



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo original

Existe uma relação entre a artrite gotosa e as mutações genéticas da febre familiar do Mediterrâneo?



Ismail Sari^{a,b,*}, Ismail Simsek^b, Yusuf Tunca^c, Bunyamin Kisacik^{b,d}, Hakan Erdem^b, Salih Pay^b, Hasan Fatih Cay^b, Davut Gul^c e Ayhan Dinc^b

^a Departamento de Reumatologia, Escola de Medicina, Dokuz Eylul University, Izmir, Turquia

^b Departamento de Reumatologia, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turquia

^c Departamento de Genética Médica, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turquia

^d Departamento de Reumatologia, Escola de Medicina, Gaziantep University, Gaziantep, Turquia

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 25 de agosto de 2014

Aceito em 19 de outubro de 2014

On-line em 26 de novembro de 2014

Palavras-chave:

Artrite gotosa

Proteína MEFV

Febre familiar do Mediterrâneo

R E S U M O

Objetivo: A artrite gotosa e a febre familiar do Mediterrâneo (FFM) compartilham algumas características clínicas e patológicas, como ser classificada como uma doença autoimune inflamatória, ter associação com o inflamassoma, manifestar artrite intermitente de curta duração e boa resposta a tratamentos com colchicina e anti-interleucina-1. Como o gene da febre familiar do Mediterrâneo (MEFV) é o fator causador da FFM, este estudo teve como objetivo investigar a prevalência de mutações do gene MEFV e seu efeito sobre as manifestações da doença em pacientes turcos com artrite gotosa.

Métodos: Foram incluídos no estudo 97 pacientes com diagnóstico de artrite gotosa primária (93 M e 4 F; 54 [37-84] anos) e 100 controles saudáveis (94 M e 6 F; 57 [37-86] anos). Todos os indivíduos foram submetidos à análise do genótipo à procura de variações no MEFV. Também foi registrado o número de crises de gota, o uso de diuréticos e a história de nefrolitíase e presença de tofos.

Resultados: A frequência de portadores de mutações no MEFV em pacientes e controles foi de 22,7% (n = 22) e 24% (n = 24), respectivamente. A comparação entre os pacientes e os controles não produziu diferença estatisticamente significativa em termos de frequência de portadores de mutações no MEFV (p = 0,87). As frequências alélicas de mutações no MEFV nos pacientes foram de 11,9% (n = 23) e 14% (n = 28) nos controles (p = 0,55). A presença de variantes do MEFV não mostrou qualquer associação com as características clínicas da artrite gotosa. A análise por subgrupos de pacientes revelou que aqueles com artrite gotosa com mutações tinham frequências semelhantes de tofo, história de nefrolitíase e podagra em comparação com os indivíduos sem mutações (p > 0,05).

Conclusões: As mutações no gene MEFV não exercem um papel relevante em pacientes turcos com artrite gotosa.

© 2014 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

* Autor para correspondência.

E-mail: ismailsari35@gmail.com (I. Sari).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2014.10.008>

0482-5004/© 2014 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Is there a relationship between gouty arthritis and Mediterranean fever gene mutations?

A B S T R A C T

Keywords:

Gouty arthritis
MEFV protein
Familial Mediterranean fever

Objective: Gouty arthritis and familial Mediterranean fever (FMF) share some clinical and pathological features such as being classified as auto inflammatory disease, association with inflammasome, short-lived intermittent arthritis, and good response to colchicine and anti-interleukin-1 treatments. As Mediterranean fever (MEFV) gene is the causative factor of FMF, we aimed to investigate the prevalence of MEFV gene mutations and their effect on disease manifestations in Turkish gouty arthritis patients.

Methods: Ninety-seven patients diagnosed with primary gouty arthritis (93 M and 4 F, 54 [37-84] years) and 100 healthy controls (94 M and 6 F, 57 [37-86] years) included in the study. All subjects were genotyped for the MEFV variations. Number of gout attacks, diuretic use, and history of nephrolithiasis and presence of tophus were also recorded.

Results: The carriage rate of MEFV mutations for patients and controls were 22.7% (n = 22) and 24% (n = 24) respectively. The comparison of the patient and control groups yielded no significant difference in terms of the MEFV mutations carriage rate (p = 0.87). The allelic frequencies of the MEFV mutations in patients were 11.9% (n = 23) and 14% (n = 28) in controls (p = 0.55). The presence of MEFV variants did not show any association with clinical features of gouty arthritis. The subgroup analysis of patients revealed that gouty arthritis patients with mutations had similar frequencies of tophus, history of nephrolithiasis and podagra compared to the ones without mutations (p > 0.05).

Conclusions: This study does not provide support for a major role of MEFV mutations in Turkish gouty arthritis patients.

© 2014 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

A artrite gotosa é uma das artrites inflamatórias mais comumente encontradas no mundo. Embora sua epidemiologia mostre variações étnicas significativas, afeta no mínimo 1 a 2% dos homens da parte ocidental do globo.¹ A artrite gotosa apresenta alguns achados clínicos clássicos, como crises dolorosas agudas de artrite nas articulações (especialmente a primeira articulação metatarsal do pé), envolvimento monoarticular e padrão intermitente.² É causada pela deposição de cristais de urato monossódico mono-hidratado (UMM) nas articulações. Os cristais de UMM induzem à liberação de diversas citocinas inflamatórias, particularmente a interleucina-1 (IL-1).³ Além disso, achados recentes revelaram um papel relevante da atividade do inflamassoma no desenvolvimento das crises de gota.³ Por outro lado, a febre familiar do Mediterrâneo (FFM) é a síndrome de febre periódica mais comumente encontrada.⁴ A FFM é causada por mutações (substituições circunstanciais) no gene *Mediterranean FeVer* (MEFV) no braço curto do 16º cromossomo.⁴ Esse gene codifica uma proteína chamada pirina. Sob circunstâncias normais, a pirina limita a ativação do NLRP3-inflamassoma. Presume-se que a proteína pirina que sofreu mutação na FFM teoricamente não é capaz de suprimir o inflamassoma e, assim, a resposta inflamatória se desenvolve.⁵ Tanto a artrite gotosa quanto a FFM compartilham alguns mecanismos clínicos e patogênicos, como a artrite intermitente e de curta duração, a associação com o inflamassoma e a resposta ao tratamento com colchicina e anti-IL-1.^{3,6} Que se tem conhecimento, não há estudo prévio

sobre a associação entre as mutações no gene MEFV e a artrite gotosa. Neste estudo, objetivou-se investigar a prevalência de mutações no gene MEFV e seu efeito sobre as manifestações da doença em pacientes turcos com artrite gotosa.

Métodos

Cálculo do tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi calculado com o uso dos resultados de estudos prévios que investigaram a frequência de mutações no MEFV em pacientes com doenças reumáticas inflamatórias e controles saudáveis.^{7,8} De acordo com a análise, baseada em um $\alpha = 0,05$ e em um poder de 80%, eram necessários no mínimo 89 indivíduos por grupo.

Pacientes e controles

Foram recrutados 97 pacientes não relacionados com diagnóstico de artrite gotosa primária da clínica ambulatorial do Departamento de Reumatologia da Escola Militar de Medicina Gulhane (Ankara, Turquia). O clínico diagnóstico de gota foi estabelecido pelos critérios de classificação revisados do Colégio Americano de Reumatologia.⁹ Os pacientes também foram perguntados quanto à presença de critérios de Tel-Hashom para o diagnóstico de FFM.¹⁰ Coletaram-se ainda dados referentes a sexo, idade, número de crises de gota, uso de diuréticos e história de nefrolitíase e presença de tofo. O grupo controle incluiu 100 indivíduos saudáveis não

relacionados, sem qualquer história de doenças crônicas, recrutados de doadores de sangue e parentes de funcionários do hospital. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e foi obtido um termo de consentimento informado de todos os participantes.

Análise da mutação do gene MEFV

As 197 amostras coletadas foram analisadas à procura de mutações no gene MEFV. O DNA genômico de todas as amostras de sangue foi isolado com o minikit QIA-amp DNA blood (Qiagen, Hilden, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante. Tanto o exon 2 quanto o exon 10 do gene MEFV foram amplificados por reação em cadeia da polimerase (PCR) com os seguintes iniciadores: 5'-GTGGGACAGCTTCATCATTTTG-3' e 5'-CCTTCTCTCTGGGTTTGCTC-3' (exon 2), 5'-TTACTGGGAGGTGGAGGTTG-3', e 5'-GAGG AGCTGTGTTCTTCCC-TC-3' (exon 10). Os produtos da PCR foram purificados com o kit QIAquick PCR (Qiagen). Os amplicons da PCR purificados foram sequenciados bidirecionalmente por fluorescência com o kit ABI BigDye Terminator version 1.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems) e processados em um sequenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média \pm padrão desvio (DP) e as proporções como percentagens. Foram usados os testes de qui-quadrado ou exato de Fisher, quando apropriado, para avaliar a diferença na prevalência de variantes MEFV entre pacientes com artrite gotosa e controles saudáveis. O teste de correlação de Spearman foi usado para descrever as correlações. Todos os valores de p foram bicaudais e os intervalos de confiança (IC) foram estabelecidos em 95%. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi feita com o programa Statistical Package for the Social Science (SPSS), versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Resultados

Foram analisados 97 pacientes com artrite gotosa (93 masculino [M] e quatro feminino [F]; 54 [37-84] anos) e 100 saudáveis controles (94 M e 6 F; 57 [37-86] anos). As distribuições de sexo e idade não foram diferentes entre os grupos ($p=0,75$ e $0,09$, respectivamente). A mediana do número de crises de gota nos pacientes foi de 2 (1-40); 0,8% dos pacientes tinham tofo, 21,5% tinham história de cálculo renal, 23,7% receberam diuréticos e 18,3% tinham história de consumo de álcool.

Foram encontrados 22 pacientes e 24 controles saudáveis que eram portadores de no mínimo um alelo do MEFV com mutação. As mutações no exon 2 observadas neste estudo foram E148Q, R202Q, E230K, T267I e T177I. As mutações no exon 10 detectadas foram M694V, M680I, V726A, R761H, A744S e K695R. A distribuição das mutações em pacientes saudáveis e controles está resumida na [tabela 1](#). A frequência de portadores de mutações no MEFV em pacientes e controles foi de 22,7 e 24%, respectivamente. A comparação entre os

Tabela 1 – Distribuição das mutações do gene MEFV nos indivíduos com artrite gotosa e controles saudáveis

	Pacientes com artrite gotosa, n = 97	Controles saudáveis, n = 100
M694V/M694V	1	
M694V/WT	4	2
M694V/R202Q		1
E148Q/E148Q		2
E148Q/WT	9	14
V726A/WT	1	
R761H/WT	1	1
M680I/WT	1	
A744S/WT	1	1
K695R/WT	1	1
R202Q/WT	2	
R202Q/E230K		1
T267I/WT	1	
T177I/WT		1
WT, tipo selvagem.		

pacientes e os controles não apresentou diferença estatisticamente significativa em termos de frequência de portadores de mutações no MEFV ($p=0,87$; IC 95% = 0,57-1,57). A análise por subgrupo revelou que 31 (15,7%) indivíduos eram portadores de mutação no exon 2 e 16 (8,1%) e portavam ao menos uma mutação no exon 10. Os pacientes com artrite gotosa e os controles não apresentaram qualquer diferença significativa em relação à frequência de portadores de mutações no exon 2 (12 [12,4%] vs. 19 [19%]; $p=0,24$; IC 95% = 0,33-1,27 respectivamente) e exon 10 (10 [10,3%] vs. 6 [6%]; $p=0,31$; IC 95% = 0,65-4,55 respectivamente) ([tabela 2](#)).

As frequências alélicas de mutações no MEFV nos pacientes foram de 11,9% ($n=23$) e 14% ($n=28$) nos controles. As frequências alélicas não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando pacientes e controles foram comparados ($p=0,55$; IC 95% = 0,51-1,42). A análise por subgrupo revelou os seguintes dados: total de mutações no exon 2 = 34 (8,6%) e total de mutações no exon 10 = 17 (4,3%). Os pacientes com artrite gotosa e controles não apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto à distribuição de mutações no exon 2 (12 [6,2%] vs. 22 [11%]; $p=0,11$; IC 95% = 0,28-1,1, respectivamente) e exon 10 (11 [5,7%] vs. 6 [3%]; $p=0,22$; IC 95% = 0,71-5,01 respectivamente) ([tabela 2](#)).

Ao analisar o E148Q separadamente, nem a frequência de portadores nem as frequências alélicas foram diferentes entre os pacientes com artrite gotosa e os controles saudáveis ($p=0,2$; IC 95% = 0,23-1,28; $p=0,11$; IC 95% = 0,21-1,12, respectivamente). Do mesmo modo, as mutações M694V não diferiram significativamente entre pacientes e controles (frequência de portadores $p=0,49$; IC 95% = 0,41-7,56 e frequência alélica $p=0,33$; IC 95% = 0,52-8,5).

A análise por subgrupo de pacientes com artrite gotosa em relação ao seu status de mutação do gene MEFV revelou que pacientes com artrite gotosa com mutações tinham frequências semelhantes de tofo (11,3% vs. 9,1%, respectivamente, $p=1$), história de nefrolitíase (22,5% vs. 18,2%, respectivamente, $p=0,77$) e podagra (42,3% vs. 45,5, respectivamente, $p=0,81$) em comparação com aqueles sem mutações. Além disso, o número de crises de gota também foi semelhante

Tabela 2 – Frequências alélicas e frequências de portadores de variantes do MEFV em pacientes com artrite gotosa comparados com controles saudáveis

	Pacientes com artrite gotosa, n = 97	Controles saudáveis, n = 100	p (IC 95%)
<i>Frequência de portadores, %</i>			
Variantes do exon 2 total	12 (12,4)	19 (19)	0,24 (0,33-1,27)
Variantes do exon 10 total	10 (10,3)	6 (6)	0,31 (0,65-4,55)
Variantes do MEFV total	22 (22,7)	24 (24)	0,87 (0,57-1,57)
<i>Frequência alélica, %</i>			
Variantes do exon 2 total	12 (6,2)	22 (11)	0,11 (0,28-1,1)
Variantes do exon 10 total	11 (5,7)	6 (3)	0,22 (0,71-5,01)
Variantes do MEFV total	23 (11,9)	28 (14)	0,55 (0,51-1,42)

entre os pacientes com e sem mutações (2 [1-8] vs. 2 [1-40], respectivamente, $p=0,38$).

A ocorrência de mutações no MEFV e a presença de tofo, história de nefrolitíase, uso de diurético e número de crises não apresentou qualquer correlação ($p=0,61$; $0,73$; $0,81$ e $0,38$ respectivamente).

Discussão

Neste estudo, mostrou-se que tanto a frequência de portadores quanto as frequências alélicas de mutações no gene MEFV não foram diferentes entre pacientes com artrite gotosa e controles saudáveis. Além disso, a presença de variantes do MEFV não mostrou qualquer associação com as características clínicas da artrite gotosa. Adicionalmente, a gravidade da gota não mostrou qualquer diferença entre os pacientes com e sem mutações no MEFV.

A artrite gotosa é um dos tipos mais comuns de artropatia inflamatória na população idosa. Os cristais de UMM desencadeiam a cascata inflamatória, a qual por fim resulta em dor e inflamação. Nos últimos anos, vários estudos mostraram uma associação entre o inflamassoma NLRP3 e a artrite gotosa.³ Hipotetiza-se que os cristais UMM aumentam a IL-1 β induzida pelo NLRP3 e que a produção desregulada de ocitocina desempenha um papel importante nas características clínicas da gota.³ Recentemente, a gota foi classificada como uma modalidade de doença autoimune inflamatória.¹¹

A FFM é um transtorno autoimune inflamatório hereditário caracterizado por crises agudas de febre e inflamação serosa. É prevalente entre determinados grupos étnicos, como judeus, armênios, turcos e árabes.⁴ A FFM é causada por mutações no gene MEFV, que codifica a proteína pirina. A pirina mutante está associada à cascata inflamatória descontrolada, provavelmente por desregulação na função do inflamassoma e produção excessiva de IL-1 β .⁵

Nos últimos anos, há um interesse considerável nas mutações do gene MEFV e sua associação com as diferentes doenças inflamatórias. Foi encontrado aumento nas mutações do MEFV em indivíduos com espondilite anquilosante,¹² artrite idiopática juvenil,¹³ doença inflamatória intestinal,⁸ reumatismo palíndromo,¹⁴ síndrome de Behçet,⁷ poliarterite nodosa¹⁵ e púrpura de Schoenlein-Henoch.¹⁶ Além disso, foi mostrado que essas mutações estavam associadas a um prognóstico de doença grave em outras síndromes inflamatórias, como a artrite reumatoide.¹⁷

Por causa das semelhanças entre a gota e a FFM (doença autoimune inflamatória, artrite intermitente de curta duração e boa resposta ao tratamento com colchicina e anti-IL-1), fez-se este estudo para determinar se há uma relação entre as mutações no MEFV, o gene causador da FFM, em pacientes com gota. Descobriu-se que a frequência de portadores e as frequências alélicas não foram diferentes entre os pacientes e controles. Na literatura, há um caso de um paciente japonês com sintomas atípicos de artrite gotosa que relatou portar a mutação E148Q em heterozigotia.¹⁸ Que se tem conhecimento, não há outro estudo que descreva a associação entre o MEFV e a gota. Sabe-se que determinadas mutações do MEFV têm desfecho clínico grave, como a associação de amiloidose com o genótipo M694V na FFM.¹⁹ Por outro lado, alguns estudos enfatizam a hiperrepresentação do E148Q em diversos transtornos inflamatórios.¹⁴ Em nossa análise por subgrupo, nem o M694V circunstancial nem as mutações do exon 10 totais foram diferentes no grupo de estudo. Similarmente, as mutações E148Q circunstanciais e totais no exon 2 também não foram diferentes entre os pacientes e os controles. Também não foi encontrada qualquer associação entre as mutações no MEFV e o fenótipo da doença, como nefrolitíase e tofo. Além disso, a análise por subgrupo revelou que o número de crises, a presença de tofos, a história de nefrolitíase e a podagra não foram diferentes entre os pacientes com e sem mutações. Com base no último achado, pode-se sugerir que a presença de mutações nos pacientes com artrite gotosa pode não ter efeito sobre a gravidade da doença.

Este estudo tem algumas limitações, como o pequeno tamanho da amostra (197 indivíduos) e a coleta de dados em corte transversal. Em conclusão, apesar dessas limitações, os resultados deste estudo mostram que as mutações no gene MEFV não exercem um papel relevante em pacientes turcos com artrite gotosa. São necessárias reproduções deste estudo em populações diferentes, com uma maior quantidade de pacientes, para confirmar os resultados encontrados.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Birlik M, Gurler O, Akar S, Sari I, Onen F, Akkoc N. The prevalence of gout in an urban area of Izmir, Turkey: A

- population-based epidemiological study. *Int J Clin Pract*. 2014;68:775-82.
2. Perez-Ruiz F, Castillo E, Chinchilla SP, Herrero-Beites AM. Clinical manifestations and diagnosis of gout. *Rheum Dis Clin North Am*. 2014;40:193-206.
 3. Pope RM, Tschopp J. The role of interleukin-1 and the inflammasome in gout: implications for therapy. *Arthritis Rheum*. 2007;56:3183-8.
 4. Sari I, Birlik M, Kasifoglu T. Familial Mediterranean fever: an updated review. *European Journal of Rheumatology*. 2014;1:21-33.
 5. Samuels J, Ozen S. Familial Mediterranean fever and the other autoinflammatory syndromes: evaluation of the patient with recurrent fever. *Curr Opin Rheumatol*. 2006;18:108-17.
 6. Ozen S, Bilginer Y, Aktay Ayaz N, Calguneri M. Anti-interleukin 1 treatment for patients with familial Mediterranean fever resistant to colchicine. *J Rheumatol*. 2011;38:516-8.
 7. Atagunduz P, Ergun T, Direskeneli H. MEFV mutations are increased in Behcet's disease (BD) and are associated with vascular involvement. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21 4 Suppl 30:S35-7.
 8. Giaglis S, Mimidis K, Papadopoulos V, Thomopoulos K, Sidiropoulos P, Rafail S, et al. Increased frequency of mutations in the gene responsible for familial Mediterranean fever (MEFV) in a cohort of patients with ulcerative colitis: evidence for a potential disease-modifying effect? *Dig Dis Sci*. 2006;51:687-92.
 9. Wallace SL, Robinson H, Masi AT, Decker JL, McCarty DJ, Yu TF. Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of primary gout. *Arthritis Rheum*. 1977;20:895-900.
 10. Pras M. Familial Mediterranean fever: from the clinical syndrome to the cloning of the pyrin gene. *Scand J Rheumatol*. 1998;27:92-7.
 11. Punzi L, Scanu A, Ramonda R, Oliviero F. Gout as autoinflammatory disease: new mechanisms for more appropriated treatment targets. *Autoimmun Rev*. 2012;12:66-71.
 12. Akkoc N, Sari I, Akar S, Binicier O, Thomas MG, Weale ME, et al. Increased prevalence of M694V in patients with ankylosing spondylitis: additional evidence for a link with familial mediterranean fever. *Arthritis Rheum*. 2010;62:3059-63.
 13. Ayaz NA, Ozen S, Bilginer Y, Erguven M, Taskiran E, Yilmaz E, et al. MEFV mutations in systemic onset juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48:23-5.
 14. Canete JD, Arostegui JI, Queiro R, Gratacos J, Hernandez MV, Larrosa M, et al. An unexpectedly high frequency of MEFV mutations in patients with anti-citrullinated protein antibody-negative palindromic rheumatism. *Arthritis Rheum*. 2007;56:2784-8.
 15. Ozen S, Ben-Chetrit E, Bakkaloglu A, Gur H, Tinaztepe K, Calguneri M, et al. Polyarteritis nodosa in patients with Familial Mediterranean Fever (FMF): a concomitant disease or a feature of FMF? *Semin Arthritis Rheum*. 2001;30:281-7.
 16. Ozdogan H, Arisoy N, Kasapcapur O, Sever L, Caliskan S, Tuzuner N, et al. Vasculitis in familial Mediterranean fever. *J Rheumatol*. 1997;24:323-7.
 17. Koca SS, Etem EO, Isik B, Yuce H, Ozgen M, Dag MS, et al. Prevalence and significance of MEFV gene mutations in a cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2010;77:32-5.
 18. Nonaka F, Migita K, Haramura T, Sumiyoshi R, Kawakami A, Eguchi K. Colchicine-responsive protracted gouty arthritis with systemic inflammatory reactions. *Mod Rheumatol*. 2014;24:540-3.
 19. Kasifoglu T, Bilge SY, Sari I, Solmaz D, Senel S, Emmungil H, et al. Amyloidosis and its related factors in Turkish patients with familial Mediterranean fever: a multicentre study. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53:741-5.