

**ACADEMIA DE CIENCIAS E TECNOLOGIA DE SÃO JOSE DO RIO  
PRETO**

**CURSO DE IMUNOLOGIA CLINICA E LABORATÓRIAL**

**ARTRITE REUMATÓIDE: O PAPEL DAS MOLÉCULAS PRÓ-  
INFLAMATÓRIAS E ANTIINFLAMATÓRIAS**

Orientador: Prof. Dr. Luis Carlos de Mattos

Co- orientador: Prof. Dr. Virmondes Rodrigues Junior

Estudante: Mona Lisa Fabiana da Silva

UBERABA

2010

## **Resumo:**

Artrite reumatóide é uma doença inflamatória que atinge as articulações com comprometimento de suas funções normais, envolvendo a participação de moléculas inflamatórias e antiinflamatórias.

Esta revisão resume as conclusões sobre o papel de citocinas e moléculas pró-inflamatórias importantes na patogênese da doença, assim como o impacto das citocinas e moléculas antiinflamatórias. Este trabalho se justifica pela busca de conhecimentos mais detalhados no processo de doença na AR, permitindo um melhor entendimento das moléculas envolvidas no processo inflamatório e podendo desta forma contribuir para o melhor entendimento e elucidação do mecanismo patoimunológico da doença.

As citocinas encontradas como contribuintes para a destruição de cartilagens são entre outras o TNF- $\alpha$ , a IL-1, IL-6 e IL-17. Por outro lado as citocinas IL-4, IL-10 e IL-13 presentes em pequenas quantidades no líquido sinovial foram evidenciadas como protetoras da AR em terapias experimentais.

Ainda não está bem esclarecido qual o mecanismo de regulação destas citocinas, mas o que parece estar claro é que tanto a AR como outras doenças auto-imunes se caracterizam por uma desregulação da resposta imune, e esta desregulação pode estar relacionada a várias causas dificultando a busca de uma terapia adequada e eficaz.

## **Introdução**

### **Artrite reumatóide**

A artrite reumatóide é uma doença inflamatória, crônica e recorrente envolvendo as articulações <sup>[1]</sup>, onde o sistema imune reconhece o que é próprio do organismo como sendo não próprio, e produz uma resposta imune destrutiva contra o próprio corpo <sup>[2]</sup>.

Esta resposta se caracteriza por inflamação intensa das articulações com comprometimento de suas funções normais. A membrana sinovial, estrutura que reveste a articulação e produz o líquido sinovial, tem a função de nutrir a cartilagem e lubrificar a superfície de contato entre os ossos, permitindo assim o movimento normal das articulações. Entretanto quando a membrana inflama se torna mais espessa e deixa de

produzir o líquido sinovial para produzir um líquido rico em células inflamatórias que destrói a cartilagem, comprometendo o movimento das articulações <sup>[3]</sup>.

A doença inicialmente atinge as pequenas articulações e progride de maneira periférica e simétrica. Afeta mais mulheres do que homens com uma proporção de 3:1 respectivamente, pacientes com a idade mais avançada podem apresentar maior comprometimento das articulações <sup>[1,4]</sup>.

Os sintomas são rigidez matinal das articulações, perda de apetite, febre baixa, limitação dos movimentos e deformidades devido a deterioração dos tecidos e ossos e ao inchaço, nódulos sob a pele, dor e vermelhidão nas articulações <sup>[2]</sup>.

Manifestações extra-articulares atingem 20 a 25% dos pacientes, o que é peculiar de progressão da doença. Entre as manifestações extra-articulares mais comuns envolvem as vasculites, inflamações oculares (uveíte), pulmonares (pneumonite), em glândulas salivares e lacrimais (síndrome de Sjögren), problemas cardiovasculares e sistema nervoso periférico (neuropatias) <sup>[4,5]</sup>.

A morbidade e mortalidade na AR têm um substancial impacto socioeconômico <sup>[6]</sup>. Atualmente uma diversidade de estudos a respeito da artrite reumatóide tem acarretado em uma gama de oportunidades terapêuticas e o conceito de que o diagnóstico e tratamento precoce podem modificar o curso da doença <sup>[7]</sup>.

Estudos anteriores têm demonstrado que o antígeno leucocitário humano (HLA) se correlaciona com a agressividade da AR. Os alelos HLA-DRB1\*01 estão relacionados principalmente em pacientes com fator reumatóide (FR) negativo, sendo esta variante de progressão mais lenta. Pacientes HLA-DRB1\*0404 apresentaram FR positivo e ou FR negativo, enquanto que HLA-DRB1\*0401 foi o alelo dominante em pacientes que apresentavam FR positivo, sendo assim o alelo de maior risco para progressão da doença <sup>[8]</sup>.

Na AR um antígeno desconhecido, ativa as células TCD4 através de uma célula apresentadora de antígeno (APC) e HLA de classe II. O que leva à uma superprodução de células T e um aumento na proliferação e diferenciação das células B, produzindo anticorpos <sup>[9]</sup>.

Os locais de inflamação na AR apresentam um processo característico de inflamação crônica que acontece quando macrófagos e células T são constantemente ativados e se acumulam nos sítios de lesão e aumento do dano tecidual. As citocinas liberadas por macrófagos estimulam a proliferação de fibroblastos, levando ao aumento da produção de colágeno que termina em fibrose <sup>[10]</sup>.

As articulações atingidas pela AR apresentam um infiltrado de células T CD4 e CD8, células B, linfoblastos, plasmócitos, macrófagos e neutrófilos, além da presença de quimiocinas e citocinas pró e anti inflamatórias secretadas por estas células, os plasmócitos produzem imunoglobulinas como o FR e o auto anticorpo contra as proteínas citrulinadas. As prostaglandinas e os leucotrienos produzidos por células inflamatórias induzem a inflamação. Os neutrófilos liberam enzimas, provocando dano tecidual e proliferação da sinovia. Os macrófagos ativados por células TCD4 se acumulam na sinovia aumentando ainda mais a inflamação <sup>[9]</sup>.

Os linfócitos T auxiliar ou T helper (TCD4+) são subdivididos funcionalmente pelo padrão de citocinas que produzem. O antígeno é apresentado ao linfócito precursor TH0 nos órgãos linfóides secundários aonde irá se diferenciar em Th1, Th2 ou Th17(linfócito T helper 1,2 e 17). As células Th1 são ativadas pelas citocinas IL-12 e INF- $\gamma$ , as células Th2 são reguladas pelas IL-4, IL-5 e IL-13, e as células Th17 por TGF- $\beta$  e IL-6, responsável por promover inflamação contra antígenos extracelulares <sup>[11, 12,13]</sup>.

Colaboradores Evans, et al, 2009,mencionaram que as células Th17 são contribuintes por regular citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, e metaloproteinases e a IL-17 apresentou ação conjunta com TNF- $\alpha$  e ou IL-1 $\beta$  no processo de destruição da cartilagem in vitro e em modelos experimentais in vivo <sup>[14]</sup>.

Na presença das citocinas TGF- $\beta$ , IL-6 e IL-1 as células Th0 se diferenciam em Th17 e a IL-23 se encarrega de promover a sobrevivência e manutenção destas células <sup>[15, 16,17]</sup>.

A IL-1 freqüentemente encontrada no liquido sinovial é mediador na formação do *pannus* através da ativação de monócito, macrófago e linfócitos T e B, induz a expressão de moléculas de adesão celular, outras citocinas, quimiocinas, receptores de

quimiocinas, fatores angiogênicos e mediadores inflamatórios como a prostaglandina E<sub>2</sub> e óxido nítrico [18].

As ações biológicas do TNF- $\alpha$  incluem a indução das citocinas pró-inflamatórias IL-1 e IL-6, potencialização da migração de leucócitos através do aumento da permeabilidade vascular e expressão de moléculas de adesão, ativação de neutrófilos, e indução das enzimas de degradação tissular produzidas por sinoviócitos e condrócitos [5,19].

A IL-17 é encontrada no líquido sinovial inflamado em grandes quantidades. Esta citocina promove inflamação estimulando a produção de citocinas como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e do receptor ativador do ligante fator nuclear  $\kappa$ B (RANKL), bem como quimiocinas como a proteína inflamatória de macrófagos (MIP)-2 e IL-8 [17,20].

O anticorpo anti-IL-17 inibiu significativamente a formação de osteoclastos induzida em meio de cultura de tecido sinovial de AR [20].

Prostaglandinas, principalmente a PG2 são encontrados na sinovia de pacientes com artrite reumatóide e estudos anteriores mostraram que a PG2 piora a artrite induzida por colágeno aumentando os níveis de IL-23 e IL-6 [16].

A IL-6 induz a produção de proteínas agudas no fígado, promove proliferação de células T e B com consequente secreção de anticorpos e inibe a diferenciação de células T reguladoras (Treg) produtoras de TGF- $\beta$  e IL-10 [10,21].

A destruição óssea na AR acontece devido ao aumento dos osteoclastos nas articulações o que pode estar relacionado ao RANKL. O receptor RANK liga-se ao RANKL e induz o desenvolvimento e ativação dos osteoclastos, sendo RANKL expresso pela ativação de linfócitos e osteoblastos e RANK expresso na superfície de osteoclastos progenitores hematopoiéticos, osteoclastos maduros, condrócitos, células epiteliais de glândula mamária e trofoblastos [15,20,22].

OPG é uma proteína com homologia para membros receptores da família TNF e é liberada e produzida por osteoblastos ativados. A OPG funciona como um receptor solúvel charme para RANKL e compete com Rank por ligar RANKL [6,20].

As aberrações no processo de morte celular programada (apoptose) pode levar a várias patologias humanas, como câncer, doenças auto-imunes e doenças neurodegenerativas [23].

Um mecanismo importante de apoptose tem sido revisado por muitos estudiosos, a molécula de superfície celular Fas (CD95) que dispara sinais de morte quando ligada ao ligante Fas (FasL) [24].

Estudos experimentais realizados anteriormente demonstraram que as citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  estimularam a proliferação das células sinoviais, resultando em formação do *pannus* e inibiu a morte destas células por apoptose em pacientes com AR [25].

Alem disso Fas/FasL tem sido consideradas importantes para inibir a angiogênese, induzindo a apoptose de células epiteliais [23,24]. Alem disso recentemente foi relatado uma expressão aumentada de FasL em células B CD5+, células encontradas naturalmente e em pequenas quantidades em humanos e camundongos [26].

A eliminação de células T antígenos específicas pelo mecanismo de apoptose Fas/ FasL é um possível tratamento para AR e outras doenças [26].

Quanto às citocinas de caráter antiinflamatório se destaca a IL-4, produto de secreção das células Th2. A IL-4 é fator de crescimento das células Th2, a ativação dos macrófagos e inibe células Th1 [3].

Enquanto que a IL-10 inibe a ação de Th1 e a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e TNF-  $\alpha$  [3]. Recentemente colegas identificaram que a IL-10 não apenas modula a produção de citocinas por monócitos/macrófagos, mas também por neutrófilos [27].

As IL-4 e IL-10 também foram evidenciadas como auto-reguladoras dos receptores FasL em células B CD5+ [26]. Outros estudos mostraram que o efeito da IL-4 foi associado com a diminuição na formação de osteoclastos, de IL-17 e da expressão de RANKL [22].

O IFN- $\gamma$  é produzido principalmente por células Th1 e células NK. Possui como principais funções biológicas a ativação de macrófagos, expressão de HLA de classe II e

ativação de células NK para a secreção de IL-12 que promove a diferenciação de células Th em células Th1 <sup>[19]</sup>.

A prova da regulação do IFN- $\gamma$  à susceptibilidade da Cia através da supressão de IL-17 vem da observação de que camundongos de cepas CIA sensíveis demonstraram alta expressão de IL-17 e perfil de citocinas IFN- $\gamma$  baixo em comparação com as cepas CIA resistentes <sup>[17]</sup>.

Tem sido relatado que a IL-18 induz a produção de IFN- $\gamma$  e de fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF) em células T, as quais apresentam atividade inibitória da osteoclastogênese *in vitro*, além de estimular a expressão da osteoprotegerina (OPG) em osteoblastos <sup>[22]</sup>.

Pesquisadores recentemente concluíram que a ausência endógena de IL-4 e IFN- $\gamma$  gera uma doença muito mais agressiva do que a ausência de IFN- $\gamma$  sozinho. E que o INF- $\gamma$  inibe a IL-17, enquanto que a IL-4 atua alterando o fenótipo Th17, e inibe diretamente danos ósseos <sup>[28]</sup>.

Estudos recentes demonstraram através de experimentos que a IL-12 e IFN- $\gamma$  impede que a IL-23 induza a formação de células Th17 e desta forma inibe a migração de neutrófilos para o local da inflamação <sup>[16]</sup>.

Outros estudos confirmando o primeiro encontraram que o IFN- $\gamma$  inibe a diferenciação de Th17 *in vitro* e *in vivo* <sup>[17]</sup> e IL-13 é conhecida como uma interleucina reguladora de processos inflamatórios como a AR, diminuindo a expressão de TNF humano em modelos experimentais, sugerindo que a IL-13 atua na angiogênese inibindo citocinas pró-angiogênicas <sup>[29]</sup>.

Adicionalmente as citocinas antiinflamatórias IL-4 e IL-13 inibem completamente a produção de IL-17 <sup>[22]</sup>. Outro estudo descreveu que a IL-13 pode contribuir para resposta tipo 2 por indução da expressão de Th2, atraindo quimiocinas. Além de promover a sua própria produção através da regulação de vários mediadores, incluindo adenosina e histamina o que estimula células como eosinófilos, mastócitos, basófilos e células de músculo liso para produzir mais IL-13 <sup>[30]</sup>.

Experimento com camundongos transgênicos evidenciou mais uma vez que a IL-4, IL-10 e IL-13 inibiram as citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1 *in vivo* <sup>[31]</sup>. Estudo experimental

exclusivo sobre as células th17 demonstrou que as IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$  e IL-27 inibem a diferenciação e proliferação das células Th17 [13].

Embora muitos estudos tenham relatado que as citocinas são eficazes na redução do processo inflamatório, não existem muitos estudos mostrando a ação endógena destas citocinas e porque motivos não conseguem regular a resposta imune na artrite reumatóide.

### **Referencias:**

1. RHEUMATIC Diseases: rheumatoid arthritis. In: STITES, Daniel P.; TERR, Abba I. **Basic and clinical immunology: Rheumatoid arthritis**. seventh edition Hemel Hempstead, Hertfordshire, Inglaterra: Prentice- Hall International, 1991. Cap. 36, p. 443-448.

2. HARPER, Erica. Immunity, inflammation, and Rheumatoid Arthritis. **Lethbridge Undergraduate Research Journal**, Birmingham Alabama Usa, p. 1-10. 2007.

3. AFONSO, Ana et al. Abordagem genética e molecular da artrite reumatóide. **Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**, Porto- Portugal, n. , p.1-14, 2005.

4. LAURINDO, IMM et al. Artrite reumatóide: diagnostico e tratamento. **Associação Medica Brasileira e Conselho Federal de Medicina**, Porto alegre-Rio Grande do Sul, n. , p.1-14, 29 ago. 2002.

5. SILVA, Raíssa G. et al. Artrite Reumatóide. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo- Brasil, v. 60, n. 8, p.554-578, ago. 2003.

6. BUCH, Maya; EMERY, Paul. The aetiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Special Feature**, Leeds, v. 9, n. , p.5-10, jan. 2002.

7. MOTA, Licia Maria Henrique da. Atualização em reumatologia: artrite reumatóide inicial. **SciELO Brasil**, Brasília- Brasil, n. , p.1-6, dez. 2008.



8. WEYAND, Cornelia M; GORONZY, Jorg J. Association of MHC and rheumatoid arthritis: HLA polymorphisms in phenotypic variants of rheumatoid arthritis. **Pub Med Central**, Rochester, Minnesota, USA, n. , p.1-9, 19 abr. 2000.

9. SILVEIRA, Dahyan Wagner da Silva; BOERY, Eduardo Nagib; BOERY, Rita Narriman de Oliveira. Reflexões acerca da crioterapia na fase aguda da artrite reumatóide e suas correlações com a crioglobulinemia. **Revista Saúde**, Bahia- Brasil, n. , p.153-160, 2006.

10. BILATE, Angelina M. B. . Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de Reumatologia Clinica**, São Paulo- Brasil, v. 8, n. 2, p.47-51, jun. 2007.

11. SAKATA, Daiji; YAO, Chengcan; SHUHNARUMIYA. Prostaglandin E2, an immunoactivator. **Journal of Pharmacological Sciences**, Kyoto- Japan, n. , p.1-5, 16 nov. 2009.

12. NAOUM, Flavio Augusto; NAOUM, Paulo Cesar. **Hematologia laboratorial: Leucócitos**. São Paulo-Brasil: Academia de Ciência e Tecnologia, 2010.

13. HWANG, Eun Sook. Transcriptional regulation of T helper 17 cell differentiation. **Pub Med**, Korea, v. 51, n. , p.484-491, jul. 2010.

14. EVANS, Hayley G. et al. In vivo activated monocytes from the site of inflammation in humans specifically promote Th17 responses. **Pub Med**, London - United Kingdom, v. 106, n. , p.1-9, 26 mar. 2009

15. ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 6ª edição Boston- Massachusetts: Elsevier, n. , p.431. 2008.

16. LEMOS, Henrique P. et al. Prostaglandin mediates IL<sub>23</sub>/IL-17 induce neutrophil migration in inflammation by inhibiting IL-12 and IFN gamma production. **Pub Med**, São Paulo- Brasil, v. 106, n. , p.1-15, 16 mar. 2009.

17. KELCHTERMANS, Hilde et al. Effector mechanisms of interleukin-17 in collagen- induced arthritis in the absence of interferon- gamma and counteraction by interferon-gamma. **Pub Med**, Brussels, Belgium, n. , p.1-13, 17 ago. 2009.

18. TEODORO, Reginaldo Botelho. Influência da crioterapia no equilíbrio das citocinas pró- inflamatórias e anti- inflamatórias na artrite reumatóide. **Universidade Federal do Triângulo Mineiro**, Minas Gerais- Brasil, n. , p.1-61, 2005
19. TONET, Adrey Cecilia. Imunoscênescencia: a relação entre leucócitos, citocinas e doenças crônicas. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, Rio de Janeiro- Brasil, v. 11, n. 2, p.1-20, 2008.
20. BEZERRA, M. C. RANK, RANKL and osteoprotegerin in arthritic bone loss. **Pub Med**, São Paulo- Brasil, v. 38, n. 2, p.1-8, 2008.
21. DAYER, Jen Michel; CHOY, Ernest. Therapeutic targets in rheumatoid arthritis: the interleukin-6 receptor. **Pub Med Central**, London, United Kingdom, n., p.1-17, 23 out. 2009.
22. UDAGAWA, Nobuyuki et al. The molecular mechanism of osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis: a molecular understanding. **Pub Med Central**, Nagano, Tokyo, Saitama- Japan, n. , p.281-289, 24 jan. 2002.
23. PUNDT, Noreen. Susceptibility of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts to FasL- and TRAIL- induced apoptosis is cell cycle- dependent. **Pub Med**, Germany, n. , p.1-10, 05 fev. 2009.
24. KIM, Wan - Uk. Soluble Fas ligand inhibits angiogenesis in rheumatoid arthritis. **Pub Med**, Korea, n. , p.1-9, 26 abr. 2007
25. WAKISAKA, S. . Modulation by proinflammatory cytokines of Fas/Fas ligand- mediated apoptotic cell death of synovial cells in patients with rheumatoid arthritis. **Pub Med**, Aichi-japan, n. , p.119-128, 13 jul. 1998.
26. LUNDY, Steven K. . Reduced Fas ligand-expressing splenic CD5+ B lymphocytes in severe collagen- induced arthritis. **Pub Med**, Michigan-USA, v. 11, n. 4, p.1-19, 25 ago. 2009.
27. BUZZONI, Flavia. Understanding the molecular mechanisms of the multifaceted IL-10 mediated anti inflammatory response lessons from neutrophils. **Pub Med**, Verona- Italy, n. , p.1-26, 04 jun. 2010.

28. SARKAR, Sujata. Regulation of pathogenic IL-17 responses in collagen-induced arthritis: roles of endogenous interferon- gamma and IL-4. **Pub Med**, Usa, n. , p.1-20, out. 2009.

29. HAAS, Christian S. et al. In vivo inhibition of angiogenesis by interleukin-13 gene therapy in a rat model of rheumatoid arthritis. **Pub Med**, Michigan-USA, v. 56, n. 8, p.2535-2548, ago. 2007.

30. FUSCHIOTTI, Patrizia; MEDSGER JUNIOR, Thomas A.; MOREL, Penelope A. . Effector CD8+ T cells in systemic sclerosis patients produce abnormally high levels of interleukin-13 associated with increased skin fibrosis. **Pub Med**, Pittsburgh-pennsylvania, v. 60, n. 4, p.1119-1128, 04 abr. 2009.

31. BESSIS, N. et al. Modulation of proinflammatory cytokine production in tumour necrosis factor- alpha (TNF-a) -transgenic mice by treatment with cells engineered to secrete IL-4, IL-10 or IL-13. **Pub Med**, Bobigny, France, n. , p.391-396, 19 out. 1997.