TRABALHOS PREMIADOS ERA 2020

DOI: <https://doi.org/10.46833/reumatologiasp.2020.19.S1.15-18>

PÔSTER – ÁREA BÁSICA

1º LUGAR

PT.10

Desenvolvimento de um novo ensaio baseado em células para detecção de autoanticorpos antifibrilarina

Gerson Dierley Keppeke, Luis Eduardo Coelho Andrade

Disciplina de Reumatologia, Escola Paulista de Medicina – Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp), São Paulo-SP, Brasil

Rev Paul Reumatol. 2020;19(Supl 1):PT.10

Introdução

Na esclerose sistêmica (ES), autoanticorpos são detectados em >90% dos casos. Por ser uma doença com diferentes manifestações, cutânea difusa ou limitada, e envolvimento de diferentes órgãos, saber o exato autoanticorpo no paciente com ES é fundamental, pois influenciará no diagnóstico, prognóstico e estratégia de tratamento. Ao teste FAN-HEP-2, quando o padrão de marcação nucleolar é observado, em 90% dos casos o paciente tem alguma forma de ES, porém vários autoanticorpos podem apresentar este padrão. Apesar de ~10% das amostras com padrão de FAN nucleolar serem antifibrilarina (U3-RNP), a identificação deste autoanticorpo é importante pois está relacionado a uma das formas mais graves da ES. Quando uma amostra apresenta padrão nucleolar, o laboratório irá executar testes de fase sólida, tais como Western-Blot ou ELISA, para confirmar a presença de antifibrilarina. Como o ELISA para antifibrilarina tem baixíssima sensibilidade, muitos recorrem ao Western-Blot, que tem execução complexa com resultados duvidosos, provavelmente porque ambos lidam com antígenos desnaturados.

Objetivo

Desenvolver um ensaio baseado em células para detecção de anticorpos antifibrilarina.

Materiais e métodos

Nas células, a fibrilarina está localizada no nucléolo. Adicionamos ao gene da fibrilarina uma **sequência sinal de localização** para realocar a fibrilarina para a membrana citoplasmática. Para tanto, utilizando técnicas de biologia molecular, construímos um plasmídeo com a seguinte sequência: **pCMV_NEP-FBL_P2A_iRFP670-myc**.

NEP é a **sequência sinal de localização na membrana**, acoplada na porção N-terminal do gene da fibrilarina (FBL).

Células HEP-2 transfectadas com o plasmídeo foram fixadas com metanol e acetona e utilizadas como substrato em uma reação de imunofluorescência indireta (IFI), utilizando como sonda primária as amostras dos pacientes.

Resultados

A partir das nuances do padrão nucleolar observado no teste FAN, este pode servir de indicativo para o tipo de autoanticorpo na amostra. Padrão **nucleolar grumoso** (AC-9, sigla do ICAP) é um indicativo da presença de anticorpos antifibrilarina, enquanto o padrão **nucleolar homogêneo** (AC-8) sugere anti-RNA polimerase I, anti-Th/To, Anti-PM/Scl, Anti-NOR/90, entre outros.

FIGURA 1 Células que expressam NEP-fibrilarina (setas) têm sua membrana marcada apenas por soro com padrão AC-9 em IFI.

FIGURA 2 Exemplos de células expressando NEP-fibrilarina marcadas por amostras com anticorpo antifibrilarina (AC-9).

Enquanto as amostras AC-9 marcam a membrana citoplasmática das células transfectadas com NEP-fibrilarina, nenhuma célula com a membrana marcada foi observada com amostras AC-8, AC-1 ou AC-3, sugerindo a alta especificidade do ensaio.

Para confirmar se as células com a membrana citoplasmática marcada por AC-9 são as células que expressam NEP-fibrilarina, em IFI com dupla marcação observamos perfeita colocalização entre um anticorpo monoclonal antifibrilarina e amostras AC-9.

A fibrilarina expressa na membrana citoplasmática (NEP-fibrilarina) tem um padrão similar à “teia de aranha”, sendo a observação deste padrão de marcação nas células transfectadas a confirmação da presença de antifibrilarina no respectivo soro testado.

Conclusão

Desenvolvemos um ensaio de fácil execução e baixo custo, com estratégia completamente inovadora, baseado em células expressando o autoantígeno intracelular em sua superfície. Com uma simples reação de IFI similar à do FAN utilizando nossas células modificadas como substrato, confirma-se a presença de antifibrilarina em determinada amostra.

Pesquisa com apoio da FAPESP Proc.: 2017/20745-1.

PÔSTERES – ÁREA CLÍNICA

MENÇÃO HONROSA

PT.01

Transcranial direct current stimulation for fatigue in patients with Sjögren's syndrome: a randomized, double-blind, controlled trial

Ana Carolina Pereira Nunes Pinto^{1,2,3}, Sara Regina Piva⁴, Alécia Gabriela da Silva Vieira¹, Samantha Guerra Cabô Nunes Gomes¹, Aline Pereira da Rocha¹, Daniela Regina Brandão Tavares¹, Márcia Valéria de Andrade Santana¹, Cristiane da Rosa Carlesso⁴, Adagmar Andriolo⁵, Fania Cristina Santos⁶, Felipe Fregni⁷, Virgínia Fernandes Moça Trevisani¹

1. Evidence-Based Health Program, UNIFESP, São Paulo-SP, Brazil; 2. Fulbright Scholar at University of Pittsburgh, PA, USA; 3. Biological and Health Sciences Department, UNIFAP-AP, Brazil; 4. Department of Physical Therapy, School of Health and Rehabilitation Science, University of Pittsburgh. Pittsburgh, PA, USA; 5. Department of Laboratory Medicine, UNIFESP, São Paulo-SP, Brazil; 6. Department of Geriatrics and Gerontology, Federal University of São Paulo, São Paulo-SP, Brazil; 7. Spaulding Neuromodulation Center, Spaulding Rehabilitation Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

Rev Paul Reumatol. 2020;19(Supl 1):PT.01

Introduction

Primary Sjögren's syndrome (pSS) affects 0.04% to 0.08% of population worldwide and is the second most common autoimmune disease¹. Fatigue has been reported as the most difficult symptom to manage² and affects up to 85%² of patients. Transcranial direct current stimulation tDCS has shown promise to decrease fatigue in some diseases. However, its effect in pSS has never been examined.

Objectives

To assess the effect of a tDCS protocol on fatigue in patients with pSS.

Materials and methods

Study design and participants

This is a randomized double-blind controlled trial (NCT 04119128) conducted with women with pSS aged 18-65 years, on stable pharmacological therapy, with complaints of fatigue for at least three months and with scores > 5 on Fatigue Severity Scale (FSS).

Sample size calculation was based on previous research by Chalah et al.⁴. Considering an $\alpha=0.05$, power of 95%, and 10% of attrition, we estimated that 18 patients were needed in each group to detect a group difference as small as 0.53 in the FSS.

Randomization and blinding

We randomized 36 participants to receive five consecutive or sham tDCS sessions, with an intensity of 2 mA, for 20 minutes/day. The participants were randomized using a computer generated list, with a 1:1 ratio to an active or sham tDCS group using random permuted block sizes of 4 or 6. The allocation sequence was concealed in consecutively numbered, opaque and sealed envelopes. An investigator uninvolved with the recruitment/assessment allotted the numerical codes provided by the manufacturer and handed the sealed envelopes to another investigator to deliver the intervention. To ensure blinding, the “study mode” of a certified direct current stimulator NeuroConn GmbH, Ilmenau Germany) was used. Participants, interventionists and outcome assessors were blind to the intervention assignments.

Data analysis

Fatigue was assessed before and after five tDCS sessions. Mean differences between groups with 95% confidence intervals (CI) and effect sizes were calculated for the primary and secondary outcomes.

Results

Outcome		Baseline	T2	Change (T2 - Baseline)
Fatigue Severity Scale	Active - Mean $\pm$ SD	6.33 $\pm$ 0.40	5.14 $\pm$ 1.43	-1.18 $\pm$ 1.20*
	Score range (1-7)	Sham - Mean $\pm$ SD	6.10 $\pm$ 0.65	5.76 $\pm$ 0.78
Between-group difference	Mean			-0.85**
	(95% CI)			(-1.57; -0.13)
Effect Size				0.80
Mental Fatigue (PROFAD)	Active - Mean $\pm$ SD	5.40 $\pm$ 1.27	3.94 $\pm$ 2.26	-1.46 $\pm$ 2.75*
	Score range (0-7)	Sham - Mean $\pm$ SD	4.86 $\pm$ 2.40	4.44 $\pm$ 1.55
Between-group difference	Mean			-1.04
	(95% CI)			(-2.76; 0.67)
Effect Size				0.41
Somatic Fatigue (PROFAD)	Active - Mean $\pm$ SD	4.65 $\pm$ 1.29	4.25 $\pm$ 1.62	-0.40 $\pm$ 1.34
	Score range (0-7)	Sham - Mean $\pm$ SD	4.90 $\pm$ 1.74	4.89 $\pm$ 1.33
Between-group difference	Mean			-0.39
	(95% CI)			(-1.63; -0.85)
Effect Size				0.21

continue >>

>> continued

Outcome		Baseline	T2	Change (T2 - Baseline)
Patient Reported Fatigue (ESSPRI) Active - Mean $\pm$ SD		7.47 $\pm$ 1.66	6.23 $\pm$ 1.44	-1.23 $\pm$ 1.52*
Score range (0-10)	Sham - Mean $\pm$ SD	7.08 $\pm$ 1.88	7.25 $\pm$ 2.02	0.17 $\pm$ 1.15
Between-group difference	Mean			-1.40**
	(95% CI)			(-2.33; -0.48)
Effect Size				1.04

* Within-group change ($p < 0.05$). ** Between-group change ($p < 0.05$)

All reported adverse events were mild and transitory.

Conclusion

tDCS seems to be safe and reduce fatigue in pSS. Further studies are needed to optimize tDCS treatment strategies in pSS patients.

References

1. Qin B, Wang J, Yang Z, Yang M, Ma N, Huang F, et al. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2015 Nov;74(11):1983-9. Epub 2014 Jun 17. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-205375>.
2. Mandl T, Jorgensen TS, Skougard M, Olsson P, Kristensen L-E. Work Disability in Newly Diagnosed Patients with Primary Sjögren's Syndrome. *J Rheumatol*. 2017 Feb;44(2):209-15. Epub 2016 Nov 15. <https://doi.org/10.3899/jrheum.160932>.
3. Seror R, Ravaud P, Mariette X, Bootsma H, Theander E, Hansen A, et al. EULAR Sjögren's Syndrome Patient Reported Index (ESSPRI): development of a consensus patient index for primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:968-72. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.143743>.
4. Chalah M, Riachi N, Ahdab R, Mhalla A, Abdellaoui M, Créange A, et al. Effects of left DLPFC versus right PPC tDCS on multiple sclerosis fatigue. *Journal of the Neurological Sciences*. 2017;372:131-7. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2016.11.015>.

Acknowledgments

Ana Carolina sincerely thanks the support of Fulbright Comissão and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

MENÇÃO HONROSA

PT.20

Efetividade da repetição do teste tuberculínico após exposição aos bloqueadores do TNF α em pacientes com artropatias inflamatórias crônicas

Vanessa de Oliveira Magalhães¹, Karina Rossi Bonfiglioli², Carina Mori Frade Gomes Chebel¹, Carla Gonçalves S. Saad², Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá², Marcelo de Medeiros Pinheiro¹

1. Escola Paulista de Medicina – Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp), São Paulo-SP, Brasil; 2. Centros de Medicação de Alto Custo (CEDMAC)/Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo-SP, Brasil

Rev Paul Reumatol. 2020;19(Supl 1):PT.20

Introdução

A tuberculose (Tb) é uma doença infecciosa e transmissível, endêmica no Brasil, com elevada taxa de morbidade e mortalidade, necessitando de vigilância permanente pelos órgãos de saúde pública.

Os bloqueadores do TNF α são importantes agentes terapêuticos usados para o controle das artropatias inflamatórias crônicas (AICs), incluindo artrite reumatoide (AR), artrite psoriásica (APs)

e espondilite anquilosante (EA). No entanto, eles têm sido implicados com o incremento do risco de reativação da infecção tuberculose latente (ITbL). No Brasil, a incidência de Tb nos pacientes em uso destas medicações é cerca de duas vezes maior do que na população geral.

A repetição do TT tem sido citada em diretrizes e recomendações (ACR-EULAR, CDC, OMS) após a exposição a bloqueadores TNF- α , embora sem estudos robustos para apoiar esta recomendação, e ainda não é uma rotina na prática clínica diária de reumatologistas.

Objetivos

Quantificar a positividade do teste tuberculínico (TT) ao longo da exposição aos bloqueadores do TNF- α e avaliar a efetividade do segundo TT ao longo da exposição a estes medicamentos, considerando o tempo de exposição, sexo, idade e as medicações concomitantes.

Materiais e métodos

Estudo retrospectivo, utilizando o banco de dados de prontuários eletrônicos de duas instituições universitárias e terciárias (HC/USP e HSP/UNIFESP), em pacientes com AIC: AR, APs e EA, expostos por, no mínimo, seis meses a um ou mais agentes anti-TNF α .

Crerios de inclusão

Homens ou mulheres; maiores de 18 anos; diagnóstico de AR (ACR, 1987; ACR 2015), APs (CASPAR 2006) ou EA (NYM, 1984; ASAS, 2015). Pacientes que receberam tratamento prévio da ITbL ou aqueles com Tb prévia tratada não foram excluídos da amostra.

Crerios de não inclusão

Pulsoterapia com ciclofosfamida e/ou metilprednisolona há menos de seis meses; pacientes com antecedente de qualquer enfermidade que possa interferir em algum dos desfechos estudados, incluindo neoplasia nos últimos cinco anos, infecção ativa por HIV, HBV, HCV, hanseníase, sarcoidose, gravidez, uveíte infecciosas e doenças desmielinizantes.

Os dados serão apresentados em medidas de tendência central (média, desvio padrão, frequência). Serão exploradas associações e correlações entre os dois desfechos principais do estudo (taxa de conversão e tuberculose doença) e as variáveis clínicas.

Resultados

Foram avaliados para essa coorte retrospectiva 507 prontuários eletrônicos de pacientes com AIC; desses, 148 (29,19%) foram excluídos por dados insuficientes, os demais 359 foram distribuídos nos seguintes grupos de doenças: 178 (49,58%) no grupo AR, 135 (37,60%) no grupo EA e 46 (12,81%) no grupo APs.

Em geral os pacientes tinham longo tempo de doença e o mesmo tempo médio de exposição aos anti-TNFs. A frequência de uso de FMDcs foi compatível com a prescrição de cada doença na prática clínica. Houve diferença em relação aos anti-TNFs, maior número de pacientes em uso de infliximabe no grupo AR, golimumabe em APs, adalimumabe e infliximabe em EA (Tabela 1).

A maioria dos pacientes com AIC repetiu o TT por questões administrativas e/ou burocráticas ($n=174$, 90,6%), 18 pacientes repetiram por suspeita clínica de Tb (9,4%), independentemente da AIC (Tabela 2).

Entre os pacientes que desenvolveram Tb, houve predomínio de homens, principalmente no grupo EA, sem relação com uso de FMDcs ou glicocorticoides.

A repetição do TT teve associação com maior número de casos de Tb, sendo que a maioria foi motivada por suspeita clínica de Tb. Não houve diferença entre o grupo de MAb e receptor solúvel (Tabela 1).

TABELA 1 Características clínicas e demográficas dos pacientes com AICs em uso de inibidores do TNF alfa.

	AR (n=178)	EA (n=135)	APs (n=46)	p
Idade (anos)	50,5±10,7	41,2±12,8	49,2±11,3	<0,0001†
Fator reumatoide	147(82,1%)			
HLA-B27 positivo/testados		70/87 (80,4%)	3/7 (42,8%)	
Tempo de doença (anos)	12,3±8,7	10,5±9,2	10,8±7,4	0,067
Sexo masculino, n (%)	18 (10,1%) ^c	102 (75,6%) ^b	26 (56,5%) ^a	<0,0001
Histórico prévio de Tb antes do início de anti-TNF	7 (3,9%)	2 (1,5%)	0 (0%)	0,296**
Tempo de exposição aos anti-TNF (meses)	72,2±47,1	81,6±46,9	74,2±48,5	0,18†
Núm. de prescrições anti-TNF, n (%)				
ADA	94 (52,8%)	69 (51,1%)	27 (58,7%)	0,67*
ETN	86 (48,3%)	60 (44,4%)	15 (32,6%)	0,16*
IFX	119 (66,9%)	70 (51,9%) ^c	25 (54,3%)	0,02*
CZP	3 (1,7%)	7 (5,2%)	2 (4,3%)	0,15**
GOL	1 (0,6%)	8 (5,9%) ^c	5 (10,9%) ^b	0,002*
Uso ≥ 2 anti-TNF, n (%)	114 (64%)	52 (38,5%)	23 (50%)	<0,0001
FMCDcs, n (%)				
SSZ	52 (29,2%)	50 (37%)	4 (8,7%) ^{a,b}	0,001*
GC oral	118 (66,3%)	14 (10,4%) ^c	8 (17,4%) ^b	0,001*
MTX	146 (82%)	51 (37,8%) ^c	33 (71,7%) ^a	<0,001*
AZA	24 (13,5%)	2 (1,5%) ^c	2 (4,3%)	<0,001*
LEF	109 (61,2%)	13 (9,6%) ^c	13 (28,3%) ^{a,b}	<0,001*

* Teste de qui-quadrado; ** Teste exato de Fisher; † Teste de Kruskal-Wallis; APs: artrite psoriásica; EA: espondilite anquilosante; AR: artrite reumatoide; IFX: infliximabe; ETN: etanercepte; ADA: adalimumabe; GC: glicocorticoides; CZP: certolizumabe Pegol; GOL: golimumabe; MTX: metotrexato; AZA: azatioprina; LEF: leflunomida; SSZ: sulfassalazina; U de Mann-Whitney; a: diferença significativa entre os grupos APs e EA; b: diferença significativa entre os grupos APs e AR; c: diferença significativa entre os grupos EA e AR.

TABELA 2 Positividade teste tuberculínico (TT) antes e após exposição ao anti-TNF.

	AR (n=178)	EA (n=135)	APs (n=46)	p
TT inicial ≥ 5 mm, n (%)	30 (16,9%)	43 (31,9%) ^c	10 (21,7%)	0,008*
Repetiram TT, n (%)	100 (56,2%)	74 (54,8%)	18 (39,1%)	0,109*
TT repetição ≥ 5 mm, n (%)	25 (24,8%)	34 (45,3%) ^c	7 (38,9%)	0,018*
Taxa de incremento (TTi-TT repetição) – Conversão: Negativo para Positivo (n=38)	16 (15,8%)	17 (22,7%)	5 (27,8%)	0,347
Motivo TT repetição				
Suspeita clínica, n (%)	9 (9%)	7 (9,5%)	2 (11,1%)	
Não suspeita, n (%)	91 (91%)	67 (90,5%)	16 (88,9%)	0,96*

APs: artrite psoriásica; EA: espondilite anquilosante; AR: artrite reumatoide; TT: teste tuberculínico; TTI: teste tuberculínico inicial; TT repetição: teste tuberculínico repetição; * Teste de qui-quadrado; ** Teste exato de Fisher; c: diferença significativa entre os grupos EA e AR.

TABLE 3 Distribuição de casos de tuberculose.

Variável	Casos de tuberculose	Log Rank	p
Sexo	Masculino n=18 (146)	7,309	0,007
	Feminino n=9 (213)		
Artropatia inflamatória crônica	EA n=14 (135)	9,157	0,001
	APs n=7 (46)		
Epidemiologia para tuberculose	AR n=6 (178)	1,574	0,21
	Suspeita n=6 (51)		
Radiografia de tórax	Não suspeita n=21 (308)	4,427	0,035
	Normal n=23 (338)		
Diagnóstico ITbL após anti-TNF	Suspeito n=4 (21)	0,008	0,930
	Sím n=23 (312)		
SULFASSALAZINA	Não n=4 (47)	1,679	0,195
	Sím n=11 (106)		
PREDNISONA	Não n=16 (253)	3,014	0,083
	Sím n=6 (140)		
METOTREXATO	Não n=21 (219)	0,211	0,646
	Sím n=16 (230)		
AZATIOPRINA	Não n=11 (129)	0,553	0,457
	Sím n=1 (28)		
LEFLUNOMIDA	Não n=26 (311)	0,474	0,491
	Sím n=8 (135)		
TT INICIAL	Não n=19 (224)	0,611	0,434
	Positivo n=8 (83)		
TT REPETIÇÃO	Negativo n=19 (276)	6,756	0,009
	Positivo n=9 (66)		
MOTIVO REPETIÇÃO (HR)	Negativo n=5 (128)	32,701	<0,0001
	Suspeita clínica n=7 (18)		
DIFERENÇA ENTRE ANTI-TNF	Administrativos n=7 (174)	2,414	0,120
	MAbs (ADA, IFX, CZP, GOL) n=26 (311)		
	Receptor solúvel (ETN) n=1 (48)		

Conclusão

A repetição do teste tuberculínico teve associação com maior número de casos diagnosticados de Tb em APs e EA.

A Tb não teve relação com comedições, nem com os diferentes tipos de anti-TNFs. A maioria das repetições de TT associados à Tb foram com indicação de suspeita de Tb e em homens.

A repetição do TT teve taxa de incremento entre 15% e 27% média nos grupos e a incidência de Tb foi de 0,02 p/y na APs, 0,01 p/y na EA e 0,005 na AR.