaliação global de atividade da doença pelo médico e pelo paciente (escala análoga visual de 0 a 10 cm) e PCR (mg/l) (SMOLEN, 2003). O IDAS tem sido correlacionado com o DAS 28 e com o critério de resposta clínica ao tratamento da ACR (FELSON, 1995; SMOLEN, 2003).

4 - O sangue de cada paciente foi colhido após jejum de 12 horas da noite da véspera, com punção venosa em frascos Vacuntainer. Os exames abaixo foram realizados no laboratório central do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, tanto nos pacientes com AR do grupo 1 e no grupo 2:

- Hemograma (automação)
- Contagem de plaquetas (automação)
- Uréia (Cinético)
- Creatinina (Cinético- Jaffe modificado)
- Glicose (hexoquinase)
- AST (aspartato amino transferase) (Enzimático UV)
- ALT(alanino amino transferase) (Enzimático UV)
- VHS (método de Westergreen)
- PCR– nefelometria (Behring 100)
- Fator reumatóide –nefelometria (Behring 100)
- Alfa1glicoproteína –nefelometria (Behring 100)
- Colest. -método enzimático colorimétrico (Dahde Behring)
- HDL colesterol – (método enzimático direto)
- LDL – calculado pela equação: $LDL = \text{colesterol total} - (TG/5 + HDL)$

(FRIEDWALD, 1972)

- TG. - método enzimático colorimétrico (Dade Behring)
- Fibrinogênio – método de Clauss (Dade Behring)
- TSH -quimioluminescência

Para a pesquisa dos anticorpos foram separadas amostras de soro obtidas após centrifugação, as quais foram armazenadas em frascos Ependorfer e mantidas em freezer a -70 graus Celsius até a realização dos testes.

Os exames abaixo listados foram realizados no Laboratório de Auto-imunidade (LIM-17) do Serviço de Reumatologia do HC-FMUSP:

- Anti-Cardiolipina IgG e IgM - O método utilizado para detectar anticorpos antifosfolípides, foi o ensaio imunoenzimático (ELISA). Para tanto, 50µl de cardiolipina (Sigma Chem. Co., EUA) na concentração de 50 µg/ml em etanol gelado foram aplicados aos 96 orifícios da placa de microtitulação de poliestireno (Interlab, Brasil). Após a evaporação do solvente, os orifícios foram bloqueados com 100 µl de PBS sem azida contendo 30% de soro fetal bovino inativado (PBS FCS) por uma hora. As placas foram, então, lavadas com PBS sem azida e os orifícios incubados com 50µl dos soros testes diluídos a 1:50 em PBS-FCS, em duplicatas, por uma hora e meia a temperatura ambiente. Após ciclo de três lavagens da placa, a incubação de 50µl/orifício do conjugado imunoenzimático anti IgG e anti IgM humana conjugada à fosfatase alcalina (Sigma Chem. Co., EUA), diluído 1/3500 e 1/1800, respectivamente, no mesmo diluente por uma hora à temperatura ambiente. A seguir, após ser repetido o ciclo de três lavagens, o ensaio era revelado com a adição de sal cromógeno (p.nitro fenil fostato,p-NPP). A leitura das densidades ópticas foi feita no leitor de ELISA

Multiskan MS (LabSystem) a 405 nm. Soros de indivíduos normais foram incluídos no ensaio, como controle da reação. Os níveis de anticorpos foram expressos em unidades de GPL e MPL determinados através da curva de calibração construída em cada ensaio com soros referência adquiridos comercialmente de acordo com as instruções do fabricante (GPL, MPL Lousville, USA). Foram considerados positivos valores acima de 20 U de GPL e MPL. A especificidade da reatividade IgM aCL foi checada realizando ELISA com placas sem sensibilização com antígeno, e os soros demonstrando ligação não específica à placa foram considerados aCL IgM negativos.

- Anti-LPL - Anticorpos anti-LPL do isotipo IgG foram detectados por ELISA. Para tanto, os orifícios de placas de poliestireno (Costar, EUA), foram sensibilizados com 50 µL de LPL purificado de leite bovino (Sigma Chem. Co., St Louis, MO, EUA) na concentração de 5 µg/mL em PBS (salina tamponada com sais de fosfato) por 16 horas e a 4°C. A seguir todas as etapas foram realizadas à temperatura ambiente utilizando o diluente soro bovino adulto a 15% em solução salina tamponada com sais de fosfato (ABS 15%). Os sítios livres dos orifícios foram bloqueados com 100 µL de ABS 15% por uma hora e posteriormente incubados com os soros testes e controles negativos na diluição de 1:100 no mesmo diluente por 1h30min. Os anticorpos da classe IgG ligados à LPL na placa foram detectados pela adição de conjugado imunoenzimático, fração IgG purificada do soro de cabra específica para IgG humana e conjugada à fosfatase alcalina (Sigma Chem. Co., St Louis, MO, EUA), na diluição previamente otimizada. A reação foi desenvolvida pela adição de *p*-nitrofenil fosfato sal dissódico

(Sigma Che. Co., St Louis, MO, EUA) diluído conforme instruções do fabricante. A intensidade da reação foi medida pelo desenvolvimento de cor, monitorado pela leitura da densidade óptica (DO) individual das diferentes amostras de soro no espectrofotômetro (Labsystems Multiskan MS, Helsinki, Finland) a 405nm. Os resultados foram considerados positivos quando os valores da OD da amostra foram ≥ 3 DP (desvios padrões) acima da média da DO de pelo menos 20 amostras de soros de controles saudáveis incluídas em cada ensaio. Para assegurar consistência entre os ensaios, as reações foram interrompidas quando a DO de uma amostra de soro controle positivo na diluição 1:100, que foi incluída sistematicamente em cada experimento, atingisse o valor de 1.0 após 30 minutos de desenvolvimento da reação.

Os exames abaixo foram realizados junto ao laboratório Inova Diagnostics, Inc., San Diego-Califórnia-USA:

- Anti-Hsp 60 e Anti-Hsp 65 - Os anticorpos contra Hsp 60 humana recombinante e contra Hsp 65 de *Mycobacterium bovis* (Inova Diagnostics, Inc., San Diego, EUA) foram detectados através de ELISA (Inova Quantalite Hsp 65 e Hsp 60 kits). Reagentes:

Placa de poliestireno coberta com Hsp 60 humana recombinante ou Hsp 65 de *Micobacterium bovis*;

Soros controles negativos para os referidos anticorpos (1,2 mL); Soros controles com positividade baixa para os referidos anticorpos (1,2 mL);

Soros controles com positividade alta para os anticorpos (1,2 mL)

Diluentes para o conjugado de peroxidase, solução Tris, solução Tween 20, absorventes e estabilizadores de proteínas (50 mL);

Solução para lavagem de placas (solução Tris, solução Tween 20), 25 mL;

Conjugado de cabra anti-IgG humana marcado com peroxidase (10 mL);

Cromogêneo TMB (10 mL);

Solução para a parada da reação (ácido sulfúrico 0,344M), 10 mL.

A reação obedeceu às seguintes etapas (PROHASZKA, 2001):

Antígenos (Hsp 60 humana recombinante ou Hsp 65 de *Mycobacterium bovis*) na concentração 1 µg/ml são acoplados aos orifícios de uma placa de ELISA de poliestireno. 100 µl de soros-controles pré-diluídos e soros dos pacientes a serem testados (diluição 1/100) são adicionados aos orifícios da placa, o que permite a ligação dos anticorpos ao antígeno. Incubação dos soros por 30 minutos à temperatura ambiente. Lavagem da placas com 200-300 µl de soluções padrões é efetuada para que se evite ligações inespecíficas de anticorpos. 100 µl de anti-IgG marcada com peroxidase é adicionada em cada orifício. Uma segunda incubação de 30 minutos é então procedida, objetivando-se a ligação da anti-IgG com anticorpos IgG de controles e dos soros dos pacientes. Após nova lavagem da placa, a atividade enzimática remanescente é medida acrescentando-se 100 µl do substrato cromogênico TMB. A placa é então incubada por 30 minutos no escuro, à temperatura ambiente. 100 µl da solução de parada da reação é então adicionada em cada orifício. A magnitude colorimétrica em soros controles e soros de pacientes é então avaliada no espectrofotômetro no espaço de uma hora. A detecção de anti-Hsp foi concebida em triplicata nos soros de casos e controles, considerando-se o valor médio de três determinações como a titulação correspondente a cada soro. A densidade óptica de cada orifício da placa é lida a 450 nm de absorbância. Foram consideradas positivas para

anticorpos IgG anti-Hsp 60 ou IgG anti-Hsp 65 as amostras que atingiram densidade óptica igual ou maior do que 0,5 (PROHASZKA,2001).

IgG anti-Hsp 60 ou 65 densidade óptica menor do que 0,5: teste negativo;

IgG anti-Hsp 60 ou 65 densidade óptica igual ou maior do que 0,5: teste positivo.

- Anti-beta2-gp1 - Os anticorpos IgG, IgM e IgA anti-beta1-GPL foram detectados através de ELISA (LEWIS,1998) de acordo com as seguintes etapas:

50 ul de beta2-gpl humana (Inova Diagnostics, Inc., San Diego, EUA) na concentração 10 ul/ml foram colocados em cada orifício da placa de poliestireno (Costar high binding 3590), e incubados durante a noite; Lavagem da placa com PBS; Bloqueio da placa com ovalbumina 2% em PBS por uma hora, à temperatura ambiente; 100 ul de soros diluídos a 1/100 em ovalbumina a 1% com 0,5% de Tween-20 foram incubados por 3 horas à temperatura ambiente; Conjugados de peroxidase e anticorpos de cabra anti-IgG, anti-IgM e anti-IgA humanas (100 ul) foram utilizados como segundos anticorpos, e o seu substrato cromogênico (TBM) permitiu a leitura da reação. A detecção de anticorpos anti-beta2-gpl foi concebida em triplicata nos soros de casos e controles, considerando-se o valor médio de três determinações como a titulação correspondente a cada soro. Leitura da placa através de fotômetro automático. Após cada período de incubação da reação, a placa de poliestireno foi lavada três vezes com PBS. Após a incubação com beta2-gpl, todos os passos se deram à temperatura ambiente. Em cada placa, 3 diluições de amostra positiva para anti-beta2-gpl foram colocadas. O grau de pureza da beta2-gpl foi analisado de acordo com descrição prévia

(GHARAVI, 1999). A especificidade do antígeno no ensaio enzimático foi determinada através do uso de anticorpo de coelho anti-beta2-gpl humana como controle positivo. Os resultados foram expressos em UI de acordo com os seguintes padrões:

IgG ou IgM anti-beta2-gpl até 20 UI: teste negativo;

IgG ou IgM anti-beta2-gpl acima de 20 UI: teste positivo;

IgA anti-beta2-gpl até 25 UI: teste negativo (arbitrariamente);

IgA anti-beta2-gpl acima de 25 UI: teste positivo (arbitrariamente).

- Anti-CCP- Anti CCP IgG :

Foi utilizado o ensaio “Quanta Lite™ CCP IgG ELISA” (Inova Diagnostics, CA, USA), de acordo com o protocolo do fabricante. A fim da obtenção dos resultados a curva de calibração foi realizada com cinco pontos e todos os controles estavam dentro dos valores esperados.

Quanta Lite™ CCP IgG ELISA é um ensaio ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) de segunda geração para detecção de anticorpos IgG anti-CCP (peptídeo citrulinado cíclico) no soro do paciente. O antígeno utilizado é um peptídeo citrulinado cíclico sintético (peptídeo citrulinado cíclico de segunda geração) que possui alta sensibilidade e especificidade na detecção de anticorpos anti-CCP em pacientes com AR. O antígeno é ligado a pequenos poços de uma superfície sólida. Cinco calibradores, um controle positivo alto, um controle positivo baixo, um controle negativo e o soro diluído de cada paciente são adicionados a cada poço da superfície sólida de modo separado, permitindo que qualquer anticorpo anti-CCP presente se ligue ao antígeno imobilizado. A amostra não ligada é lavada e um conjugado enzimático anti-imunoglobulina G humana é adicionado a cada

poço. Uma segunda incubação permite que o conjugado se ligue a qualquer IgG que ficou ligada ao poço. Após a lavagem do conjugado não ligado a IgG é determinada a atividade enzimática residual através da adição do substrato cromogênico e é feita a leitura da cor desenvolvida. O ensaio é lido espectrofotometricamente e a intensidade da cor das reações dos pacientes e controles é comparada à intensidade da cor das reações da curva de calibração construída a partir dos cinco calibradores. Os resultados são calculados e liberados em unidades, sendo negativo $< 20U$, positivo fraco de 20-39U, positivo moderado de 40-59 U e positivo forte $\geq 60U$

- US de artérias carótidas (medida da IMT e análise da presença de placas) – O US das artérias carótidas comuns foi realizada utilizando aparelho de Ultra-Som ATL HDI 3000 Philips Bothel, WA, USA, modo B de alta resolução com transdutor linear multifrequencial 5-12MHz. Todos os exames foram feitos por um único examinador, que não recebeu informações prévias referentes ao diagnóstico dos pacientes e aos resultados dos exames laboratoriais. Todos os pacientes foram examinados em posição supina, com o pescoço estendido e o queixo virado para o lado contra-lateral. As carótidas bilaterais foram examinadas no plano longitudinal e transversal. O cálculo do IMT médio em milímetros foi obtido a partir de 3 medidas obtidas de leituras realizadas 1cm abaixo da bifurcação da carótida comum, em uma região sem placa aterosclerótica (BARTH, 2002). Foi considerado IMT normal abaixo de 0,9mm e placa foi definido como maior que 1,5mm. (GONZALES-JUANATEY, 2003).

5.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA :

A análise estatística foi realizada com o programa estatístico SPSS *for Windows* versão 12.0 (Chicago, Illinois-USA). As variáveis quantitativas foram descritas por média, desvio padrão, erro padrão e intervalo de confiança de 95%, para indicar a variabilidade dos dados. As variáveis foram comparadas entre o grupo de estudo com AR (grupo 1) e o grupo controle (grupo 2) utilizando testes comparativos entre as variáveis quantitativas tipo t de Student e testes de comparação entre as variáveis qualitativas do tipo qui quadrado ou teste exato de Fisher. Análise de variância ANOVA foram utilizadas, assim como testes não paramétricos de Mann-Whitney. As correlações entre as variáveis foram feitas através do cálculo do coeficiente de correlação por testes de correlação de Pearson. O nível de significância estatístico adotado no estudo foi inferior a 0,05. Avaliação de risco de prevalência de placas de aterosclerose foi realizada por análise de regressão logística multivariável.

Realizamos cálculo de tamanho da amostra para estimar o número de pacientes do estudo com AR e o número de indivíduos controles, com fins de alcançar os objetivos do estudo . O cálculo objetivou termos um poder de 80% e um desvio padrão (pool) de 0,4 . $\alpha=0,05$.

5.6 - ASPECTOS ÉTICOS:

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina sob número 250/2003, apresentado em 24 de novembro de 2003 e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq. do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob número 318-06. Todos os pacientes submetidos à pesquisa assinaram previamente termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 7) .

Os resultados das análises laboratoriais e das alterações do US das artérias carótidas que tivessem relevância clínica foram informados aos pacientes dos grupos estudados e as alterações clínico- laboratoriais tratadas de acordo com a análise do seu médico assistente.

6 - RESULTADOS

6 - RESULTADOS:

A análise comparativa das características demográficas e dos fatores de risco para doença aterosclerótica entre os 71 pacientes com AR e os 53 indivíduos do grupo controle saudável não encontrou diferenças estatisticamente significantes, com exceção dos níveis da VHS ($p<0,001$), PCR ($p<0,001$) e fibrinogênio ($p<0,001$), conforme demonstram os resultados descritos na tabela 1. A idade média dos pacientes com AR foi 48,9 anos, com desvio padrão de 12,3 anos, similar a idade do grupo controle. Em relação ao sexo e IMC, a maioria dos pacientes com AR pertenciam ao sexo feminino (90,1%) e tinham IMC próximo a 25, o que não diferiu do grupo controle ($p=0,69$). Na tabela 1 podemos também ver que os níveis de lipoproteínas foram semelhantes no grupo de pacientes com AR, quando comparados com o grupo controle saudável e apenas os níveis de HDL colesterol foram pouco mais elevados no grupo com AR ($60,5\pm14,4\text{mg/dl}$), do que nos indivíduos do grupo controle ($54,5\pm11,5$), com significância estatística ($p=0,05$).

Tabela 1: Características demográficas e laboratoriais dos pacientes com artrite reumatóide e indivíduos do grupo controle:

	AR (n=71)	Controle (n=53)	P
Idade (anos) $\pm$ DP	48,9 $\pm$ 12,3	45,4 $\pm$ 9,4	0,20
Sexo feminino *	64 (90,1%)	46 (86,1%)	0,56
IMC (Kg/m ²) $\pm$ DP	25,7 $\pm$ 4,6	25,6 $\pm$ 4,6	0,69
Hist. Familiar*	36 (51%)	27 (49%)	0,98
Colest. (mg/dl) $\pm$ DP	197,6 $\pm$ 38,4	203,8 $\pm$ 37,5	0,63
HDL (mg/dl) $\pm$ DP	60,5 $\pm$ 14,4	54,5 $\pm$ 11,5	0,05
LDL (mg/dl) $\pm$ DP	114,2 $\pm$ 31,7	125,5 $\pm$ 33,2	0,13
Colest/HDL $\pm$ DP	3,07 $\pm$ 0,92	3,48 $\pm$ 1,03	0,02
TG (mg/dl)	113,5 $\pm$ 48,9	117,3 $\pm$ 58,0	0,69
VHS (mm 1 ^a / hora)	32,66 $\pm$ 22,69	16,12 $\pm$ 10,77	<0,001
PCR (mg/l)	18,18 $\pm$ 23,74	4,03 $\pm$ 4,29	<0,001
Fibrinogênio	366,20 $\pm$ 120,28	289,32 $\pm$ 69,95	<0,001

Variáveis contínuas são apresentadas como médias e desvio padrão; *frequência (percentual); DP-desvio padrão; IMC- índice de massa corporal; Hist. Familiar- história familiar de IAM, AVC; HDL= lipoproteína de alta densidade; Colest. = colesterol total; TG.- triglicerídeos; VHS- velocidade de hemossedimentação; PCR- proteína C reativa. Teste t de student para variáveis contínuas e qui-quadrado para variáveis categóricas.

Em relação a classificação funcional (anexo 5), a tabela 2 mostra que a maioria dos pacientes com AR pertenciam a Classe II (52,1%) ou III (29,6%).

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes com artrite reumatóide de acordo com as classes funcionais:

Classe funcional	Número	Percentagem
Classe I	12	16,9
Classe II	37	52,1
Classe III	21	29,6
Classe IV	1	1,4
Total	71	100

A tabela 3 nos mostra as características clínicas dos pacientes com AR. O tempo médio de doença foi de $9,02 \pm 0,73$ anos, a média dos parâmetros laboratoriais e escores clínicos de atividade da doença foram elevados, com PCR de $18,18 \pm 23,73$ mg/l, DAS 28 de $4,58 \pm 1,04$ e IDAS de $46,66 \pm 28,74$. Nenhum dos pacientes com AR estava em remissão da doença, de acordo com os critérios da ACR de Pinals e cols. (1981). Dos 71 pacientes com AR, 59 (83%) apresentavam FR positivo e 56 (78,9%) tinham anti-CCP positivo.

Tabela 3 – Parâmetros clínicos dos pacientes com artrite reumatóide:

	N	Mínimo	Máximo	Erro Padrão	Média (DP)
Duração doença	71	1	30	0,73	9,02 ($\pm 6,19$)
Art. edema (n=28)	71	0	20	0,57	8,44 ($\pm 4,79$)
Art. dor (n=28)	71	0	20	0,59	7,61 ($\pm 4,50$)
Aval. Paciente*	71	1	10	0,26	5,88 ($\pm 2,18$)
Aval. Médica*	71	1	9	0,21	6,70 ($\pm 1,75$)
Aval. Dor (pcte)*	71	1	10	0,25	5,94 ($\pm 2,11$)
DAS 28	71	2,00	6,83	0,12	4,58 ($\pm 1,04$)
IDAS	71	7,00	143,00	3,41	46,66 ($\pm 28,74$)
HAQ	71	0,00	2,63	0,08	1,29 ($\pm 0,70$)
VHS (mm 1ª hora)	71	1,0	131,00	2,69	32,66 ($\pm 22,68$)
PCR (mg/l)	71	1,60	114,00	2,82	18,18 ($\pm 23,73$)
$\alpha 1$ glicoprot.	61	33,40	264,00	6,05	108,97 ($\pm 47,22$)
FR positivo	59 (83,00%)	20,0	3290,00	65,90	291,98 ($\pm 551,39$)
Anti-CCP	56 (78,90%)	20	940,00	17,78	176,30 ($\pm 149,78$)
Fibrinogênio	64	178	691	15,04	366,20 ($\pm 120,28$)

Aval.-avaliação por escala análoga visual de 0-10 (0- ótimo, 10- pior possível; N-número; DAS-escore de atividade da doença; IDAS- índice de atividade da doença simplificado ; PCR-proteína C reativa; VHS-velocidade de hemossedimentação; FR-fator reumatóide; Anti-CCP-anticorpo anti-peptídeo citrulinado cíclico; HAQ-Health Assessment Questionnaire; $\alpha 1$ glicop.-alfa1glicoproteína; n=28-corresponde ao número total de articulações analisadas;

Em relação ao tratamento, a tabela 4 nos mostra que 58 pacientes (81,6%) estavam em uso de glicocorticóides no momento do estudo, com dose média de prednisona de $7,64 \pm 3,45$ mg e quanto ao uso dos DMARDS, o metotrexate foi o mais utilizado, estando em uso por 58 pacientes (81,6%).

Tabela 4 – Características do tratamento dos pacientes com artrite reumatóide:

	N	Mínimo	Máximo	Erro Padrão	Média (DP)
Prednisona	58 (81,60%)	2,50	15,00	0,44	7,64 ($\pm 3,45$)
Metotrexate	56 (78,90%)	7,50	25,00	0,75	19,24 ($\pm 5,60$)
Antimalárico	9 (12,70%)	ND	ND	ND	ND
Leflunomida	10 (14,10%)	10	20	ND	12,4
Ciclosporina	1 (1,41%)	200	200	ND	200
Infliximabe**	2 (2,82%)	200	200	ND	200

N=número e percentual; ND=não disponível ** Infliximabe-intervalo de aplicação a cada 8 semanas

A tabela 5 demonstra que os pacientes com AR que estavam em uso de antimaláricos apresentavam níveis de colesterol de $186,44 \pm 33,87$ mg/dl, LDL de $94,58 \pm 31,13$ mg/dl e triglicerídeos de $83,78 \pm 32,70$, os quais eram significativamente menores que os níveis de lipoproteínas dos pacientes com AR sem antimalárico, com colesterol de $201,79 \pm 37,38$ ($p=0,01$), LDL de $117,00 \pm 31,08$ ($p<0,05$) e triglicerídeos de $117,77 \pm 49,60$ ($p=0,05$).

Tabela 5 -Níveis de lipoproteínas em pacientes com artrite reumatóide de acordo com o uso de antimaláricos:

Variáveis	Uso de antimalárico	Não uso de Antimalárico	P
Colesterol	168,44 ($\pm 33,87$)	201,79 ($\pm 37,38$)	0,01
HDL	56,88 ($\pm 8,42$)	61,10 ($\pm 15,06$)	0,42
LDL	94,58 ($\pm 31,13$)	117,00 ($\pm 31,08$)	<0,05
TG	83,78 ($\pm 32,70$)	117,77 ($\pm 49,60$)	0,05
CT/HDL	2,55 ($\pm 0,73$)	3,15 ($\pm 0,92$)	0,07

Resultados- média e desvio padrão; HDL-lipoproteína de alta densidade; LDL-lipoproteína de baixa densidade; TG- triglicerídeos; CT-colesterol total

Teste t Student para comparação entre os grupos com e sem uso de antimalárico

A tabela 6 nos mostra a diferença da prevalência de placas de aterosclerose nas carótidas, as quais foram significativamente mais frequentes nos pacientes com AR em relação ao grupo controle, presentes em 14,1% dos pacientes do grupo com AR versus 1,9% no grupo controle ($p < 0,05$). A média da espessura da camada íntimo-medial das artérias foi maior nos pacientes com AR ($0,72 \pm 0,17$) versus o grupo controle ($0,67 \pm 0,15$), porém sem significância estatística ($p = 0,07$).

Tabela 6 - Presença de placas de aterosclerose e medida da IMT nos pacientes com AR e no grupo controle :

Variável		Grupo I (AR) (N=71)	Grupo II (controle) (N=53)	P
IMT	carótida- média (mm)±DP	0,72 (±0,17)	0,67 (±0,15)	0,07
Placas	carótidas (N-%)	10 (14,1%)	1 (1,9%)	0,02

IMT-espessura íntimo-medial; DP-desvio padrão ; N-número
 Teste t Student para comparação das médias do IMT e qui quadrado para placas.

A tabela 7 nos mostra que a medida da IMT da carótida comum não se correlacionou com o número de articulações dolorosas, ou com o número de articulações com edema nos pacientes com AR, assim como com os escores clínicos de atividade da AR, como o DAS 28 (p=0,13), IDAS (p=0,77) e com a PCR (p=0,75). Da mesma forma vemos na tabela 7 que a medida da IMT não se correlacionou com o questionário HAQ, uma medida de avaliação de saúde funcional (p=0,89). A média da IMT das carótidas também não se correlacionou com a dose de glicocorticoide utilizada no momento do estudo (p=0,73), ou com a dose de metotrexate (p=0,12).

Tabela 7 - Correlações entre a medida da IMT da carótida comum e os parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes com artrite reumatóide:

	Coefficiente de correlação	P
Tempo doença	0,13	0,27
IMC	0,19	0,10
Art. c/ edema	0,18	0,14
Art. c/ dor	-0,21	0,08
Aval. Paciente	0,00	1,00
Aval. Médica	-0,01	0,94
Dor	0,02	0,85
DAS 28	-0,18	0,13
IDAS	-0,03	0,77
HAQ	0,02	0,89
VHS	-0,03	0,80
PCR	0,04	0,75
α 1 glicoproteína	0,05	0,70
FR positivo	-0,04	0,72
Anti-CCP	-0,069	0,57
Fibrinogênio	0,01	0,94
Prednisona	-0,04	0,73
Metotrexate	-0,21	0,12

IMC-índice de massa corporal; Art.-articulação; Aval.-avaliação; DAS 28-escore de atividade da doença (28 articulações analisadas); IDAS-índice de atividade da doença simplificado; HAQ=Health Assessment Questionnaire; VHS-velocidade de hemossedimentação; PCR-proteína C reativa; FR- fator reumatóide; Anti-CCP- anticorpo contra peptídeo citrulinado cíclico

A tabela 8 nos lista a diferença da medida da IMT dos pacientes com AR, em relação a presença ou ausência de nódulos reumatóides. Podemos ver que os 9 pacientes (12,68%) com nódulos reumatóides apresentavam a medida da IMT de $0,65 \pm 0,15$ mm versus $0,73 \pm 0,17$ mm no grupo de pacientes com AR sem nódulos, caracterizando ausência de diferença significativa ($p=0,13$).

Tabela 8 – Prevalência de placas de aterosclerose e medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide , com e sem nódulos reumatóides:

Variável		AR-NÓDULOS PRESENTES (N=9)	AR-NÓDULOS AUSENTES (N=62)	P
IMT	carótida- média (mm)±DP	0, 65(±0,17)	0,73 (±0,17)	0,13
Placas	carótidas (N-%)	0 (0 %)	10 (14,1%)	0,34

AR- artrite reumatóide; IMT-espessura íntimo-medial; DP-desvio padrão ; N-número
 Teste t Student para comparação das médias do IMT
 Qui quadrado de Fisher-associação dos nódulos com placas

A tabela 9 mostra que nos pacientes com AR a medida da IMT se correlacionou de forma significativa com a idade do paciente ($p<0.001$), com os níveis de colesterol total ($p<0,001$), com os níveis de LDL colesterol ($p<0,001$) e com a relação colesterol /HDL ($p=0,04$). Assim como visto nos pacientes com AR, a tabela 9 nos mostra o resultado dos testes de correlação de Pearson nos indivíduos do grupo controle, onde ela mostra correlação positiva da medida da IMT com a idade ($p<0,001$), com os níveis de colesterol total ($p<0,001$) e LDL ($p=0,01$). A tabela 9 também nos mostra que nos indivíduos saudáveis do grupo controle, os níveis de PCR e os níveis de fibrinogênio não se correlacionaram com a medida da IMT ($p=0,46$ e $p=0,11$, respectivamente).

Tabela 9- Correlação da idade e dos níveis de lipoproteínas com a medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide e nos indivíduos do grupo controle:

Variáveis	IMT (Grupo I)	IMT (Grupo II)
Idade	0,59 (<0,001)	0,58 (<0,001)
Colesterol	0,49 (< 0,001)	0,38 (0,01)
LDL	0,46 (< 0,001)	0,34 (0,01)
HDL	0,21 (0,07)	0,22 (0,11)
Triglicerídeos	0,12 (0,33)	0,01 (0,98)
CT/HDL	0,24 (0,04)	0,07 (0,59)
PCR	0,04 (0,75)	-0,13 (0,46)
Fibrinogênio	0,01 (0,94)	-0,30 (0,11)

Resultados são expressos como coeficiente r (valor p); IMT-espessura íntimo-medial; LDL-lipoproteína de baixa densidade; HDL-lipoproteína de alta densidade; CT-colesterol total; PCR- proteína C reativa
Testes de correlação de Pearson

A tabela 10 nos mostra que as placas de aterosclerose que foram mais prevalentes nos pacientes com AR se associaram com a idade ($p=0,001$) e com a medida do IMT ($p<0,001$). Embora a presença das placas foi mais freqüente nos pacientes com maior tempo de diagnóstico da AR, a associação não alcançou significância estatística ($p=0,06$). Da mesma forma que não encontramos associação da medida da IMT com os parâmetros de atividade da AR, a tabela 10 mostra que as placas nas carótidas também não se associaram com atividade da AR, exemplificado pela ausência de associação com a VHS ($p=0,20$), PCR ($p=0,17$), DAS 28 ($p=0,27$) e HAQ ($p=0,17$).

Tabela 10 – Associação entre a presença de placas de aterosclerose e parâmetros clínicos e laboratoriais nos pacientes com artrite reumatóide:

Variáveis	Placas presentes	Placas ausentes	P
Idade	60,20 ($\pm 8,78$)	47,08 ($\pm 11,86$)	0,001
Tempo de doença	12,4 ($\pm 6,22$)	8,47 ($\pm 6,05$)	0,06
Nº artic. dolorosas	6,70 ($\pm 3,43$)	7,75 ($\pm 5,21$)	0,54
Nº art. edema	7,60 ($\pm 3,68$)	8,57 ($\pm 4,96$)	0,55
Aval. Dor	5,60 ($\pm 1,64$)	6,00 ($\pm 2,18$)	0,58
Aval. Paciente	5,70 ($\pm 1,76$)	5,91 ($\pm 2,25$)	0,78
Aval. Médica	6,90 ($\pm 1,45$)	6,66 ($\pm 1,81$)	0,69
VHS	24,1 ($\pm 14,60$)	34,07 ($\pm 23,54$)	0,20
PCR	8,64 ($\pm 8,27$)	19,75 ($\pm 25,08$)	0,17
Fator reumatóide	195,10 ($\pm 281,71$)	308,13 ($\pm 584,46$)	0,55
Fibrinogênio	326,04 ($\pm 113,56$)	371,94 ($\pm 121,08$)	0,32
$\alpha 1$ glicoprot.	84,05 ($\pm 26,36$)	112,73 ($\pm 48,68$)	0,11
DAS28	4,24 ($\pm 1,02$)	4,64 ($\pm 1,05$)	0,27
HAQ	1,58 ($\pm 0,52$)	1,24 ($\pm 0,72$)	0,17
Prednisona	7,25 ($\pm 2,75$)	7,72 ($\pm 3,59$)	0,70
Metotrexate	20,00 ($\pm 5,00$)	19,09 ($\pm 5,74$)	0,66
IMT (mm)	0,91 ($\pm 0,18$)	0,69 ($\pm 0,15$)	<0,001

Nº-número; IMC-índice de massa corporal; aval.-avaliação; DAS 28-escore de atividade da doença (28 articulações analisadas); índice de atividade da doença; HAQ=Health Assessment Questionnaire; VHS-velocidade de hemossedimentação; PCR- proteína c reativa $\alpha 1$ glicop.-alfa 1 glicoproteína

Na tabela 11 podemos ver que os níveis de lipoproteínas influenciaram na presença de placas, onde se encontrou associação positiva da presença de placas com os níveis de colesterol ($p=0,001$), LDL ($p=0,003$), triglicerídeos ($p=0,04$).

Tabela 11 - Níveis de lipoproteínas e associação com a presença de placas nos pacientes com artrite reumatóide :

Variáveis	Placas presentes	Placas ausentes	P
Colest.	234,30 ($\pm$ 31,20)	191,54 ($\pm$ 36,21)	0,001
HDL	63,70 ($\pm$ 9,01)	60,04 ($\pm$ 15,10)	0,46
LDL	141,60 ($\pm$ 27,32)	109,66 ($\pm$ 30,32)	0,003
TG	143,10 ($\pm$ 46,72)	108,61 ($\pm$ 47,92)	0,04
Colest/HDL	3,45 ($\pm$ 0,49)	3,01 ($\pm$ 0,96)	0,17

Resultados –média e desvio padrão; Colest.- colesterol total; HDL-lipoproteína de alta densidade; LDL-lipoproteína de baixa densidade; TG.- triglicerídeos
Teste t Student;

A tabela 12 nos mostra que a presença de placas de aterosclerose foi mais freqüente nos pacientes com AR acima de 50 anos (26,5%), quando comparado com aqueles abaixo de 50 anos (2,7%), alcançando significância estatística ($p=0,004$).

Tabela 12- Presença de placas nas carótidas em pacientes portadores de artrite reumatóide com faixa etária abaixo e acima dos 50 anos:

		PLACA		
		AUSENTE	PRESENTE	TOTAL
		N(%)	N(%)	N(%)
Idade	Menor que 50	36 (97,3)	1 (2,7)	37 (100,0)
	Maior que 50	25 (73,5)	9 (26,5)	34 (100,0)
Total		61 (85,9)	10 (14,1)	71 (100,0)

$P=0,004$

N-número; Pearson qui quadrado

Da mesma forma que a presença de placas foi mais freqüente nos pacientes com AR acima de 50 anos, a medida da IMT nos pacientes com AR também foi maior

nos pacientes acima de 50 anos ($0,80 \pm 0,18 \text{ mm}$), quando comparado com os paciente mais jovens ($0,65 \pm 0,12 \text{ mm}$), com $p < 0,001$ (tabela 13).

Tabela 13 - Medida da IMT da carótida em pacientes portadores de artrite reumatóide, com faixa etária abaixo e acima dos 50 anos:

Idade	IMT (grupo 1)-AR			
	N	Média –DP	EP	IC-95% ($\bar{x} \pm 2EP$)
< 50 anos	37	0,65 mm ($\pm 0,12$)	0,19	0,61-0,69
> 50 anos	34	0,80 mm ($\pm 0,18$)	0,31	0,73-0,86
Total	71	0,72 mm ($\pm 0,17$)	0,20	0,68-0,76

P<0,001; N-número; DP-desvio padrão; IC-intervalo de confiança; EP-erro padrão
Teste t Student

Em relação ao tempo de doença, a tabela 14 mostra que os pacientes com AR com diagnóstico da doença estabelecido há menos de 3 anos apresentavam menor frequência de placas, mas quando comparado com aqueles com mais de 10 anos, a diferença não foi significativa (7,1% vs 25,9% $p=0,15$).

Tabela 14 - Presença de placas de aterosclerose nos pacientes com artrite reumatóide de acordo com o tempo de doença :

		PLACA		
		AUSENTE	PRESENTE	TOTAL
		N (%)	N (%)	N (%)
Tempo	Até 3 anos	13 (92,9)	1 (7,1)	14 (100,0)
	De 3 a 10 anos	28 (93,3)	2 (6,7)	30 (100,0)
	Acima de 10 anos	20 (74,1)	7 (25,9)	27 (100,0)
Total		61 (85,9)	10 (14,1)	71 (100,0)

P=0,08-entre os grupos; P=0,15-quando compara os pacientes com tempo menor que 3 anos, com aqueles acima de 10 anos; até 3 anos-0 a 3 anos (inclusive); acima de 10anos-10 ou mais anos, inclusive. N- número. Resultados apresentados como número e percentual.

A tabela 15 nos mostra que a medida da IMT também não foi diferente em pacientes com AR de início há 3 anos, quando comparado com pacientes com 3 a 10 anos de diagnóstico e com mais de 10 anos (p=0,55).

Tabela 15 -Medida da IMT das carótidas e sua associação com o tempo de doença nos pacientes com artrite reumatóide:

Tempo doença	Nº	IMT-mm(±DP)	Erro padrão (EP)	IC 95% ($\bar{x} \pm 2EP$)
< 3 anos	14	0,68 (±0,15)	0,04	0,59-0,76
3 a 10anos	30	0,72 (±0,17)	0,03	0,66-0,79
>10 anos	27	0,74 (±0,17)	0,03	0,67-0,80
Total	71	0,72 (±0,17)	0,02	0,68-0,76

Nº-número; IMT-espessura íntimo-medial; DP-desvio padrão; EP-erro padrão; IC-índice de confiança; P=0,55-diferença entre os grupos

P=0,28-quando compara apenas os pacientes com AR de início há menos de 3 anos com aqueles com mais de 10 ano

A tabela 16 nos lista a frequência e o percentual de positividade dos anticorpos nos pacientes com AR e nos indivíduos do grupo controle. Anticorpos contra

cardiolipina IgG e IgM estiveram presentes em 5,6% e 7% dos pacientes com AR, anti-Hsp 60 IgG em 14,1%, anti-Hsp 65 IgG em 36,6%, anti-beta2-gp1 IgG em apenas 1,4%, anti-beta2-gp1 IgM em 4,2% , anti-beta-gp1 IgA em 43,7%, anti-LPL IgG em 2,8% e anti-CCP em 79%. Com exceção do anti-CCP , todos os outros anticorpos não tiveram frequência significativamente maior nos pacientes com AR, quando comparado com o grupo controle.

Tabela 16 – Presença de auto-anticorpos contra cardiolipina (IgG, IgM), Hsp 60, Hsp 65, beta2-glicoproteína (IgG, IgM e IgA), anti-CCP 2 e anti-LPL nos pacientes com artrite reumatóide e nos indivíduos do grupo controle:

Variáveis	Grupo I (AR) N=71	Grupo II (controle) N=53	P
IgG aCL	4 (5,6%)	2 (3,8%)	0,63
IgM aCL	5 (7,0%)	2 (3,8%)	0,44
IgG anti-Hsp 60	10 (14,1 %)	4 (7,5%)	0,26
IgG anti-Hsp 65	26 (36,6%)	9 (17%)	0,16
IgG anti-beta2-gpl	1 (1,4%)	1 (1,9%)	0,83
IgM anti-beta2-gpl	3 (4,2%)	1 (1,9%)	0,47
IgA anti-beta2-gpl	31 (43,7 %)	16 (30,2 %)	0,13
Anti-LPL	2 (2,8%)	1,0 (1,9%)	0,74
Anti-CCP	56 (79%)	1 (2%)	< 0,001

N-número; Ig-imunoglobulina; aCL-anti-cardiolipina; Hsp-proteína de choque térmico; gp1-glicoproteína 1; LPL-lipoproteína lípase; CCP- peptídeo citrulinado cíclico
Teste qui quadrado

Não encontramos associação entre a presença dos anticorpos em AR com as variáveis clínicas da doença, com exceção do anti-beta2-gp1 IgA, onde o teste ANOVA demonstrou associação estatisticamente significativa com a VHS (p=0,02), fibrinogênio (p=0,007) e alfa 1 glicoproteína (p=0,04).

Embora a positividade dos anticorpos contra beta2-gp1 e Hsp60 e 65 não foram diferentes nos pacientes com AR, quando comparadas com o grupo controle, a tabela 17 nos mostra a diferença dos títulos dos respectivos anticorpos. Os títulos destes anticorpos foram geralmente mais elevados nos pacientes com AR, sendo que as diferenças dos títulos de anti-beta2-gp1 IgM e anti-Hsp65 alcançaram significância estatística ($p=0,03$ e $p=0,007$).

Tabela 17 - Títulos dos anticorpos contra cardiolipina IgG e IgM, beta2-gp1 IgG, beta2-gp1 IgM, beta2-gp1 IgA, Hsp 60 e Hsp 65 nos pacientes com artrite reumatóide (grupo 1) e nos indivíduos do grupo controle:

	AR	Controle	P
IgG aCL	7,96 ($\pm 5,92$)	7,32 ($\pm 2,89$)	0,47
IgM aCL	11,73($\pm 20,74$)	8,51($\pm 5,57$)	0,27
IgG anti-beta2-gp1	4,53 ($\pm 7,05$)	3,72 ($\pm 3,78$)	0,44
IgM anti-beta2-gp1	7,00 ($\pm 7,43$)	5,00 ($\pm 4,26$)	0,03
IgA anti-beta2-gp1	38,03 ($\pm 50,58$)	21,43 ($\pm 21,32$)	0,08
Anti-Hsp 60	8,07 ($\pm 8,73$)	8,17 ($\pm 10,59$)	0,95
Anti-Hsp 65	24,17 ($\pm 27,67$)	12,83 ($\pm 12,76$)	0,007

AR- artrite reumatóide; aCL-anti-cardiolipina; gp1- glicoproteína 1; Hsp-proteína de choque térmico;
teste t student

A tabela 18 lista a medida da IMT das carótidas em relação a positividade ou ausência dos anticorpos nos pacientes com AR. Podemos constatar que não houve diferença da IMT em relação a presença ou ausência da aCL IgG ($p=0,24$), aCL IgM ($p=0,33$), anti-Hsp 60 ($p=0,27$), anti-Hsp 65 ($p=0,77$), anti-beta2-gp1 IgA ($p=0,72$) e anti-CCP2 ($p=0,36$). A baixa prevalência do anti-beta2-IgG e IgM e do anti-LPL não determinou diferença da IMT em relação ao grupo de pacientes com

AR sem estes anticorpos, porém o valor da significância estatística não foi considerado, face ao pequeno número de pacientes com AR com a presença do anticorpo positivo, definido pelo título acima do limite de corte de normalidade estabelecido pelo método.

Tabela 18 – Medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide em relação a presença dos auto-anticorpos:

Variáveis	IMT (mm)	IMT(mm)	p
	Anticorpo presente	Anticorpo ausente	
IgG aCL	0,62 ($\pm 0,64$)	0,72 ($\pm 0,17$)	0,24
IgM aCL	0,65 ($\pm 0,79$)	0,73 ($\pm 0,17$)	0,33
IgG anti-Hsp 60	0,78 ($\pm 0,20$)	0,71 ($\pm 0,16$)	0,27
IgG anti-Hsp 65	0,73 ($\pm 0,16$)	0,72 ($\pm 0,17$)	0,77
IgG anti-beta2-gpl	0,50 (-)	0,72 ($\pm 0,17$)	nd
IgM anti-beta2-gpl	0,63 ($\pm 0,76$)	0,72 ($\pm 0,17$)	nd
IgA anti-beta2-gpl	0,73 ($\pm 0,16$)	0,71 ($\pm 0,17$)	0,72
Anti-LPL	0,95 ($\pm 0,35$)	0,71 ($\pm 0,16$)	nd
Anti-CCP	0,71 ($\pm 0,16$)	0,76 ($\pm 0,20$)	0,36

IMT-espessura íntimo-medial; mm-milímetros; Ig-imunoglobulina; aCL-anti-cardiolipina; Hsp-proteína de choque térmico; gp1-glicoproteína 1; LPL-lipoproteína lipase; CCP- peptídeo citrulinado cíclico; nd- não disponível;

Considerando os maiores níveis dos anticorpos em pacientes com AR, a tabela 19 nos mostra a pesquisa da correlação dos títulos aumentados dos anticorpos em AR com a espessura do IMT, tanto nos pacientes com AR, como nos indivíduos do grupo controle. A tabela demonstra que não houve correlação dos títulos dos anticorpos anti-cardiolipina, anti-Hsp 60, anti-Hsp 65, anti-beta2-gp1 e anti-CCP com a medida da IMT, nos dois grupos estudados ($p > 0,05$).

Tabela 19- Correlações dos títulos dos anticorpos com a medida da IMT nos pacientes com artrite reumatóide e no grupo controle:

Variáveis	IMT	IMT
	AR (grupo 1)	Controle (grupo2)
IgG aCL	-0,09 (0,47)	0,02 (0,88)
IgM aCL	-0,15 (0,21)	-0,11(0,43)
IgG anti-Hsp 60	0,10 (0,42)	0,04 (0,78)
IgG anti-Hsp 65	0,05 (0,69)	0,07 (0,61)
IgG anti-beta2-gpl	-0,07 (0,57)	0,03 (0,83)
IgM anti-beta2-gpl	-0,05 (0,69)	0,07 (0,62)
IgA anti-beta2-gpl	0,03 (0,79)	0,24 (0,08)
Anti-CCP	-0,07 (0,57)	-0,21 (0,12)

IMT-espessura íntimo-medial; AR-artrite reumatóide;; Ig-imunoglobulina; aCL-anti-cardiolipina; Hsp-proteína de choque térmico; gp1-glicoproteína 1; CCP- peptídeo citrulinado cíclico

Na tabela número 20 está listada a pesquisa da associação entre a positividade dos anticorpos nos pacientes com AR e a presença de placas de aterosclerose. A associação entre a positividade do anticorpo anti-beta2-gp1 IgG e placas foi negativa ($p=0,68$), da mesma forma ocorreu associação negativa do anti-beta2-gp1 IgM e placas ($p=0,47$), anti-beta2-gp1 IgA ($p=0,80$), anti-cardiolipina IgG ($p=0,40$), anti-cardiolipina IgM ($p=0,40$), anti-Hsp 60 ($p=0,17$), anti-Hsp 65 ($p=0,64$) e anti-CCP ($p=0,11$).

Tabela 20- Associação entre a positividade dos anticorpos nos pacientes com artrite reumatóide e a presença de placas de aterosclerose:

Anticorpos	N (%)	P
IgG aCL	4 (5,6%)	0,40
IgM aCL	5 (7,0%)	0,35
IgG anti-beta2-gpl	1 (1,4%)	0,68
IgM anti-beta2-gpl	3 (4,2%)	0,47
IgA anti-beta2-gpl	31 (43,7%)	0,80
Anti-Hsp 60 IgG	10 (14,1%)	0,17
Anti-Hsp 65 IgG	26 (36,6%)	0,64
Anti-CCP	56 (79%)	0,11

N(%)- número de casos e percentual de positividade dos anticorpos; Ig-imunoglobulina; aCL-anti-cardiolipina; Hsp-proteína de choque térmico; gp1-glicoproteína 1; CCP- peptídeo citrulinado cíclico

Teste qui quadrado

A tabela 21 lista a diferença dos títulos de anticorpos entre os pacientes com AR portadores de placas de aterosclerose versus aqueles com ausência de placas. A análise estatística não encontrou associação entre qualquer dos anticorpos testados e a presença das placas ($p>0,05$).

Tabela 21 - Títulos dos anticorpos nos pacientes com artrite reumatóide e a sua associação com placas de aterosclerose:

	PLACAS PRESENTES	PLACAS AUSENTES	P
IgG aCL	6,60 ($\pm 2,84$)	8,18 ($\pm 6,28$)	0,34
IgM aCL	7,20 ($\pm 3,08$)	12,48 ($\pm 22,28$)	0,51
IgG anti-beta2-gp1	4,00 ($\pm 3,16$)	4,62 ($\pm 7,51$)	0,80
IgM anti-beta2-sp1	6,50 ($\pm 5,02$)	7,08 ($\pm 7,78$)	0,82
IgA anti-beta2-gp1	54,70 ($\pm 76,83$)	35,30 ($\pm 45,23$)	0,26
Anti-Hsp 60	5,10 ($\pm 1,96$)	8,56 ($\pm 9,31$)	0,24
Anti-Hsp 65	23,20 ($\pm 30,60$)	24,33 ($\pm 27,42$)	0,90
Anti-CCP	131,40 ($\pm 135,85$)	183,66 ($\pm 151,70$)	0,31

Ig-imunoglobulina; aCL-anti-cardiolipina; Hsp-proteína de choque térmico; gp1-glicoproteína 1; CCP- peptídeo citrulinado cíclico

A tabela 22 lista a correlação dos níveis dos anticorpos anti-beta2-gp1 IgG com variáveis clínicas e laboratoriais da AR, e demonstra uma fraca correlação positiva entre anti-beta2-gp1 e tempo de doença ($r=0,27$ $p=0,02$), assim como com o fator reumatóide ($r=0,33$ $p=0,005$). O anticorpo anti-beta2-gp1 IgM apresentou fraca correlação com o fator reumatóide ($r=0,29$ $p=0,01$).

Tabela 22 - Correlações dos níveis de anticorpos anti-beta2-gp1 IgG, IgM e IgA e parâmetros clínicos de atividade nos pacientes com artrite reumatóide:

	Anti-beta2-gp1 IgG	Anti-beta2-gp1 IgM	Anti-beta2-gp1 IgA
Tempo doença	-0,07 (0,53)	0,05 (0,67)	0,27 (0,02)
IMC	-0,13 (0,27)	0,08 (0,50)	0,08 (0,51)
Art. edema	0,02 (0,88)	0,11 (0,37)	-0,02 (0,87)
Art. dor	0,02 (0,84)	0,09 (0,45)	0,02 (0,84)
Aval. Pcte	-0,05 (0,66)	0,14 (0,26)	0,02 (0,86)
Aval. Méd.	-0,08 (0,50)	-0,08 (0,50)	-0,20 (0,10)
Dor pcte	0,06 (0,63)	0,02 (0,84)	-0,11 (0,36)
DAS 28	0,02 (0,87)	0,08 (0,48)	0,07 (0,53)
IDAS	-0,08 (0,53)	-0,03 (0,83)	0,04 (0,53)
HAQ	0,13 (0,29)	0,02 (0,85)	0,15 (0,22)
VHS	-0,03 (0,74)	0,06 (0,60)	0,07 (0,53)
PCR	-0,09 (0,45)	-0,09 (0,46)	0,05 (0,66)
FR positivo	0,02 (0,89)	0,29 (0,01)	0,33 (0,005)

Testes de correlação de Pearson; resultados apresentados como r (valor p) IMC-índice de massa corporal; Aval.-avaliação; Art.- articulações; Méd.- médica; pcte-paciente; DAS 28-escore de atividade da doença (28 articulações analisadas); IDAS-índice de atividade da doença simplificado; HAQ=Health Assesment Questionnaire; VHS-velocidade de hemossedimentação; PCR- proteína c reativa; FR- fator reumatóide

A tabela 23 lista a correlação dos níveis de anti-Hsp 60, anti-Hsp 65 e anti-CCP também com as variáveis clínicas da AR e demonstram uma correlação positiva do anti-Hsp 60 com a avaliação global da doença pelo paciente ($r = -0,23$ $p = 0,05$) e com o HAQ ($r = -0,28$ $p = 0,02$). Como era esperado houve também correlação dos níveis de anti-CCP com o FR ($r = 0,25$ $p = 0,04$).

Tabela 23 - Correlações dos níveis de anticorpos contra proteínas de choque térmico Hsp 60, Hsp 65 e CCP e parâmetros clínicos na artrite reumatóide:

	Anti-Hsp 60	Anti-Hsp 65	Anti-CCP
Tempo doença	-0,11 (0,35)	0,14 (0,23)	0,08 (0,48)
IMC	-0,21 (0,08)	0,06 (0,61)	0,20 (0,09)
Art. edema	-0,19 (0,12)	0,01 (0,98)	0,07 (0,55)
Art. dor	-0,13 (0,28)	-0,09 (0,46)	0,08 (0,48)
Aval. Pcte.	-0,23 (0,05)	0,12 (0,31)	0,06 (0,61)
Aval. Méd.	-0,15 (0,22)	-0,06 (0,58)	-0,02 (0,83)
Dor pcte.	-0,10 (0,41)	0,13 (0,30)	-0,09 (0,47)
DAS 28	-0,17 (0,14)	0,05 (0,68)	0,11 (0,35)
IDAS	-0,20 (0,09)	0,14 (0,24)	0,11 (0,37)
HAQ	-0,28 (0,02)	-0,05 (0,70)	0,04 (0,73)
VHS	-0,11 (0,35)	0,15 (0,22)	0,11 (0,37)
PCR	-0,15 (0,23)	0,19 (0,12)	0,09 (0,44)
FR positivo	0,02 (0,87)	0,0 (0,61)	0,25 (0,04)

Testes de correlação de Pearson; resultados apresentados como r (valor p) IMC-índice de massa corporal; aval.-avaliação; Art.- articulações; Méd.- médica; pcte-paciente; DAS 28-escore de atividade da doença (28 articulações analisadas); índice de atividade da doença; HAQ=Health Assessment Questionnaire; VHS-velocidade de hemossedimentação; PCR-proteína C reativa; FR- fator reumatóide

Podemos ver na tabela 24 que os títulos de anti-cardiolipina IgM se correlacionaram com os títulos do FR ($p < 0,001$).

Tabela 24 - Correlações dos níveis de anticorpos contra cardiolipina IgG e IgM e parâmetros clínicos na artrite reumatóide:

	IgG aCL	IgM aCL
Tempo doença	-0,02 (0,89)	-0,01 (0,93)
IMC	-0,09 (0,44)	-0,03 (0,80)
Art. edema	0,01 (0,96)	0,03 (0,79)
Art. dor	0,03 (0,78)	0,09 (0,44)
Aval. pcte.	0,09 (0,45)	0,20 (0,09)
Aval. med.	-0,01 (0,96)	0,01 (0,92)
Dor pcte.	0,05 (0,67)	0,05 (0,68)
DAS 28	0,10 (0,419)	0,12 (0,32)
IDAS	0,05 (0,68)	0,32 (0,79)
HAQ	-0,07 (0,54)	0,03 (0,81)
VHS	0,15 (0,20)	0,12 (0,31)
PCR	0,04 (0,74)	-0,06 (0,90)
FR positivo	0,18 (0,13)	0,45 (<0,001)

Testes de correlação de Pearson; resultados apresentados como r (valor p) IMC-índice de massa corporal; aval.-avaliação; Art.- articulações; Méd.- médica; pcte-paciente; DAS 28-escore de atividade da doença (28 articulações analisadas); índice de atividade da doença; HAQ=Health Assesment Questionnaire; VHS-velocidade de hemossedimentação; PCR-proteína C reativa; FR-fator reumatóide

A tabela 25 nos mostra a análise de regressão logística multivariável das variáveis AR, idade e colesterol, as quais estão associadas a presença de placas de aterosclerose. O fato de ser portador de AR confere forte chance da presença de placas nas carótidas (OR 7,65 IC 95% 0,85-68,89 p=0,07).

Tabela 25 - Análise de fatores de risco para a presença de placas de aterosclerose:

Variável	OR	IC 95%	p
Artrite reumatóide	7,65	0,85-68,89	0,07
Idade	1,08	1,00-1,17	0,04
Colest.	1,03	1,01-1,06	0,02

OR-odds ratio; IC-índice de confiança; Colest.- colesterol; Análise de regressão logística multivariável

7 - DISCUSSÃO

7 - DISCUSSÃO:

Este estudo é o primeiro que analisou nos pacientes com AR a positividade e os títulos dos anticorpos contra Hsp 60 e 65, anti-beta2-gp1, anti-cardiolipina e anti-LPL, e sua relação com a prevalência das placas de aterosclerose nas carótidas e com a medida da IMT, as quais são alterações no US consideradas achados precoces de aterosclerose subclínica e preditoras de eventos cardiovasculares futuros (DEL SOL, 2001, BARTH, 2002).

A análise de um perfil de auto-anticorpos presentes na AR, incluindo os anticorpos contra fosfolipídios e seu co-fator beta2-gp1, contra proteínas de choque térmico, aliado a pesquisa do anti-CCP e anti-LPL nos permitiu explorar o papel da auto-imunidade na aterosclerose da AR.

Os fatores de risco clássicos que aumentam de forma independente o aparecimento de aterosclerose foram excluídos na nossa população estudada, tais como, HAS, DM e tabagismo, o que permitiu assim analisarmos a real associação da aterosclerose acelerada com a presença da AR, com os seus parâmetros clínicos e com os auto-anticorpos presentes nesta doença. É sabido que estes fatores de riscos clássicos para doença cardiovascular se correlacionam com a medida da IMT das carótidas (LAKKA, 1999; WAGENKNECHT, 1999; DIEZ-ROUX, 1995), o que dificulta a análise de estudos recentes da prevalência da aterosclerose na AR (PARK, 2002; WALLBERG-JONSSON, 2001; ROMAN, 2006). Uma consideração também importante do nosso estudo é que a nossa amostra de pacientes com AR foi predominante do sexo feminino (90%) e similar ao grupo controle analisado, já que os estudos na população normal demonstram a maior e desigual prevalência da aterosclerose no sexo masculino.

Além disso, especificamente na AR, a mortalidade de causa cardiovascular e os eventos clínicos cardiovasculares tem sido diferentes em relação ao sexo, e não são concordantes nos diversos estudos (LUOSUJÄRVI, 1995; WALLBERG-JONSSON, 1997).

As variáveis clínicas e laboratoriais que interferem na maior prevalência da aterosclerose, como a faixa etária, a medida do IMC e o perfil das lipoproteínas, não foram diferentes entre os nossos pacientes com AR e o grupo controle. O achado no nosso estudo de discreto aumento dos níveis de HDL nos pacientes com AR em relação ao grupo controle pode ser entendido, uma vez que estes pacientes já vinham sendo submetidos ao tratamento com DMARDs no momento de inclusão neste estudo. Os estudos já realizados da análise dos níveis de lipoproteínas em pacientes com AR têm demonstrado um perfil de lipoproteínas aterogênico, o qual também é encontrado em outras doenças reumáticas como o LES, outras condições inflamatórias sistêmicas e também em doenças infecciosas, onde temos menores níveis de HDL, maior relação colesterol/ HDL (índice aterogênico) e maiores níveis de triglicerídeos, alterações estas na AR que tendem a melhorar com o tratamento com os DMARDs. O uso de DMARDs na AR levam a elevação mais significativa do HDL, como encontrado nos nossos pacientes deste estudo (KHOVIDHUNKIT, 2000; LEE, 2000; PARK, 2002; BOERS, 2003; CHOI, 2005; GEORGIADIS, 2006, WHITE, 2006).

Com o objetivo de não termos influências de drogas sobre o perfil lipídico dos pacientes no nosso estudo, optamos em excluir os pacientes que estavam sob uso das estatinas. De qualquer forma, é importante lembrarmos que estudo recente demonstrou que as estatinas quando utilizadas nos pacientes com

AR acarretam não somente uma redução dos níveis de lipoproteínas como o colesterol total e LDL, similar àquela alcançada na população sem AR, mas beneficiam também parâmetros inflamatórios da doença (McCAREY, 2004). Estudos com estatinas em pacientes com AR demonstraram que estas drogas induzem também melhora da disfunção endotelial, a qual está relacionada à inflamação sistêmica, com conseqüente redução da rigidez arterial e melhora da dilatação vascular mediada pelo fluxo sanguíneo no US de artéria braquial, uma medida de integridade funcional do endotélio (VAN DOORNUM, 2004; HERMANN, 2005).

É interessante vermos no nosso estudo que os pacientes com AR que estavam em uso de antimaláricos apresentavam menores níveis de colesterol total, LDL e triglicerídeos, quando comparados com os pacientes sem uso de antimaláricos ($p < 0,05$), resultado este concordante com outros estudos prévios em AR (LORBER, 1985, MUNRO, 1997), e também vistos em pacientes com LES, corroborando o papel benéfico dos antimaláricos no perfil de lipoproteínas adverso encontrado nas doenças reumáticas (WALLACE, 1993; PETRI, 1994, HODIS, 1993).

As únicas variáveis que foram diferentes no início do estudo entre os pacientes com AR e os indivíduos do grupo controle foram as proteínas de fase aguda, como a PCR e o fibrinogênio, as quais obviamente apenas refletem a natureza inflamatória da AR. É sabido que estudos na população normal tem confirmado a associação do fibrinogênio e PCR com o maior risco de doença cardiovascular (DOGGEN, 2000; RIDKER, 2000; LOWE, 2001; BLAKE, 2003), o que aliado aos estudos já esclarecedores da natureza inflamatória da patogênese da aterosclerose fazem com que valores elevados de PCR e

fibrinogênio determinem um risco maior de eventos cardiovasculares na população com AR (GONZALEZ-GAY, 2005; MARADIT-KREMERS, 2005), pela inflamação crônica característica da doença.

Em relação a nossa população com AR estudada, 83% apresentavam FR positivo e 78,9% tinham anti-CCP, o que está de acordo com outros estudos (LOPEZ-LONGO, 2006; SENE, 2006), mostrando uma sensibilidade similar do anti-CCP na AR com o FR. Outro dado no nosso estudo foi a presença do anti-CCP em apenas um indivíduo (1,9%) no grupo controle saudável, o que atesta a especificidade do teste para o diagnóstico da AR na nossa amostra estudada.

A maioria dos pacientes com AR neste estudo apresentavam evidências de atividade da doença, com a média da PCR de $18,18 \pm 23,73$ mg/l, DAS 28 de $4,58 \pm 1,04$ e IDAS de $46,66 \pm 28,74$. Além disso, pudemos constatar uma forte correlação entre os parâmetros laboratoriais de atividade e os escores de avaliação, como por exemplo o VHS com o IDAS ($r = 0,72$), PCR com IDAS ($r = 0,91$) e DAS 28 com IDAS ($r = 0,68$), o que confirma estudo prévio (SMOLEN, 2003). Em relação a classe funcional, a maioria dos pacientes com AR pertenciam as classes funcionais II e III (52,1% e 29,6%) e apresentavam como média o HAQ de $1,29 \pm 0,70$, o que nos permitiu estudar a associação entre os parâmetros clínicos de atividade da AR em um grupo de pacientes com doença ativa, com a presença dos anticorpos pesquisados e com os achados de US das artérias carótidas.

Em relação ao tratamento dos nossos pacientes com AR, 81,6% dos pacientes estavam em uso de glicocorticóides, com doses que variavam de 2,5mg a 15mg de prednisona diárias. A relação do uso de glicocorticóides com o aumento dos níveis de colesterol total está definido na população normal e nas

doenças em geral, mas estudos em pacientes com AR têm demonstrado resultados diferentes, ou seja, a diminuição da atividade da doença com o uso de glicocorticóides determina uma melhora no índice aterogênico (relação CT/HDL) às custas do aumento induzido do HDL pela medicação (BOERS, 2003). Ainda em relação ao tratamento, o metotrexate no nosso estudo foi o DMARD mais utilizado (78,9%).

A pesquisa de aterosclerose por métodos não invasivos nos pacientes com AR pode permitir o diagnóstico precoce da aterosclerose ainda na sua fase subclínica ou assintomática. O US de carótidas é uma das ferramentas úteis e importante para o diagnóstico precoce de aterosclerose na AR, já que a doença aterosclerótica acelerada nesta doença é freqüentemente diagnosticada tardiamente. Um estudo recente demonstrou a maior freqüência de IAM silencioso e a menor freqüência de angina de peito em pacientes com AR, quando comparado com uma coorte da população sem AR (MARADIT-KREMERS, 2005). A ausência de sintomas clássicos de doença cardiovascular em pacientes com AR contribui para os achados de aterosclerose avançada, no momento do diagnóstico do evento clínico cardiovascular ou cérebro-vascular, e pior prognóstico, como já foi demonstrado (GONZALEZ-JUANATEY, 2003; WARRINGTON, 2005; VAN DOORNUM, 2006). O US das artérias carótidas, com a capacidade da medida da IMT, uma medida quantitativa, validada e padronizada, traz vantagens como o relativo baixo custo, a maior disponibilidade pela sua portabilidade e a maior predição de eventos cardiovasculares e cérebro-vasculares futuros (BARTH, 2002).

Neste estudo em que realizamos o US de carótidas, pudemos comprovar a maior prevalência das placas de aterosclerose nos pacientes com AR, em

relação aos indivíduos do grupo controle saudável. A presença da AR em uma análise de regressão logística multivariável confirmou o maior risco de prevalência das placas nos pacientes com AR, independente dos outros fatores de riscos concomitantes.

No nosso estudo, a prevalência de placas nas carótidas nos pacientes com AR foi maior em pacientes com idade mais avançada, e as placas também se associaram aos níveis elevados de colesterol, LDL e triglicerídeos, o que não difere dos estudos de prevalência de aterosclerose na população normal. Da mesma forma que encontramos maior presença de placas nos pacientes com AR versus o grupo controle, também constatamos que a medida da IMT foi mais elevada nos nossos pacientes com AR, ainda que a diferença não tenha sido significativa. Os achados da maior medida da IMT nos nossos pacientes com AR, também se correlacionaram com a idade dos pacientes, com os níveis de colesterol e com os níveis de LDL, dado este que também pudemos constatar no grupo controle de indivíduos saudáveis. Os achados de aumento da medida da IMT e da maior prevalência de placas de aterosclerose nos nossos pacientes com AR confirmam resultados prévios que encontraram maior presença de aterosclerose subclínica nesta patologia inflamatória sistêmica, que cursa com comprometimento endotelial precoce e conseqüente aterosclerose (WALLBERG-JONSSON, 2001; PARK, 2002; KUMEDA, 2002; RODRIGUES, 2002; GONZALEZ-JUANATEY, 2003; WADA, 2005). Dois estudos recentes em AR foram discordantes, com IMT não diferentes na AR em relação ao grupo controle, mas mesmo nestes estudos a prevalência das placas de aterosclerose foi ainda maior nos pacientes com AR (DEL RINCON, 2003 e ROMAN, 2006). A maior prevalência das placas de aterosclerose e a maior

medida da IMT encontrada nos nossos pacientes com AR, e a associação destes achados com níveis elevados de colesterol e LDL na nossa população com AR foi também relatada por outros grupos, embora diferente do nosso estudo, várias co-morbidades importantes e fatores ambientais que interferem na extensão e frequência dos achados de aterosclerose carotídea não foram excluídas, como HAS, DM e tabagismo (WALLBERG JONSSON, 2001; ROMAN, 2006).

Outro dado importante é que a maior prevalência de placas nos nossos pacientes com AR se associou com uma tendência a um maior tempo de doença, o que sugere a participação da inflamação crônica da doença no processo de aterosclerose. Quando analisando ainda a diferença da prevalência de placas e a medida da IMT de acordo com diferentes intervalos de tempo de doença, encontramos uma tendência para maior frequência de placas e maior medida da IMT nos pacientes com mais de 10 anos de doença, em relação aqueles com AR de início recente, ou seja, com menos de 3 anos de duração. Quando dividimos os pacientes com AR em dois grupos, de acordo com a faixa etária, acima e abaixo de 50 anos, pudemos constatar a maior prevalência de placas e a maior medida da IMT naqueles acima de 50 anos. A maior prevalência de placas de aterosclerose nos pacientes com AR, em pacientes com maior faixa etária, assim como em pacientes com maior tempo de doença tem sido concordante em diversos estudos (ABU-SHAKRA, 2005; ROMAN, 2006; DEL RINCON, 2006). Quando comparamos a menor prevalência de placas de aterosclerose nos pacientes com AR e idade menor que 50 anos no nosso estudo, com o grupo controle, vimos que não houve diferença de prevalência nesta mesma faixa etária.

Nos nossos pacientes com AR que apresentavam placas de aterosclerose, encontramos também uma média maior da medida da IMT, quando comparado com aqueles pacientes sem placas, o que concorda com um estudo realizado em pacientes com AR na Espanha (GONZALEZ-JUANATEY, 2003). A forte associação da medida da IMT com a maior prevalência de placas de aterosclerose na AR é esperada, considerando que ambos achados refletem o mesmo processo de aterosclerose, e ambos estão associados com maior incidência de doença cardiovascular e cérebro-vascular (BARTH, 2002).

Na nossa análise, não encontramos associação das doses de glicocorticóides utilizadas no momento do estudo, com a presença de placas, e nem correlação com a maior medida da IMT de carótidas encontrada, o que já foi descrito (KUMEDA, 2002; PARK, 2002). Pesquisas que investigaram a diferença da medida da IMT e da prevalência das placas com as doses cumulativas de glicocorticóides têm sido discordantes, sendo que Del Rincon e cols. (2005) mostraram maior prevalência de placas e maior medida da IMT naqueles que usaram maiores doses cumulativas, ao contrário dos resultados encontrados por Davis (2005).

Estudo recente demonstrou menor mortalidade cardiovascular com o uso de metotrexate em pacientes com AR (CHOI, 2002), assim procuramos identificar se havia alguma diferença em relação a medida da IMT ou se havia menor presença de placas de aterosclerose de acordo com as doses de metotrexate utilizadas no nosso estudo, contudo não encontramos diferenças. Ainda em relação ao tratamento, especificamente sobre as consequências cardiovasculares do uso dos bloqueadores de TNF na AR, não tivemos condições de comparar as diferenças da presença de placas e da medida da IMT

pelo pequeno número de pacientes fazendo uso desta terapêutica. É interessante um estudo recente que demonstrou menor mortalidade cardiovascular com o uso dos bloqueadores de TNF nos pacientes com AR (JACOBSSON, 2005), o que está de acordo com o fato de os bloqueadores de TNF melhorarem a disfunção endotelial sistêmica secundária à inflamação (HÜRLIMANN, 2002; GONZALEZ-JUANATEY, 2004; MÄKI-PETÄJÄ, 2006; CARDILLO, 2006) . Apesar das evidências favoráveis em relação à disfunção endotelial e menor mortalidade com os bloqueadores de TNF, uma publicação recente que analisou a influência do tratamento da AR nos achados de aterosclerose carotídea constatou maior presença de placas de aterosclerose nas carótidas no grupo em uso de bloqueadores de TNF (ROMAN, 2006). Os autores daquele estudo discutiram o fato de os bloqueadores de TNF terem sido prescritos para os pacientes numa fase não inicial da doença, assim não refletindo a real associação de aterosclerose com o uso desta medicação.

No nosso estudo, não encontramos associação dos parâmetros clínicos de atividade da AR com os achados de aterosclerose, como com a prevalência de placas e a medida da IMT. Assim, não encontramos correlação da medida da IMT ou associação da presença de placas com o número de articulações sensíveis, número de articulações com edema, avaliação global da doença e avaliação da dor por escala análoga visual. Da mesma forma, não encontramos correlação da medida da IMT ou associação da presença de placas, com os escores clínicos compostos de avaliação da AR, como o DAS 28, IDAS, HAQ e também com os níveis de PCR e VHS. A associação entre os achados de aterosclerose nas carótidas nos nossos pacientes com AR, com outros parâmetros laboratoriais que refletem inflamação sistêmica, como os níveis de

fibrinogênio e alfa 1glicoproteína, e com os níveis do FR foi negativa. Quando comparamos os nossos achados da ausência de associação de aterosclerose no US de carótidas com os parâmetros clínicos de atividade da AR, com outros dados já publicados, encontramos resultados concordantes (PARK, 2002; ROMAN, 2006). A ausência de correlação dos marcadores laboratoriais de inflamação sistêmica na AR com a medida da IMT e com a presença de placas no nosso estudo foi similar aos achados de outros grupos (WALLBERG-JONSSON, 2001; GONZALEZ-JUANATEY, 2003; ROMAN, 2006). Um estudo isolado e com resultados diferentes dos nossos demonstrou que o aumento da medida da IMT em pacientes com AR se correlacionou com os níveis de PCR dosados no momento do exame, ainda que neste estudo a medida da IMT nos pacientes com AR não tenha sido diferente do grupo controle, e a verificação dos achados de aterosclerose tenha analisado o número de artérias de forma isolada, numa população de pacientes com AR que tinham como características, idade mais avançada e apresentavam outras co-morbidades importantes como HAS e DM (DEL RINCON, 2003). Gonzalez-Gay e cols. (2005) demonstraram em um grupo de pacientes com AR, sem evidências de aterosclerose clínica ou fatores de risco clássicos para aterosclerose, a ausência de correlação da medida da IMT com a PCR dosada durante o estudo, e correlação positiva da medida da IMT apenas com os valores máximos de PCR que os pacientes já haviam apresentado no passado, ou com os maiores valores médios de PCR encontrados durante o levantamento retrospectivo.

No nosso estudo, a investigação da presença dos auto-anticorpos contra cardiolipina, beta2-gp1, Hsp, CCP e LPL demonstrou uma tendência a maior positividade dos anticorpos nos pacientes com AR, quando comparado com o

grupo controle, sendo que apenas a diferença de positividade do anti-CCP alcançou significância estatística ($p < 0,001$). Além da maior positividade dos anticorpos anti-CCP nos nossos pacientes com AR, os anticorpos anti-Hsp 65 estiveram presentes em 36,6% e o anti-beta2-gp1 IgA em 43,7%. A análise dos títulos dos anticorpos nos mostrou que os níveis de anti-Hsp 65 e anti-beta2-gp1 IgM foram significativamente mais elevados nos pacientes com AR, quando comparados com o grupo controle.

A positividade dos anticorpos contra Hsp 60 de 14,1% nos nossos pacientes não é significativamente diferente de estudo recente, que mostrou positividade em pacientes com AR que variou de 22 a 27%, de acordo com a presença ou ausência de evento cardiovascular prévio naquele estudo. Uma diferença relevante em relação aos nossos achados é o fato de que um grande número dos pacientes naquele estudo apresentavam HAS ou faziam uso de estatinas (VAN HALM, 2006). A HAS é reconhecida como um dos fatores que aumentam a expressão das Hsp e por outro lado, as estatinas reduzem a expressão das Hsp (POCKLEY, 2005; MEHTA, 2005; GLAYOUR-MOBARHAN, 2005).

Embora estudos já tenham demonstrado a maior expressão das proteínas de choque térmico em pacientes com AR, tanto no líquido sinovial como nos linfócitos de sangue periférico (SATO, 1996), as pesquisas que demonstraram a maior positividade dos anticorpos contra estas Hsp, como a Hsp 60 em AR não são concordantes (YOKOTA, 2000; HORVATH, 2001). Outros fatores que interferem nos títulos dos anticorpos contra Hsp 60 e 65, levando ao aumento dos mesmos, são as condições de dislipidemia. A dislipidemia uma vez induzindo aterosclerose, leva a lesão endotelial, maior expressão de Hsp e conseqüente formação de auto-anticorpos específicos contra as Hsp (GLAYOUR-

MOBARHAN, 2005). No nosso estudo não encontramos correlação dos níveis de lipoproteínas com os títulos de anticorpos contra as proteínas de choque térmico.

Não encontramos correlação dos títulos de anti-Hsp 60 e 65 com os escores de atividade da doença DAS 28 e IDAS, assim como não encontramos correlação com os níveis de PCR e com a VHS. Tivemos uma correlação dos níveis de anticorpos anti-Hsp 60 apenas com o HAQ e com a avaliação global da doença pelo paciente. Os nossos resultados são concordantes com um estudo realizado na população sem AR, que demonstrou que os títulos de anti-Hsp 60 e anti-Hsp 65 não se correlacionaram com os níveis de PCR (GHAYOUR-MOBARHAN, 2005).

Nós encontramos níveis de anticorpos contra beta 2-gp1 IgA que se correlacionaram com o tempo de doença, e vimos que os títulos de anticorpos contra cardiolipina IgM, beta2-gp1 IgM e IgA e anti-CCP se correlacionaram com os níveis do fator reumatóide, o que sugere haver uma ativação inespecífica da imunidade humoral na AR. As evidências recentes da eficaz utilização de terapêuticas como o rituximabe, um anticorpo monoclonal quimérico contra a molécula CD20 de superfície do linfócito B maduro, reforçam a participação do linfócito B e da imunidade humoral nas manifestações clínicas da AR (EDWARDS, 2004; COHEN, 2006).

Os nossos resultados demonstram que os pacientes com AR que apresentavam positividade dos anticorpos contra cardiolipina, beta2-gp1, Hsp, anti-CCP ou anti-LPL não apresentavam diferença na medida da IMT em relação aqueles sem os respectivos anticorpos. Da mesma forma, os nossos pacientes com AR não apresentavam correlação dos títulos mais elevados destes

anticorpos, em particular do anti-Hsp 65 e da anti-beta 2-gp1 IgA, com as medidas da IMT.

Em relação a prevalência das placas de aterosclerose nos pacientes com AR, e sua associação com a presença dos anticorpos contra cardiolipina isotipos IgG e IgM, beta2-gp1 isotipos IgM, IgG e IgA, e CCP, com os títulos respectivos dos mesmos, os nossos resultados não demonstraram associação da positividade dos anticorpos e dos respectivos títulos com as placas de aterosclerose nas carótidas. A ausência de correlação da medida da IMT com os títulos de IgG aCL e IgM aCL no nosso estudo difere dos resultados de Ames e cols. (2002), ainda que aquele estudo foi realizado em uma população diferente, portadora da SAF. Naquele estudo de análise de regressão múltipla, os títulos de IgG aCL foram preditores de uma maior espessura da medida da IMT.

Encontramos baixa positividade dos anticorpos aCL IgG e IgM, 5,6% e 7,0% respectivamente nos nossos pacientes com AR, e constatamos que não houve manifestações de trombose vascular, ou outra manifestação da SAF. Os nossos resultados, que demonstraram ausência de manifestações clínicas associadas à anti-cardiolipina reforçam os achados encontrados em outros grupos de pacientes com AR (MERKEL, 1996; SERIOLO, 2001). Uma possível justificativa para a ausência de manifestações clínicas trombóticas secundários a presença de anti-fosfolipídios nos nossos pacientes com AR, provavelmente decorre da menor prevalência concomitante de anticorpos contra beta2-gp1 IgG e IgM encontrada, os quais são considerados sítios antigênicos alvos importante para as manifestações clínicas de trombose. Sherer e cols. (2005) apresentaram um estudo com uma positividade um pouco maior para aCL IgG, mas o limite de

corte de positividade do teste elisa do aCL naquele estudo foi menor , sendo assim, a positividade do IgG aCL foi de 21% e IgM apenas de 1%.

Embora nós não encontramos associação dos anticorpos contra cardiolipina na AR com aterosclerose, é interessante que em situações de trombose coronariana, mais freqüentemente encontramos a presença de isotipos de aCL do que a presença de anti-coagulante lúpico (SOLTESZ, 2003).

Resultados similares àqueles por nós encontrado da baixa prevalência de anticorpos contra beta2-gp1 IgG e IgM em pacientes com AR foram já demonstrados (SHERER,2005). No nosso estudo não encontramos conforme já relatamos, a associação dos isotipos IgG e IgM contra-beta2-gp1 com aterosclerose carotídea. Embora a positividade de anticorpos contra beta2-gp1 do isotipo IgA foi alta nos nossos pacientes com AR e no grupo controle, também não encontramos associação com aterosclerose. Embora a realização de anticorpos contra beta2-gp1 IgA ainda necessita ser melhor padronizada, estudos têm mostrado a sua associação com doença cérebro-vascular, doença coronariana e doença vascular periférica (STAUB, 2003; TUHRIM,1999; RANZOLIN,2004; FRANK, in press).

Encontramos baixa frequência de anticorpos contra a LPL, uma enzima que participa da hidrólise dos quilomícrons nos nossos pacientes com AR, o que está de acordo com os estudos de Reichlin (2002). Apesar da sua baixa frequência na AR, estudos recentes demonstram a maior positividade deste anticorpo anti-LPL, e sua associação com dislipidemia, em particular aumento dos triglicerídeos, em outras doenças reumáticas como o LES e a esclerose sistêmica (REICHLIN, 2002; KODERA, 2005, CARVALHO, 2004).

Por fim, não encontramos qualquer associação dos anticorpos contra CCP com achados de aterosclerose nos nossos pacientes com AR, o que atesta para a importância deste anticorpo apenas pela sua maior especificidade para o diagnóstico da AR e pela sua associação com prognóstico pior (AVOUAC, 2006; RIEDEMANN, 2005; MIMORI, 2005).

8 - CONCLUSÕES

8 - CONCLUSÕES:

Podemos concluir que anticorpos contra IgG aCL, IgM aCL, beta2-gp1 isotipos IgG, IgM e IgA, Hsp 60, Hsp 65 e CCP estão presentes na AR e com uma tendência a maior frequência, quando comparados com a população normal, sendo que apenas os títulos dos anticorpos contra Hsp 65 IgG e contra beta2-gp1 IgA estão significativamente mais elevados.

A correlação dos níveis dos anticorpos contra IgM aCL, beta2-gp1 IgM, beta2-gp1 IgA, Hsp 65 e CCP com os títulos do FR confirmam a participação da ativação da imunidade humoral e maior produção de anticorpos para vários sítios antigênicos nesta doença;

Anticorpos contra IgG aCL, IgM aCL, beta2-gp1 IgG, beta2-gp1 IgM e beta2-gp1 IgA, Hsp 60, Hsp 65, LPL e CCP não se associam ou se correlacionam com os parâmetros clínicos e laboratoriais de atividade da AR;

Os títulos dos anticorpos contra IgG aCL e IgM aCL, beta2-gp1 IgG, beta2-gp1 IgM e beta2-gp1 IgA, Hsp 60, Hsp 65, LPL e CCP não se correlacionam com os níveis das lipoproteínas

Anticorpos contra IgG aCL, IgM aCL, beta2-gp1 IgG, beta2-gp1 IgM e beta2-gp1 IgA, Hsp 60, Hsp 65 e CCP não se associam com a medida da IMT de carótidas e nem com a presença de placas nas carótidas;

Anticorpos contra lipoproteína lipase são raros na AR, diferentes da frequência encontrado em outras doenças como LES e esclerose sistêmica.

Aterosclerose subclínica é mais frequente nos pacientes com AR, e pode ser evidenciada pela maior presença de placas nas carótidas e pela tendência a maior medida da IMT;

Na AR a medida da IMT e a presença de placas se associa também com fatores de risco, como idade do paciente e níveis de lipoproteínas, como colesterol, LDL e triglicerídeos;

A AR determina um maior risco independente de aterosclerose subclínica.

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:
--

Abu-Shakra M, Polychuck I, Szendro G, Bolotin A et al. Duplex study of the carotid and femoral arteries of patients with rheumatoid arthritis: A controlled study. *Semin. Arthritis Rheum.* 2005; 35: 18-23.

Afek A, George J, Shoenfeld Y. et al. Enhancement of atherosclerosis in beta2-glycoprotein1-immunized apolipoprotein E-deficient mice. *Pathobiology* 1999; 67:19-25.

Alamanos Y, Drosos AD. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun. Rev.* 2005; 4:130-6.

Albano AS, Santana-Sahagun E, Weisman MH. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 2001; 31:146-159.

Aletaha D, Breedveld FC, Smolen J. The need for new classification criteria for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:3333-3336.

Allaire SH, Anderson JJ, Meenan RF. Reducing work disability associated with rheumatoid arthritis: identification of additional risk factors and persons likely to benefit from intervention. *Arthritis Care Res.* 1996; 9:349-57.

Ames PR, Margarita A, Delgado AJ, Tommasino C, Iannacone L, Brancaccio V. Anticardiolipin antibody titre and plasma homocysteine level independently predict intima media thickness of carotid arteries in subjects with idiopathic antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2002; 11: 208-214.

Angelini L, Ravelli A, Carporali R, Rumi V. et al. High prevalence of antiphospholipid antibodies in children with idiopathic cerebral ischemia. *Pediatrics* 1994; 94:500-503.

Arnett FC, Edworthy SM, Bloch, DA, et al. The American Rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988; 31:315-324.

Asanuma Y, Kawai S, Aoshima H, Kaburaki J, Mizushima Y. Serum lipoprotein (a) and apolipoprotein (a) phenotypes in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1999; 42:443-7.

Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann. Rheum. Dis.* 2006; 65:845-851.

Badr K, Wainwright. Inflammation in the cardiovascular system: here, there and everywhere. *Curr opin. Pharmacol.* 2004; 4:107-9.

Barth, JD. An update on carotid ultrasound measurement of intima-media thickness. *Am. J. Cardiol.* 2002; 89 (suppl.): 328-398.

Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* 2001; 1022-1029.

Benagiano M, D'Elios MM, Amedei A. et al. Human 60-KDa Heat Shock Protein is a target autoantigen of T Cells derived from atherosclerotic plaques. *J. Immunol.* 2005; 174:6509-6517.

Bergholm R, Leirisalo-Repo M, Vehkavaara S, Makimattila S, Taskinen MR, Yki-Jarvinen H. Impaired responsiveness to NO in newly diagnosed patients with rheumatoid arthritis . *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 1637-1641.

Bergmark C, Wu R, De Faire U. et al. Patients with early onset of peripheral vascular disease have high levels of autoantibodies against oxidized low-density lipoproteins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15:441-5.

Bevilacqua MP, Schleef RR, Gimbrome MA, Jr Loskutoff DJ. Regulation of the fibrinolytic system of cultured human vascular endothelium by interleukin 1. *J. Clin. Invest.* 1986; 78:587-91.

Binder CJ, Silverman GJ. Natural antibodies and the autoimmunity of

atherosclerosis. Springer Semin. Immun. 2005; 26: 385-404.

Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. J. Intern. Med. 2002; 252: 283-294.

Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. J Am. Coll. Cardiol. 2003; 41:37S-42S.

Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Meyer J, Rupprecht HJ. Atherogene Investigators: Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. Circulation. 2002; 106:24-30.

Boers M, Nurmohamed MT, Doelman CJA, Lard LR, Verhoeven AC, Voskuyl AE, Huizinga TWJ, Van de Stadt RJ, Dijkmans BAC, Van der Linden. Influence of glucocorticoids and disease activity on total and high density lipoprotein cholesterol in patients with rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 2003; 62: 842-845.

Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease , activity, and anticardiolipin antibodies. Lupus 1997; 6:533-9.

Bots ML, Hofman A, De Jong PT, Grobbee D.E. Common carotid intima-media thickness as an indicator of atherosclerosis at other sites of the carotid

artery The Rotterdam Study. *Ann. Epidemiol.* 1996; 6:147-153.

Breedveld FC, Kalden JR. Appropriate and effective management of rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2004; 63:627-633.

Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, Cohen SB, Pavelka K, Van Vollenhoven R, Sharp J, Perez JL, Spencer-Grennm GT, for the PREMIER investigators. The PREMIER Study. A multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:26-37.

Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:1595-1604.

Breshnihan B, Alvaro Garcia JM, Cobby M, et al. Treatment of Rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum.* 1998; 41:2196-2204.

Brey RL, Abott RD, Curb D, et al. Beta2-Glycoprotein 1-dependent anticardiolipin antibodies and risk of ischemic stroke and myocardial infarction. The Honolulu Heart Program. *Stroke* 2001; 32:1701-1706.

Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86:631-637 .

Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mouse develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.* 1998; 12:1260-1268.

Buglioli R, Caratozzolo V, Caratozzolo A. Hyperlipidemia, hypertension and atherosclerosis in women. Reality and perspectives. *Clin. Ter.* 1995; 146: 503-18.

Burian K, Kis Z, Virok D, et al. Independent and joint effects of antibodies to human heat-shock protein 60 and *Chlamydia pneumoniae* infection in the development of coronary atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103:1503-8.

Busso N, Hamilton J. Extravascular coagulation and the plasminogen activator/plasmin system in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 2268-2279.

Capron L. Évolution des theories sur l'athérosclérose. *Rev. Prat.* 1996 ;46:533-7.

Cardillo C, Schinzari F, Moraes N, Metimmano M, et al. Intravascular tumor necrosis factor alpha blockade reverses endothelial dysfunction in rheumatoid

arthritis. Clin Pharmacol. Ther. 2006; 80: 275-81.

Carvalho JF, Borba EF, Viana VST, Bueno C, Leon EP, Bonfá E. Anti-lipoprotein lipase antibodies. A new player in the complex atherosclerotic process in systemic lupus erythematosus ?. Arthritis Rheum. 2004; 50:3610-3615.

Chakravarty KK, Al-Hillawi AH, Byron MA, Durkin CJ. Anticardiolipin antibody associated ischemic strokes in elderly patients without system lupus erythematosus. Age Ageing. 1990; 19:114-118.

Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors : the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. Am. J. Epidemiol. 1997; 146:483-94.

Chen WH, Liu JS. An unusual increase of blood anti-beta2-glycoprotein I antibody but not antiphospholipid antibody in cerebral ischemia: a case report. Angiology 2001; 52: 149-54.

Choi HK, Hernán MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. Lancet 2002; 359:1173-7.

Choi HK, Seeger JD. Lipid profiles among US elderly with untreated rheumatoid arthritis. The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J. Rheumatol.* 2005; 32(12) 2311-6.

Cohen SB, Emery P, Greewald MW, et al. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:2793-2806.

Cvetkovic JT, Wallberg-Jonsson S, Ahmed E, Rantapaa-Dahlqvist S, Lefvert AK. Increased levels of autoantibodies against copper-oxidized low density lipoprotein, malondialdehyde-modified low density lipoprotein and cardiolipin in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2002; 41:988-95.

Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *Jama* 1998; 279: 1477-1482.

Davis JM, Maradit-Kremers H, Crowson CS, et al. Cumulative glucocorticoid exposure and the risk of cardiovascular events in a population-based cohort of rheumatoid arthritis subjects. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:S704

Dechant SA, Matteson EL. Managing comorbidity risks in rheumatoid arthritis. *Curr opinion rheumatol.* 2004;16:177-179.

Del Rincon I, Freeman GL, Hass RW, Leary DH, Escalante A. Relative contribution of cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis clinical manifestations to atherosclerosis. *Arthritis* 2005; 52: 3413-3423.

Del Rincon I, O'leary DH, Freeman GL, Escalante A. Acceleration of atherosclerosis during the course of rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2006 Nov 9; (Epub ahead of print)

Del Rincon I, O'Leary DH, Haas RW, Escalante A. Effect of glucocorticoids on the arteries in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:3813-3822.

Del Rincon I, Williams K, Stern MP, Freeman GI, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis* 2001; 44:2737-2745.

Del Rincón I, William K, Stern MP, Freeman GL, O'Leary DH, Escalante A, Association between carotid atherosclerosis and markers of inflammation in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Arthritis Rheum.* 2003;48:1833-1840.

Del Sol AI, Moons KG, Hollander M, Hofman A, Koudstaal PJ, Grobbee DE, et al. Is Carotid intima-media thickness useful in cardiovascular disease risk assessment ? The Rotterdam Study. *Stroke.* 2001; 32:1532-8.

Diez-Roux AV, Nieto FJ, Comstock GW, Howard G, Szklo M. The

relationship of active and passive smoking to carotid atherosclerosis 12-14 years later. *Prev. Med.* 1995;24:48-55.

Doggen CJ, Berckmans RJ, Sturk A, Manger Cats V, Rosendal FR. C-reactive protein, cardiovascular risk factors and the association with myocardial infarction in men. *J. Intern. Med.* 2000; 248:406-414.

Doria A, Sherer Y, Meroni PL, Shoenfeld Y. Inflammation and accelerated atherosclerosis: Basic mechanisms. *Rheum. Dis. N. Am.* 2005;31: 355-362.

Douglas KMJ, Pace AV, Treharne GJ, Nightingale P, Erb N, Banks MJ, Kitas GD. Excess recurrent cardiac events in rheumatoid arthritis patients with coronary syndrome. *Ann Rheum. Dis.* 2006; 65: 348-353.

Dressein PH, Joffe BI, Stanwix A, Botta AS, Moomal Z. The acute phase response does not fully predict the presence of insulin resistance and dyslipidemia in inflammatory arthritis. *J. Rheumatol.* 2002; 29:462-6.

Dursunoglu D, Evrengul H, Polat B, et al. Lp(a) lipoprotein and lipids in patients with rheumatoid arthritis : serum levels and relationship to inflammation. *Rheumatol. Int.* 2005; 25:241-245.

Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J. et al. Efficacy of B-cell-tageted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350:2572-81.

Eiserich JP, Baldus S, Brennan ML. et al. Myeloperoxidase , a leukocyte-derived vascular NO oxidase .Science 2002;296:2391-2394

Egsmose C, Lund B, Borg G, Petterson H, Berg E, Brodin U, et al. Patients with rheumatoid arthritis benefit from early second line therapy: 5-year follow-up of a prospective double-blind placebo-controlled study. J. Rheumatol. 1995;22:2208-2213.

Emeson EE, Shen ML, Bell CG, et al. Inhibition of atherosclerosis in CD4 T-cell depleted and nude (nu/nu) C57BL/6 hyperlipidemic mice. Am. J. Pathol. 1996;149:675-85.

Erhardt CC, Mumford PA, Veables PJ, et al. Factors predicting a poor life prognosis in Rheumatoid arthritis: an eight-year prospective study. Ann. Rheum. Dis.1989; 48:7-13.

Farsi A, Domeneghetti MP, Fedi S, Capanni M, Giustu B, Marcucci R, et al. High prevalence of anti-beta2-glycoprotein I antibodies in patients with ischemic heart disease. Autoimmunity 1999; 30: 93-8.

Felson DT, Anderson JJ, Boers M et al. American College of Rheumatology preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1995; 38:727-35.

Ferraro-Peyret C, Coury F, Tebib JG, et al. Infliximab therapy in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis-induced specific antinuclear and antiphospholipid autoantibodies without autoimmune clinical manifestations: a two-year prospective study. *Arthritis Res. Ther.* 6: R535-R543.

Ferraz MB, Oliveira LM, Araújo PM, Atra E, Tugwell P. Crosscultural reliability of the physical ability dimension of the health assessment questionnaire. *J. Rheumatol.* 1990; 17:813-7.

Fichtlscherer S, Heeschen C, Zeiher A. Inflammatory markers and coronary artery disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2004;4:124-131.

Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 2003; 423:356-361.

Fischer LM, Schlienger RG, Matter C, et al. Effect of rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus on the risk of the first-time acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2004; 93:198-200.

Fleming A, Crow JM, Corbett M. Early rheumatoid disease. I- Onset
II – Patterns of joint involvement. *Ann. Rheum. Dis.* 1976; 35:357-63.

Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, et al. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides (anti-CCP). *Ann. Rheum. Dis.* 2004; 63:1090-1095.

Fox DA. The role of T cells in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis: new perspectives. *Arthritis Rheum.* 1997; 40:598-609.

Frank M, Staub HL, Petraco JB, Norman GL, Lassen AJ, Schiavo N, et al. Autoantibodies to the atheroma component beta2-glycoprotein I and risk of peripheral artery disease. *Angiology* in press.

Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin.Chem.* 1972; 18: 499-502

Frostegard J. Atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2005; 25: 1776-1785.

Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ESG, Kastelein JJP, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation* 2004; 109(suppl.III): III-15-III-19.

Fyfe AI, Rothenberg LS, DeBeer FC, Cantor RM, Rotter JJ, Lusis AJ. Association between serum amyloid A proteins and coronary artery disease: evidence from two distinct arteriosclerotic processes. *Circulation* 1997;

96:2914-2919.

Gabriel SE, Crowson CS, O'Fallon WM. Mortality in rheumatoid arthritis: have we made an impact in 4 decades? *J. Rheumatol.* 1999; 26:2529-2533.

George J, Afek A, Gilburd B, et al. Atherosclerosis in LDL-receptor knockout mice is accelerated by immunization anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997; 6:723-9.

George J, Greenberg S, Barshack I, et al. Accelerated intimal thickening in carotid arteries of balloon-injured rats after immunization against heat shock protein 70. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 38:1564-9

George J, Harats D, Gilburd B, et al. Immunolocalization of Beta2-glycoprotein I (apolipoprotein H) to human atherosclerotic plaques: potential implications for lesion progression. *Circulation* 1999; 99:2227-30.

George J, Harats D, Gilburd B, et al. Adoptive transfer of Beta-2-glycoprotein-I reactive lymphocyte enhances early atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Circulation* 2000; 102:1822-7.

George J, Shoenfeld Y, Afek A, et al. Enhanced fatty streak formation in C57BL/6J mice by immunisation with heat shock protein-65 . *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19:505-10.

George J, Yacov N, Breitbart E, et al. Suppression of early atherosclerosis in LDL-receptor deficient mice by oral tolerance with beta2-glycoprotein I. *Cardiovascular Research* 2004; 62:603-609.

Georgiadis AN, Papavasiliou EC, Lourida ES et al. Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis: effect of early treatment - a prospective, controlled study. *Arthritis Res. Ther.* 2006; 8(3):R82. Epub 2006 Apr.28.

Gerly R, Schillaci G, Giordano A, et al. T lymphocytes contribute to early atherosclerotic damage in rheumatoid arthritis patients. *Circulation* 2004; 109: 2744-2748.

Gharavi AE, Pierangeli SS, Colden-Stanfield M, Liu XW, Espinola RG, Harris EN. GDKV-induced antiphospholipid antibodies enhance thrombosis and active endothelial cells in vivo and in vitro. *J Immunol.* 1999; 163: 2922-7.

Gharavi AE, Sammaritano L.R, Wen J, Elkon, E.B. Induction of antiphospholipid antibodies by immunization with beta2-GP 1 (apolipoprotein H). *J. Clin. Invest.* 1992; 90:1105-1109.

Ghayour-Mobarhan M, Lamb DJ, Lovell DP, et al. Plasma antibody titres to heat shock proteins-60, -65 and -70: Their relationship to coronary risk factors in dyslipidaemic patients and healthy individuals. *Scand J Clin Lab*

Invest. 2005; 65:601-613.

Ghayour-Mobarhan M, Lamb DJ, Vaidya N, Livingstone C, Wang T, Ferns GA. Heat shock protein antibody titers are reduced by statin therapy in dyslipidemic subjects: a pilot study. *Angiology* 2005; 56:61-8.

Ghayour-Mobarhan M, New SA, Lamb DJ, et al. Dietary antioxidants and fat are associated with plasma antibody titers to heat shock proteins 60, 65, and 70 in subjects with dyslipidemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005;81:998-1004.

Gomez-Zumaquero, JM, Tinahones FJ, De Ramon E, Camps M, Garrido L, Soriguer FJ. Association of biological markers of activity of systemic lupus erythematosus with levels of anti-oxidized low-density, lipoprotein antibodies. *Rheumatology* 2004; 43:510-3.

Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Ollier WE. Endotelial dysfunction in rheumatoid arthritis : influence of HLA-DRB1 alleles. *Autoimmun. Rev.* 2004; 3:301-4.

Gonzalez-Gay MA, Gonzales-Juanatey C, Pineiro A, et al. High-grade C-reactive protein elevation correlates with accelerated atherogenesis in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2005; 32:1219-1223.

Gonzalez-Juanatey C, Testa A, Garcia-Castelo A, Garcia- Porrua C, Llorca J, Gonzalez-Gay MA. Active but transient improvement of endotelial function

in rheumatoid arthritis patients undergoing long-term treatment with anti-tumor necrosis factor alpha antibody. *Arthritis Rheum.* 2004; 51:447-50.

Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Testa A, et al. Increased prevalence of severe subclinical atherosclerotic findings in long-term treated rheumatoid arthritis patients without clinically evident atherosclerotic disease. *Medicine* 2003; 82:407-413.

Gonzalez-Juanatey C, Testa A, Garcia-Castelo A, Garcia-Porrúa C, et al. HLA-DRB1 status affects endothelial function in treated patients with rheumatoid arthritis. *Am. J. Med.* 2003; 114:647-52.

Gorman JD. Smoking and rheumatoid arthritis: another reason to just say no. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:10-13.

Gorman JD, Lum RF, Chen JJ, Suarez-Almazor ME, Thomson LA, Criswell LA. Impact of shared epitope genotype and ethnicity on erosive disease: a meta-analysis of 3240 rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:400-12.

Gromadzka G, Zielinska J, Ryglewicz D, Fiszer U, Czlonkowska A. Elevated levels of anti-heat shock protein antibodies in patients with cerebral ischemia. *Cerebrovasc. Dis.* 2001; 12(3):235-239.

Hallgren R, Berne C. Glucose intolerance in patients with chronic

inflammatory diseases is normalized by glucocorticoids. *Acta Med. Scand.* 1983; 213:351-5.

Harats D, George J. Beta2-glycoprotein 1 and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2001; 12: 543-546.

Harats D, Yacov N, Gilburd B, Shoenfeld Y, George J. Oral tolerance with shock protein 65 attenuates mycobacterium tuberculosis-induced and high-fat-diet-driven atherosclerotic lesions . *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 40:1333-8.

Harrison BJ. Influence of cigarette smoking on disease outcomes in rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2002;14:93-7.

Harrison BJ, Symmons DP, Barret EM, Silman AJ. The performance of the 1987 ARA classification criteria for rheumatoid arthritis in a population based cohort of patients with early inflammatory polyarthritis. *J. Rheumatol.* 1998; 25:2324-30.

Heiss G, Sharret AR, Barnes R, Chambless LE, Szklo M, Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am.J. Epidemiol.* 1991; 134:250-256.

Hermann F, Forster A, Chenevard R, et al. Simvastatin improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 45:

461-464.

Hernanz A, Plaza A, Martin-Mola E, De Miguel E. Increased plasma levels of homocysteine and other thiol compounds in rheumatoid arthritis women. Clin. Biochem. 1999; 32:65-70.

Hess DC, Krauss J, Adams R, Nicholas FT, Zhary DL, Rountree HA. Anticardiolipin antibodies: a study of frequency in TIA and stroke. Neurology 1991;41:525-528.

Hochberg MC, Chand RW, Dwosh I, Lindsey S, Pincus T, Wolfe F. The American College of Rheumatology 1991 revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1992;35(5): 498-502.

Hodis HN, Quismorio FP Jr, Wickham E, Blankenhorn DH, The lipid lipoprotein, and apolipoprotein effects of hydroxichloroquine in patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 1993; 20:661-665.

Hoppichler F, Lehleitner M, Tragweiger C, et al. Changes of serum antibodies to heat-shock protein 65 in coronary heart disease and acute myocardial infarction . Atherosclerosis 1996; 126:333-338.

Horkko S, Miller E, Dudl E, et al. Antiphospholipid antibodies are directed against epitopes of oxidized phospholipids. Recognition of cardiolipin by

monoclonal antibodies to epitopes of oxidized low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.* 1996; 98:815-825.

Horvath L, Czirjak L, Fekete B, Jakab L, et al. Levels of antibodies against C1q and 60 Kda family of heat shock proteins in the sera of patients with various autoimmune diseases. *Immunol Lett.* 2001; 75:103-9.

Hoshida S, Nishino M, Tanouchi J, et al. Acute Chlamydia pneumoniae infection with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2005; 183:109-112.

Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J. Rheumatol.* 13:486-489.

Huittinen T, Leinonen M, Tenkanen L, et. Al. Autoimmunity to human heat shock protein 60, Chlamydia pneumoniae infection, and inflammation in predicting coronary risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002;22:431-7.

Hurlimann D, Forster A, Noll G, et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha treatment improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2002; 106:2184-2187.

Hurt-Camejo E, Paredes S, Masaa L, Camejo Sartipy P, Rosengren B, et al. Elevated levels of small, low-density lipoprotein with high affinity for arterial matrix components in patients with rheumatoid arthritis: possible contribution of phospholipase A2 to this atherogenic profile. *Arthritis Rheum.*

2001;44:2761-2767.

Ioannidis JP, Tarassi K, Papadoulos IA, Voulgari PV, Boki KA, Papasteriades CA, et al. Shared epitopes and rheumatoid arthritis: disease associations in Greece and meta-analysis of Mediterranean European populations. *Semin. Arthritis Rheum.* 2002; 31:361-70.

Inoue T, Yaguchi I, Uchida T, et al. Clinical significance of the antibody against oxidised low-density lipoprotein in acute myocardial infarction. *Cardiology* 2002; 98:13-7.

Jacobson LTH, Knowler WC, Pillemer S, Hanson RL, Pettit DJ, Nelson RG, et al. Rheumatoid arthritis and mortality: a longitudinal study in Pima Indians. *Arthritis Rheum.* 1993;36:1045-1053.

Jacobsson LTH, Turesson C, Gülfe A, Kapetanovic MC, Petersson IF, Saxne T, Geborek P. Treatment with Tumor necrosis factor blocker is associated with a lower incidence of first cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2005; 32:1213-8.

Jansen LM, Van Schaardenburg D, Van Der Horst-Bruinsma I, Van Der Stadt RJ, et al. The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J. Rheumatol.* 2003; 30:30:1691-5.

Jolly C, Morimoto R. Role of heat shock response and molecular chaperones

in oncogenesis and cell death. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92:1564-72.

Kalayoglu MV, Hoerneman B, LaVerda D, Morrison SG, Morrison RP, Byrne GI. Cellular oxidation of low-density lipoprotein by *Chlamydia pneumoniae*. *J. Infect. Dis.* 1999; 180:780-90.

Keystone E, Weinblatt M, Furst D, et al. The armada trial: a double-blind placebo controlled trial of the fully human anti-TNF monoclonal antibody, adalimumab (D2E7) in patients with active RA on Methotrexate (MTX). *Arthritis Rheum.* 2001;44:213.

Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, et al. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J. Infect. Dis.* 2000;181 (suppl.3): S462-S472.

Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. and the Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis Study Group. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: Smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:53-61.

Klareskog L, Van der Heijde D, De Jager JP, Gough A, Kalden J, Malaise M, et al. The therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis : double-blind randomized controlled trial. *Lancet* 2004; 363:675-81.

Klocke R, Cockcroft JR, Taylor GJ, Hall IR, Blake DR. Arterial stiffness and central blood pressure , as determined by pulse wave analysis in rheumatoid arthritis . *Ann Rheum. Dis.* 2003; 62:414-8.

Kodera M, Hayakawa I, Komura K, et al. Anti-lipoprotein lipase antibody in systemic sclerosis: association with elevated serum triglyceride concentrations. *J Rheumatol.* 2005; 32: 629-36.

Kol A, Bourcier T, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60s activate human vascular endothelium ,smooth muscle cells, and macrophages. *J. Clin. Invest* 1999; 103:571-7.

Kol A, Lichtman AH, Finberg RW, Libby P, Kurt-Jones EA. Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response. CD14 is an essential receptor for HSP 60 activation of mononuclear cells. *J. Immunol.* 2000; 164:13-7.

Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shok protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and metalloproteinase expression. *Circulation* 1998; 98(4):300-7.

Kong YY, Feige U, Sarosi I. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402: 304-9.

Krause D, Schleusser B, Herborn G, Rau R. Response to methotrexate treatment is associated with reduced mortality in patients with severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43:14-21.

Kremer JM, Genovese MC, Cannon GW, et al. Concomitant leflunomide therapy in patients with active rheumatoid arthritis despite stable doses of methotrexate: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern. Med.* 2002; 137(9):726-733.

Kremer JM, Westhoven R, Leon M, et al. Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4-IgG. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:1907-15.

Kremers HM, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Prognostic importance of low body mass index in relation to cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:3450-7.

Krishnan E, Fries JF. Reduction in long-term functional disability in rheumatoid arthritis from 1977 to 1998: A longitudinal study of 3035 patients. *Am. J. Med.* 2003; 115:371-376.

Krishnan E, Lingala VB, Singh G. Declines in mortality from acute myocardial infarction in successive incidence and birth cohorts of patients with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2004; 110:1774-9.

Kuder SA, Peshimam A, Agraharam S. Environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Rev. Environ. Health.* 2002; 17:307-315.

Kumeda Y, Inaba M, Goto H, Nagata M, Henmi Y, Furumitsu Y, Ishimura E, Inui K, Yutani Y, Miki T, Shoji T, Nishizawa Y. Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 46:1489-1497.

Kushner MJ. Prospective study of anticardiolipin antibodies in stroke. *Stroke* 1990; 21:295-298.

Kwoh CK, and the American College of Rheumatology Subcommittee on rheumatoid arthritis guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 46:328-346.

Lakka TA, Salonen R, Kaplan GA, Salonen JT. Blood pressure and the progression of carotid atherosclerosis in middle-aged men. *Hypertension* 1999; 34:51-56.

Lamb DJ, El-Sankary W, Ferns GAA. Molecular mimicry in atherosclerosis: a role for heat shock proteins in immunisation. *Atherosclerosis* 2002; 167:177-185.

Lamb DJ, Ferns GA. The magnitude of the immune response to heat shock

protein-65 following BCG immunization is associated with the extent of experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002;165:231-40

Landewé RB. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. *Arthritis Rheum.* 2003; 48:1-5.

Lard LR, Visser H, Speyer I, Van der Horst-Bruinsma IE, Zwinderman AH, Breedveld FC, et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am. J. Med.* 2001; 111:446-451.

Lawrence RC, Helmick CG, Arnet FC, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. *Arthritis Rheum.* 1998; 41:778-799.

Lazarevic MB, Vitic J, Mladenovic V, et al. Dyslipoproteinemia in the course of active rheumatoid arthritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 1992; 22:172-8.

Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 2003; 62:870-874.

Lee YH, Choi SJ, Ji JD, Seo HS, Song GG. Lipoprotein(a) and lipids in relation to inflammation in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2000; 19:324-5.

Lewis S, Keil LB, Binder WL. Standardized measurement of major immunoglobulin class (IgG, IgA, IgM) antibodies to beta2-gpI in patients with antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Lab. Anal.* 1998; 12: 293-7.

Li JJ, Fang CH. Atheroscleritis is a more rational term for the pathological entity currently known as atherosclerosis. *Med. Hypotheses* . 2004; 63:100-102

Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 104:365-72.

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

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105:1135-43.

Lipsky PE, Van der Heide DM, St Clair EW, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis: Anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study group. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343(22):1594-1602.

Lopez LR, Simpson DF, Hurley BL, Matsuura E. OxLDL/ B2GP1 Complexes and autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and antiphospholipid syndrome. Pathogenic implications

for vascular involvement. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005; 1051:313-322.

Lopes-Longo FJ, Rodrigues-Mahou M, Sanchez-Ramon S, Estechea A, Balsera M, Plaza R, Fernandez-Cruz E, Perez LC. Anti-cyclic citrullinated peptide versus anti-Sa antibodies in diagnosis of rheumatoid arthritis in an outpatient clinic for connective tissue disease and spondyloarthritis. *J Rheumatol.* 2006; 33: 1476-81.

Lorber M, Aviram M, Linn S, Scharf Y, Brook JG. Hypcholesterolaemia and abnormal high-density lipoprotein in rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.* 1985; 24:250-255.

Lowe GDO, Yarnell JWG, Rumley A, Bainton D, Sweetnam. C-reactive protein, fibrin D-dimer, and incident ischemic heart disease in the speedwell study. Are inflammation and fibrin turnover linked in pathogenesis?

Lund J, Qin QP, Ilva T, Petterson K, Voipio-Pulkki LM, Porela P, Pulkki K. Circulating pregnancy-associated plasma protein A predicts outcome in patients with coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003; 108:1924-1926.

Luosojärvi RM, Aho K, Kautiainen H, Isomaki H. Cardiovascular mortality in women with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1995; 22:1065-7.

Luzzo G, Kopecky SL, Frye RL, O'Fallon WM, Maseri A, Goronzy JJ, et al.

Perturbation of the T cell repertoire in patients with unstable angina. *Circulation* 1999; 100:2135-9.

Ma J, Hennekens CH, Ridker PM, Stampfer MJ. A prospective study of fibrinogen and risk of myocardial infarction in the physicians' healthy study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 33:1347-52.

Machold KP, Stamm TA, Eberl GJ, Nell VK, Dunky A, Uffmann M, et al. Very recent onset arthritis : clinical, laboratory and radiological findings during the first year of disease. *J. Rheumatol.* 2002; 29:2278-87.

Mäki-Petäjä KM, Hall FC, Booth AD, et al. Rheumatoid arthritis is associated with increased aortic pulse-wave velocity, which is reduced by anti-tumor necrosis factor- α therapy. *Circulation.* 2006; 114:1185-1192.

Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, et al. Osteoprotegerin is a α v β 3-induced, NF-Kappa B-dependent survival factor for endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 2000; 275:20959-20962.

Mandal K, Foteinos G, Jahangiri M, Xu Q. Role of antiheat shock protein 60 autoantibodies in atherosclerosis. *Lupus* 2005; 14: 742-746.

Mandal K, Jahangiri M, Xu Q. Autoimmunity to heat shock proteins in atherosclerosis. *Autoimmunity Reviews.* 2004; 3:31-37.

Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis . A population-based study. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:722-32.

Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, Ballman KV, Roger VL, Jacobsen, SJ, Gabriel SE. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis. A population-based cohort study. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:402-11.

Matsuura E, Kobayashi K, Tabuchi M, Lopes LR. Accelerated atheroma in the antiphospholipid syndrome. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2006; 32:537-51.

Mayr M, Meltzer B, Kiechl S, et al. Endotelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*: immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1560-6.

McCarey DW, McInnes IB, Madhok R, et al. Trial of atorvastatin in rheumatoid arthritis (TARA): double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 363: 2015-2021

Mc Entegart A, Capell HA, Crenan D, Runley A, Woodward M, Lowe GD. Cardiovascular risk factors including thrombotic variables in a population with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:640-4.

McGonagle D, Conaghan PG, O'Connor P, Gibbon W, et al. The relationship between synovitis and bone changes in early untreated rheumatoid arthritis: a controlled magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum.* 1999; 42:1706-11.

McQueen FM, Benton N, Crabbe J, Robinson E, et al. What is the fate of erosions in early rheumatoid arthritis? Tracking individual lesions using x-rays and magnetic resonance imaging over the first two years of disease. *Ann. Rheum. Dis.* 2001; 60:859-68.

McInnes IB, Liew FY. Cytokine networks- towards new therapies for rheumatoid arthritis . *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2005; 1:31-39.

McMahon M, Grossman J, Fitzgerald J, et al. Pro-inflammatory HDL as a biomarker for atherosclerosis in SLE and RA. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:S697-S698.

Mehta TA, Greenman J, Ettelaie C, et al. Heat shock proteins in vascular disease- A review. *Eur. J. Endovasc. Surg.* 2005;29:395-402.

Merkel PA, Chang Y, Pierangeli SS, et al. The prevalence and clinical associations of anticardiolipin antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue diseases. *Am. J. Med.* 1996; 101:576-583.

Meroni PL, Raschi E, Camera M, Testoni C, Khamashta MS, Temoli E. Fluvastatin inhibits the activation of endothelial cells induced by antiphospholipid antibodies in vitro. *Arthritis Rheum.* 2000; 43(suppl.):115.

Mikuls TR. Co-morbidity in rheumatoid arthritis. *Best Pract Res. Clin. Rheumatol.* 2003; 17:729-752.

Mimori T. Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Internal Medicine.* 2005; 44: 1122-1126.

Miranda-Carús ME, Benito-Miguel M, Balsa A, et al. Peripheral blood T lymphocytes from patients with early rheumatoid arthritis express RANKL and interleukin-15 on the cell surface and promote osteoclastogenesis in autologous monocyte. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 1151-1164

Mitchell AM, Spitz PW, Young DY, et al. Survival, prognosis and causes of death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1986; 29:706-14.

Morimoto RI. Cells in Stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 1993; 259(5100):1409-10.

Mottonen T, Hannonen P, Korpela M, Nissila M, Kautiainen H, Ilonen J, et al. Delay to institution of therapy and induction of remission using single-drug or combination-disease-modifying antirheumatic drug therapy in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 894-8.

Mottonen T, Hannonen P, Lieralalo M, et al. Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Lancet* 1999; 353:1568-1573.

Mukherjee M, De Benedictis C, Jewitt D, Kakkar VV. Association of antibodies to heat-shock protein-65 with percutaneous transluminal coronary angioplasty and subsequent restenosis. *Thromb. Haemost.* 1996; 75:258-60.

Munro R, Morrison E, McDonald AG, Hunter JA, Madhok R, Capell HA. Effect of disease modifying agents on the lipid profiles of patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 1997; 56:374-7.

Myllykangas-Luosujarvi R, Aho K, Kautiainen H, Isomaki H. Shortening of life span and causes of excess mortality in a population-based series of subjects with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1995; 13:149-153.

Myllykangas-Luosojärvi Aho K, Kautiainen H, Isomaki H. Cardiovascular mortality in women with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1995; 22:1065-1067.

Nagaraja D, Cristopher R, Manjari T. Anticardiolipin antibodies in ischemic stroke in the young : Indian experience. *J. Neurol. Sci.* 1997;150:137-42

Nell VPK, Machold KP, Eberl G, Uffmann M, Stamm T, Smolen JS. Benefit

of very early referral and therapy with disease-modifying antirheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis (abstract) *Ann. Rheum. Dis.* 2002; 61(suppl.I):37.

Nepom GT, Byers P, Seyfried C. HLA genes associated with rheumatoid arthritis: Identification of susceptibility alleles using specific oligonucleotide probes. *Arthritis Rheum.* 1989;32:15-21.

Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50:380-386.

Nishimoto N, Niyoshizaki K, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with humanized anti-interleukin-6 receptor: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:1761-9.

O'Dell JR, Leff R, Paulsen G, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with methotrexate and hydroxychloroquine, methotrexate and sulfasalazine, or a combination of the three medications : results of a two year, randomized, double-blind , placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(5): 1164-1170.

O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. The cardiovascular healthy study collaborative research group. Carotid-artery

intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340:14-22.

Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, Macphee CH, Suckling KE, Krishna M, Wilkinson FE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N. Engl. J. Med.* 2000;343:1148-1155.

Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:3085-92.

Palinski W, Witztum JL. Immune responses to oxidative neoepitopes on LDL and phospholipids modulate the development of atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 2000; 247:371-80.

Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for the therapy. *Circulation* 2004; 109(suppl.III):III-20-III-26.

Paolisso G, Valentini G, Giugliano D, Marazzo G, Tirri R, Gallo M, et al. Evidence for peripheral impaired glucose handling in patients with connective tissue diseases. *Metabolism* 1991; 40:902-7.

Park YB, Lee SK, Lee WK, Such CH, et al. Lipid profiles in untreated patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1999;26:1701-1704.

Park YB, Ahn CW, Choi HK, Lee SH, In BH, Lee HC, Nam CH, Lee SK. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis . Morphologic evidence obtained by carotid ultrasound. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 1714-1719.

Park YB, Choi HK, Kim MY, Lee WK, Song J, Kim DK, Lee SK. Effects of antirheumatic therapy on serum lipid levels in patients with rheumatoid arthritis : A prospective study. *Am. J. Med.* 2002;113:188-193.

Pasceri V, Yeh ETH. A tale of two diseases. Atherosclerosis and rheumatoid arthritis, *Circulation* 1999;100:2124-2126.

Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct pro-inflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102:2165-8.

Patterson C, Cyr D. Welcome to machine: a cardiologist's introduction to protein folding and degradation. *Circulation* 2002; 106(21):2741-6.

Pereira IA, Pereira RMR. Osteoporose e erosões ósseas focais na artrite reumatóide: da patogênese ao tratamento. *Rev Bras Reumatol.* 2004; 44:347-54.

Petri M, Lakatta C, Magder L, Goldman D. Effect of prednisone and

hydroxychloroquine on coronary artery disease risk factors in systemic lupus erythematosus: a longitudinal data analysis. *Am. J. Med.* 1994; 96: 254-9.

Pinals RS, Mas AF, Larsen RA. Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1981; 24:1308-15.

Pincus T, Callahan LF. Formal educational level: as a marker for increased mortality and morbidity in rheumatoid arthritis. *J. Chronic Dis.* 1984; 31:552.

Pincus T, Callahan LF. Remodeling the pyramid or remodeling the paradigms concerning rheumatoid arthritis: lessons from Hodgkin's disease and coronary artery disease. *J. Rheumatol.* 1990; 17:1582-5.

Pincus T, Callahan LF, Sale WG, et al. Severe functional declines, work disability, and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years. *Arthritis Rheum.* 1984; 27:864-72.

Pincus T, Callahan LF. Taking mortality in rheumatoid arthritis seriously: predictive markers, socioeconomic status and comorbidity. *J. Rheumatol.* 1986; 13:841-5.

Pincus T, O'Dell JR, Kremer JM. Combination therapy with multiple disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis: a preventive strategy. *Ann. Intern. Med.* 1999; 131(10):768-774.

Pockley AG, de Faire U, Kiessling R, Lemme C, Thulin T, Frostegard J. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *J. Hyperten.* 2002; 20:1815-20.

Pollard L, Choy E. Rheumatoid arthritis: non-tumor necrosis factor targets. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2005;17:242-46.

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 Rheum.* 1995; 38: 44-8.

Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001; 21:1610-1616.

Prior P, Symmons DP, Scott DL, Brown R, Hawkins CF. Cause of death in rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.* 1984; 23:92-9.

Prohaska Z, Duba J, Horvath L. Comparative study on antibodies to human and bacterial 60 KDa heat shock proteins in a large cohort of patients with coronary heart disease and healthy subjects. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001; 31:285-92

Puolakka K, Kautiainen H, Mottonen T, Hannonen P, et al. Early suppression of disease activity is essential for maintenance of work capacity in patients with recent-onset rheumatoid arthritis : five-year experience from the FIN-RACo trial. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:36-41.

Puppo F, Murdaca G, Ghio M, Indiveri F. Emerging biologic drugs for the treatment of rheumatoid arthritis. *Autoimmun. Rev.* 2005; 4:537-41.

Qin QP, Laitinen P, Majamaa-Voltti K, et al. Release patterns of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in patients with acute coronary syndromes. *Scand. Cardiovasc. J.* 2002;36:358-361.

Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, et al. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. *J. Clin. Invest.* 1998; 101:746-754.

Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallman G, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:2741-2749.

Rantapaa-Dahlqvist S, Wallberg-Jonsson S, Dahlen G. Lipoprotein (a) , lipids, and lipoproteins in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 1991; 50:366-8.

Ranzolin A, Bohn JM, Norman GL, Manenti E, Bodanese LC, von Mullen

CA, et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies as risk factors for acute myocardial infarction. *Arq. Bras. Cardiol.* 2004; 83: 141-4.

Raza K, Banks M, Kitas GD. Reversing myocardial microvascular disease in a patient with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2005;32:754-6.

Reichlin M, Fesmire J, Quintero-Del-Rio AI, Wolfson-Reichlin M. Autoantibodies to lipoprotein lipase and dyslipidemia in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(11): 2957-63.

Report of the the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1997; 20: 1183-97

Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998; 98:731-3.

Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342:836-843.

Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;

351:88-92.

Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin 6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101:1767-72.

Ridker PM, Stamper MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein , fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *Jama* 2001; 285:2481-2485.

Riedemann JP, Muñoz S, Kavanaugh A. The use of second generation anti-CCP (anti-CCP2) testing in rheumatoid arthritis- A systematic review. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2005; 23 (suppl. 39): S69-S76.

Riise T, Jacobsen BK, Gran JT, et al. Total mortality is increased in rheumatoid arthritis . A 17-year prospective study. *Clin. Rheumatol.* 2001; 20:123-127.

Ritossa F. A new puffing pattern induced and temperature shock and DNP in *Drosophila*, *Experimentia* 1962; 18:571-573.

Roman MJ, Moeller E, Davis A, Paget SA, Crow MK, Lockshin MD, Samaritano L, Devereux RB, Schwartz JE, Levine DM, Salmon JE. Preclinical carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann.*

Intern. Med. 2006; 144: 249-256.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature 1993; 362: 801-9.

Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. N. Engl. J. Med. 1999; 340:115-26.

Roubenoff R, Dellaripa P, Nadeau MR, Abad LW, Mudoon BA, Selhub J, et al. Abnormal homocysteine metabolism in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1997; 40:718-22.

Rodrigues G, Sulli A, Cutolo M, Vitali P, Nobili F. Carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. A preliminary case-control study. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002; 966:478-482.

Ryan M, Owens D, Kilbride B, Collins P, Johson A, Tomkin GH. Antibodies to oxidized lipoproteins and their relationship to myocardial infarction. Q.J. Med. 1998; 91:411-5.

Saag KG, Cerhan JR, Kolluri S, Ohashi K, et al. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity. Ann Rheum. Dis. 1997; 56:463-9.

Salonen JT, Yla Herttuala S Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid

atherosclerosis. *Lancet* 1992; 339:883-887.

Saraux A, Berthelot M, Chales G, Le Henaff C, Thorei JB, Hoang S, et al. Ability of the American College of Rheumatology 1987 criteria to predict rheumatoid arthritis in patients with early arthritis and classification of these patients two years later. *Arthritis Rheum.* 2001; 44:2485-91.

Sato H, Miyata M, Kasukawa R. Expression of heat shock protein on lymphocytes in peripheral blood and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1996; 23: 2027-32.

Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes I. Explaining how “high-grade” systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003; 108:2957-2963.

Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. Rank ligand and osteoprotegerin. Paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22:549-553.

Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, et al. Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88:1024-28.

Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Pratt JE, Tracy RP, Kuller LH, Manzi S. Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery

and aorta in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2004;50:151-159.

Sene D, Ghillani-Dalbin P, Limal N, Thibault V, van Boekel T, Piette JC, Cacoub P. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in hepatitis C virus associated rheumatological manifestations and Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65: 394-7.

Seriolo B, Fasciolo D, Sulli A, Cutolo M. Homocysteine and antiphospholipid antibodies in rheumatoid arthritis patients: relationships with thrombotic events. *Clin Exp Rheumatol.* 2001; 19: 561-4.

Sherer Y, Gerli R, Vaudo G, Schillaci G, et al. Prevalence of antiphospholipid and antioxygenized low-density lipoprotein antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2005; 1051:299-303.

Sherer Y, Shoenfeld Y. Atherosclerosis: is atherosclerosis a cellular or humoral mediated auto-immune disease? *Ann. Rheum. Dis.* 2002; 61:97-9.

Shoenfeld Y, Harats D, George J. Atherosclerosis and the antiphospholipid syndrome: a link unravelled ? *Lupus* 1998; 7(suppl):140-143.

Silman AJ, Hochberg MC. *Epidemiology of the rheumatic diseases.* Oxford, Oxford University press 1993.

Silman AJ, Newman J, MacGregor AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis: results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum.* 1996; 39:732-735.

Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89:309-319.

Singh R, Robinson DB, El-Gabalawy HS. Emerging biologic therapies in rheumatoid arthritis: cell targets and cytokines. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2005;17:274-279.

Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH et al. A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology* 2003;42:244-257

Snow MH, Mikuls TR. Rheumatoid arthritis and cardiovascular disease: the role of systemic inflammation and evolving strategies of prevention. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2005;17:234-241.

Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003;107:1303-1307.

Solomon DH, Curhan GC, Rimm EB, Cannuscio CC, Karlson EW. Cardiovascular risk factors in women with and without rheumatoid arthritis.

Arthritis Rheum. 2004; 50: 3444-3449.

Soltesz P, Veres K, Lakos Kiss E, et al. Evaluation of clinical and laboratory features of antiphospholipid syndrome : a retrospective study of 637 patients. Lupus 2003; 12:302-307.

Souza SCM, Andrade DCO, Radu AS, Gonçalves CR, Kochen JAL, Borba EF, Laurindo IMM. Metabolic syndrome X and rheumatoid arthritis in Brazilian patients. Poster number: 761, presented in ACR annual meeting. October 2003, Orlando.

Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1995; 15:1512-31.

Staub HL, Franck M, Ranzolin A, Norman GL, Iverson GM, Von Mühlen CA. IgA antibodies to beta2-glycoprotein I and atherosclerosis. Autoimmunity Reviews 2006; 6: 104-106.

Staub HL, Norman GL, Crowter T, da Cunha VR, Polanczyk A, Bohn JM, Fernandes JG, Chahade WH von Muhlen CA. Antibodies to the atherosclerosis plaque components beta2-glycoprotein I and heat-shock proteins as risk factors for acute cerebral ischemia. Arq. Neuropsiquiatr.

2003; 61:757-63.

Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Keinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am. J. Pathol.* 2001;158:879-91.

Suissa S, Bernatsky S, Hudson M. Antirheumatic drug use and the risk of acute myocardial infarction. *Arthritis Rheum.* 2006; 55:531-536.

Suzuki A, Ohosone Y, Obana M, et al. Cause of death in 81 autopsied patients with RA. *J. Rheumatol.* 1994; 21:33-6.

Svenson KL, Lundqvist G, Wide L, Hallgren R. Impaired glucose handling in active rheumatoid arthritis: relationship to the secretion of insulin and counter-regulatory hormones. *Metabolism* 1987; 36:940-3.

Symmons DP, Jones MA, Scott DL, Prior P. Long term mortality outcome in patients with rheumatoid arthritis: early presenters continue to do well. *J. Rheumatol.* 1998; 25:1072-7.

Takayanagi H, Lizuka H, Jupi T, et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in

osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 259-69

The Seventh Report of the joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003; 289 : 2560-72

Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Weinehall L, Huhtasaari F, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998; 98:2241-7.

Toub E, Shoenfeld Y. Predictive and protective autoimmunity in cardiovascular diseases: is vaccination therapy a reality ? *Lupus* 2005; 14: 665-669.

Tuhrim S, Rand JH, WU X, et al. Elevated anticardiolipin antibody titer is a stroke risk factor in a multiethnic population independent of isotype or degree of positivity. *Stroke* 1999; 30:1561-1565.

Turesson C, O'Falloon WM, Crowsson CS, et al. Occurrence of extraarticular disease manifestations is associated with excess mortality in a community based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2002; 29:62-

67.

Turesson C, O'Fallon WM, Crowson CS, Gabriel SE, Matheson EL. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. *Ann. Rheum. Dis.* 2003; 62:722-7.

Turesson C, Jarenros A, Jacobson L. Increased incidence of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from a community based study. *Ann. Rheum. Dis.* 2004;63:952-955.

Uhlig T, Hagen KB, Kuien TK. Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1999;26:47-54.

Vaarala O, Monttari M, Manninen V, et al. Anti-cardiolipin antibodies and risk of myocardial infarction in a prospective cohort of middle-aged men. *Circulation* 1995; 91:23-7.

Van Aken J, Lard LR, le Cessie S, Breedveld FC, et al. Radiological outcome after four years of early versus delayed treatment strategy in patients with recent onset rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63:274-279.

Van der Heide A, Jacobs JW, Bijlsma JW, Heurkens AH, et al. The effectiveness of early treatment with "second-line" antirheumatic drugs. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 1996 124: 699-707.

Vand Doornum S, Brand C, King B, Sundarajan V. Increased case fatality rates following a first acute cardiovascular event in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:2061-8.

Van Doornun S, McColl G, Wicks IP. Accelerated atherosclerosis: an extraarticular feature of rheumatoid arthritis ? *Arthritis Rheum.* 2002; 46:862-873.

Van Doornum S, McColl G, Wics IP. Atorvastatin reduces arterial stiffness in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63; 1571-1575.

Van Doornum S, McColl G, Wics IP. Tumour necrosis factor antagonists improve disease activity but not arterial stiffness in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2005; 44:1428-32.

Van Everdingen AA, Jacobs JW, Siewertsz Van Reesema DR, Bijlsma JW. Low-dose prednisone therapy for patients with early active rheumatoid arthritis: clinical efficacy, disease-modifying properties and side effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med.* 2002; 136: 1-12.

Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:709-715.

Van Gestel AM, Haagsma CJ, van Riel PLCM. Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts. *Arthritis Rheum.* 1998;41: 1845-50.

Van Halm VP, Slot MC, Nurmohamed MT, Cohen Tervaert JW, Dijkmans. Antibodies against human 60 KDa heat shock protein are not associated with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2006; 65: 590-4.

Van Venrooij WJ. Is assaying autoantibodies useful for diagnosing early rheumatoid arthritis ?. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2005;1:4-5.

Vaudo G, Marchesi S, Gerli R, Allegrucci R, Giordano A, Siepi D, et al. Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity. *Ann. Rheum. Dis.* 2004; 63:31-5.

Verstappen SMM, Boonen A, Verkleij H, et al. Productivity costs among patients with rheumatoid arthritis: the influence of methods and sources to value loss of productivity. *Ann. Rheum. Dis.* 2005;64:1754-1760.

Vessey MP, Villard-Mackintosh L, Yeats D. Oral contraceptives, cigarette smoking and other factors in relation to arthritis . *Contraception* 1987; 35:457-64.

Visser H, Le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 46: 357-365.

Vollersten RS, Conn D, Ballared DJ, et al. Rheumatoid vasculitis: survival and associated risk factors. *Medicine* 1986; 65:365-75.

Wada Y, Kuroda T, Murasawa A, Tanabe N, Nakano M, Gejyo F. Autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein (LDL) and carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheum.* 2005; 23: 482-6.

Wagenknecht LE, D'Agostino R Jr, Savage PJ, O'Leary DH, Saad MF, Haffner SM. Duration of diabetes and carotid wall thickness. The insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Stroke* 1997;28:999-1005.

Wakefield RJ, Gibbon WW, Conaghan PG, O'Conor P, McGonagle D, Pease C, et al. The value of sonography in the detection of bone erosion in patients with rheumatoid arthritis: a comparative study with conventional radiography. *Arthritis Rheum.* 2000; 3:2762-70.

Wallace DJ, Linker-Israeli M, Metzger AL, Stecher VJ. The relevance of antimalarial therapy with regard to thrombosis, hypercholesterolemia and cytokines in SLE. *Lupus* 1993; 2 (suppl.1): S13-5

Wallberg-Jonsson S, Backman C, Johnson O, Karp K, Lundström E, Sundqvist KG, Rantapää D. Increased prevalence of atherosclerosis in patients with medium term rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2001; 28:2597-2602.

Wallberg-Jonsson S, Cederfelt M, Rantapää Dahlaquist S. Hemostatic factors and cardiovascular disease in active rheumatoid arthritis: an 8 year follow up study. *J. Rheumatol.* 2000; 27:71-5.

Wallberg-Jonsson S, Cvetkovic JT, Sundqvist KG, et al. Activation of the immune system and inflammatory activity in relation to markers of atherothrombotic disease and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2002; 29:875-82.

Wallberg-Jonsson S, Johansson H, Ohman ML, Rantapää-Dahlqvist S. Extent of inflammation predicts cardiovascular disease and overall mortality in seropositive rheumatoid arthritis : a retrospective cohort study from disease onset. *J. Rheumatol.* 1999; 26:2562-71.

Wallberg-Jonsson S, Öhman ML, Rantapää DS. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive rheumatoid arthritis in northern Sweden. *J. Rheumatol.* 1997; 24:445-451.

Warrington KJ, Kent PD, Frye RL, Lymp JF, Kopecky SL, Goronzy JJ, Weyand CM. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for multi-

vessel coronary artery disease: a case control study. *Arthritis Res. Ther.* 2005; 7: R 984-91.

Watson DJ, Rhodes T, Guess HA. All cause mortality and vascular events among patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, or no arthritis in the UK General Practice Research Database . *J. Rheumatol.* 2003; 30:1196-1202.

Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, et al. Adalimumab , a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate. The ARMADA trial. *Arthritis Rheum.* 2003; 48(1):35-45.

Weinblatt ME, Kremer J, Bankgurst A, et al. A Trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340:253-259.

Weyand CM, Hicok KC, Conn DL, Goronzy JJ. The influence of HLA-DRB1 genes on disease severity in rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med.* 1992; 117:801-6.

White D, Fayez S, Doube A. Atherogenic lipid profiles in rheumatoid arthritis. *N. Z. Med. J.* 2006; 119(1240): U2125.

Wick G, Knoflach M, Xu Q. Autoimmune and inflammatory mechanisms in

atherosclerosis. *Annu. Rev. Immunol.* 2004;22:361-403.

Wick G, Perschinka H, Millonig G. Atherosclerosis as an autoimmune disease : an update. *Trends Immunol.* 2001; 22:665-9.

Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation* 2004; 109(suppl.II): II-2-II-10.

Wilson K, Goldsmith CH. Does smoking cause rheumatoid arthritis? *J. Rheumatol.* 1999; 26:1-3.

Wolfe F, Freundlich B, Straus WL. Increase in cardiovascular and cerebrovascular disease prevalence in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2003; 30:36-40.

Wolfe F, Mitchell DM, Sibbly JT, Fries JF, Bloch DA, Williams CA, et al. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1994; 37:481-94.

Wong M, Toh L, Wilson A, et al. Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis Rheum.* 2003; 48:81-89.

Wu R, Svenungsson E, Gunnarsson I, Anderson B, Lundberg I, Schafer, et al. Antibodies against lysophosphatidylcholine and oxidized LDL in patients with SLE. *Lupus* 1999; 8:142-150.

Yla-Herttuala S, Palinski W, Butler SW, Picard S, Steinberg D, Witztum JL. Rabbit and human atherosclerotic lesions contain IgG that recognizes epitopes of oxidized LDL. *Arterioscler. Throm.* 1994;14:32-40.

Yokota SI, Hirata D, Minota S, Higashiyama T, Kurimoto M, et al. Autoantibodies against chaperonin CCT in human sera with rheumatic autoimmune diseases: comparison with antibodies against Hsp60 family proteins. *Cell Stress Chaperones* 2000; 5: 337-46.

Young RA, Elliot TJ. Stress proteins, infection, and immune surveillance. *Cell* 1989;59:5-8.

Xu Q, Dietrich H, Steiner HJ, Grown AM, Schoel B, et al. Induction of atherosclerosis in normocholesterolaemic rabbits by immunisation with heat shock protein 65. *Arterioscler Thromb.* 1992; 12:789-99.

Xu Q, Kleindienst R, Waitz W, et al. Increased expression of heat shock protein 65 coincides with a population of infiltrating T lymphocytes in atherosclerotic lesions of rabbits specifically responding to heat shock protein 65. *J. Clin. Invest.* 1993; 91:2693-702.

Xu Q, Schett G, Perschinka H, et al. Serum soluble heat shock protein 60 is elevated in subjects with atherosclerosis in a general population. *Circulation* 2000; 102: 14-20.

Xu Q, Willeit J, Marosi M, et al. Association of serum antibodies to heat shock-protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet* 1993; 341:256-9.

Zampieri S, Iaccarino L, Ghirardello A, Tarricone E, Arienti S, Sarzi-Puttini P, Gambari P, Doria A. Systemic lupus erythematosus, atherosclerosis , and autoantibodies. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1051-61.

Zhang R, Brennan ML, FU X, et al. Associated between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease . *Jama* 2001;286:2136-2142.

Zhou X, Nicoletti A, Elhage R, et al. Transfer of CD4 + cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient , apolipoprotein E knockout mice. *Circulation* 2000; 102:2919-22.

Zhu J, Katz RJ, Quyyumi AA, et al. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with coronary calcification levels: suggestion of pathogen-triggered auto-immunity in early atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:36-41.

Ziolkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kB ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alfa treatment. *Arthritis Rheum.*2002; 46: 1744-1753.

10 – ANEXOS

ANEXO 1

**CRITÉRIOS REVISADOS DA ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE
REUMATISMO PARA CLASSIFICAÇÃO DO DIAGNÓSTICO DE
ARTRITE REUMATÓIDE (ARNETT, 1988)**

CRITÉRIO	DEFINIÇÃO
1 – Rigidez matinal	- Rigidez matinal articular ou peri-articular, com duração maior ou igual a 1 hora antes da melhora máxima.
2-Artrite de 3 ou mais áreas articulares	- Pelo menos 3 áreas articulares de 14 áreas possíveis (inter-falangiana proximal, metacarpo-falangiana, punho, cotovelo, joelho, tornozelo, metatarso-falangiana), direita ou esquerda, com edema de partes moles e ou derrame articular observado por um médico.
3 – Artrite das articulações das mãos	- Pelo menos uma área articular com edema (como definido acima) em um punho, articulação metacarpo-falangiana ou articulação inter-falangiana proximal.
4 – Artrite simétrica	- Envolvimento simultâneo das mesmas áreas articulares (como definido em 2) em ambos os lados do corpo (envolvimento bilateral das interfalangianas proximais, metacarpo-falangianas ou metatarso-falangianas sem simetria absoluta é aceitável).
5 – Nódulos reumatóides	- Nódulos subcutâneos sobre proeminências ósseas ou superficiais extensoras, ou em regiões justa-articulares observados por um médico.
6 – Fator reumatóide sérico	- Demonstração de quantidades anormais de fator reumatóide sérico por qualquer método, pelo qual o resultado tenha sido positivo em menos do que 5% dos controles normais.
7 – Alterações radiográficas	- Alterações radiográficas típicas de artrite reumatóide nas radiografias de mãos e punhos postero-anterior, as quais devem incluir erosões, osteopenia peri-articular ou justa-articular.

- **Pelo menos 4 destes critérios devem estar presentes. Critérios 1 ao 4 devem estar presentes por pelo menos 6 semanas. Pacientes não devem ser designados como tendo artrite reumatóide clássica, definida ou provável.**

ANEXO 2

Protocolo - Aterosclerose na artrite reumatóide e sua associação com auto-imunidade humoral

- Data do preenchimento:
- Responsável pelo preenchimento:

- Nome do paciente:
- Iniciais:
- Número do protocolo:
- Procedência:
- Local de nascimento:
- Registro do prontuário HU :
- Endereço:
- Telefone:
- Idade:
- Sexo:
- Cor:
- Altura:
- Peso:
- IMC:
- Ano do diagnóstico:
- Tempo de doença:

- Critérios diagnósticos para AR preenchidos (ARNETT, 1988):

Sim-----

Não-----

- Atividade da doença:
 - Avaliação global (médica)-escala análoga visual de 0 a 10cm-(0-
assintomático, 10- muito severo)

- Avaliação global (paciente)- escala análoga visual de 0 a 10 cm-
(0-assintomático, 10-muito severo)

- Contagem de articulações sensíveis (0 a 28):

- Contagem de articulações com edema (0 a 28):

Avaliação da dor (paciente) - escala análoga visual de 0 a 10cm-(0-sem dor,
10-pior dor possível) =

- DAS 28 (anexo 4) =

- IDAS (anexo 4) =

- HAQ (anexo 3) =

- Classe funcional (anexo 6)=

- Presença de manifestação extra-articular:

- Nódulos reumatóides:
- Síndrome de Sjögren secundária:
- Pleurite:
- Pericardite:
- Envolvimento pulmonar:
- Vasculite:
- Envolvimento ocular:
- Envolvimento renal:
- Amiloidose:

- Envolvimento cardiovascular:
 - HAS:
 - Doença coronariana.:
 - Angina:
 - IAM prévio:
 - Revascularização do miocárdio:
 - Cateterismo prévio:

- Envolvimento neurológico:
 - AVC:
 - AIT:
 - Doença ateromatosa em carótidas (diagnóstico prévio):

- Dislipidemia:
 - Hipercolesterolemia:
 - Hipertrigliceridemia

- Tabagismo:
 - Atual:
 - Prévio:

- Laboratório:

- HT:
- HB:
- VHS:
- PCR:
- Alfa 1 glicoproteína:
- FR:
- Creatinina:
- Glicose:
- AST:
- ALT:
- TG.:
- Colest.:
- HDL:
- LDL:
- CT/HDL:
- Fibrinogênio:
- Anti-CCP:
- Anti-beta2-gp1 - IgG-
- Anti-beta2-gp-1 -IgM-
- Anti-beta2-gp1 -IgA-
- Anti-cardiolipina IgG-
- Anti-cardiolipina IgM-
- Anti-HSP 60-
- Anti-HSP 65-

- Anti-LPL-
 - Critérios de exclusão:
 - Doenças
 - DM:
 - Hipotireoidismo:
 - Insuficiência renal:
 - Hepatopatia crônica:
 - HAS:
 - Drogas
 - Estatinas-
 - Fibratos-
 - US de carótidas
- Placa-
- Espessura média da camada intima e media da carótida comum-

ANEXO 3

- **Questionário –Health Assessment Questionnaire (HAQ):**

Você é capaz de:	Nível de dificuldade			
	sem qualquer	com alguma	com muita	Incapaz de fazer
1. Vestir-se, inclusive amarrar os	0	1	2	3

cordões do sapatos e abotoar suas roupas?				
2. Lavar sua cabeça e seus cabelos?	0	1	2	3
3. Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braço?	0	1	2	3
4. Deitar-se e levantar-se da cama?	0	1	2	3
5. Cortar um pedaço de carne?	0	1	2	3
6. Levar à boca um copo ou uma xícara cheia de café, leite ou água?	0	1	2	3
7. Abrir um saco de leite comum?	0	1	2	3
8. Caminhar em lugares planos?	0	1	2	3
9. Subir 5 degraus?	0	1	2	3
10. Lavar e secar seu corpo após o banho?	0	1	2	3
11. Tomar banho de chuveiro?	0	1	2	3
12. Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário?	0	1	2	3
13. Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5 kg, que está posicionado pouco acima da cabeça?	0	1	2	3
14. Curvar-se para pegar suas roupas no chão?	0	1	2	3
15. Segurar-se em pé no ônibus ou metrô?	0	1	2	3
16. Abrir potes ou vidros de conservas, que tenham sido previamente abertos?	0	1	2	3
17. Abrir e fechar torneiras?	0	1	2	3
18. Fazer compras nas redondezas onde mora?	0		2	3
19. Entrar e sair de um ônibus?	0	1	2	3
20. Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e rodo para água?	0	1	2	3

Escores dos componentes:

Componente 1, perguntas 1 e 2: Maior escore =

Componente 2, perguntas 3 e 4: Maior escore =

Componente 3, perguntas 5, 6 e 7: Maior escore =

Componente 4, perguntas 8 e 9: Maior escore =

Componente 5, perguntas 10, 11 e 12: Maior escore =

Componente 6, perguntas 13 e 14: Maior escore =

Componente 7, perguntas 15 e 16: Maior escore =

Componente 8, perguntas 18, 19 e 20: Maior escore =

Média aritmética dos

Escore dos componentes:

Escore do HAQ = _____

ANEXO 4

Escore DAS 28:

ENTRADA DE DADOS CLÍNICOS PARA CÁLCULO DO ESCORE DE
ATIVIDADE DA DOENÇA-DAS 28

	Esquerdo		Direito	
	Edema	Dor	Edema	Dor
Ombro				
Cotovelo				
Punho				
MCF 1				
2				
3				
4				
5				

IFP 1				
2				
3				
4				
5				
Joelho				
Subtotal				
Total	Edema		Dor	

Parâmetro Clínico	Valor
Contagem de articulações dolorosas	
Contagem de articulações com edema	
VHS (mm/ 1ª hora)	
*,**Saúde geral do paciente (escala análoga visual-mm)	

*-0 _____ 100mm

**Pergunta ao paciente- Como você se sente em relação a sua artrite ? (0= muito bem, 100mm- muito mal

Cálculo do DAS 28= (0,56 x $\sqrt{\text{dor 28}}$ + 0,28 x $\sqrt{\text{edema 28}}$ + 0,70 x VHS + 0,014 x avaliação global do paciente)

VALORES DO DAS 28- (0 a 9,3)

> 5,1 –alta atividade

< 3,2 – baixa atividade

< 2,6 –remissão

-IDAS-escore composto que consiste da soma de:

nº artic. dor + nº artic. edema + aval. global da doença pelo paciente + avaliação
global da doença pelo médico + PCR =

ANEXO 5

Classe funcional da AR (HOCHBERG,1992):

- **Classe I** (capacidade completa para realizar atividades comuns da vida diária (higiene, lazer, trabalho, escola))
- **Classe II** (limitação para atividades de lazer e esporte)
- **Classe III** (limitação para atividades usuais , exceto higiene própria e alimentação)
- **Classe IV** (limitação para todas as atividades usuais , inclusive higiene própria e alimentação)

ANEXO 6

Critérios de remissão da doença (ACR –1981 ,PINALS ,1981)

- Rigidez matinal menor que 15 min .
- Ausência de fadiga
- Ausência de sensibilidade articular ou dor a mobilização:
- Ausência de edema de partes moles ou bainhas tendinosas:
- Velocidade de hemossedimentação menor que 30mm (mulheres) ou

20mm (homens):

- Ausência de dor articular (pela história)
- Exclusões que proíbem a designação remissão clínica completa:

vasculite ativa, pericardite, pleurite, miosite ou perda de peso recente inexplicada , ou febre secundária a artrite reumatóide.

ANEXO 7

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisador : Ivânio Alves Pereira , Médico reumatologista assistente do Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário da UFSC. Coordenador do ambulatório de artrite reumatóide.

Título: ATEROSCLEROSE NA ARTRITE REUMATÓIDE E SUA ASSOCIAÇÃO COM AUTO-IMUNIDADE HUMORAL

Eu,

confirmando que o pesquisador me informou sobre o conteúdo deste estudo. Pude compreender que :

O estudo baseia-se na pesquisa de alterações laboratoriais que podem estar presentes nos pacientes portadores de artrite reumatóide e na população normal , e que estão relacionadas a uma maior incidência de doença cardiovascular.

Os objetivos deste estudo são : 1- estudar quantas pessoas do grupo a serem analisados têm estas alterações laboratoriais e quantas apresentam aterosclerose nas artérias carótidas.

2-Analisar se as alterações laboratoriais encontradas estão associadas a severidade da doença reumatóide e a presença de aterosclerose. Os resultados ajudarão os médicos a terem um entendimento maior da possível associação destas alterações laboratoriais com a incidência futura de doença cardiovascular e poderão permitir que os pacientes sejam melhor tratados de forma preventiva a fim de não só melhorar a doença reumatóide, mas evitando complicações cardiovasculares futuras.

Minha participação é voluntária e não é de forma alguma uma condição para que eu continue a receber o atendimento médico de rotina no ambulatório de reumatologia neste hospital. Por ser voluntária e sem interesse financeiro , eu não terei direito a nenhuma remuneração.

Se eu aceitar participar deste estudo , eu responderei a um questionário elaborado pelo pesquisador, serei examinado pelos médicos do ambulatório de artrite reumatóide do Hospital Universitário e me submeterei a realização de ultrassom de carótidas, além de uma coleta simples de sangue para análise laboratorial. Não sofrerei riscos neste estudo , pois não tomarei nenhum remédio , nem farei nenhum exame diferente daqueles que meu médico habitualmente realiza.

Todas as informações registradas neste estudo serão consideradas confidenciais e usadas somente na pesquisa. Minha identidade será mantida em sigilo.

Se eu tiver mais dúvidas , posso telefonar para o pesquisador doutor Ivânio Alves Pereira pelo telefone 32223263, para maiores esclarecimentos , caso eu ache necessário.

Após ter lido e/ ou recebido esclarecimento verbal (através da leitura total deste termo de consentimento livre) , estou de acordo em participar deste projeto de pesquisa

Participante:_____

Testemunha:_____

Data:_____