

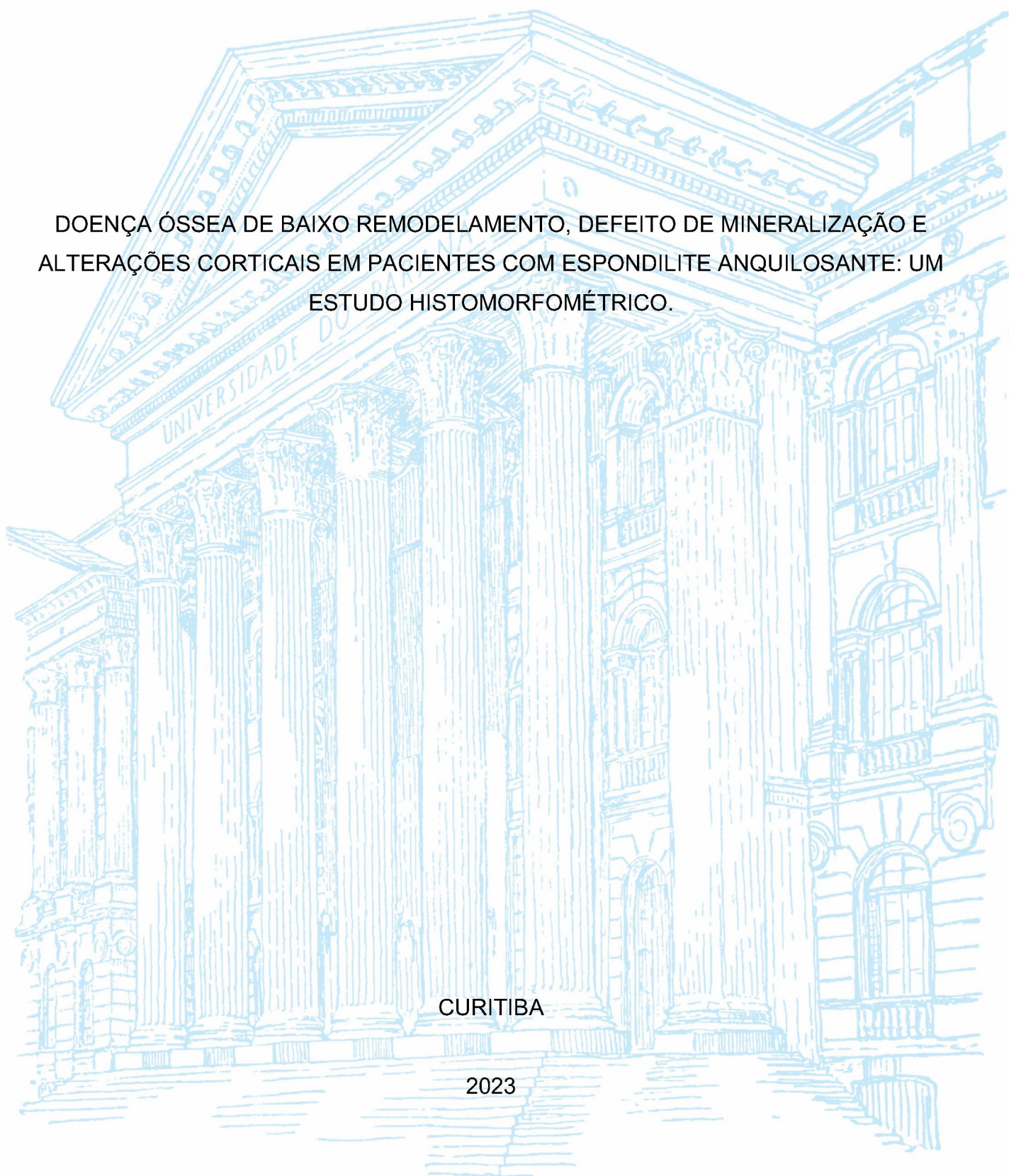
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NATALIA PEREIRA MACHADO

DOENÇA ÓSSEA DE BAIXO REMODELAMENTO, DEFEITO DE MINERALIZAÇÃO E
ALTERAÇÕES CORTICAIS EM PACIENTES COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE: UM
ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO.

CURITIBA

2023



NATALIA PEREIRA MACHADO

DOENÇA ÓSSEA DE BAIXO REMODELAMENTO, DEFEITO DE MINERALIZAÇÃO E
ALTERAÇÕES CORTICAIS EM PACIENTES COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE: UM
ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Medicina Interna e Ciências da Saúde, Setor de Ciências da
Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito
parcial à obtenção do título de Doutora em Medicina Interna.

Orientadora: Prof^a Dr^a Carolina Aguiar Moreira
Coorientador: Prof Dr Marcelo de Medeiros Pinheiro

CURITIBA

2023

M149

Machado, Natalia Pereira

Doença óssea de baixo remodelamento, defeito de mineralização e alterações corticais em pacientes com espondilite anquilosante: um estudo histomorfométrico. [recurso eletrônico] / Natalia Pereira Machado. – Curitiba, 2023.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.
Orientadora: Profa. Dra. Carolina Aguiar Moreira
Coorientador: Prof. Dr. Marcelo de Medeiros Pinheiro

1. Espondilite anquilosante. 2. Doenças ósseas.
3. Citologia. 4. Calcitonina. I. Moreira, Carolina Aguiar.
II. Pinheiro, Marcelo de Medeiros. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.
IV. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **NATALIA PEREIRA MACHADO** intitulada: "**DOENÇA ÓSSEA DE BAIXO REMODELAMENTO, DEFEITO DE MINERALIZAÇÃO E ALTERAÇÕES CORTICAIS EM PACIENTES COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE: UM ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO.**", sob orientação da Profa. Dra. CAROLINA AGUIAR MOREIRA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 30 de Agosto de 2023.

Assinatura Eletrônica
31/08/2023 09:52:02.0
CAROLINA AGUIAR MOREIRA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
13/09/2023 20:00:17.0
FELIPE MERCHAN FERRAZ GRIZZO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ)

Assinatura Eletrônica
31/08/2023 21:56:06.0
VERA LUCIA SZEJNFELD
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO)

Assinatura Eletrônica
04/09/2023 10:07:20.0
VICTÓRIA ZEGHBI COCHENSKI BORBA
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
31/08/2023 11:12:09.0
CARLA GONÇALVES SCHAHIN SAAD
Avaliador Externo (FACULDADE DE MEDICINA USP - FM/USP)

Dedico essa tese aos meus pais Jacinta e Marcos,
que me ensinaram o amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos pacientes que participaram desta pesquisa de forma espontânea e voluntária, pelo simples desejo de contribuir com a ciência e ajudar o próximo.

À querida Kelly Barba (*post mortem*) pelo carinho com os pacientes da pesquisa, pela disponibilidade e generosidade durante o curto período em que convivemos.

Ao meu esposo Adriano pelo companheirismo, paciência e cumplicidade.

À minha família, pelo apoio incondicional, apesar da distância.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Carolina Aguiar Moreira, pelos ensinamentos preciosos, generosidade, disponibilidade e paciência. Pelo exemplo inspirador de pesquisadora competente, renomada e ao mesmo tempo acessível e amiga.

Ao meu coorientador, Prof Dr Marcelo de Medeiros Pinheiro, por quem tenho profunda admiração como amigo, professor e colega de profissão e quem inspira a todos que têm o privilégio de sua convivência.

Aos colegas do serviço de reumatologia do Hospital de Clínicas, que me acolheram em Curitiba e foram compreensivos e apoiadores nos últimos anos durante a pesquisa.

Aos coautores desta pesquisa Rafaela Ceron e Domingos Chula que possibilitaram a realização e preparo das biópsias ósseas.

Ao laboratório de Patologia Óssea da Fundação Pro Renal, que ofereceu a tecnologia necessária a realização desta pesquisa.

À Sociedade Brasileira de Reumatologia, que forneceu os recursos necessários a realização deste projeto.

Aos colegas Eduardo Paiva, Mariana Perez e Charles Helden que disponibilizaram tempo e ensinamentos participando da qualificação desta tese.

Aos colegas da banca Vera Szejnfeld, Carla Saad, Felipe Grizzo e Victoria Borba, por quem tenho grande admiração e que aceitaram prontamente participar da banca de defesa desta tese.

Ao Programa de Pós-graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, a todos os colaboradores e mestres deste programa. Foi uma experiência enriquecedora e um grande prazer dividir com todos esta caminhada.

EPÍGRAFE

Quem elegeu a busca não pode recusar a travessia.

João Guimarães Rosa

RESUMO

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença inflamatória imunomediada associada a maior risco de fraturas, e a fisiopatologia da fragilidade óssea nestes pacientes é pouco conhecida. Os objetivos deste estudo foram analisar os parâmetros histomorfométricos e densitométricos de pacientes homens, jovens (≤ 55 anos) com EA. Foi realizado um estudo transversal com avaliação clínica, laboratorial, radiográfica (fratura vertebral e neoformação óssea), com densitometria óssea (DXA), escore de osso trabecular (TBS) e histomorfometria óssea (HO) transilíaca. Dados histomorfométricos foram comparados com grupo controle de biópsias ósseas de cadáveres previamente saudáveis ($n=21$) e valores de referência da literatura. Foram incluídos 21 pacientes do sexo masculino com média de idade 45,8 anos, em sua maioria (61,9%) brancos e com positividade para HLA-B27 (90,5%). A prevalência de alteração na DXA (baixa massa óssea, osteopenia ou osteoporose) e no TBS ($\leq 1,338$) foi de 42,8% e 57,1% respectivamente. Não houve achados de fratura vertebral e um dos pacientes teve fratura por fragilidade de úmero. Na histomorfometria do osso trabecular, foi observada maior espessura osteoide no grupo dos pacientes. O osso cortical mostrou redução da espessura e aumento de porosidade de forma significativa nos pacientes comparados a valores de referência e foi observado padrão de trabecularização da cortical em 52,5% dos pacientes. Na avaliação dinâmica, foram encontrados maior intervalo de tempo para mineralização e menores superfície de mineralização e taxa de formação óssea nos pacientes comparados a valores de referência. Houve uma associação significativa entre os níveis séricos de fósforo inorgânico e a superfície de mineralização, após ajuste para idade, índice de massa corporal e níveis séricos de 25-OH vitamina D. A histomorfometria óssea de homens jovens com EA demonstrou padrão de baixo remodelamento trabecular, com defeito da mineralização óssea, possivelmente associado ao metabolismo do fósforo, bem como anormalidades da espessura e porosidade cortical, achados que acrescentam novos elementos à complexa fisiopatologia da fragilidade óssea na EA e podem ter impacto em futuros tratamentos.

Palavras-chave: espondilite anquilosante; histomorfometria óssea; fragilidade óssea; remodelamento ósseo; osteoporose.

ABSTRACT

Ankylosing spondylitis (AS) is an immune-mediated inflammatory disease associated with an increased risk of fractures, and the pathophysiology of bone fragility in these patients is poorly understood. The objectives of this study were to analyze the histomorphometric and densitometric parameters of male, young (<55 years) patients with AS. A cross-sectional study was conducted, including clinical, laboratory, radiographic assessment (vertebral fractures and new bone formation), dual energy X-ray absorptiometry (DXA), trabecular bone score (TBS), and iliac bone histomorphometry (BH). Histomorphometric data were compared with a control group of male healthy cadavers (n=21) and literature reference values. Twenty-one male patients were included, with a mean age of 45.8 years, long disease duration (median 17.5 years), mostly (61,9%) of white ethnicity, and 90,5% tested positive for HLA-B27. The prevalence of DXA abnormalities (low bone mass, osteopenia, or osteoporosis) and low TBS (≤ 1.338) was 42.8% and 57.1%, respectively. There were no findings of vertebral fractures, and one patient had a fragility fracture of the humerus. In trabecular bone histomorphometry, there was a higher osteoid thickness in the patient group. Cortical bone exhibited significantly reduced thickness and increased porosity in patients compared to reference values, and a pattern of cortical trabecularization was observed in 52.5% of patients. Dynamic evaluation revealed a longer mineralization time interval and lower mineralization surface and bone formation rate in patients compared to reference values. There was a significant association between serum inorganic phosphorus levels and mineralization surface after adjustment to age, body mass index and 25-OH vitamin D levels. Bone histomorphometry of young men with AS demonstrated a pattern of low trabecular remodeling, with defective bone mineralization, possibly associated with phosphorus metabolism, as well as abnormalities in cortical thickness and porosity. These findings add new elements to the complex pathophysiology of bone fragility in AS and may impact future treatments.

Keywords: ankylosing spondylitis, bone histomorphometry, bone fragility, bone remodeling, osteoporosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Seção histológica de osso trabecular mostrando marcação difusa de tetraciclina.....	30
FIGURA 2 - Seção histológica de osso cortical.....	31
FIGURA 3 - Hipótese: possível assincronia entre o osso trabecular e o cortical.....	36
FIGURA 4 - Hipótese: modelo explicativo sobre a fragilidade óssea.....	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características clínicas e demográficas dos pacientes com EA.....	27
TABELA 2 - Parâmetros estáticos do osso trabecular na histomorfometria óssea dos pacientes com EA comparados a controles saudáveis de uma coorte histórica.....	29
TABELA 3 - Parâmetros trabeculares de remodelamento dinâmico e parâmetros estáticos do osso cortical dos pacientes com EA comparados a dados de referência.....	30
TABELA 4 - Exames de imagem dos pacientes com EA.....	32
TABELA 5 - Exames laboratoriais dos pacientes com EA.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINE: antiinflamatório não esteroidal.

Ajust: ajustado

AP: artrite psoriásica

AR: artrite reumatoide

ASBMR: *American Society of Bone and Mineral Research*

ASDAS: *ankylosing spondylitis disease activity score* ou escore de atividade de doença da espondilite anquilosante

BALB/c: *Bagg albino*

BASDAI: *Bath ankylosing spondylitis disease activity index* ou índice de atividade da doença da espondilite anquilosante de Bath

BASFI: *Bath ankylosing spondylitis functional index* ou índice funcional da espondilite anquilosante de Bath

BASMI: *Bath ankylosing spondylitis metrology index* ou índice de metrologia da espondilite anquilosante de Bath

BMP: *bone morphogenetic protein*

BV/TV: volume ósseo

CD68+: cluster of differentiation 68

CF: colo femoral

CT: *computed tomography*

Ct.Po: porosidade cortical

Ct.Th: espessura cortical

DKK-1: proteína relacionada a Dickkopf 1

DMCDs: drogas modificadoras do curso da doença;

DMO: densidade mineral óssea

DXA: *dual-energy X-ray absorptiometry* ou densitometria

EA: espondilite anquilosante

EpA: espondiloartrite

ERAP/ ARTS-1: *endoplasmic reticulum aminopeptidase 1*

FA: fosfatase alcalina

FGF-23: fator de crescimento de fibroblasto 23

FRAX: fracture risk assessment tool

FT: fêmur total

HLA-B27: antígeno leucocitário humano B27

HO: histomorfometria óssea
HR-pQCT: *high-resolution peripheral quantitative computed tomography*
hTNFtg: fator de necrose tumoral transgênico
IC: intervalo de confiança
iIL-17: inibidor de interleucina 17
IL-12: interleucina 12
IL-17: interleucina 17
IL-22: interleucina 22
IL-23: interleucina 23
IL-23R: receptor de interleucina 23
IMC: índice de massa corporal.
ISCD: *International Society of Clinical Densitometry*
iTNF α : inibidor do fator de necrose tumoral alfa
MAPKs: proteínas quinases mitógeno ativadas
MCSF: fator ativador de colônia de macrófago
mSASSS: *modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score*
NOGG: *National Osteoporosis Guideline Group*
OB: osteoblasto
Obs/BS: superfície osteoblástica
OC: osteoclasto
OMS: Organização Mundial da Saúde
OPG: osteoprotegerina
OR: odds ratio
PCRus: proteína C reativa ultrasensível
PTH: paratormônio
RANK: receptor ativador de NF κ B
RANKL: ligante do receptor ativador de NF κ B
SNPs: polimorfismos de nucleotídeo único
SOST: esclerostina
STAT-3: *signal transducer and activator of transcription 3*
Tb.N: número trabecular
Tb.Sp: separação trabecular
Tb.Th: espessura trabecular
TBS: escore de osso trabecular
TBS: *trabecular bone score* ou escore de osso trabecular

T CD4+: linfócitos T *cluster of differentiation 4*.

T CD8+: linfócitos T *cluster of differentiation 8*.

TGF β : fator de crescimento tecidual beta

TH-17: linfócitos T *helper 17*

TNF α : fator de necrose tumoral alfa

TSH: hormônio tireoestimulante

UBM: unidade básica multicelular

VHS: velocidade de hemossedimentação

WNT: *wingless-related integration*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	CONTEXTO E PROBLEMA.....	14
1.2	JUSTIFICATIVA.....	15
1.3	OBJETIVOS.....	15
2	REVISÃO TEÓRICA.....	15
2.1	ESPONDILITE ANQUILOSANTE.....	15
2.2	FATORES DETERMINANTES DO REMODELAMENTO ÓSSEO.....	16
2.3	NEOFORMAÇÃO ÓSSEA NA ESPONDILITE ANQUILOSANTE.....	19
2.4	OSTEOPOROSE E FRATURAS VERTEBRAIS NA ESPONDILITE ANQUILOSANTE.....	21
2.5	HISTOMORFOMETRIA ÓSSEA.....	22
3	METODOLOGIA.....	23
3.1	DESENHO.....	23
3.2	PACIENTES.....	23
3.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	23
3.4	GRUPO CONTROLE E REFERÊNCIAS.....	23
3.5	AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL.....	23
3.6	DENSITOMETRIA ÓSSEA.....	24
3.7	SCORE DE OSSO TRABECULAR.....	25
3.8	RADIOGRAFIAS	25
3.9	BIÓPSIA E HISTOMORFOMETRIA ÓSSEAS	25
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
4	RESULTADOS.....	27
5	CONCLUSÕES	39
	REFERÊNCIAS	40
	ANEXO 1.....	50
	ANEXO 2.....	51

1 INTRODUÇÃO

As espondiloartrites (EpA) constituem um grupo de artropatias inflamatórias crônicas caracterizadas principalmente pela inflamação do complexo ênteso-sinovial e do tecido ósseo, com achados concomitantes e aparentemente antagônicos de osteodestruição (erosões e osteoporose) e osteoproliferação ou neoformação óssea¹.

1.1 CONTEXTO E PROBLEMA

Pacientes com espondilite anquilosante (EA) apresentam quase 2 vezes mais fraturas vertebrais do que controles (OR 1,96; 95% IC 1,52 - 2,5) e 10% mais fraturas não vertebrais (OR 1,10; 95% IC 1,04 - 1,15) e seus fatores de risco são idade, sexo masculino, baixa densidade óssea em fêmur, maior tempo de doença, doença inflamatória intestinal concomitante e maior dano radiográfico. No entanto, dados que demonstrem risco aumentado para fraturas de fêmur são controversos².

Apesar da gravidade da OP associada a EA, sua fisiopatologia é pouco conhecida. Algumas evidências sugerem que há aumento da osteoclastogênese e reabsorção óssea, mediados pela ação de duas citocinas pró-inflamatórias principais, o $TNF\alpha$ e IL-17A e consequente ativação do sistema RANK-RANKL³. No entanto, um estudo com culturas de osteoblastos de pacientes com EA demonstrou que o $TNF\alpha$, apesar de estimular a replicação destas células, reduziu sua síntese de colágeno e atividade da fosfatase alcalina, resultando em uma diminuição expressiva da função osteoblástica⁴. Além disso, dois outros estudos encontraram menor diferenciação de monócitos em osteoclastos, in vitro, em pacientes com EA^{5,6}. Estes estudos sugerem que o aumento da reabsorção óssea parece não ser o único mecanismo que leva a perda óssea inflamatória nestas doenças.

A prevalência de osteoporose na EA varia entre 19-62%⁷ e esta alta variabilidade se deve às dificuldades técnicas em se avaliar a densidade mineral óssea na coluna destes pacientes; a ocorrência de sindesmófitos e demais neoformações ósseas não permitem sua verificação acurada pela densitometria óssea (DXA)¹, embora já ocorra deterioração estrutural e qualitativa quando avaliada por tomografia computadorizada^{8,9}, escore de osso trabecular ou TBS¹⁰⁻¹² e tomografia computadorizada periférica de alta resolução ou HR-pQCT¹³⁻¹⁵.

Vários estudos investigaram marcadores ósseos de formação e reabsorção em pacientes com EpA¹⁶⁻¹⁹ no entanto, a maioria deles levou a resultados discrepantes, deixando a questão do papel da inflamação no osteometabolismo sem resposta.

1.2 JUSTIFICATIVA

Ao contrário dos marcadores, a histomorfometria óssea (HO) avalia diretamente o remodelamento ósseo. Existem dois estudos na literatura avaliando HO de biópsia óssea transilíaca em EA. Lee e cols²⁰ estudaram 14 pacientes e mostraram volume ósseo reduzido em apenas 14% deles e em nenhum foi observada maiores superfície reabsorvida ou número de osteoclastos, sendo encontrada baixa taxa de formação óssea em vários. Szejnfeld e cols encontraram, em 16 pacientes com EA, 10 com defeito de mineralização óssea e 3 com osteomalácia²¹ caracterizando uma doença de baixo remodelamento por atraso na mineralização. Nenhum deles avaliou o compartimento cortical ou correlacionou estes achados com escores de neoformação óssea (mSASSS) e TBS.

1.3 OBJETIVOS

Analisar os parâmetros histomorfométricos, incluindo achados do osso trabecular e cortical, em pacientes com EA, por meio de biópsia óssea de crista ilíaca, e correlacioná-los com achados densitométricos, radiográficos e com avaliação clínica e laboratorial.

2 REVISÃO TEÓRICA

ESPONDILITE ANQUILOSANTE

A espondilite anquilosante (EA) e outras formas de artrite associada ao antígeno humano leucocitário (HLA-B27) constituem um grupo de artropatias inflamatórias crônicas, que são caracterizadas pela inflamação do complexo enteso-sinovial, resultando em sacroilíte, entesite e osteíte, bem como manifestações extra-articulares, especialmente a uveíte anterior aguda e a colite crônica²².

Pode acometer 0,5 a 1,5% da população branca, com importante variação geográfica da prevalência e das principais manifestações clínicas e fenotípicas. Há predileção pelo sexo masculino, especialmente nas terceiras e quartas décadas de vida. Além disso, pode

causar neoformação óssea e anquilose, particularmente das articulações sacroilíacas e facetárias, bem como dos discos (ânulo fibroso) e ligamentos intervertebrais²².

Embora exista forte associação com antígeno do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe 1 (HLA-B27), outros genes não MHC-1 também estão envolvidos na susceptibilidade, fisiopatogenia e características fenotípicas da doença, em especial ERAP-1 (ARTS-1) e IL-23²³.

A fibrocartilagem tem sido apontada como alvo primário e inicial da resposta imune inata e vários modelos animais têm sido desenvolvidos com base na indução de autoimunidade contra antígenos presentes na cartilagem e tecido fibroso. Estes incluem um modelo murino (BALB/c) de poliartrite, espondilite e sacroilíte, semelhante à EA humana, no qual uma resposta celular e humoral dirigida contra os agreganos, presentes nas fibrocartilagens das ênteses, é iniciada após imunização com proteoglicanos de cartilagem fetal humana²⁴. Além disso, tem sido demonstrado a importância das bactérias intestinais, patogênicas e comensais, e da imunopatologia da mucosa do cólon na etiopatogenia da doença.

A êntese e o tecido ósseo adjacente têm sido considerados como os sítios primários e iniciais do processo inflamatório das EpAs. No entanto, devido ao difícil acesso, dados histopatológicos detalhados e consistentes são escassos. Estudos imuno-histológicos de sacroilíte inicial descrevem osteíte primária com intensa neoangiogênese e sinovite secundária de aspecto mixóide e formação de tecido de granulação na fibrocartilagem. Ademais, foram encontradas células T CD4+ e CD8+, macrófagos CD68+ e fibroblastos. Outros estudos mostram maior expressão do TNF α e do fator de transformação do crescimento β (TGF β). O tecido ósseo subcondral é destruído e ocorre estímulo para um processo de reparo osteoblástico intenso com posterior ossificação endocondral e anquilose óssea²⁵.

FATORES DETERMINANTES DO REMODELAMENTO ÓSSEO

Em uma situação normal, o tecido ósseo está em constante remodelamento, caracterizado por reabsorção e neoformação óssea. A neoformação repara as áreas de microdano e garante a regulação da homeostase do cálcio e fósforo extracelulares. Este processo ocorre no contexto da unidade básica multicelular (UBM) e estes processos estão acoplados, o que significa que a quantidade de osso formado pelos osteoblastos (OB) compensaria a quantidade de osso previamente reabsorvida pelos osteoclastos (OC).

Alguns fatores, contudo, podem gerar um desequilíbrio destes processos devido a um déficit na formação óssea por OB, como ocorre com o avançar da idade, uso de corticoesteróides, imobilidade, etilismo, deficiência de hormônios sexuais, tumores e doenças inflamatórias. As atividades das células envolvidas no remodelamento ósseo, OB e OC são mediadas pelas vias RANKL-RANK e WNT²⁶.

A ativação dos osteoclastos pela via RANKL

Os OC, células gigantes multinucleadas derivadas dos monócitos, são as únicas células capazes de reabsorver tecido ósseo, aderindo-se a superfície óssea. O componente mineral é solubilizado pela secreção de íons, enquanto a matriz óssea é degradada por enzimas específicas incluindo a catepsina K. A ligação entre a atividade do OB e a formação de OC foi estabelecida nos primeiros estudos de histomorfometria e documentada em 1988²⁷.

Artropatias inflamatórias, como a espondilite anquilosante, são caracterizadas pelo desbalanço entre a reabsorção óssea mediada por OC e a formação óssea dependente dos OB, resultantes da ação de duas citocinas principais, $TNF\alpha$ e IL-17³. A citocina envolvida neste processo foi identificada 10 anos depois e chamada de fator de diferenciação de OC derivado de osteoblastos (ODG) ou ligante de osteoprotegerina (OPGL), o qual foi identificado como um membro da família TNF idêntico ao ligante do receptor ativador de $NF\kappa B$ (RANKL). Esta citocina é expressa em linfócitos T e contribui para ativação de células dendríticas expressando seu receptor, o RANK. Em resumo, a terminologia mais aceita hoje é: RANK, secretado ou expresso em células pré OC, ligante do RANK ou RANKL, excretado ou expresso na superfície de muitas células, e osteoprotegerina (OPG), a proteína capaz de inibir a ativação do RANK. O reconhecimento do papel de células T ativadas na osteoclastogênese define o início de uma nova área científica denominada osteoimunologia¹.

A via WNT/ β catenina

A diferenciação de OB é regulada pela via WNT/beta catenina (via WNT canônica), que funciona como grande reguladora da osteogênese juntamente com as proteínas morfogenéticas ósseas. O incremento da sinalização da via WNT também resulta em redução da osteoclastogênese e reabsorção óssea, promovendo e expressão de OPG nos OB. A regulação da via WNT canônica é feita pela produção de inibidores de receptores,

como a esclerostina e a proteína relacionada a Dickkopf-1 (DKK-1). A esclerostina é expressa quase exclusivamente nos osteócitos sob a influência de estresse mecânico no tecido ósseo. A DKK-1 é uma glicoproteína que funciona como inibidor solúvel da sinalização wnt/beta catenina, cuja concentração aumenta na fase tardia da diferenciação de OB. Sua expressão é limitada ao osso normalmente, mas já foi detectada em células neoplásicas de mieloma múltiplo³.

Desbalanço focal entre reabsorção e formação óssea nas doenças reumáticas

A reabsorção e formação óssea na medula podem ser moduladas pelas necessidades hematopoiéticas. Doenças reumáticas inflamatórias são exemplos intrigantes de situações de excesso de reabsorção óssea focal (erosões ósseas), associada a neoformação óssea inadequada ou excessiva.

Artrite reumatoide (AR) é caracterizada por doença óssea erosiva focal e perda óssea sistêmica sem sinais aparentes de reparo, mesmo após o controle do processo inflamatório. Em outras doenças como a artrite psoriásica (AP) e a espondilite anquilosante, ambas as condições de aumento de reabsorção óssea e neoformação podem coexistir. Entender a interação destes processos e seus desfechos podem contribuir para o conhecimento da fisiopatologia das doenças osteometabólicas sistêmicas e focais e melhor conhecimento de suas terapias²⁸.

Citocinas inflamatórias e metabolismo ósseo

Destruição excessiva e reparo inadequado do tecido ósseo são comuns na AR, enquanto na EA e na AP também ocorre neoformação óssea. Em todas estas doenças o aumento de IL-17 contribui para o dano ósseo. Os mecanismos da perda óssea dependente de IL-17A incluem ativação da osteoclastogênese diretamente ou via expressão de RANKL e M-CSF por células estromais²⁹ o OB³⁰, sinergicamente com TNF α . Além disso o TNF α inibe a osteoblastogênese através do aumento da expressão de DKK1, um inibidor da via WNT³¹.

IL-17 é uma citocina com grande poder osteoclastogênico, e seu receptores são expressos por várias células, incluindo osteoblastos, osteoclastos, sinoviócitos e condrócitos e seu estímulo resulta na ativação das vias NFkB (RANK) e vias das proteínas quinases mitógeno ativadas (MAPKs). As células Th-17 produzem diretamente RANKL e aumentam sua expressão em osteoblastos e fibroblastos sinoviais; assim como

incrementam a produção de $TNF\alpha$ e IL-1 em macrófagos sinoviais, levando a erosões ósseas através da osteoclastogênese³².

Em contrapartida alguns estudos demonstraram que IL-17A e $TNF\alpha$ também contribuem para a osteogênese. IL-17A pode aumentar a síntese de leptina, que inibe a adipogênese e promove osteogênese em células tronco mesenquimais da medula óssea³³. Estes estudos em conjunto permitem afirmar que IL-17A e $TNF\alpha$ promovem osteoclastogênese e diferenciação de OB, contudo o efeito prevalente do $TNF\alpha$ parece ser a inibição da formação óssea pelo estímulo de DKK1 nos sinoviócitos.

Na EA, os vários graus de erosões ósseas estão associados a extensa neoformação óssea, ocorrendo geralmente em sítios de proximidade com as erosões, envolvendo tipicamente as margens das articulações cartilaginosas, particularmente nas inserções de ênteses.

Além de IL-17 e $TNF\alpha$, outras citocinas têm sido implicadas na inflamação e neoformação óssea em EA. Sherlock e cols³⁴ observaram maior expressão de IL-23, uma citocina da família da IL-12, nas ênteses como manifestação inicial da doença e subsequentemente, ocorreu inflamação do tecido sinovial adjacente. Além disso, esta citocina estimulou a produção de IL-17 e F e IL-22. Existe ainda evidencia da produção de IL-23 no intestino, associada a colite microscópica na EA³⁵. O HLA-B27 por si, foi implicado no estímulo a produção de IL-23, por meio de vias autofágicas³⁶. Finalmente, polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do receptor de IL-23 (IL23R) foram associados a maior susceptibilidade ou proteção da EA, particularmente nos europeus³⁷, reforçando a associação da IL-23 na patogênese da EA.

A citocina IL-22 também tem seu papel na osteogênese na EA. Em um estudo, foi observado que ela estimulou a diferenciação de osteoblastos a partir de células precursoras na ênteses através da indução de STAT-3, o que certamente levou a formação óssea nestes sítios. IL-23 também promoveu osteoclastogênese em culturas compartilhadas com osteoblastos³⁸; e amplificou a expressão de RANK em células precursoras de osteoclastos, levando a posterior osteoclastogênese³⁹; em estudos in vitro, IL-23 levou a osteoclastogênese por meio do estímulo de IL17⁴⁰.

NEOFORMAÇÃO ÓSSEA NA ESPONDILITE ANQUILOSANTE

Em contraste com a perda óssea na AR, a inflamação na EA afeta as enteses levando a maior atividade de osteoblastos e neoformação óssea na forma de sindesmófitos. Ainda não se sabe se a formação óssea decorre de uma erosão ou se ocorre em locais

sem erosões prévias. Se a erosão ocorre inicialmente, fatores liberados da matriz óssea, como TGF β e BMPs podem promover este processo. Os sindesmófitos são produtos da ossificação endocondral²⁵ com uma fase cartilaginosa inicial, seguida por remodelamento e posterior mineralização óssea.

Antagonistas da via WNT

A esclerostina é uma antagonista da via WNT implicada no processo de neoformação óssea em EA. Articulações de pacientes com EA demonstraram níveis baixos de expressão de esclerostina por imuno-histoquímica, comparada a controles saudáveis. Além disso, níveis séricos de esclerostina inferiores aos controles saudáveis foram encontrados em pacientes com EA e foram associados a maior presença de sindesmófitos⁴¹. Interessante observar que anticorpos anti-esclerostina foram encontrados em pacientes com EA, comparados a controles saudáveis⁴². É provável que este bloqueio contribua para o processo de neoformação óssea.

A expressão de outros antagonistas da via WNT, como o DKK-1 também está reduzida em pacientes e modelos animais de EA. Em dos modelos de ratos hTNFtg, o bloqueio de DKK-1 levou a um aumento da sinalização da via WNT e fusão das articulações sacroilíacas⁴³. Em pacientes com EA, os níveis de DKK-1 (ligante em seu receptor LRP6) foram inferiores dos que nos controles saudáveis e pacientes com AR³¹. Além disso os níveis funcionantes foram maiores em pacientes com EA e menor progressão radiográfica, comparados aos pacientes progressores⁴⁴. Estes achados supõem que a atividade reduzida do DKK-1 pode contribuir para a osteoproliferação na EA.

Os agonistas da via WNT também parecem estar envolvidos. Em um estudo recente, níveis séricos elevados de Wnt3 foram encontrados em uma coorte de 204 pacientes com EA, comparado a controles, um achado consistente com maior atividade osteoblástica⁴⁵.

A via BMP e sua contribuição para formação óssea em EA

Os membros da família BMP (*bone morphogenetic proteins*) mostraram ser responsáveis pela formação endocondral em modelos animais de EA⁴⁶. Nesses modelos ensaios imuno-histoquímicos revelaram maior expressão de BMP-2, BMP-6 e BMP-7 nos sítios das ênteses. A maior expressão de *noggin*, um antagonista de amplo espectro das BMPs, inibiu a progressão de anquilose nesses modelos animais provando evidência que a mesma pode ser inibida pelo bloqueio da via BMP. As BMPs também foram dosadas nos

pacientes com EA. Chen e cols⁴⁷ observaram níveis séricos aumentados de BMP-2, BMP-4 e BMP-7 em pacientes com EA com sinais radiográficos de anquilose comparados a pacientes sem sinais de progressão radiográfica e controles saudáveis. Além disso níveis elevados de auto anticorpos contra o *noggin* foram identificados no soro de pacientes com EA, os quais teriam efeito potencial em aumentar a sinalização da via BMP⁴². Pode-se concluir, portanto, que a via de sinalização BMP pode contribuir para a osteogênese na EA, fazendo desta um potencial alvo para futuras terapias.

Estresse mecânico

Em modelos animais, sítios de formação óssea periosteal ocorrem nas ênteses, sítios de inserção de ligamentos e tendões no tecido ósseo, locais de estresse mecânico, e há muito tempo existe a suspeita que as forças mecânicas constituem estímulo importante à neoformação óssea⁴⁸⁻⁵⁰.

OSTEOPOROSE E FRATURAS VERTEBRAIS NA ESPONDILITE ANQUILOSANTE

Perda de massa óssea vertebral em EA ocorre precocemente no curso da doença, como pode ser demonstrado por exames com DXA e qTC (tomografia computadorizada quantitativa). Na doença avançada, contudo, a ocorrência de sindesmófitos não permite a verificação acurada da densidade óssea vertebral pela DXA, a qual pode estar normal, apesar da qTC já demonstrar perda óssea^{8,9}. Como resultado disso, na doença inicial observa-se maior prevalência de perda de massa óssea vertebral, enquanto que, na fase avançada, observa-se maior perda no quadril, o qual reflete melhor o grau de osteoporose e risco de fratura nesta fase mais tardia da doença¹.

A coluna anquilosada é susceptível a fraturas, mesmo de baixo impacto, devido a mudanças em suas propriedades biomecânicas. Estas fraturas, mesmo quando sintomáticas, podem passar despercebidas quando a dor é confundida, pelo próprio paciente, com atividade da doença. O diagnóstico tardio piora o prognóstico, uma vez que geralmente são fraturas instáveis e requerem diagnóstico imediato para evitar déficit neurológico irreversível⁷.

Na prática clínica, as fraturas vertebrais dolorosas são chamadas de clínicas e as assintomáticas, de morfométricas. Vários estudos reportaram a prevalência de fraturas na EA variando de 0,4 a 49%, mas tamanha discrepância também se deve à diferenças no recrutamento de pacientes e definição de fratura nestes estudos⁷.

Uma coorte de 939 pacientes com EA demonstrou que a maioria das fraturas ocorreu em pacientes homens (85%), com mais de 70 anos e se distribuíram da seguinte forma: 53% coluna cervical, 41,9% torácica, 18,2% lombar e 1,5% no sacro. Lesão medular ocorreu em 21,9%, mais comum em cervical (14,6%) e torácica (6,7%)⁵¹.

HISTOMORFOMETRIA ÓSSEA

A histomorfometria óssea consiste em uma avaliação histológica quantitativa de uma biópsia óssea calcificada, para obter informação sobre a remodelação e a estrutura óssea. Uma análise dinâmica é possível quando substâncias que fazem a marcação do osso são tomadas antes do procedimento e se depositam no local de formação óssea. A biópsia é indicada, na prática clínica, para diagnóstico de osteomalácia, diferentes formas de osteodistrofia renal e nos casos não explicados de fragilidade esquelética. As variáveis histomorfométricas são derivadas de medidas primárias realizadas ao microscópio, como área, perímetro e espessura.

A nomenclatura foi padronizada pela ASBMR (*American Society of Bone and Mineral Research*)⁵². Parâmetros histomorfométricos são geralmente divididos em estruturais e de remodelamento, sendo o último ainda subdividido em parâmetros estáticos e dinâmicos. A avaliação rotineira normalmente se detém no osso trabecular, porém a análise também pode ser feita do osso cortical e das superfícies endocortical e periosteal, trazendo inúmeras informações, principalmente nos casos de indivíduos em crescimento e a resposta ao uso de terapias anabólicas.

Os parâmetros estruturais trazem informações sobre a massa e estrutura óssea. Estão relacionados à estrutura óssea tridimensional e são calculados a partir da área e perímetro totais do osso. Sua avaliação reflete a força do tecido ósseo. Os parâmetros de remodelação estáticos promovem informações sobre o montante de tecido ósseo não mineralizado (osteóide) e a extensão das cavidades de reabsorção (lacunas de Howship) e os dinâmicos demonstram a taxa de formação óssea e só podem ser medidos quando os pacientes fazem uso da tetraciclina antes da biópsia⁵³.

3. METODOLOGIA

3.1 DESENHO

Foi realizado um estudo transversal com grupo controle e amostragem de conveniência.

3.2 PACIENTES

Foram incluídos homens de 18 a 55 anos com diagnóstico de EA e que preencheram os critérios modificados de Nova Iorque⁵⁴. Todos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo comitê de ética do Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (protocolo nº 94131618.3.0000.0096) antes de qualquer procedimento.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos pacientes com outras causas secundárias de osteoporose, tais como hipogonadismo clínico ou laboratorial, hiper ou hipotireoidismo, hiperparatireoidismo primário ou hipoparatiroidismo, doença de Cushing, doença celíaca ou doença renal crônica, doença inflamatória intestinal e doenças pulmonares, ou qualquer outra doença inflamatória imunomediada, bem como neoplasias. O uso atual ou prévio de medicações que interferem com o metabolismo mineral e ósseo não foi permitido, incluindo glicocorticosteroides, bisfosfonatos, terapia hormonal androgênica, teriparatida, denosumabe ou romosozumabe. Suplementação de cálcio e vitamina D3 foram permitidos em doses habituais.

3.4 GRUPO CONTROLE E REFERÊNCIAS

Os parâmetros histomorfométricos estruturais e de remodelamento estático de osso trabecular foram comparados com dados normativos de biópsias transilíacas de cadáveres de indivíduos previamente saudáveis (n=21) pareados para idade e sexo, que serviu como grupo controle⁵⁵. Os parâmetros de remodelamento dinâmico foram comparados com valores de normalidade de coorte histórica com dados de 41 adultos saudáveis (homens e mulheres entre 19 e 56 anos)⁵⁶. Os valores de normalidade de homens com menos de 50 anos do estudo de Tong e cols foram considerados para comparação das medidas de osso cortical⁵⁷.

3.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL

Dados demográficos e fatores clínicos de risco para baixa massa óssea e fragilidade óssea foram avaliados por meio de questionário incluindo idade, cor da pele autorreferida, ocupação, dados sobre fratura prévia, história familiar de osteoporose e fratura, hábitos de vida atuais (tabagismo, ingestão de álcool e exercícios físicos)⁵⁸ e comorbidades. Foi considerada fratura por fragilidade ou baixo impacto quando ocorrida por trauma menor ou igual à queda da própria altura⁵⁹.

Foram colhidas informações sobre tempo de doença, acometimento de articulações periféricas e manifestações extra musculoesqueléticas em algum momento da doença, tratamento atual e prévio, bem como realizados índices de atividade e gravidade da doença: BASDAI (*Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*)⁶⁰; ASDAS (*Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*)⁶¹; BASFI (*Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index*)⁶²; BASMI (*Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index*)⁶⁰.

Foram realizados os seguintes exames laboratoriais: cálcio total (método arsenazo III, referência 8,4-10,2 mg/dL), paratormônio (PTH) intacto (quimioluminescência, referência 15-68,3 pg/mL), 25-OH-vitamina D (quimioluminescência, referência 30-60 ng/mL) fósforo inorgânico (fosfomolibdato, referência 2,3-4,7 ng/dL), fosfatase alcalina (para-nitrofenil fosfato, referência 40-250 U/L), calciúria de 24h (arsenazo III 100-300mg/24h), testosterona total (quimioluminescência, referência 21-49 anos: 47,01- 980,56 ng/dL e ≥50 anos: 127,18 a 1020,36 ng/dL), hormônio tireoidiano (TSH, quimioluminescência, referência 0,35-4,94 µU/mL), proteína c reativa ultrassensível (usPCR, turbidimetria, referência ≤0,5mg/dL), velocidade de hemossedimentação (VHS, westergren, referência 0-15mm/h) e pesquisa do alelo HLA-B27 (reação de cadeia de polimerase). Foi considerada hipercalciúria valores acima de 4mg/ kg de cálcio na urina de 24h.

3.6 DENSITOMETRIA ÓSSEA

Como medidas da densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar (L1-L4), fêmur proximal e antebraço foram avaliadas por meio da DXA (*dual-energy X-ray absorptiometry*) usando o aparelho Hologic, modelo QDR4500®. Os valores foram expressos em g/cm², T-score e Z-score. Para o posicionamento e análise dos sítios esqueléticos avaliados foram seguidos os protocolos propostos pela ISCD (*International Society of Clinical Densitometry*)⁶³. O T-score foi usado para o diagnóstico de osteopenia e osteoporose em homens acima de 50 anos de idade. Para aqueles com idade inferior a 50 anos, o Z-score foi usado para classificá-los como baixa densidade óssea para a idade se menor ou igual a - 2 desvios-padrão, como preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS)⁶⁴. O

valor da mínima variação significativa (MVS) com nível de confiança de 95%, obtido para a coluna lombar e o fêmur total, foi de 0,036 g/cm² e 0,22 g/cm², respectivamente.

3.7 ESCORE DE OSSO TRABECULAR

O escore de osso trabecular (iNsight[®] software) foi analisado nas vértebras lombares (L1-L4) na mesma região de interesse adquirida pela DXA e foram utilizados valores de referência da população latino-americana masculina: TBS > 1,338 normal, entre 1,258 e 1,338 microarquitetura parcialmente deteriorada e <1,258 deteriorada⁶⁵. Nenhum paciente apresentou IMC fora da margem permitida para se fazer o TBS (15 a 37 kg/m²). Foi realizada a estratificação de risco em baixo e alto risco por meio da ferramenta FRAX[®] (<http://www.shef.ac.uk/FRAX>) para pacientes com ≥ 40 anos de idade, com ajustes pela metodologia NOGG (*National Osteoporosis Guideline Group*), conforme recomendado para a população brasileira⁶⁶.

3.8 RADIOGRAFIAS

Radiografias de coluna cervical, torácica e lombar com incidências ântero-posterior e perfil foram realizadas. As alturas anterior, média e posterior das vértebras T4 a L4 foram avaliadas nas radiografias laterais usando-se a classificação semiquantitativa de Genant para avaliação de fraturas vertebrais⁶⁷.

O cálculo do mSASSS (*Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score modificado*) foi realizado nas radiografias de coluna cervical e lombar em perfil, usando os ângulos anteriores do platô inferior de C2 inferior ao platô superior de T1 e do platô inferior de T12 ao platô superior de S1, de acordo com a presença de erosões, quadraturas, ângulos brilhantes, sindesmófitos ou pontes ósseas, e posterior graduação de 0 a 3⁶⁸.

A avaliação das radiografias da coluna vertebral foi feita por dois médicos reumatologistas com experiência no método (NPM e MMP). O índice *kappa* para avaliação de fratura foi de 1,0 (p<0,001) e o índice de correlação intraclasse para o mSASSS foi 0,977 (IC 95% 0,945-0,991, p<0,001) entre os dois leitores.

3.9 BIÓPSIA ÓSSEA TRANSILÍACA E HISTOMORFOMETRIA ÓSSEA (HO)

Antes de serem submetidos à biópsia óssea, todos os pacientes receberam tetraciclina da seguinte forma: cloridrato de tetraciclina 500 mg duas vezes ao dia, via oral

por 3 dias, seguido de intervalo de 10 dias sem a medicação e 3 dias adicionais de cloridrato de tetraciclina 500 mg duas vezes ao dia. Após 3 a 5 dias do último dia, a biópsia transilíaca foi realizada seguindo um procedimento padrão⁶⁹, obtida de um local aproximadamente 2 cm posterior e inferior à espinha ilíaca anterossuperior direita usando uma trefina de Bordier com borda serrilhada e diâmetro interno de 7,5 mm, para obter tecido suficiente para análise, incluindo osso trabecular e cortical.

Os fragmentos permaneceram inicialmente em frascos com etanol a 70% por 3 dias (fixação), seguido por 3-5 dias em etanol a 100% (desidratação) e depois em tolueno (clareamento) por mais um dia. Em seguida, os fragmentos eram embebidos por 3 dias em 3 diferentes soluções contendo metilmetacrilato: solução I (25% de dibutilftlato/75% de metilmetacrilato); solução II (25% de dibutilftlato/75% de metilmetacrilato + 1g de peróxido de benzoíla [1%]); solução III (25% de dibutilftlato/75% de metilmetacrilato + 2g peróxido de benzoíla [2%]). Posteriormente os fragmentos – ainda dentro dos vidros – eram colocados em uma estufa a 37°C por 24 horas, até a total polimerização do metacrilato. O frasco era então quebrado, formando, com o auxílio de uma serra, um bloco retangular, que era lixado na sequência. A partir dos blocos, fragmentos com espessura de 7 e 10 µm eram obtidos através de um micrótomo com lâminas de tungstênio, específicas para o tecido ósseo, posteriormente coradas com azul de toluidina (7 µm). O preparo do fragmento para a leitura da HO foi realizado pelo mesmo técnico. Todos os procedimentos utilizados são padronizados no laboratório PRO, da Fundação Pró-Renal, em Curitiba, Paraná⁵³.

Todas as análises de HO foram realizadas pelo mesmo investigador (CAM), cego para as características da amostra, usando um microscópio (Nikon Labophot II, Tóquio, Japão) equipado com câmera de vídeo colorida digital de alta resolução UV (*Olympus DP71, Center Valley, PA, USA*). O sistema de análise de imagens utilizado foi o *OsteoMeasure (OsteoMetrics, Inc., Atlanta, GA, USA)*. Os parâmetros estruturais avaliados foram o volume (BV/TV) e a espessura (Tb.Th) do osso trabecular e o número (Tb.N) e a separação (Tb.Sp) de trabéculas. Os parâmetros de remodelamento estático avaliados foram superfície (OS/BS) e espessura (O.Th) osteoides e as superfícies reabsorvida (ES/BS), osteoblástica (Ob.S/BS) e osteoclástica (OcS/BS). No osso cortical, foram avaliadas espessura (Ct.Th) e porosidade (Ct.Po). Os parâmetros de remodelamento dinâmico avaliados foram a superfície de mineralização (MS/BS), taxas de aposição mineral (MAR) e de formação óssea (BFR/BS), taxa de aposição óssea ajustada (Aj.AR) e intervalo de tempo para mineralização (Mlt). Foram considerados critérios para osteomalácia a combinação de O.Th>12,5µm e Mlt> 100 dias⁵².

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados de forma descritiva, com as variáveis categóricas apresentadas em frequências absolutas e relativas e as numéricas como média e desvio-padrão. A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste exato de Fisher foi usado para testar a associação entre as variáveis categóricas e os testes *T de Student* e *u de Mann-Whitney* ou para variáveis numéricas de distribuição normal e não normal respectivamente. As variáveis Mlt, MAR, BFR/BS, MS/BS e Aj.Ar como tiveram distribuição não normal, foram dicotomizadas (como dentro do intervalo de referência ou não) para aplicação do teste de Fisher. Foram realizadas correlações de Spearman entre variáveis numéricas e as variáveis que tiveram correlação foram incluídas em modelos de regressão linear múltipla. Foi utilizado o software *SPSS Statistics versão 23 (IBM)* para a análise e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

4. RESULTADOS

Foram avaliados 235 pacientes, dos quais 113 preenchiam critérios de inclusão e destes, 88 se recusaram. Dos 25 pacientes restantes, 4 foram apresentaram critérios de exclusão na avaliação laboratorial (3 pacientes apresentaram diabetes mellitus e 1 paciente com hipogonadismo). Foram incluídos, portanto, neste estudo transversal, 21 pacientes, com média de idade de 45,8 anos e longo tempo de doença. Em sua maioria eram brancos, com alta positividade para o HLA-B27, elevada frequência de doença ativa pelo ASDAS-PCR (66,7%) e comprometimento moderado da função e mobilidade (Tabela 1). A maior parte (85,7%) eram sedentários, uma minoria (19%) era tabagista e nenhum era etilista. Nenhum deles apresentava história familiar de fratura de fêmur ou pessoal de fratura vertebral clínica ou morfométrica. Apenas um paciente relatou fratura de úmero de baixo impacto.

Tabela 1: Características clínicas e demográficas dos pacientes com EA

Variáveis	N = 21
Idade (anos)	45,8 (5,6)
Duração da doença (anos)	17,5 (11,2)
Atraso diagnóstico (meses)	99 (105,5)
Positividade para HLA-B27 (%)	19, 90,5%
Etnia Branca	14, 66,7%

Entesite	14, 66,7%
Artrite periférica	7, 33,3%
Trabalho braçal	14, 66,7%
Uveíte	5, 23,8%
IMC (kg/ m2)	27,3 (4,3)
Normal	8, 38,1%
Sobrepeso	5, 23,8%
Obesidade grau 1	8, 38,1%
Tabagismo atual	4, 19%
Uso atual de AINEs	12, 57,1%
DMARDs sintéticas	1, 4,7%
DMARDs biológicas	11, 52,4%
iTNF	10, 47,7%
iIL17	1, 4,7%
VHS (mm)	3,7 (1,8)
PCR (mg/dL)	0.7 (1,0)
ASDAS-PCR	2.7 (1,2)
Remissão	4, 19%
Baixa atividade	3, 14,3%
Alta atividade	9, 42,9%
Muito alta atividade	5, 23,8%
BASDAI	3,8 (2,5)
BASMI	4,8 (1,9)
BASFI	4,5 (2,7)

IMC: Índice de Massa Corporal. AINEs: Anti-inflamatórios não esteroidais. BASDAI: Índice de Atividade da Doença da Espondilite Anquilosante de Bath; ASDAS: Escore de Atividade da Doença da Espondilite Anquilosante; BASFI: Índice Funcional da Espondilite Anquilosante de Bath; BASMI: Índice de Metrologia da Espondilite Anquilosante de Bath; DMCDs: drogas modificadoras do curso da doença; DA: atividade da doença

Na histomorfometria óssea, 23,8% (n=5) dos pacientes apresentaram volume ósseo reduzido, destes 1 apresentou osteoporose densitométrica e TBS alterado (55 anos), 1 teve baixa massa óssea e TBS alterado (37 anos), 1 teve apenas o TBS alterado e os outros 2 tiveram ambos os exames normais. O volume ósseo teve associação positiva com o IMC após ajustes para idade, ASDAS-PCR, DMO de coluna e fêmur total (R^2_{ajust} 0,637,

p=0,005), no modelo de regressão múltipla. Ao se comparar os parâmetros estruturais e de remodelamento estático do osso trabecular entre os pacientes e os controles, observou-se um aumento na espessura osteoide (p=0,027) e uma tendência a uma menor superfície osteoclástica (p=0,055) no grupo de pacientes (Tabela 2). Os pacientes em uso de imunobiológicos tiveram menores superfície osteoblástica ($0,58\% \pm 0,95$ x $2,6\% \pm 2,4$; p=0,043) e fosfatase alcalina ($74,2 \text{ mg/dL} \pm 17,2$ x $94,2 \text{ mg/dL} \pm 17,5$; p=0,029) comparados aos pacientes em uso exclusivo de antiinflamatórios (AINEs).

Tabela 2. Parâmetros estáticos do osso trabecular na histomorfometria óssea dos pacientes com EA comparados a controles saudáveis de uma coorte histórica.

	Pacientes com EA (n=21)	Controles saudáveis masculinos (n=21)	p
Idade (anos)	45,8 (5,6)	41,2 (1,9)	0,181
Volume ósseo (BV/TV, %)	24,4 (8,0)	24,0 (48)	0,792
Espessura trabecular (Tb.Th, μm)	124,2 (26,6)	114,6 (21,7)	0,208
Separação trabecular (Tb.Sp, μm)	405,6 (122,4)	371,8 (86,0)	0,251
Número trabecular (Tb.N, n/mm)	1,9 (0,5)	2,1 (0,4)	0,209
Superfície osteoide (OS/BS, %)	17,6 (14,2)	13,5 (13,8)	0,333
Espessura do osteoide (O.Th, μm)	13,8 (7,6)	9,2 (1,5)	0,027
Superfície osteoblástica (Ob.S/BS, %)	1,6 (2,1)	1,0 (1,0)	0,772
Superfície reabsorvida (ES/BS, %)	2,4 (2,4)	2,2 (1,0)	0,651
Superfície osteoclástica (OcS/BS, %)	0,02 (0,06)	0,021 (0,05)	0,055

Os pacientes apresentaram maior intervalo de tempo de mineralização (Figura 1) e menores superfície de mineralização e taxa de formação óssea em relação aos valores de referência (Tabela 3), de forma significativa. Além disso, 23,8% (n=5) dos pacientes apresentaram critérios para osteomalácia e destes, 2 tiveram alteração na DMO do antebraço isolada (1 com osteopenia e 1 com baixa massa óssea), 1 com osteoporose de antebraço e osteopenia de fêmur e 2 com DXA normal. Dentre os pacientes com osteomalácia, apenas 1 apresentou nível sérico de 25-hidroxi-vitamina D menor que 30ng/ml.

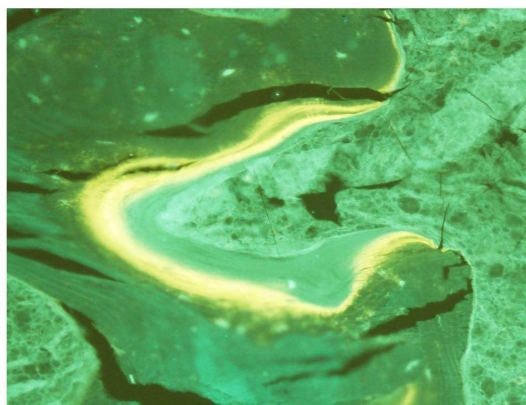


Figura 1. Seção histológica do osso trabecular mostrando marcação difusa de tetraciclina (anormal). Paciente com atraso no intervalo de tempo de mineralização e espessura osteoide aumentada. Seção óssea não corada sob luz UV (aumento de 100 vezes).

Tabela 3. Parâmetros trabeculares dinâmicos e estáticos de osso cortical em pacientes com EA comparados a dados de referência da literatura.

	Pacientes (n=21)	Referência	p
Espessura cortical (Ct.Th, μm)	(218,4) 698,8	820 (75)*	0,031
Porosidade cortical (Ct.Po %)	5,9 (3,5)	4,2 (0,5)*	0,015
Superfície mineralizante (MS/BS, %)	7,11 (3,8)	18,3 (7,5)**	0,0029
Taxa de aposição mineral (MAR, $\mu\text{m}/\text{dia}$)	0,69 (0,33)	0,65 (0,12)**	0,14
Taxa de formação óssea (BFR/BS, $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{dia}$)	0,046 (0,03)	0,13 (0,07)**	0,0074
Taxa de aposição óssea ajustada (Aj.AR, $\mu\text{m}/\text{dia}$)	0,46 (0,58)	0,5 (0,2)**	0,286
Intervalo de tempo de mineralização (Mlt, dias)	105,7 (179,3)	21,3 (2,3)**	0,0074

*(n=41); **(n=12)

Houve correlação positiva do fósforo inorgânico sérico com a taxa de aposição óssea ajustada ($r=0,493$; $p=0,023$) e superfície de mineralização ($r=0,544$; $p=0,011$), e negativa com o intervalo de tempo para mineralização ($r=-0,448$; $p=0,042$). No modelo de regressão linear múltipla, cuja variável dependente foi a superfície mineralizante, a associação positiva com o fósforo sérico se manteve após ajustes para idade, IMC e nível sérico de 25-hidroxivitamina D ($R^2_{\text{ajust}}=0,548$, $p=0,009$). Embora os níveis séricos de fósforo inorgânico

estivessem dentro da faixa de referência (2,3-4,7 mg/dL) em todos os pacientes, dois deles apresentaram 2,4 mg/dL e nenhum foi acima de 3,8 mg/dL.

Com relação ao osso cortical, 16 pacientes (76,2%) apresentaram espessura reduzida e 11 pacientes (52,3%) aumento da porosidade e estas diferenças tiveram significância estatística (Tabela 3) quando comparados a valores de normalidade. A combinação de espessura reduzida e porosidade aumentada foi o padrão mais comum (Figura 2), encontrado em 6 pacientes (28,5%), no entanto 5 pacientes (23,8%) apresentaram espessura normal/aumentada e aumento da porosidade concomitante. Trabecularização da cortical foi encontrada em 52,3% (n=11/21) e a DMO do rádio 33% foi menor nestes pacientes ($0,704 \text{ g/cm}^2 \pm 0,06$) do que naqueles sem trabecularização ($0,766 \text{ g/cm}^2 \pm 0,06$) com $p=0,046$.

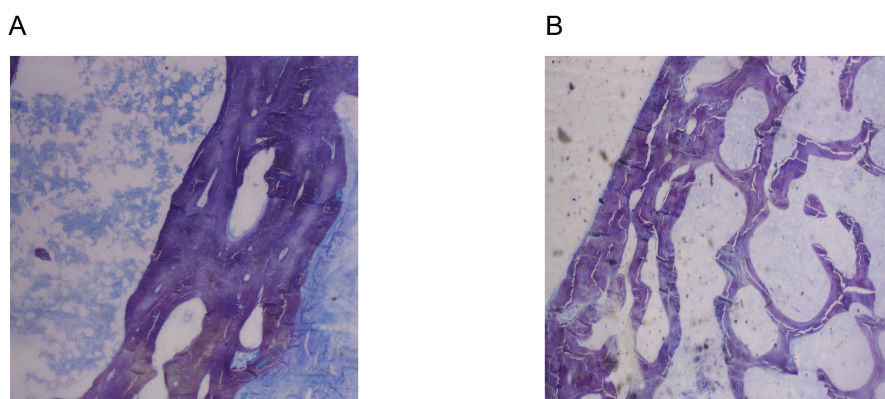


Figura 2. Seção histológica de osso cortical. A. Porosidade aumentada e redução da espessura cortical. B. Trabecularização cortical. Corante azul de toluidina (aumento de 40 vezes).

A espessura cortical teve correlação positiva com mSASSS ($r=0,452$, $p=0,004$) mas após regressão linear múltipla ajustada para idade, IMC e tempo de doença não houve significância estatística. A porosidade cortical teve correlação positiva com IMC ($r=0,783$, $p<0,001$) e esta associação positiva se manteve na regressão linear múltipla ajustada para idade, PTH, tempo e atividade de doença ($R^2_{ajust}=0,705$, $p=0,023$).

A prevalência de alterações na DXA foi de 42,8% (n=9) (Tabela 4). Embora as medidas de DMO (densidade mineral óssea) tenham apresentado correlações significativas com os parâmetros estruturais da HO (anexo 1), após regressão linear múltipla ajustada para idade, IMC e duração da doença, a significância não foi mantida. A DMO da coluna vertebral de associou positivamente ao IMC ($p=0,024$) e negativamente ao ASDAS-PCR ($p=0,01$) no modelo final de regressão linear múltipla, após ajustes para idade e mSASSS ($R^2_{ajust}=0,496$, $p=0,021$).

O TBS se mostrou alterado em 57,1% dos pacientes (tabela 4), e se correlacionou negativamente com espessura cortical e ASDAS-PCR (Anexo 1), no entanto na regressão linear múltipla ajustada para idade e IMC, houve apenas associação negativa com ASDAS-PCR ($R^2_{ajust}=0,569$, $p=0,012$). O FRAX/NOGG ajustado para o TBS foi considerado de alto risco em 41,2% dos pacientes em que foi calculado ($n=18$). Não houve diferença nos parâmetros histomorfométricos entre pacientes com FRAX de alto ou baixo risco.

Tabela 4. Parâmetros de imagem dos pacientes com EA.

Exames de imagem	Pacientes (n=21)
Parâmetros DXA (g/cm^2)	
Coluna lombar	1,019 (0,19)
Colo do fêmur	0,783 (0,12)
Fêmur total	0,906 (0,12)
Antebraço distal (rádio 33%)	0,730 (0,71)
Diagnóstico densitométrico, segundo a OMS	
Normal	12, 57,2%
Baixa massa óssea*	5, 23,8%
Osteopenia**	2, 9,5%
Osteoporose**	2, 9,5%
TBS	1,303 (0,12)
Normal	9, 42,9%
Microarquitetura parcialmente deteriorada	6, 28,6%
Microarquitetura deteriorada	6, 28,6%
mSASSS	24,7 (22,2)
Presença de sindesmófitos	16, 77,1%

*($n=17$), **($n=4$), TBS *Trabecular Bone Score*; mSASSS *modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score*; OMS: Organização Mundial da Saúde.

Hipercalciúria foi observada em 25% ($n=5$) e destes, 3 apresentaram litíase renal previamente diagnosticada. A fostatase alcalina total (FA) teve associação negativa com idade ($p=0,001$), TBS ($p<0,001$) e tempo de doença ($p=0,008$) e positiva com superfície osteoblástica ($p=0,001$) no modelo de regressão com ajustes para IMC, e ASDAS-PCR ($R^2_{ajust}=0,911$, $p<0,001$). Além disso foi maior nos pacientes fumantes ($104,75 \text{ mg/dL} \pm 16,6$) do que nos não fumantes ($78,7 \text{ mg/dL} \pm 17,9$, $p=0,033$). Demais resultados de exames laboratoriais constam na tabela 5.

Tabela 5. Exames laboratoriais dos pacientes com EA

Exames	Pacientes (n=21)
Cálcio (mg/dL)	9,4 ± 0,3
Fósforo inorgânico (mg/dL)	3,2 ± 0,4
25 (OH) vitamina D (ng/mL)	30,7 ± 8,9
≥30	12, 57,1%
15-29	9, 42,9%
Fosfatase alcalina (mg/dL)	84,6 ± 19,7
PTH intacto (pg/dL)	63,3 ± 24,4
≤ 68.3*	14, 66,7%
>68,3**	7, 33,3%
Testosterona (ng/mL)	539,4 ± 249,4
Creatinina (mg/dL)	0,87 ± 0,1
Clearance de creatinina (ml/min)	100,5 ± 9,5
Calciúria 24h (mg/24h)***	204,2 ± 92,1
≤4 mg/ kg	15, 75%
>4 mg/ kg	5, 25%
Urolitíase	3, 15%

*normal, **acima da referência, ***n=20. PTH: hormônio paratireoideiano.

DISCUSSÃO

Nossos resultados histomorfométricos mostraram uma doença óssea de baixo remodelamento com defeito de mineralização, apesar do volume ósseo trabecular preservado, associados ao comprometimento da espessura e aumento da porosidade do osso cortical em pacientes jovens com EA de longa evolução.

O atraso no tempo de mineralização e a menor taxa de formação óssea, combinados com um aumento na espessura osteoide observado nos pacientes, sugerem uma doença óssea de baixo remodelamento, semelhante ao que foi observado por Szejnfeld²¹. Além disso, propriedades alteradas da matriz óssea, como uma redução na relação mineral / matriz, foram observadas em camundongos transgênicos positivos para HLA-B27, correlacionando-se com perda óssea alveolar⁷⁰. Embora tenhamos encontrado um aumento na espessura osteoide, a superfície osteoide foi semelhante à dos controles, e esse resultado já foi observado anteriormente em associação com o uso de bifosfonatos e foi denominado osteomalácia focal⁷¹.

Embora os níveis plasmáticos de fosfato inorgânico estivessem dentro da faixa normal, eles se correlacionaram com variáveis relacionadas à mineralização óssea. Isso pode implicar em uma disponibilidade reduzida de fosfato durante a mineralização ou um balanço negativo de fosfato devido à perda renal. Níveis elevados de fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) no soro foram observados em pacientes com EA comparado a controles⁷², assim como em crianças com doença inflamatória intestinal ativa⁷³, doença que compartilha mecanismos fisiopatogênicos com a EA. Outra possibilidade pode ser a presença de disbiose/inflamação intestinal subclínica que afeta mais da metade dos pacientes com EA⁷⁴, levando a uma menor absorção intestinal de fosfato. Estudos adicionais são necessários para compreender a relação entre fosfato e fragilidade óssea na EA.

Uma possível explicação para nossos achados poderia envolver uma disfunção dos osteócitos, uma vez que essas células desempenham um papel crucial na mineralização, transportando cálcio e fosfato através de seu sistema canalicular e secretando proteínas reguladoras como proteína da matriz dentinária (DMP1), fosfoglicoproteína da matriz extracelular (MEPE), osteopontina, PHEX (homólogo da enzima reguladora de fosfato ligado ao cromossomo X), ENPP1 (ectonucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase I) e ANKH (homólogo da proteína anquilosante progressiva), entre outros⁷⁵. Uno e cols. demonstraram que o TNF- α reduziu a expressão gênica e proteica do gene PHEX em modelos animais de colite, inibindo a mineralização dos osteoblastos⁷⁶. Da mesma forma, Ito e cols observaram um aumento no FGF-23 e a supressão das proteínas PHEX, DMP-1 e ENPP1 em células semelhantes aos osteócitos e tecido ósseo humano após a estimulação com TNF e IL1- β ⁷⁷, sugerindo uma influência clara das citocinas pró-inflamatórias na expressão de FGF-23 secretado pelos osteócitos e na regulação da mineralização.

Além disso, há evidências de possível disfunção dos osteócitos na EA, uma vez que o marcador primário dos osteócitos, a esclerostina, pode estar suprimida nesses pacientes. Um estudo anterior demonstrou uma expressão quase ausente de esclerostina no osso cortical periarticular de pacientes com EA em comparação com pacientes com artrite reumatoide e osteoartrite, correlacionando-se com a formação de novos sindesmófitos⁴¹. Além disso, a baixa produção de esclerostina correlacionou-se com a atividade da doença em pacientes com EA em outro estudo, e permaneceu suprimida mesmo após o tratamento com anti-TNF⁷⁸. Vale ressaltar que a expressão da esclerostina pode ir além dos osteócitos, incluindo condroblastos hipertróficos e células residentes da entese, sendo possível que

atue de forma antagônica no ambiente ósseo e no microambiente articular⁷⁹. Pode estar suprimida no osso periarticular/enteseal levando à neoformação óssea, mas também pode estar aumentada no osso trabecular, contribuindo para perda óssea sistêmica. Vincent e cols⁸⁰ demonstraram que o TNF-Related Weak Inducer of Apoptosis (TWEAK), sozinho e com TNF α foram capazes de induzir a expressão de esclerostina in vitro, regulando a função dos osteoblastos.

O volume ósseo trabecular estava normal ou aumentado na maioria dos pacientes, semelhante a outras condições osteometabólicas com baixo remodelamento, como hipoparatiroidismo primário⁸¹. Considerando outras doenças caracterizadas pela baixa formação óssea, como doença óssea adinâmica na insuficiência renal crônica⁸², diabetes mellitus⁸³, osteoporose induzida por glicocorticoides⁸⁴ e hipofosfatase⁸⁵, podemos inferir uma possível assinatura de células osteoprogenitoras, embora com mecanismos celulares e vias moleculares diferentes. Realizar uma análise transcriptômica para estabelecer os mecanismos envolvidos na regulação para cima ou para baixo das vias relacionadas à sinalização e sobrevivência dos osteoblastos e osteócitos, especialmente a via Wnt, seria um próximo passo interessante para melhor compreender a fisiopatologia e desenvolver estratégias terapêuticas para pacientes com EA.

Não foi observado aumento significativo na superfície osteoclástica ou na reabsorção no grupo de pacientes em comparação com os controles, o que está em consonância com outros estudos^{20,21}. Considerando que o tratamento preferencial atual para a osteoporose na espondilite anquilosante envolve bisfosfonatos, medicamentos antirreabsortivos que podem agravar o comprometimento da mineralização, é possível que, além dos desafios no diagnóstico da fragilidade óssea na espondilite anquilosante, os pacientes possam não estar recebendo o tratamento mais adequado.

Além disso, observamos um padrão de osso cortical caracterizado por menor espessura e aumento da porosidade, com mais da metade dos pacientes apresentando trabecularização cortical. É possível que o córtex esquelético apendicular seja afetado mais cedo no curso da doença, como indicado por um estudo que demonstrou afinamento cortical do rádio distal usando HRpQCT em espondilite anquilosante não radiográfica inicial (menos de 2 anos de doença), enquanto o osso trabecular permaneceu preservado¹³. Também observamos uma relação entre pior DMO (densidade mineral óssea) do rádio a 33%, refletindo o osso cortical, com doença mais precoce e aumento da trabecularização. Embora não tenhamos avaliado parâmetros de remodelação no osso cortical, podemos

inferir a partir das descobertas acima uma possível assincronia entre o osso cortical e trabecular, com padrões de alta e baixa remodelação, respectivamente (figura 3). No entanto, o verdadeiro impacto do envolvimento do osso cortical no risco de fratura na espondilite anquilosante ainda não é conhecido, uma vez que as fraturas vertebrais são mais comuns do que as fraturas do quadril⁸⁶.

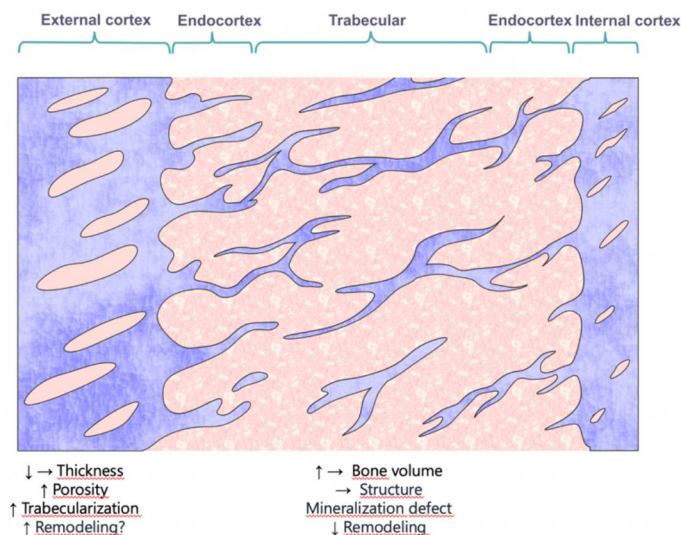


Figura 3. Observa-se uma assincronia entre o osso trabecular e o cortical, com volume ósseo preservado, defeito na mineralização e baixa remodelação no primeiro, e maior porosidade e redução na espessura, sugerindo potencial alta remodelação, no segundo.

No que diz respeito às medidas de DXA, cerca de 30% dos pacientes tinham osteoporose ou massa óssea baixa, de forma semelhante ao demonstrado anteriormente^{7,87}. No entanto, não está claro se o DXA reflete o risco de fratura na espondilite anquilosante, uma vez que muitos indivíduos podem ter fraturas com escores de DXA normais ou minimamente alterados na coluna lombar¹¹. A idade mais jovem incluída em nosso estudo pode explicar a ausência de fraturas por fragilidade, uma vez que elas são mais comuns nesses pacientes a partir dos 60 anos⁷.

Vários autores demonstraram que o TBS (Trabecular Bone Score) é um preditor de risco de fratura vertebral e não vertebral na espondilite anquilosante, especialmente em pacientes com doença ativa, independentemente das medidas de DXA^{12,88-91}. Em nosso estudo, o TBS foi reduzido em mais da metade dos pacientes e foi influenciado pela atividade da doença, de forma semelhante à DMO da coluna lombar, demonstrando o potencial impacto da atividade inflamatória na microarquitetura óssea vertebral. No entanto, não se correlacionou com as variáveis estáticas do osso trabecular, incluindo volume ósseo e espessura trabecular, e alguns estudos in vivo relataram correlações fracas a moderadas

entre o TBS e a microarquitetura por outros métodos⁹². Parte dessa variabilidade parece ser um desafio na comparação da microarquitetura de segmentos ósseos não axiais, como a crista ilíaca, e o TBS da coluna lombar.

Encontramos hipercalcúria em cinco pacientes e cálculos renais em três, o que está alinhado com evidências de uma maior prevalência de urolitíase na EA⁹³. Inicialmente, poderíamos pensar que nossas descobertas poderiam ser explicadas pela hipercalcúria em si, já que análises de BH (histomorfometria óssea) de pacientes com hipercalcúria idiopática mostraram um grau de déficit de mineralização com comprometimento do volume ósseo e da microestrutura trabecular⁹⁴. No entanto, a presença de ativação aumentada dos osteoclastos, via RANK-L, em pacientes com hipercalcúria refuta essa hipótese⁹⁵. De acordo com nossas descobertas, os parâmetros de reabsorção óssea não diferiram dos controles. Além disso, não encontramos correlação entre a excreção de cálcio de 24 horas e os parâmetros de BH.

Embora os níveis séricos de fosfatase alcalina estivessem dentro dos limites normais, eles estiveram associados à idade, duração da doença, TBS, tabagismo atual e superfície osteoblástica. A atividade aumentada da fosfatase alcalina foi previamente encontrada na EA, correlacionando-se com o mSASSS⁹⁶. Esses dados sugerem que a fosfatase alcalina pode ser um biomarcador tanto da atividade da doença quanto da fragilidade óssea e do dano radiográfico. Além disso, assim como a superfície osteoblástica, ela foi menor em pacientes que estavam em tratamento com terapia biológica (a maioria antagonistas do TNF α). O efeito do TNF- α na diferenciação dos osteoblastos é controverso, podendo inibir ou estimular dependendo da dose e da fase de maturação das células⁹⁷, de modo que a terapia anti-TNF- α poderia levar a uma função reduzida dos osteoblastos, como sugerido por outros autores⁹⁸, o que pode ter um impacto benéfico na redução da progressão radiográfica mas parcialmente deletério à saúde óssea.

Existem poucos estudos sobre o tratamento da osteoporose na espondilite anquilosante, a maioria deles envolvendo bisfosfonatos, que demonstram ganhos modestos de massa óssea, mas carecem de dados sobre a redução do risco de fraturas⁹⁹. O uso de anabólicos como teriparatida foi relatado em situações excepcionais, como fraturas vertebrais graves e/ou múltiplas, com bons resultados na consolidação^{100,101}. No entanto, faltam estudos com um maior número de pacientes, e não existem relatos ou estudos na literatura sobre o uso de romosozumabe em pacientes com espondilite anquilosante, possivelmente devido a preocupações com o risco teórico de piorar a

neoformação óssea ao suprimir a esclerostina. São necessários estudos para avaliar a segurança e eficácia dessas moléculas no tratamento da osteoporose de alto risco associada à espondilite anquilosante.

Este estudo apresenta vários pontos positivos, incluindo a exclusão de indivíduos com mais de 55 anos de idade, a ausência de hipogonadismo e doenças ou medicamentos concomitantes que poderiam interferir no metabolismo mineral e ósseo. Além disso, pela primeira vez, foi explorada a relação entre a histomorfometria óssea e o dano radiográfico estrutural, bem como as alterações no osso cortical. A utilização de uma amostra de pacientes com a forma clássica de EA, em sua maioria brancos, HLA-B27 positivos, com doença ativa e dano radiográfico moderado, bem como informações sobre a atividade ocupacional (quase 70% eram trabalhadores braçais), aumenta a validade externa de nossos achados. No entanto, o estudo tem algumas limitações, especialmente o tamanho da amostra, a falta de dados de marcadores específicos de turnover ósseo, como CTX, P1NP, fração óssea da fosfatase alcalina, esclerostina e biomarcadores relacionados ao metabolismo do fosfato (FGF-23 e fração de excreção renal de fosfato), bem como a avaliação dos padrões alimentares. Além disso, é importante observar que utilizamos um banco de dados de controle normativo de indivíduos saudáveis da população brasileira, emparelhados por sexo e idade, para comparar alguns dos resultados da histomorfometria óssea.

CONCLUSÃO

A análise da histomorfometria óssea transilíaca em homens jovens com EA mostrou um comprometimento da mineralização trabecular com um padrão de baixo remodelamento possivelmente associado ao metabolismo do fosfato inorgânico, juntamente com redução da espessura e aumento da porosidade cortical. Portanto, nossa hipótese é que fatores relacionados ao processo inflamatório da doença levem à disfunção dos osteócitos e sua comunicação com os osteoblastos, comprometendo a mineralização. Outros fatores potencialmente associados incluiriam maior perda de cálcio na urina e menor absorção de fósforo intestinal. Ao lado do comprometimento da mineralização, a porosidade cortical aumentada, a atividade da doença e a imobilidade com baixa tensão de cisalhamento contribuiriam para uma fragilidade óssea acentuada na EA (figura 4). Essas descobertas podem contribuir para uma compreensão mais aprofundada da fragilidade óssea nesses pacientes. Estudos adicionais são necessários para uma compreensão mais abrangente da complexa fisiopatologia relacionada à fragilidade óssea na EA, bem como para possíveis implicações em tratamentos futuros, incluindo medicamentos anabólicos como teriparatida e romosozumabe.

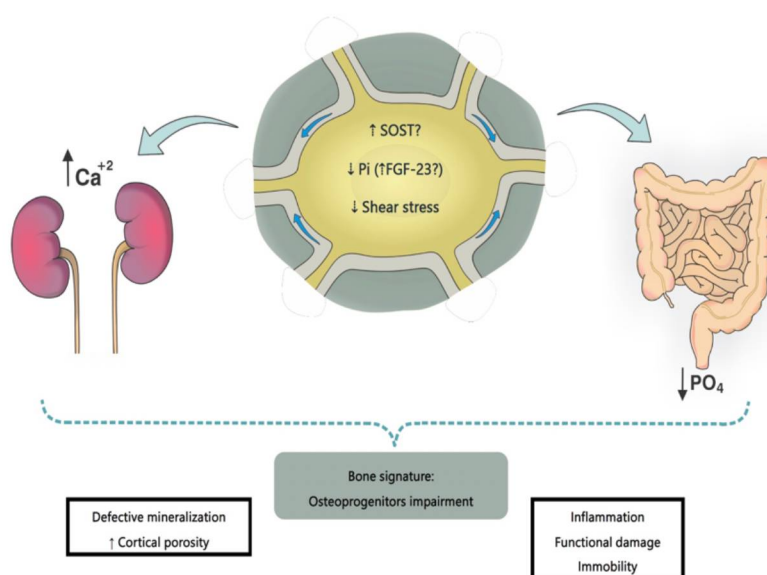


Figura 4. Nossa hipótese é que, na EA, o processo inflamatório e a redução da tensão de cisalhamento no osso trabecular da coluna vertebral, por exemplo, podem levar à disfunção dos osteócitos, com possível aumento na produção de SOST e FGF-23, resultando em uma doença de baixa remodelação com defeito na mineralização. Outros possíveis fatores associados incluiriam maior perda de cálcio na urina e menor absorção de fósforo intestinal. Além da mineralização defeituosa, a porosidade cortical aumentada, a atividade da doença e a imobilidade contribuiriam para uma fragilidade óssea aumentada. SOST: esclerostina, Pi: fósforo inorgânico, FGF-23: fator de crescimento de fibroblastos 23.

REFERÊNCIAS

1. Geusens P, Lems WF. Osteoimmunology and osteoporosis. Vol. 13, Arthritis Research and Therapy. 2011. p. 1–16.
2. Pray C, Feroz NI, Nigil Haroon N. Bone Mineral Density and Fracture Risk in Ankylosing Spondylitis: A Meta-Analysis. *Calcif Tissue Int.* 2017 Aug 18;101(2):182–92.
3. Rossini M, Viapiana O, Adami S, Idolazzi L, Fracassi E, Gatti D. Focal bone involvement in inflammatory arthritis: the role of IL17. *Rheumatol Int.* 2016;36(4):469–82.
4. Centrella M, Mc Carthy TL, Canalis E. Tumor necrosis factor- α inhibits collagen synthesis and alkaline phosphatase activity independently of its effect on deoxyribonucleic acid synthesis in osteoblast-enriched bone cell cultures. *Endocrinology.* 1988;123(3):1442–8.
5. Perpétuo IP, Raposeiro R, Caetano-Lopes J, Vieira-Sousa E, Campanilho-Marques R, Ponte C, et al. Effect of tumor necrosis factor inhibitor therapy on osteoclast precursors in ankylosing spondylitis. *PLoS One.* 2015;10(12):1–16.
6. Caparbo VF, Saad CGS, Moraes JC, de Brum-Fernandes AJ, Pereira RMR. Monocytes from male patients with ankylosing spondylitis display decreased osteoclastogenesis and decreased RANKL/OPG ratio. *Osteoporos Int.* 2018;29(11):2565–73.
7. Leone A, Marino M, Dell’Atti C, Zecchi V, Magarelli N, Colosimo C. Spinal fractures in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2016;36(10):1335–46.
8. Karberg K, Zochling J, Sieper J, Felsenberg D, Braun J. Bone Loss Is Detected More Frequently in Patients with Ankylosing Spondylitis with Syndesmophytes. 2005;1290–8.
9. Ghozlani I, Ghazi M, Nouijai A, Mounach A, Rezqi A, Achemlal L, et al. Prevalence and risk factors of osteoporosis and vertebral fractures in patients with ankylosing spondylitis. *Bone.* 2009;44(5):772–6.
10. Ivanova M, Manolova I, Boyadzhieva V, Stoilov R, Dimitrov N, Stoilov N, et al.

Relationship between physical function, disease activity, spinal mobility and bone parameters (trabecular bone score and bone mineral density) in ankylosing spondylitis patients. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2015;29(5):956–62.

11. Nam SW, Sung YK, Kim D, Cho SK, Song Y, Choi YY, et al. The usefulness of trabecular bone score in patients with ankylosing spondylitis. *Korean J Intern Med.* 2021;36(5):1211–20.
12. Żuchowski P, Dura M, Jeka D, Waszczak-Jeka M. The applicability of trabecular bone score for osteoporosis diagnosis in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2022 May 21;42(5):839–46.
13. Nigil Haroon N, Szabo E, Raboud JM, Mcdonald-Blumer H, Fung L, Josse RG, et al. Alterations of bone mineral density, bone microarchitecture and strength in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional study using high-resolution peripheral quantitative computerized tomography and finite element analysis. *Arthritis Res Ther.* 2015;17(1):377.
14. Neumann A, Haschka J, Kleyer A, Schuster L, Englbrecht M, Berlin A, et al. Cortical bone loss is an early feature of nonradiographic axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):1–11.
15. Juhász B, Gulyás K, Horváth Á, Végh E, Pusztai A, Szentpétery Á, et al. Peripheral quantitative computed tomography in the assessment of bone mineral density in anti-TNF-treated rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients. *BMC Musculoskelet Disord.* 2021;22(1):1–9.
16. Fassio A, Gatti D, Rossini M, Idolazzi L, Giollo A, Adami G, et al. Secukinumab produces a quick increase in WNT signalling antagonists in patients with psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 37(1):133–6.
17. Arends S, Spoorenberg A, Bruyn GAW, Houtman PM, Leijnsma MK, Kallenberg CGM, et al. The relation between bone mineral density, bone turnover markers, and vitamin D status in ankylosing spondylitis patients with active disease: A cross-sectional analysis. *Osteoporos Int.* 2011;22(5):1431–9.
18. Gamez-Nava J, de la Cerda-Trujillo L, Vazquez-Villegas M, Cons-Molina F, Alcaraz-Lopez M, Zavaleta-Muñiz S, et al. Association between bone turnover markers,

- clinical variables, spinal syndesmophytes and bone mineral density in Mexican patients with ankylosing. *Scand J Rheumatol*. 2016;9742(September):1–11.
19. Huang J, Song G, Yin Z, Fu Z, Ye Z. Alteration of bone turnover markers in canonical wingless pathway in patients with ankylosing spondylitis. *Arch Rheumatol*. 2016;31(3):221–8.
 20. Lee YSL, Schlotzhauer T, York N, Ott SM, Vollenhoven RF Van, Hunter J, et al. Skeletal status of men with early and late ankylosing spondylitis. 1997;(3):233–41.
 21. Szejnfeld VL, Monier-Faugere MC, Bognar BJ, Ferraz MB, Malluche HH. Systemic osteopenia and mineralization defect in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 1997 Apr;24(4):683–8.
 22. Robinson PC, Brown MA. Genetics of ankylosing spondylitis. *Mol Immunol*. 2014;57(1):2–11.
 23. Reveille JD, Sims A marie, Danoy P, Evans DM, Leo P, Jennifer J, et al. UKPMC Funders Group Genome-wide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC susceptibility loci. 2011;42(2):123–7.
 24. Glant TT, Mikecz K, Arzoumanian A, Poole AR. Proteoglycan-induced arthritis in BALB/c mice. Clinical features and histopathology. *Arthritis Rheum*. 1987;30(2):201–12.
 25. Lories RJU. Pathophysiology of New Bone Formation and Ankylosis in Spondyloarthritis Spondyloarthritis Chronic inflammation New bone formation Ankylosis. *Rheum Dis Clin NA*. 2012;38(3):555–67.
 26. Seeman E, Delmas PD. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 2006;354(21):2250–61.
 27. Martin TJ, Suda T. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. 1988;123(5):2600–2.
 28. Sergio Jacobelli G, Claudia Campusano M. Osteoporosis in rheumatic diseases. *Rev Medica Clin Las Condes*. 2012;23(4):425–31.
 29. Balani D, Aeberli D, Hofstetter W, Seitz M. Interleukin-17A Stimulates Granulocyte – Macrophage Colony-Stimulating Factor Release by Murine Osteoblasts in the

Presence of 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ and Inhibits Murine Osteoclast Development In Vitro. 2013;65(2):436–46.

30. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. 2006;203(12):2673–82.
31. Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. 2007;13(2).
32. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S, et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. 1999;103(9):1345–52.
33. Huang H, Zhao N, Xu X, Xu Y, Li S, Zhang J, et al. Dose-specific effects of tumor necrosis factor alpha on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. 2011;(5):420–7.
34. Sherlock JP, Buckley CD, Cua DJ. The critical role of interleukin-23 in spondyloarthritis. Mol Immunol. 2014;57(1):38–43.
35. Praet L Van, Bosch FE Van Den, Jacques P, Carron P, Jans L, Colman R, et al. Microscopic gut inflammation in axial spondyloarthritis : a multiparametric predictive model. 2013;414–7.
36. Ciccia F, Accardo-palumbo A, Rizzo A, Guggino G, Raimondo S, Giardina A, et al. Evidence that autophagy, but not the unfolded protein response, regulates the expression of IL-23 in the gut of patients with ankylosing spondylitis and subclinical gut inflammation. 2014;1566–74.
37. Ho Y, Sung L, Choi J, Dae J. Associations between interleukin - 23R polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility : a meta-analysis. 2012;143–9.
38. Kang YK, Zhang MC. IL-23 promotes osteoclastogenesis in osteoblast-osteoclast co-culture system. 2014;23(2):4673–9.
39. Chen L, Wei X qing, Evans B, Jiang W, Aeschlimann D. IL-23 promotes osteoclast formation by up-regulation of receptor activator of NF- κ B (RANK) expression in myeloid precursor cells. 2008;1:2845–54.

40. Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, Furuya T, Kobashigawa T, Kamatani N, et al. IL-23 induces human osteoclastogenesis via IL-17 in vitro, and anti-IL-23 antibody attenuates collagen-induced arthritis in rats. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(5):R96.
41. Appel H, Ruiz-heiland G, Listing J, Zwerina J, Herrmann M, Mueller R, et al. Altered Skeletal Expression of Sclerostin and Its Link to Radiographic Progression in Ankylosing Spondylitis. 2009;60(11):3257–62.
42. Tsui FWL, Tsui HW, Heras F Las, Pritzker KPH, Inman RD. Serum levels of novel noggin and sclerostin-immune complexes are elevated in ankylosing spondylitis. 2014;1873–9.
43. Uderhardt S, Diarra D, Katzenbeisser J, David J p, Zwerina J, Richards W, et al. Blockade of Dickkopf (DKK) -1 induces fusion of sacroiliac joints. 2010;592–7.
44. Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, et al. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. 2012;572–4.
45. Klingberg E, Nurkkala M, Carlsten H, Elia HF d, Klingberg E, Nurkkala M, et al. Biomarkers of Bone Metabolism in Ankylosing Spondylitis in Relation to Osteoproliferation and Osteoporosis Biomarkers of Bone Metabolism in Ankylosing Spondylitis in Relation to Osteoproliferation and Osteoporosis. 2014;
46. Lories RJU, Derese I, Luyten FP. Modulation of bone morphogenetic protein signaling inhibits the onset and progression of ankylosing enthesitis. 2005;115(6):1571–9.
47. Chen HA, Chen CH, Lin YJ, Chen PC, Chen WS, Chin LL CC. Association of Bone Morphogenetic Proteins with Spinal Fusion in Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol.* 2010;37(10):2126–32.
48. Jacques P, Lambrecht S, Verheugen E, Pauwels E, Kollias G, Armaka M, et al. Proof of concept : enthesitis and new bone formation in spondyloarthritis are driven by mechanical strain and stromal cells. 2013;1–9.
49. Lories RJU, Luyten FP, Vlam K De. Progress in spondylarthritis Mechanisms of new bone formation in spondyloarthritis. 2009;8:1–8.

50. Mcgonagle D, Stockwin L, Isaacs J, Emery P. An Enthesitis Based Model for the Pathogenesis of Spondyloarthritis . Additive Effects of Microbial Adjuvant and Biomechanical Factors at Disease Sites. 2001;28(10).
51. Webb ML, Samuel AM, Grauer JN. Spinal Fracture in Patients With. 2016;41(3):191–6.
52. Dempster D W, Compston J E, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis J A, Malluche H, Meunier P J, Ott S M, Recker R R and PM. Standardized Nomenclature, Symbols, and Units for Bone Histomorphometry: A 2012 Update of the Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. 2014;28(1):2–17.
53. Kulak C a M, Dempster DW. Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2010;54(2):87–98.
54. Linden S Van Der, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of Diagnostic Criteria for Ankylosing Spondylitis. Arthritis Rheum. 1984 Apr;27(4):361–8.
55. Dos Reis LM, Batalha JR, Muñoz DR, Borelli A, Correa PHS, Carvalho AB, et al. Brazilian normal static bone histomorphometry: Effects of age, sex, and race. J Bone Miner Metab. 2007;25(6):400–6.
56. Melsen F, Mosekilde L. Tetracycline double-labeling of iliac trabecular bone in 41 normal adults. Calcif Tissue Res. 1978;26(1):99–102.
57. Tong X, Burton IS, Jurvelin JS, Isaksson H, Kröger H. Iliac crest histomorphometry and skeletal heterogeneity in men. Bone Reports. 2017;6:9–16.
58. HASKELL WL, LEE IM, PATE RR, POWELL KE, BLAIR SN, FRANKLIN BA, et al. Physical Activity and Public Health. Med Sci Sport Exerc. 2007 Aug;39(8):1423–34.
59. Development G. Osteoporosis: Assessing the risk of fragility fracture. Natl Guidel Clear. 2013;(Md):0–1.
60. 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 Sep;21(9):1694–8.
61. van der Heijde D, Lie E, Kvien TK, Sieper J, Van den Bosch F, Listing J, et al. ASDAS, a highly discriminatory ASAS-endorsed disease activity score in patients

- with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2009 Dec 1;68(12):1811–8.
62. Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O’Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol*. 1994 Dec;21(12):2281–5.
 63. ISCD. Official Positions Adult ISCD 2019. *Psychol Appl to Work An Introd to Ind Organ Psychol Tenth Ed Paul*. 2019;1–34.
 64. Kanis JA, Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: Synopsis of a WHO report. *Osteoporos Int*. 1994;4(6):368–81.
 65. Palomo T, Muszkat P, Weiler FG, Dreyer P, Brandão CMA, Silva BC. Update on trabecular bone score. *Arch Endocrinol Metab*. 2022;66(5):694–706.
 66. Zerbinì CAF, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey E V., Johansson H, Kanis JA. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos*. 2015 Dec 25;10(1):28.
 67. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res*. 1993;8(9):1137–48.
 68. Creemers MCW. Assessment of outcome in ankylosing spondylitis: an extended radiographic scoring system. *Ann Rheum Dis*. 2005 Jan 1;64(1):127–9.
 69. Recker RR, Kimmel DB, Parfitt MA, Davies MK, Keshawaraz N, Hinders S. Static and tetracycline-based bone histomorphometric data from 34 normal postmenopausal females. *J Bone Miner Res*. 1988;3(2):133–44.
 70. Gamsjaeger S, Srivastava AK, Wergedal JE, Zwerina J, Klaushofer K, Paschalis EP, et al. Altered bone material properties in HLA-B27 rats include reduced mineral to matrix ratio and altered collagen cross-links. *J Bone Miner Res*. 2014;29(11):2382–91.
 71. Parfitt AM. Renal bone disease: A new conceptual framework for the interpretation of bone histomorphometry. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2003;12(4):387–403.
 72. Gercik O, Solmaz D, Coban E, Iptec BO, Avcioglu G, Bayindir O, et al. Evaluation of

serum fibroblast growth factor-23 in patients with axial spondyloarthritis and its association with sclerostin, inflammation, and spinal damage. *Rheumatol Int.* 2019;39(5):835–40.

73. El-Hodhod MA, Hamdy AM, Abbas AA, Moftah SG, Ramadan AAM. Fibroblast growth factor 23 contributes to diminished bone mineral density in childhood inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol.* 2012;12(1):1.
74. Ahn SM, Kim YG, Bae SH, Lim DH, Hong S, Park SH, et al. Ileocolonoscopy findings in patients with ankylosing spondylitis: A single center retrospective study. *Korean J Intern Med.* 2017;32(5):916–22.
75. Hasegawa T, Hongo H, Yamamoto T, Abe M, Yoshino H, Haraguchi-Kitakamae M, et al. Matrix Vesicle-Mediated Mineralization and Osteocytic Regulation of Bone Mineralization. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17).
76. Uno JK, Kolek OI, Hines ER, Xu H, Timmermann BN, Kiela PR, et al. The Role of Tumor Necrosis Factor α in Down-Regulation of Osteoblast PheX Gene Expression in Experimental Murine Colitis. *Gastroenterology.* 2006;131(2):497–509.
77. Ito N, Wijenayaka AR, Prideaux M, Kogawa M, Ormsby RT, Evdokiou A, et al. Regulation of FGF23 expression in IDG-SW3 osteocytes and human bone by pro-inflammatory stimuli. *Mol Cell Endocrinol.* 2015;399:208–18.
78. Saad CG, Ribeiro AC, Moraes JC, Takayama L, Goncalves CR, Rodrigues MB, et al. Low sclerostin levels: a predictive marker of persistent inflammation in ankylosing spondylitis during anti-tumor necrosis factor therapy? *Arthritis Res Ther.* 2012;14(5):R216.
79. Weivoda MM, Youssef SJ, Oursler MJ. Sclerostin expression and functions beyond the osteocyte. *Bone.* 2017;96(507):45–50.
80. Vincent C, Findlay DM, Welldon KJ, Wijenayaka AR, Zheng TS, Haynes DR, et al. Pro-inflammatory cytokines TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) and TNF α induce the mitogen-activated protein kinase (MAPK)-dependent expression of sclerostin in human osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 2009;24(8):1434–49.
81. Silva BC, Rubin MR, Cusano NE, Bilezikian JP. Bone imaging in hypoparathyroidism. *Osteoporos Int.* 2017;28(2):463–71.

82. Dalle Carbonare L, Valenti MT, Giannini S, Gallieni M, Stefani F, Ciresa R, et al. Bone biopsy for histomorphometry in chronic kidney disease (Ckd): State-of-the-art and new perspectives. *J Clin Med*. 2021;10(19).
83. Marino S, Akel N, Li S, Cregor M, Jones M, Perez B, et al. Reversal of the diabetic bone signature with anabolic therapies in mice. *Bone Res*. 2023;11(1):1–12.
84. Ge X, Zhou G. Protective effects of naringin on glucocorticoid-induced osteoporosis through regulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Am J Transl Res*. 2021;13(6):6330–41.
85. Hepp N, Folkestad L, Møllebæk S, Frederiksen AL, Duno M, Jørgensen NR, et al. Bone-microarchitecture and bone-strength in a sample of adults with hypophosphatasia and a matched reference population assessed by HR-pQCT and impact microindentation. *Bone*. 2022;160(January).
86. Geusens P, De Winter L, Quaden D, Vanhoof J, Vosse D, van den Bergh J, et al. The prevalence of vertebral fractures in spondyloarthritis: Relation to disease characteristics, bone mineral density, syndesmophytes and history of back pain and trauma. *Arthritis Res Ther*. 2015;17(1):1–8.
87. Lange U, Strunk AEAEJ. Ankylosing spondylitis and bone mineral density — what is the ideal tool for measurement ? 2005;115–20.
88. Caparbo VF, Furlam P, Saad CGS, Alvarenga JC, Aubry-Rozier B, Hans D, et al. Assessing bone impairment in ankylosing spondylitis (AS) using the trabecular bone score (TBS) and high-resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT). *Bone*. 2019;122:8–13.
89. Kang KY, Ju JH, Park SH, Hong YS. Longitudinal Association Between Trabecular Bone Loss and Disease Activity in Axial Spondyloarthritis: A 4-year Prospective Study. *J Rheumatol*. 2020 Sep 1;47(9):1330–7.
90. Killinger Z, Kužma M, Tomková S, Brázdilová K, Jackuliak P, Payer J. Prediction of Vertebral Fractures by Trabecular Bone Score in Patients With Ankylosing Spondylitis. *Physiol Res*. 2021;70(Supplement 1):S53–60.
91. Richards C, Hans D, Leslie WD. Trabecular Bone Score (TBS) Predicts Fracture in Ankylosing Spondylitis: The Manitoba BMD Registry. *J Clin Densitom*. 2020

Oct;23(4):543–8.

92. Martineau P, Silva BC, Leslie WD. Utility of trabecular bone score in the evaluation of osteoporosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2017;24(6):402–10.
93. Korkmaz C, Cansu DÜ, Sayer JA. Urolithiasis as an extraarticular manifestation of ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2017;37(12):1949–56.
94. Misael da Silva AM, dos Reis LM, Pereira RC, Futata E, Branco-Martins CT, Noronha IL, et al. Bone involvement in idiopathic hypercalciuria. *Clin Nephrol.* 2002 Mar;57(3):183–91.
95. Barcellos Menon V, Affonso Moyses RM, Gomes SA, De Carvalho AB, Jorgetti V, Pfeferman Heilberg I. Expression of fibroblast growth factor 23, vitamin D receptor, and sclerostin in bone tissue from hypercalciuric stone formers. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(7):1263–70.
96. Jo S, Han J, Lee YL, Yoon S, Lee J, Wang SE, et al. Regulation of osteoblasts by alkaline phosphatase in ankylosing spondylitis. *Int J Rheum Dis.* 2019;22(2):252–61.
97. Wang T, He C. TNF- α and IL-6: The Link between Immune and Bone System. *Curr Drug Targets.* 2019;21(3):213–27.
98. Bruckmann NM, Rischpler C, Tsiami S, Kirchner J, Abrar DB, Bartel T, et al. Effects of Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy on Osteoblastic Activity at Sites of Inflammatory and Structural Lesions in Radiographic Axial Spondyloarthritis: A Prospective Proof-of-Concept Study Using Positron Emission Tomography/Magnetic Resonance Imag. *Arthritis Rheumatol.* 2022;74(9):1497–505.
99. Hinze AM, Louie GH. Osteoporosis Management in Ankylosing Spondylitis. *Curr Treat Options Rheumatol.* 2016 Dec 5;2(4):271–82.
100. Biro I, Bubbear J, Donnelly S, Fattah Z, Sarkodieh J, Ranganathan A, et al. Teriparatide and vertebral fracture healing in Ankylosing Spondylitis. *Trauma Case Reports.* 2017;12(November):34–9.
101. Park HY, Ha KY, Kim KW, Rhyu KW, Kim YH, Lee JS, et al. Unstable Bony Chance Fracture Successfully Treated With Teriparatide in Patient With Ankylosed Spine: A Case Report and Review of the Literature. *Geriatr Orthop Surg Rehab.* 2021;12:1–6.

Anexo 1. Tabela das correlações significativas entre variáveis clínicas, histomorfométricas e de imagem em pacientes com espondilite anquilosante

	BV/TV	Tb.SP	Tb.Th	Tb.N	Ct.Th	Ct.Po	Obs/BS	DMO coluna	DMO CF	DMO FT	TBS	mSASSS	BASDAI	ASDAS-PCR	IMC	FA
BV/TV	1					r= 0,639 p=0,02		r=0,596 p=0,004		r=0,453 p=0,04					r=0,714 p<0,001	
Tb.SP		1				r= -0,507 p=0,019	r= -0,554 p=0,009	r=-0,601 p=0,004	r=-0,444 p=0,044	r=-0,582 p=0,006					r= -0,564 p=0,008	
Tb.Th			1			r= 0,519 p=0,016	r=0,456 p=0,038					r=0,452 p=0,04			r= 0,489 p=0,025	
Tb.N				1			r= 0,561 p=0,008	r=0,625 p=0,002	r= 0,520 p=0,018	r=0,609 p=0,003						
Ct.Th					1						r= -0,475 p=0,029	r=0,565 p=0,008				
Ct.Po						1				r= 0,476 p=0,029					r= 0,783 p<0,001	
Obs/BS							1			r=0,524 p=0,015						
DMO coluna								1	r=0,741 p<0,001	r=0,717 p<0,001	r=0,457 p=0,037		r=-0,447 p=0,042			r=-0,481 p=0,02
DMO CF									1		r= 0,451 p=0,04					r=-0,485 p=0,026
DMO FT										1						
TBS											1		r=-0,558 p=0,009	r=-0,671 p<0,001	r=-0,434 p=0,049	r=-0,484 p=0,026
mSASSS												1				
BASDAI													1			r=0,572 p=0,007
ASDAS-PCR														1	r=0,493 p=0,023	r=0,575 P=0,006
IMC															1	

BV/TV: volume ósseo, Tb.Th: espessura trabecular, Tb.Sp: separação trabecular, Tb.N: número trabecular, Ct.Th: espessura cortical, Ct. Po: porosidade cortical, Obs/BS: superfície osteoblástica, DMO: densidade mineral óssea, TBS: escore de osso trabecular, mSASSS *modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score*, IMC: índice de massa corporal, CF: colo femoral, FT: fêmur total, FA: fosfatase alcalina.

ANEXO 2. Certificados de apresentação do produto desta tese em congressos nacionais.

CERTIFICADO



Certificamos que

Natalia Pereira Machado, Marcelo de Medeiros Pinheiro, Domingos Candiota Chula, Rafaela Ceron, Luciene Machado dos Reis, Varlei Antonio Serrato, Valderílio Feijó Azevedo, Carolina Aguiar Moreira,

Participaram do **10º Congresso Brasileiro de Densitometria, Osteoporose e Osteometabolismo (10º BRADOO)**, realizado no período de 19 a 22 de outubro de 2022, na cidade do Rio de Janeiro, como autores do Trabalho Científico: **Doença óssea na espondilite anquilosante: um defeito de mineralização?**.

Rio de Janeiro, 22 de outubro de 2022.


Francisco José Albuquerque de Paula
Presidente da ABRASSO


João Lindolfo Cunha Borges
Presidente do Congresso


Maria Celeste Osorio Wender
Diretora Científica

 **SBR2023**
XL CONGRESSO BRASILEIRO
DE REUMATOLOGIA

REALIZAÇÃO
 Sociedade Brasileira de Reumatologia 

CERTIFICADO

Certificamos que

NATALIA PEREIRA MACHADO

participou como **Apresentador(a) de Trabalho** da sessão **Temas Livres Espondiloartrites** com o tema **Burden of low bone turnover, mineralization defect and cortical alterations in patients with ankylosing spondylitis: a histomorphometric study**, durante o **XL Congresso Brasileiro de Reumatologia – SBR2023**, realizado de 04 a 07 de outubro de 2023, no Centro de Convenções de Goiânia, na cidade de Goiânia/GO


Marco Antônio Araújo da Rocha Loures
Presidente da Sociedade Brasileira de Reumatologia


Ivãnio Alves Pereira
Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Reumatologia


Rafael Navarrete Fernandez
Presidente do SBR2023


Jozelia Rêgo
Diretora Científica do SBR2023

Para verificar a autenticidade deste certificado, acesse o link: <https://sbr2023.gupc.com.br/validar/> e informe o código: 340525056



29º ENCONTRO DE REUMATOLOGIA AVANÇADA



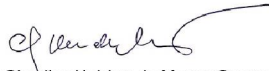
30 de novembro a 2 de dezembro de 2023
Centro de Convenções Frei Caneca - São Paulo, SP

CERTIFICADO

Certificamos que a comunicação oral CO.04, “**Low bone turnover, mineralization impairment and cortical alterations in patients with ankylosing spondylitis: a histomorphometric study**”, de autoria de Machado NP, Pinheiro MM, Chula DC, Ceron R, Pinheiro FI, Serrato VA, Azevedo VF, Moreira CA, foi premiada em 3º LUGAR durante o **29º Encontro de Reumatologia Avançada**, realizado de 30 de novembro a 2 de dezembro de 2023 no Centro de Convenções Frei Caneca, São Paulo, SP.



Nafice Costa Araújo
Presidente SPR - Biênio 2022-2023



Charles Haldan de Moura Castro
Diretor Científico SPR - Biênio 2022-2023

