U.PORTO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Mestrado Integrado em Medicina

Ano Lectivo 2009/2010

# VALOR PREDITIVO POSITIVO DOS ANAS NO DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA AUTOIMUNE

Inês Gomes de Amorim

Orientador:
Professor Doutor Carlos Vasconcelos

Porto, 18 de Junho de 2010

## ÍNDICE

PÁG.

RESUMO ..... 3
PALAVRAS-CHAVE ..... 4
INTRODUÇÃO ..... 5
MATERIAIS E MÉTODOS ..... 9
RESULTADOS ..... 10
DISCUSSÃO ..... 17
REFERÊNCIAS ..... 20
AGRADECIMENTOS ..... 21
ANEXO – MODELO DO INQUÉRITO DO CONTACTO TELEFÓNICO ..... 22

# Valor Preditivo Positivo dos ANAs no Desenvolvimento da Doença Autoimune

**Autora:**
Inês Gomes de Amorim
Aluna do 6.º ano do Curso de Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar – Universidade do Porto (ICBAS-UP)
Largo Prof. Abel Salazar, 2
4099-003 Porto – Portugal
E-mail: ines_amori@hotmail.com

**Orientador:**
Carlos Alberto Silva Vasconcelos
Professor Associado Convidado do ICBAS-UP, Médico, Especialista de Medicina Interna, Chefe de Serviço, Unidade de Imunologia Clínica, Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto
Largo Prof. Abel Salazar
4099-001 Porto – Portugal
E-mail: cvcarlosvasconcelos@gmail.com

## RESUMO

### INTRODUÇÃO

Sabe-se que os Anticorpos Antinucleares estão presentes muitos anos antes do diagnóstico de algumas doenças autoimunes, enquanto os indivíduos são ainda assintomáticos. Para uma avaliação real do Valor Preditivo Positivo dos Anticorpos Antinucleares na doença autoimune, é necessário reavaliar a situação clínica anos depois da detecção de um título positivo.

### OBJECTIVOS

Determinar o Valor Preditivo Positivo dos Anticorpos Antinucleares na detecção de doenças autoimunes, na sua fase subclínica ou preclínica, e avaliar a possibilidade de interferir no seu desenvolvimento, de forma a prevenir morbilidade e sequelas irreversíveis.

### METODOLOGIA

De uma base de dados do Serviço de Imunologia do Hospital de Santo António constituída por 1992 indivíduos que fizeram estudo imunológico, entre 1990 e 2004, com títulos de Anticorpos Antinucleares iguais ou superiores a 1/160, avaliamos uma amostra de 115 indivíduos, com títulos iguais ou superiores a 1/640.

**RESULTADOS**

Da amostra de 115 indivíduos com título de Anticorpo Antinuclear igual ou superior a 1/640, em 53,9% foi diagnosticada uma doença autoimune, sendo a Esclerodermia e o Lúpus Eritematoso Sistémico as doenças diagnosticadas com maior frequência.

A média de tempo decorrido entre a primeira análise positiva de Anticorpo Antinuclear e o diagnóstico de DAI foi de 3,0±3,3 anos. Não foram encontradas associações estatisticamente significativas entre o tempo decorrido desde a análise positiva de Anticorpo Antinuclear e o diagnóstico de doença autoimune com os diferentes títulos, padrões ou idade à data da primeira análise positiva. Não se concluiu existir relação entre sexo e o desenvolvimento de doença autoimune, nem entre um padrão específico de imunofluorescência dos anticorpos e o desenvolvimento de doença autoimune. Pelo contrário, a relação entre os títulos de Anticorpo Antinuclear 1/640 e 1/1280 com a ausência de desenvolvimento de doença autoimune e a relação entre os títulos de Anticorpo Antinuclear 1/2560 e 1/5120 com o desenvolvimento de uma doença autoimune foram estatisticamente significativas.

O Valor Preditivo Positivo da análise de Anticorpo Antinuclear, para um título igual ou superior a 1/640, foi de 53,9%.

**CONCLUSÕES**

Os Anticorpos Antinucleares estão presentes numa fase preclínica das doenças autoimunes, mantendo-se positivos na fase clínica. Neste estudo, concluímos que títulos elevados de Anticorpo Antinuclear presentes em indivíduos sem diagnóstico de doença autoimune, em particular os de 1/2560 e 1/5120, se associam, com um intervalo de confiança de 95%, ao aparecimento ulterior de uma doença autoimune.

**PALAVRAS-CHAVE**

Anticorpo Antinuclear; Doença Autoimune; Título de Anticorpo; Padrão de Imunofluorescência

## INTRODUÇÃO

Actualmente, 5 a 10% da população sofre de Doenças Autoimunes (DAI) e a sua incidência tem vindo a aumentar progressivamente. Afectam maioritariamente as mulheres (75%) e são responsáveis por um aumento de morbilidade, incapacidade e mortalidade. São causadas por uma complexidade de factores genéticos, hormonais, psicológicos, ambientais, entre outros que ainda se desconhece (Vasconcelos 2007).

Uma possível explicação para o aumento das DAI poderá estar relacionada com o desenvolvimento, no último século, de elevados padrões de higiene no mundo ocidental, bem como a utilização de antimicrobianos, verificando-se assim uma diminuição da exposição a agentes infecciosos comuns durante a infância. Esta exposição terá um importante papel ao estimular o sistema imune através do equilíbrio hospedeiro-parasita, em que um nível baixo de agente infeccioso pode resultar numa resposta imune protectora constante e permitir a aprendizagem do sistema imune (a base da Teoria da Higiene). Com estes novos padrões de higiene, esta aprendizagem poderá estar prejudicada e a indução e manutenção dos anticorpos maternos protectores dificultadas, predispondo assim ao aparecimento de DAI (Zinkernagel 2001).

Os Anticorpos Antinucleares (ANAs) são marcadores serológicos de doenças autoimunes, cujo título se considera positivo se superior a 1/80. Quanto maior o título, maior a probabilidade de doença lúpica. Os ANAs podem ser positivos em doenças autoimunes sistémicas e específicas de órgão, mas podem também ser positivos em indivíduos saudáveis, não obrigando a presença de doença. No entanto, para uma avaliação real do Valor Preditivo Positivo dos ANAs na doença autoimune é necessário reavaliar a situação clínica anos depois da detecção de um título positivo, já que a doença pode aparecer mais tarde (Arbuckle et al 2003).

Os ANAs não consistem apenas num tipo de anticorpo, mas numa variedade de anticorpos associados a diferentes doenças e às suas manifestações. Estão presentes, por exemplo, no Lúpus Eritematoso Sistémico (LES), Síndrome de Sjögren, Esclerose Sistémica Progressiva (Esclerodermia), Doença do Tecido Conjuntivo Misto e no Lúpus induzido por fármacos (Shmerling 2003). Os ANAs incluem anticorpos contra antigénios do núcleo, o DNA, as histonas e vários antigénios nucleares extraíveis – os ENAs (Tabela I).

**Tabela I** – Anticorpos contra antigénios nucleares extraíveis (ENAs) e patologias a que estão associados

| | |
|---|---|
| **Anti-Sm** (*anti-Smith*) | Específico para LES; correlação incerta com a actividade da doença |
| **Anti-RNP** ou Anti-snRNP (*anti-small nuclear ribonucleoprotein*) | Presente no LES; correlacionado com miosite, dismotilidade esofágica, Fenómeno de Raynaud, esclerodactilia, doença pulmonar intersticial; doença do tecido conjuntivo misto |
| **Anti-Ro** ou SS-A | Associado a LES, Síndrome de Sjögren, lúpus neonatal, rash fotossensível, lúpus eritematoso cutâneo subagudo |
| **Anti-La** ou SS-B | Presente no LES (parece estar associado a um risco diminuído de nefrite), Síndrome de Sjögren, lúpus neonatal |

Os anticorpos anti-DNA também se dividem em três subtipos: anti-dsDNA, anti-ssDNA e anti-ds/ssDNA. Destes, os anticorpos anti-dsDNA são os mais específicos de LES, aparecendo raramente noutras DAI (Brinkman et al 1991). A frequência e título destes anticorpos podem correlacionar-se com a actividade da doença e podem desaparecer com o tratamento imunossupressor e em períodos de remissão.

Na avaliação de um teste de ANA, é tão importante o título como o seu padrão. Um estudo de Tan et al (1997), examinou os títulos de ANA positivos em indivíduos saudáveis e concluiu que aproximadamente um terço desses indivíduos tinham um teste positivo para um título de 1:40. Com títulos progressivamente maiores, a percentagem de indivíduos saudáveis com um teste de ANA positivo foi diminuindo. A percentagem de indivíduos saudáveis com título de ANA de 1/80, 1/160 e 1/320 foi de, respectivamente, 13%, 5% e 3%. Concluiu, então, que um título maior do que 1/160 seria significativo para o diagnóstico de DAI.

Relativamente aos padrões de ANA, há cinco padrões básicos de imunofluorescência: mosqueado, homogéneo, membrana nuclear, centrómero e nucleolar (Fig. 1). Alguns destes padrões estão associados a doenças específicas. O padrão mosqueado é encontrado em Doenças do Tecido Conjuntivo Misto, LES e Esclerose Sistémica Progressiva. Os padrões homogéneo e membrana nuclear estão associados ao LES, podendo estes dois padrões coexistir. O padrão centromérico é característico da Esclerodermia, particularmente do Síndrome CREST (**C**alcinose, fenómeno de **R**aynaud, dismotilidade **E**sofágica, e**S**clerodactilia e **T**elangiectasias). Finalmente, o padrão nucleolar está associado ao LES e Esclerose Sistémica Progressiva (Adams e Mutasim 2000).

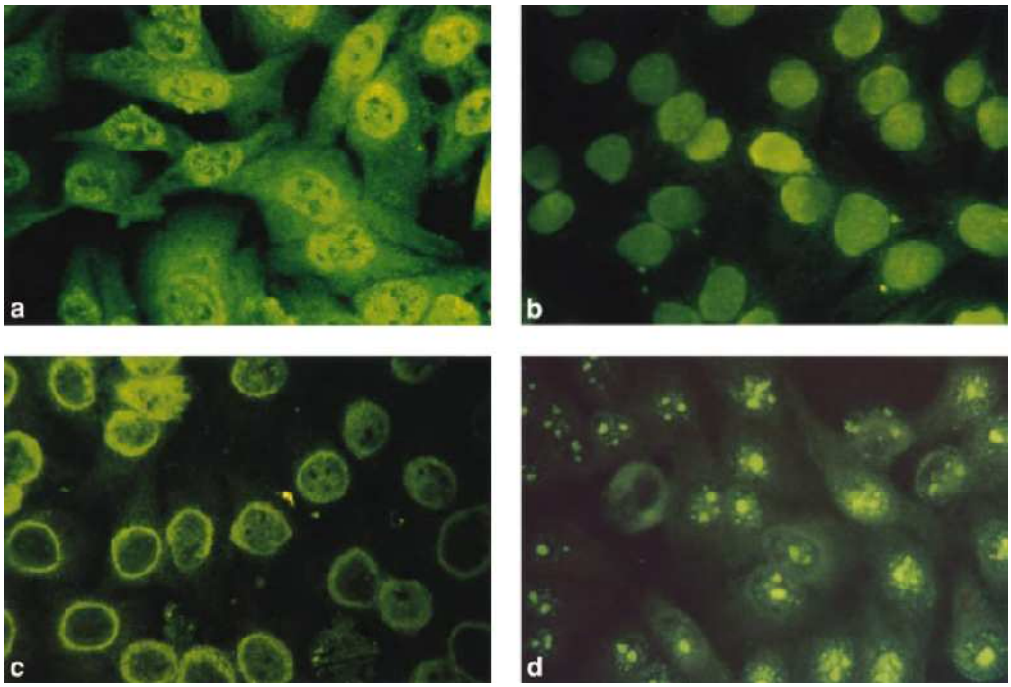



**Figura 1** – Padrões de imunofluorescência do ANA: (a) mosqueado, (b) homogéneo, (c) membrana nuclear e (d) nucleolar (Adams e Mutasim 2000)

É conhecida a elevada sensibilidade e baixa especificidade dos ANAs para o diagnóstico de LES. Além disso, segundo Arbuckle et al (2003), os ANAs estão presentes muitos anos antes do diagnóstico de algumas doenças autoimunes (como LES), enquanto os "doentes" são ainda assintomáticos. O diagnóstico de LES necessita de um conjunto mínimo de critérios do American College of Rheumatology (ACR). A presença de quatro destes critérios, seriada ou simultaneamente, permite a classificação como LES. Aqueles doentes em que o médico suspeita de LES, mas não preenchem os quatro critérios mínimos para diagnóstico, são denominados de "Lúpus provável", "LES latente", "futuro LES", entre outras definições. No entanto, o diagnóstico estabelecido pelo clínico experiente nesta área é aceite mesmo que não preencha os critérios mínimos atrás referidos (Vasconcelos 2007).

Os critérios actuais de LES do ACR são descritos na Tabela II.

**Tabela II** – Critérios de diagnóstico de LES do ACR

| | |
|---|---|
| **1. Eritema Malar** | Eritema fixo, plano ou elevado, nas eminências malares, poupando os sulcos naso-labiais |
| **2. Lúpus Discóide** | Placas eritematosas elevadas, com escamas queratócicas aderentes e arrancamento folicular; cicatriz atrófica pode ocorrer nas lesões antigas |
| **3. Fotossensibilidade** | Eritema cutâneo como resultado da exposição solar, referido pelo doente ou observado pelo médico |
| **4. Úlceras Orais** | Úlceras orais ou naso-faríngeas, habitualmente indolores, observadas pelo médico |
| **5. Artrite** | Artrite não erosiva, envolvendo duas ou mais articulações periféricas caracterizada por dor, edema ou derrame |

| | |
|---|---|
| **6. Serosite** | 6.1. Pleurite – história credível de dor pleurítica ou atrito audível pelo médico ou derrame pleural<br>6.2. Pericardite – documentada por ECG ou atrito ou evidência de derrame pericárdico |
| **7. Doença Renal** | 7.1. Proteinúria persistente > 0,5 g/dia ou > 3+ quando não quantificada<br>7.2. Cilindros celulares de qualquer tipo |
| **8. Doença Neurológica** | 8.1. Convulsões – na ausência de fármacos ou alterações metabólicas conhecidas (uremia, cetoacidose, alterações electrolíticas)<br>8.2. Psicose – na ausência de fármacos ou alterações metabólicas conhecidas (uremia, cetoacidose, alterações electrolíticas) |
| **9. Doença Hematológica** | 9.1. Anemia hemolítica – com reticulocitose<br>9.2. Leucopenia – < 4000/$mm^3$ em duas ou mais ocasiões<br>9.3. Linfopenia – < 1500/$mm^3$ em duas ou mais ocasiões<br>9.4. Trombocitopenia – < 100000/$mm^3$ na ausência de fármacos tóxicos |
| **10. Alterações Imunológicas** | 10.1. Anticorpo anticardiolipina ou Lúpus anticoagulante positivos<br>10.2. Anti-ADN – anticorpo para o ADN nativo em título anormal<br>10.3. Anti-Sm – presença do anticorpo para o antigénio nuclear Sm<br>10.4. Falso teste serológico para a sífilis (VDRL) positivo, conhecido pelo menos há 6 meses e confirmado pelo teste de imobilização do *Treponema pallidum* ou teste de absorção do anticorpo fluorescente para o *T. pallidum* |
| **11. Anticorpo Antinuclear (ANA)** | Título positivo do anticorpo por imunofluorescência ou teste equivalente em qualquer altura e na ausência de fármacos associados com o Síndrome de "Lúpus induzido por fármacos"[1] |

Existem outras doenças associadas a títulos positivos de ANA como as DAI específicas de órgão, por exemplo, as doenças autoimunes da tiróide (incluindo a Doença de Graves e Tiroidite de Hashimoto), a colangite primária autoimune e a hepatite autoimune. Os ANAs podem também ser positivos em doenças não autoimunes como nas infecções pelo Vírus da Imunodeficiência Humana e hepatites virais (Shmerling 2003). Segundo este autor, o valor preditivo positivo dos ANAs é baixo, ou seja, a maioria dos resultados positivos não antecedem as manifestações clínicas que permitem o diagnóstico de LES ou de qualquer outra patologia associada a ANAs. No entanto, reconhece que, nos doentes com LES, os ANAs poderão ser importantes na sua patogenia e se formam progressivamente, pelo que permitirão pelo menos um diagnóstico mais precoce da doença.

Obviamente que implementar um rastreio que detectasse a presença de ANAs em indivíduos assintomáticos não representaria uma boa estratégia pois, na maioria dos indivíduos com título de ANA positivo, o LES ou outra DAI nunca se viria a desenvolver. No entanto, se reconhecermos que os ANAs podem ser positivos antes das manifestações clínicas de LES, isso pode condicionar a informação prestada aos doentes testados. Um ANA positivo pode significar:

[1] Alguns fármacos provocam uma variante de LES que consiste no Síndrome de "Lúpus induzido por fármacos". Os mais conhecidos são a procainamida, a hidralazina e a quinidina. Estes doentes apresentam frequentemente manifestações cutâneas e articulares, sendo as renais e neurológicas muito raras. (Rubin 2002)

- que o indivíduo tem uma DAI no momento do teste;
- que irá desenvolver uma DAI no futuro (e, então, como prever?);
- pode ser um resultado falso positivo no contexto de indivíduos com história de LES em familiares de primeiro grau;
- pode ser um resultado falso positivo num indivíduo sem história familiar de DAI.

Assim, são **OBJECTIVOS** deste estudo:

- Determinar o Valor Preditivo Positivo (probabilidade de existir doença, quando o teste foi positivo) dos ANAs na detecção de doenças autoimunes, na sua fase de "doença não detectada" ou sem critérios para diagnóstico. Para isso, é necessário determinar que proporção de "doentes" assintomáticos com títulos de ANA positivos veio posteriormente a desenvolver doença autoimune.
- (Re)avaliar a necessidade de manter os doentes ANA positivos na consulta.
- Discutir a possibilidade de interferir no aparecimento de uma doença autoimune, detectando um estado subclínico ou preclínico e, desta forma, eventualmente, prevenir a manifestação de sintomas e sequelas irreversíveis da doença.

## MATERIAIS E MÉTODOS

- Tipo de estudo: Estudo nacional, institucional, observacional, analítico, clínico e laboratorial, do tipo retrospectivo.
- Amostra: 115 indivíduos com título de ANA positivo.
- Procedimentos:

- Um grupo de 1992 indivíduos que fizeram estudo imunológico, incluindo ANA, entre 1990 e 2004, no Serviço de Imunologia do Hospital de Santo António, com título de ANA igual ou superior a 1/160 foi comparado com a base de dados da UIC e a base de dados de LES do Serviço de Imunologia. Foram identificados aqueles com diagnóstico estabelecido de DAI à data do teste e excluídos do estudo.

- Dos restantes 1299 indivíduos, foi estabelecido um *cut-off* de modo a seleccionar os que tinham títulos mais elevados de ANA (1/5120, 1/2560, 1/1280 e 1/640).

- Nestes 160 doentes, foram avaliados os respectivos processos clínicos electrónicos, através do programa informático SAM e completada a informação de 63.

- Nos doentes que tiveram última consulta no Hospital de Santo António nos últimos 5 anos, e que não tinham informação suficiente no SAM, foram avaliados os seus processos em papel (23 doentes).

- Nos que tinham última consulta há mais de 5 anos (74 doentes), foram obtidos os contactos telefónicos, através do programa informático SONHO, de 58 doentes. Deste último grupo, foram estabelecidos com sucesso 29 contactos para o domicílio e realizado o inquérito telefónico (conforme modelo em anexo).

- Restaram 45 indivíduos dos quais não se obteve informação actual, por não haver registo do contacto telefónico, o mesmo estar incorrecto ou não atribuído, por os seus processos clínicos em papel estarem indisponíveis ou por falecimento.

- Análise Estatística

- Os dados obtidos foram estudados através do software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão PASW *Statistics* 17.0.

- Para descrever a amostra estudada, os títulos e os padrões de ANA, foram realizadas Tabelas de Frequência.

- Na comparação do tempo decorrido entre a análise de ANA positiva e o diagnóstico de DAI com os diferentes títulos de ANA, os padrões de imunofluorescência e os grupos etários, foi usado o teste One-Way ANOVA.

- Para avaliar a relação entre os sexos, os títulos ou os padrões de imunoflorescência de ANA com o desenvolvimento de DAI, foi usado o Teste Qui-quadrado.

## RESULTADOS

- **Amostra em estudo:**

Num total de 115 indivíduos (N=115) com título de ANA igual ou superior a 1/640 e sem diagnóstico de DAI à data do teste, 88,7% eram do sexo feminino e 11,3% do sexo masculino. A média de idades à data da análise positiva de ANA foi de 48,5±19,2 anos.

Em 53,9% dos indivíduos foi diagnosticada uma doença autoimune (Gráfico 1), cujo local de diagnóstico foi o Hospital de S.$^{to}$ António em 93,5%, o Hospital de S. João em 3,2%, o Centro Hospitalar de Coimbra em 1,6% e o Hospital de Chaves em 1,6%.

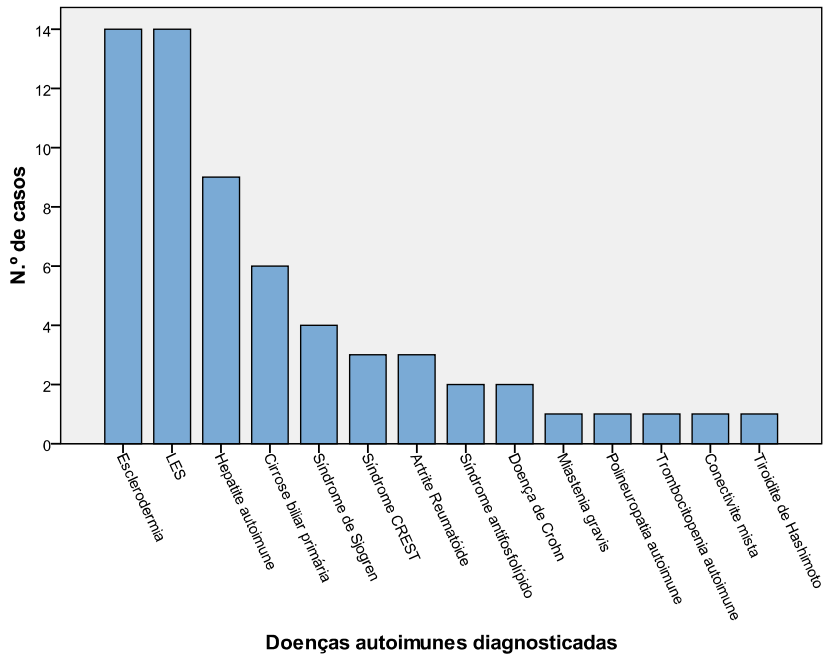



**Gráfico 1** – Doenças autoimunes diagnosticadas e respectivas frequências

Dos indivíduos em que foram diagnosticadas doenças autoimunes, 91,9% eram do sexo feminino e 8,1% do sexo masculino. A média de idades à data do diagnóstico de DAI foi de 50,1±18,6 anos.

Dos indivíduos que não desenvolveram DAI, 84,9% eram do sexo feminino e 15,1% do sexo masculino.

- **Títulos e padrões de ANAs**

O título de ANA mais frequente nos indivíduos que desenvolveram DAI foi o de 1/2560, ocorrendo em 38,7% dos doentes, e o padrão mais frequente foi o mosqueado, que foi identificado em 43,5% destes doentes (Tabela III).

Nos indivíduos que não desenvolveram qualquer DAI, os títulos mais prevalentes foram os de 1/640 e 1/1280 (28,3% e 39,6%, respectivamente) e o padrão mais frequente neste grupo foi também o mosqueado.

Além dos cinco padrões básicos, foram também encontradas na amostra combinações de padrões, nomeadamente mosqueado+nucleolar (a combinação mais frequente), mosqueado+centrómero e mosqueado+centrómero+membrana nuclear. No entanto, no grupo de indivíduos que não desenvolveram DAI, não foram encontrados o padrão membrana nuclear nem as combinações de padrões mosqueado+centrómero e mosqueado+centrómero+membrana nuclear.

**Tabela III** – Caracterização das análises de ANA

| **ANA** | **Frequência na amostra** *n.º (%)* | **Frequência nos que desenvolveram DAI** *n.º (%)* | **Frequência nos que não desenvolveram DAI** *n.º (%)* | **Tempo entre primeira análise ANA positiva e diagnóstico de DAI** *média em anos* |
|---|---|---|---|---|
| **Título** | | | | |
| 1/640 | 25 (21,7) | 10 (16,1) | 15 (28,3) | 5,68±3,97 |
| 1/1280 | 40 (34,8) | 19 (30,6) | 21 (39,6) | 2,86±3,19 |
| 1/2560 | 37 (32,2) | 24 (38,7) | 13 (24,5) | 2,04±2,86 |
| 1/5120 | 13 (11,3) | 9 (14,5) | 4 (7,5) | 2,53±2,86 |
| **Padrão** | | | | |
| Centrómero | 20 (17,4) | 13 (21,0) | 7 (13,2) | 3,09±3,99 |
| Homogéneo | 13 (11,3) | 8 (12,9) | 5 (9,4) | 4,85±3,76 |
| Mosqueado | 59 (51,3) | 27 (43,5) | 32 (60,4) | 2,62±2,64 |
| Nucleolar | 12 (10,4) | 5 (8,1) | 7 (13,2) | 2,09±2,43 |
| Membrana Nuclear | 2 (1,7) | 2 (3,2) | 0 (0,0) | 5,54±4,17 |
| Mosqueado+ Centrómero+ Membrana Nuclear | 1 (0,9) | 1 (1,6) | 0 (0,0) | 1,19 |
| Mosqueado+ Nucleolar | 6 (5,2) | 4 (6,5) | 2 (3,8) | 3,76±6,52 |
| Mosqueado+ Centrómero | 2 (1,7) | 2 (3,2) | 0 (0,0) | 1,01±1,24 |

- **Tempo decorrido entre a primeira análise ANA positiva e o diagnóstico de DAI**

O tempo mínimo decorrido entre a primeira análise ANA positiva e o diagnóstico de uma DAI foi de 0,08 anos e o máximo de 13,51 anos. A média de tempo decorrido entre a primeira análise ANA positiva e o diagnóstico de uma DAI foi de 3,0±3,3 anos, tendo variado entre 2,04 anos para o título 1/2560 e 5,68 anos para o título 1/640. Relativamente aos padrões de imunofluorescência do ANA, a média de tempo decorrido entre a análise ANA positiva e o diagnóstico variou entre 1,01 anos para a combinação mosqueado+centrómero e 5,54 anos para o padrão membrana nuclear (Tabela III).

As médias de tempo decorrido entre a análise ANA positiva e o diagnóstico de DAI foram comparadas para cada título de ANA (Tabela IV).

**Tabela IV** – Comparação das médias de tempo decorrido entre a análise de ANA positiva e o diagnóstico de DAI, para cada título de ANA, com um intervalo de confiança de 95%

| **Título de ANA comparado** | **Títulos de ANA** | ***Mean Difference*** | ***Std. Error*** | ***Sig.*** | ***95% Confidence Interval*** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | *Lower Bound* | *Upper Bound* |
| 1/640 | 1/1280 | 2,82000 | 1,35870 | 0,245 | -1,1260 | 6,7660 |
| | 1/2560 | 3,64235 | 1,31095 | 0,066 | -0,1650 | 7,4497 |
| | 1/5120 | 3,14556 | 1,49913 | 0,236 | -1,2083 | 7,4994 |
| 1/1280 | 1/640 | -2,82000 | 1,35870 | 0,245 | -6,7660 | 1,1260 |
| | 1/2560 | 0,82235 | 1,14772 | 0,915 | -2,5109 | 4,1556 |
| | 1/5120 | 0,32556 | 1,35870 | 0,996 | -3,6204 | 4,2716 |
| 1/2560 | 1/640 | -3,64235 | 1,31095 | 0,066 | -7,4497 | 0,1650 |
| | 1/1280 | -0,82235 | 1,14772 | 0,915 | -4,1556 | 2,5109 |
| | 1/5120 | -0,49680 | 1,31095 | 0,986 | -4,3041 | 3,3105 |
| 1/5120 | 1/640 | -3,14556 | 1,49913 | 0,236 | -7,4994 | 1,2083 |
| | 1/1280 | -0,32556 | 1,35870 | 0,996 | -4,2716 | 3,6204 |
| | 1/2560 | 0,49680 | 1,31095 | 0,986 | -3,3105 | 4,3041 |

Nesta comparação, verifica-se que não houve para qualquer título uma diferença estatisticamente significativa (ou seja, com $p<0,05$), no que diz respeito às médias de tempo desde a detecção de um título de ANA positivo e o diagnóstico de DAI.

Da mesma forma, foram comparadas as médias de tempo decorrido entre a análise ANA positiva e o diagnóstico de DAI para cada padrão de imunofluorescência de ANA, não tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas (para todas as comparações, $p>0,05$).

Estabeleceram-se grupos etários à data da análise positiva de ANA e compararam-se também as médias de tempo decorrido entre esta análise e o diagnóstico de DAI, cujos resultados estão apresentados no Gráfico 2.

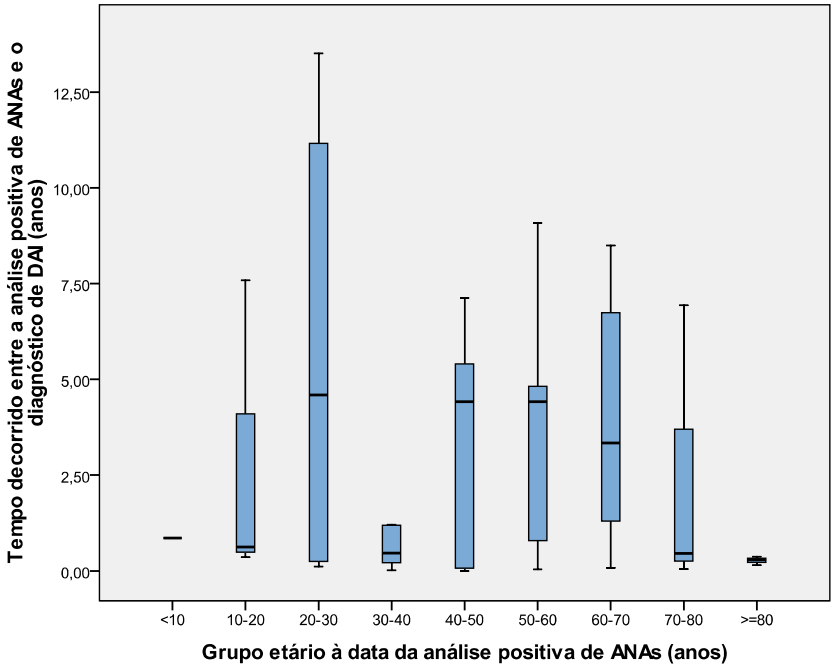



**Gráfico 2** – Tempo decorrido entre a análise positiva de ANA e o diagnóstico de DAI, para cada grupo etário

Para estratificar as médias de tempo decorrido entre a análise ANA positiva e o diagnóstico de DAI para cada grupo etário, foi criada uma variável na qual os indivíduos foram distribuídos consoante a década de vida em que se encontravam à data da análise do ANA. No entanto, desta forma, foram formados nove grupos muito pequenos e diferentes em tamanho (o menor grupo com 2 elementos e o maior com 22 elementos), o que tornou difícil uma comparação estatisticamente significativa. Assim, de forma a ficarmos com grupos etários com um número de elementos equilibrados entre si, foram criados quatro grupos etários, partindo da divisão por quartis (Gráfico 3).

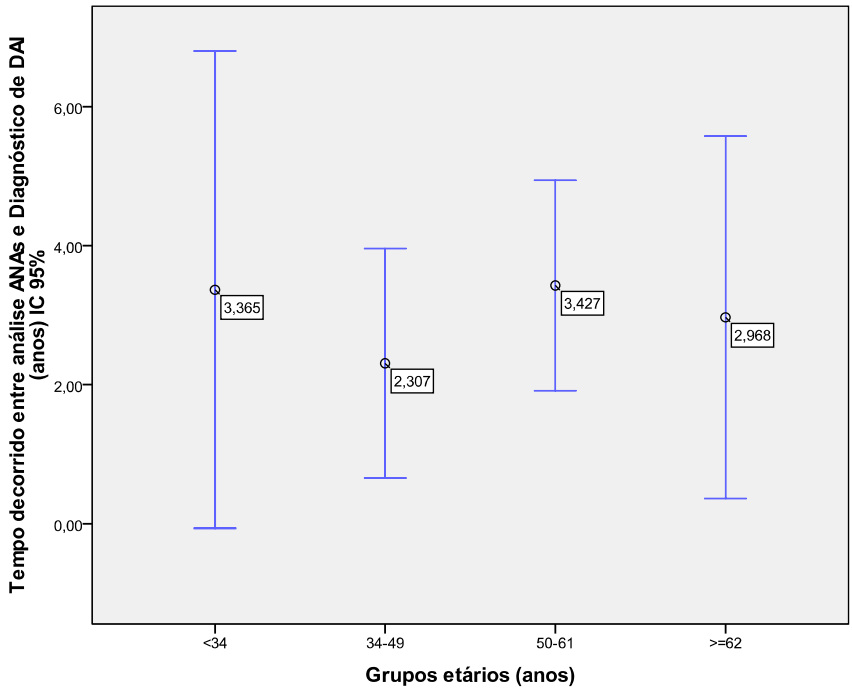



**Gráfico 3** – Tempo decorrido entre a análise positiva de ANA e o diagnóstico de DAI, para cada grupo etário à data da análise

As médias de tempo decorrido entre a análise positiva de ANA e o diagnóstico de DAI destes quatro grupos etários foram comparadas, apresentando-se os resultados na Tabela V.

**Tabela V** – Comparação das médias de tempo decorrido entre a análise de ANA positiva e o diagnóstico de DAI, para cada grupo etário, com um intervalo de confiança de 95%

| **Grupo etário comparado** | **Grupo etário** | ***Mean Difference*** | ***Std. Error*** | ***Sig.*** | ***95% Confidence Interval*** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | *Lower Bound* | *Upper Bound* |
| < 34 anos | 34-49 anos | 1,05808 | 1,43946 | 0,909 | -3,1225 | 5,2386 |
| | 50-61 anos | -0,06206 | 1,36384 | 1,000 | -4,0230 | 3,8989 |
| | ≥ 61 anos | 0,39722 | 1,57240 | 0,996 | -4,1694 | 4,9639 |
| 34-49 anos | < 34 anos | -1,05808 | 1,43946 | 0,909 | -5,2386 | 3,1225 |
| | 50-61 anos | -1,12014 | 1,26087 | 0,852 | -4,7820 | 2,5417 |
| | ≥ 61 anos | -0,66085 | 1,48397 | 0,978 | -4,9707 | 3,6490 |
| 50-61 anos | < 34 anos | 0,06206 | 1,36384 | 1,000 | -3,8989 | 4,0230 |
| | 34-49 anos | 1,12014 | 1,26087 | 0,852 | -2,5417 | 4,7820 |
| | ≥ 61 anos | 0,45928 | 1,41074 | 0,991 | -3,6379 | 4,5564 |
| ≥ 61 anos | < 34 anos | -0,39722 | 1,57240 | 0,996 | -4,9639 | 4,1694 |
| | 34-49 anos | 0,66085 | 1,48397 | 0,978 | -3,6490 | 4,9707 |
| | 50-61 anos | -0,45928 | 1,41074 | 0,991 | -4,5564 | 3,6379 |

Como se verifica na Tabela V, não se verificou qualquer diferença estatisticamente significativa, no que diz respeito às médias de tempo desde a detecção de um título de ANA positivo e o diagnóstico de DAI, nos grupos etários criados.

- **Sexo e desenvolvimento de uma DAI**

A amostra em estudo foi dividida em dois grupos: o grupo de indivíduos que desenvolveram DAI e o grupo de indivíduos que não desenvolveram DAI. Testada a hipótese de relação entre sexo e o desenvolvimento de DAI, concluiu-se não existir uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

- **Análise de ANA positiva e desenvolvimento de uma DAI**

Ainda com a amostra dividida em dois grupos (com e sem DAI), testou-se a relação entre um determinado título ou padrão de ANA com o facto de o indivíduo desenvolver ou não uma DAI.

Assim, testando a relação entre ter desenvolvido uma DAI e os padrões de imunofluorescência na primeira análise de ANA positiva, não se encontrou uma associação estatisticamente significativa para nenhum dos padrões. Testou-se também a hipótese de algum dos padrões de ANA estar associado ao grupo de indivíduos que não desenvolveram DAI e também não foi encontrada qualquer relação estatisticamente significativa.

No que diz respeito aos títulos de ANA, observou-se uma tendência estatisticamente significativa (p=0,036) dos títulos mais baixos aparecerem com maior frequência nos indivíduos que não desenvolveram DAI e os títulos mais altos nos indivíduos que vieram a desenvolver uma DAI (Tabela VI), pelo que se testou essa hipótese (Tabelas VII e VIII).

**Tabela VI** – Percentagens de indivíduos que desenvolveram, ou não, DAI para cada título de ANA positivo

| | **Título de ANA** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1/640 | 1/1280 | 1/2560 | 1/5120 |
| Indivíduos que não desenvolveram DAI | 60,0% | 52,5% | 35,1% | 30,8% |
| Indivíduos que desenvolveram DAI | 40,0% | 47,5% | 64,9% | 69,2% |

**Tabela VII** – Percentagens de indivíduos que desenvolveram, ou não, DAI para os dois títulos mais baixos e os dois mais altos de ANA

| | **Título de ANA** | |
|---|---|---|
| | 1/640 e 1/1280 | 1/ 2560 e 1/5120 |
| Indivíduos que não desenvolveram DAI | 55,4% | 34,0% |
| Indivíduos que desenvolveram DAI | 44,6% | 66,0% |

**Tabela VIII** – Valores das significâncias estatísticas da hipótese que relaciona os dois títulos de ANA mais elevados com o desenvolvimento de DAI e os dois títulos mais baixos com a ausência de DAI

| | ***Value*** | ***df*** | ***Asymp. Sig. (2-sided)*** | ***Exact Sig. (2-sided)*** | ***Exact Sig. (1-sided)*** |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Pearson Chi-Square*** | 5,201 | 1 | 0,023 | | |
| ***Continuity Correction*** | 4,376 | 1 | 0,036 | | |
| ***Likelihood Ratio*** | 5,261 | 1 | 0,022 | | |
| ***Fisher's Exact Test*** | | | | 0,025 | 0,018 |
| ***Linear-by-Linear Association*** | 5,156 | 1 | 0,023 | | |

Como se pode observar na Tabela VIII, a relação entre os títulos de ANA 1/640 e 1/1280 com a ausência de desenvolvimento de DAI e a relação entre os títulos de ANA 1/2560 e 1/5120 com o desenvolvimento de uma DAI são estatisticamente significativas.

- **Valor Preditivo Positivo (VPP) da análise de ANA no desenvolvimento de DAI**

O VPP da análise de ANA foi calculado, para títulos iguais ou superiores a 1/640, tendo o valor de 53,9%.

O VPP, calculado para cada título de ANA, foi de 40,0% para o título 1/640, 47,5% para o título 1/1280, 64,9% para o título 1/2560 e 69,2% para o título 1/5120.

## DISCUSSÃO

Segundo Arbuckle MR et al (2003), indivíduos assintomáticos com ANA positivo (título igual ou superior a 1/120) apresentam um risco 40 vezes superior de virem a desenvolver uma DAI. No nosso estudo, ao contrário do estudo de Arbuckle, não possuíamos grupo de controlo pelo que não pudemos determinar esse mesmo risco. No entanto, concluímos de forma confiável que títulos elevados de ANA estão

associados ao desenvolvimento de DAI, nomeadamente os títulos 1/2560 e 1/5120. Esta conclusão está de acordo com a de Tan et al (1997), que afirma que com títulos progressivamente maiores de ANA, a percentagem de indivíduos saudáveis diminui.

O VPP (probabilidade de existir doença dado que o teste foi positivo) do teste de ANA é relativamente baixo neste estudo (aumentando progressivamente com títulos maiores). Apesar de, como referido anteriormente, os ANAs poderem ser positivos em indivíduos com DAI, eles podem também ser positivos em indivíduos saudáveis. No entanto, há que salientar que os indivíduos da amostra estudada que não desenvolveram uma DAI (os indivíduos "saudáveis"), não a desenvolveram até ao momento do estudo, o que não significa que, nos próximos anos, não possam vir a ter o diagnóstico de uma DAI (ou mesmo de outras doenças, o que não foi avaliado). O estudo de Arbuckle MR et al (2003) propõe haver pelo menos três fases no desenvolvimento de autoanticorpos nas DAI, nomeadamente no LES. Numa primeira fase ou fase normal, os indivíduos são assintomáticos e não apresentam autoanticorpos. Numa segunda fase, a que os autores denominaram de "autoimunidade benigna", há achados laboratoriais (por exemplo, ANA positivo) mas não há manifestações clínicas imediatas. Numa terceira fase, a da autoimunidade patogénica, estão presentes autoanticorpos e surgem os primeiros sinais e sintomas da doença, o que leva ao diagnóstico da DAI. Assim, os indivíduos da nossa amostra podem nunca vir a desenvolver uma DAI ou podem encontrar-se ainda na referida fase da "autoimunidade benigna", o que, se fosse esse o caso, aumentaria o VPP do teste de ANA no desenvolvimento de DAI. É importante salientar que à luz da rede idiotipo-antiidiotipo (Niels Jerne[2]), esta autoimunidade é fisiológica, pelo que o termo "benigna" não será adequado.

Comparando ainda o nosso estudo com o de Arbuckle et al (2003), há que salientar uma importante limitação do nosso. Enquanto o de Arbuckle foi realizado a partir de uma base de dados com amostras colhidas prospectivamente em pessoal ("saudável") das Forças Armadas dos E.U.A., a nossa base de dados era constituída por indivíduos cujos médicos, por algum motivo clínico, decidiram pedir análises de ANA. Ora, se essas razões fossem os primeiros sinais ou sintomas de determinada DAI, poderíamos estar perante uma fase de autoimunidade patogénica mas sem critérios suficientes para estabelecer o diagnóstico de uma DAI, não sendo portanto indivíduos

[2] Niels Jerne, Prémio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1984, juntamente com Georges Köhler e César Milstein, pelas teorias acerca do desenvolvimento e controlo do Sistema Imune e pela descoberta do princípio da produção de Anticorpos Monoclonais. (Nobelprize.org)

absolutamente assintomáticos ou poderiam ter outras doenças com sintomatologia semelhante.

De salientar que todos os indivíduos estudados tinham análise positiva de ANA pelo que, apesar de apenas concluirmos uma associação com desenvolvimento de DAI estatisticamente significativa para os dois títulos de ANA mais elevados, todos os indivíduos estudados, seja qual for o título de ANA, devem ser alvo da mesma atenção e metodologia de diagnóstico. Tão importantes quanto os títulos de ANA, os padrões ou autoanticorpos específicos de determinada DAI, serão os critérios clínicos e outros critérios laboratoriais (como os referidos, por exemplo, na Tabela II – Critérios de diagnóstico de LES do ACR), bem como a experiência do médico no diagnóstico de DAI.

Embora tenhamos constatado uma diferença estatisticamente significativa no desenvolvimento de DAI entre títulos de ANA baixos versus elevados (1/640 e 1/1280 versus 1/2560 e 1/5120), não encontramos diferença estatisticamente significativa entre as médias de tempo entre a análise ANA positiva e o diagnóstico de DAI nos dois grupos. Nos doentes que desenvolveram DAI, a média de tempo foi de 3,0 anos, com uma variação entre 0,08 e 13,51 anos. Assim, parece ser de utilidade manter estes indivíduos, nos primeiros anos (três a quatro anos) em vigilância anual (coorte prospectivo de indivíduos ANA positivo) e em articulação com os respectivos Médicos de Família. Além disso, o estudo de Arbuckle MR et al (2003) concluiu que para os anticorpos anti-dsDNA, anti-Sm e anti-ribonucleoproteína nuclear, além de serem muito raros em indivíduos “normais”, o intervalo entre um teste positivo para qualquer um destes anticorpos e o aparecimento de manifestações clínicas de LES é menor do que para o ANA. Pelo que, para o diagnóstico numa fase assintomática de uma DAI, devemos ter em consideração não só os títulos de ANA, mas também a positividade de outros autoanticorpos mais específicos (anti-dsDNA, anti-ENA), que poderão permitir o diagnóstico mais precoce.

## REFERÊNCIAS

Adams B, Mutasim D (2000) The diagnostic value of anti-nuclear antibody testing. International Journal of Dermatology 39:887-891.

Altman D (1994) Statistics Notes: Diagnostic tests 2: predictive values**.** British Medical Journal 309:102.

American College of Rheumatology: www.rheumatology.org

Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV et al (2003) Development of autoantibodies before the clinical onset of Systemic Lupus Erythematosus. N Engl J Med 349:1526-1533.

Brinkman K, Termaat R, Van den Brink H et al (1991) The specificity of the anti-dsDNA ELISA: a closer look. J Immunol Methods 13:91-100.

Cooper GS (2009) Unraveling the Etiology of Systemic Autoimmune Diseases: Peering into the Preclinical Phase of Disease. J Rheumatol 36:1853-5.

Dellavance A, Júnior AG, Cintra A et al (2002) The First Brazilian Consensus for Standardization of ANA in HEp-2 Cells. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial 38(3):207-216.

Emlen W, O'Neill L (1997) Clinical significance of antinuclear antibodies. Comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. Arthritis & Rheumatism 40(9):1612-8.

Nobelprize.org – The Official Web Site of the Nobel Prize: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/

Rubin R (2002). Drug induced lupus. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. Dubois' lupus erythematosus, pp885-916. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Shmerling R (2003) Autoantibodies in Systemic Lupus Erithematosus – There before you know it. N Engl J Med 349:1499-1500.

Tan EM, Feltkamp TEW, Smolen JS et al (1997) Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. Arthr Rheum 40:1601-1611.

Vasconcelos C (2007) Epidemiologia Clínica do Lúpus Eritematoso Sistémico no Norte de Portugal – Tese de Dissertação de Doutoramento em Ciências Médicas. Porto.

Zinkernagel RM (2001) Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases. N Engl J Med 345(18):1331-1335.

## AGRADECIMENTOS

À Sr.ª Prof.ª Doutora Corália Vicente pelo apoio no estudo dos dados com o programa informático SPSS.

Ao Sr. Dr. Manuel Carvalho pela cedência da base de dados de análises ANA positivas.

À D. Jacqueline Ferreira, secretária administrativa da UIC, pelo apoio nos vários contactos feitos com o Serviço de Informática, no sentido de se completar a base de dados da amostra em estudo, e pela ajuda na consulta do programa informático SONHO.

Ao Serviço de Arquivo de Processos pela disponibilidade para a consulta de Processos Clínicos em papel.

## ANEXO – MODELO DO INQUÉRITO DE CONTACTO TELEFÓNICO

Número de Processo: _____

Minha Sr.ª/ Caro Sr.,

O meu nome é Inês Amorim, sou estudante do 6.º ano do curso de Medicina do ICBAS/UP e trabalho com o Sr. Doutor Carlos Vasconcelos e o(a) Sr.(ª) Dr.(ª) *nome do médico do(a) doente*, do Hospital de Santo António.

A Sr.ª/O Sr. fez umas determinadas análises cá no Hospital, há uns anos, e a propósito delas estamos a fazer um pequeno inquérito sobre as doenças autoimunes.

As doenças autoimunes ocorrem devido à formação de anticorpos e outros componentes do sistema imune contra o próprio organismo, provocando lesões localizadas ou sistémicas (na pele, órgãos, articulações,…). Fazem parte deste grupo de doenças, por exemplo, a artrite reumatóide, o lúpus eritematoso sistémico, entre outras.

Embora possam surgir em qualquer indivíduo e em qualquer idade, são mais frequentes nas mulheres e são responsáveis por um aumento de incapacidade e mortalidade. São causadas por uma complexidade de factores genéticos, hormonais, psicológicos, ambientais, entre outros que ainda se desconhece.

Este estudo tem como objectivo avaliar se é possível antecipar o diagnóstico de doenças autoimunes, possibilitando a obtenção de informação que poderá vir a ser útil para os doentes. Se concordar, terá que apenas de responder a algumas questões.

A participação neste estudo não acarretará riscos para si. Também não haverá benefícios imediatos, embora a longo prazo possam existir benefícios indirectos resultantes de uma melhor compreensão da doença. Se não desejar participar não haverá obviamente qualquer prejuízo para si.

**1.** A Sr.ª/O Sr. sofre de alguma doença autoimune como, por exemplo, Lúpus, Artrite Reumatóide, Síndrome Antifosfolípido, Síndrome de Sjögren, Esclerodermia,…?

Sim ☐ Não ☐

Se **sim**:

Nome da doença/ano de diagnóstico _____/_____

Onde é acompanhado? _____

**2.** A Sr.ª/O Sr. toma alguma medicação crónica como, por exemplo, cortisona, Imuran® (azatioprina), Ledertrexato® (metotrexato),…?

Sim ☐ Não ☐

Se **sim**:

Porquê? _____

Da minha parte é tudo, agradeço desde já a sua disponibilidade.

Os meus cumprimentos e obrigada pela participação.