



Universidade dos Açores

Departamento de Biologia

Ana Margarida de Lima Freitas



**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA
DE DOENTES AÇORIANOS COM
ESPONDILITE ANQUILOSANTE**

Ponta Delgada, 2011



Universidade dos Açores

Departamento de Biologia

Ana Margarida de Lima Freitas

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA
DE DOENTES AÇORIANOS COM
ESPONDILITE ANQUILOSANTE**

Orientação: Doutor Jácome Bruges Armas

Dissertação apresentada à Universidade dos Açores para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas.

Ponta Delgada, 2011

Agradecimentos

Em primeiro lugar, ao Doutor Jácome Bruges Armas pela orientação e incansável disponibilidade até ao último minuto da realização deste trabalho, apesar da sua apertada agenda, devido às múltiplas tarefas a que se dedica.

Ao Dr. Bruno Bettencourt pela disponibilidade e apoio em áreas em que estava menos à vontade e a toda a equipa do Serviço Especializado de Epidemiologia e Biologia Molecular do Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo que directa ou indirectamente contribuiu para a realização deste trabalho. Às minhas queridas amigas Marta Silva e Marta Ventura pela importante ajuda prestada.

E porque na origem deste trabalho está a ruptura com a resignação e o virar de uma nova página, um agradecimento aos principais actores envolvidos nesta nova fase, onde o trabalho e a esperança caminharam lado a lado: à minha prima e amiga Sara, à querida colega Lúcia, (novamente) à colega Marta Ventura, à Dr.^a. Marta, à Dr.^a Paula e ao Sr. Jorge.

Por último, e em particular, ao meu pai, José, grande impulsionador de projectos como este, e à minha mãe, Nivia, minha melhor amiga, minha cúmplice e meu porto seguro.

ÍNDICE

RESUMO.....	1
LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
PARTE I – INTRODUÇÃO	7
Nota Introdutória e Objectivos do Trabalho.....	7
PARTE II – REVISÃO DA LITERATURA.....	8
Capítulo I	
Espondilite Anquilosante	8
1. Espondilite Anquilosante e Espondilartrites	8
1.1. Revisão Histórica.....	9
1.2. Epidemiologia.....	10
1.3. Sinais e Sintomas.....	12
1.3.1. Manifestações Extra-Axiais.....	15
1.4. Patogénese	16
1.5. Etiologia	17
1.5.1. Agentes Infecciosos	18
1.5.2. Trauma.....	18
1.5.3. Factores Genéticos.....	18
1.5.4. Factores Ambientais	19
1.5.5. Características Individuais.....	19
1.6. Diagnóstico.....	20
1.6.1. Critérios de Diagnóstico	20
1.6.2. Índices de Bath	24
1.6.2.1. BASMI	24
1.6.2.2. BASFI.....	25
1.6.2.3. BASDAI	26
1.6.2.4. BASRI	26

1.6.2.5. BAS-G	27
1.6.3. Exames Complementares de Diagnóstico	27
1.6.3.1. Exames Radiológicos	27
1.6.3.2. Testes Laboratoriais.....	29
1.6.3.3. Histologia	30
1.6.4. Importância da Rapidez do Diagnóstico.....	30
1.7. Tratamento.....	31
1.7.1. Terapêutica Farmacológica.....	31
1.7.1.1. Anti-Inflamatórios Não Esteróides.....	31
1.7.1.2. Bloqueadores do Factor de Necrose Tumoral	32
1.7.1.3. Outros Fármacos.....	32
1.7.2. Exercício Físico	33
1.7.3. Cirurgia.....	33
1.7.4. Imobilização	34
1.8. Gestão da Doença / Qualidade de Vida.....	34

Capítulo II

Sistema HLA e Espondilite Anquilosante35

1. MHC / HLA.....	35
1.1. Estrutura da Molécula HLA-B27	38
1.1.1 Alelo HLA-B27 e Espondilite Anquilosante.....	40
1.1.1.1. Mimetismo molecular.....	41
1.1.1.2. HLA-B27 <i>misfolding</i>	41
1.1.1.3. Exposição de péptidos derivados do HLA-B27 por moléculas HLA de classe II	41
1.1.1.4. Libertação da β_2 -microglobulina	42
1.1.1.5. Cisteína (Cys67)	42
1.1.2. Distribuição Étnica e Geográfica do HLA-B27	43
1.1.3. Subtipos HLA-B27 e Associação com a Espondilite Anquilosante.....	44
1.1.3.1. Distribuição Étnica e Geográfica dos subtipos HLA-B27	45

1.2. Outros Alelos HLA e Espondilite Anquilosante	47
Capítulo III	
Genes não-HLA e Espondilite Anquilosante.....	49
PARTE III – ESPONDILITE ANQUILOSANTE NOS AÇORES – ESTUDO DE CASOS E FAMILIAS	52
Capítulo I	
Caracterização Fenotípica de doentes Açorianos com Espondilite Anquilosante..	52
1. Metodologia.....	52
2. Resultados.....	52
3. Discussão	53
Capítulo II	
Caracterização Genotípica de Doentes Açorianos com Espondilite Anquilosante.	60
1. Subtipos dos alelos HLA-B27	60
1.1. Metodologia.....	60
1.2. Resultados.....	61
1.3. Discussão	62
2. Haplótipos HLA de Classes I e II e Haplótipos HLA Estendidos.....	63
2.1. Metodologia.....	63
2.2. Resultados.....	64
2.3. Discussão	67
PARTE IV – CONCLUSÕES.....	71
BIBLIOGRAFIA	73
APÊNDICE	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Radiografias da coluna lombar e região SI. a) Radiografia de um indivíduo saudável, realçando as articulações SI; b) Radiografia de um doente com AS, com evidente sacroileite simétrica e formação de sindesmófitos (de notar a ausência de espaços inter-vertebrais).....	12
Figura 2: Representação de fusão entre vértebras (sindesmófitos) e consequente anquilose da coluna vertebral	13
Figura 3: Disposição e organização dos genes do sistema HLA no cromossoma 6.....	37
Figura 4: Representação da estrutura das moléculas HLA Classe I e II.....	38
Figura 5: Representação da estrutura tridimensional da molécula HLA-B27.....	40
Figura 6: Representação da ligação do péptido antigénico ao HLA-B27 e reconhecimento pelo receptor da célula T.....	40

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Critérios de classificação de Roma para a AS.....	21
Tabela 2: Critérios de classificação de Nova York para a AS.....	22
Tabela 3: Critérios de classificação de Nova York modificados para a AS.....	22
Tabela 4: Critérios de classificação de SpA de acordo com o ESSG.....	23
Tabela 5: Critérios de classificação de SpA de acordo com Amor	23
Tabela 6: BASMI	25
Tabela 7: Subtipos HLA-B27, origem étnica e populações onde são encontrados.....	46
Tabela 8: Resultados do OR e valores de p encontrados através da aplicação do Teste Exacto de Fisher para relacionar subtipos HLA-B27 com a susceptibilidade à AS (IC = 95%).	61
Tabela 9: Haplótipos HLA de Classe I dos grupos de doentes e controlos estudados e respectivas frequências absolutas (n) e relativas (%).	64
Tabela 10: Haplótipos HLA de Classe II dos grupos de doentes e controlos estudados e respectivas frequências absolutas (n) e relativas (%).	65
Tabela 11: Resultados do OR (IC = 95%) e valores de p encontrados através da aplicação do Teste Exacto de Fisher ($p < 0,05$) para relacionar haplótipos específicos HLA das Classes I e II com a susceptibilidade à AS	65
Tabela 12: Haplótipos HLA estendidos dos grupos de doentes e controlos estudados e respectivas frequências absolutas (n) e relativas (%).	66
Tabela 13: Resultados do OR (IC = 95%) e valores de p encontrados através da aplicação do Teste Exacto de Fisher ($p < 0,05$) para relacionar haplótipos HLA estendidos específicos com a susceptibilidade à AS	67

RESUMO

Objectivos: Estudar a Espondilite Anquilosante (AS) nos Açores através da caracterização fenotípica e genotípica dos doentes Açoreanos afectados pela doença. Relacionar haplótipos HLA específicos com a susceptibilidade à AS.

Metodologia: O trabalho dividiu-se em duas partes: caracterização fenotípica e caracterização genotípica. Utilizaram-se em ambas as partes amostras recolhidas no Serviço Especializado de Epidemiologia e Biologia Molecular (SEEBMO). Na caracterização fenotípica utilizou-se uma amostra de 64 doentes com diagnóstico confirmado de AS, cujos dados foram complementados através da revisão dos processos clínicos no Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo. Os parâmetros estudados foram: idade dos primeiros sintomas, idade de diagnóstico, outros diagnósticos associados – uveíte, artrite periférica, entesopatia periférica, psoríase, doença cardíaca e doença inflamatória do intestino (IBD) –, Critérios de Nova York – sacroileíte e dor lombar inflamatória (IBP) –, subtipo HLA-B27, história familiar e tratamento – drogas anti-inflamatórias não-esteróides (NSAIDS), metrotexato (MTX), Salazopirina e antagonistas do factor de necrose tumoral (TNF). Calcularam-se as frequências absolutas e relativas de cada um dos parâmetros através do programa Microsoft Office Excel 2007. Na caracterização genotípica utilizou-se uma amostra constituída por dois grupos: 28 doentes com AS HLA-B27 positivos e 20 controlos sem evidência de Espondilartrites (SpA) HLA-B27 positivos. As amostras dos doentes e controlos seleccionados e seus familiares foram genotipadas por PCR SSP e os haplótipos reais obtidos por segregação. Calcularam-se as frequências absolutas e relativas dos subtipos B27 e haplótipos HLA Classes I e II e estendidos através do Microsoft Office Excel 2007. Relacionaram-se os subtipos e haplótipos HLA Classes I e II e estendidos comuns a doentes e controlos com a susceptibilidade à AS através do software online VassarStats, utilizando o Teste Exacto de Fisher ($p < 0,05$) e o Odds Ratio (OR) (Intervalo de Confiança = 95%).

Resultados e Conclusões: Na caracterização fenotípica verificou-se que, tal como noutros estudos, a AS afecta preferencialmente o sexo masculino, na proporção de um doente do sexo feminino para 3 do sexo masculino (1 / 2,71). A idade média de manifestação dos primeiros sintomas foi de 27 anos (moda de 20 anos) e a idade média de diagnóstico de 40 anos (moda de 37 anos), com um longo intervalo de 13 anos entre ambas. O principal sintoma foi a IBP, que afectou todos os doentes (100%), observando-se sacroileíte bilateral em 71,88%. As manifestações extra-axiais afectavam 78,13% dos doentes, com predomínio da artrite periférica (37,5%), uveíte (32,81%) e entesopatia periférica (26,56%), seguidas da psoríase (14,06%), IBD (12,5%) e doença cardíaca (12,5%). Comprovou-se mais uma vez a associação da AS ao B27,

dado que 82,54% dos doentes eram B27 positivos e apenas 17,46% B27 eram negativos, com predomínio do subtipo B*2705 (88,46%) e uma pequena fracção com os subtipos B*2708 (5,77%) e B*2702 (5,77%). Identificaram-se 28,13% doentes com história familiar de SpA, entre os quais 21,88% tinham história familiar de AS, evidenciando a componente genética de susceptibilidade à AS. Todos os doentes (100%) utilizavam terapêutica farmacológica, sobretudo NSAIDS (98,44%), seguido dos antagonistas do TNF (40,63%), da Salazopirina (25%) e do MTX (18,75%). Na caracterização genotípica, identificaram-se no total da amostra 5 subtipos B27: B*2705 (79,17%), B*2703 (6,25%), B*2708 (6,25%), B*2707 (4,17%) e B*2702 (4,17%). O B*2705 foi o subtipo predominante, tal como verificado noutros estudos na população caucasiana. A variabilidade de subtipos obtida sugere a diversidade da origem da população Açoriana. Entre os doentes, 92,86% apresentavam o subtipo B*2705, 3,57% o B*2702 e 3,57% o B*2708. Verificou-se uma associação do subtipo B*2705 com a susceptibilidade à AS (OR = 8,67; $p = 0,01$). Não foi encontrada nenhuma associação entre haplótipos HLA específicos e a AS. Identificaram-se 23 haplótipos HLA de Classe I diferentes, com 4 comuns a doentes e controlos: A*02-B*2705-CW*01 (OR = 2,45, $p = 0,44$), A*24-B*2705-CW*02 (OR = 2,45, $p = 0,44$), A*24-B*2705-CW*01 (OR = 1,46, $p = 1$) e A*03-B*2705-CW*02 (OR = 0,44, $p = 0,64$). Obtiveram-se 11 haplótipos HLA de Classe II diferentes, com 6 comuns aos dois grupos: DRB1*11-DRQ1*03 (OR = 0,5, $p = 0,46$), DRB1*04-DRQ1*03 (OR = 1,33, $p = 0,74$), DRB1*01-DRQ1*05 (OR = 1,33, $p = 0,74$), DRB1*07-DRQ1*02 (OR = 0,31, $p = 0,40$), DRB1*03-DRQ1*02 (OR = 0,7, $p = 1$) e DRB1*13-DRQ1*06 (OR = 1,46, $p = 1$). Identificaram-se 32 haplótipos HLA estendidos diferentes, com 3 comuns a ambos os grupos: A*24-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03 (OR = 3,17; $p = 0,38$), A*02-B*2705-CW*01-DRB1*01-DQB1*05 (OR = 1,4; $p = 1$) e A*03-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03 (OR = 0,69; $p = 1$).

ABSTRACT

Objectives: To investigate the phenotypic and genotypic features of Azoreans patients with Ankylosing Spondylitis (AS). To relate specific HLA haplotypes to the susceptibility to AS.

Methodology: The work was divided in two parts: phenotypic and genotypic characterization. In both parts samples are collected at the Serviço Especializado de Epidemiologia e Biologia Molecular (SEEBMO). For the phenotypic characterization a sample of 64 patients with a confirmed diagnosis of AS was used, and data was obtained from the clinical files at the Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo. The following parameters were investigated: age of onset of the symptoms, age of diagnosis, other associated diagnosis – uveitis, peripheral arthritis, peripheral enthesopathy, psoriasis, cardiac disease and inflammatory bowel disease (IBD) –, New York Criteria– sacroiliitis and inflammatory back pain (IBP) –, HLA-B27 subtype, family history and treatment – non steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDS), methotrexate (MTX), Salazopyrin and tumoral necrosis factor antagonists (TNF). The absolute and relative frequency of each parameter was calculated using the Microsoft Office Excel 2007 program. For the genotypic characterization a sample consisting of two groups of patients was selected: 28 patients with AS HLA-B27 positive and 20 controls without evidence of spondyloarthritis (SpA) and HLA-B27 positive. The patients samples, the selected controls and those of their families were genotyped by PCR SSP and the real haplotypes were obtained by segregation. The absolute and relative frequency of the B27 subtypes and Class I and II and extended HLA haplotypes were calculated using Microsoft Office Excel 2007. Subtypes and Class I and II and extended HLA haplotypes identified in both patients and controls were investigated for AS susceptibility using the VassarStats online software with the Fisher Exact Test ($p < 0,05$) and the Odds Ratio (OR) (Confidence Interval = 95%).

Results and Conclusions: for the phenotypic characterization it was found that, as in other studies, AS affects preferentially the male gender, in the proportion of one female to 3 male patients (1 / 2,71). The average age of the first symptoms was 27 years old (mode 20 years old) and the average age of diagnosis was 40 years old (mode 37 years old), with a period of 13 years between both. The main symptom was IBP, which affected all patients (100%), and 71,88% had bilateral sacroiliitis. Other manifestations affected 78,13% of patients, and were mainly of peripheral arthritis (37,5%), uveitis (32,81%) and peripheral enthesopathy (26,56%), followed by psoriasis (14,06%), IBD (12,5%) and heart disease (12,5%). It was confirmed once more the association between AS and B27, because 82,54% of patients were B27 positive and only 17,46% were B27 negative, with predominance of B*2705 subtype (88,46%) and a small group with B*2708 (5,77%) and B*2702 (5,77%) subtypes. A family history of SpA was

identified in 28,13% of the patients, among which 21,88% had family history of AS, enhancing the genetic component of susceptibility to AS. All patients (100%) were under treatment, mainly NSAIDS (98,44%), followed by TNF antagonists (40,63%), Salazopyrin (25%) and MTX (18,75%). For the genotypic characterization 5 B27 subtypes were identified in the sample: B*2705 (79,17%), B*2703 (6,25%), B*2708 (6,25%), B*2707 (4,17%) and B*2702 (4,17%). The B*2705 was the main subtype, shown in previous studies of the caucasian population. The variability of subtypes obtained suggests the diversity of the ethnic origin of the Azorean population. Among patients, 92,86% had the B*2705 subtype, 3,57% the B*2702 and 3,57% the B*2708. It was confirmed an association of B*2705 subtype with the susceptibility to AS (OR = 8,67; $p = 0,01$). No association was found between specific HLA haplotypes and AS. 23 distinct Class I HLA haplotypes were identified, and 4 were found both in patients and controls: A*02-B*2705-CW*01 (OR = 2,45, $p = 0,44$), A*24-B*2705-CW*02 (OR = 2,45, $p = 0,44$), A*24-B*2705-CW*01 (OR = 1,46, $p = 1$) e A*03-B*2705-CW*02 (OR = 0,44, $p = 0,64$). 11 different Class II HLA haplotypes were obtained, and 6 were found in both groups: DRB1*11-DRQ1*03 (OR = 0,5, $p = 0,46$), DRB1*04-DRQ1*03 (OR = 1,33, $p = 0,74$), DRB1*01-DRQ1*05 (OR = 1,33, $p = 0,74$), DRB1*07-DRQ1*02 (OR = 0,31, $p = 0,40$), DRB1*03-DRQ1*02 (OR = 0,7, $p = 1$) e DRB1*13-DRQ1*06 (OR = 1,46, $p = 1$). 32 different extended HLA haplotypes were identified and 3 were found in both groups: A*24-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03 (OR = 3,17; $p = 0,38$), A*02-B*2705-CW*01-DRB1*01-DQB1*05 (OR = 1,4; $p = 1$) and A*03-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03 (OR = 0,69; $p = 1$).

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS: Espondilite Anquilosante Adulta

Ag: Antígeno

AL: Lesão de Anderson

AS: Espondilite Anquilosante

BASDAI: Índice de Actividade de Bath para a AS

BASFI: Índice Funcional de Bath para a AS

BAS-G: Score Global de Bath para a AS

BASMI: Índice Metrológico de Bath para a AS

BASRI: Índice Radiológico de Bath para a AS

β_2 -m: β_2 -microglobulina

CYP2D6: Citocromo P450 2D6 – debrisoquine hydroxylase

Cys: Cisteína

DMO: Densitometria Óssea

ESSG: Grupo de Estudo Europeu de Espondilartropatias

HCV: Vírus da Hepatite C

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

HLA: Antígeno Leucocitário Humano

HSEAH: Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo

HWE: Equilíbrio de Hardy-Weinberg

IBD: Doença Inflamatória do Intestino

IBP: Dor Lombar Inflamatória

IC: Intervalo de Confiança

Ig: Imunoglobulina

IL: Interleucina

IRM: Ressonância Magnética

JAS: Espondilite Anquilosante Juvenil

KIR: genes dos receptores de imunoglobulinas das células Killer

MHC: Complexo *Major* de Histocompatibilidade

MMP3: metaloproteinase-3

MXT: Metrotexato

NSAIDs: Drogas Anti-Inflamatórias Não-Esteróides

OR: Odds Ratio

PCR: Proteína C-reactiva

PsA: Artrite Psoriásica

RA: Artrite Reumatóide

ReA: Artrite Reactiva

RE: Retículo Endoplasmático

Rx: Raio-X

SEEBMO: Serviço Especializado de Epidemiologia e Biologia Molecular

SI: Sacroilíacas

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida

SpA: Espondilartrite

TAC: Tomografia Axial Computorizada

TNF: Factor de Necrose Tumoral

uSpA: Espondilartrite Indiferenciada

VAS: Escala visual análoga

VEGF: Factor de Crescimento Epidérmico Vasoactivo

VSE: Velocidade de Sedimentação Eritrocitária

χ^2 : Qui-Quadrado

PARTE I – INTRODUÇÃO

Nota Introdutória e Objectivos do Trabalho

A Espondilite Anquilosante (AS) é uma doença inflamatória musculoesquelética cujos principais sintomas são: dor, rigidez das articulações e diminuição da mobilidade do esqueleto axial. A progressão da doença resulta no agravamento dos sintomas, com uma diminuição substancial da qualidade de vida dos doentes devido às limitações físicas e incapacidade causada.

Considerando que a AS é, a seguir à Artrite Reumatóide (RA), a doença reumática inflamatória com maior prevalência na população Caucasóide e que, de acordo com estudos anteriores, a prevalência das Espondilartrites (SpA) é relativamente elevada nos Açores, revela-se pertinente perceber o modo como a AS se manifesta na população Açoriana.

Assim sendo, foram estabelecidos os seguintes objectivos para este trabalho:

1. Caracterizar os fenótipos de um grupo de doentes com AS nos Açores, atendendo sobretudo à idade de início dos sintomas, idade de diagnóstico, sexo, manifestações radiológicas, agressão axial/periférica e presença de manifestações clínicas extra-articulares, nomeadamente, doença inflamatória ocular, intestinal, dermatológica e cardíaca;
2. Caracterizar os subtipos dos alelos HLA-B27 em doentes e controles da população dos Açores;
3. Identificar os haplótipos HLA de Classes I e II bem como os haplótipos HLA estendidos (Classes I e II) utilizando um grupo de famílias genotipadas para os alelos em estudo, tentando relacionar haplótipos específicos com a susceptibilidade à doença.

PARTE II – REVISÃO DA LITERATURA

Capítulo I

Espondilite Anquilosante

1. Espondilite Anquilosante e Espondilartrites

O termo Espondilite Anquilosante (AS) deriva das palavras gregas ankylos (curvatura) e spondylos (vértebra) (Bruges-Armas, 2001).

A AS é uma doença inflamatória complexa, crónica, potencialmente debilitante, que afecta principalmente o esqueleto axial e envolve frequentemente as articulações periféricas, os ligamentos e estruturas tendinosas nas suas inserções ósseas (as enteses), bem como outras estruturas extra-articulares (Gu et al., 2009; Lin et al., 2009). A espondilite anquilosante juvenil (JAS) é, por definição, a AS que afecta crianças de idade inferior a 16 anos; foi considerada à parte por apresentar um curso clínico diferente da AS com início na idade adulta (AAS) (Lin et al., 2009).

As doenças inflamatórias reumáticas que afectam predominantemente a coluna vertebral são incluídas no grupo heterogéneo das Espondilartrites (SpA). Recentemente, chegou-se ao consenso que o termo Espondiloartrite deve ser utilizado para designar estas patologias, de modo a enfatizar a natureza da resposta inflamatória destas doenças (Sieper, 2009).

De acordo com o Grupo de Estudo Europeu de Espondilartropatias (ESSG), as SpA compreendem a Espondilite Anquilosante (AS), a Artrite Reactiva (ReA) – que inclui a síndrome de Reiter –, a Artrite Psoriásica (PsA), a SpA associada à Doença Inflamatória do Intestino e a SpA Indiferenciada (uSpA) (Zochling, Brandt & Braun, 2005). Todos estes tipos de SpA têm em comum o facto de partilharem manifestações clínicas, manifestações radiológicas (sacroileíte), a presença de entesite como lesão patogénica de base, o mesmo padrão de envolvimento das articulações (com artrite assimétrica predominantemente nos membros inferiores) e a forte associação a um gene do Complexo *Major* de Histocompatibilidade (MHC), o alelo HLA-B27 (Kataria & Brent, 2004; Sieper, 2009). Entre as SpA, a AS e a uSpA são consideradas os tipos mais comuns (Carter et al., 2009). Contudo, a AS é a SpA mais relevante nos doentes com sintomas predominantemente axiais e é considerada, juntamente com a PsA, como a SpA com consequências mais severas (Sieper, 2009).

1.1. Revisão Histórica

Estudos paleopatológicos de múmias egípcias sugerem que a AS tem agredido a humanidade desde a antiguidade. No entanto, o que poderá ser considerada a primeira descrição histórica da AS só surge na literatura em 1559, quando Realdo Colombo fez no seu livro (*De Re Anatomica*) uma descrição anatómica de dois esqueletos com alterações típicas de AS. Mais de 100 anos depois, em 1693, Bernard Connor, um médico irlandês, descreveu a anatomia anormal de um esqueleto incomum encontrado num cemitério, em que o ílion, o sacro, cinco vértebras lombares e 10 torácicas, cinco costelas direitas e três esquerdas e algumas vértebras e costelas adjacentes formavam um osso contínuo (Sieper et al., 2002). Desde logo, supôs que o homem em vida deveria ter sido imóvel e só poderia respirar através do diafragma.

Uma das primeiras descrições clínicas foi feita por Benjamin Travers em 1824, numa rapariga de 26 anos com dores nas costas, anquilosada abaixo da primeira vértebra dorsal. A descrição mais dramática foi feita por P. M. Lyons (1831-1832) num homem de 36 anos, com 7 anos de história de dor severa nos cotovelos e joelhos, e mais tarde em todas as outras articulações e coluna vertebral. O homem estava completamente imobilizado, conseguindo mover apenas o polegar esquerdo, o dedo pequeno direito e parcialmente a mandíbula e um quadril (Bywaters, 1980).

A primeira correlação clínica e patológica foi esboçada por Charles Fagge em 1877, em Londres. Na mesma época, foram feitas observações no continente europeu por indivíduos cujos nomes, até meados desse século, eram sinónimos da doença nos seus próprios países: Adolf Strümpell na Alemanha, Pierre Marie em França e Wladimir M. Bechterew na Rússia. A doença é ainda conhecida como *Morbus Bechterew* na Escandinávia, Alemanha, Áustria, Rússia e nos países anteriormente pertencentes à Rússia (Rogers, 1998).

Várias outras designações foram atribuídas a esta patologia para além dos nomes dos médicos envolvidos no estudo e descrição da doença. Foram também utilizados os termos Espondilite Reumatóide, Espondilite Rizomélica e Espondilite Anquilopoiética (Bruges-Armas, 2001). O termo Espondilite Anquilosante foi introduzido por volta de 1900, no tempo em que o diagnóstico era feito apenas com base na experiência clínica, sem a ajuda de resultados radiográficos ou laboratoriais (Sieper, 2009).

Roentgen desenvolveu o raio-X (Rx) em 1896. As primeiras AS foram documentadas em Rx por Beneke em 1897 e por Albert Hoffa e Valentini em 1899.

Schlayer (1906) foi o primeiro a utilizar a radiografia para mostrar a coluna num doente in vivo, a qual seria utilizada em 1930 no importante reconhecimento da sacroileite no início da doença (Bywaters, 1980).

Uma complicação bem conhecida na AS é o desenvolvimento localizado de lesões vertebrais e discovertebrais na coluna, como descrito pela primeira vez por Andersson em 1937. Desde então, várias denominações têm sido utilizadas na literatura para se referir a esta lesão na coluna, incluindo o epónimo lesão de Andersson (AL) (Bron et al., 2009).

Observações feitas em famílias por Wright e colegas em 1974 conduziram à denominação de espondilites seronegativas, que finalmente pôs fim à insistência em algumas partes do mundo de que a doença era uma variante da artrite reumatóide.

Durante a primeira metade do século XX, os doentes foram erroneamente tratados por imobilização em revestimentos de gesso para prevenir a coluna em “bamboo”. Só mais tarde, com os relatos de alguns doentes militares durante a segunda guerra mundial, que diziam ter a sensação que se sentiam melhor quando praticavam exercício, foram retirados os modelos de gesso e encaminhados os doentes para a prática de ginásticas correctivas. Em 1926, Kohler introduziu a terapêutica por Rx, que em muitos doentes conduziu a um decréscimo considerável da dor, mas foi também mais tarde descontinuada após resultados negativos obtidos por Sir Richard Doll. A aspirina foi durante décadas o único meio farmacológico utilizado no controlo da dor. Contudo, em 1950 houve a introdução do fenilbutazona – o primeiro agente anti-inflamatório – que foi rapidamente seguido por muitos outros.

Inquéritos realizados à população nas décadas de 50 e 60 (século XX) começaram a estabelecer associações familiares e diferenças étnicas (Rogers, 1998). A revolução deu-se quando no mesmo ano, em 1973, dois grupos, Schlosstein et al. e Brewerton et al, descobriram a associação entre a AS e o HLA-B27 (Bywaters, 1980).

1.2. Epidemiologia

Estudos epidemiológicos indicam que as SpA podem ter maior prevalência que a RA em países como os Estados Unidos da América e China. As SpA parecem ser pelo menos tão comuns como a RA em várias populações europeias estudadas, designadamente, na Finlândia, Suécia, Lituana, França, Itália e Turquia (Akkoc, 2008).

A prevalência global da AS na população mundial tem sido relatada entre 0,2 a 0,9% (Braun et al., 1998). Estudos realizados em diferentes países revelaram valores específicos para cada um deles, embora, de uma forma geral, apresentem todos valores semelhantes aos estimados a nível global.

A prevalência da AS varia entre 0,2 e 0,86% na população adulta caucasóide. A prevalência aumenta para mais de 2% entre os indivíduos HLA-B27 positivos da população geral e para 10-30% entre os familiares HLA-B27 positivos em primeiro grau de doentes HLA-B27 positivos com AS (Khan, 1998b).

Na população norte-americana calcula-se que a prevalência varie entre 0,1% a 0,2% (Kataria, 2004), com um aumento para 2,5% no caso particular da população adulta nativa do Alasca (Boyer et al., 1994). Há uma prevalência mais baixa da AS entre os americanos negros comparativamente aos caucasóides, e a associação encontrada entre a AS e o HLA-B27 é também mais fraca nos negros (próximo dos 50%) do que nos caucasóides (mais de 90%) (Khan, 1998b). Os indianos Haida residentes nas ilhas Rainha Charlotte, na província canadiana de British Columbia, apresentam uma prevalência de 50% do HLA-B27 e a AS ocorre em 4% dos homens adultos da população (Gofton, 1980).

Estudos realizados na Europa revelaram uma prevalência da AS de 0,15% na Finlândia (Kaipianinen-Seppanen, Aho & Heliovaara, 1997), 1,1-1,4% entre os adultos da Noruega (Gran, Husby & Hordvik, 1985) e 0,24% na Holanda (Van der Linden et al., 1984). Um estudo realizado por Braun e colegas (1998) em doadores de sangue na Alemanha demonstrou existir uma prevalência das SpA na população alemã de 1,9%, com a AS a ser o tipo mais comum com uma prevalência de 0,86%, seguido da uSpA com 0,67. Nos Açores (Portugal), especificamente na ilha Terceira, foi encontrada uma prevalência de SpA de 1,6%, sendo a prevalência de SpA HLA-B27 de 0,6% se considerados ambos os sexos e de 1,2% considerando apenas o sexo masculino (Bruges-Armas et al, 2002).

Os Chukchis nativos da Sibéria apresentam uma elevada prevalência das SpA na população em geral. Os nativos do norte da Escandinávia (Lapland) têm uma prevalência de AS na população geral de 1,8% (Khan, 1998b). Na população chinesa foi estimada uma prevalência de cerca de 0,2 a 0,4% (Gu et al., 2009).

1.3. Sinais e Sintomas

Os primeiros sintomas de AS surgem geralmente no final da adolescência ou início da idade adulta (Sieper et al., 2002).

A dor lombar inflamatória (IBP) e a rigidez são os principais sintomas clínicos referidos pelos doentes com AS. A dor caracteriza-se usualmente pela dificuldade de localização num ponto específico, é insidiosa e intermitente no início, frequentemente monolateral, mas depois torna-se persistente e bilateral. Está associada a rigidez após longos períodos de inactividade, sobretudo durante a noite e de manhã. Os doentes têm frequentemente dificuldade em dormir, tornando-se também a fadiga um dos principais sintomas da doença (Khan, 1998a; Salvarani & Fries, 2009).

Em 90% dos casos, a doença tem início com uma sacroileíte – fusão das articulações sacro-íliacas (SI). Com o curso da doença, várias estruturas da coluna podem ser afectadas, predominantemente as pequenas articulações intervertebrais, com formação de sindesmófitos – fusão das vértebras (Sieper, 2009) (Figura 1).

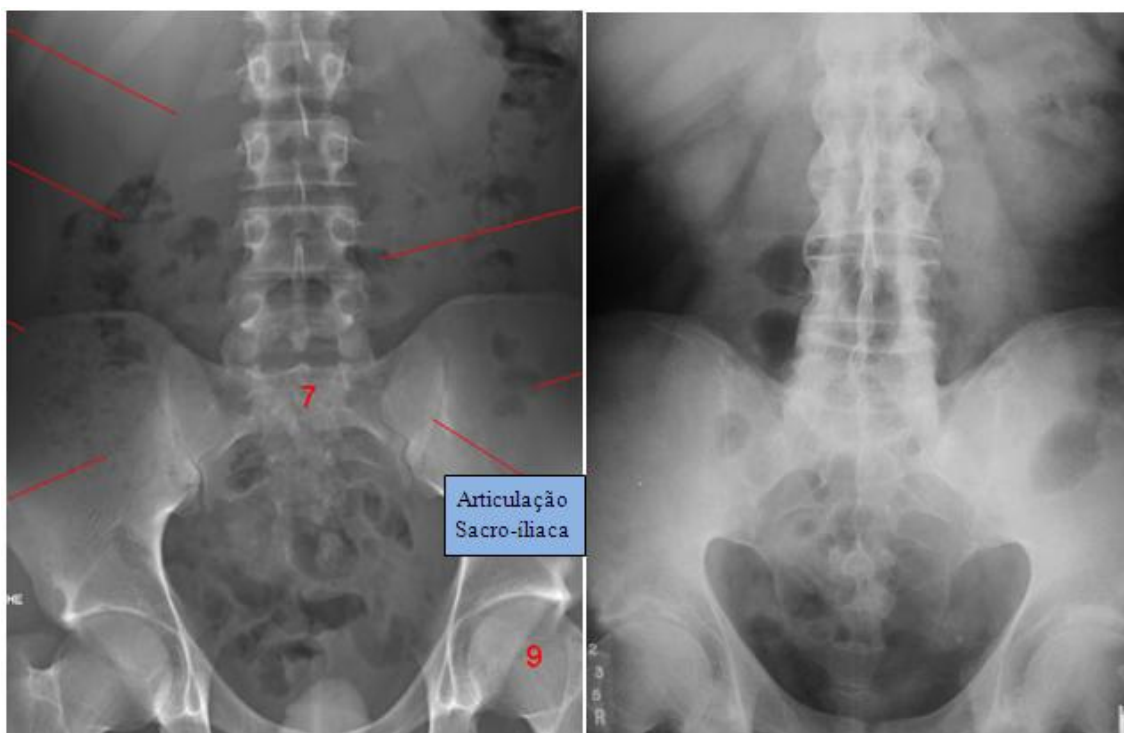


Figura 1: Radiografias da coluna lombar e região SI. a) Radiografia de um indivíduo saudável, realçando as articulações SI; b) Radiografia de um doente com AS, com evidente sacroileíte simétrica e formação de sindesmófitos (de notar a ausência de espaços inter-vertebrais) (adaptado de www.info-radiologie.ch/ e www.learningradiology.com/).

A anquilose da coluna desenvolve-se num número significativo de doentes, embora não siga um padrão uniforme. A velocidade de progressão é diferente em cada doente, podendo observar-se anquilose severa em alguns doentes em poucos anos de doença, mas na maioria dos casos desenvolve-se após muitos anos de longa progressão (Bruges-Armas, 2001). A principal consequência física é a perda da mobilidade axial, com restrições da flexão, da extensão da coluna lombar, e expansão do tórax. A limitação do movimento é desproporcional ao grau de anquilose devido a contracturas musculares secundárias. A postura do doente sofre alterações características se um caso grave não for tratado (Sieper et al., 2002). Tipicamente, após alguns anos de progressão da doença, os doentes perdem a postura normal devido à redução da altura das vértebras da coluna lombar e agravamento da cifose torácica (Figura 2). Finalmente, o envolvimento da coluna cervical pode resultar numa limitação progressiva do movimento do pescoço, e este torna-se inclinado para a frente. Em casos extremos raros, as articulações do ombro e quadril podem tornar-se anquilosadas e a coluna pode fundir-se em posição de flexão. A coluna torna-se assim mais susceptível a fracturas, que ocorrem habitualmente a nível das vértebras C5-6 ou C6-7. A deslocação da fractura pode resultar em tetraplegia, complicação grave com elevada mortalidade.

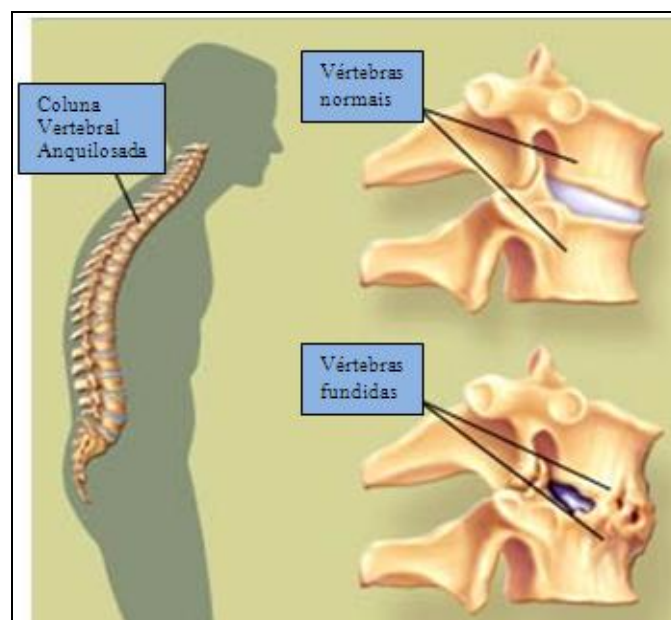


Figura 2: Representação de fusão entre vértebras (sindesmófitos) e consequente anquilose da coluna vertebral (adaptado de www.webmd.com).

Alguns doentes queixam-se também de dor torácica. Este sintoma ocorre em consequência do processo inflamatório que pode atingir as articulações costovertebrais, enteses, áreas costosternais, e articulações manobriosternal e esterno-clavicular. A dor pode ser acentuada por tosse ou espirros, e até mesmo imitar os sintomas da angina atípica ou pericardite. Alguns doentes revelam incapacidade para expandir o tórax durante a inspiração. Muitos doentes com AS respiram principalmente com o diafragma porque o envolvimento das articulações costovertebrais e costotransversas resulta na restrição da expansão do tórax (Khan, 1998a).

No entanto, há que salientar que nem todos os doentes com AS desenvolvem estes sintomas. Só uma pequena percentagem dos doentes desenvolve o típico quadro clínico que se observa na anquilose do esqueleto axial (Sieper, 2009). Alguns doentes podem queixar-se apenas de rigidez no ráquis. Os sintomas agravam-se com a exposição ao frio ou humidade, sendo os doentes frequentemente mal diagnosticados como “reumatismo” ou “fibrosite”. A dor nas nádegas ou região posterior ou superior da coxa pode ser diagnosticada como lombalgia ou ciática, apesar do exame neurológico ser normal. Por vezes, ocorre também o envolvimento das articulações coxo-femorais, do ombro e de outras articulações periféricas que, quando presente é usualmente assimétrica, ligeira e transitória, raramente persistente e erosiva, e tende a resolver-se sem deixar deformidade na maioria dos doentes (Khan, 1998a).

De acordo com o estudo de Rojas-Vargas e colegas (2009), o sintoma mais frequente nos pacientes com AS é a dor lombar inflamatória (IBP), indicada por 72% dos doentes. Como primeiro sintoma, 46% dos doentes apontam a síndrome sacroiliaca, definida como a alternância de dor que afecta as nádegas – também designada por “ciática basculante” (Bruges-Armas, 2001) –, e 20% referem a artrite dos membros inferiores.

Um estudo realizado por Lin e colegas (2009) apontou algumas diferenças entre os casos de JAS e AAS. Comparativamente ao grupo de doentes com AAS, os doentes com JAS apresentaram mais entesopatias periféricas e artrite em todas as fases da doença. Todavia, se tratada eficazmente, a JAS não conduz a um pior resultado funcional do que a AAS.

1.3.1. Manifestações Extra-Axiais

A AS está associada a uma série de manifestações extra-espinhais que contribuem para o impacto da doença, incluindo artrite periférica, entesite, uveíte e IBD. Além disso, os doentes com AS têm uma prevalência significativamente maior de doenças cardiovasculares e factores de risco associados (Lawrence & Brent, 2009).

A entesite é a inflamação no local onde o tendão, o ligamento ou a cápsula articular se inserem no osso. A manifestação clínica mais frequente é a tendinite de Aquiles, fascia plantar e/ou dor e tumefacção do tubérculo tibial. A dor torácica pode ocorrer como resultado da entesite costovertebral ou costosternal, exacerbada pela tosse e inspirações profundas (Salvarani & Fries, 2009). Acredita-se que a entesite está para as SpA's assim como a sinovite está para a artrite reumatóide (Kataria & Brent, 2004). Esta complicação afecta 24% dos doentes com AS (Rojas-Vargas et al., 2009).

A dactilite é caracterizada por um processo inflamatório dos tendões flexores de um ou mais dedos das mãos ou pés. A tumefacção resultante leva os dedos a adquirir a forma de “salsicha”.

A uveíte anterior é a manifestação extra-articular mais frequente, ocorrendo em 25% dos doentes (Salvarani & Fries, 2009). A uveíte caracteriza-se pela inflamação da úvea ou camada média do olho e é geralmente aguda, unilateral, e recorrente. Caracteriza-se pela presença de olhos dolorosos, vermelhos, visão desfocada, fotofobia e aumento do lacrimejo (Sieper et al., 2002). Se não for tratada, pode levar à cegueira (Bruges-Armas, 2001).

A IBD está associada às SpA, designadamente à AS. Assim, os doentes com IBD que apresentam IBP e/ou sinovite (predominantemente nos membros inferiores) na ausência de factor reumatóide e de achados extra-articulares típicos da artrite reumatóide (por exemplo, nódulos subcutâneos), são diagnosticados como tendo SpA. Aliás, de acordo com o ESSG, a IBD é um dos critérios de SpA (Salvarani & Fries, 2009; Zochling, Brandt & Braun, 2005).

Nalguns doentes podem também observar-se complicações cardíacas, nomeadamente insuficiência aórtica (4%-10%) e distúrbios na condução cardíaca (3%-9%) (Bergfeldt, 1997). Estas complicações parecem estar relacionadas com a duração da doença e com a presença do HLA-B27 (Salvarani & Fries, 2009). De acordo com Bergfeldt (1997), o HLA-B27 é um factor de risco genético para problemas cardíacos, independentemente da presença ou não de síndromes reumáticas, levando-o mesmo a

propor a substituição do conceito de “associação de complicações cardíacas a doenças reumáticas” pelo conceito de "HLA-B27 associado a doença cardíaca”.

A manifestação de alterações pulmonares tem uma prevalência de 1,3%, com a ocorrência de lesões cavitadas nos vértices pulmonares. Estas são de aparecimento tardio e revelam-se apenas quando colonizadas por fungos ou bactérias, causando tosse, dispneia e ocasionalmente hemoptises (Bruges-Armas, 2001).

Alguns doentes em estadios precoces da doença podem ainda apresentar sintomas como anorexia, perda de peso e febre ligeira (Khan, 1998a). A osteopénia espinhal surge frequentemente associada à severidade e duração da doença; no entanto, a sua detecção por densitometria óssea (DMO) é muitas vezes camuflada devido à formação dos sindesmófitos e ossificação de ligamentos (Khan, 2009). Há que ter ainda em atenção que os doentes com artrite possuem risco aumentado de síndrome metabólica, doença oncológica e infecção (especialmente infecções oportunistas e casos de reactivação de tuberculose). Não é de estranhar a susceptibilidade aumentada a infecções quando os pacientes fazem terapêutica com agentes biológicos (por exemplo: antagonistas do TNF), pois o TNF e as células B e T são importantes mediadores na defesa do hospedeiro; este é, aliás, o motivo pelo qual não devem ser administradas vacinas vivas nestes doentes. Os doentes devem também ser monitorizados a nível hepático e hematológico, mais uma vez devido às possíveis complicações decorrentes da terapêutica (Lawrence & Brent, 2009). Foram observados raros casos de nefropatia IgA (Satko et al., 2000) e seis casos de mieloma múltiplo IgA (O'Neill et al., 1997) em doentes com AS, o que pode ser relevante, tendo em conta a frequente observação do aumento sérico de IgA em doentes com AS. Tem sido também identificada a presença de alterações renais, tais como proteinúria, agressão da função renal e necrose papilar renal induzida por analgésicos e anti-inflamatórios não-esteróides (NSAIDs). Parece haver também um ligeiro aumento da incidência de prostatite crónica entre os doentes com AS (Khan, 1998a).

1.4. Patogénese

Como referido anteriormente, a AS é uma doença inflamatória crónica. Estudos recentes sugerem que o primeiro alvo da resposta imune é a cartilagem/interface do osso, incluindo a inserção dos tendões e ligamentos, designadas por enteses. Esta parece

ser uma das principais diferenças relativamente à RA, em que a inflamação ocorre principalmente na membrana sinovial (Sieper, 2009).

Teoricamente, células imunocompetentes podem ter acesso a antígenos derivados da fibrocartilagem (Benjamin & McGonagle, 2001). Existem evidências de que o factor de necrose tumoral (TNF) α , uma citocina pró-inflamatória, tem um papel crucial no processo inflamatório que desencadeia a AS, possivelmente maior do que na RA. Quantidades elevadas desta citocina e do seu RNA mensageiro são detectadas nos tecidos das articulações SI dos doentes com AS. O nível sérico do TNF- α é também superior nos doentes com AS, comparativamente aos indivíduos que não sofrem de IBP. O TNF- α e outras citocinas, como a IL (interleucina) -1 e a IL-17, são possíveis indutores da formação de osteoclastos, através da estimulação directa destas células. Além disso, as articulações têm um mecanismo natural de resposta ao stress que pode resultar na formação de novo osso, o qual é comum na AS e SpA relacionadas embora esteja virtualmente ausente na RA (Khan, 2009).

Os danos estruturais parecem ocorrer em duas etapas: primeiro, a inflamação causa erosão óssea irregular, sendo as lesões envolvidas por um tecido reparador (esclerose); segundo, a lesão é reparada originando tecido fibroso que é posteriormente ossificado. A formação de novo osso ocorre com o desaparecimento da inflamação ou apenas com um baixo grau de inflamação (Bron et al., 2009; Sieper, 2009; Sieper et al., 2002). A contínua progressão da doença pode resultar na fusão ascendente das vértebras – formação de sindesmófitos – devido à formação de pontes ósseas entre estas, originando um segmento anquilosado da coluna, comumente referida como “coluna bamboo” (Lawrence & Brent, 2009).

1.5. Etiologia

A causa precisa da AS é desconhecida. Embora as SpA façam parte de um mesmo grupo, exibem características clínicas distintas; assim sendo, é provável que uma interacção entre factores genéticos, ambientais e imunológicos seja responsável pelas várias manifestações clínicas dessas doenças. Existe também a hipótese da ocorrência de uma infecção por um organismo desconhecido ou exposição a um antígeno desconhecido em indivíduos geneticamente susceptíveis (HLA-B27 positivo), que pode resultar na expressão clínica de uma SpA (Kataria & Brent, 2004).

1.5.1. Agentes Infecciosos

A procura de um agente infeccioso como causa da AS está em andamento há muitos anos. Não há um único agente que tenha sido definitivamente incriminado como causa da doença. Foi sugerido um possível papel das espécies de *Klebsiella* no desenvolvimento da AS pela primeira vez em 1976. A ocorrência de artrite, como parte da doença de Reiter ou como uma característica isolada foi demonstrada após infecções por outras bactérias Gram negativas, como a *Shigella*, a *Salmonella* e espécies de *Yersinia* (Bergfeldt, 1997). Um estudo realizado por Carter e colegas (2009) sugeriu a *Clamídia* como possível agente etiológico das SpA, ao demonstrar uma associação entre a infecção por este microrganismo, muitas vezes oculta, e o desenvolvimento de uSpA.

Além disso, a estreita ligação entre a IBD e a AS sugere que a barreira bacteriana normal no intestino pode estimular o sistema imunológico, uma vez que a barreira mucosa foi quebrada (Mielants et al., 1987).

1.5.2. Trauma

A origem do desenvolvimento da AS pode estar num trauma, tendo sido descritos vários casos de doentes que verificaram uma progressiva dor toracolombar localizada ou dor aguda localizada precedida por um pequeno trauma. Os doentes podem também ser assintomáticos ou, por vezes, desconhecer ou ter esquecido um trauma decorrido, descobrindo-se a AS numa avaliação radiológica de rotina (Bron et al., 2009). O estudo realizado por Lin e colegas (2009) revelou que uma percentagem significativa dos doentes (40,4% com JAS e 34,4% com AAS) sofreu um trauma físico um mês antes do início da doença.

1.5.3. Factores Genéticos

A AS é hereditária com uma componente oligogénica de susceptibilidade (Laval et al., 2001). Cerca de metade dos doentes têm familiares (parentes até ao terceiro grau) com AS (Lin et al., 2009). Estudos baseados em gémeos estimam que a hereditariedade da doença excede os 90% (Gu et al., 2009).

A mais conhecida contribuição para a AS vem do gene de resposta imunológica HLA-B27, representando aproximadamente 37% do risco genético total (Laval et al., 2001). Uma forte ligação ao cromossoma 6, que inclui a região HLA-B, tem sido reconhecida há décadas. No entanto, apenas 1-5% dos indivíduos B27 positivos

desenvolvem AS. Deste modo, o B27 não explica mais de 30% do conjunto dos riscos genéticos da AS (Gu et al., 2009).

1.5.4. Factores Ambientais

A maioria dos avanços no estudo das causas da AS foi feita no campo da genética, tendo sido estudados poucos factores de risco ambientais (Oliver & Silman, 2009). Do pouco que se sabe, os factores ambientais parecem ter um papel omnipresente, tendo em conta que o estudo em gémeos demonstrou que a quase totalidade da população afectada pela AS é determinada mais por factores genéticos do que por factores ambientais aleatórios (Brown et al., 1997).

No entanto, é provável que cada um dos fenótipos da doença individual resulte de um número de diferentes combinações de factores de risco genéticos e ambientais. Assim, alguns factores de risco podem ter um forte efeito, mas apenas numa pequena proporção de pacientes, enquanto outros terão efeitos fracos e estão presentes num maior número de indivíduos mas requerem o envolvimento de outros factores de risco. (Oliver & Silman, 2009)

1.5.5. Características Individuais

As características individuais como a idade e o sexo não determinam necessariamente a ocorrência da AS, mas estão relacionadas com a sua expressão.

A AS surge geralmente na segunda ou terceira décadas de vida (Sieper et al., 2002). A Análise de um banco de dados reumatológico alemão (n = 8.776) determinou uma idade média de início da AS de 28,3 anos (Brophy & Calin, 2001). De acordo como o estudo realizado por Lin e colegas (2009), a idade de início é aproximadamente de $12,8 \pm 2,7$ anos e $25,0 \pm 7,4$ anos para a JAS e a AAS, respectivamente. O início depois dos 45 anos é muito raro (Khan, 1998b).

O diagnóstico de AS é três vezes mais comum nos homens do que nas mulheres. Clinicamente, o padrão da doença varia de acordo com sexo, embora não existam diferenças na taxa de prevalência da sacroileíte (Khan, 1998b). A coluna vertebral e pelvis são mais comumente afectadas nos homens. Por sua vez, as mulheres têm participação menos grave da coluna vertebral, apendicular (Braunstein, Martel & Moidel, 1982). De um modo geral, a doença tende a ser mais grave nos homens (Jimenez-Balderas & Mintz, 1993).

1.6. Diagnóstico

O diagnóstico clínico de AS depende primeiramente da história e exame físico do paciente (Khan, 1998a). Em geral, a combinação de parâmetros clínicos – tais como a IBP, entesite, uveíte ou artrite periférica –, laboratoriais – tais como HLA-B27 positivo e elevação da proteína C reactiva – e imagens – raio-X ou ressonância magnética (RMN) – são necessários para um diagnóstico inicial (Sieper, 2009). O diagnóstico específico de AS é difícil. A detecção de sacroileíte pela radiografia, RMN, ou tomografia axial computadorizada (TAC), na presença de manifestações clínicas características é indicadora de AS, embora a presença de IBP e de pelo menos outras duas características típicas de SpA, por exemplo, entesite e uveíte, sejam por si só altamente preditivas de AS (Sieper et al., 2002).

Os achados clínicos e radiológicos são muitas vezes mínimos em fases precoces da doença. Deste modo, a história clínica detalhada e um exame físico completo, particularmente das articulações sacroilíacas (SI) e da coluna, é essencial para fazer um diagnóstico precoce de AS. O envolvimento clínico das articulações SI pode ser evidenciado através da palpação ou pressão física dessas articulações resultando ou não em dor. Caso o doente sinta dor, significa que as articulações SI estão inflamadas. A dor pode também ser provocada pela flexão máxima de um quadril e hiperextensão do outro. A flexão máxima, abdução, e rotação externa da articulação do quadril, ou compressão da pélvis com o doente de bruços pode também causar dor se as articulações SI estiverem inflamadas. Se duas ou mais destas manobras causarem dor na região das articulações SI em doentes com sintomas de IBP, a probabilidade da presença de sacroileíte é muito forte. Porém, estes sinais podem estar ausentes nalguns doentes apesar de terem sacroileíte porque as articulações SI têm fortes ligamentos que limitam o movimento, e os sinais desaparecem completamente nos estados tardios da doença, em que a inflamação é substituída por fibrose e anquilose óssea (Khan, 1998a).

1.6.1. Critérios de Diagnóstico

Ao longo dos anos, várias tentativas foram feitas no sentido de criar critérios de classificação da AS. Os Critérios de Classificação de Roma (Tabela 1) foram os primeiros criados, em 1961, cujo aperfeiçoamento resultou, em 1966, nos Critérios de Classificação de Nova Iorque (Tabela 2). Anos mais tarde, em 1983, foi sugerida uma

modificação dos critérios de Nova Iorque (Tabela 3), propondo-se a inclusão da IBP como critério (Khan, 2009).

Em 1991, o ESSG desenvolveu critérios de classificação para as SpA (Tabela 4). Os critérios incluem características clínicas e radiográficas e têm demonstrado ser sensíveis e específicos em 87% para o diagnóstico de SpA (Zochling, Brandt e Braun, 2005). Estes critérios são menos adequados para o diagnóstico precoce da doença, mas são extremamente úteis na doença já estabelecida (Dougados et al., 1991).

Um sistema de classificação alternativo para as SpA foi apresentado por Amor (Tabela 5). Emprega igualmente muitas das características clínicas e radiográficas dos critérios ESSG, mas inclui também a positividade do HLA-B27 e a ocorrência de manifestações extra-articulares, incluído dactilite e doença ocular (Amor, Dougados & Mijiyawa, 1990). Embora seja mais complicado, apresenta melhor sensibilidade e especificidade, devido à incorporação destes aspectos no painel de diagnóstico (Zochling, Brandt e Braun, 2005).

Tabela 1: Critérios de Classificação de Roma para a AS (adaptado de Khan, 2005).

Critérios de Classificação de Roma para a AS
A. Critérios Clínicos: <ol style="list-style-type: none">1. IBP e rigidez há mais de 3 meses, sem alívio com repouso2. Dor e rigidez da região torácica3. Limitação do movimento na região lombar4. Limitação da expansão do peito5. História de evidência de irite ou suas sequelas
B. Critérios radiológicos: <ol style="list-style-type: none">1. Sacroileíte bilateral
É diagnosticada AS definitiva se quatro destes cinco critérios clínicos estiverem presentes ou se existir sacroileíte associada a qualquer um destes critérios clínicos.

Tabela 2: Critérios de Classificação de Nova York para a AS.

Critérios de Classificação de Nova York para a AS
<p>A. Critérios Clínicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Limitação do movimento da coluna lombar em três planos: flexão anterior, flexão lateral e extensão; 2. História ou presença de dor na junção dorsolumbar ou na coluna lombar; 3. Limitação da expansão do tórax para uma polegada (2.5 cm) ou menos, medido ao nível do quarto espaço intercostal. <p>B. Critérios radiológicos: Sacroileíte (classificação numa escala de 0 a 4)</p> <p>Grau 0 – radiografia normal das articulações SI;</p> <p>Grau 1 – alterações suspeitas;</p> <p>Grau 2- anormalidade mínima;</p> <p>Grau 3 – pequenas áreas com esclerose ou esclerose sem alteração da largura da articulação;</p> <p>Grau 4 – anormalidade inequívoca, moderada ou sacroileíte avançada com erosão, esclerose, alargamento, estreitamento, parcial ou anquilose total.</p> <p>É diagnosticada AS definitiva se existir sacroileíte bilateral de grau 3 ou 4 na presença de pelo menos um dos critérios clínicos, ou se existir sacroileíte unilateral de grau 3 ou 4 ou bilateral de grau 2 na presença do critério clínico 1 ou dos critérios 2 e 3 em simultâneo.</p> <p>É diagnosticada AS provável se existir sacroileíte bilateral de grau 3 ou 4 na ausência de qualquer critério clínico.</p>

Tabela 3: Critérios de Classificação de Nova York modificados para a AS.

Critérios de Classificação de Nova York modificados para a AS
<p>A. Componentes Clínicas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. IBP e rigidez à mais de 3 meses que melhora com o exercício mas não com repouso; 2. Limitação da mobilidade da coluna lombar nos planos sagital (lateralmente) e frontal (para a frente e para trás); 3. Limitação da expansão torácica comparativamente ao intervalo normal para a idade e sexo.

B. Componente radiológica:

2. Sacroileíte unilateral de grau 3 ou 4 ou sacroileíte bilateral de grau igual ou superior a 2

É diagnosticada **AS definitiva** se os critérios radiológicos estiverem associados a pelo menos uma componente clínica.

É diagnosticada **AS provável** se apenas as três componentes clínicas ou apenas a componente radiológica estiver presente.

Tabela 4. Critérios de classificação de SpA de acordo com o ESSG (Adaptado de Zochling, Brandt e Braun, 2005).

Critérios de Classificação do ESSG para as SpA
Dor lombar inflamatória ou sinovite (assimétrica, predominantemente nos membros inferiores) e qualquer uma das seguintes características: <ol style="list-style-type: none">1. História familiar positiva;2. Psoríase;3. IBD;4. Ciática Basculante;5. Entesopatia.

Tabela 5. Critérios de classificação de SpA de acordo com Amor (Adaptado de Zochling, Brandt e Braun, 2005).

Critérios de Classificação de Amor para as SpA
A. Sintomas clínicos ou história passada de: <ol style="list-style-type: none">1. Dor lombar ou dorsal à noite ou rigidez matinal lombar ou dorsal = 12. Oligoartrite assimétrica = 23. Dor na nádega (dor na nádega = 1, ciática basculante = 2)4. Dactilite = 25. Dor no calcanhar ou outras enteses bem definidas = 26. Irite = 27. Uretrite ou cervicite não gonocócica até um mês antes do início da artrite = 18. Diarreia aguda até um mês antes do início da artrite = 1

9. História de psoríase e/ou balanite e/ou de IBD (colite ulcerativa ou doença de Crohn) = 2

B. Achados radiológicos:

10. Sacroileíte bilateral

C. Background genético:

11. Presença do HLA-B27 e/ou história familiar de AS, ReA, uveíte, psoríase ou IBD crónica = 2

D. Resposta à Terapêutica:

12. Melhora definitiva das queixas com NSAIDs em menos de 48 h ou recidiva da dor em menos de 48 h se a toma de NSAIDs for descontinuada = 2

Considera-se que um doente sofre de SpA se a soma das pontuações for igual ou superior a 6.

1.6.2. Índices de Bath

Os índices de Bath foram desenvolvidos no Royal National Hospital for Rheumatic Diseases, em Bath, e consistem em cinco metodologias utilizadas na avaliação dos doentes com AS, a designar: Índice Metrológico de Bath para a AS (BASMI), Índice Funcional de Bath para a AS (BASFI), Índice de Actividade de Bath para a AS (BASDAI), Índice Radiológico de Bath para a AS (BASRI) e Score Global de Bath para a AS (Bruges-Armas, 2001; Irons & Jeffries, 2004).

Com a introdução da terapêutica biológica no tratamento de doentes com AS, os índices de Bath, em particular o BASDAI, foram propostos como método de selecção dos doentes a fazer este tipo de terapêutica e como método de monitorização dos resultados da medicação.

A pontuação é obtida com base na atribuição de um valor numa escala de 0 a 10 a cada determinação incluída no índice. Depois é calculada a média entre as várias determinações para se obter a pontuação total do índice em causa (Irons & Jeffries, 2004).

1.6.2.1. BASMI

O BASMI resultou da selecção de cinco movimentos entre vinte realizados pelos doentes na avaliação clínica da AS. Com base na análise dos resultados metrológicos dos vinte movimentos, Jenkinson e colegas (1994) escolheram as medições

apresentadas na tabela 6 por considerarem que estas reflectem o estado axial com maior precisão.

O BASMI apresenta como vantagens o facto de ser rápido (7 minutos), reprodutível e sensível à mudança de todo o espectro da doença, permitindo definir o status da doença.

Tabela 6: BASMI.

Distância Trago/Parede	O doente posiciona-se de pé com os joelhos esticados e com os calcanhares, nádegas, ombros e região dorsolombar encostados à parede. Mantém o queixo o mais elevado possível.
Índice Modificado de Schober	É feito com uma caneta um sinal na junção lombosagrada, na intersecção da apófise espinhosa de uma linha que une as covas de Venus. Fazem-se mais dois sinais: um 5cm abaixo e outro 10 cm acima do primeiro. O doente inclina-se para a frente o mais possível e mede-se a distância entre os sinais.
Distância Intermaleolar	O doente posiciona-se de pé, com os pés virados para a frente e os joelhos esticados. Em seguida, afasta as pernas o mais possível e mede-se a distância entre os maléolos.
Rotação Cervical	O doente posiciona-se de pé com o goniómetro na região frontal. Volta a cabeça para a direita e para a esquerda o mais possível. Verifica-se o ângulo da rotação e calcula-se a média entre as duas determinações.
Sítio de Flexão Lateral Lombar	O doente inclina-se lateralmente para a direita e esquerda, sem movimentar os joelhos. Mede-se a distância entre o dedo médio e o chão e calcula-se a média entre as duas determinações.

1.6.2.2. BASFI

O BASFI consiste num conjunto de 10 questões com o objectivo de determinar o grau de limitação funcional dos doentes com AS no último mês. As primeiras 8 questões estão relacionadas com a funcionalidade anatómica; as últimas duas dizem respeito às implicações no quotidiano. O doente responde utilizando uma escala visual análoga (VAS) de 10cm sem traços intermédios, apenas com as palavras “fácil” e

“impossível” nos extremos. É atribuída a cada resposta uma pontuação de 0 a 10, sendo depois calculada a média para se obter o score do BASFI.

O BASFI é rápido, fácil, confiável e sensível à mudança de todo o espectro da doença (Bruges-Armas, 2001; Irons & Jeffries, 2004).

1.6.2.3. BASDAI

O BASDAI é composto por questões referentes aos cinco principais sintomas da AS: fadiga, dor no esqueleto axial, dor e tumefacção das articulações, zonas de dor localizada e rigidez matinal. A rigidez matinal é o parâmetro que abrange duas questões, de modo a ser avaliada em qualidade (intensidade) e quantidade (tempo de duração). O doente tem de quantificar estes sintomas relativamente à semana anterior utilizando a VAS de 10 cm sem traços intermédios que apresenta nos extremos as expressões “nenhuma” e “muito severa”; com excepção da resposta à duração da rigidez matinal, que utiliza uma escala de 0 a 2 horas com marcações para cada quarto de hora. À semelhança do BASFI, as respostas são pontuadas de 0 a 10. De modo a atribuir a mesma importância a todos os sintomas, é primeiro calculada a média entre as duas respostas alusivas à rigidez matinal, depois é então calculada a média entre todos os sintomas e dividido o valor por 5, obtendo-se finalmente o score do BASDAI entre 0 e 10.

O BASDAI é altamente confiável, reflecte todo o espectro da doença e é sensível às mudanças clínicas (Bruges-Armas, 2001; Calin et al, 1999; Irons & Jeffries, 2004).

1.6.2.4. BASRI

O BASRI foi desenvolvido devido à necessidade de um sistema de pontuação radiológica simples, rápido e reprodutível que indicasse a “severidade radiológica” da AS. O índice atribui pontuação numa escala de 0 a 4 (normal, suspeita, leve, moderada e grave) às articulações SI, coluna lombar (frente e perfil) e coluna cervical (perfil). No caso das articulações simétricas e da coluna lombar, em que são considerados dois perfis, é feita uma média das duas pontuações. Por fim, são somadas as três pontuações para se obter o score do BASRI.

Com base em evidências identificadas em várias publicações, o BASRI mostrou ser um método confiável para a classificação de alterações radiográficas nos doentes

com AS devido à sua especificidade e sensibilidade à mudança (Bruges-Armas, 2001; MacKay, 1998; Ulusoy et al, 2010).

1.6.2.5. BAS-G

O BAS-G tem como objectivo avaliar a qualidade de vida dos doentes. Consiste em duas questões sobre a forma como a doença tem afectado o seu bem-estar na última semana e nos últimos seis meses. A resposta é dada pelo doente utilizando uma VAS sem traços intermédios apresentando no início e no final as expressões “muito bem” e “muito mal”, respectivamente. A média entre as duas pontuações permite obter o score BAS-G, numa escala de 0 a 10 (Irons & Jeffries, 2004).

1.6.3. Exames Complementares de Diagnóstico

1.6.3.1. Exames radiológicos

O diagnóstico de AS é habitualmente estabelecido com base na radiografia convencional, mas as imagens de TAC, RMN e cintigrafia fornecem importantes informações adicionais nos casos duvidosos, especialmente na fase inicial da doença (Bron et al., 2009).

A radiografia convencional é escolhida como a imagem inicial de estudo. As alterações radiográficas evoluem lentamente durante muitos anos. Os achados obtidos mais rapidamente, consistentes e mais característicos são os observados nas articulações SI (Khan, 1998a). Uma radiografia anteroposterior da bacia é, regra geral, suficiente para fazer o diagnóstico (Bruges-Armas, 2001).

As características radiográficas da AS incluem sacroileíte bilateral simétrica, com esclerose inicial, evoluindo para erosão e anquilose total ou fusão das articulações SI (Sieper et al., 2002). A erosão do osso subcondral pode assemelhar-se a uma serrilha, e pode levar a uma pseudo-ampliação do espaço da articulação SI.

A lesão inflamatória da coluna vertebral afecta as camadas superficiais do anel fibroso a nível da ligação dos cantos dos corpos vertebrais, articulações apofisárias e ligamentos intervertebrais (Khan, 1998a). A radiografia permite uma melhor localização do nível exacto da lesão quando a costela é incluída na imagem (Bron et al., 2009). Ocorre osteíte nas margens vertebrais e, eventualmente, ossificação do anel fibroso, com possível fusão das vértebras (sindesmófitos), que pode, ocasionalmente, resultar na

clássica "coluna bamboo". As articulações interapofisárias posteriores são também afectadas pelo processo inflamatório, assim como os ligamentos espinhais. Nalguns doentes com doença prolongada, estes processos levam à fusão completa da coluna vertebral (Bruges-Armas, 2001).

Podem ainda observar-se alterações radiográficas a nível das articulações da coxa e ombro quando estas são afectadas. As articulações da anca apresentam um estreitamento concêntrico da interlinha articular, irregularidades e esclerose do osso subcondral e, posteriormente, osteófitos da cabeça do fémur e do acetábulo. Em fases mais avançadas pode haver anquilose. Nas articulações do ombro pode encontrar-se um estreitamento concêntrico da articulação glenoumeral e ainda erosões e anquilose da cabeça do úmero e da articulação acromioclavicular (Khan, 1998a).

Apesar do contributo da radiografia comum na análise da AS, este exame não permite fazer um diagnóstico precoce da doença, pois as alterações radiográficas devem-se a alterações crónicas e agressão óssea, que são consequência de inflamação, e não à inflamação activa em si. As alterações radiográficas manifestam-se relativamente tarde, levando frequentemente vários anos com contínua ou recorrente inflamação (Sieper, 2009). Para o estudo das lesões precoces e confirmação dos casos duvidosos deverá ser utilizada a TAC ou a RMN.

A TAC permite determinar a extensão da lesão. A imagem da AL????? por TC mostra osteólise vertebral ou discovertebral irregular com esclerose reactiva circundante (Bron et al., 2009).

A RMN é aconselhada no diagnóstico precoce, seguimento dos doentes e no estudo da patogénese da doença. Permite observar a inflamação activa das articulações SI antes de ocorrerem alterações radiográficas definitivas (Sieper, 2009) e confirmar a artrite periférica – entesites e sinovites das articulações periféricas (Dejaco, Duftner & Schirmer, 2008). Complementa as informações dos exames anteriormente referidos ao dar indicações sobre a ruptura do ligamento longitudinal anterior, realce anormal da dura, lesão epidural e estenose do canal espinal. A RMN é também aconselhada para avaliar a invasão do canal espinal e a extensão das alterações na dura-máter, medula espinal, raízes nervosas, tecidos moles e ligamentos. É considerada a melhor forma de visualizar a AL, com maior sensibilidade (Bron et al., 2009).

Uma avaliação prospectiva da sensibilidade relativa da RMN, cintigrafia e radiografia convencional na detecção de sacroileíte activa em 44 pacientes com

sintomas clínicos de SpA, revelou que a RMN é a técnica de imagiologia mais sensível (Blum et al., 1994).

O uso da cintigrafia é útil na diferenciação entre lesão e infecção. No início e numa fase tardia da doença pode ser usada para identificar complicações da AL. Na fase final da AS, focos com aumento da retenção de isótopos podem indicar lesão AL. No entanto, são escassos os casos descritos na literatura que utilizam esta tecnologia (Bron et al., 2009).

1.6.3.2. Testes laboratoriais

O papel dos testes laboratoriais na AS é escasso. Contrariamente à artrite reumatóide, não existe associação com o factor reumatóide e anticorpos antinucleares (Khan, 2009). Os parâmetros onde se verificam alterações significativas são os indicadores de fase aguda, nomeadamente a velocidade de sedimentação eritrocitária (VSE) e a proteína C-reativa (PCR), que registam aumentos significativos (Bron et al., 2009). Contudo, as alterações destes parâmetros nem sempre são detectadas simultaneamente e nem sempre têm uma relação directa com a actividade clínica da doença (Khan, 1998a). Parece também existir um aumento dos níveis séricos de IgA e das proteínas de fase aguda em geral. Um aumento da fosfatase alcalina pode estar presente na doença avançada. Pode ainda ser detectada anemia normocítica normocrómica. (Sieper et al., 2002). Alguns investigadores detectaram a presença de imunocomplexos circulantes, enquanto outros não confirmaram este achado. Uma ligeira elevação das proteínas do fluido cerebrospinal foi também registada em alguns doentes, talvez como resultado de uma subtil aracnoidite (Khan, 1998a). Contudo, nenhum destes parâmetros é específico da AS.

A identificação de biomarcadores que possam ser utilizados no prognóstico, monitorização da actividade e compreensão da patogénese da AS (Maksymowych, 2009), é uma área de investigação actual. Um trabalho realizado por Maksymowych e colegas (2007) indicou que a metaloproteinase-3 (MMP3) sérica reflecte a actividade da doença e pode prever a progressão radiográfica. Nas articulações periféricas, há evidência de que a MMP3 reflecte o grau histopatológico da inflamação nos doentes com SpA (Vandooren et al., 2004). Outro marcador que poderá ser utilizado na monitorização da doença é a fosfatase alcalina específica do osso, que indica reparação através da formação de novo osso (Appel et al., 2008). Foram também relatadas

correlações significativas da interleucina-6 (IL-6) e do factor de crescimento epidérmico vasoactivo (VEGF) com a resolução da inflamação (Maksymowych, 2009).

O exame citológico do líquido sinovial permite observar características tipicamente inflamatórias (mais de 2.000 leucócitos por mL, com predominância de neutrófilos), mas este achado é inespecífico (Kataria & Brent, 2004).

Dada a comprovada associação entre a AS e o alelo HLA-B27, a tipagem HLA junto com a história e o exame físico poderá ajudar a fazer o diagnóstico presuntivo de AS nos casos em que o exame radiológico não o permite fazer (Khan, 2009).

1.6.3.3. Histologia

Embora não exista indicação para biópsia no diagnóstico da AS, pode ser recolhida uma amostra durante uma eventual cirurgia.

São geralmente encontradas alterações reactivas não específicas no disco intervertebral, sendo o tecido normal substituído por tecido fibrótico hipovascularizado. As placas mostram destruição irregular e são frequentemente encontrados fragmentos de osso necrótico e cartilagem ao redor das vértebras (Bron et al., 2009).

O tecido subcondral torna-se granulomatoso e com infiltrados de células plasmáticas, linfócitos, mastócitos, macrófagos e condrócitos (Sieper et al., 2002).

1.6.4. Importância da Rapidez de Diagnóstico

O atraso no diagnóstico e encaminhamento pode estender-se vários anos e, em alguns casos, pode levar à destruição irreversível das articulações e ao comprometimento da sua função (Lawrence & Brent, 2009). Tal facto vai de encontro à dificuldade em compreender o processo patológico, pois o atraso no diagnóstico significa que é difícil determinar como se dá o progresso entre o início e as primeiras manifestações clínicas (Rojas-Vargas et al., 2009).

Habitualmente, decorrem 5 a 10 anos entre a ocorrência dos primeiros sintomas de AS e o seu diagnóstico (Sieper, 2009). Lin e colegas (2009) observaram um atraso no diagnóstico de $5,7 \pm 6,3$ anos para a JAS e de $4,6 \pm 6,8$ anos para a AAS. Este atraso pode ser em parte explicado pela lenta progressão para a sacroileíte radiológica, necessária para confirmar o diagnóstico, e a falta de indicadores clínicos bem definidos para ajudar na detecção precoce (Zochling & Braun, 2007), além da falta de

sensibilidade para o diagnóstico da AS por parte dos médicos não reumatologistas (Sieper, 2009).

A realização de um diagnóstico precoce é importante no retardamento das lesões ósseas e em particular a terapêutica com antagonistas do TNF, uma vez que estes parecem ser mais eficazes nos estádios precoces da doença (Khan, 2009).

1.7. Tratamento

O objectivo do tratamento em qualquer doença progressiva, para além de aliviar os sintomas clínicos, é impedir ou retardar a sua evolução. No caso da AS, os tratamentos disponíveis permitem apenas aliviar a dor e a rigidez decorrentes do processo inflamatório, uma vez que não existem para já meios de evitar ou atrasar o dano estrutural.

Podem ser utilizados vários tipos de tratamento, nomeadamente, o tratamento farmacológico, cirurgia, exercício físico e educação do doente para o sucesso do tratamento (Dougados et al., 2002).

1.7.1. Terapia Farmacológica

1.7.1.1. Anti-Inflamatórios Não Esteróides

O uso de anti-inflamatórios não esteróides (NSAIDs) durante as fases activas da doença constitui o tratamento de primeira linha da AS (Bron et al., 2009). Estes fármacos têm uma boa capacidade anti-inflamatória, reduzindo a dor e rigidez rapidamente em 48 a 72 horas (Sieper, 2009). Além disso, existe evidência de que o tratamento contínuo com NSAIDs pode evitar a formação de novos sindesmófitos na coluna (Wanders et al. 2005). Os NSAIDs parecem ter um efeito de inibição directa da actividade osteoblástica através da supressão das prostaglandinas.

No entanto, este tratamento nem sempre é utilizado pelos doentes apesar dos sintomas, pois tanto pacientes como médicos põem em causa a toxicidade do tratamento contínuo (Sieper, 2009), especialmente os efeitos gastrointestinais (Dougados et al., 2002).

1.7.1.2. Bloqueador do Factor de Necrose Tumoral

A presença do factor de necrose tumoral (TNF) em biopsias de articulações SI de pacientes com doença activa sugere o envolvimento desta citocina pró-inflamatória no processo inflamatório da AS. Modelos *in vitro* e *in vivo* indicam que a destruição óssea é mediada pela activação do TNF dos osteoclastos. Foi com base nestes princípios que se desenvolveu a terapia da AS com bloqueadores do TNF (van der Heijde et al., 2009b).

O infliximab, o adalimumab e o etarnecept são anticorpos anti-TNF. Em doentes com longa história de AS, dois anos de tratamento com estes fármacos mostraram ser eficazes na melhoria dos sintomas axiais e redução da inflamação axial. Os doentes referem melhoria da função física e qualidade de vida (dor, função física, fadiga e bem-estar psicológico). Ensaios clínicos indicam três anos de duração da melhoria dos sintomas clínicos (van der Heijde et al, 2009a). Todavia, embora previnam o dano estrutural por erosão, estes fármacos não inibem a osteoproliferação, não sendo observadas melhorias radiográficas, tal como constatado nalguns estudos (Appel & Sieper, 2008; van der Heijde et al., 2009b).

A demonstração de boa eficácia dos anti-TNF é considerada um avanço no tratamento da AS, especialmente no caso dos doentes que mantêm a doença activa apesar do tratamento com NSAIDs. Estas drogas não só melhoram os sinais e sintomas rapidamente e numa elevada percentagem de doentes, como normalizam as reacções da fase aguda e reduzem a inflamação aguda nas articulações SI e coluna (Sieper, 2009).

1.7.1.3. Outros Fármacos

As drogas modificadoras da doença reumática, como a sulfasalazina, sais de ouro, anti-maláricos, azatioprina ou metrotexato (MTX), devem ser consideradas como agentes de segunda linha quando os doentes não respondem aos NSAIDs, são incapazes de tolerar estes agentes ou apresentam um envolvimento articular persistente (Dougados et al., 2002; Kabasakal et al., 2009). Uma meta-análise demonstrou que a sulfasalazina é segura e eficaz no tratamento a curto prazo da AS, parece ser eficaz no alívio da artrite periférica em doentes com AS, mas é menos eficaz em doentes com doença axial (Ferraz et al., 1990). Apesar de não ser bem estudado, o MTX pode ser igualmente benéfico em doentes com artrite periférica proeminente (Sampaio-Barros, 2000),

embora também não ofereça benefícios adicionais nos sintomas axiais (Braun & Baraliakos, 2009).

Os corticóides orais em doses convencionais são de pouco valor no tratamento da AS, mas injeções intra-articulares de corticóides podem fornecer um alívio rápido e sustentado das articulações inflamadas isoladas (Dougados et al., 2002).

1.7.2. Exercício Físico

Os objectivos do tratamento físico na AS são melhorar a mobilidade e a força, reduzir a rigidez e prevenir ou reduzir alterações da curva vertebral (Dougados et al., 2002).

A fisioterapia desempenha um papel especialmente importante quando o esqueleto axial é afectado. Inclui o exercício regular em centros especializados e a instrução ao doente de um programa de exercícios que poderá praticar em casa, com o objectivo de manter a postura adequada e o fortalecimento de determinados grupos musculares (Bruges-Armas, 2001; Sieper et al., 2002).

Todavia, há que ter em atenção que um rigoroso programa de exercício físico é contra-indicado nos pacientes com a AL ? como complicação da AS (Bron et al., 2009).

1.7.3. Cirurgia

A eventual fusão das vértebras, como consequência do processo inflamatório, limita o movimento e a elasticidade. A redução da flexibilidade torna a coluna susceptível a uma variedade de morbidades, incluindo fractura e luxação, subluxação atlantoaxial e atlanto-occipital, deformidade da coluna vertebral, estenose espinal e ciática basculante. Quando estas complicações ocorrem, a intervenção cirúrgica pode ser necessária (Dougados et al., 2002).

A cirurgia está também indicada nos pacientes sintomáticos em que o tratamento clássico falha. É recomendada nos casos de doentes com dores insuportáveis, progressão dos sintomas, progressiva deformidade cifótica, avançado envolvimento de articulações como a anca e joelho (com dor severa e deficiência funcional) e alterações neurológicas (Khan, 2009).

A descompressão cirúrgica, estabilização e fusão são as técnicas cirúrgicas utilizadas no tratamento da AL enquanto complicação da AS. O objectivo é

descompactar o canal da espinal medula para restaurar a estabilidade espinhal, facilitando a cura e fusão da lesão espinhal (Bron et al., 2009).

A total substituição da anca é aconselhada em doentes com avançado envolvimento da anca, com dor severa e insuficiência funcional.

1.7.4. Imobilização

O tratamento inicial da fractura da coluna vertebral pode ser conseguido utilizando um colete de imobilização. Esta é útil na correcção de uma progressiva deformidade cifose cervical decorrente de uma fractura cervical (Dougados et al., 2002), mas exclusivamente nestas situações e não como prática corrente.

1.8. Gestão da Doença / Qualidade de Vida

A relação saúde/qualidade de vida é um importante indicador do peso da doença. Similarmente a outras doenças crónicas, a AS pode afectar a qualidade de vida, morbidade, mortalidade, capacidade de trabalho e custos de saúde (Salaffi et al., 2009).

Além das características IBP e mobilidade axial diminuída, o grande impacto desta doença sobre os doentes está nas limitações físicas e incapacidade causadas (Lawrence & Brent, 2009). Mais de metade dos doentes com AS relatam problemas nas actividades diárias, incluindo dormir, dirigir, fazer compras e ter energia para as tarefas rotineiras (Dagfinrud, 2005).

Foi identificada redução da capacidade de trabalho e uma menor qualidade de vida em muitos doentes, em particular nas mulheres (Ward et al., 2008). Comparando com a população em geral, os doentes com AS têm uma menor taxa de emprego, com quase um terço dos doentes mais jovens (com idade inferior a 37 anos) a desistir do emprego por causa da doença (Mau, 2005; Ozgul, 2006). A AS foi referida como razão para alguns doentes terem que mudar de profissão, reduzir as horas de trabalho ou limitarem a progressão na carreira. A situação agrava-se se tivermos em conta que esta doença afecta os indivíduos na casa dos 20 anos, precisamente o momento em que estes estão a estabelecer as suas carreiras profissionais (Gilworth et al., 2009).

A AS pode também afectar de algum modo a vida conjugal. As relações sexuais podem ser afectadas, especialmente durante os períodos críticos em que é afectada a coluna, o esterno e os quadris, embora pareça afectar mais a actividade sexual nas

mulheres do que nos homens. Podem ainda ocorrer conflitos entre os casais devido a sintomas da doença, tais como dor, fadiga, irritabilidade, ansiedade e depressão, que podem ser mal interpretados. Confirmou-se que a fertilidade não é afectada pela AS, contudo, a doença parece seguir um curso suave durante a primeira gravidez, mas nas gravidezes seguintes existe um risco da doença se manifestar e de aumentar o envolvimento das articulações periféricas (Kennedy, 1998).

Apesar da sua reconhecida importância na saúde, o nível de educação e outras variáveis socio-económicas raramente foram analisadas como predictivos da qualidade de vida nas doenças inflamatórias reumáticas. Níveis inferiores de educação têm sido relatados como um factor de risco para a presença de dor músculo-esquelética crónica e tem sido associada com uma maior prevalência de incapacidade de trabalho e maior actividade de doença em doentes com AS e RA. O mecanismo pelo qual a educação influencia a incapacidade ou os distúrbios psíquicos não é claro, mas pode estar relacionado com o reforço da auto-eficácia e sentido de controlo, permitindo que o doente tire partido de um maior número de modalidades para reduzir a dor (Salaffi et al., 2009). Além disso, a AS sintomática está associada a gastos significativos em recursos de saúde (Sieper et al., 2002), sendo a condição económica um parâmetro intrinsecamente relacionado com o nível de educação.

Capítulo II

Sistema HLA e Espondilite Anquilosante

1. MHC / HLA

Na resposta imunitária adaptativa, os receptores das células B possuem capacidade para se ligar directamente aos antigénios (Ags), porém, os receptores das células T só os reconhecem quando associados a glicoproteínas da superfície celular. Estas moléculas são os antigénios do Complexo *Major* de Histocompatibilidade (MHC – *Major Histocompatibility Complex*), que nos humanos ganha a designação de Antígeno Leucitário Humano (HLA – *Human Leucocyte Antigen*). Os Ags MHC dividem-se em duas classes: MHC de classe I e MHC de classe II.

Os Ags MHC de classe I encontram-se nas células nucleadas, embora o nível de expressão varie de acordo com o tecido, e têm como função apresentar à superfície da

célula um pequeno péptido de origem desconhecida ao organismo. Este processo é fundamental porque o sistema imunitário não pode responder directamente a um Ag que se encontra no interior da célula. O complexo Ag/MHC I liga-se a um receptor da célula T, activando-a, ou seja, funciona como um sinal que impele o sistema imunitário a destruir a célula em causa.

O mesmo processo que conduz os fragmentos das proteínas estranhas à superfície celular pode inadvertidamente transportar fragmentos de auto-proteínas. Normalmente, o sistema imunitário não reage aos auto-Ags combinados com os Ags MHC porque os linfócitos que poderiam responder foram inactivados ou eliminados. Todavia, distúrbios neste processo podem originar desordens auto-imunes (Seeley, Stephens & Tate, 2001).

Os Ags MHC de classe II encontram-se nas células apresentadoras de Ags, onde se incluem as células B, macrófagos, monócitos, células dendríticas e células epiteliais do timo; mas outras células podem expressar as moléculas HLA classe II na presença do interferon γ . Estas células revelam os Ags estranhos associados ao Ag MHC II a outras células do sistema imunitário, por exemplo, às células T. Ao contrário dos Ags MHC de classe I, esta exibição não leva à destruição da célula apresentadora do Ag (Klein & Sato, 2000; Seeley, Stephens & Tate, 2001).

Historicamente, o HLA encontra-se associado à rejeição de transplantes, contudo, está também envolvido noutras doenças, designadamente, na artrite reumatóide, infecção associada a imunodeficiência, e hemocromatose, entre outras.

O complexo HLA encontra-se no braço curto do cromossoma 6, no segmento 6p21.3. É constituído aproximadamente por 4 milhões de pares de bases e contém mais de 200 genes, pseudogenes e fragmentos génicos, entre os quais, mais de 40 codificam para Ags leucocitários. Os restantes constituem uma variedade de genes que não estão evolutivamente relacionados com os genes HLA, embora alguns estejam funcionalmente envolvidos com estes. Muitos dos genes presentes neste complexo não têm qualquer relação com a imunidade (Klein & Sato, 2000).

Os genes nesta região estão divididos em três grupos: classe I, classe II e classe III, de acordo com a origem genética e/ou funcionalidade biológica dos seus produtos (Figura 3). Apenas as classes I e II estão envolvidas na imunidade, sendo responsáveis pela síntese das moléculas MHC de classe I e MHC de classe II, respectivamente.

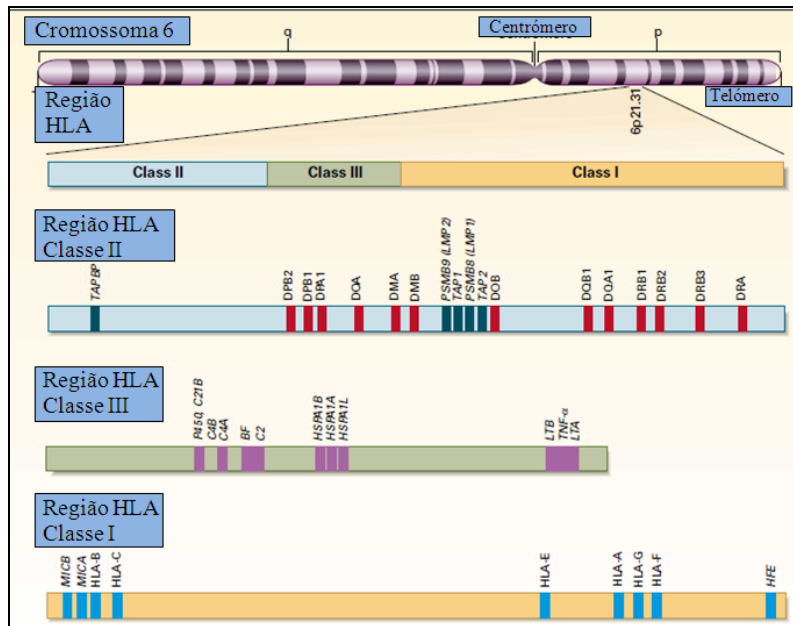


Figura 3: Disposição e organização dos genes do sistema HLA no cromossoma 6 (adaptado de Klein & Sato, 2000).

Existem cerca de 20 genes de classe I, que se situam telomericamente em relação às classes II e III e que ocupam um segmento de cerca de 1600 kilobases (Bruges-Armas, 2001). O HLA-A, o HLA-B e o HLA-C são os principais intervenientes em termos imunológicos. Os genes de classe I codificam a cadeia polipeptídica α da molécula MHC de classe I – a cadeia β é codificada por um gene no cromossoma 15 (gene beta₂-microglobulina). A cadeia α possui cinco domínios: dois domínios de ligação a péptidos (α_1 e α_2), um domínio com afinidade para as Igs (α_3), uma região transmembranar, e uma cauda citoplasmática (Klein & Sato, 2000). Em conjunto, os domínios α_1 e α_2 formam uma plataforma composta por oito fitas anti-paralelas, flanqueadas por duas hélices alfa, que constituem o sulco onde se vai encaixar o péptido. A superfície formada pelo péptido e pelas hélices alfa que o flanqueiam constitui a zona reconhecida pelo receptor das células T (Figura 4).

A região HLA II é a mais centromérica e compreende cerca de 900 kilobases (Bruges-Armas, 2001). As regiões do loci são designadas utilizando três letras: a primeira (D) indica a classe, a segunda (M, O, P, Q ou R) a família, e a terceira (A ou B) a cadeia (α ou β , respectivamente). Os genes individuais são diferenciados por numeração árabe e os variantes alélicos são identificados por um número precedido por um asterisco. Os genes de classe II codificam as cadeias polipeptídicas α e β das moléculas de classe II. Cada uma das cadeias de classe II α e β possui quatro domínios:

o domínio de ligação ao polipeptido ($\alpha 1$ ou $\beta 1$), o domínio com afinidade para as Igs ($\alpha 2$ ou $\beta 2$), a região transmembranar e a cauda citoplasmática (Klein & Sato, 2000). Os domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ formam o sulco onde se encaixa o péptido, correspondendo à superfície molecular reconhecida pelo receptor das células T. Nas moléculas de classe II o sulco é um pouco maior que nas de classe I, o que permite a ligação de péptidos de maior dimensão (Peixoto et al., 2005) (Figura 4).

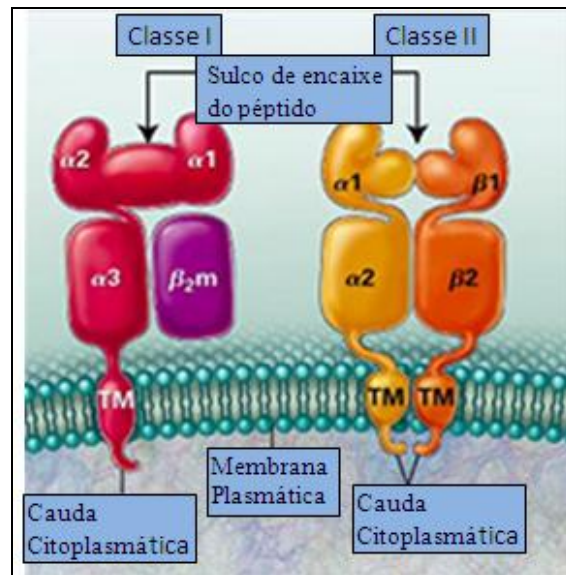


Figura 4: Representação da estrutura das moléculas HLA Classe I e II (adaptado de Klein & Sato, 2000).

Resumidamente, o sistema HLA caracteriza-se por ser: (a) poligénico – constituído por vários genes, (b) polimórfico – existem múltiplos alelos para cada locus, o que implica que a maior parte dos indivíduos de uma população sejam heterozigóticos para cada gene deste sistema, (c) apresenta desequilíbrios de ligação – diferentes alelos de diferentes genes encontram-se no mesmo cromossoma com uma frequência maior do que seria teoricamente esperado em combinações ao acaso (Bruges-Armas, 2001).

1.1. Estrutura da molécula HLA-B27

Nas moléculas HLA, o sulco onde encaixa o péptido está estruturado em várias subcavidades denominadas *pockets*; estes variam na sua composição aminoacídica, o que lhes confere especificidade na ligação a diferentes péptidos (Peixoto et al., 2005).

O HLA-B27 é estruturalmente semelhante às outras moléculas HLA de classe I, embora apresente um elevado polimorfismo; pensa-se que os vários subtipos HLA-B27 evoluíram do subtipo B*2705, considerado como ancestral (Figura 5). É formado por 6 *pockets*, de A a F, cada um com capacidade de interacção com os diferentes aminoácidos dos péptidos. Os péptidos que se unem ao HLA-B27 possuem entre 7 a 25 aminoácidos numa configuração linear, que lhes permite interagir directamente com os *pockets*. Os aminoácidos individuais que se ligam aos *pockets* são denominados P1, P2, ..., P9. A orientação dos péptidos é fixa, encontrando-se sempre o grupo amina (N-terminal) na mesma extremidade e o grupo carboxilo (C-terminal) na extremidade oposta. Algumas cadeias laterais orientam-se para fora das subcavidades. Os *pockets* A e F são particularmente importantes por se ligarem aos aminoácidos terminais, sendo muito conservados na molécula HLA (Klein & Sato, 2000).

As cadeias laterais dos resíduos P2 e P9 que interagem com os *pockets* B e F, respectivamente, funcionam como âncoras, determinando o tipo de péptido que se liga à molécula (Lamas et al., 1999). Entre os aminoácidos presentes no *pocket* B, destacam-se o ácido glutâmico presente na posição 45 (Glu45) e a cisteína na posição 67 (Cys67), por determinarem a preferência do *pocket* B pela arginina (Arg) na P2 (Peixoto et al., 2005). Enquanto o *pocket* B é conservado em todos os subtipos HLA-B27, os outros *pockets* diferem, especialmente o *pocket* F, que possui uma variedade de resíduos capazes de interagir com a cadeia lateral do resíduo C-terminal do péptido. Aliás, os subtipos B27 diferem marcadamente na sua capacidade de ligação a diferentes C-terminais. Os subtipos B*2705, -03 e -10 mostram a mais ampla gama de péptidos de ligação, com resíduos C-terminal básicos, alifáticos e aromáticos. Os subtipos com pouca ou nenhuma associação com a AS, B*2706 2 B*2709, mostram um restrito reportório de péptidos com C-terminal que permitem a sua ligação apenas a resíduos alifáticos ou fenilalanina (Phe) (Taurog, 1998) (Figuras 5 e 6).

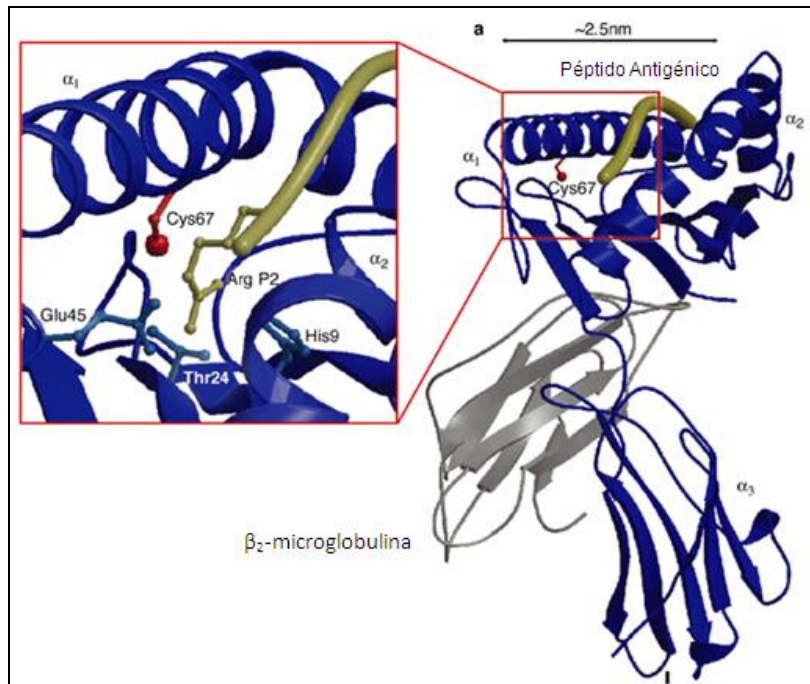


Figura 5: Representação da estrutura tridimensional da molécula HLA-B27 (adaptado de Bowness et al, 1999).

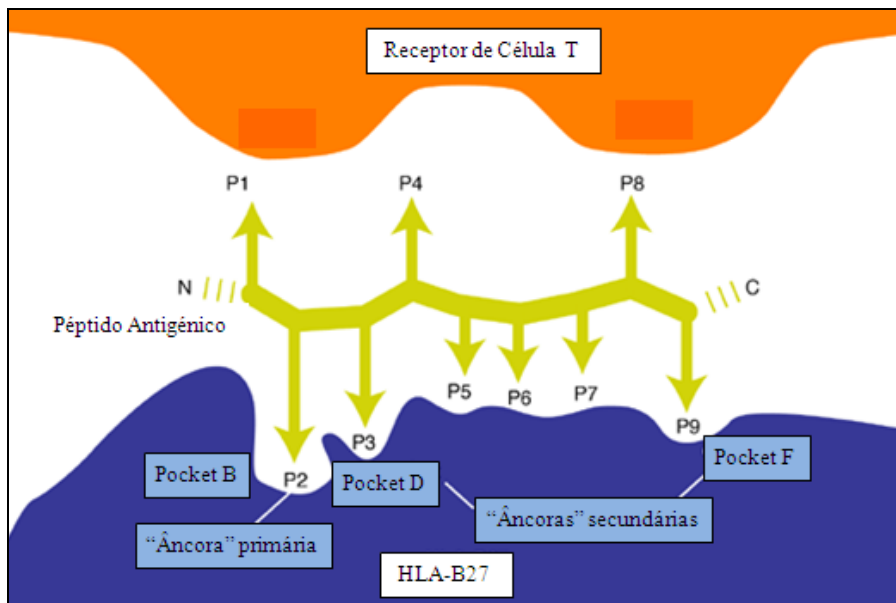


Figura 6: Representação da ligação do péptido antigénico ao HLA-B27 e reconhecimento pelo receptor da célula T (adaptado de Bowness et al, 1999).

1.1.1 Alelo HLA-B27 e Espondilite Anquilosante

O maior avanço na pesquisa da patogénese da AS e das SpA está na descoberta da associação destas doenças com o HLA-B27. Estima-se que o HLA-B27 está presente

em mais de 95% dos casos de AS, sendo esta a mais forte associação encontrada entre uma molécula do sistema HLA e uma doença em particular (Martínez-Borra et al., 2000).

Deste modo, o HLA-B27 tornou-se virtualmente um pré-requisito para o desenvolvimento da AS (Harvey et al., 2009). Embora por si só não seja suficiente para desencadear a doença, sabe-se que os indivíduos HLA-B27 positivos têm 20 vezes maior probabilidade de desenvolver uma SpA que os HLA-B27 negativos (Braun et al., 1998). De acordo com o estudo de Jaakkola et al. (2006), a homozigotia para o HLA-B27 está associada a um risco moderadamente aumentado de AS em comparação com a heterozigotia.

O papel funcional do HLA-B27 no processo patogénico ainda está por esclarecer, mas a pesquisa actual está focada principalmente em cinco hipóteses de associação do HLA-B27 às SpA:

1.1.1.1. Mimetismo Molecular

Esta hipótese consiste no reconhecimento de um auto-péptido específico apresentando “mimetismo molecular” (partilha de epítomos) como um Ag bacteriano ou viral. Deste modo, a apresentação de um péptido bacteriano pela molécula HLA-B27 activa os linfocitos T citotóxicos, ocorrendo reacção cruzada com as estruturas do próprio organismo (Benjamin & Parham, 1990).

1.1.1.2. HLA-B27 *Misfolding*.

Esta teoria baseia-se na tendência das moléculas HLA-B27 em adquirir estruturas tridimensionais anómalas e na sua conseqüente acumulação no retículo endoplasmático (RE), o que pode desencadear uma reacção auto-inflamatória (Colbert, 2000).

1.1.1.3. Exposição de péptidos derivados do HLAB-27 por moléculas HLA de classe II

De acordo com esta hipótese, os péptidos resultantes da degradação da própria molécula HLA-B27 são expressos à superfície celular pelas moléculas HLA classe II como Ag's para o reconhecimento pelas células T CD4+, desencadeando-se a resposta autoimune. (Olivieri, 2002; Merino et al, 2008).

1.1.1.4. Libertação da β_2 -microglobulina

Outra hipótese, sugerida por Uchanska-Ziegler e Ziegler (2003), é que a libertação da β_2 -microglobulina (β_2 -m), resultante da dissociação do complexo péptido-HLA, pode provocar uma doença inflamatória se esta ficar presa dentro da membrana sinovial.

1.1.1.5. Cisteína (Cys67)

Debate-se a possibilidade da alteração da molécula HLA-B27 devido à presença de uma cisteína (Cys67), desemparelhada, existente no domínio extracelular $\alpha 1$ da maior parte dos subtipos HLA-B27 (Maclean et al., 1992). Todas as moléculas MHC Classe I possuem 4 Cys estruturais conservadas no domínio luminal do ER (C101, C164, C203 e C259), no entanto, o HLA-B27 possui uma Cys adicional no domínio luminal em p67, bem como resíduos de Cys nos domínios transmembranar e citosólico, na p308 e p325, respectivamente (Antoniou et al., 2004). Foram assim propostos três mecanismos para explicar a associação da Cys67 com a AS. A primeira hipótese é que a Cys exposta pode ser quimicamente modificada, alterando a especificidade antigénica do HLA-B27 (Maclean et al., 1992). A segunda hipótese é que as modificações químicas podem alterar a conformação do HLA-B27, fazendo com que sejam reconhecidas pelos linfócitos T citotóxicos (Gao et al., 1996). Por último, pensa-se que a presença da Cys67 pode conferir propriedades particulares à molécula do HLA-B27; Uma das potenciais capacidades é a formação de homodímeros entre as cadeias pesadas, envolvendo os domínios C67 e C164, em vez da associação com a β_2 -m (Antoniou et al., 2004). Esta ocorrência sugere uma modificação estrutural da molécula, que vai permitir a associação a péptidos mais longos que podem ser reconhecidos pelas células CD4+ e CD8+. Os homodímeros podem também facultar a ligação a receptores das células NK e outras, e ser ainda reconhecidos por anticorpos específicos. (Peixoto et al., 2005).

Estas várias tentativas de explicação do mecanismo de relação entre o HLA-B27 e a AS podem estar relacionadas entre si. Fussell e colegas (2008) realizaram um estudo com o objectivo de testar a hipótese do HLA-B27 *misfolding* se dever à exposição de resíduos de Cys da cadeia pesada no ambiente oxidante do RE. Os mesmos autores concluíram que o HLA-B27 pode adoptar novas conformações, resultando numa

acessibilidade diferencial dos resíduos de Cys, o que pode explicar a sua propensão para o *misfolding*. Verificaram ainda que a exposição da Cys na cadeia pesada do HLA-B27 é também afectada pelos resíduos dentro das regiões 114 e 116, proporcionando assim uma potencial base bioquímica para a associação dos subtipos HLA-B27 com a AS.

1.1.1. Distribuição Étnica e Geográfica do HLA-B27

A prevalência do HLA-B27 está, regra geral, relacionada com a prevalência da AS e de outras SpA.

O HLA-B27 está presente em toda a Eurásia, mas virtualmente ausente entre as populações da América do Sul, Austrália, África equatorial e do sul. Verifica-se um impressionante contraste entre a elevada prevalência nos nativos do círculo polar ártico e as regiões subárticas da Eurásia e América do Norte e algumas regiões da Melanésia (Gabriel & Michaud, 2009).

Pode observar-se uma prevalência do alelo HLA-B27 de 50% nos americanos nativos (Salvarani & Fries, 2009). Os esquimós do Alasca, Yupik e Inupiaq (Inupiat) apresentam prevalências de 40% e 25%, respectivamente. Os Chukchis nativos da Sibéria exibem 19% a 34%, enquanto os esquimós da Sibéria, tal como os seus homólogos norte-americanos, apresentam uma prevalência do HLA-B27 próxima dos 40%.

A prevalência do HLA-B27 na Hungria, Finlândia e Estónia varia entre 12 a 16%. Estas populações estão geneticamente relacionadas com a população Ugro-Finlandesa da República Autónoma de Mordova na Rússia, que apresenta uma prevalência do HLA-B27 de aproximadamente 16%. Os nativos do norte da Escandinávia (Lapland) têm uma prevalência de 24% (Khan, 1998b).

Na Europa Ocidental, a prevalência do HLA-B27 varia entre 3% a 18%, sendo encontrado em 90% dos doentes com AS, em 30% a 70% dos doentes com ReA, em aproximadamente 70% dos casos de uSpA, em 50% das uveítes anteriores agudas e em 88% dos doentes com bloqueio cardíaco associado a insuficiência aórtica (Salvarani & Fries, 2009). Em Berlim (Alemanha) foi estimada uma frequência do HLA-B27 de 9,3% (Braun et al., 1998). Nos Açores (Portugal), utilizando uma amostra da ilha Terceira, foi encontrada uma prevalência do HLA-B27 de 6 a 7%, com uma frequência de 60% nos doentes com SpA e 57% nos doentes com AS (Bruges-Armas, 2001).

Entre os asiáticos, 5-10% da população é HLA-B27 positiva (Gu et al., 2009). Foi verificada uma prevalência do HLA-B27 de 50% nos indianos Haida residentes nas ilhas Rainha Charlotte, na província canadiana de British Columbia.

Em contrapartida, o HLA-B27 está praticamente ausente na África Sub-Sahariana e do Sul. Observa-se uma prevalência entre 2 a 3% nos afro-americanos, a qual resulta provavelmente da mistura de nativos americanos com americanos descendentes de europeus (brancos) (Khan, 1998b).

1.1.2. Subtipos HLA-B27 e associação com a Espondilite Anquilosante

O HLA-B27 abrange 70 alelos diferentes (Chatzikyriakidou et al., 2011). Estes subtipos apresentam subtis diferenças entre si, especialmente nos exões 2 e 3, que codificam os domínios alfa 1 e alfa 2 da molécula HLA-B27, respectivamente (Ball & Khan, 2001).

Todavia, apenas alguns subtipos HLA-B27 estão associados à doença, destacando-se como principais os subtipos B*2705, 02, 04 e 07 (Salvarani & Fries, 2009). Este facto sugere que as pequenas diferenças moleculares entre os subtipos podem ser a chave para uma melhor compreensão da patogénese da AS (Sieper, 2009).

A firme associação entre a AS e os subtipos B*2702, -04, -05, e mais recentemente o -07, foi estabelecida com base em grandes inquéritos populacionais (Taurog, 1998).

A referir ainda que os subtipos B*2701, 03 e 08, apesar de serem pouco frequentes e não estarem ainda bem estudados, revelaram associação com a AS. A associação do B*2701 com a AS foi encontrada apenas num único indivíduo caucasóide (Peixoto et al., 2005); o B2703 foi encontrado em três indivíduos com AS na África Ocidental (Gonzalez-Roces et al., 1997); e a relação entre o B*2708 e a AS foi descoberta numa família açoriana (Bruges-Armas et al., 1999).

Ao contrário da maioria dos subtipos HLA-B27, que parecem estar em maior ou menor grau associados com as SpA, o HLA-B*2706 e o B*2709 apresentam pouca ou nenhuma correlação com a AS (Sieper et al., 2002). Comparando com os subtipos associados à doença, o B*2706 e o B*2709 apresentam subtis alterações na sequência de aminoácidos, apenas nas regiões p114 e p116, que constituem o *pocket F* (*pocket terminal*). Estas diferenças podem ter impacto na conformação das proteínas e na exposição dos resíduos de Cys (Fussell et al., 2008). Foram, porém, encontrados dois

indivíduos B*2706 com AS na população chinesa (González Rocés et al., 1997), devendo ser melhor estudada a associação deste subtipo com a AS. O B*2709 não foi encontrado em nenhum indivíduo com AS, embora tenha sido descoberto em indivíduos com outras SpA o que indica uma fraca associação com a doença, sugerindo, no entanto, algum envolvimento noutras formas de artrite.

Os restantes subtipos são menos frequentes e ainda não foram bem estudados. A sua identificação tem ocorrido esporadicamente em algumas populações, por vezes com associação à doença (Peixoto et al., 2005).

1.1.3.1. Distribuição Étnica e Geográfica dos subtipos HLA-B27

Dentro das populações portadoras do HLA-B27, a distribuição dos seus subtipos também não é arbitrária. Os subtipos HLA-B27 são característicos das diferentes etnias, o que se reflecte na sua distribuição geográfica, de acordo com a origem da etnia e fluxos migratórios (Tabela 7) (Khan, 1998b). A maior variedade de subtipos é encontrada a norte, decrescendo à medida que se desce para sul (Chatzikyriakidou et al., 2011).

O subtipo HLA-B*2705 é encontrado em quase todas as populações, embora a sua prevalência varie de região para região; é o subtipo mais frequente na Europa, no Norte da Índia, na África Ocidental e na Polinésia (Peixoto et al., 2005). Na população Euro-Caucasóide o B*2705 está presente em 90% a 96% dos indivíduos HLA-B27 (Khan, 1995).

O subtipo HLA-B*2701 é muito raro, tendo sido observado em populações caucasóides, asiáticas, mestiças e afro-americanas (Ball & Khan, 2001). O HLA-B*2702 encontra-se predominantemente no Médio Oriente (Semitas) e em algumas populações Caucasóides do Norte de África (Argelinos e Tunisinos). Contribui para 5 a 10% dos alelos HLA-B27 nos Euro-Caucasóides e mestiços da América Central e do Sul e, curiosamente, é o único subtipo encontrado nos ciganos espanhóis (Peixoto et al., 2005). O subtipo B*2703 é encontrado sobretudo nas populações negras da África Ocidental (Gonzalez-Roces et al., 1997).

O subtipo B*2704 está fortemente associado à AS e é encontrado essencialmente nas populações orientais e da Polinésia, apresentando uma frequência elevada entre os chineses, japoneses e habitantes de Thais (Tibia). O subtipo B*2706 predomina em algumas populações do Sudeste Asiático. O subtipo B*2707 está presente nos judeus e,

menos frequentemente, em alguns povos asiáticos tais como os indianos e os chineses (Khan, 1998b; Peixoto et al., 2005).

O subtipo B*2708 é encontrado com reduzida prevalência nas populações Eurocaucasóides (Khan, 1998b). Foi recentemente detectado, com uma frequência elevada, no Estado de Maharashtra, na Índia Ocidental (Shankarkumar, Ghosh & Mohanty, 2002). Assim, é provável que se venha a demonstrar que a Ásia é a zona geográfica onde o HLA-B*2708 se encontra com maior frequência (Peixoto et al., 2005). O subtipo B*2709 está presente de uma forma significativa na ilha da Sardenha e, em menor frequência, na Itália continental (Ramos et al., 2002).

Tabela 7: Subtipos HLA-B27, origem étnica e populações onde são encontrados (adaptado de: Khan, 1998b; Peixoto et al., 2005).

Subtipo HLA-B27	Origem Étnica	Populações
2701	Hispânica	Euro-caucasóides (raro)
2702	Caucasóide	Semitas e do Mediterrâneo Oriental Euro-caucasóides Esquimós da Sibéria (raro) Indianos/Ásia (raro)
2703	Raça Negra	Africanos Ocidentais Afro-americanos (raro)
2704	Caucasóide Mistura ilhas do Pacífico	Chineses Japoneses Thais/Tíbia Indianos/Ásia Polinésios Indonésios Semitas e do Mediterrâneo Oriental (raro)
2705	Índios Americanos Caucasóides	Quase todas as populações, com elevada prevalência nos nativos norte-americanos, euro-caucasóides, indianos do norte, coreanos, polinésios, africanos ocidentais e afro-americanos. Raro em Thais/Tíbia.
2706	Orientais	Indonésios

		Thais/Tibia Chineses (raro)
2707	Caucasóide	Semitas e do Mediterrâneo Oriental (raro) Indianos/Ásia (raro) Chineses (raro) Thais/Tibia (raro) Indonésios (raro)
2708	Caucasóide	Euro-caucasóides (raro)
2709	Caucasóide	Euro-caucasóides (raro)

1.2. Outros alelos HLA e Espondilite Anquilosante

A ocorrência de doentes HLA-B27 negativos com AS sugere a existência de outros genes associados a esta patologia. Verificou-se que os parentes em primeiro grau de doentes com AS têm maior risco de desenvolver a doença (21%) do que os indivíduos HLA-B27 positivos da população em geral (1,3%), indicando a presença de factores comuns que não o HLA-B27 (Van der Linden et al., 1984). O estudo em gémeos demonstrou que outros factores genéticos para além do HLA-B27 determinam quais os indivíduos HLA-B27 positivos que desenvolvem AS (Brown et al., 1997). Além disso, verificam-se casos de elevada prevalência do HLA-B27 sem manifestação da AS; como exemplos temos as populações da Papua Nova Guiné e os países africanos ocidentais, em que o HLA-B27 apresenta uma elevada prevalência e, no entanto, a AS é muito rara. (Richens & McGill, 1995; Brown et al., 1996).

Vários estudos, baseados em casos de doentes com AS em populações onde a doença é muito rara, permitiram identificar o alelo HLA*1403, sugerindo-o como um factor de susceptibilidade para o desenvolvimento da AS (Cauli et al., 2007; Diaz-Pena et al., 2008a; Lopez-Larrea et al., 2002). Com o intuito de compreender o mecanismo pelo qual o HLA*B1403 predispõe à AS, Merino et al. (2008) compararam o “folding”, montagem, maturação e estabilidade do B*1403 com o B*2705 (associado à AS) e com o B*1402 (que difere do B*1403 apenas na posição 156, mas não predispõe à AS). Tinham como objectivo perceber qual ou quais as etapas comuns entre o B*1403 e o B*2705 e que diferem do B*1402. Contudo, verificaram que o B*1403 difere mais do B*2705 do que do B*1402, de modo que os comportamentos nestas fases não podem explicar o facto de apenas os dois primeiros alelos estarem associados à AS.

Robinson e colegas (1989) verificaram que os indivíduos HLA-B27 que apresentam simultaneamente o alelo HLA-Bw60 têm maior susceptibilidade para desenvolver AS.

O HLA-B60 parece ter também um importante papel na AS (Wordsworth, 1998). Num estudo realizado em doadores de medula óssea caucasóides, Brown e colegas (1996) observaram uma associação entre o HLA-B60 e a AS, sem diferença significativa entre os grupos HLA-B27 positivos e negativos. Noutro estudo, realizado por Feltkamp (1996), concluiu-se que os indivíduos heterozigóticos HLA-B27 / HLA-B60 têm um risco de desenvolver AS três vezes superior comparativamente a qualquer outro tipo de heterozigotia com HLA-B27. Também Wei e colegas (2004) encontraram uma forte associação entre os alelos HLA-B*60 e HLA-B*61 e a AS, em indivíduos HLA-B*27 negativos, na população chinesa de Taiwan.

Yamaguchi e colegas (1995) identificaram uma associação entre o alelo HLA-B39 e a AS em doentes japoneses HLA-B27 negativos. De acordo com os autores, o envolvimento do HLA-B39 pode dever-se ao facto de, tal como no HLA-B27, a molécula apresentar um Glu na posição 45 e uma Cys na posição 67, que compõe o pocket B e cuja importância foi anteriormente descrita.

Recentemente, foram estudados indivíduos infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), com e sem SpA, originários da Zâmbia. A presença do alelo HLA-B*5703 parece retardar a progressão do HIV, influenciando, por outro lado, o aumento da incidência de SpA observada nessa população (Lopez-Larrea et al., 2005).

Fang e colegas (2009) verificaram na população do leste da China que a frequência dos alelos D6S2811 * 128 *, * STR_MICA A5.1 D6S2672 e 109, bem como dos haplótipos D6S2811 D6S2927 * 128 * * 213-340 D6S2810, D6S2927 D6S2810 * 221-350-MICA * A5.1, e D6S2810 * 350, MICA * A5.1 D6S2800 * 136 é significativamente maior em pacientes B27 positivos com AS, quando comparados com controlos B27-positivos. Os resultados indicaram que pode(m) haver outro(s) gene(s) na região HLA, especialmente em torno do locus HLA-B e HLA-Cw, que confere(m) susceptibilidade para a AS independentemente do HLA-B27. Noutro estudo numa população do sul da Índia, Madhavan e colegas (2002) averiguaram que o HLA-Cw2 está positivamente associado com AS.

Brown e colegas (1998) sugerem que os genes HLA-DR podem ter um fraco efeito sobre a susceptibilidade à AS independente do HLA-B27, embora não suportem a

hipótese deste afectar a gravidade da doença ou causar diferentes manifestações clínicas.

Capítulo III

Genes não-HLA e Espondilite Anquilosante

O estudo realizado por Brown e colegas em 1998, além de confirmar a associação da AS aos genes MHC, indicou que apenas 31% da susceptibilidade à doença se deve a estes genes e que existem outros genes não MHC envolvidos. Assim, a procura de novos genes não MHC relacionados com a AS ganhou interesse.

Recentemente, dois novos loci genéticos mostram estar associados à AS: o receptor da IL-23, com envolvimento na via linfocitária Th 17 na resposta crónica imune (Karaderi et al., 2009; Rhaman et al. 2008), e o ERAP1 (também conhecido por ARTS1), uma enzima relevante no processamento dos péptidos no citoplasma. A contribuição destes genes para a susceptibilidade à AS foi descrita como 26% para o ERAP1 e 9% para a IL-23 (Sieper, 2009).

A associação da IL-23 à AS explica-se pela super-expressão desta citocina na parte terminal do íleon de doentes com AS, que apresentam frequentemente inflamação subclínica do intestino (tal como na Doença de Cronh). Sendo a IL-23 um importante regulador da imunidade da mucosa do intestino, justifica-se o significado patológico da associação entre o polimorfismo do receptor da IL-23 e a inflamação intestinal característica da AS (Ciccia et al., 2009). Outros estudos revelam também a associação da IL-1A à AS (Sims et al., 2009).

O ERAP1 codifica uma zinco-metalopeptidase pertencente à família M1 das aminopeptidases do RE com várias funções biológicas propostas, que o tornam um forte candidato ao envolvimento na AS. O ERAP1 mostrou uma ligação directa com o domínio extracelular do TNFR1 *in vitro* e promove a clivagem do seu ectodomínio para gerar TNFR1 solúvel. Deste modo, o ERAP1 pode ser crucial na regulação da bioactividade do TNF, que desempenha um importante papel na regulação da inflamação (Harvey et al., 2009).

Pensa-se que no RE, o ERAP1 tem a função de ajustar os péptidos dos Ag, de modo a que adquiram o tamanho ideal para a ligação com as moléculas MHC de classe

I. As proteínas são inicialmente degradadas no citoplasma, originando fragmentos de péptidos até 25 aminoácidos de comprimento, que são posteriormente transportados para o RE, onde são ajustados pela ERAP1 de modo a originar fragmentos de 8-9 resíduos de aminoácidos. Estes pequenos fragmentos têm o tamanho ideal para se ligar às moléculas MHC classe I, com as quais são transportados para a superfície celular para serem apresentados às células T (Chang et al., 2005).

Gu e colegas (2009), através de um estudo genético de várias gerações de famílias chinesas, para além de confirmarem a ligação da AS ao cromossoma 6 (o qual contém o locus HLA-B), revelaram pela primeira vez a existência de um locus associado à AS localizado no cromossoma 2q36.1-2q36.3, com transmissão autossómica dominante.

Foram identificadas regiões sugestivas de forte ligação com a AS nos cromossomas 1p, 2q, 6p, 9q, 10q, 16q e 19q, sendo o cromossoma 16q a apresentar uma ligação mais forte (Laval et al., 2001). A análise combinada dos três “*whole-genome scans*” pelo International Genetics of Ankylosing Spondylitis Consortium mostrou que as regiões dos cromossomas 10q e 16q tinham evidências sugestivas de ligação (*linkage*). Outras regiões que mostraram ligação nominal foram 1q, 3q, 5q, 6q, 9q e 17q (Carter et al., 2007).

Na região cromossómica 19q, mais precisamente em 19q13.4, encontram-se os genes dos receptores de imunoglobulinas das células Killer (KIR). As proteínas codificadas pelos KIR reconhecem as moléculas MHC classe I, estando directamente envolvidas na activação e inibição das células Killer e possivelmente também nas células CD8⁺ T. Lopez-Larrea et al. (2006) investigaram na população caucasiana a contribuição dos genes KIR3DL1 (inibidor) e KIR2DS1 (activador) no desenvolvimento de AS pelos indivíduos HLA-B positivos, tendo concluído que o KIR2DS1 é significativamente mais frequente nos indivíduos HLA-B27 doentes, quando comparado com o grupo controlo (indivíduos HLA-B27 saudáveis). Por outro lado, verificaram que o KIR3DL1 em associação com o genótipos HLA-B Bw4-180 confere um efeito de protecção no desenvolvimento da AS. Estes resultados foram confirmados pelo mesmo grupo utilizando uma amostra da população asiática (Días-Peña et al., 2008b).

Um estudo que visava investigar a associação do cromossoma 22 à AS, utilizando 200 famílias com pares de irmãos afectados pela doença, mostrou que a

homozigotia para os alelos do gene CYP2D6 (citocromo P450 2D6 – debrisoquine hydroxylase) localizado em 22q13.1, designadamente para o CYP2D6*4, está associada à AS, enquanto a heterozigotia para este alelo não apresenta relação com a susceptibilidade. Os autores consideraram como hipótese que a alteração do metabolismo de uma toxina natural ou Ag pelo CYP2D6 pode aumentar a susceptibilidade à AS (Brown et al., 2000).

Com o objectivo de perceber o papel dos cromossomas sexuais na AS, Hoyle et al. (2000) estudaram a ligação ao cromossoma X em 234 pares de irmãos afectados pela AS, não tendo encontrado correlação entre o cromossoma X e a susceptibilidade para AS.

PARTE III – ESPONDILITE ANQUILOSANTE NOS AÇORES – ESTUDO DE CASOS E FAMÍLIAS

Capítulo I

Caracterização Fenotípica de Doentes Açorianos com Espondilite Anquilosante

1. Metodologia

Procedeu-se à identificação na base de dados do Serviço Especializado de Epidemiologia e Biologia Molecular (SEEBMO) do Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo (HSEAH) de doentes com diagnóstico confirmado de AS. Posteriormente, foi feita uma revisão dos processos clínicos dos doentes com AS identificados na Consulta de Doenças Auto-Imunes do HSEAH, uma vez que todos estes fazem parte da base de dados do SEEBMO.

Foi criada uma base de dados através do programa Microsoft Office Access 2007 incluindo os campos: código do doente, idade, diagnóstico confirmado de AS, idade de diagnóstico, idade dos primeiros sintomas, subtipo HLA-B27, outros diagnósticos associados – uveíte, artrite periférica, entesopatia periférica, psoríase, doença cardíaca e IBD –, Critérios de Nova York – sacroileíte e IBP –, história familiar, tratamento – NSAIDS, MTX, Salazopirina e antagonistas do TNF.

Foram introduzidos nesta base de dados todas as informações recolhidas sobre os doentes identificados (ver APÊNDICE). Os dados foram depois estatisticamente trabalhados no programa Microsoft Office Excel 2007, utilizando medidas estatísticas descritivas, designadamente, a média, a moda, a frequência absoluta, a frequência relativa e a amplitude total.

2. Resultados

Foram identificados na base de dados do SEEBMO 64 doentes com o diagnóstico de AS, com uma idade actual média de 55,75 anos. Destes, 46 pertenciam ao sexo masculino e 17 ao sexo feminino, correspondendo a 71,88% e 28,13% do total da amostra, respectivamente, o que equivale a aproximadamente um doente do sexo feminino para 3 do sexo masculino (1 / 2,71).

A idade em que se manifestaram os primeiros sintomas nos doentes da amostra variou entre 10 e 71 anos, com uma média de 27 e uma moda de 20. A idade de diagnóstico alternou entre 19 e 71 anos, com uma média de 40 e uma moda de 37. Assim sendo, o tempo decorrido entre a manifestação dos primeiros sintomas e o diagnóstico de AS foi em média de 13 anos.

Todos os doentes da amostra (100%) referiam a presença de IBP. Verificou-se que 46 doentes (71,88%) apresentavam sacroileíte bilateral, no entanto, só foi possível apurar o grau de sacroileíte de 21 doentes. Destes 21, 9 apresentavam sacroileíte bilateral de grau 2 (correspondendo a 42,86% dos doentes em que foi possível confirmar o grau de sacroileíte), 9 de grau 3 (42,86%) e 3 de grau 4 (14,29%).

Dos 64 doentes, 50 (78,13%) eram afectados por pelo menos uma manifestação extra-axial. Vinte e quatro tinham artrite periférica (37,50%), 21 apresentavam uveíte (32,81%), 17 tinham entesopatia periférica (26,56%), em 10 foi diagnosticada psoríase (15,63%), em 8 IBD (12,5%), 8 com doença cardíaca (12,5%) e 13 com outros diagnósticos (20,31%), entre os quais se destacam 5 doentes com doença ungueal (7,81%).

Apenas um dos doentes não tinha feito a tipagem HLA. Cinquenta e dois eram HLA-B27 positivos (82,54%) e 11 eram HLA-B27 negativos (17,46%). Do total de doentes HLA-B27 positivos, 46 apresentavam o subtipo B*2705 (88,46%), 3 o subtipo B*2708 (5,77%) e 3 o subtipo B*2702 (5,77%).

Dezoito doentes (28,13%) tinham história familiar de SpA. Do total dos 64 doentes estudados, 14 (21,88%) tinham familiares com diagnóstico confirmado de AS e 5 (7,81%) tinham familiares com diagnóstico confirmado de outras SpA.

Relativamente à terapêutica, verificou-se que todos os doentes (100%) usavam terapêutica farmacológica. Todos os doentes, à excepção de um (98,44%), utilizavam NSAIDS. O segundo grupo terapêutico mais utilizado foi o dos antagonistas do TNF, utilizado por 40,63% dos doentes. A Salazopirina foi utilizada por 25% dos doentes e o MTX por 18,75%.

3. Discussão

As características fenotípicas encontradas na amostra estudada vão de encontro aos achados descritos na literatura.

O facto da maioria dos doentes afectados pela AS pertencer ao sexo masculino é já considerado um dado adquirido sobre a doença, comumente referido na literatura (Bruges-Armas, 2001; Calin et al., 1999; Khan, 2009; Lee et al., 2008; Martínez-Borra et al., 2000; Sieper, 2009). Esse facto foi já comprovado em diversos estudos epidemiológicos como, por exemplo, num estudo realizado por Gu et al., em 2009, em famílias chinesas. Também Zhang et al. tinham concluído o mesmo em 2004, quando estudaram a susceptibilidade familiar em indivíduos de ascendência principalmente europeia. Muito antes, em 1990, Will et al. haviam chegado à mesma conclusão. No presente estudo obteve-se uma proporção de um doente do sexo feminino para aproximadamente 3 do sexo masculino (1 / 2,71), o que foi também encontrado por Kennedy et al. em 1993 (1 / 2,6) e por Gomez et al. em 1997 (1 / 2,7).

Relativamente à idade de manifestação dos primeiros sintomas, foi observada uma média de 27 e uma moda de 20 anos. Observando a tabela de dados, a média parece ser inflacionada pela existência de alguns doentes em que a doença se manifestou tardiamente. De qualquer modo, este valor está de acordo com o esperado, uma vez que a AS parece surgir entre a segunda e a terceira décadas de vida (Sieper et al., 2002). Segundo Brophy e Calin (2001), tendo como base um estudo realizado na população alemã, a AS surge em média aos 28,3 anos. Já Gu et al. (2009) obtiveram uma média de 22,45 no seu estudo em famílias chinesas. De acordo com o estudo de Lin et al. (2009), a AS surge por volta dos $25,0 \pm 7,4$ anos. Por sua vez, Rojas-Vargas et al. (2009) obtiveram um intervalo mais alargado, tendencialmente superior, de $38,1 \pm 12,8$ anos. Resultados semelhantes foram obtidos por Feldtkeller et al. (2003) que estudaram separadamente os doentes com AS HLA-B27 positivos e HLA-B27 negativos, tendo obtido uma média de 24,8 anos nos HLA-B27 positivos e 27,7 anos nos negativos. Wu et al. (2009) obtiveram uma média de $21,1 \pm 6,2$ anos para os HLA-B27 positivos e $28 \pm 7,9$ anos para os negativos.

A idade de diagnóstico apresentou uma média de 40 e uma moda de 37 anos. Mais uma vez, o valor médio parece ser inflacionado por alguns casos extremos. No entanto, este valor está de acordo com os descritos na literatura, designadamente, com os resultados obtidos por Feldtkeller et al. (2003), que obtiveram uma média de 33,2 nos doentes HLA-B27 positivos e 39,1 nos negativos, e com os resultados de Rojas-Vargas et al. (2009), que obtiveram um intervalo de $38,9 \pm 12,8$ anos. Resultados semelhantes foram encontrados por Geirsson et al. (2010) na Islândia, obtendo uma média de $32,1 \pm$

10,2 nos homens e $34,2 \pm 10,1$ nas mulheres. Porém, Dincer et al. (2008) obtiveram um valor relativamente inferior, de $27,88 \pm 11,63$ anos.

Deste modo, verifica-se que houve na amostra em estudo uma média de 13 anos entre a manifestação dos primeiros sintomas e o diagnóstico de AS. Embora este valor seja relativamente superior aos descritos na literatura, estes atrasos são frequentemente observados devido à lenta progressão para a sacroiliíte radiológica, necessária para confirmar o diagnóstico, à falta de indicadores clínicos bem definidos para ajudar na detecção precoce (Zochling & Braun, 2007) e à fraca consciência da AS e das SpA por parte dos médicos não reumatologistas (Sieper, 2009), o que leva a um atraso no diagnóstico e encaminhamento dos doentes. Lin et al. (2009) descreveram um atraso no diagnóstico da AAS de $4,6 \pm 6,8$ anos, enquanto Ibn Yacoub et al. (2010) obtiveram um intervalo um pouco mais estreito na população marroquina, de $4,12 \pm 3,99$ anos. Feldtkeller et al. (2003) aproximaram-se mais do resultado do presente estudo ao obterem um atraso de 8,5 anos nos doentes HLA-B27 positivos e 11,4 anos nos negativos. Dincer et al. (2008) obtiveram resultados interessantes ao tentar perceber as razões para o atraso no diagnóstico da AS. Globalmente, obtiveram um atraso de $6,05 \pm 5,08$ anos. Quando estudaram separadamente os indivíduos HLA-B27 positivos e negativos verificaram um atraso de $5,3 \pm 3,5$ anos no primeiro grupo e de $9,2 \pm 7,7$ no segundo. Os doentes com IBP na fase inicial da doença apresentaram um atraso de $3,28 \pm 3,32$ anos enquanto os sem IBP inicial apresentaram $8,57 \pm 8,54$. Os doentes com história familiar positiva tiveram um atraso de $4,60 \pm 4,44$ e os sem história familiar um atraso de $10,00 \pm 2,30$. Estes resultados revelam alguns pontos nos quais os médicos se devem focar para um diagnóstico mais precoce da AS. Juntamente com os resultados do presente estudo, revelam ainda que a obtenção de critérios clínicos mais eficazes constitui um importante desafio, tendo em conta que a realização de um diagnóstico precoce é importante no retardamento das lesões ósseas e na eficácia da terapêutica com antagonistas do TNF, que parecem ser mais eficazes nos estádios precoces da doença (Khan, 2009).

No que diz respeito aos Critérios de Nova York, verificou-se neste estudo que todos os doentes manifestavam IBP e 71,88% apresentavam sacroileíte bilateral. Confirma-se, portanto, que a IBP é um dos sintomas mais frequentes nos doentes com AS, o que havia já sido evidenciado por outros estudos que chegaram à mesma conclusão. Rojas-Vargas et al. (2009) ao estudarem os primeiros sintomas da AS numa

amostra espanhola observaram que a IBP era o sintoma mais frequente, estando presente em 72% dos casos. Baek et al. (2004) encontraram os sintomas axiais como primeiro sintoma em 80,6% dos doentes na Coreia. Roussou e Sultana (2011) verificaram ainda que a AS é entre as SpA a que apresenta maior número de casos com a IBP como um dos primeiros sintomas.

Entre os doentes que exibiam sacroileíte bilateral, 42,86% apresentavam sacroileíte de grau 2, 42,86% de grau 3 e 14,29% de grau 4. Apesar de na generalidade todos os doentes com AS apresentarem sacroileíte, além de envolvimento axial (Gu et al., 2009), a percentagem encontrada de doentes com sacroileíte deve-se ao facto de estarem incluídos na amostra doentes com diagnóstico recente em que não foi ainda possível confirmar sacroileíte, o que é normal, uma vez que as alterações radiográficas de sacroileíte necessárias para o diagnóstico de AS só ocorrem cerca de 8 a 11 anos após o início dos primeiros sintomas (Kabasakal et al., 2009). Curiosamente, no estudo de Rojas-Vargas et al. (2009) todos os doentes apresentavam sacroileíte, dos quais 54% de grau 2, 39% de grau 3 e 7% de grau 4. Este número total de indivíduos com sacroileíte, tal como os próprios autores reconhecem, é contraditório, pois foi obtido a partir de uma amostra que tinha como critério de inclusão a duração da doença ≤ 2 anos, tornando o resultado pouco plausível pelo motivo anteriormente referido. Todavia, as percentagens encontradas para os vários graus de sacroileíte estão de acordo com o corrente estudo. Destaca-se apenas no presente estudo a percentagem de doentes com sacroileíte de grau 4; o seu incremento deve-se provavelmente ao facto de estarem incluídos na amostra doentes com vários anos de actividade da doença (pelo menos mais de 2 anos), o que proporcionou o agravamento dos sintomas, além de que a utilização de tratamento com bloqueadores do TNF – importante no retardamento da sacroileíte (van der Heijde et al, 2009a) – é recente.

A elevada percentagem encontrada de doentes com manifestações extra-axiais (78,13%) não surpreende, tendo em conta que a associação da AS a estas manifestações foi já amplamente descrita (Bruges-Armas, 2001; Khan, 1998a; Khan, 2009; Lawrence & Brent, 2009). Do total de doentes, 37,50% apresentavam artrite periférica, 32,81% uveíte, 26,56% entesopatia periférica, 15,63% psoríase, 12,5% IBD, 12,5% doença cardíaca e 20,31% com outros diagnósticos, entre os quais se destacam 7,81% doentes com doença ungueal. Podem encontrar-se na literatura diversos estudos sobre a frequência das manifestações extra-axiais na AS, no entanto, embora sejam em parte

consensuais, a distribuição das frequências das várias manifestações depende da população de estudo. O estudo de Zhang et al. (2004), utilizando uma amostra de descendentes europeus, é provavelmente aquele cujos resultados se aproximam mais dos do actual estudo, na medida em que apresenta também como principais manifestações extra-axiais a artrite periférica (55%), a entesopatia periférica (45%) e a uveíte (40%), seguindo-se a psoríase (11%) e a IBD (10%). Também no estudo de Gu et al. (2009) em famílias chinesas se destacam as mesmas manifestações extra-axiais: a entesite (48%), a artrite periférica (36%) e a uveíte (36%). Por sua vez, com valores bastante inferiores, Bodur et al. (2010) verificaram na população turca que a manifestação extra-axial mais frequente é a uveíte anterior com 13.2%, seguida da artrite periférica com 11,2%, seguindo-se a psoríase e outras lesões da pele e mucosas com 6% e a IBD com 3.8%. Já para Bremander et al. (2010), com base num estudo na população do sul da Suécia, a uveíte e a IBD são as complicações mais frequentes, seguindo-se a doença cardiovascular. Quanto ao envolvimento ungueal, sabe-se que este é particularmente frequente nos casos de artrite psoriática (Grasland & Vincenex, 1999), no entanto, não foram encontrados outros trabalhos que descrevessem a sua frequência em associação com a AS.

Relativamente à presença ou ausência do HLA-B27, verificamos que entre os doentes tipados 82,54% eram HLA-B27 positivos e 17,46% eram HLA-B27 negativos. Embora se confirme a forte associação entre o HLA-B27 e a AS, estes valores são inferiores aos encontrados por Schlosstein et al. (88%) e Brewerton et al. (96%) em 1973. São também inferiores aos valores mais recentemente encontrados por Geirsson et al. (2010) – 84% na população da Islândia –, por Fernández-Sueiro et al. (2004) – 94,3% na Galiza (Espanha) – por Wu et al. (2009) – 94,9% na China – e por Zhang et al. (2004) – 97% em descendentes europeus.

Quanto aos subtipos HLA-B27, verificou-se que 88,46% apresentavam o subtipo B*2705, 5,77% o B*2708 e 5,77% o B*2702. Era já esperada uma elevada frequência do B*2705, pois, para além de estar normalmente presente em 90% a 96% dos indivíduos HLA-B27 da população Euro-Caucasóide (Khan, 1995), é também um dos principais subtipos associados à AS (Salvarani & Fries, 2009). O subtipo B*2702 cobre praticamente toda a restante população Euro-Caucasóide HLA-B27 (Khan, 1998b; Peixoto et al., 2005) e está igualmente associado à AS (Salvarani & Fries, 2009). Os resultados mais semelhantes aos do presente estudo foram encontrados por Fernández-

Sueiro et al. (2004) na Galiza (Espanha), tendo obtido 88% dos doentes com B*2705 e 12% com B*2702, e por Grubić et al. (2001) na Croácia, com 83% B*2705 e 13,2% B*2702. Também Pazár et al. (2010) verificaram que o B*2705 é o subtipo predominante em doentes com AS húngaros; o mesmo foi registado por Lee et al. (2008) e Park et al. (2008) na população coreana. Num estudo na população turca, Kamanli et al. (2009) verificaram que 52% dos indivíduos com AS HLA-B27 positivo apresentavam o subtipo B*2702, o que comprova mais uma vez a associação deste subtipo à AS; esta percentagem comparativamente superior à obtida no presente estudo deve-se ao facto de a população HLA-B27 positiva na Turquia ser maioritariamente do subtipo B*2702. Na Tunísia, Siala et al. (2009) verificaram que, apesar de encontrarem 4 subtipos HLA-B27 na população (B*2702, 05, 09 e 12), apenas os subtipos B*2702 e B*2705 surgem associados à AS (42,8% e 57,1%, respectivamente). Também na Tunísia, utilizando uma amostra maior, Ben Radhia et al. (2008) obtiveram 7 subtipos HLA-B27 (B*2702, 03, 04, 05, 07, 09 e 14), mas mais uma vez a esmagadora maioria dos doentes apresentava os subtipos B*2702 e B*2705 (47,1% para cada um dos subtipos). Nicknam et al. (2008) chegaram à mesma conclusão no Irão, com 63,4% dos doentes B*2705 e 36,6% B*2702. Alaez et al. (2007) obtiveram uma frequência de 62,5% para o B*2702 e 37,5% para o B*2705 nos judeus israelitas e Varnavidou-Nicolaidou et al. (2004) obtiveram 51,7% para o B*2702 e 31,7% para o B*2705 na população cipriota grega. Do mesmo modo, Cipriani et al. (2003) verificaram que os subtipos B*2705 e B*2702 são os mais frequentemente associados à AS na população mestiça da Venezuela.

Relativamente à existência de uma fracção considerável de doentes B*2708 nesta amostra, não é de estranhar, tendo em conta que a relação entre o B*2708 e a AS foi descrita pela primeira vez numa família açoriana (Bruges-Armas et al., 1999). Mais tarde, Birinci et al. (2006) viriam a reconhecer a mesma associação na Turquia, identificando numa amostra 2,6% doentes com o subtipo B*2708.

No que diz respeito à história familiar dos doentes, os números encontrados fazem sentido, de acordo com alguns estudos feitos sobre esta matéria. Um total de 28,13% doentes tinha familiares com história de SpA; destes, 21,88% tinham diagnóstico confirmado de AS e apenas uma pequena fracção (7,81%) tinham familiares com outras SpA sem comprometimento axial. O número de doentes com história familiar de AS é consideravelmente inferior ao encontrado por Lin et al. (2009), que

verificaram que cerca de 50% dos doentes tinham familiares com AS; esta diferença poderá justificar-se pela provável existência de familiares com AS mas sem diagnóstico da doença, pois vários doentes referem ter familiares com queixas reumáticas que, de acordo com a sua descrição, se tratam provavelmente de AS. A relação familiar foi também encontrada por van der Linden et al. em 1984, que concluíram que os familiares HLA-B27 positivos em primeiro grau de doentes HLA-B27 positivos com AS apresentavam 16 vezes maior probabilidade de desenvolver AS em comparação com os indivíduos HLA-B27 positivos da população em geral. Num estudo em gémeos, Brown et al. (1997) verificaram que a susceptibilidade à AS é largamente determinada por factores genéticos.

Relativamente à terapêutica, verificou-se que todos os doentes da amostra utilizavam algum tipo de terapêutica farmacológica devido à severidade dos sintomas. O uso de NSAIDS era referido em todos os processos clínicos com excepção de apenas um doente, o que corresponde a 98,44% da amostra. Este achado era mais do que esperado, tendo em conta que os NSAIDs constituem o tratamento de primeira linha na AS (Bron et al., 2009) devido à sua elevada eficácia anti-inflamatória, reduzindo a dor e rigidez rapidamente em 48 a 72 horas (Sieper, 2009). Contudo, uma parte considerável dos doentes tinha necessidade de recorrer a outras terapêuticas farmacológicas por não responder ou a partir de determinada altura se tornar intolerante aos NSAIDs. Assim, verificou-se que 40,63% doentes utilizavam antagonistas do TNF, 25% utilizam ou já utilizaram Salazopirina e 18,75% utilizam ou já utilizaram MTX. O uso preferencial dos antagonistas do TNF como tratamento de segunda linha pode ser justificado pelos resultados de alguns estudos que revelam a eficácia destes fármacos na melhoria dos sintomas axiais e redução da inflamação axial. Este tipo de tratamento normaliza os reagentes da fase aguda e reduz a inflamação aguda nas articulações SI e coluna (Sieper, 2009). Os três tipos de antagonistas do TNF (infliximab, adalimumab e etarnecept) parecem ter eficácia semelhante com taxas de resposta de cerca de 60% (Maksymowych, 2007). Um estudo de van der Heijde et al. (2009a) demonstrou haver três anos de duração da melhoria dos sintomas clínicos no tratamento com adalimumab. Bunchuk et al. (2009) observaram uma melhoria substancial na maioria dos doentes apenas uma semana após a primeira infusão de infliximab, com melhoria do BASDAI e diminuição do edema das entesites e dos níveis de PCR. De acordo com Huang et al. (2010), o etarnecept parece igualmente melhorar os sintomas da AS de forma rápida e

segura. O recurso às drogas modificadoras anti-reumáticas (Salazopirina e MTX) é observado em menor escala, uma vez que vários estudos comprovam que a eficácia destes medicamentos parece limitar-se inflamação periférica sem melhoria dos sintomas axiais (Haibel & Sieper, 2010; Maksymowych, 2007; Sampaio-Barros, 2000). Todavia, é natural que seja utilizado por alguns doentes da amostra dada a elevada percentagem observada de doentes afectados por artrite periférica.

Capítulo II

Caracterização Genótipica de Doentes Açorianos com Espondilite Anquilosante

1. Subtipos dos alelos HLA-B27

1.1. Metodologia

Recorreu-se mais uma vez à base de dados do SEEBMO, onde se recolheu uma amostra constituída por dois grupos: doentes e controlos. O grupo de doentes foi composto por 28 indivíduos HLA-B27 positivos com AS confirmada e o grupo controlo por 20 indivíduos HLA-B27 positivos sem evidência de AS ou outras SpA, não aparentados com os doentes em estudo.

As amostras seleccionadas, e familiares, foram genotipadas por PCR-SSP, através da utilização de kits *Olerup SSPTM low resolution*. Posteriormente, através da mesma técnica, efectuou-se uma genotipagem por alta resolução ao nível do alelo HLA-B27 (*Olerup SSPTM HLA-B*27 high resolution*).

Os haplótipos reais dos indivíduos em estudo foram obtidos por segregação, através de um estudo dos respectivos familiares.

Os resultados obtidos foram trabalhados utilizando métodos de estatística descritiva: frequência absoluta (n) e frequência relativa (%), através do programa Microsoft Office Excel 2007. O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foi calculado em ambos os grupos, doentes e controlos, utilizando a fórmula $p^2 + pq + q^2$ (p = frequência do alelo “A”; q = frequência do alelo “a”) através do Microsoft Office Excel; a diferença entre a frequência observada e a frequência esperada de cada grupo de alelos foi calculada através do teste do Chi-Quadrado (χ^2) ($p > 0,05$) com um grau de

liberdade. Relacionaram-se os subtipos B27 comuns a doentes e controlos com a susceptibilidade à AS utilizando o Teste Exacto de Fisher (bicaudal), com um nível de significância de 0,05% ($p < 0,05$), assim como o Odds Ratio (OR), com um Intervalo de Confiança (IC) de 95%. Ambos os testes estatísticos foram aplicados utilizando o software online VassarStats (<http://faculty.vassar.edu/>), o qual fez automaticamente a correcção de Yates (necessária tendo em conta a pequena dimensão da amostra).

1.2. Resultados

Verificou-se que a amostra estava em HWE ($p < 0,05$).

No total da amostra, obtiveram-se 38 (79,17%) indivíduos com o subtipo B*2705, 3 (6,25%) com B*2703, 3 (6,25%) com B*2708, 2 (4,17%) com B*2707 e 2 (4,17%) com B*2702. Entre os 28 indivíduos que constituíam o grupo de doentes, 26 (92,86%) apresentavam o subtipo B*2705, um (3,57%) o B*2702 e um (3,57%) o B*2708. Dos 20 controlos, 12 (60%) apresentavam o subtipo B*2705, 3 (15%) o B*2703, 2 (10%) o B*2707, 2 (10%) o B*2708 e um (5%) o B*2702.

A aplicação do Teste Exacto de Fisher apontou para a existência de uma diferença de distribuição do subtipo B*2705 entre os grupos de doentes e controlos, uma vez que se obteve um valor de p de 0,01 ($p < 0,05$). O valor obtido para o OR foi de 8,67 (IC = 95%), o que indica que o subtipo em causa parece conferir susceptibilidade à AS. Não foram encontradas diferenças de distribuição entre os dois grupos para os restantes subtipos, uma vez que nenhum outro subtipo apresentou um valor de $p < 0,05$ (Tabela 8).

Tabela 8: Resultados do OR e valores de p encontrados através da aplicação do Teste Exacto de Fisher para relacionar subtipos HLA-B27 com a susceptibilidade à AS (IC = 95%).

Subtipo HLA-B27	OR	p (Fisher)
B*2705	8,67	0,01
B*2702	0,7	1
B*2708	0,33	0,56

1.3. Discussão

A análise dos resultados revela a existência de cinco subtipos HLA-B27 diferentes no total da amostra: B*2705, B*2702, B*2708, B*2703 e B*2707. A variedade encontrada de subtipos não surpreende, pois já Armas et al., em 1999, tinham encontrado precisamente os mesmos subtipos numa amostra da população Açoriana, tendo definido a população dos Açores como a população caucasóide mais poliformica descrita até essa data. Esta conclusão viria a ser revogada três anos mais tarde por Gonzalez et al. (2002), que encontraram 6 subtipos B27 diferentes na população do norte de Espanha (B*2705, 02, 08, 03, 07 e 13).

Os subtipos B*2705, B*2702 e B*2708 foram já amplamente descritos em várias populações Euro-Caucasóides, embora o B*2708 seja encontrado com reduzida prevalência nestas populações (Khan, 1998b; Peixoto et al., 2005). Todavia os subtipos B*2703 e B*2707 não são habitualmente descritos como associados à população Euro-Caucasóide; o B*2703 é encontrado sobretudo nas populações de raça negra (Gonzalez-Roces et al., 1997), enquanto o B*2707 está presente nos judeus e em algumas populações indianas e chinesas (Khan, 1998b). Este achado na população Açoriana enquadra-se na sua história e origem, caracterizada pela variedade de grupos populacionais e étnicos (portugueses, flamengos, franceses, espanhóis, italianos, judeus, mouriscos, escravos negros, piratas, entre outros) que colonizaram e fizeram escala nas ilhas após a sua descoberta por navegadores portugueses no século XV (Carita, 2008; Matos, 2008; Meneses, 2008).

O B*2705 foi o subtipo predominante na amostra estudada, presente em 79,17% dos participantes. A restante fracção da amostra repartiu-se entre todos os outros subtipos encontrados. Deste modo, e à semelhança de outros estudos (Armas et al., 1999; Fernández-Sueiro et al., 2004; Grubić et al., 2001; Khan, 1995; Pazár et al., 2010), comprovou-se mais uma vez que o B*2705 é o subtipo mais frequente na população Euro-Caucasóide.

Verificámos que os subtipos B*2705, B*2702 e B*2708 foram encontrados tanto em doentes como controlos. A presença destes subtipos em ambos os grupos era previsível, dadas as prevalências do B*2705 e B*2702 descritas na população Euro-Caucasóide (Khan, 1998b; Peixoto et al., 2005) e a reconhecida presença do B*2708 na população Açoriana. A ocorrência destes subtipos no grupo de doentes vai de encontro

aos resultados obtidos no Capítulo I (PARTE III) deste trabalho, assim como de vários outros estudos que comprovam a sua associação à AS (Ver Capítulo I – PARTE III).

Apenas o grupo controlo apresentou indivíduos com os subtipos B*2703 e B*2707. Embora tenham sido já encontrados indivíduos B*2703 com AS, não foi comprovada a sua associação com a susceptibilidade à doença (Liu et al., 2010). O mesmo sucede com o B*2707 (Ben Radhia et al., 2008), que, aliás, demonstrou um potencial papel de protecção na AS em algumas populações como a chinesa (Zhang et al., 2011) e cipriota grega (Varnavidou-Nicolaidou et al., 2004).

A comparação da frequência dos 3 subtipos encontrados simultaneamente nos grupos de doentes e controlos revelou que o subtipo B*2705 confere susceptibilidade à AS (OR = 8,67; $p = 0,01$). Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por muitos outros estudos realizados na população caucasóide, que apontam igualmente o B*2705 como um dos principais subtipos associados à AS e que conferem susceptibilidade à doença (Ver Capítulo I – PARTE III). Relativamente aos subtipos B*2702 e B*2708, não foram encontradas diferenças de distribuição entre os dois grupos. Apesar de alguns estudos revelarem que o B*2702 confere susceptibilidade à AS nalgumas populações (Kamanli et al., 2009; Varnavidou-Nicolaidou et al., 2004), não se chegou a tal conclusão neste estudo provavelmente, por um lado, devido à pequena dimensão da amostra e, por outro, devido à baixa frequência deste subtipo na população açoriana (Armas et al., 1999).

2. Haplótipos HLA de Classes I e II e Haplótipos HLA Estendidos

2.1. Metodologia

Foram utilizados os mesmos grupos de 28 doentes e 20 controlos referidos no ponto 1.1. do Capítulo II (PARTE III). Os haplótipos HLA Classes I e II bem como os haplótipos HLA estendidos dos doentes, controlos e respectivos familiares foram igualmente genotipados por PCR SSP, utilizando kits *Olerup SSPTM low resolution*, e posteriormente obtidos os haplótipos dos indivíduos da amostra (doentes e controlos) por segregação.

Os resultados obtidos foram trabalhados utilizando métodos de estatística descritiva: frequência absoluta (n) e frequência relativa (%). O HWE foi avaliado do

mesmo modo indicado no ponto 1.1. do Capítulo II (PARTE III). Considerando separadamente os haplótipos de Classe I, Classe II e os haplótipos HLA estendidos, relacionaram-se haplótipos específicos comuns a doentes e controlos com a susceptibilidade à AS utilizando o Teste Exacto de Fisher (bicaudal), com um nível de significância de 0,05% ($p < 0,05$), assim como o OR, com um IC de 95%. Ambos os testes estatísticos foram aplicados através do software online VassarStats (<http://faculty.vassar.edu/>), que faz automaticamente a correcção de Yates.

2.2. Resultados

Verificou-se que a amostra estava em HWE ($p < 0,05$).

No total da amostra obtiveram-se 23 haplótipos HLA de Classe I diferentes, sendo apenas 4 comuns a doentes e controlos. Quanto aos haplótipos HLA de Classe II, obtiveram-se 11 haplótipos diferentes, com 6 comuns aos dois grupos. As tabelas 9 e 10 apresentam as frequências absolutas e relativas de cada um dos haplótipos encontrados das Classes I e II, respectivamente. Os haplótipos de Classe I comuns a doentes e controlos foram: A*02-B*2705-CW*01, A*24-B*2705-CW*01, A*24-B*2705-CW*02 e A*03-B*2705-CW*02. Os haplótipos de Classe II comuns aos dois grupos foram: DRB1*11-DRQ1*03, DRB1*04-DRQ1*03, DRB1*03-DRQ1*02, DRB1*01-DRQ1*05, DRB1*07-DRQ1*02 e DRB1*13-DRQ1*06.

Os valores de OR obtidos para cada um destes haplótipos mostraram ter pouco significado, tendo em conta que a aplicação do Teste Exacto de Fisher indicou que não existiam diferenças significativas de distribuição entre os dois grupos, dado que nenhum haplótipo, de ambas as classes, apresentou um valor de $p < 0,05$ (Tabela 11).

Tabela 9: Haplótipos HLA de Classe I dos grupos de doentes e controlos estudados e respectivas frequências absolutas (n) e relativas (%).

Doentes					Controlos				
A	B	CW	Frequência		A	B	CW	Frequência	
			n	%				n	%
26	2705	02	3	10,71	24	2705	02	2	10
02	2705	01	6	21,43	02	2705	06	1	5
24	2705	01	2	7,14	02	2705	01	2	10
24	2705	02	6	21,43	23	2707	15	1	5
25	2705	02	1	3,57	11	2705	01	1	5

03	2705	01	1	3,57	03	2705	02	3	15
02	2708	06	1	3,57	02	2703	02	3	15
03	2705	02	2	7,14	32	2705	15	1	5
32	2705	01	2	7,14	32	2708	06	1	5
68	2705	02	1	3,57	24	2708	06	1	5
30	2702	05	1	3,57	02	2702	02	1	5
31	2705	01	1	3,57	24	2707	15	1	5
23	2705	02	1	3,57	02	2705	02	1	5
					24	2705	01	1	5

Tabela 10: Haplótipos HLA de Classe II dos grupos de doentes e controlos estudados e respectivas frequências absolutas (n) e relativas (%).

Doentes				Controlos			
DRB1	DQB1	Frequência		DRB1	DQB1	Frequência	
		n	%			n	%
11	03	4	14,29	07	02	4	20
14	05	1	3,57	13	06	1	5
15	05	2	7,14	01	05	4	20
04	03	7	25,00	12	03	1	5
03	02	1	3,57	04	03	4	20
01	05	7	25,00	03	02	1	5
01	02	1	3,57	11	03	5	25
01	04	1	3,57				
07	02	2	7,14				
13	06	2	7,14				

Tabela 11: Resultados do OR (IC = 95%) e valores de *p* encontrados através da aplicação do Teste Exacto de Fisher ($p < 0,05$) para relacionar haplótipos específicos HLA das Classes I e II com a susceptibilidade à AS.

Haplótipos Classe I					Haplótipos Classe II			
A	B	CW	OR	<i>p</i> (Fisher)	DRB1	DQB1	OR	<i>p</i> (Fisher)
02	2705	01	2,45	0,44	11	03	0,5	0,46
24	2705	01	1,46	1	04	03	1,33	0,74
24	2705	02	2,45	0,44	03	02	0,7	1
03	2705	02	0,44	0,64	01	05	1,33	0,74
					07	02	0,31	0,38
					13	06	1,46	1

Considerando a amostra na sua totalidade, obtiveram-se 32 haplótipos HLA estendidos diferentes, encontrando-se apenas 3 em simultâneo em doentes e controlos. Os haplótipos estendidos encontrados em cada um dos grupos e as respectivas frequências absolutas e relativas são apresentados na tabela 12. Os haplótipos estendidos encontrados em ambos os grupos foram: A*24-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03, A*02-B*2705-CW*01-DRB1*01-DQB1*05 e A*03-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03. Os valores de OR obtidos para cada um destes haplótipos foram poucos significativos, uma vez que a aplicação do Teste Exacto de Fisher revelou que não existiam diferenças significativas entre os dois grupos quanto à sua distribuição, pois nenhum apresentou um valor de $p < 0,05$ (Tabela 13).

Tabela 12: Haplótipos HLA estendidos dos grupos de doentes e controlos estudados e respectivas frequências absolutas (n) e relativas (%).

Doentes							Controlos						
A	B	CW	DRB1	DQB1	Frequência		A	B	CW	DRB1	DQB1	Frequência	
					n	%						n	%
26	2705	02	11	03	3	10,71	24	2705	02	07	02	1	5,00
02	2705	01	14	05	1	3,57	02	2705	06	13	06	1	5,00
24	2705	01	15	05	2	7,14	02	2705	01	01	05	2	10,00
24	2705	02	04	03	4	14,29	23	2707	15	12	03	1	5,00
24	2705	02	03	02	1	3,57	11	2705	01	01	05	1	5,00
25	2705	02	01	05	1	3,57	03	2705	02	04	03	2	10,00
03	2705	01	01	02	1	3,57	02	2703	02	07	02	2	10,00
02	2705	01	01	05	4	14,29	32	2705	15	03	02	1	5,00
24	2705	02	01	04	1	3,57	32	2708	06	11	03	1	5,00
02	2705	01	11	03	1	3,57	03	2705	02	01	05	1	5,00
02	2708	06	07	02	1	3,57	02	2703	02	04	03	1	5,00
03	2705	02	04	03	2	7,14	24	2708	06	07	02	1	5,00
32	2705	01	07	02	1	3,57	02	2702	02	11	03	1	5,00
32	2705	01	01	05	1	3,57	24	2705	02	04	03	1	5,00
68	2705	02	13	06	1	3,57	24	2707	15	11	03	1	5,00
30	2702	05	13	06	1	3,57	02	2705	02	11	03	1	5,00
31	2705	01	01	05	1	3,57	24	2705	01	01	03	1	5,00
23	2705	02	04	03	1	3,57							

Tabela 13: Resultados do OR (IC = 95%) e valores de p encontrados através da aplicação do Teste Exacto de Fisher ($p < 0,05$) para relacionar haplótipos HLA estendidos específicos com a susceptibilidade à AS.

Haplótipos Estendidos						
A	B	CW	DRB1	DQB1	OR	p
24	2705	02	04	03	3,17	0,38
02	2705	01	01	05	1,4	1
03	2705	02	04	03	0,69	1

2.3. Discussão

Através da análise isolada dos haplótipos específicos HLA de Classe I encontrados na população em estudo, verificamos que existem 4 comuns a doentes e controlos: A*02-B*2705-CW*01, A*24-B*2705-CW*01, A*24-B*2705-CW*02 e A*03-B*2705-CW*02. Embora os haplótipos A*02-B*2705-CW*01 e A*24-B*2705-CW*02 sejam encontrados com maior frequência nos doentes comparativamente aos controlos (21,43% doentes e 10% controlos para cada um dos haplótipos; OR = 2,45 em ambos), a diferença de distribuição destes alelos entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p = 0,44$ para ambos), o que significa que não podem ser associados à susceptibilidade à AS. No caso dos haplótipos A*24-B*2705-CW*01 e A*03-B*2705-CW*02, as diferenças relativas entre os dois grupos são ainda menores (OR = 1,46 e OR = 0,44, respectivamente), motivo pelo qual também não se encontraram diferenças estatisticamente significativas ($p = 1$ e $p = 0,64$, respectivamente). Vários outros haplótipos de Classe I foram encontrados, embora não se apresentassem simultaneamente nos grupos de doentes e controlos, perfazendo um total de 23 haplótipos HLA de Classe I diferentes. Não foi testada para estes haplótipos a associação com a AS devido à sua baixa frequência e à pequena dimensão da amostra.

Pela revisão da literatura, verificamos que foram raros os estudos que conseguiram identificar haplótipos HLA de Classe I (contendo os alelos A, B e CW) com comprovada associação à AS. O único estudo encontrado que conseguiu chegar a esta conclusão foi o de Fiorillo et al. (2003), que na Sardenha, além de confirmarem a associação do B*27 com a susceptibilidade à AS, verificaram que este surge comumente integrado no haplótipo A*02-Cw*02 (A2 80,8%, B27 100% e Cw2 83%).

Curiosamente, no presente trabalho este haplótipo é encontrado apenas em 4 controlos, estando 3 associados ao subtipo B*2703, subtipo este que não revelou qualquer associação com a AS nesta amostra e é a nível global um dos subtipos menos frequentemente associados à doença (Gonzalez-Roces et al., 1997).

Outros trabalhos verificaram associações da AS apenas com alelos HLA de Classe I isolados. Os alelos HLA-A identificados foram: o A*03, identificado na Tunísia (Mahfoudh et al., 2011), e o A*09 (de Juan et al., 1999) e A*2402 (de Juan et al., 2004), identificados no País Basco. Grubić et al. (2008) verificaram que o A*02 surge mais frequentemente associado ao HLA-B27, no entanto, não observaram diferenças na sua distribuição entre os grupos de doentes e controlos. Quanto a alelos HLA-Cw, foi identificado o Cw*2 no sul da Índia (Madhavan et al., 2002). De acordo com López-Larrea (1995), os haplótipos B*2705-Cw*0102, B*2705-Cw*02022 e B*2702-Cw*02022 estão positivamente associados à AS na população mestiça do México. Para González-Roces et al. (1994), os haplótipos B*2705-Cw*0102 e B*2705-Cw 02.022 foram os mais encontrados na população espanhola HLA-B27 positiva e o haplótipo B*2702-Cw*02.022 o mais encontrado na população HLA-B27 positiva judaica, todavia, não observaram diferenças na distribuição destes haplótipos entre controlos e doentes, em ambas as populações. Boyer et al. (1997) avaliaram o papel do B*27 e dos outros alelos HLA Classe I no desenvolvimento das SpA em Esquimós do Alasca, tendo observado diferenças estatisticamente significativas entre doentes e controlos apenas para o B*27 (sobretudo na AS). Por sua vez, Madhavan et al. (2002) verificaram que na população do sul da Índia o HLA-A1 e CW6 estão negativamente associados à doença.

Considerando separadamente os haplótipos de Classe II, a análise dos resultados permite concluir que os haplótipos encontrados em comum nos grupos de doentes e controlos foram: DRB1*11-DRQ1*03, DRB1*04-DRQ1*03, DRB1*01-DRQ1*05, DRB1*07-DRQ1*02, DRB1*03-DRQ1*02 e DRB1*13-DRQ1*06. Entre estes, os 4 primeiros foram os encontrados com maior frequência nos doentes mas também nos controlos, motivo pelo qual não se obtiveram valores de OR significativos (OR = 0,5; OR = 1,33; OR = 1,33; OR = 0,31; respectivamente) e não se verificaram diferenças estatisticamente significativas da sua distribuição nos dois grupos ($p = 0,46$; $p = 0,74$; $p = 0,74$; $p = 0,40$; respectivamente). Os restantes dois haplótipos comuns aos dois grupos registaram baixas frequências, não se observando também valores de OR significativos

(OR = 0,7 e OR = 1,46, respectivamente) nem diferenças significativas de distribuição nos dois grupos ($p = 1$ em ambos os haplótipos). Foram ainda encontrados outros haplótipos de Classe II apenas no grupo de doentes ou no grupo de controlos (11 haplótipos na totalidade), no entanto, devido à sua baixa frequência e à pequena dimensão da amostra, não foi testada a sua associação com a AS.

Também no caso dos haplótipos HLA de Classe II, não foi possível encontrar nenhum estudo que tivesse obtido um haplótipo DRB1-DQB1 com comprovada associação à AS. Existem, porém, alguns trabalhos que conseguiram chegar a conclusões sobre um ou outro alelo. Brown et al. (1998) identificaram na população caucasiana britânica uma associação do BRB1*01 e do DRB1*08 (particularmente nos indivíduos DRB1*08 homocigóticos) com a AS, independentemente do B27. Já Mahfoudh et al. (2011) verificaram na Tunísia uma associação do DRB1*15 à doença. Estudos análogos revelam a existência de outros alelos de Classe II associados à AS mas dependentes da presença do B27, designadamente, os alelos DRB1*11 e DQB1*03 – por desequilíbrio de ligação – (Kchir et al., 2010) e o DRB1*16 (Fiorillo et al., 2003). Perez-Guijo et al. (2002) sugerem que o antígeno HLA-DRB1*01 pode estar envolvido no desenvolvimento esporádico de AS na população do sul de Espanha. Inversamente, Kchir et al. (2010) verificaram uma associação negativa do alelo DRB1*13 com a AS na população da Tunísia.

Podem encontrar-se ainda outros estudos realizados com o objectivo de estabelecer associações entre alelos HLA das Classes I e II e determinadas características fenotípicas da AS. Entre estes estão os estudos de Aaron et al. (1985), que encontraram uma associação entre a artrite periférica e os alelos HLA-A*11 e HLA-DRB1*07, e de Armstrong et al. (1983), que verificaram a mesma associação para os alelos B27 e DRB1*07 na população caucasiana inglesa. Embora não tenham obtido diferenças estatisticamente significativas, Maksymowych et al. (1997) sugerem que o alelo DRB1*08 pode influenciar o fenótipo das SpA em mexicanos mestiços.

Como seria de esperar, tendo em conta que não foi possível encontrar associações entre a AS e haplótipos HLA das Classe I e II separadamente, também não se encontraram associações entre a AS e os haplótipos estendidos estudados. Os valores de OR obtidos foram pouco significativos, tendo em conta que não se encontraram diferenças significativas na distribuição dos haplótipos encontrados simultaneamente nos grupos de doentes e controlos: A*24-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03 (OR =

3,17; $p = 0,38$), A*02-B*2705-CW*01-DRB1*01-DQB1*05 (OR = 1,4; $p = 1$) e A*03-B*2705-CW*02-DRB1*04-DQB1*03 (OR = 0,69; $p = 1$). Foram encontrados vários outros haplótipos apenas em doentes ou controlos, perfazendo um total de 32 haplótipos HLA estendidos diferentes. Mas, mais uma vez devido à pequena dimensão da amostra, não foi estudada a associação destes haplótipos com a AS.

Não foi igualmente possível encontrar muitos trabalhos que tivessem investigado a associação de haplótipos HLA estendidos específicos com a AS. Encontrou-se apenas um estudo de La Nasa et al. (1993), que detectaram um aumento significativo do haplótipo A*02-B*27-Cw*02-DRB1*02-DQB1*01 nos doentes com AS na Sardenha. Os autores defendem que este achado se deve apenas parcialmente a um desequilíbrio de ligação destes alelos com o alelo B27 na população da Sardenha, existindo uma associação primária dos alelos Cw*2 e DRB1*2 com a AS.

De notar a diversidade identificada de haplótipos HLA com presença do B27 numa população tão pequena como a Açoriana – cerca de 245.000 habitantes (Serviço Regional de Estatística dos Açores, 2010). Considerando que não houve tempo suficiente para que ocorresse recombinação genética desde a colonização dos Açores, a variedade de haplótipos encontrada parece insinuar a existência de uma selecção dos haplótipos B27 positivos. Pouco se sabe sobre as eventuais vantagens conferidas pelo B27, porém, existem evidências de que este alelo está associado a uma evolução favorável em algumas patologias de etiologia viral, nomeadamente na infecção pelo vírus *influenza*, vírus *herpes simplex 2*, vírus *Epstein-Barr*, HIV e vírus da hepatite C (HCV); constituindo estes dois últimos um verdadeiro flagelo mundial (den Uyl et al., 2004; López de Castro, 2005; Mathieu et al., 2009). Estudos indicam que os indivíduos B27 positivos infectados pelo HIV apresentam uma baixa carga viral, as células CD4⁺T baixam mais lentamente e a Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA) progride de um modo mais lento (Neumann-Haefelin, 2011). No caso de infecção aguda pelo HCV, o B27 parece promover uma *clearance* viral espontânea mediada pelas células CD4⁺T (Mathieu et al., 2009).

PARTE IV – CONCLUSÕES

1. Caracterização Fenotípica de Doentes Açoreanos com AS

a) A AS afectou preferencialmente doentes do sexo masculino, na proporção de um do sexo feminino para 3 do sexo masculino (1 / 2,71);

b) A idade média de manifestação dos primeiros sintomas foi de 27 anos e a idade média de diagnóstico de 40 anos, logo, com uma duração média de 13 anos entre a ocorrência dos primeiros sintomas e o diagnóstico;

c) As manifestações clínicas mais relevantes foram: 100% dos doentes tinham IBP, 71,88% apresentavam sacroileíte bilateral e 78,13% eram afectados por pelo menos uma manifestação extra-axial com predomínio da artrite periférica (37,5%), uveíte (32,81%) e entesopatia periférica (26,56%), seguidas da psoríase (14,06%), IBD (12,5%) e doença cardíaca (12,5%);

d) Identificou-se o alelo HLA-B27 em 82,54% dos doentes, sendo a maioria do subtipo B*2705 (88,46%) e os restantes dos subtipos B*2708 (5,77%) e B*2702 (5,77%);

e) Identificaram-se 28,13% doentes com história familiar de SpA, entre os quais 21,88% tinham história familiar de AS;

f) Todos os doentes da amostra (100%) utilizavam terapêutica farmacológica. O grupo terapêutico mais utilizado foi o dos NSAIDS (98,44%), seguido dos biológicos (40,63%), da Salazopirina (25%) e do MTX (18,75%).

Os resultados obtidos foram sobreponíveis aos de outros estudos semelhantes e evidenciaram igualmente a complexidade da AS e a incapacidade causada por esta doença. Estes resultados apontam mais uma vez para a importante necessidade de criar critérios clínicos mais eficazes no diagnóstico da AS, de modo a, reduzir o tempo decorrido entre a manifestação dos primeiros sintomas e o diagnóstico, fundamental no retardamento das incapacidades causadas.

2. Caracterização Genotípica de Doentes Açoreanos com AS – Subtipos HLA-B27, Haplótipos das Classes I e II e Haplótipos Estendidos

a) Identificaram-se na amostra os subtipos: B*2705, B*2708, B*2702, B*2703 e B*2707; com predomínio do subtipo B*2705 (79,17%);

b) Verificou-se uma associação do subtipo B*2705 com a susceptibilidade à AS (OR = 8,67; $p = 0,01$);

c) Observou-se na amostra uma grande variedade de haplótipos – 32 haplótipos HLA estendidos diferentes;

d) Não foi possível estabelecer associações entre haplótipos específicos HLA de Classe I, Classe II ou estendidos com a susceptibilidade à AS.

A variedade de subtipos encontrada está de acordo com estudos anteriores realizados na população Açoriana, que denunciam a história e origem desta população. Comprovou-se, à semelhança de outros estudos, que o B*2705 é o subtipo predominante na população caucasiana e que está associado à susceptibilidade à AS.

A grande diversidade de haplótipos associados ao alelo B27 encontrada numa população tão pequena como a Açoriana parece sugerir um eventual papel de selecção deste alelo.

Não foram encontradas associações entre haplótipos HLA específicos e a susceptibilidade à AS. Contudo, não é possível com este estudo descartar a hipótese de existirem tais associações, tendo em conta a pequena dimensão da amostra utilizada. Deste modo, sugere-se a realização de um estudo futuro que utilize uma amostra de maior dimensão e com uma maior proporção de controlos (cerca de 4 controlos para cada doente), de modo a obter resultados mais consistentes e a poder estudar os haplótipos encontrados apenas no grupo de doentes ou controlos.

BIBLIOGRAFIA

Aaron S, Miller ML, Howard J, Fraser PA, Jackson JM, Larson MG, Glass DN. Complementation with HLA-A and HLA-D locus alleles in ankylosing spondylitis with peripheral arthritis. *J Rheumatol*. 1985; 12(3): 553-7.

Akkoc N. Are spondyloarthropathies as common as rheumatoid arthritis worldwide? A review. *Curr Rheumatol Rep* 2008; 10(5): 371-8.

Alaez C, Gazit E, Ibarrola B, Yaron M, Livneh A, Avishai O, Gorodezky C. Distribution of HLA-B27 subtypes in ankylosing spondylitis in an Israeli population. *Arch Med Res* 2007; 38(4): 452-5.

Amor B, Dougados M, Mijiyawa M. Criteria of the classification of spondylarthropathies. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1990; 57(2): 85-9.

Amor B, Dougados M, Listrat V, Menkes CJ, Roux H, Benhamou C, et al. Are classification criteria for spondylarthropathy useful as diagnostic criteria? *Rev Rhum Engl Ed*. 1995; 62(1): 10-5.

Antoniou AN, Ford S, Taurog JD, Butcher GW, Powis SJ. Formation of HLA-B27 homodimers and their relationship to assembly kinetics. *J Biol Chem* 2004; 279: 8895-902.

Appel H, Janssen L, Listing J, Heydrich R, Rudwaleit M, Sieper J: Serum levels of biomarkers of bone and cartilage destruction and new bone formation in different cohorts of patients with axial spondyloarthritis with and without tumor necrosis factor-alpha blocker treatment. *Arthritis Res Ther* 2008; 10(5): R125.

Appel H, Kuhne M, Spiekermann S, Kohler D, Zacher J, Stein H, et al. Immunohistochemical analysis of hip arthritis in ankylosing spondylitis: evaluation of the bonecartilage interface and subchondral bone marrow. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1805-1813

Appel H, Sieper J. Spondyloarthritis at the crossroads of imaging, pathology, and structural damage in the era of biologics. *Curr Rheumatol Rep* 2008; 10(5): 356-63.

Armas JB, Gonzalez S, Martinez-Borra J, Laranjeira F, Ribeiro E, Correia J, et al. Susceptibility to ankylosing spondylitis is independent of the Bw4 and Bw6 epitopes of HLA-B27 alleles. *Tissue Antigens* 1999; 53(3): 237-43.

Armstrong RD, Panayi GS, Welsh KI. Histocompatibility antigens in psoriasis, psoriatic arthropathy, and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 1983; 42(2): 142-6.

Baek HJ, Shin KC, Lee YJ, Kang SW, Lee EB, Yoo CD, Song YW. Clinical features of adult-onset ankylosing spondylitis in Korean patients: patients with peripheral joint disease (PJD) have less severe spinal disease course than those without PJD. *Rheumatology (Oxford)*. 2004; 43(12): 1526-31.

Ball EJ, Khan MA. HLA-B27 polymorphism. *Joint Bone Spine* 2001; 68(5): 378-82.

Benjamin M, McGonagle D. The anatomical basis for disease localization in seronegative spondyloarthropathy at spondylitic and related sites *J Anat* 2001; 199(Pt 5): 503–26.

Benjamim R, Parham P. Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today* 1990; 11(4): 137-42.

Ben Radhia K, Ayed-Jendoubi S, Sfar I, Ben Romdhane T, Makhlof M, Gorgi Y, Ayed K. Distribution of HLA-B*27 subtypes in Tunisians and their association with ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine* 2008; 75(2): 172-5.

Bergfeldt L. HLA-B27-Associated Cardiac Disease. *Ann Intern Med* 1997; 127: 621-29

Birinci A, Bilgici A, Kuru O, Durupinar B. HLA-B27 polymorphism in Turkish patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2006; 26(4): 285-7.

Blum U, Buitrago-Tellez C, Mundinger A, Krause T, Laubenberger J, Vaith P, et al. Magnetic resonance imaging (MRI) for detection of active sacroiliitis—a prospective

study comparing conventional radiography, scintigraphy, and contrast enhanced MRI. *J Rheumatol* 1996; 23(12): 2107–15.

Bodur H, Ataman S, Buğdaycı DS, Rezvani A, Nas K, Uzunca K, et al. Description of the registry of patients with ankylosing spondylitis in Turkey: TRASD-IP. *Rheumatol Int* 2010; 14 [Epub ahead of print].

Bowness P, Zaccai N, Bird L, Jones LY. HLA-B27 and disease pathogenesis: new structural and functional insights. *Expert Rev Mol Med* 1999; 26: 1-10.

Boyer GS, Templin DW, Bowler A, Lawrence RC, Heyse SP, Everett DF. Class I HLA antigens in spondyloarthropathy: observations in Alaskan Eskimo patients and controls. *J Rheumatol*. 1997; 24(3): 500-6.

Boyer GS, Templin DW, Cornoni-Huntley JC, Everett DF, Lawrence RC, Heyse SF, et al. Prevalence of spondyloarthropathies in Alaskan Eskimos. *J Rheumatol* 1994; 21: 2292–7.

Braun J, Bollow M, Remlinger G, Eggens U, Rudwaleit U, D Aistler, Sieper J. Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors. *Arthritis Rheum* 1998; 41(1): 58-67.

Braun J, Baraliakos X. Treatment of ankylosing spondylitis and other spondyloarthritides. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21(4): 324-34

Braunstein EM, Martel W, Moidel R. Ankylosing spondylitis in men and women: a clinical and radiographic comparison. *Radiology* 1982; 144(1): 91–4.

Bremander A, Petersson IF, Bergman S, Englund M. Population-based estimates of common comorbidities and cardiovascular disease in ankylosing spondylitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010; 30 [Epub ahead of print].

Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DC, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973; 1(7809): 904-7.

Bron JL, Vries MK, Sniders MN, van der Horst-Bruinsma IE, van Royen BJ. Discovertebral (Andersson) lesions of the spine in ankylosing spondylitis revisited. *Clin Rheumatol* 2009; 28: 883–892

Brophy S, Calin A. Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression. *J Rheumatol* 2001; 28: 2283–8.

Brown MA, Edwards S, Hoyle E, Campbell S, Laval S, Daly AK, et al. Polymorphisms of the CYP2D6 gene increase susceptibility to ankylosing spondylitis. *Human Molecular Genetics* 2000; 9(11): 1563-66.

Brown MA, Kennedy LG, Darke C, Gibson K, Pile KD, Shatford JL, et al. The effect of HLA-DR genes on susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1998; 41(3): 460-5.

Brown MA, Kennedy LG, MacGregor AJ, Dai-ke C, Duncan E, Shatford, et al. Susceptibility to ankylosing spondylitis in twins: the role of genes, HLA, and the environment. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1823-8.

Brown MA, Pile KD, Kennedy LG, Calin A, Darke C, Bell J, et al. HLA class I associations of ankylosing spondylitis in the white population in the United Kingdom. *Ann Rheum Dis* 1996; 55(4): 268-70.

Brown MA, Pile KD, Kennedy LG, Campbell D, Andrew L, March R, et al. A genome-wide screen for susceptibility loci in Ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1998; 41(4): 588-95.

Bruges-Armas J. Espondiloartrites e Doenças Associadas – Heterogeneidade genética e sua expressão [Dissertação]. Porto: Universidade do Porto 2001.

Bruges-Armas J, Lima C, Peixoto MJ, Santos P, Mendonça C, Martins da Silva B, et al. Prevalence of spondyloarthritis in Terceira, Azores: a population based study. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 551-3.

Bunchuk NV, Rumiantseva OA, Loginova EI, Bochkova AG, Storozhakov GI, Ettinger OA et al. The efficacy and safety of infliximab in patients with ankylosing spondylitis: results of an open-labeled multicenter study. *Ter Arkh* 2010; 82(10): 41-6.

Bywaters EGL: Historical introduction. In Moll JMH. *Ankylosing Spondylitis*, New York, Churchill Livingstone 1980; p. 1-12.

Calin A, Brophy S, Blake D. Impact of sex on inheritance of ankylosing spondylitis: a cohort study. *Lancet* 1999; 354(9135): 1687-90.

Calin A: Terminology introduction, diagnostic criteria, and overview. In Calin A, Taurog JD. *The Spondylarthritides*, Oxford University Press 1998b; p. 17-26.

Calin A, Nakache JP, Gueguen A, Zeidler H, Mielants H, Dougados M. Defining disease activity in ankylosing spondylitis: is a combination of variables (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index) an appropriate instrument? *Rheumatology (Oxford)* 1999; 38(9): 878-82.

Carita R: O descobrimento dos Açores. In Matos AT, Meneses AF, Leite JGR. *História dos Açores – Do descobrimento ao século XX (Volume I)*, Instituto Açoreano de Cultura, 2008; p. 49-61.

Carter KW, Pluzhnikov A, Timms AE, Miceli-Richard C, Bourgain C, et al. Combined analysis of three whole genome linkage scans for ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 763-71.

Cauli A, Vacca A, Mameli A, Passiu G, Fiorillo MT, Sorrentino R, et al. A Sardinian patient with ankylosing spondylitis and HLA-B*2709 co-occurring with HLA-B*1403. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2807-9.

Chang SC, Momburg F, Bhutani N, Goldberg AL. The ER aminopeptidase, ERAP1, trims precursors to lengths of MHC class I peptides by a “molecular ruler” mechanism. *Proc. Natl. Acad* 2005; 102(47): 17107-12.

Chatzikyriakidou A, Voulgari PV, Drosos AA. What is the role of HLA-B27 in spondyloarthropathies? *Autoimmun Rev* 2011; [Epub ahead of print].

Ciccia F, Bombardieri M, Principato A, Giardina AR, Tripodo C, Porcasi R et al. Overexpression of Interleukin-23, but Not Interleukin-17, as an Immunologic Signature of Subclinical Intestinal Inflammation in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis Rheum* 2009; 60(4): 955-65.

Cipriani A, Rivera S, Hassanhi M, Márquez G, Hernández R, Villalobos C, Montiel M. HLA-B27 subtypes determination in patients with ankylosing spondylitis from Zulia, Venezuela. *Hum Immunol* 2003; 64(7): 745-9.

Colbert RA. HLA-B27 misfolding: a solution to the spondyloarthropathy conundrum? *Mol Med Today* 2000; 6(6): 224-30.

Dagfinrud H, Kjekken I, Mowinckel P, Hagen KB, Kvien TK. Impact of functional impairment in ankylosing spondylitis: impairment, activity limitation and participation restrictions. *J Rheumatol* 2005; 32(3): 516-23.

Dejaco C, Duftner C, Schirmer M. Imaging techniques for early diagnosis of ankylosing spondylitis. *Wien Med Wochenschr* 2008; 158(7-8): 191-4.

de Juan MD, Reta A, Belzunegui J, Figueroa M, Maruri N, Cuadrado E. HLA-A*2402 and a microsatellite (D6S248) are secondary independent susceptibility markers to ankylosing spondylitis in Basque patients. *Hum Immunol* 2004; 65(2): 175-80.

de Juan MD, Reta A, Cancio J, Belzunegui J, Cuadrado E. HLA-A*9, a probable secondary susceptibility marker to ankylosing spondylitis in Basque patients. *Tissue Antigens* 1999; 53(2): 161-6.

den Uyl D, van der Horst-Bruinsma IE, van Agtmael M. Progression of HIV to AIDS: a protective role for HLA-B27? *AIDS Rev* 2004; 6(2): 89-96.

Diaz-Peña R, Blanco-Gelaz MA, Njobvu P, Lopez-Vazquez A, Suarez-Alvarez B, Lopez-Larrea C. Influence of HLA-B*5703 and HLA-B*1403 on the susceptibility to spondyloarthropathies in the Zambian population. *J Rheumatol* 2008a; 35(11): 2236-40.

Diaz-Peña R, Blanco-Gelaz MA, Suárez-Álvarez B, Martínez-Borra J, López-Vásquez A, Alonso-Arias R et al. Activating KIR genes are associated with ankylosing spondylitis in Asian populations. *Hum Immunology* 2008b; 69: 437-42.

Dincer U, Cakar E, Kiralp MZ, Dursun H. Diagnosis delay in patients with ankylosing spondylitis: possible reasons and proposals for new diagnostic criteria. *Clin Rheumatol* 2008; 27(4): 457-62.

Dougados M, Dijkmans B, Khan M, Maksymowych W, van der Linden S, Brandt J. Conventional treatments for ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(suppl 3): iii40-50.

Dougados M, van der Linden S, Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A, et al. The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 1991; 34(10): 1218-27.

Fang M, Chen R, Cai Q, Duan S, Lv K, Cheng N, Sun S. Association of HLA genes with ankylosing spondylitis in Han population of eastern China. *Scand J Immunol* 2007; 65(6): 559-66.

Feldtkeller E, Khan MA, van der Heijde D, van der Linden S, Braun J. Age at disease onset and diagnosis delay in HLA-B27 negative vs. positive patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2003; 23(2): 61-6.

Feltkamp TE. Non HLA-B27 genetic factors in HLA-B27 associated diseases. *Clin Rheumatol* 1996; 15(Suppl. 1): 40-43.

Fernández-Sueiro JL, Alonso C, Blanco FJ, Rodríguez-Gómez M, Galdo F, González-Gay MA. Prevalence of HLA-B27 and subtypes of HLA-B27 associated with ankylosing spondylitis in Galicia, Spain. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22(4): 465-8.

Ferraz MB, Tugwell P, Goldsmith CH, Atra E. Metaanalysis of sulfasalazine in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 1990; 17: 1482-6.

Fiorillo MT, Cauli A, Carcassi C, Bitti PP, Vacca A, Passiu G et al. Two distinctive HLA haplotypes harbor the B27 alleles negatively or positively associated with ankylosing spondylitis in Sardinia: implications for disease pathogenesis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(5): 1385-9.

Fussell H, Nesbeth D, Lenart I, Campbell EC, Lynch S, Santos S. Novel detection of in vivo HLA-B27 conformations correlates with ankylosing spondylitis association. *Arthritis Rheum* 2008; 58(11): 3419-24.

Gabriel SE, Michaud K. Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* 2009; 11: 2229.

Gao XM, Wordsworth P, McMichael AJ, Kyaw MM, Seifert M, Rees D, Dougan G. Homocysteine modification of HLA antigens and its immunological consequences. *Eur J Immunol* 1996; 26(7): 1443-50.

Geirsson AJ, Eyjolfsdottir H, Bjornsdottir G, Kristjansson K, Gudbjornsson B. Prevalence and clinical characteristics of ankylosing spondylitis in Iceland - a nationwide study. *Clin Exp Rheumatol* 2010; 28(3): 333-40.

Gofton JP. Epidemiology, tissue type antigen and Bechterew's syndrome (ankylosing spondylitis) in various ethnical populations. *Scand J Rheum* 1980; 9: 166-168.

Gomez KS, Raza K, Jones SD, Kennedy LG, Calin A. Juvenile onset ankylosing spondylitis: more girls than we thought? *J Rheumatol* 1997; 24(4): 735-7.

Gonzalez-Roces S, Alvarez MV, Gonzalez S, Dieye A, Makni H, Woodfield DG et al. HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1997; 49(2): 116-23.

González-Roces S, Brautbar C, Peña M, Dominguez O, Coto E, Alvarez V et al. Molecular analysis of HLA-B27 haplotypes in Caucasoids. Frequencies of B27-Cw in Jewish and Spanish populations. *Hum Immunol* 1994; 41(2): 127-34.

Gonzalez S, Garcia-Fernandez S, Martinez-Borra J, Blanco-Gelaz MA, Rodrigo L, Sanchez del Río J et al. High variability of HLA-B27 alleles in ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies in the population of northern Spain. *Hum Immunol* 2002; 63(8): 673-6.

Gran JT, Husby G, Hordvik M. Prevalence of ankylosing spondylitis in males and females in a young middle-aged population of Tromsø, northern Norway. *Ann Rheum Dis* 1985; 44(6): 359-67.

Grasland A, Vincenox P. Psoriasis. Rheumatologic manifestations. *Presse Med* 1999; 28(23): 1251-8.

Grubić Z, Kerhin-Brkljacić V, Perić P, Cecuk E, Kastelan A. Variation in HLA-B27 gene subtypes and susceptibility of ankylosing spondylitis in the Croatian population. *Reumatizam* 2001; 48(1): 7-11.

Grubić Z, Zunec R, Stingl K, Svilicić D, Kerhin-Brkljacić V. Haplotypic associations of the two most common HLA-B*27 alleles in the Croatian population. *Reumatizam* 2008; 55(1): 5-9.

Gu J, Huang J, Li C, Zhao L, Huang F, Liao Z, et al. Association of chromosome 2q36.1-36.3 and autosomal dominant transmission in ankylosing spondylitis: results of genetic studies across generations of Han Chinese families. *J Med Genet* 2009; 46: 657-62.

Haibel H, Sieper J. Use of methotrexate in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol* 2010; 28:128-31.

Harvey D, Pointon JJ, Evans DM, Karaderi T, Farrar C, Appleton LH, et al. Investigating the genetic association between ERAP1 and ankylosing spondylitis. *Human Molecular Genetics* 2009; 18(21): 4204–12.

Hoyle E, Laval SH, Calin A, Wordsworth BP, Brown MA. The X-chromosome and susceptibility to ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1353–5.

<http://faculty.vassar.edu/>

Huang F, Zhang J, Huang JL, Wu DH, Li ZG, Chen SL et al. A multicenter, double-blind, placebo-controlled, randomized, phase III clinical study of etanercept in treatment of ankylosing spondylitis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2010; 49(9): 741-5.

Ibn Yacoub Y, Amine B, Laatiris A, Bensabbah R, Hajjaj-Hassouni N. Relationship between diagnosis delay and disease features in Moroccan patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2010; 26. [Epub ahead of print]

Irons K, Jeffries C. The Bath Indices – Outcome Measures for use with Ankylosing Spondylitis Patients. *NASS* 2004; p. 2-9.

Jaakkola E, Herzberg I, Laiho K, Barnardo MC, Pointon JJ, Kauppi M et al. Finnish HLA studies confirm the increased risk conferred by HLA-B27 homozygosity in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(6): 775-80.

Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SL, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol* 1994; 21(9): 1694-8.

Jimenez-Balderas FJ, Mintz G. Ankylosing spondylitis: clinical course in women and men. *J Rheumatol* 1993; 20(12): 2069–72.

Kabasakal Y, Kitapcioglu G, Yargucu F, Taylan A, Argin M, Gumusdis G. Efficacy of SLZ and MTX (alone or combination) on the treatment of active sacroiliitis in early AS. *Rheumatol Int* 2009; 29(12): 1523-7.

Kaipianinen-Seppanen O, Aho K, Heliovaara M. Incidence and prevalence of ankylosing spondylitis in Finland. *J Rheumatol* 1997; 24(3): 496–9.

Kamanli A, Ardicoglu O, Godekmerdan A. HLA-b27 subtypes in patients with spondylarthropathies, IgE levels against some allergens and their relationship to the disease parameters. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110(8): 480-5.

Karaderi T, Harvey D, Farrar C, Appleton LH, Stone MA, Sturrock RD et al. Association between the interleukin 23 receptor and ankylosing spondylitis is confirmed by a new UK case-control study and meta-analysis of published series. *Rheumatology* 2009; 48(4): 386-9.

Kataria RK, Brent RH. Spondyloarthropathies. *Am Fam Physician* 2004; 69(12): 2853-60.

Kennedy LG: Disease and outcome indices/instruments for the spondylarthropathies. In Calin A, Taurog JD. *The Spondylarthritides*. Oxford University Press 1998; p. 239-250.

Kennedy LG, Will R, Calin A. Sex ratio in the spondyloarthropathies and its relationship to phenotypic expression, mode of inheritance and age at onset. *J Rheumatol* 1993; 20(11): 1900-4.

Kchir MM, Hamdi W, Laadhar L, Kochbati S, Kaffel D, Saadellaoui K et al. HLA-B, DR and DQ antigens polymorphism in Tunisian patients with ankylosing spondylitis (a case-control study). *Rheumatol Int* 2010; 30(7): 933-9.

Khan MA: Ankylosing spondylitis: clinical aspects. In Calin A, Taurog JD. *The Spondylarthritides*, Oxford University Press, 1998a; p. 27-40.

Khan MA. Ankylosing spondylitis. *OARL* 2009; p. 3, 11-14, 30, 46, 51, 120.

Khan MA: A worldwide overview: the epidemiology of HLA-B27 and associated spondyloarthritides. In Calin A, Taurog JD. *The Spondylarthritides*, Oxford University Press, 1998b; p. 17-26.

Khan MA. Epidemiology of HLA-B27 and Arthritis. *Clin Rheumatol* 1996; 15 Suppl 1: 10-2.

Khan MA: HLA-B27 and its subtypes in world populations. *Curr Opin Rheumatol* 1995; 7(4): 263-9.

Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343(10): 702-9.

Lamas JR, Paradela A, Roncal F, López de Castro JA. Modulation at multiple anchor positions of the peptide specificity of HLA-B27 subtypes differentially associated with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1999; 42(9): 1975-85.

La Nasa G, Mathieu A, Mulargia M, Carcassi C, Vacca A, Ledda A, Contu L. Association of the HLA-A2, CW2, B27, S31, DR2 haplotype with ankylosing spondylitis. A possible role of non-B27 factors in the disease. *Dis Markers* 1993; 11(4): 191-203.

Laval SH, Timms A, Edwards S, Bradbury L, Brophy S, Milicic A, et al. Whole-genome screening in ankylosing spondylitis: evidence of non-MHC genetic susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2001, 68: 918-26.

Lee SH, Choi IA, Lee YA, Park EK, Kim YH, Kim KS et al. Human leukocyte antigen-B*2705 is the predominant subtype in the Korean population with ankylosing spondylitis, unlike in other Asians. *Rheumatol Int* 2008; 29(1): 43-6.

Liu X, Hu LH, Li YR, Chen FH, Ning Y, Yao QF. The association of HLA-B*27 subtypes with ankylosing spondylitis in Wuhan population of China. *Rheumatol Int* 2010; 30(5): 587-90.

López de Castro JA. HLA-B27: portraying immunodominant viral epitopes. *Eur J Immunol* 2005; 35(2): 336-40.

Lopez-Larrea C, Blanco-Gelaz MA, Torre-Alonso JC, Armas JB, Suarez-Alvarez B, Pruneda L et al. Contribution of KIR3DL1/3DS1 to ankylosing spondylitis in human leukocyte antigen-B27 Caucasian populations. *Arthritis Res Ther* 2006; 8(4): R101.

López-Larrea C, Gonzalez-Roces S, Peña M, Dominguez O, Coto E, Alvarez V et al. Characterization of B27 haplotypes by oligotyping and genomic sequencing in the Mexican Mestizo population with ankylosing spondylitis: juvenile and adult onset. *Hum Immunol* 1995; 43(3): 174-80.

Lopez-Larrea C, Mijiyawa M, Gonzalez S, Fernandez-Morera JL, Blanco-Gelaz MA, Martinez-Borra J, et al. Association of ankylosing spondylitis with HLA-B*1403 in a West African population. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2968–71.

Lopez-Larrea C, Njobvu PD, Gonzalez S, Blanco-Gelaz MA, Martinez-Borra J, Lopez-Vazquez A. The HLA-B*5703 allele confers susceptibility to the development of spondylarthropathies in Zambian human immunodeficiency virus-infected patients with slow progression to acquired immunodeficiency syndrome. *Arthritis Rheum* 2005; 52(1): 275-9.

MacKay K, Mack C, Brophy S, Calin A. The Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI): a new, validated approach to disease assessment. *Arthritis Rheum* 1998; 41(12): 2263-70.

MacLean L, Macey M, Lowdell M, Badakere S, Whelan M, Perrett D, Archer J. Sulphydryl reactivity of the HLA-B27 epitope: accessibility of the free cysteine studied by flow cytometry. *Ann Rheum Dis* 1992; 51(4): 456-60.

Madhavan R, Parthiban M, Rajendran CP, Chandrasekaran AN, Zake L, Sanjeevi CB. HLA class I and class II association with ankylosing spondylitis in a southern Indian population. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 958: 403-7.

Mahfoudh N, Siala M, Rihl M, Kammoun A, Frikha F, Fourati H et al. Association and frequency of HLA-A, B and HLA-DR genes in south Tunisian patients with spondyloarthritis (SpA). *Clin Rheumatol* 2011. [Epub ahead of print]

Maksymowych WP, Gorodezky C, Olivo A, Alaez C, Wong C, Burgos-Vargas R et al. HLA-DRB1*08 influences the development of disease in Mexican Mestizo with spondyloarthropathy. *J Rheumatol* 1997; 24(5): 904-7.

Maksymowych WP. What do biomarkers tell us about the pathogenesis of ankylosing spondylitis? *Arthritis Res Ther* 2009, 11: 101.

Maksymowych WP. Update on the treatment of ankylosing spondylitis. *Ther Clin Risk Manag* 2007; 3(6): 1125-33.

Martínez-Borrea J, Segundo González, López-Larrea C. Genetic factors predisposing to spondylarthropathies – review. *Arthritis Rheum* 2000, 46(3): 485-92.

Mathieu A, Paladini F, Vacca A, Cauli A, Fiorillo MT, Sorrentino R. The interplay between the geographic distribution of HLA-B27 alleles and their role in infectious and autoimmune diseases: a unifying hypothesis. *Autoimmun Rev* 2009; 8(5): 420-5.

Matos AT: Escala atlântica de referência. Entre a atalaia do oceano e a opressão dos naturais. In Matos AT, Meneses AF, Leite JGR. *História dos Açores – Do descobrimento ao século XX (Volume I)*, Instituto Açoreano de Cultura, 2008; p. 199-233.

Mau W, Listing J, Huscher D, Zeidler H, Zink A. Employment across chronic inflammatory rheumatic diseases and comparison with the general population. *J Rheumatol* 2005; 32(4): 721-28.

Meneses AF: O Povoamento. In Matos AT, Meneses AF, Leite JGR. *História dos Açores – Do descobrimento ao século XX (Volume I)*, Instituto Açoreano de Cultura, 2008; p. 63-109.

Mielants H, van der Tempel H, Poole AR, Wang N, van der Heijde D. Serum matrix metalloproteinase 3 is an independent predictor of structural damage progression in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2007, 56(6): 1846-53.

Mielants H, Veys EM, Joos R, Noens L, Cuvelier C, De Vos M. HLA antigens in seronegative spondylarthropathies. Reactive arthritis and arthritis in ankylosing spondylitis: relation to gut inflammation. *J Rheumatol* 1987; 14: 466–71.

Neumann-Haefelin C. Protective role of HLA-B27 in HIV and hepatitis C virus infection. *Dtsch Med Wochenschr* 2011; 136(7): 320-4.

Nicknam MH, Mahmoudi M, Amirzargar AA, Ganjalikhani Hakemi M, Khosravi F, Jamshidi AR et al. Determination of HLA-B27 subtypes in Iranian patients with ankylosing spondylitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2008; 7(1): 19-24.

O'Neill TW, Harrison BJ, Yin JAL, Holt PJL. Ankylosing Spondylitis Associated with IgA Lambda Chain Myeloma. *British Journal of Rheumatology* 1997; 36(3): 401-2.

Ozgul A, Peker F, Taskaynatan MA, Tan AK, Dinçer K, Kalyon TA. Effect of ankylosing spondylitis on health-related quality of life and different aspects of social life in young patients. *Clin Rheumatol* 2006; 25(2): 168-74.

Park KS, Kang SY, Lee WI. HLA-B27 subtypes in Korean patients with ankylosing spondylitis. *Korean J Lab Med* 2008; 28(1): 46-52.

Pazár B, Sáfrány E, Gergely P, Szántó S, Szekanecz Z, Poór G. Association of ARTS1 gene polymorphisms with ankylosing spondylitis in the Hungarian population: the rs27044 variant is associated with HLA-B*2705 subtype in Hungarian patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2010; 37(2): 379-84.

Perez-Guijo V, Muñoz E, Escudero A, Veroz R, Sánchez M, Muñoz-Villanueva MC et al. Distribution of HLA-DRB1 genes in patients with sporadic ankylosing spondylitis in the south of Spain. *Joint Bone Spine* 2002; 69(5): 458-62.

Rahman P, Inman RD, Gladman DD, Reeve JP, Peddle L, Maksymowych WP. Association of interleukin-23 receptor variants with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2008; 58(4): 1020-5.

Ramos M, Paradela A, Vazquez M, Marina A, Vazquez J, Lopez de Castro JA. Differential association of HLA-B*2705 and B*2709 to ankylosing spondylitis correlates with limited peptide subsets but not with altered cell surface stability. *J Biol Chem* 2002; 277(32): 28749-56.

Richens J, McGill PE. The spondyloarthropathies. *Baillieres Clin Rheumatol* 1995; 9(1): 95-109.

Robinson WP, van der Linden SM, Khan MA, Rentsch HU, Cats A, Russell A, Thomson G. HLA-Bw60 increases susceptibility to ankylosing spondylitis in HLA-B27+ patients. *Arthritis Rheum* 1989; 32(9): 1135-41.

Rocha F G. Manual da Espondilite Anquilosante – Cadernos SNR n.º17, Lisboa, Secretariado Nacional para a Reabilitação e Integração das Pessoas com Deficiência, 2002; p. 103.

Rogers FJ: Ankylosing spondylitis – the patient’s point of view. In Calin A, Taurog JD. *The Spondylarthritides*, Oxford University Press, 1998; p. 251-268.

Roussou E, Sultana S. Early spondyloarthritis in multiracial society: differences between gender, race, and disease subgroups with regard to first symptom at presentation, main problem that the disease is causing to patients, and employment status. *Rheumatol Int* 2011; 17 [Epub ahead of print].

Salaffi F, Carotti M, Gasparini S, Intorcchia M, Grassi W. The health-related quality of life in rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, and psoriatic arthritis: a comparison with a selected sample of healthy people. *Health and Quality of Life Outcomes* 2009; 7: 25.

Sampaio-Barros PD, Costallat LT, Bertolo MB, Neto JF, Samara AM. Methotrexate in the treatment of ankylosing spondylitis. *Scand J Rheumatol* 2000; 29: 160-2.

Satko SG, Iskandar SS, Appel RG. IgA nephropathy and Reiter's syndrome. Report of two cases and review of the literature. *Nephron*. 2000; 84(2): 177-82.

Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, Pearson CM. High association of an HL-A antigen, W27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med* 1973; 288(14): 704-6.

Seeley RR, Stephens TD & Tate P. *Anatomia & Fisiologia*, 3ª Edição, Lisboa, Lusodidacta, 2001; p.764-5.

Serviço Regional de Estatística dos Açores. Anuário Estatístico da Região Autónoma dos Açores – 2009. Angra do Heroísmo, 2010; p. 55.

Shankarkumar U, Ghosh K, Mohanty D. HLA B27 polymorphism in Western India. *Tissue Antigens* 2002; 60(1): 98-101.

Siala M, Mahfoudh N, Gdoura R, Younes M, Fourati H, Kammoun A et al. Distribution of HLA-B27 and its alleles in patients with reactive arthritis and with ankylosing spondylitis in Tunisia. *Rheumatol Int* 2009; 29(10): 1193-6.

Sieper J, Braun J, Rudwaleit M, Boonen A, Zink A. Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(Suppl III): iii8–iii18.

Sieper J. Developments in the scientific and clinical understanding of the spondyloarthritides (Review). *Arthritis Res Ther* 2009; 11(1): 208.

Sims A-M, Timms AE, Bruges-Armas J, Burgos-Vargas R, Chou C-T, Doan T et al. Prospective meta-analysis of interleukin 1 gene complex polymorphisms confirms associations with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1305-9.

Taurog JD: HLA-B27 subtypes, disease susceptibility, and peptide binding specificity. In Calin A, Taurog JD. *The Spondylarthritides*, Oxford University Press, 1998; p. 267-73.

Uchanska-Ziegler B, Ziegler A. Ankylosing spondylitis: a β 2m-deposition disease? *Trends Immunol* 2003; 24: 73-6.

Ulusoy H, Kaya A, Kamanli A, Akgol G, Ozgocmen S. Radiological scoring methods in ankylosing spondylitis: a comparison of the reliability of available methods. *Acta Reumatol Port* 2010; 35(2): 170-5.

van der Heijde DM, Revicki DA, Gooch KL, Wong RL, Kupper H, Harnam N, et al. Physical function, disease activity, and health-related quality-of-life outcomes after 3 years of adalimumab treatment in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther* 2009a; 11: R124.

van der Heijde D, Salonen D, Weissman BN, Landewé R, Maksymowych WP, Kupper H, et al. Assessment of radiographic progression in the spines of patients with ankylosing spondylitis treated with adalimumab for up to 2 years. *Arthritis Res Ther* 2009b, 11:R127.

van der Linden SM, Valkenburg HA, de Jongh BM, Cats A. The risk of developing ankylosing spondylitis in HLA-B27 positive individuals: a comparison of relatives of spondylitis patients with the general population. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 241-9.

Vandooren B, Kruithof E, Yu DT, Rihl M, Gu J, De Rycke L, et al. Involvement of matrix metalloproteinases and their inhibitors in peripheral synovitis and down-regulation by tumor necrosis factor alpha blockade in spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9): 2942-53.

Varnavidou-Nicolaidou A, Karpasitou K, Georgiou D, Stylianou G, Kokkofitou A, Michalis C et al. HLA-B27 in the Greek Cypriot population: distribution of subtypes in patients with ankylosing spondylitis and other HLA-B27-related diseases. The possible protective role of B*2707. *Hum Immunol* 2004; 65(12): 1451-4.

Wanders A, Heijde D, Landewe R, Behier JM, Calin A, Olivieri I et al. Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: a randomized clinical trial. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1756-65.

Ward, MM, Reveille JD, Learch TJ, Davis JC Jr, Weisman MH. Impact of ankylosing spondylitis on work and family life: comparisons with the US population. *Arthritis Rheum* 2008; 59(4): 497-503.

Wei JC, Tsai WC, Lin HS, Tsai CY, Chou CT. HLA-B60 and HLA-B61 are strongly associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-negative Taiwan Chinese patients. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43(7): 839-42.

Will R, Edmunds L, Elswood J, Calin A. Is there sexual inequality in ankylosing spondylitis? A study of 498 women and 1202 men. *J Rheumatol* 1990; 17(12): 1649-52.

Lee W, Reveille JD, Weisman MH. Women With Ankylosing Spondylitis: A Review. *Arthritis Rheum* 2008; 3(59): 449-54.

Wordsworth P. Genes in the spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1998; 24(4): 845-63.

Wu Z, Lin Z, Wei Q, Gu J. Clinical features of ankylosing spondylitis may correlate with HLA-B27 polymorphism. *Rheumatol Int* 2009; 29(4): 389-92.

www.info-radiologie.ch/

www.learningradiology.com/

www.webmd.com

Yamaguchi A, Tsuchiya N, Mitsui H, Shiota M, Ogawa A, Tokunaga K, et al. Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* 1996; 39(10): 1768-9.

Zhang G, Luo J, Bruckel J, Weisman MA, Schumcher HR, Khan MA, et al. Genetics studies in familial ankylosing spondylitis susceptibility. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2246-54.

Zhang L, Liu JL, Zhang YJ, Wang H. Association between HLA-B*27 polymorphisms and ankylosing spondylitis in Han populations: a meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol* 2011; 29(2): 285-292.

Zochling J, Brandt J, Braun J. The current concept of spondyloarthritis with special emphasis on undifferentiated spondyloarthritis. *Rheumatology* 2005; 44: 1483–91.

Zochling J, Braun J. Quality indicators, guidelines and outcome measures in ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25(6 suppl 47): 147-52.

APÊNDICE

Quadros referentes a resultados apresentados no Capítulo I (PARTE III).

Código	Idade	AS	Idade 1 ^{os} sintomas	Idade Diagnóstico	HLA- B*27	Manifestações Extra-Axiais					
						Uveíte	Artrite Periférica	Entesopatia Periférica	Psoríase	Doença Cardíaca	Outros Diagnósticos
AMM	68	V			Negativo	F	F	F	V	V	
AJCN	33	V			*2705	F	F	F	F	F	
AMPL	53	V	44	46	*2705	F	V	V	F	F	
APFS	29	V	22	24	*2705	V	F	F	F	F	
APPAR	43	V	20	36	*2705	F	F	F	F	F	
AMRF	54	V	34	37	*2705	V	F	F	F	F	
ASFF	72	V	20		*2705	V	F	F	F	F	
MAS	65	V	30	50	Negativo	F	V	F	V	F	Doença ungueal
CALM	53	V	43	41	Negativo	F	V	V	F	F	
CJM	57	V	40		Negativo	F	V	F	F	F	
CMLF	35	V	20	22	*2705	F	V	V	F	F	
CMMC	38	V	17		*2702	F	F	F	F	F	
CJR	70	V	40	62	*2705	F	V	V	F	F	
DSV	30	V	23	28	*2705	F	F	V	F	F	
DMRN	42	V	31	31	*2705	F	F	F	F	F	
ENBPT	62	V	32		*2705	V	F	F	F	F	

Código	Idade	AS	Idade 1 ^{os} sintomas	Idade Diagnóstico	HLA- B*27	Manifestações Extra-Axiais					
						Uveíte	Artrite Periférica	Entesopatia Periférica	Psoríase	Doença Cardíaca	Outros Diagnósticos
EMBCD	51	V	17	31	*2705	V	F	F	F	F	
FMLPS	41	V	20	37	Negativo	F	F	F	F	F	Mastocitose cutânea.
FGV	74	V		58	Negativo	F	V	F	V	V	Doença ungueal
FHCR	59	V	28	39	*2705	V	V	F	F	F	
FMRH	54	V	22	42	*2705	F	F	V	F	F	
HMTS	64	V			*2705	F	V	F	V	F	
HFSCS	77	V	14	28	*2705	V	F	F	F	V	Púrpura de Schonlein-Henoch
IBC	89	V	20		*2705	V	F	F	F	F	
JAMB	53	V	14	32	*2705	F	F	V	F	F	Apneia do sono.
JAC	78	V	20	65	*2705	F	V	F	V	V	
JFFT	55	V	10	37	Negativo	F	V	F	V	F	Doença ungueal. Apneia do sono.
JMREP	51	V	25	41	*2705	F	F	V	F	V	
JHAV	53	V	20	42	*2705	V	F	V	F	F	Apneia do sono.
JMAN	47	V	21		*2705	F	V	F	F	F	
JAPS	55	V	36	39	Negativo	F	V	V	V	F	Doença ungueal

Código	Idade	AS	Idade 1 ^{os} sintomas	Idade Diagnóstico	HLA- B*27	Manifestações Extra-Axiais					
						Uveíte	Artrite Periférica	Entesopatia Periférica	Psoríase	Doença Cardíaca	Outros Diagnósticos
JBFF	61	V	20	50	*2708	F	F	F	F	F	
JGML	61	V	30	39	Negativo	F	V	V	V	F	Doença ungueal: Hiperqueratinémia subungueal.
JHGP	61	V			*2705	F	V	F	F	V	
JLM	69	V			*2705	F	F	F	F	F	
JMCB	66	V		55	*2705	V	F	F	V	V	Doença cardíaca e vascular periférica.
JOSM	39	V	18	19	*2705	V	V	V	F	F	
JROX	85	V	64	71	Negativo	F	V	F	F	F	Osteoporose
JSV		V	35		*2705	V	F	F	F	F	
JTN	87	V	20		*2705	F	F	F	F	V	
LMRM	49	V			*2705	V	F	F	F	F	
LBF	50	V	33	38	*2708	F	V	F	F	F	
MRC	53	V	37	43	*2705	F	F	F	F	F	Carcinoma gástrico inicial.
MSR	78	V	17		*2702	V	F	V	F	F	
MPAS	39	V	25	38	*2705	V	F	F	F	F	

Código	Idade	AS	Idade 1 ^{os} sintomas	Idade Diagnóstico	HLA- B*27	Manifestações Extra-Axiais					
						Uveíte	Artrite Periférica	Entesopatia Periférica	Psoríase	Doença Cardíaca	Outros Diagnósticos
MAABS	50	V	30	46	Negativo	F	F	F	F	F	
MJOSV	42	V	23	41	*2705	F	F	F	F	F	Litiase renal.
MLAO	70	V	23	56	*2705	V	V	V	F	F	
MLPBM	68	V	24		*2702	F	F	F	F	F	
MNPSO	46	V	20	45	*2705	F	V	F	F	F	
MNVL	89	V	71		*2705	V	V	V	F	F	
MOSLF	53	V	34	51	*2705	F	F	F	F	F	
MRSRC S	84	V			*2705	V	V	F	F	F	
NMCM	67	V			*2705	F	F	F	V	F	Doença ungueal
NMSCM	43	V	20	26	*2705	F	F	F	F	F	
NMLR	32	V	21	25	*2705	F	F	F	F	F	
PCSF	39	V	31	32	*2708	F	F	F	F	F	
RJPS	27	V	24	26	*2705	F	F	V	F	F	
RMTB	61	V			*2705	V	F	F	F	F	
RMPF	49	V	30	33		F	F	F	F	F	
SMCM	56	V		45	*2705	F	V	V	F	F	Colite ulcerosa.
SMFFP	33	V	27	27	*2705	V	F	F	F	F	

Código	Idade	AS	Idade 1 ^{os} sintomas	Idade Diagnóstico	HLA- B*27	Manifestações Extra-Axiais					
						Uveíte	Artrite Periférica	Entesopatia Periférica	Psoríase	Doença Cardíaca	Outros Diagnósticos
TMLR	61	V		44	*2705	F	V	F	F	F	Litiase renal bilateral. Tuberculose ganglionar do mediastino após infiximab.
TPS	85	V			*2705	V	F	F	F	F	

Código	Critérios de Nova Iorque		História Familiar	Tratamento			
	Sacroileíte Bilateral	IBP		NSAIDS	Antagonistas do TNF	Salazopirina	MTX
AMM	V	V		V	F	F	F
AJCN	V	V	AS	F	F	V	F
AMPL	F	V		V	V	F	V
APFS	V	V		V	V	F	F
APPAR	V	V		V	V	F	F
AMRF	V	V	AS	V	F	F	F
ASFF	F	V		V	F	F	F
MAS	V	V		V	F	F	V
CALM	F	V	.	V	V	V	V
CJM	F	V		V	F	F	F
CMLF	V	V	AS	V	V	F	F
CMMC	V	V	AS	V	F	V	F
CJR	V	V		V	V	F	V
DSV	V	V	AS	V	F	F	F
DMRN	V	V		V	V	F	F
ENBPT	V	V		V	F	F	F
EMBCD	V	V		V	V	F	F
FMLPS	V	V		V	V	F	F

Código	Critérios de Nova Iorque		História Familiar	Tratamento			
	Sacroileíte Bilateral	IBP		NSAIDS	Antagonistas do TNF	Salazopirina	MTX
FGV	V	V		V	F	F	V
FHCR	V	V	SpA	V	V	V	F
FMRH	V	V		V	V	F	F
HMTS	F	V	SpA	V	F	F	F
HFSCS	V	V		V	F	F	V
IBC	F	V		V	F	F	F
JAMB	V	V		V	V	F	F
JAC	V	V		V	V	F	F
JFFT	V	V		V	V	V	V
JMRFP	V	V	AS	V	F	V	F
JHAV	V	V	AS	V	F	V	F
JMAN	V	V		V	F	F	F
JAPS	V	V		V	V	F	V
JBFF	V	V		V	F	V	F
JGML	V	V		V	V	V	V
JHGP	V	V		V	F	F	V
JLM	V	V		V	F	V	F
JMCB	V	V		V	V	F	F

Código	Critérios de Nova Iorque		História Familiar	Tratamento			
	Sacroileíte Bilateral	IBP		NSAIDS	Antagonistas do TNF	Salazopirina	MTX
JOSM	V	V		V	F	V	F
JROX	V	V		V	F	V	F
JSV	F	V	AS	V	F	F	F
JTN	F	V	AS	V	F	F	F
LMRM	V	V		V	F	F	F
LBF	V	V	SpA	V	v	V	F
MRC	V	V		V	f	F	F
MSR	F	V		V	F	F	F
MPAS	V	V	AS	V	V	F	F
MAABS	F	V		V	V	F	F
MJOSV	V	V		V	F	F	F
MLAO	V	V		V	F	V	F
MLPBM	F	V		V	F	F	F
MNPSO	F	V		V	V	F	F
MNVL	V	V	AS	V	F	F	F
MOSLF	F	V	AS	V	F	F	F
MRSRC S	V	V		V	V	F	V

Código	Critérios de Nova Iorque		História Familiar	Tratamento			
	Sacroileíte Bilateral	IBP		NSAIDS	Antagonistas do TNF	Salazopirina	MTX
NMCM	F	V	AS	V	F	F	F
NMSCM	V	V	AS	V	V	F	F
NMLR	V	V		V	V	F	F
PCSF	F	V		V	F	F	F
RJPS	F	V		V	F	F	F
RMTB	V	V	SpA	V	F	V	F
RMPF	F	V		V	F	F	F
SMCM	V	V		V	F	V	F
SMFFP	V	V		V	V	F	F
TMLR	V	V		V	V	V	F
TPS	F	V		V	F	F	F