

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
PEDIATRIA

**Estudo da Associação do Alelo delta32  
do Receptor de quimiocinas CCR5 com  
Artrite Idiopática Juvenil**

ILÓITE MARIA SCHEIBEL

TESE DE DOUTORADO

Porto Alegre, Brasil  
2006

TESE DE DOUTORADO

---

ILÓITE MARIA SCHEIBEL

---

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:  
PEDIATRIA

**Associação do Alelo delta32 do Receptor de  
quimiocinas CCR5 com Artrite Idiopática  
Juvenil**

ILÓITE MARIA SCHEIBEL

**Orientador: Prof. Dr. João Carlos Tavares Brenol**

**Co-orientador: Prof. Dr. José Artur Bogo Chies**

A apresentação desta tese é exigência do  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, para obtenção do título de  
Doutora.

Porto Alegre, Brasil  
2006

Saber

O vento da primavera que sopra suavemente nos homens  
Provérbio chinês

..Viver não é necessário; o que é necessário é criar.  
Não conto gozar a minha vida; nem em gozá-la penso.  
Só quero torná-la grande,  
ainda que para isso tenha de ser o meu corpo e a (minha  
alma) a lenha desse fogo.

Só quero torná-la de toda a humanidade;  
ainda que para isso tenha de a perder como minha.  
Cada vez mais assim penso. ..

Fernando Pessoa

## AGRADECIMENTOS

Não existe grande talento sem a força de vontade (Honoré de Balzac). Força que também é alimentada pelas pessoas que convivem conosco, que nos dão bom dia, um sorriso, e crédito.

Agradeço à confiança, carinho, companheirismo, paciência, grande apoio técnico e presença ativa no meu dia a dia do meu companheiro Sérgio Henrique Prezzi (Serginho), mesmo depois de muuuuuitos anos casada.

A alegria, disposição, muito carinho e frases fantásticas do meu querido filho Ivan.

Aos meus pais Aury e Ilse Scheibel, as incontáveis ajudas, a confiança e o estímulo que sempre me deram.

Ao meu irmão Gervásio e minha cunhada Patrícia o apoio, a boa companhia e auxílio técnico.

A minha querida sobrinha Ingrid, o sorriso e a meiguice.

Aos meus sogros Gema e Sérgio Prezzi o estímulo e amizade

Ao prof. Brenol um muito obrigado pelos ensinamentos de medicina, e de conduta frente ao paciente. Uma grande pessoa, de muito bom coração que tem grande respeito pela entidade “pessoa”.

Ao prof. Ricardo Xavier agradeço o incentivo para o estudo e a pesquisa. Seus comentários neste estudo foram vitais.

Ao prof. José Bogo Chies o auxílio, confiança, paciência, amizade, disposição, simplicidade e grande estímulo à pesquisa. Também ao seu aluno de pós-graduação Tiago Weit que assumiu a avaliação genética dos pacientes.

Ao Dr Charles, um amigo boníssimo, um jovem sábio

Agradeço a Daniela do GPPG do HCPA o auxílio nas várias dúvidas de estatística.

A profa. Maria Odete, uma pessoa maravilhosa, que me ensinou muito durante a especialização e continua me apoiando após, mesmo a longa distância. Uma pessoa muito bonita, inteligente, carinhosa, ativa, que tenho orgulho de ser amiga.

Ao grupo da Reumatologia do HCPA agradeço a disposição em ouvir minhas apresentações preliminares e os comentários: Claiton, Odirlei, Rafael, Juliana, Tamara, Sandra, Vera, Letícia.

A Juliana, Karina, Leila, Alice a amizade e o carinho e Vanessa, agradeço a leitura e os comentários deste texto.

Ao amigo Ronald, que me deixou muita saudade. Inteligente, leitor voraz, grande amigo. Acredito que nos divertiríamos muito se tivesse sobrevivido à época.

Agradeço à Dra. Regina Palma o grande auxílio em clarear situações obscuras, que são um grande obstáculo à ação.

Aos alunos da FFFCMPA e residentes de pediatria do Hospital Santo Antônio, a presença estimulante e vivaz, com os quais eu tive os melhores momentos da minha vida profissional.

Ao amigo Ricardo Sukiennik a boa conversa

Ao amigo Ricardo Halpern, a aprendizagem em poucos minutos de conversa, apesar das nossas grandes diferenças que gostamos de cultivar.

À professora Lina agradeço o carinho, os ensinamentos e a demonstração de força de uma pessoa muito dedicada ao ensino da pediatria.

À professora Ana Guardiola a simpatia e o estímulo a partir de seu entusiasmo pelas relações interpessoais.

Aos meus pequenos pacientes e seus familiares, pessoas responsáveis por minha vontade de estudar e querer resolver problemas. A seguinte frase de um familiar faz-me sentir bem e acreditar que me entendem: “És tão disposta que encanta a gente”. E uma situação me faz sorrir “pai, mãe! Ajudem-me a pegar as estrelas!” disse uma criança de nove anos aos seus pais durante sonambulismo à noite.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XII
RESUMO.....	XIII
SUMMARY.....	XIV
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CONCEITO.....	1
1.2 HISTÓRICO.....	1
1.3 CLASSIFICAÇÃO.....	2
1.4 ETIOPATOGENIA.....	4
1.5 ATIVIDADE INFLAMATÓRIA NA AIJ.....	4
1.6 QUIMIOCINAS.....	5
1.7 EPIDEMIOLOGIA.....	10
1.8 CLÍNICA CONFORME SUBTIPOS.....	10
1.8.1 OLIGOARTRITE.....	10
1.8.2 ARTRITE POLIARTICULAR.....	11
1.8.3 ARTRITE SISTÊMICA.....	12
1.9 DIAGNÓSTICO.....	13
1.10 CRITÉRIOS DE PROGNÓSTICO.....	13
1.11 CRITÉRIOS DE REMISSÃO DA DOENÇA.....	14
2. JUSTIFICATIVA.....	15
3. OBJETIVO.....	16
3.1.OBJETIVO ESPECÍFICO.....	16
4. PACIENTES E MÉTODOS.....	17
4.1.DELINEAMENTO.....	17
4.2 FATOR EM ESTUDO.....	17
4.3 DESFECHO.....	17
4.4 DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO.....	17
4.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÕES E EXCLUSÃO.....	18
4.6 CONTROLES.....	18
4.7 EXTRAÇÃO DO DNA E GENOTIPAGEM DO CCR5.....	18

5. CÁLCULO DE AMOSTRA.....	20
6. ESTATÍSTICA.....	21
7. COMISSÃO DE ÉTICA.....	22
8. RESULTADOS.....	23
9. DISCUSSÃO.....	26
10. CONCLUSÃO.....	31
11. ANEXOS.....	32
12. REFERÊNCIAS.....	38



**LISTA DE ABREVIATURAS**

ACJ: Artrite Crônica Juvenil

ACR: American College of Rheumatology (Colégio Americano de Reumatologia)

AIJ: Artrite Idiopática Juvenil

AINE: Antiinflamatórios não esteróides

APJ: Artrite Psoriásica Juvenil

AR: Artrite Reumatóide

ARJ: Artrite Reumatóide Juvenil

CCL3: Ligante 3 quimiocina CC

CCL4: Ligante 4 quimiocina CC

CCR1: *Chemokine receptor 1*

CCR5: *Chemokine receptor 5*

CXCR3: receptor 3 da quimiocina CXC

DII: Doença Inflamatória Intestinal

DNA: *Deoxyribonucleic acid*

dNTP: Deoxinucleotídeos tri-fosfato

EAJ: Espondilite Anquilosante Juvenil

EULAR: European League Against Rheumatism (Liga Européia Contra o Reumatismo)

FAN Hep2: fator antinuclear *Human epithelium 2*

FFFCMPA: Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HCSA: Hospital da Criança Santo Antônio

HIV-1: *Human Immunodeficiency Virus-1*

IFN $\gamma$ : Interferon gama

ILAR: International League of Associations for Rheumatology (Liga Internacional de Associações de Reumatologia)

IL-4: Interleucina-4

MCP-1: *Monocyte Chemoattractant protein 1*

MCP-2: *Monocyte Chemoattractant protein 2*

MIP-1 $\alpha$ : *Macrophage Inflammatory Protein-1 $\alpha$*

MIP-1 $\beta$ : *Macrophage Inflammatory Protein-1 $\beta$*

PCR: Proteína C Reativa

Pmol: Picomoles

PUC: Pontifícia Universidade Católica

RCP: Reação em Cadeia da Polimerase

RANTES: *Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted*

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SPSS: *statistical package for the social sciences*

Th1: Linfócito T *helper-1*

TNF- $\alpha$ : Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$

TNF- $\beta$ : Fator de Necrose Tumoral- $\beta$

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VSG : Velocidade de Sedimentação Globular

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Representação de um receptor de quimiocinas CCR5.....	9
FIGURA 2. Representação da deleção do receptor CCR5 no cromossomo.....	9

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1: Diferentes classificações de artropatia inflamatória na infância.....	3
TABELA 2: Características demográficas da população estudada.....	23
TABELA 3: Associação do gene CCR5delta32 e sua associação com AIJ .....	24
TABELA 4: Distribuição dos subtipos de AIJ conforme remissão da doença.....	24
TABELA 5: Relação do CCR5delta32 com remissão da doença entre os pacientes com subtipos poliarticular e sistêmico.....	25
TABELA 6: Variáveis clínicas do Banco de dados.....	38

**RESUMO**

A Artrite Idiopática Juvenil (AIJ) abrange um grupo de doenças caracterizadas pela inflamação crônica sinovial com densa infiltração de linfócitos T. É uma das mais prevalentes entre as doenças reumáticas crônicas da infância, podendo acarretar incapacidade motora permanente. Não é conhecido fator causal até o momento. Há evidências da ação imunológica pela confirmação da elevação dos níveis séricos e no líquido sinovial de interleucinas e receptores de interleucinas tais como IL-6 e TNF $\alpha$ . Um receptor que está sendo associado ao estabelecimento do processo inflamatório nas doenças auto-imunes é o receptor de quimiocinas CCR5. As quimiocinas são moléculas pró-inflamatórias que funcionam através da ativação e atração química dos leucócitos. Elas exercem atividade quimiotática sobre neutrófilos, linfócitos e monócitos, tendo papel importante em todas as fases da inflamação. A variante polimórfica CCR5delta32 está descrita como protetora contra infecções por HIV-1 e doenças como Artrite Reumatóide (AR), mas há poucos estudos na AIJ. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação da variante polimórfica delta32 do receptor de quimiocinas CCR5 com a Artrite Idiopática Juvenil e com seus subtipos oligoarticular, poliarticular e sistêmico. Trata-se de um estudo caso-controle com 101 pacientes que completaram critérios de AIJ oligoarticular, poliarticular e sistêmico, e 104 indivíduos saudáveis, caucasóides, acima de 16 anos, pareados por sexo. O DNA foi extraído e genotipado para a presença do alelo CCR5delta32 por reação em cadeia da polimerase. O teste de Qui-quadrado foi usado para comparar as diferenças entre as frequências das variantes alélicas. Entre os 101 pacientes, 80 eram do sexo feminino (79,2%); a média de idade do início da doença foi 4,8 anos  $\pm$  3,1; a média de tempo de doença foi 5 anos  $\pm$  2,6. A presença do alelo CCR5delta32 foi mais elevada nos pacientes com AIJ (9,4%; P=0,049) e no subtipo sistêmico (25%; P=0,004) em comparação com o grupo controle (4%), enquanto não houve diferença nos subtipos oligoarticular (4%; P=0,757) e poliarticular (10%; P=0,071). Este estudo permitiu concluir que a frequência do alelo CCR5delta32 foi maior em pacientes com AIJ e em pacientes com o subtipo sistêmico, e semelhante aos controles nos pacientes com os subtipos oligoarticular e poliarticular. Os resultados também sugerem a existência de diferença na susceptibilidade genética e imunopatológica entre os subtipos de AIJ.

## SUMMARY

The Juvenile Idiopathic Arthritis (JIA) includes a group of diseases characterized by chronic synovial inflammation with dense T lymphocyte infiltration. It is one of the most prevalent among the rheumatic chronic diseases of the childhood, and could lead to permanent motive inability. There is not causal factor identified until the moment. There are evidences of the immunological action through the elevation of cytokine blood serum levels and interleukins receptor such as IL-6 and TNF. A receptor that is being associated to the establishment of the inflammatory process in auto-immune diseases is the chemokine receptor CCR5. Chemokines are pro-inflammatory molecules that act through the activation and chemoattraction of the leucocytes. They exercise chemotatic activity on neutrophils, lymphocytes and monocytes and develop important functions in all phases of the inflammation. The polymorphic variant CCR5delta32 was described as protective against infections for HIV-1 and diseases as Rheumatoid Arthritis (RA), but there are few studies in JIA. The objective of this study was to evaluate the association of the polymorphic variant delta32 of the chemokine receptor CCR5 and Juvenile Idiopathic Arthritis subtypes: polyarticular, oligoarticular and systemic. It is a case-control study with 101 patients that fulfilled the criteria of oligoarticular, polyarticular and systemic JIA, and 104 healthy, caucasian individuals, above 16 years old, matched by gender. The DNA was extracted and genotyped for the presence of the CCR5delta32 allele by polimerase chain reaction. The Chi-square test was used to compare the differences among the frequencies of the allelic variants. Among the 101 patients, 80 were female (79,2%); the average of age on the beginning of the disease was 4,8 years  $\pm$  3,1; the average of time of disease was 5 years  $\pm$  2,6. The largest frequency of the CCR5delta32 allele was statistically significant in the patients with JIA (9,4%; P=0,049) and the subtype systemic arthritis (25%; P=0.004) as compared to the controls, while there was not difference between the oligoarticular (5%; P=0,757) and polyarticular subtypes (10%; P=0.071) and controls (4%). This study allowed concluding that the frequency of the CCR5delta32 allele was higher in patients with JIA and subtype systemic, and similar to the controls in the patients with oligoarticular and polyarticular subtypes. The result also suggests the existence of difference in the genetic immunopathologic susceptibility among the JIA subtypes.

---

---

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Conceito

Artrites Idiopáticas Juvenis (AIJ) compreendem um grupo heterogêneo de doenças de início, evolução, aspectos imunológicos distintos, tendo como fator comum a presença de artrite crônica em crianças menores de 16 anos (WELDT *et al*, 2001). O diagnóstico é clínico, feito a partir da observação de edema ou limitação de movimento articular com presença de calor e dolorimento (WEISS & ILOWITE, 2005).

## 1.2. Histórico

A reumatologia pediátrica é uma especialidade nova dentro da pediatria. Na Inglaterra foi considerada como especialidade médica em 1995 pelo Royal College of Physicians of the UK (WOO, 1997; WOO & WEDDERBURN, 1998). No Brasil é considerada como habilitação desde 1998.

A primeira descrição de sinais e sintomas de doença reumática em crianças foi realizada por Thomas Phaer em 1545, que a atribuiu à exposição da criança ao frio (SCHALLER, 2005; WOO & WEDDERBURN, 1998). Esse mesmo autor descreveu suas observações sobre o benefício do banho morno, hidroterapia e ervas sobre as doenças reumáticas. Cornil, Paris- 1864-, foi o primeiro médico a fazer o relato de caso de uma criança com artropatia inflamatória. Moncorvo em 1880, médico brasileiro, fez o relato de um caso de artrite em uma criança francesa com revisão de oito casos da literatura (SCHALLER, 2005).

O Dr George Frederic Still, além de poeta, foi um cientista visionário em seu tempo. Após analisar 22 pacientes pediátricos com artrite, publicou seu famoso artigo “On a form of joint chronic disease in children”, em 1897, declarando que a artrite na infância apresentava quadro clínico e evolução distinta da artrite reumatóide do adulto. Além disso, conseguiu separar a artrite crônica da infância em três grupos e assinalou que a doença na criança não deveria ser chamada de artrite reumatóide (STILL, 1897). No entanto, em 1957 ainda descrevia-se em livros a artrite reumatóide como uma doença que ocorria em crianças e adultos, com poucas diferenças entre eles (SCHALLER, 2005).

---

Em 1959 a maioria dos médicos e cientistas estava voltada para a Febre Reumática, doença que podia ser prevenida e controlada. Mas alguns como a Dra Ansell preocupavam-se também com outras formas de artrite na criança e sugeriram uma nomenclatura para elas, junto com Dr Bywaters. Bywaters, em 1968, fez a primeira classificação das artrites crônicas da infância baseado no tipo de início da enfermidade, o que serviu como guia para as próximas classificações (BYWATERS, 1977; WEIDT *et al*, 2001).

As pesquisas sobre o uso de medicações, associação familiar, associação ao HLA, sempre foram relativamente prejudicadas pelo número de pacientes, que não chegava ao número necessário para ter poder estatístico. Em 1970, pesquisadores observaram as complicações no crescimento das crianças com uso de glicocorticóides, mas como descreveram Still e Conil a doença sistêmica também retarda o crescimento (WOO, 1997). As nomenclaturas para a artrite inflamatória auto-imune na criança tiveram os nomes de Artrite Reumatóide Juvenil (ARJ), Artrite Crônica Juvenil (ACJ) e agora Artrite Idiopática Juvenil (AIJ), tentando contemplar as particularidades dessa doença na infância.

### **1.3 Classificação**

Não há um termo de aceitação universal para a artrite inflamatória crônica que acomete crianças. Previamente eram usados os termos Artrite Crônica Juvenil (ACJ) pela Liga Européia Contra o Reumatismo (EULAR); e Artrite Reumatóide Juvenil (ARJ) pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR). Ambas as nomenclaturas surgiram no ano de 1977 (JRA CRITERIA SUBCOMMITTEE, 1977). As particularidades existentes entre as duas nomenclaturas prejudicavam o entendimento, pesquisas, uso dos termos e inclusive tratamento destas doenças. Outros pontos de discordância foram os termos “reumatóide” e “crônico”, que não estão muito apropriados para a doença na infância. Menos de 10% das artropatias inflamatórias na infância têm fator reumatóide positivo. Diferente da Artrite Reumatóide, numerosos pacientes tem curso imprevisível da doença, podendo ter episódios repetidos de artrite, de curso benigno, com remissão por um longo período de tempo e inclusive o desaparecimento dos sintomas, não cabendo o estigma de doença crônica para esta criança. (WELDT *et al*, 2001; THOMPSON *et al*, 2001; THOMSON & DONN, 2002). Com o intuito de unificação dos termos, membros do comitê de Pediatria da Liga Internacional de Associações de Reumatologia (ILAR) reuniram-se em 1994 em Santiago, Chile, e propuseram uma nova classificação. Após a aplicação desta



---

classificação em vários países, inclusive no Brasil, um novo encontro ocorreu em 1997 em Durban, África do Sul, definindo a classificação que está em uso atualmente e que consta de sete entidades reunidas sob a denominação de Artrites Idiopáticas Juvenis (AIJ) (COMITÊ DE REUMATOLOGIA PEDIÁTRICA SOCIEDADE DE PEDIATRIA, 1996; PETTY *et al*, 1998; THOMSON *et al*, 2002; WELDT *et al*, 2001).

**Tabela 1: Diferentes classificações de artropatia inflamatória na infância**

ACJ (EULAR-1977)	ARJ (ACR-1977)	AIJ (ILAR-1997)
Sistêmica	Sistêmica	Artrite Sistêmica
Poliarticular (FR-)	Poliarticular	Oligoartrite
ARJ (Poliarticular FR+)	Oligoarticular	-persistente
Oligoarticular		-estendida
Soronegativas		Poliartrite FR+
-EAJ		Poliartrite FR-
-DII		Artrite relacionada com entesite
-APJ		Artrite Psoriásica
		Não classificada ou outros
		-não preenche nenhuma categoria de 1 a 6
		-preenche mais de uma categoria de 1 a 6

EAJ: espondilite anquilosante juvenil; DII: doença inflamatória intestinal; APJ: artrite psoriásica juvenil  
FR-: fator reumatóide negativo; FR+: fator reumatóide positivo

De acordo com esta classificação, para ser considerado como tendo uma das AIJ a criança deve apresentar artrite por mais de 6 semanas, em uma ou mais articulações e ter outros diagnósticos descartados. A idade de 16 anos ou menos foi usada arbitrariamente para definir as artrites juvenis. Aguarda-se um período de seis meses para firmar-se a classificação em um determinado subtipo da doença (WEISS & ILOWITE, 2005). A frequência de apresentação das AIJ por subtipos é: oligoartrite, 50-60%; poliartrite, 20-30%; sistêmica, 10-20%; psoriásica, 2-15%; artrite com entesite, 1-7% (OLIVEIRA, 2001).

---

---

### 1.4 Etiopatogenia

A etiologia é desconhecida e, como a AIJ envolve expressões clínicas distintas, provavelmente é diferente para cada um dos subtipos descritos (tabela 1) (PRUDENCE, 2002).

A sinovite persistente é atribuída a uma disfunção auto-imune. Não se conhece o fator causal do processo. Supõe-se que seja doença de origem multifatorial, com componente genético, imunológico e ambiental. Uma das hipóteses é que AIJ ocorra em crianças geneticamente predispostas a partir de um estímulo do tipo alteração hormonal, trauma articular, infecção viral ou bacteriana que ative o sistema imune (WEISS & ILOWITE, 2005).

O sistema imunológico gera uma grande quantidade de células T e B com receptores antígeno específicos, através de um processo estocástico, podendo haver surgimento de células com potencial de auto-reatividade. Para evitar quebra da auto-tolerância, são necessários uma série de mecanismos centrais (timo e medula) e periféricos (órgãos linfóides secundários) (OLIVEIRA, 2001; WELDT *et al*, 2001). Potencial falha neste mecanismo estaria associada com o surgimento de doenças auto-imunes.

O componente genético certamente envolve mais de um gene. A sua evidência é observada em estudos que mostram a alta concordância do tipo de início e do risco de recorrência de AIJ entre irmãos (MOROLDO *et al*, 1997; PRAHALAD *et al*, 2000).

Os estudos prosseguem na pesquisa de fatores que possam estar relacionados ao desencadeamento e perpetuação da artropatia inflamatória na infância (WELDT *et al*, 2001).

### 1.5 Atividade Inflamatória na AIJ

Na AIJ a similaridade entre os subtipos é a inflamação articular que pode levar à degradação da cartilagem e erosão do osso subcondral com prejuízo do desenvolvimento motor da criança (OLIVEIRA, 2001).

O líquido sinovial é um ultrafiltrado do plasma, viscoso, com poucas células. A filtração se dá pela membrana sinovial, que recobre a cápsula articular internamente. O processo inflamatório articular promove aumento da produção do líquido sinovial e diminuição da sua viscosidade. Várias células inflamatórias são

---

encontradas no líquido sinovial quando de um processo artrítico, como neutrófilos, células plasmáticas, dendríticas, células T e mediadores de inflamação como citocinas.

A principal manifestação clínica da AIJ é o edema articular persistente que resulta da combinação do acúmulo de líquido sinovial e o espessamento sinovial. O tecido sinovial é invadido por linfócitos e células plasmáticas ocasionando hiperplasia sinovial vilosa e angiogênese.

Sinoviócitos são células que compõem uma camada de revestimento da sinóvia sobre um estroma de tecido conjuntivo que abriga fibroblastos, células dendríticas, mastócitos, vasos sanguíneos e linfáticos. Com a manutenção da inflamação e proliferação de células inflamatórias forma-se o “*pannus*”. “*Pannus*”, então, vem a ser o tecido resultante da proliferação dos sinoviócitos, invasão de células inflamatórias, e neoformação vascular (ZVAIFLER & FIRESTEIN, 1994).

A inflamação sinovial das crianças com AIJ mostra densa infiltração de linfócitos T, que são vistos em aglomerados ao redor de células dendríticas (SILVERMAN *et al*, 1993). O recrutamento continuado destas células T altamente diferenciadas pode contribuir para a persistência de uma sinovite destrutiva, mas os mecanismos desse recrutamento não são completamente entendidos (MURRAY *et al*, 1997).

Cabe mencionar novamente que a artrite das crianças com AIJ é clínica e geneticamente distinta da AR dos adultos (GLASS & GIANNINI, 1999; THOMSON & DONN, 2002; WOO & WEDDERBURN, 1998).

### **1.6 Quimiocinas**

São pequenas proteínas básicas que estão entre os maiores mediadores da migração leucocitária para o sítio da inflamação (KEANE & STRIETER, 2000). Elas promovem a migração quimiotática de linfócitos e monócitos para os sítios de inflamação (compartimento sinovial), a partir de sua ligação com receptores específicos presentes na membrana destas células (KOHEN, *et al*, 2005). Há pelo menos 46 quimiocinas distintas e 19 receptores de quimiocinas. Elas podem ser benéficas ou danosas, tanto por estimular uma resposta imune apropriada contra microorganismos invasores quanto por mediar a destruição patológica de tecidos em muitos tipos de doenças humanas (CHRISTOPHERSON & HRONAS, 2001). Há duas

---

famílias principais de quimiocinas, denominadas CXC e CC (LUSTER, 1998). As quimiocinas CXC agem sobre os neutrófilos e células não hematopoiéticas envolvidas na cicatrização, enquanto as quimiocinas CC têm um amplo espectro de ação, agindo principalmente sobre os monócitos, linfócitos T e B, *natural killer* e células dendríticas (LLOYD & GUTIERREZ, 1998). Monócitos e macrófagos teciduais são fontes ricas de quimiocinas CC. A CCL2 e a CCL8, previamente conhecidas como MCP-1 e MCP-2 respectivamente (*monocyte chemoattractant protein-1 e 2*) são os principais produtos dos monócitos estimulados. Os linfócitos são fontes de algumas quimiocinas, particularmente CCL5, previamente conhecida como RANTES (*regulated upon activation of normal T cell expressed and secreted*), CCL3, ou MIP-1 $\alpha$  (*macrophage inflammatory protein-1  $\alpha$* ) e CCL4 ou MIP-1 $\beta$ . Células endoteliais, fibroblastos, células epiteliais e outras células renais também produzem quimiocinas CC depois de um estímulo apropriado (PREMARK, 1996).

As funções das quimiocinas são mediadas através de receptores de quimiocinas transmembrana expressos na superfície de várias células (WARD *et al*, 1998). No caso do CCR5, sua expressão é mais comum entre certos tipos celulares, especificamente linfócitos Th1 e macrófagos, levando a resposta imune do tipo Th1 (LOETSCHER *et al*, 1998) que produz interferon gama (IFN  $\gamma$ ), fator de necrose tumoral beta (TNF  $\beta$ ), e interleucina 2 (IL2) (LOETSCHER, 1998; SALLUSTO *et al*, 1998).

A descoberta de que certos receptores de quimiocinas, principalmente o CCR5 (figura 1), serviriam como portas para a entrada do vírus HIV-1 nas células foi um importante avanço no entendimento da patogênese da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) (ALKHATIB, 1996; CHOE, 1996; DORANZ *et al*, 1996; DENG *et al*, 1996). Temos vários receptores para antígenos localizados em linfócitos T e B. Servem como proteção contra a invasão de microorganismos. (LAHDENNE *et al*, 2003; SHADIDI, 2004). Os receptores de quimiocinas CCR5 são expressos em células T ativadas. Estas células têm perfil de citocina tipo Th1. O gene que codifica o CCR5 está localizado na região p21.3 do cromossomo 3 humano. Outros genes de receptores de quimiocinas estão próximos desta região. CCR5 é um dos receptores da família de quimiocinas CC (composta por CCL3, CCL4, CCL5) presente principalmente em células do sistema imune como linfócitos e macrófagos.

---

Tem a função de encaminhar estas células ao sítio de inflamação (VARGAS *et al*, 2006). Numa rápida sucessão de estudos epidemiológicos, identificou-se a existência de um alelo mutante para o gene CCR5, que carrega uma deleção de 32 pares de bases ( $\Delta 32$ ), sendo denominado CCR5 $\Delta 32$  (figura 2). Os estudos mostraram que os indivíduos homocigotos para o alelo com a deleção eram resistentes à infecção pelo vírus do HIV-1 que tem tropismo por macrófagos (LIU *et al*, 1996; ZIMMERMAN *et al*, 1997). Indivíduos heterocigotos parecem não estar protegidos contra a infecção pelo HIV-1; entretanto, apresentam menor carga viral e progressão de doença mais lenta (HUANG *et al*, 1996). Verificou-se, também, menor frequência de heterocigotos nos soropositivos (SAMSON *et al*, 1996).

A variante polimórfica CCR5 $\Delta 32$  provoca a produção de uma proteína truncada nos indivíduos heterocigotos, e nos homocigotos, causa completa perda do receptor na superfície celular. O alelo CCR5 $\Delta 32$  tem sido estudado e sua frequência varia de zero em populações não caucasóides até aproximadamente 14% em certas populações europeias (GOMEZ-REINO *et al*, 1999; ZAPICO *et al*, 2000). No Brasil a equipe do Dr. Chies encontrou 6,6% na população branca do Rio Grande do Sul (VARGAS *et al*, 2006). Há evidências que a perda da expressão do CCR5 poderia afetar certas respostas inflamatórias, resultando em proteção contra o surgimento e severidade de certas condições inflamatórias como a artrite reumatóide (GOMEZ-REINO *et al*, 1999; PRAHALAD, 2006; ZAPICO *et al*, 2000) e doenças auto-imunes e inflamatórias crônicas como glomerulonefrites, nefrite lúpica, asma e esclerose múltipla (HALL *et al*, 1999; SEGERER *et al*, 1999; SELLEBJERG *et al*, 2000). Estudos de nossa equipe não confirmaram envolvimento do CCR5 $\Delta 32$  na susceptibilidade ao Lúpus Eritematoso Sistêmico (MARASCA *et al*, 2004).

O receptor de quimiocinas CCR5 tem papel importante na patogênese da inflamação da artrite reumatóide (GARRED *et al*, 1998) e está associado com o surgimento de artrite em ratos com artrite induzida (PLATER-ZYBERK *et al*, 1997). Indivíduos homocigotos para a deleção CCR5 $\Delta 32$  estão protegidos contra o desenvolvimento de artrite reumatóide segundo alguns estudos (PRAHALAD *et al*, 2006, ZAPICO *et al*, 2000) mas sem associação em outros. (COOKE *et al*, 1999; GÓMEZ-REINO *et al*, 1999), No estudo de Kohem *et al*, não houve associação entre deleção e AR mas os pacientes com deleção apresentavam evolução mais grave da

---

doença, com erosões e resistência aos medicamentos utilizados. Outro estudo mostrou que indivíduos portadores de artrite reumatóide e com presença do alelo para a deleção CCR5 $\Delta$ 32 teriam uma doença menos destrutiva em comparação a pacientes sem deleção (ZAPICO *et al*, 2000). Também foi demonstrado que na inflamação da sinóvia de portadores de artrite reumatóide, a infiltração leucocitária por células mononucleares era predominantemente de células que expressavam o receptor CCR5 (MACK *et al*, 1999). Aproximadamente 20 a 30% das células T periféricas e 10% dos monócitos são CCR5 positivos (SEGERER *et al*, 1999).

A avaliação do polimorfismo do CCR5 $\Delta$ 32 na artrite reumatóide em 162 pacientes mostrou diferença significativa com controles, sugerindo que a inibição do receptor de quimiocinas possa modificar a terapêutica da AR (GARRED *et al*, 1998)

Há poucos estudos sobre quimiocinas e a expressão dos receptores de quimiocinas nos processos inflamatórios articulares em crianças com AIJ. Um estudo em 20 pacientes com AIJ tipos oligoartrite e poliartrite encontrou alta expressão de CCR5, CXCR3, IFN gama, IL4 no líquido sinovial, sendo identificada deleção completa do receptor CCR5 em uma criança com oligoartrite estendida. (WEDDERBURN *et al*, 2000; YILMAZ *et al*, 2001).

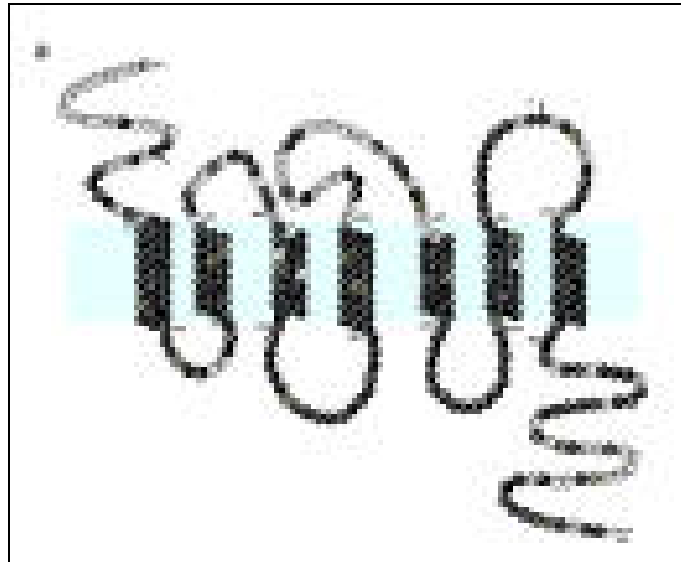


Figura 1. Representação de um receptor de quimiocinas CCR5.  
 Fonte: [www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/](http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/)

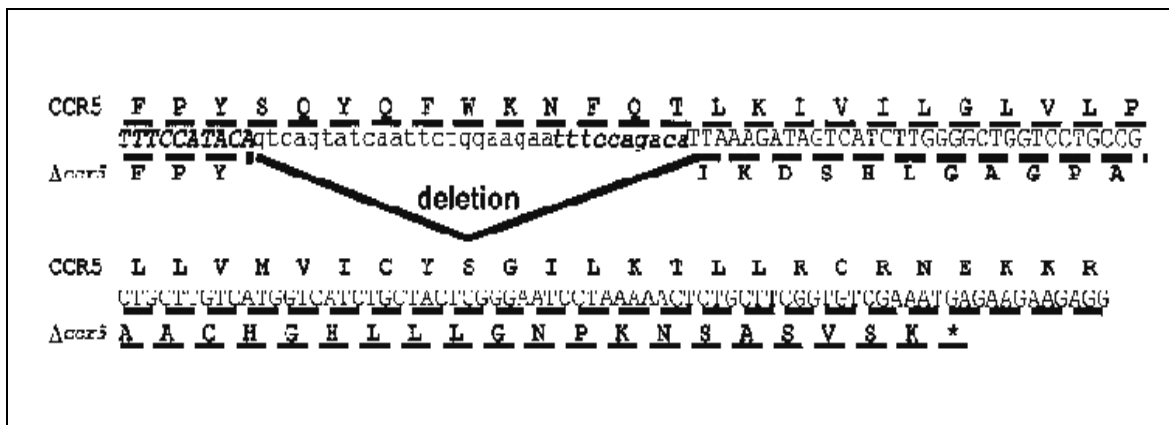


Figura 2. Representação da deleção do receptor CCR5 no cromossomo 3.  
 Fonte: [www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/](http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/)

---

## 1.7 Epidemiologia

AIJ é a artropatia reumática crônica mais comum em países desenvolvidos (WEISS & ILOWITE, 2005). No Brasil, dependendo da região, ultrapassa em frequência a Febre Reumática, como é o caso do Rio Grande do Sul. Tal observação é sustentada pelos registros de atendimentos de hospitais como Hospital da Criança Santo Antônio, pertencente ao Complexo Santa Casa de Porto Alegre e o Hospital de Clínicas (SCHEIBEL *et al*, 2001) A prevalência de Artrite Crônica da Infância (ACI) é muito variável entre os diversos serviços. Estudos sobre a incidência e prevalência de ACI de acordo com os critérios de classificação do EULAR e ACR mostram variações de 2 a 20 /100.000 crianças/ano e a prevalência de 16 a 150/100 000 habitantes (CASSIDY & PETTY, 2001). Em um estudo que incluiu o exame físico de crianças por reumatologistas pediátricos, foi constatado 9 casos de artrite crônica em 2.241 crianças de 12 anos, uma prevalência de 4/1000 (WEISS & ILOWITE, 2005). Não há registro de trabalhos epidemiológicos multicêntricos sobre a incidência e/ou prevalência da AIJ no Brasil.

## 1.8 Quadro clínico conforme subtipos

### 1.8.1 Oligoartrite

Na AIJ subtipo oligoarticular ocorre artrite em quatro ou menos articulações por um tempo mínimo de seis semanas. Se após seis meses a artrite acometer mais de quatro articulações será denominada oligoartrite estendida, senão ficará com a denominação de oligoartrite persistente. Acomete grandes articulações como joelhos, tornozelos e cotovelos com aumento do volume, dolorimento e calor, eritema não é comum. A monoartrite de joelhos ocorre em metade dos casos desta forma de AIJ (WEISS & ILOWITE, 2005). O paciente com AIJ subtipo oligoarticular apresenta-se clinicamente bem na maioria das vezes. As manifestações extra-articulares são incomuns, exceto pelo comprometimento ocular, que ocorre especialmente em meninas com menos de cinco anos de idade e com fator antinuclear (FAN) positivo (CASSIDY & PETTY, 2001). A inflamação do trato uveal, uveíte, é uma das complicações mais devastadoras deste subtipo de AIJ, podendo levar à cegueira se a inflamação não for tratada precoce e adequadamente.



---

O objetivo do tratamento é sustar a inflamação articular, evitar ou recuperar qualquer deformidade articular e identificar comprometimento ocular o mais cedo possível (WELDT & AGUILERA, 2001). A oligoartrite persistente tem remissão em 75% dos casos. O prognóstico da oligoartrite estendida é pior, com 12% de remissão (MINDEN *et al*, 2002). Os fatores de risco para progressão da doença são o comprometimento simétrico de articulações, acometimento de punhos e cotovelos, o número de articulações atingidas e hemossedimentação aumentada (AL-MATAR *et al*, 2002).

O tratamento medicamentoso é com antiinflamatórios não hormonais orais, ou glicocorticóides de depósito intra-articular. Conforme trabalhos para avaliação da eficácia da infiltração articular com triamcinolona hexacetonide, a remissão da doença pode ser permanente após uma infiltração articular ou durar de 3 a 6 meses, podendo essa infiltração ser repetida sem prejuízo à articulação (RAYNAULD *et al*, 2003; SCHEIBEL *et al*, 1996). O acompanhamento oftalmológico é de suma importância, visto ser a uveíte anterior, na maioria das vezes, assintomática. A recuperação da visão está diretamente relacionada à rapidez de atuação com glicocorticóide local e midriático. A intenção é evitar a deposição de células inflamatórias na superfície posterior da córnea e a formação de sinéquias que ocorrem pela adesão fibrótica entre as margens pupilares da íris e o cristalino subjacente, levando aos problemas de visão, inclusive cegueira (THOMSON *et al*, 2002).

### **1.8.2 Artrite Poliarticular**

Este subtipo de AIJ manifesta-se com perda de função articular, edema, calor e dor em cinco ou mais articulações dentro dos seis meses do início da doença. Inclui os subtipos com fator reumatóide negativo (FR-) em 20- 30% das AIJ e com fator reumatóide positivo (FR+) em 5-10% das AIJ (WOO, 1997). O início frequentemente é insidioso, com envolvimento progressivo das articulações, tendendo a ser simétrico, geralmente envolvendo grandes articulações dos joelhos, punhos, cotovelos, tornozelos e pequenas articulações das mãos, mas também coluna cervical. (CASSIDY & PETTY, 2001). Possui o pior prognóstico entre as AIJ sendo o grupo FR positivo mais frequentemente encontrado em meninas adolescentes com tendência

---

à doença erosiva. O tratamento inicia com antiinflamatório para diminuir a inflamação e a dor. Com o diagnóstico instituído, inicia-se o mais precocemente possível com metotrexate. Medicações como anti-TNF ou outros imunobiológicos são prescritas para doenças de difícil controle (LAHDENNE *et al*, 2003). A probabilidade de remissão é de 15% em 10 anos. Se a artrite persiste por mais de sete anos, a remissão é incomum (MINDEN *et al*, 2000).

### **1.8.3 Artrite Sistêmica**

Corresponde a 10 - 20% das AIJ. A característica do padrão sistêmico é artrite acompanhada ou precedida de febre intermitente (picos de febre de 39,5<sup>o</sup>C ou mais, 1 a 2 vezes ao dia) no mínimo por 2 semanas, associada ou não à erupção cutânea de característica maculopapular rosácea entre 2-6 mm e envolvimento de outros órgãos. O quadro exacerba quando os pacientes estão febris (com dores, exantema e mal-estar) e regride quando apiréticos. É a única das AIJ sem forte relação com idade e sexo (WOO, 1997). Confirma-se o diagnóstico quando a criança apresenta febre e exantema típico e artrite persistente. Entre as AIJ, a artrite do tipo sistêmico é a que mais compromete o crescimento (WELDT & AGUILERA, 2001). Outras características clínicas incluem envolvimento visceral com hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, pericardite e outras serosites. Alterações laboratoriais geralmente são vistas nas séries vermelha, branca e plaquetária com leucocitose, anemia normocítica, trombocitose e hemossedimentação muito elevada. Na forma de início sistêmico da AIJ cerca de 80% dos pacientes têm leucocitose com neutrofilia. O diagnóstico de AIJ tipo sistêmico é de exclusão, deve-se afastar a possibilidade de infecções e neoplasia, conforme a evolução clínica (LEVY & ANDRADE, 2001).

Não há ainda um tratamento considerado adequado para este tipo de artrite. Os quadros de febre e dor podem ser aliviados com antiinflamatórios não esteróides-AINE-; o comprometimento sistêmico com glicocorticóides, imunossupressores e medicamentos biológicos (WOO & WEDDERBURN, 1998).

O quadro sistêmico pode ser a forma de apresentação inicial. Um grupo de pacientes, aproximadamente 50%, pode cursar com completa remissão do quadro sistêmico e articular e recorrer ou não depois de um período de tempo assintomático; o restante pode manter atividade sistêmica por 3-4 anos, e ficar com poliartrite; e um

---

pequeno grupo destes, mantém curso sistêmico mais prolongado com poliartrite destrutiva e incapacitante (WELDT & AGUILERA, 2001).

### **1.9 Diagnóstico**

O diagnóstico das AIJ é clínico. Exames complementares são utilizados para descartar outras patologias, avaliar a extensão do processo inflamatório, acompanhar evolução das lesões inflamatórias e dos efeitos nocivos das medicações utilizadas e auxiliar no prognóstico. Algumas crianças podem ter comprometimento importante inflamatório sem apresentar alteração laboratorial.

A avaliação radiológica é importante para o acompanhamento da evolução da doença articular. No início do quadro de artrite, o RX da articulação comprometida, seja qual for a causa, demonstrará a presença de edema periarticular e osteoporose justa-articular, evidenciada por rarefação óssea decorrente da restrição ao uso do membro acometido. A evolução do processo inflamatório a médio e longo prazo alterará a estrutura da cartilagem, com conseqüente redução do espaço articular, e do osso, com formação de cistos subcondrais e erosões marginais (CARVALHO & GRAUDAL, 1980).

### **1.10 Critérios de Prognóstico**

No momento do diagnóstico de uma AIJ inicial não é possível estabelecer o prognóstico evolutivo da doença. A maioria dos índices de gravidade descritos é identificada com o acompanhamento do paciente, como se segue: (CASSIDY & PETTY, 2001; SCHEIDER *et al*, 1992).

-Persistência de anemia (hemoglobina <10 g %) e trombocitose (>400.000 plaquetas/ml) são identificadas como fatores de risco para destruição articular.

-Maior número de articulações comprometidas (curso poliarticular), e persistência da atividade articular têm pior prognóstico estrutural e funcional.

-Início poliarticular e sistêmico antes dos 5 anos de idade

- Fator reumatóide positivo

- Presença de deformidades

- Incidência de erosões e redução do espaço articular

- Atividade articular persistente apesar das medicações em uso

---

Para a AIJ subtipo sistêmico há o seguinte esquema de preditores de mau prognóstico (LOVELL *et al*, 2000; OEN, 2002).

1. Início da doença antes dos 6 anos
2. Duração da doença por mais de cinco anos
3. Persistência de sintomas sistêmicos (definida por febre persistente ou uso crônico de glicocorticóides)
4. Presença de trombocitose (>400 000 plaquetas/ml) além de 6 meses do início da doença.
5. Alteração radiológica progressiva

### **1.11 Critérios de Remissão da Doença**

Os critérios de remissão de doença utilizados neste trabalho foram adaptados dos critérios definidos pelo *Consensus Conference* realizado em Island, Flórida, EUA, 2005 (MACHADO & RUPERTO, 2005)

De acordo com o consenso, 6 meses contínuos de doença inativa são necessários para classificar um paciente como **em remissão com medicação**; 12 meses contínuos sem medicação e mantendo a doença inativa para ser considerado **em remissão sem medicação**. O critério final de **remissão sem medicação** deve prever com acurácia de 95% que o paciente tem < 20% de probabilidade de recaída dentro dos próximos 5 anos.

Os critérios para **doença inativa** devem incluir:

- 1) nenhuma articulação com artrite ativa; 2) ausência de febre, exantema, serosites, esplenomegalia ou adenomegalia generalizada atribuída à AIJ; 3) sem uveíte ativa (critérios de atividade da uveíte conforme avaliação oftalmológica); 4) VHS ou PCR normal (se ambos forem testados, ambos devem ser normais).

---

## **2. JUSTIFICATIVA**

Artrite está presente em todas as formas de AIJ, em algum momento do processo evolutivo. O tratamento clínico visa conter a progressão da doença, preservando a capacidade funcional, evitando destruição articular e deformidades. A identificação dos fatores genéticos /imunológicos/ ambientais associados à patogênese da AIJ pode auxiliar no esclarecimento da etiologia da doença e, potencialmente, no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. A melhor caracterização imunogenética dos subtipos da AIJ provavelmente permitirá uma abordagem específica e mais efetiva.

O polimorfismo do CCR5 surge como um receptor modulador do processo inflamatório na AIJ, com estudos ainda inéditos no nosso meio.

---

### **3. OBJETIVO**

Avaliar a frequência da variante polimórfica delta32 do receptor de quimiocinas pró-inflamatória CCR5 (alelo CCR5delta32) na Artrite Idiopática Juvenil.

#### **3.1. OBJETIVO ESPECÍFICO**

Avaliar a frequência do alelo CCR5delta32 com os subtipos oligoartrite, poliartrite e forma sistêmica.

---

---

## 4. PACIENTES E MÉTODOS

### 4.1 Delineamento

Trata-se de um estudo caso-controle.

### 4.2 Fator em estudo

Polimorfismo CCR5 na AIJ.

### 4.3 Desfecho

Artrite Idiopática Juvenil.

### 4.4 Descrição da população

A amostra consistiu de todos os pacientes que vieram à consulta ambulatorial no período de abril de 2003 a janeiro de 2005 por AIJ, de acordo com os critérios da Liga Internacional das Associações de Reumatologia (ILAR) (PETTY *et al*, 1998). Os subtipos avaliados foram o oligoartrite (persistente e estendido), poliarticular (fator reumatóide positivo e fator reumatóide negativo) e sistêmico. Os pacientes que tiveram comprometimento sistêmico no início do quadro ficaram com o diagnóstico de artrite sistêmica, independente de evolução para oligoartrite, poliartite ou remissão. Somente participaram pacientes cujos pais leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo um). Os pacientes foram recrutados no ambulatório de reumatologia pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA) e Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica (PUC). A coleta de sangue para o estudo, sempre que possível, era associada à coleta de outros exames necessários ao acompanhamento do paciente. Os dados dos pacientes foram registrados no banco de dados do programa EPIINFO. Além dos critérios para a classificação de AIJ da ILAR, foi considerado como critério de inclusão no presente estudo, a presença de artropatia inflamatória em pelos menos uma articulação por mais de um ano, até o início da pesquisa. Este critério de tempo foi utilizado visando excluir artrites reacionais de duração prolongada. Os pacientes com oligoartrite foram divididos em dois grupos, oligoartrite persistente, quando a criança permanecia com menos de cinco articulações comprometidas após seis meses de doença, e oligoartrite estendida quando um número maior de articulações estava comprometido após este tempo. A avaliação incluiu dados demográficos, etnia, data de nascimento, idade do paciente no início da doença, tempo de

---

doença, tipo de início e tipo evolutivo de AIJ, medicação em uso, avaliação laboratorial (VSG, hemograma, FAN, FR), atividade de doença, tempo de inatividade, seqüela.

O substrato para análise do FAN foi Hep2.

#### 4.5 Critérios de Inclusão e Exclusão

**Inclusão:** Pacientes com AIJ subtipos oligoarticular, poliarticular e sistêmico definidos pelos critérios da Liga Internacional de Associações de Reumatologia, acompanhados nos serviços de reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre e Hospital da Criança Santo Antônio. Para o paciente ser incluído no estudo a artropatia inflamatória devia estar presente em pelos menos uma articulação há mais de um ano.

**Exclusão:** presença de outras doenças reumáticas auto-imunes e identificação de outra doença crônica associada.

#### 4.6 Controles

Os controles constaram de indivíduos caucasóides acima de 16 anos e não expostos à doença, com distribuição de sexo e etnia semelhantes aos casos. Foi utilizado banco de controles existente no Laboratório de genética da UFRGS, obtido de indivíduos saudáveis da mesma população de origem dos casos.

#### 4.7 Extração do DNA e Genotipagem do CCR5

Foram coletados 3 mililitros de sangue das crianças em tubo com EDTA. (O DNA foi extraído do sangue periférico de acordo com o método descrito por Lahiri e Nurnberger (LAHIRI & NURNBERGER, 1991; SELLEBJERG *et al*, 2000) e a genotipagem do CCR5 foi feita por reação em cadeia da polimerase (RCP), usando *primers* específicos descritos por Chies & Hutz (CHIES & HUTZ, 2003). Os *primers* utilizados foram, senso 5'-GAAGTTCCTCATTACACCTGCAGCTCTC e anti-senso 3'-CTTCTTCTCATTTTCGACACGAAGCAGAG. A RCP foi preparado para um volume final de 25ul como se segue: 1ul de DNA (0,2-0,5ug), 2.5ul de tampão [200 mM Tris-HCl (pH 8.4), 500 mM KCl], 1ul de 50mM MgCl<sub>2</sub>, 1ul de 3mM dNTP mix, 1ul de 10pmol primer



---

mix e 1U de DNA *TAQ* polimerase (Corporação Invitrogen, Califórnia, EUA). A mistura foi colocada a 40 ciclos em 94°C, 1 min para desnaturação, 55°C, 1 min para anelação em 72°C, 1 min para extensão. O produto do RCP foi submetido à eletroforese em gel de agarose 3% com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta. A distribuição genotípica foi determinada por contagem direta. O resultado da amplificação da RCP foi um fragmento de 137 pares de base (pb), quando um alelo normal do CCR5 estava presente, ou 105 pb para a variante com deleção CCR5delta32..

A pesquisadora responsável pela avaliação clínica do paciente não conhecia a genotipagem e o pesquisador responsável pela genotipagem não conhecia o tipo de comprometimento do paciente enquanto realizava os exames.

A pesquisadora acompanhou os 10 primeiros exames, identificados por codificação sem que se soubesse quem era o paciente. Os demais exames moleculares foram feitos por pesquisador do Departamento de Genética da UFRGS.

---

## 5. CÁLCULO DE AMOSTRA

A frequência do alelo CCR5delta32 varia de 0% na população africana a 14% entre caucasóides. O cálculo de amostra foi de 95 pacientes e 95 controles. Estes números foram calculados para detectar uma diferença na presença do alelo CCR5delta32 de 11% entre casos e controles (12% nos controles e 1% nos casos), considerando  $\alpha$  de 0,05 e poder de 80%.

---

---

## 6. ESTATÍSTICA

Foram descritas as variáveis quantitativas pela média e o desvio padrão e as variáveis qualitativas por frequências relativas percentuais. Aplicou-se o teste de Qui-quadrado com correção de Yates ou teste Exato de Fisher para comparar a frequência alélica e genotípica entre os diferentes grupos. A razão de chances (odds ratio) e intervalo de confiança 95% foram calculados para avaliar a magnitude da associação entre a presença do alelo CCR5delta32 e artrite idiopática juvenil.

Significância estatística foi definida como  $P \leq 0,05$ . Para fazer o banco de dados e as análises, utilizou-se o programa EPIINFO (versão 5.0) e SPSS (versão 14.0 para Windows).

---

---

## **7. COMISSÃO DE ÉTICA**

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissões Científica e de Ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG), e pelo Conselho Nacional de Ensino e Pesquisa (CONEP) por tratar-se de estudo genético.

O responsável pela criança recebia o termo de consentimento livre e esclarecido para ser lido. Depois de esclarecidas as dúvidas e, expressado o consentimento, o responsável pela criança assinava o termo (anexo 1). As crianças participaram de todo o processo. Não houve recusa por parte dos responsáveis e pelos pacientes.

## 8. RESULTADOS

Um total de 101 pacientes com AIJ subtipos oligoarticular, poliarticular e artrite sistêmica e 104 controles foram genotipados para o polimorfismo CCR5delta32. O teste de Qui-quadrado revelou que esta população encontra-se no equilíbrio de Hardy-Weinberg para o alelo estudado. A tabela 6 em anexo, contém os dados referentes ao tipo de doença inicial, evolução, presença do alelo CCR5delta32, idade de início da doença e tempo de doença até a inclusão no estudo.

Oitenta pacientes eram do sexo feminino numa relação feminino: masculino de 3,8: 1 (Tabela 2). A média de idade de início da doença foi 4,8 anos  $\pm$  3,1; a média de idade dos pacientes no momento da inclusão foi 9,3 anos  $\pm$  3,4; o tempo médio de doença foi 5 anos  $\pm$  2,6. Quinze pacientes tiveram FAN reagente ( $>1/80$ ) e três pacientes com poliartrite tiveram fator reumatóide positivo, ambos sem relação com a presença do alelo CCR5delta32.

**Tabela 2: Características da população estudada**

Variáveis	Total (n=101)
Sexo:	
Feminino n (%)	80 (79)
Masculino n (%)	21(21)
Caucasóides n (%)	101 (100)
Idade início doença (média $\pm$ dp)	4,8 $\pm$ 3,1
Idade na inclusão(média $\pm$ dp)	9,3 $\pm$ 3,4
Tempo de doença(média $\pm$ dp)	5 $\pm$ 2,6
FAN n (%)	15 (14,8)
FR n (%)	3 (3)

média  $\pm$ dp = média em anos  $\pm$  desvio padrão

Como pode ser observado na tabela 3, houve diferença significativa na presença do alelo CCR5delta32 entre o grupo controle e pacientes com AIJ subtipo sistêmico (P=0,004), e valor limítrofe no grupo de AIJ, P=0,049. Houve uma tendência na associação da deleção do receptor CCR5 e pacientes com poliartrite comparando com controles, P=0,07 [OR= 3 (0,9-9,7)].

**Tabela 3: Distribuição e associação genotípica do CCR5delta32 com AIJ e frequência alélica.**

Subtipos	n	Genótipo (n)		OR (IC 95%)	P	Frequência do Alelo $\Delta 32$ CCR5%
		CCR5/CCR5	$\Delta 32/\Delta 32$ $\Delta 32/CCR5$			
Controles	104	96	0 8	1	1	4%
Oligoartrite	49	44	0 5	1,36 (0,36-5)	0,757	5%
Poliartrite	40	32	0 8	3,0 (0,93-9,73)	0,071	10%
Sistêmico	12	8	1 4	8,6(1.83-40,8)	0,004	25%
Total de AIJ	101	83	1 17	2,6 (1- 6,92)	0,049	9,4%

$\Delta 32$ : delta 32;  $\Delta 32/\Delta 32$ : homocigoto;  $\Delta 32/CCR5$ : heterocigoto

OR: odds ratio com intervalo de confiança de 95%

P: comparação entre a frequência de genótipos

**Tabela 4: Distribuição dos subtipos de AIJ conforme remissão da doença**

n=101	RSM	RCM	NR
Oligoartrite n	29	20	0
Poliartrite n	11	15	14
Sistêmico n	6	1	5

RSM: remissão sem medicação; RCM: remissão com medicação; NR: não remissão

Na tabela 5 observa-se que 54% dos pacientes com deleção e 31% sem deleção do receptor CCR5 (alelo CCR5delta32) não entraram em remissão da doença. Não houve significância estatística entre alelo CCR5delta32 e remissão, com e sem medicação, e não remissão,  $P=0,122$  [OR= 0,38(0,09-1,63)]. Foram excluídos desta avaliação os pacientes com oligoartrite mostrados na tabela 4, pois todos tiveram remissão.

**Tabela 5: Relação do CCR5delta32 com remissão da doença entre os pacientes com subtipos poliarticular e sistêmico**

n=101	RSM	RCM	NR
Com deleção (n=13)	5 (38%)	1 (8%)	7 (54%)
Sem deleção (n=39)	12 (31%)	15 (38%)	12 (31%)

remissão sem medicação; RCM: remissão com medicação; NR: não remissão

RSM:

---

---

## 8. DISCUSSÃO

É marcante a relevância da reumatologia pediátrica a partir da observação das diferenças entre as doenças reumáticas no adulto e na criança. Desde as primeiras descrições da artrite na infância, atribuídas a Phaier em 1545, há importantes marcos no avanço do conhecimento da especialidade (WOO & WEDDERBURN, 1998).

O envolvimento das quimiocinas pró-inflamatórias e seus receptores na patogênese da artropatia inflamatória foi demonstrado por diferentes grupos. Na artrite reumatóide em adultos, a ausência da molécula CCR5 funcionante foi descrita conferir proteção contra o seu desenvolvimento (PRAHALAD, 2006) ou sem relação alguma (KOHEM *et al*, 2005). Há descrição de que grupos de indivíduos com anemia falciforme, doença considerada como inflamatória crônica, apresentam maior frequência do CCR5delta32 (CHIES & HUTZ, 2003). Esta consideração inicial, aliada à existência de células CCR5 no fluido sinovial e sinóvia no processo inflamatório da AIJ, levou-nos a questionar o possível papel do receptor de quimiocinas CCR5 na patogênese da doença.

Este é o primeiro estudo sistematizado a fazer uma relação genotípica entre a deleção do receptor CCR5 e a presença de AIJ e seus subtipos, comparando com controles.

Outros estudos abordaram esta questão (WEDDERBURN *et al*, 2000; THOMPSON *et al*, 2002) mas com enfoque direcionado principalmente para a análise do nível de expressão do CCR5 e de outros receptores de quimiocinas. A associação do receptor de quimiocinas CCR5 na AIJ ou sua expressão na artropatia inflamatória da criança foi descrita somente em 2 trabalhos até junho de 2006. Estes estudos não foram controlados e o número de pacientes era menor: 18 e 20. O trabalho de Wedderburn *et al* em 2000, identificou alta expressão dos receptores CCR5 e CXCR3 nas articulações inflamadas de crianças com AIJ. Sugeriram, considerando os altos níveis de interferon-gama e IL4, que as células T presentes no líquido sinovial representavam células tipo Th1 altamente ativadas. Mas, no mesmo estudo, encontraram deleção do receptor de quimiocinas CCR5 nos dois alelos em apenas um paciente com oligoartrite tipo estendida, o que poderia ser atribuída ao acaso, induzindo os autores a conclusão de que não haveria relação entre o receptor CCR5 e AIJ. Os resultados deste estudo permitiram outra interpretação. No trabalho de Thompson e colaboradores, publicado



---

em 2001, os autores identificaram uma grande quantidade de células CCR4 e CCR5 na articulação de pacientes com AIJ, diferindo de achados prévios na AR, onde células CCR4 não estão presentes. Reavaliando a publicação de Thompson et al, observa-se que os achados corroboram com o resultado deste estudo: 3 pacientes que possuíam CCR5delta32, de 18 genotipados; um homozigoto com subtipo sistêmico de um total de quatro sistêmicos com doença destrutiva; dois heterozigotos, um com subtipo oligoarticular e outro evoluiu para uma espondiloartropatia com curso poliarticular e doença grave.

O único indivíduo homozigoto para a variante CCR5delta32 foi classificado como AIJ forma sistêmica, com quadro clínico bastante grave, apresentando deformidades articulares, erosões ósseas e atividade articular persistente apesar do tratamento utilizado. A oligoartrite é uma doença inflamatória articular que tende a remissão e neste subtipo, a frequência do alelo CCR5delta32 foi semelhante à frequência do alelo na população controle. Já a oligoartrite estendida tem um curso crônico e mais grave, semelhante à artrite subtipo poliarticular, e neste estudo, os dois pacientes com este subtipo apresentaram heterozigose para o CCR5delta32. Apesar da ausência de significância estatística nos pacientes com poliartrite, é provável que haja uma relação positiva  $OR=3(0,9-9,7)$ . Para confirmar esta possível tendência, há necessidade de um estudo com número maior de pacientes.

Todos os pacientes com oligoartrite entraram em remissão, 59% sem medicação, e os demais, que permaneceram medicados por manterem atividade, não evidenciaram comprometimento de coluna, ou outros sinais que indicassem outros diagnósticos, tais como espondiloartropatia.

Após a constatação da evidência da existência da associação entre a ausência do receptor destas quimiocinas e uma forma de maior envolvimento inflamatório, que é a sistêmica, buscou-se reconhecer a associação com curso mais grave de doença. O estágio atual do conhecimento não permite a identificação de preditores precoces confiáveis de prognóstico na AIJ. Como não há uma classificação de consenso para gravidade dos pacientes com AIJ, utilizou-se os critérios de remissão na AIJ de uso corrente (WALLACE *et al*, 2005; MACHADO & RUPERTO, 2005). No grupo dos pacientes com oligoartrite, todos entraram em remissão da doença. Entre os pacientes com subtipos poliarticular e sistêmico não encontramos relação de gravidade da doença com a presença da deleção do receptor CCR5delta32. Foi observado, no entanto que os

---

casos mais graves, caracterizados por tempo maior de doença ativa, refratária e deformidades incapacitantes eram portadores da deleção. O critério transversal de atividade da doença não foi utilizado, pois a relação entre atividade de doença manifestada por dor, edema, calor, rigidez matinal não é diretamente relacionada com a progressão da destruição da estrutura articular (PINCUS & SOKKA, 2003).

Visto que artrites reacionais costumam apresentar resolução em 1-4 semanas, apesar de alguns vírus como parvovirus e vírus da rubéola ocasionalmente persistirem por meses a anos, foi utilizado como critério de inclusão a necessidade da duração da doença pelo período de um ano a partir do diagnóstico (CASSIDY & PETTY, 2001). Considerou-se um prazo suficiente para descartar outros diagnósticos diferenciais, e, ainda, é um tempo necessário para identificar os pacientes refratários ao tratamento utilizado.

Um problema que muitas vezes o investigador se depara é com a designação de raça. Como a frequência de alelos varia com a etnicidade, sendo próximo a 0% em negros e 14% em brancos (RISCH, 2000), houve cuidados no pareamento de nossa amostra. O banco de dados foi constituído de pessoas saudáveis semelhantes aos casos na caracterização fenotípica.

Despertou especial atenção a alta frequência do alelo CCR5delta32 (25%) nos pacientes com artrite sistêmica, o que justificaria a continuação do estudo neste subgrupo de pacientes. Este achado já havia sido relatado por Thompson *et al*, em 2005, embora num número menor de pacientes.

Como explicar que a ausência do receptor de quimiocinas CCR5 possa ser um modulador da inflamação na AIJ? É importante ressaltar que o CCR5 faz parte de uma grande família de receptores de quimiocinas e seus ligantes podem atuar sobre outros membros desta família. Assim, apesar do CCL4 parecer estar restrito a uma ligação com CCR5, existem evidências das ligações: CCR1 com CCL3 e CCL5; e CCR3 com CCL5. Todas estas alternativas podem contribuir para o processo inflamatório e diferir na forma de expressão de doença.

É possível que a ausência ou menor expressão de CCR5 leve a um desequilíbrio da resposta imunológica. Considerando que o processo inflamatório da artrite pode ser iniciado sem a participação do receptor de quimiocinas CCR5, este poderia exercer um papel modulador na evolução do processo inflamatório. Na deleção do CCR5, haveria perda da capacidade de modulação da inflamação

---

resultando na cronicidade do processo. É importante frisar que além da participação no processo inflamatório, o CCR5 exerce função reguladora de outras moléculas do sistema imune (WEDDERBURN, 2000; WOO, 2001).

Vierboon et al, em 2005, realizaram um experimento utilizando um antagonista do receptor CCR5 para tratar macacos Rhesus com artrite induzida. O antagonista proporcionou diminuição das erosões articulares, em comparação com os controles. Os autores concluíram que este resultado pode proporcionar futuros estudos na pesquisa do tratamento da AR. Teoricamente, com base nos nossos achados, o mesmo efeito não seria esperado nos pacientes com AIJ. Seguindo a mesma linha de pensamento, enquanto a utilização de um antagonista do receptor CCR5 poderá constituir-se num tratamento para os pacientes com AR, o mesmo poderá ter uma ação de agravamento da doença nos pacientes com AIJ, especialmente na forma sistêmica..

Este trabalho suscitou questionamentos que deverão dar continuidade a esta linha de pesquisa, em especial aos achados referentes ao subtipo sistêmico. Revelou a necessidade da abordagem individualizada dos subtipos de AIJ, tendo em vista as prováveis diferenças na fisiopatologia das três formas de apresentação das doenças.

A complexa relação entre as moléculas que participam do desencadeamento e manutenção do processo inflamatório, nas diversas formas de apresentação das artrites crônicas, possibilita sustentar a tese da existência de diferentes processos imunopatológicos na expressão das doenças em especial no que se refere a AIJ e AR. A molécula CCR5 não teria relação somente com a susceptibilidade ou risco de desenvolvimento da doença, mas poderia constituir-se em um fator genético modificador do quadro e progressão da mesma.

O rumo das pesquisas atuais, fundamentadas nos avanços da biologia molecular e genética, possibilitará a geração de conhecimentos que permitirão estabelecer a associação das características genômicas com a susceptibilidade às expressões clínicas de acometimento inflamatório articular.

Esta pesquisa permitiu concluir que a família das quimiocinas CCR5 exerce uma participação significativa na expressão e manutenção do processo inflamatório nas artrites crônicas, mas são necessários novos estudos para um maior esclarecimento do papel de cada citocina nas diferentes expressões clínicas de doença, que possibilitarão a otimização do tratamento através da modulação da função de cada molécula.

## 9. CONCLUSÕES

A realização deste trabalho permitiu as seguintes conclusões sobre a variante polimórfica CCR5delta32 numa população de pacientes com AIJ:

1. A presença de deleção do receptor de quimiocinas CCR5 foi mais prevalente nas crianças com AIJ em comparação com controles saudáveis (P=0,049).
2. Houve diferença estatisticamente significativa para a presença do alelo CCR5delta32 no subgrupo forma sistêmica em comparação com o grupo controle.
3. Não houve diferença estatisticamente significativa para a frequência do alelo CCR5delta32 entre os subgrupos de AIJ com oligoartrite e poliartrite em comparação com o grupo controle.

## 10. ANEXOS

### Termo de Consentimento livre e esclarecido

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
PEDIATRIA  
PROJETO PARA DOUTORADO

## ASSOCIAÇÃO DO ALELO DELTA32 DO RECEPTOR DE QUIMIOCINAS CCR5 COM ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL

Pesquisadores: Ilóite Maria Scheibel, José Bogo Chies, João Carlos Tavares Brenol.

Este projeto consiste da análise de polimorfismos (explicado abaixo), em nível de DNA, de genes relacionados com o sistema imune, especificamente do receptor de quimiocinas CCR5 (célula inflamatória). Este estudo tem como objetivo identificar marcadores moleculares que possam estar relacionados com causa e evolução de doenças auto-imunes (ocorrem quando o sistema imune do próprio indivíduo destrói determinadas células do organismo, como componentes da articulação na Artrite Idiopática Juvenil).

Como será feito o estudo?

Para a realização deste estudo será coletado sangue para extração do DNA. Este DNA será submetido a técnicas de biologia molecular (PCR), que possibilitam evidenciar possíveis polimorfismos genéticos, sem modificar ou alterar características gênicas do DNA.

O que são polimorfismos genéticos?

Polimorfismos genéticos são as diferentes formas de descrever uma característica ao nível do DNA. Um exemplo é a diferença na cor dos olhos das pessoas, resultado de um polimorfismo genético.

Por que analisar estes polimorfismos?

---

Muitas vezes estes polimorfismos, mesmo não aparecendo fisicamente, podem dar indicações sobre a possibilidade de desenvolvimento de uma doença ou o tipo de tratamento a ser utilizado para prevenir ou tratar esta doença. Por exemplo, sabemos que pessoas que tem certos polimorfismos de um gene chamado APO desenvolvem mais facilmente doenças do coração e sabemos que estas mesmas pessoas poderão ser beneficiadas se tiverem uma dieta alimentar específica.

Existe alguma vantagem em participar deste estudo?

Estudos estão mostrando uma correlação entre o polimorfismo do CCR5 e diferentes tipos de artrite. Existe ainda a necessidade de amplos estudos que envolvam a análise do DNA de muitos indivíduos para que possamos definir se a presença de algum polimorfismo é determinante no desenvolvimento destas doenças. No caso de identificação de alguma característica, seja favorável ou desfavorável à auto-imunidade, durante as análises do DNA, você será imediatamente informado e nos colocaremos à disposição para qualquer esclarecimento a respeito desta característica.

Existe alguma desvantagem em participar deste estudo?

Este estudo consta apenas de uma coleta de sangue em nível laboratorial e o material obtido será estocado no Laboratório de genética de UFRGS sob a responsabilidade do Dr. José Chies. Este material só será utilizado para análises de polimorfismos de DNA sendo seu uso vetado para quaisquer outras finalidades. Asseguramos também que preservaremos sua privacidade e que, em hipótese alguma, sua identidade será revelada, seja no decorrer de nossos estudos ou após o término destes.

Há a possibilidade de continuidade deste estudo?

O conhecimento das causas que levam ao desenvolvimento de doenças de fundo genético e/ou auto-imune aumenta a cada dia, portanto existe a possibilidade de que novos polimorfismos, hoje não conhecidos, venham a ser identificados no futuro. O presente estudo é, portanto, o passo inicial de uma série de análises (hoje centradas no CCR5) que visam esclarecer os mecanismos de desenvolvimento destas patologias.

Favor assinalar com um X apenas uma opção abaixo:

( ) autorizo a utilização do sangue coletado apenas para as análises de polimorfismos de DNA do CCR5

---

( ) autorizo a utilização do sangue coletado para análise descrita neste trabalho bem como outras, desde que sob a responsabilidade do Prof. José Chies do Depto. de Genética da UFRGS. No caso de serem realizados novos estudos, estes serão submetidos à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.

Nome

Número do prontuário

Assinatura do paciente

Assinatura do responsável

Data e local

Se houver qualquer dúvida ou interesse em elucidar alguma questão entrar em contato com:

Dra. Ilóite Maria Scheibel, telefone 99811468 ou 3316 8340 (8- 17 horas).

**Tabela 6: Variáveis clínicas do banco de dados**

	<b>Tipo início</b>	<b>Evolução</b>	<b>Remissão</b>	<b>CCR5</b>	<b>Id. In. Doença (anos)</b>	<b>Tempo doença (anos)</b>
1.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	8	3
2.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	4	4
3.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	2	3
4.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	2	7
5.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	4	3
6.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	2	5
7.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	6	3
8.	OLIGO	OLIGO	RCM	2	3	3
9.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	3	8
10.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	2	3
11.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	10	3
12.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	8	3
13.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	1	3
14.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	9	3
15.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	3	6
16.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	1	3
17.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	10	6
18.	OLIGO	OLIGO	RCM	1	10	3
19.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	5	13
20.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	2	11	3
21.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	6	5
22.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	2	4	10
23.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	4
24.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	3	3
25.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	10	4
26.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	4
27.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	3
28.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	4	12
29.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	9	14
30.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	6	4
31.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	4
32.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	4	4
33.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	4	3
34.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	3	3
35.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	4	4
36.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	3	4
37.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	5	9
38.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	7
39.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	7	5
40.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	6	3
41.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	3
42.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	5
43.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	8	7
44.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	6	5
45.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	5	5
46.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	3



47.	OLIGO	OLIGO	REMISSÃO	1	2	4
48.	OLIGOestend	POLI	RCM	2	2	6
49.	OLIGOestend	POLI	RCM	2	9	4
50.	POLI	POLI	NR	1	5	8
51.	POLI	POLI	NR	2	5	7
52.	POLI	POLI	NR	1	7	6
53.	POLI	POLI	NR	1	3	4
54.	POLI	POLI	NR	2	1	12
55.	POLI	POLI	NR	1	4	10
56.	POLI	POLI	NR	1	3	6
57.	POLI	POLI	NR	1	8	4
58.	POLI	POLI	NR	2	5	10
59.	POLI	POLI	NR	1	5	4
60.	POLI	POLI	NR	1	4	3
61.	POLI	POLI	NR	2	1	4
62.	POLI	POLI	NR	1	2	4
63.	POLI	POLI	NR	1	1	5
64.	POLI	POLI	RCM	1	7	3
65.	POLI	POLI	RCM	1	5	6
66.	POLI	POLI	RCM	1	1	5
67.	POLI	POLI	RCM	1	5	3
68.	POLI	POLI	RCM	1	12	3
69.	POLI	POLI	RCM	1	7	6
70.	POLI	POLI	RCM	1	1	4
71.	POLI	POLI	RCM	1	8	6
72.	POLI	POLI	RCM	1	4	3
73.	POLI	POLI	RCM	1	4	4
74.	POLI	POLI	RCM	1	2	4
75.	POLI	POLI	RCM	1	4	5
76.	POLI	POLI	RCM	1	10	3
77.	POLI	POLI	RCM	2	2	5
78.	POLI	POLI	RCM	1	13	5
79.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	1	6
80.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	5	4
81.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	4	3
82.	POLI	POLI	REMISSÃO	2	4	7
83.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	7	5
84.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	2	3
85.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	3	4
86.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	1	4
87.	POLI	POLI	REMISSÃO	2	2	16
88.	POLI	POLI	REMISSÃO	1	8	5
89.	POLI	POLI	REMISSÃO	2	11	3
90.	SIST	POLI	NR	1	9	7
91.	SIST	POLI	NR	1	2	5
92.	SIST	POLI	NR	2	2	5
93.	SIST	POLI	NR	3	3	4
94.	SIST	POLI	NR	2	3	5
95.	SIST	POLI	RCM	1	4	4
96.	SIST	OLIGO	REMISSÃO	1	5	6

---

---

97.	SIST	OLIGO	REMISSÃO	2	6	5
98.	SIST	OLIGO	REMISSÃO	1	1	4
99.	SIST	OLIGO	REMISSÃO	1	6	12
100.	SIST	OLIGO	REMISSÃO	1	13	5
101.	SIST	OLIGO	REMISSÃO	2	10	4

CCR5 1=sem deleção, 2 heterozigoto, 3 homozigoto.

Remissão: remissão sem medicação;RCM: remissão com medicação ; NR: não remissão

Id.In.Doença: idade de início da doença

## 11. REFERÊNCIAS

Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, et al. CCR5: a Rantes, MIP-1 alpha, MIP-1 beta receptor as a fusion cofactor to macrophage-tropic HIV-1. *Science*. 1996; 272:1955-8.

Al-Matar MJ, Petty RE, Tucker LB, et al. The early pattern of joint involvement predicts disease progression in children with oligoarticular (pauciarticular) juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002; 46(22):2708-15.

Bywaters EGL. The history of pediatric rheumatology. *Arthritis Rheum*. 1977; 20 (suppl): 145-52.

Carvalho A, Graudal H. Relationship between radiological and clinical findings in rheumatoid arthritis. *Acta Radiol Diagnosis*. 1980; 21(6):797-802.

Cassidy JT, Petty RE. The Juvenile Idiopathic Arthritides In: Cassidy JT, Petty RE Textbook of Pediatric Rheumatology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2001. p.214-321.

Cassidy JT, Petty RE. Arthritis caused by viruses In: Cassidy JT, Petty RE. Textbook of Pediatric Rheumatology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2001. p 654-65.

Chies JA, Hutz MH. High frequency of the CCR5delta32 variant among individuals from an admixed Brazilian population with sickle cell anemia. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36:71-5.

Christophers K, Hronas R. Chemokine regulation of normal and pathologic immune responses. *Stem Cells*. 2001; 19:388-96.

Choe H, Farzan M, Sun Y, et al. The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell*. 1996;85:1135-48.

Comitê de Reumatologia Pediátrica Sociedade de Pediatria, São Paulo, Brasil. ILAR's proposal criteria for idiopathic arthritides of childhood. A Brazilian perspective. *Clin Exp Rheumatol*. 1996; 14(4): 455.

Cooke SP, Forrest G, Venables PJ, Hajeer A. The delta32 deletion of CCR5 receptor in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1999;42:2732-3.

Deng H, Liu R, Ellmeier W, et al. Identification of major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*. 1996;381:661-6.

Doranz BJ, Rucker J, Yi Y et al. A dual primary HIV-1 isolate that uses fusin and the beta-chemokine receptors CCR5, CCR3 and CCR-2b as fusion cofactors. *Cell*. 1996; 85:1149-58.

Garred P, Madsen HO, Petersen J, Marquart H, Hansen TM, Freiesleben Dorensen S, et al. CC chemokine receptor 5 polymorphism in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1998 Aug; 25 (8):1462-5.

Glass DN, Giannini. Juvenile Rheumatoid Arthritis as a Complex Genetic Trait. *Arthritis Rheum*. 1999; 42 (11): 2261-815.

Gómez-Reino JJ, Pablos JL, Carreira PE, Santiago B, Serrano L, Vicario JL, et al. Association of rheumatoid arthritis with a functional chemokine receptor, CCR5. *Arthritis Rheum*. 1999; 42:989-92.

Hall IP, Wheatley A, Christie G, McDougall C, Hubbard R, Helms PJ. Association of CCR5 delta32 with reduced risk of asthma. *Lancet*. 1999; 354: 1264-5.

Huang Y, Paxton WA, Wolinsky SM, et al. The role of mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat Med*. 1996;2:1240-3.

JRA criteria subcommittee of the diagnostic and therapeutic criteria committee of the American Current Rheumatism Association: proposed of revisions of the JRA criteria. *Arthritis Rheum.* 1977; 20 (suppl): 195-9.

Keane MP, Strieter Rm. Chemokine signaling in inflammation. *Crit Care Med.* 2000; 28: 3330-9.

Kohem CL; Chies JAB; Brenol JCT. Estudo do polimorfismo e expressão do CCR5 em pacientes com artrite reumatóide. [Tese de doutorado]. UFRGS; 2005.

Lahdenne P, Vahasalo P, Honkanen V. Infliximab or etanercept in the treatment of children with refractory juvenile idiopathic arthritis on open label study. *Ann Rheum Dis.* 2003; 62:245-7.

Lahiri DK, Nurnberger JJ. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991; 19: 5444.

Levy RA, Andrade LEC. Laboratório em Reumatologia Pediátrica. In: Oliveira SKF, Azevedo EC. *Reumatologia Pediátrica.* 2ª ed. RJ: RevisteR; 2001.p. 53-60.

Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply exposed individual to HIV-infection. *Cell.* 1996;86:367-77.

Lloyd C, Gutierrez-Ramos JC. The role of chemokines in tissue inflammation in renal diseases. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1998;7:281-7.

Loetscher P, Uguccioni M, Bordoli L, Baggiolini M, Moser B, Chizzolini C, et al. CCR5 is characteristic of Th1 lymphocytes. *Nature.* 1998; 391: 344-5.

Lovell DJ, Giannini EH, et al. Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. *N Engl J Med.* 2000; 342:763-9.

Luster AD. Chemokines-Chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med.* 1998;338:436-45.

Machado C, Ruperto N. Consenso em reumatologia pediátrica Parte I - Definição dos critérios de doença inativa e remissão em artrite idiopática juvenil/artrite reumatóide juvenil. *Rev. Bras. Reumatol.* 2005 ; 45(1): 9-13.

Mack M, Bruhi H, Gruber R, Jaeger C, Cihak J, Eiter V, et al. Predominance of mononuclear cells expressing the chemokine receptor CCR5 in synovial effusions with different forms of arthritis. *Arthritis Rheum.* 1999;42:981-8.

Marasca JA, Brenol JCT, Xavier RM, Chies JAB. The Chemokine receptor delta32 allele and susceptibility to Systemic Lupus Erytematosus. [Dissertação]. UFRGS; 2004.

Minden K, Kiessling U, Listing J, et al. Prognosis of patients with juvenile chronic arthritis and juvenile spondyloarthritis. *J Rheumatol.* 2000; 27:2256-63.

Minden K, Niewenth M, Listing J, et al. Long-term outcome in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(9): 2392-401.

Moroldo MB, Taque BL, Sher ES, Glass DN, Giannini EH: Juvenile rheumatoid arthritis in affected sibpairs. *Arthritis Rheum.* 1997, 40:1962-6.

Murray K, Thompson SD, Glass Dn. Pathogenesis of juvenile chronic arthritis: genetic and environmental factors. *Arch Dis Child.* 1997; 77:530-4.

Oliveira SKF. Características dos Diferentes Subtipos. In: Oliveira SKF, Azevedo EC. *Reumatologia Pediátrica.* 2ª ed. RJ: RevinteR; 2001.p.152-68.

Oliveira SKF. Histórico, epidemiologia e etiopatogenia. In: Oliveira SKF, Azevedo EC. *Reumatologia Pediátrica.* 2ª ed. RJ: RevinteR; 2001.p.145-52.

Oen K. Long-term outcomes and predictors of outcomes for patients with juvenile idiopathic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002 Jul; 16(3):347-60.

Petty RE, Southwood TR, Baum J, Bhattay E, Glass Dn, Manners P et al. Revision of the proposed classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: Durban, 1977 *J Rheumatol*. 1998; 25( 22):1991-4.

Pincus T, Sokka T. Quantitative measures for assessing rheumatoid arthritis in clinical trials and clinical care. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2003 Oct;17(5):753-81

Plater-Zyberk C, Hoogewerf AJ, Proudfoot AEI, Power CA, Wells TNC. Effect of a chemokine receptor antagonist on collagen induced arthritis in DBA/1 mice. *Immunol Letters*. 1997;57:117-20.

Prahalad S. Negative association between the chemokine receptor CCR5-Delta32 polymorphism and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Genes Immun*. 2006 April;7(3): 264-8.

Prahalad S, Ryan MH, Shear ES, Thompson SD, Glass DN, Giannini EH: Twins concordant for juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000, 43:2611-12.

Premark BA, Schall TJ. Chemokine receptors: gateways to inflammation and infection. *Nat Med*. 1996;2:1174-8.

Prudence J. M. State of the art: Juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol*. 2002; 5: 29–34.

Raynauld JP, Buckland- Wright C, Ward C. Safety and efficacy of long-term intraarticular steroid injection in osteoarthritis of the knee: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2003; 48(2):370-7.

Risch N. Searching for genetic determinants in the new millenium. *Nature*. 2000 Jun 15 (405): 847-56.

Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, Lanzavecchia M. Flexible programmes of chemokine receptor expression on human polarised T helper 1 and 2 lymphocytes. *J Exp Med* 1998; 187: 875-83.

Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382:722-5.

Schaller JG. The History of Pediatric Rheumatology. *Pediatr Res.* 2005;58:997-1007.

Scheibel IM, Xavier RM, Brenol JCT. Avaliação da Adesão à Profilaxia Secundária da Febre Reumática. *Rev Bras Reumatol.* 2001; 41(4): 220-4.

Scheibel IM, O Teresa, L Cláudio, Hilário MO. Corticóide Intra-articular em crianças com ARJ. *Rev Bras Reumatol* 1996;36(3):111-4.

Scheider R, Lang B, Reilly BJ et al. Prognostic indicators of joint destruction in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr.* 1992; 120:200-5.

Seegerer S, Mack M, Regele H, Kerjaschki D, Schlöndorff D, Expression of the CC chemokine receptor 5 in human kidney diseases. *Kidney Int.* 1999; 56:52-64.

Sellebjerg F, Madsen HO, Jensen CV, Jensen J, Garred P. CCR5 delta32, matrix metalloproteinase-9 and disease activity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2000;102:98-106.

Shadidi KR. New drugs Targets in Rheumatoid Arthritis: focus on chemokines. *Biodrugs.* 2004: 183;181-7.

Silverman ED, Isacovics B, Petsche D, Laxer RM. Synovial fluid cells in Juvenile arthritis: evidence of selective T cell migration to inflamed tissue. *Clin Exp Immunol.* 1993; 91: 90-5.



Still GF. A form of chronic joint disease in children. *Br Med J* 1897; reprinted in *Am J Dis Child*. 1978; 132: 195-200.

Thompson SD; Luyrink LK; Graham TB et al. Chemokine Receptor CCR4 on CD4+ T Cells in Juvenile Rheumatoid Arthritis Synovial Fluid Defines a Subset of Cells with Increased IL-4: IFN- $\gamma$  mRNA Ratios. *J Immunol*, 2001, 166: 6899-6906.

Thomson W, Donn R. Juvenile idiopathic genetics- What's new? What's next?. *Arthritis Res*. 2002; 4: 302-6.

Thomson W, Barret JH, Donn R et al. Juvenile idiopathic oligoarthritis. *Rheumatology*. 2002 Oct; 41(22):1183-9.

Vargas AE, Marrero AR, Salzano FM, Bortolini MC, Chies JAB. Frequency of CCR5delta32 in Brazilian populations. *Braz J Med Biol Res*. 2006; 39:321-5.

Vierboom MPM, Zavodny PJ, Chou CC et al. Inhibition of the Development of Collagen-Induced Arthritis in Rhesus Monkeys by a Small Molecular Weight Antagonist of CCR5. *Arthritis Rheum*. 2005 Feb; 52(2): 627-36.

Wallace CA, Huang B, Bandeira M, Ravelli A, Giannini EH. Patterns of clinical remission in select categories of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2005 Nov; 52(11):3554-62

Ward SG, Bacon K, Westwick J. Chemokines and T lymphocytes: more than an attraction. *Immunity*. 1998; 9:1-9.

Wedderburn LR, Robinson N, Patel A, Varsani H, Woo P. Selective recruitment of polarized T cells expressing CCR5 and CXCR3 to the inflamed joints of children with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000 Apr; 43(4): 765-74.

Weiss JE, Ilowite NT. Juvenile Idiopathic Arthritis. *Pediatr Clin N Am.* 2005, 52; 413-42.

Weldt LL, Aguilera MM, Loyola MT. Artrite Idiopática Juvenil. Nomenclatura e Classificação In: Oliveira SKF, Azevedo EC. *Reumatologia Pediátrica*. 2ª ed. RJ. RevisteR: 2001.p.147-152.

Woo P, Wedderburn LR. Juvenile chronic arthritis. *Lancet.* 1998; 351: 969-73.

Woo P. Mediators of Inflammation In: Cassidy JT, Petty RE *Textbook of Pediatric Rheumatology*. 4rd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2001. p 68-80.

Woo P. The growth of Paediatric Rheumatology. *Br J Rheumatol.* 1997;36:721-8.

Yilmaz, M., Kendirli, S.G., Altintas, D., Bingol, G. & Antmen, B. Cytokine levels in serum of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2001; 20: 30-5.

Zapico I, Coto E, Rodriguez A, Alvarez C, Torre JC, Alvarez V. CCR5 (chemokine Receptor-5) DNA-polymorphism influences the severity of Rheumatoid Arthritis. *Genes immun* 2000; 1 (4):288-9.

Zimmerman PA, Buckler-White A, Alkhatib G, Spalding T, Kubofcik J, Combadiere C, et al. Inherited resistance to HIV-1 infection conferred by an inactivating mutation in CC chemokine receptor 5- studies in populations with contrasting clinical phenotypes, defined racial background, and quantified risk. *Mol Med.* 1997; 3:23-6.

Zvaifler NJ, Firestein GS. Pannus and Pannocytes. Alternative models of joint destruction in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 1994; 37:783-9.