

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

ANO LECTIVO: 2009/2010

VALOR PREDITIVO DOS ANTICORPOS ANTI- CENTRÓMERO NAS DOENÇAS AUTOIMUNES

Artigo de Investigação Médica

ALUNA: MÓNICA DA COSTA TEIXEIRA

ORIENTADOR: PROFESSOR DOUTOR CARLOS VASCONCELOS

PORTO, JUNHO DE 2010

“Aquele que duvida e não investiga
torna-se não só infeliz mas também injusto.”

Blaise Pascal

Resumo:

Os anticorpos anti-centrómero têm sido considerados marcadores específicos para a Esclerodermia Sistémica, especialmente em doentes com Fenómeno de *Raynaud*, em que são habitualmente predictores de doença no futuro. Apesar de altamente específicos, a sua presença tem sido associada a outras doenças autoimunes, nomeadamente a Cirrose Biliar Primária, a Artrite Reumatóide, o Síndrome de *Sjögren*, bem como Linfoma não-*Hodgkin*, e a literatura publicada refere que raramente são detectados em pessoas sem patologia de base. Considera-se que os doentes com anticorpos anti-centrómero têm um risco acrescido de desenvolver hipertensão pulmonar.

Este trabalho pretendeu caracterizar a população de doentes seguida em consulta no HGSA-CHP, com anticorpos anti-centrómero positivos de modo a poder inferir sobre o valor preditivo deste anticorpo. Para tal foi efectuado um estudo retrospectivo, com observação dos processos clínicos de uma amostra de 99 doentes e registo de dados clínicos e laboratoriais.

Metade dos doentes inicialmente com Fenómeno de *Raynaud* mas sem critérios para Esclerodermia veio a desenvolver a doença no futuro. No entanto, o valor preditivo positivo dos anticorpos anti-centrómero para a Esclerodermia é baixo, somente 47%, aumentando quando se trata de doença autoimune em geral. O risco de desenvolver Esclerodermia aumenta naqueles que têm valores mais altos de anticorpos anti-centrómero. Há também um risco aumentando de Cirrose Biliar Primária entre aqueles que possuem valores mais altos de anticorpos anti-centrómero e anti-mitocondriais M2. Nesta amostra, não existe correlação entre valores mais elevados dos anticorpos anti-centrómero e o desenvolvimento da hipertensão pulmonar.

Palavras-chave: anti-centrómero, Cirrose Biliar Primária, doenças autoimunes, Esclerodermia, Fenómeno de *Raynaud*, hipertensão pulmonar.

Índice

1 Introdução	1
2 Materiais e métodos.....	3
3 Resultados	6
3.1 Estatística descritiva	6
3.1.1 Perfil demográfico.....	6
3.1.2 Diagnósticos clínicos	6
3.1.3 Pannel de anticorpos	7
3.1.4 Repercussão por órgãos e sistemas	8
3.2 Estatística inferencial.....	9
3.2.1 Avaliação da validade do teste	9
3.2.2 Análise dos títulos/valores dos anticorpos	11
3.2.3 Análise da repercussão por órgãos e sistemas	12
4 Discussão	13
4.1 Perfil demográfico.....	13
4.2 Diagnósticos clínicos/Validade do teste.....	13
4.3 Pannel de anticorpos	14
4.4 Repercussão por órgãos e sistemas	15
4.5 Associações com o anti-centrómero.....	15
5 Comentário final.....	17
6 Referências bibliográficas.....	18
Agradecimentos	20

1. Introdução

As doenças autoimunes representam actualmente um grupo de patologias que se caracterizam por terem como mecanismo fisiopatológico a presença de determinados auto-anticorpos, ou células, que reagem contra o *self*, causando lesão. Estas doenças manifestam-se com quadros clínicos variáveis, podendo envolver desde apenas um órgão, até ao envolvimento multissistémico.^{1,2}

A Esclerodermia define-se como uma doença crónica do tecido conjuntivo que se caracteriza por fibrose da pele com possível atingimento de órgãos internos, tais como o pulmão, coração e rim, por lesão dos vasos sanguíneos e das células produtoras de colagénio que os envolvem.

Predomina no sexo feminino, afectando cerca de 4 mulheres para cada homem, manifestando-se em média por volta dos 40 anos.^{3,4}

Esta doença divide-se em duas entidades clínicas diferentes : uma variante localizada, em que a doença se limita a uma determinada área da pele e uma variante sistémica em que há envolvimento da pele e de órgãos internos. A Esclerodermia Sistémica por sua vez é ainda dividida em duas formas clínicas, limitada e difusa, as quais diferem relativamente à extensão do envolvimento dos órgãos, bem como ao curso e prognóstico da doença.

A forma limitada envolve a pele da face e da parte distal dos membros, estando habitualmente associada ao Fenómeno de *Raynaud* e ao desenvolvimento de hipertensão pulmonar em 15% dos doentes.³ Na forma difusa há envolvimento da pele do tronco e da área proximal dos membros, bem como de órgãos tais como o coração e os rins, sendo ainda que o envolvimento pulmonar é mais precoce e evolui geralmente com fibrose pulmonar.^{3,4,5}

Os anticorpos anti-centrómero foram descritos pela primeira vez em 1980 através da técnica de imunofluorescência indirecta que permitiu a sua detecção de um modo acessível e rápido.⁶ Desde então têm sido considerados marcadores específicos para a Esclerodermia Sistémica. Em doentes com Fenómeno de *Raynaud*, são habitualmente predictores de doença no futuro, nomeadamente de Esclerodermia Sistémica limitada, não se verificando nos doentes com Esclerodermia difusa, a qual se correlaciona com a presença de anticorpos anti-Scl-70. Estes anticorpos são deste modo mutuamente exclusivos, embora em casos raros possam estar presentes em simultâneo.^{7,8,9,10}

Apesar de altamente específicos a sua sensibilidade para Esclerodermia é baixa rondando os 30%.^{4,11} Neste sentido a positividade dos anticorpos anti-centrómero tem sido associada a outras doenças autoimunes, nomeadamente a Artrite Reumatóide, o Lúpus Eritematoso Sistémico, o Síndrome de *Sjögren* e a Cirrose Biliar Primária, e a literatura publicada refere que raramente são detectados em pessoas sem patologia de base.¹²⁻¹⁷ Alguns estudos referem ainda a sua associação a determinadas neoplasias, nomeadamente o Linfoma não-*Hodgkin*, e neoplasias da mama e do pulmão.¹⁸⁻¹⁹ Considera-se que os doentes com anticorpos anti-centrómero têm um risco acrescido de desenvolver hipertensão pulmonar, implicando que estes doentes devem ser alvo de uma maior vigilância nesse sentido.^{5,7,9,20}

Para além da clínica, o estudo e acompanhamento das doenças autoimunes baseia muitas das suas decisões nos resultados analíticos, nomeadamente na presença de determinados auto-anticorpos que são considerados importantes marcadores serológicos. Assim, a sua utilidade clínica é cada vez maior, pelo que é fundamental o adequado entendimento do seu significado e da sua relevância clínica, ou seja, do seu valor preditivo.

O presente trabalho pretende caracterizar a população de doentes seguida em consulta no HGSA-CHP com anticorpos anti-centrómero positivos, e correlacionar com o tipo de patologia autoimune, ou outra, que apresentem. Avaliar-se-á ainda a sua associação com a hipertensão pulmonar, independentemente do diagnóstico estabelecido de doença autoimune. Deste modo, pretende-se inferir sobre as características operacionais do anticorpo anti-centrómero nas doenças autoimunes.

2. Materiais e métodos:

Tipo de estudo

Retrospectivo observacional descritivo

Identificação da população e da amostra

Foi utilizada a população de doentes seguidos em consulta no HGSA-CHP. A amostra consistiu no conjunto de todos os doentes com anticorpos séricos anti-centrómero positivos, detectados nos estudos realizados entre 1/1/2007 a 31/12/2009 no Laboratório de Imunologia do HGSA-CHP.

Foi ainda feito um cruzamento com registos da base de dados da Unidade de Imunologia Clínica do presente hospital, que em final de 2009 contava com 116 doentes com esclerodermia, dos quais 57 tinham anticorpos anti-centrómero positivos. Por outro lado, dispôs-se do número total de determinações do anti-centrómero, requisitadas ao Laboratório de Imunologia durante o mesmo período de tempo.

Metodologia

- Observação dos processos clínicos, com levantamento da situação clínica de cada um dos doentes e recolha dos seguintes dados – Idade, sexo, diagnósticos, marcadores imunológicos e repercussões da doença por órgãos/sistemas.

- Na variável diagnósticos foram incluídos todos os diagnósticos de doença autoimune ou outra, que motivaram o clínico a pedir a determinação dos marcadores imunológicos. Os diagnósticos foram categorizados em 5 grupos: Esclerodermia, Cirrose Biliar Primária, outras doenças autoimunes, doenças não autoimunes e Fenómeno de *Raynaud* sem critérios de Esclerodermia. Os critérios de diagnóstico para a Esclerodermia basearam-se na classificação de *LeRoy et al*²¹.

- Do painel de anticorpos incluíram-se os anticorpos anti-nucleares (ANA), determinados por técnica de imunofluorescência indirecta em substrato de células HEp-2 (INOVA) com um soro anti-imunoglobulinas conjugado com fluoresceína (BIORAD). As amostras com padrão de imunofluorescência sugestivo de centrómero foram confirmadas por ensaio fluoroimunoenzimático no equipamento automático ImmunoCAP 250 (PHADIA DIAGNOSTICS) que quantifica os anticorpos IgG contra o antígeno centromérico CENP-B.

- Foram ainda determinados, pelo método anteriormente referido, os anticorpos anti-SSA/Ro, anti-SS-B/La, anti-RNP, anti-Sm, anti-Jo-1, e anti-Scl-70.

Os anticorpos anti-dsDNA foram determinados por imunofluorescência indirecta em substrato *Crithida luciliae* (BIORAD) com um soro anti-imunoglobulinas conjugado com fluoresceína (INOVA), tendo sido confirmados posteriormente através de ensaio fluoroimunoenzimático no equipamento Immuncap 250 (PHADIA DIAGNOSTICS).

Os anticorpos anti-músculo liso (AML) e anti-mitocondriais foram determinados por técnica de imunofluorescência indirecta em lâminas com substrato triplo (rim, fígado e estômago de ratinho) e células HEp-2, respectivamente. Nas amostras com anticorpos anti-mitocondriais positivos foram ainda determinados os anticorpos anti-mitocondriais M2, ou por ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) com um kit comercial (MBL), ou por técnica de immunoblotting (EUROIMMUN).

A pesquisa de factor reumatóide foi determinada por nefelometria num equipamento automático (BECKMAN IMAGE).

Todas as amostras foram doseadas em soro conservado a 4°C durante o período máximo de 72 horas.

- A repercussão da doença por órgãos e sistemas foi esquematizada tendo em conta os sistemas que habitualmente são atingidos por esta doença. No sistema vascular registou-se a presença do Fenómeno de *Raynaud*/úlceras digitais detectados na anamnese e ainda se foi ou não efectuada capilaroscopia e qual o padrão. Relativamente à pele registou-se a presença de espessamento/esclerodactilia por observação ao exame físico. No sistema digestivo registou-se a ocorrência de dismotilidade esofágica, pela clínica e através de manometria esofágica. No sistema músculo-esquelético registou-se a ocorrência de artralguas/artrite, calcinose e miopatia através da anamnese, sendo que a calcinose foi ainda confirmada por radiologia. Relativamente ao sistema cardiopulmonar registou-se a presença de fibrose pulmonar detectada por tomografia axial computadorizada (TAC) e ainda a suspeita de hipertensão pulmonar por ecocardiograma com *doppler*, naqueles com registos de valores médios de pressão da artéria pulmonar (PSAP) ≥ 30 mmHg ou naqueles com relatório do especialista indicando sinais evidentes de hipertensão pulmonar. Registou-se de igual modo o resultado das provas funcionais respiratórias, considerando-se alteradas aquelas com diminuição significativa da capacidade de difusão alvéolo-capilar do monóxido de carbono.

- Foi efectuada o registo dos anticorpos bem como do atingimento por órgãos/sistemas em dois momentos diferentes: no período inicial de seguimento do doente em consulta neste hospital, e no período mais recente do qual havia registo.

- A base de dados foi criada em programa informático *Excel*, tendo as variáveis referidas sido codificadas para posterior análise no programa informático *SPSS 17,0*.

Para se proceder à análise estatística definiu-se um *cut-off* no valor dos anticorpos anti-centrómero de 240 U/mL - valor considerado elevado - tendo-se estudado, por regressão logística, a associação dos valores abaixo e acima deste *cut-off* com as seguintes variáveis: Esclerodermia, Cirrose Biliar Primária, Síndrome de Sjögren, Linfoma não-*Hodgkin* e hipertensão pulmonar. Para análise de mais dados foram ainda usados testes estatísticos, tais como o teste-t para amostras emparelhadas e o teste do qui-quadrado. O intervalo de confiança utilizado foi de 0,95 com um valor de significância de 0,05.

3. Resultados

3.1 Estatística descritiva

Dos 99 doentes seleccionados, 3 não tinham processo disponível pelo que apenas foram analisados 96 doentes.

3.1.1 Perfil demográfico

Relativamente à amostra estudada 90 doentes eram do sexo feminino (93,8%) e 6 do sexo masculino (6,3%), com idades compreendidas entre os 23 e 87 anos e uma idade média de 57,8 anos (desvio padrão 13,9).

O tempo que decorreu entre o início dos sintomas e a data da primeira consulta foi calculado em 4,3 anos (desvio padrão 6,7). A média de idades à data do diagnóstico foi de 44,1 anos (desvio padrão 14,2), com um *follow-up* médio da doença de 13 anos.

3.1.2 Diagnósticos clínicos

No período inicial 46 doentes (47,9%) estavam classificados como tendo Fenómeno de *Raynaud* sem critérios para Esclerodermia, e 8 doentes (8,3%) estavam diagnosticados com Esclerodermia.

No período mais recente o diagnóstico mais prevalente foi de Esclerodermia, totalizando quase metade da amostra. Os restantes diagnósticos foram os seguintes:

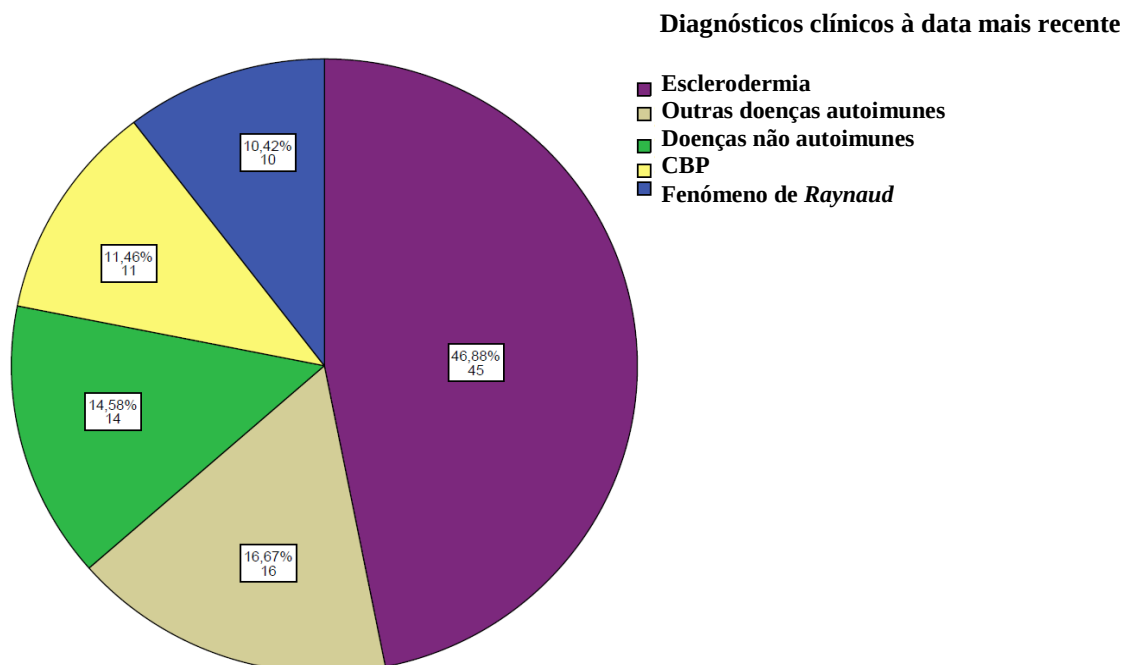


Figura nº1 – Percentagem de diagnósticos clínicos obtidos na amostra de doentes com anticorpos séricos anti-centrómero positivos.

Em cima está representada a percentagem e por baixo a frequência.

CBP: Cirrose Biliar Primária

No grupo de doentes com Esclerodermia 31,7% tinham a doença classificada como Sistémica limitada, 6,1% tinham pré-esclerodermia, 5,1% Esclerodermia difusa e os restantes 4% Esclerodermia Localizada.

No grupo das outras doenças auto imunes registou-se um grupo em maior percentagem de doentes com Conectivite Indiferenciada (5,1%), tendo os restantes doentes diagnósticos de Artrite Reumatóide (4%) e em menor número Síndrome de *Sjögren*, Lúpus Eritematoso Sistémico, Dermatomiosite, Síndrome Antifosfolípídico, Síndrome de *Overlap* e Colite Ulcerosa.

No grupo das doenças não autoimunes destacaram-se 3 doentes com Linfoma não *Hodgkin*, registando-se ainda casos individuais de: Paramiloidose Familiar, “*burning mouth syndrome*”, Doença do Neurónio Motor, Mielopatia transversa, e ainda um caso de insuficiência renal crónica de etiologia indeterminada. Os restantes apresentavam sintomas sem entidade nosológica bem definida, nomeadamente articulares, xerostomia e/ou xeroftalmia.

Verificou-se ainda que 4% dos doentes com Esclerodermia tinham critérios de Cirrose Biliar Primária, traduzindo quadros de sobreposição de doença autoimune.

3.1.3 Paineis de anticorpos

Os títulos e padrões dos anticorpos antinucleares e o valor dos anticorpos anti-centrómero no período em que os doentes tiveram a 1ª consulta e no período mais recente, encontram-se discriminados nas seguintes tabelas:

Tabela I - Títulos dos ANA e valores dos anti-centrómero (U/mL) obtidos em momentos diferentes

	Mínimo	Máximo	Média e desvio padrão dos títulos/valores obtidos no momento da 1ª consulta	Média e desvio padrão dos títulos/valores obtidos nas últimas análises
ANA	1/80	1/5120	$x=1/1567,7$ $\sigma=1191,2$	$x=1/1118,6$ $\sigma=419,1$
Anticorpo anti-centrómero	11	300	$X=193,7$ $\sigma=86,6$	$x=184,2$ $\sigma=81,9$

Tabela II – Padrões observados dos ANA

Centrómero	Centrómero + mosqueado	Mosqueado	Homogéneo
85,9%	3,3%	7,6%	3,3%

A frequência dos restantes anticorpos encontra-se ilustrada no seguinte gráfico:

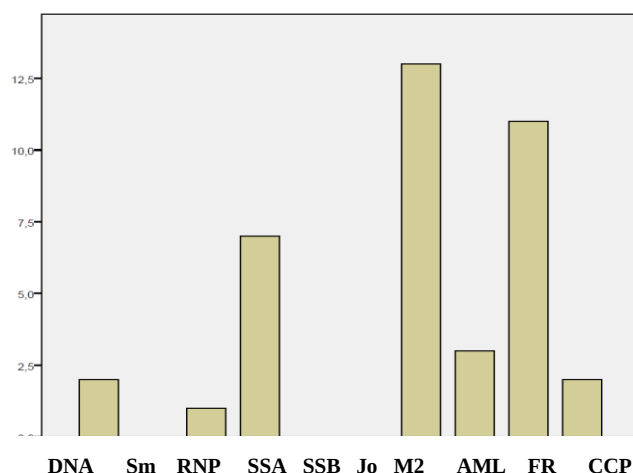


Figura nº 2 – Frequência de doentes com outros anticorpos associados ao anti-centrómero

Verifica-se que os anticorpos anti-mitochondriais M2 são os que se encontram presentes em maior número de doentes (14), seguidos do factor reumatóide (11 doentes) e do anticorpo anti-SSA/Ro (6 doentes). Os anticorpos anti-SSB/La foram encontrados em apenas 1 doente e os anticorpos anti-Jo-1 e anti-Sm em nenhum.

Foi ainda registada a presença do anticorpo anti-Scl-70 em dois doentes, ambos com valores iniciais do anti-centrómero < 240 U/mL, que evoluíram para valores superiores a este *cut-off* nas determinações mais recentes.

3.1.4 Repercussão por órgãos e sistemas

O atingimento vascular e cutâneo representam os sistemas mais afectados. Na quase totalidade dos doentes com repercussão vascular (19 dos 21 doentes) foi confirmado por capilaroscopia um padrão vascular compatível com esclerodermia, como mostra a seguinte imagem:

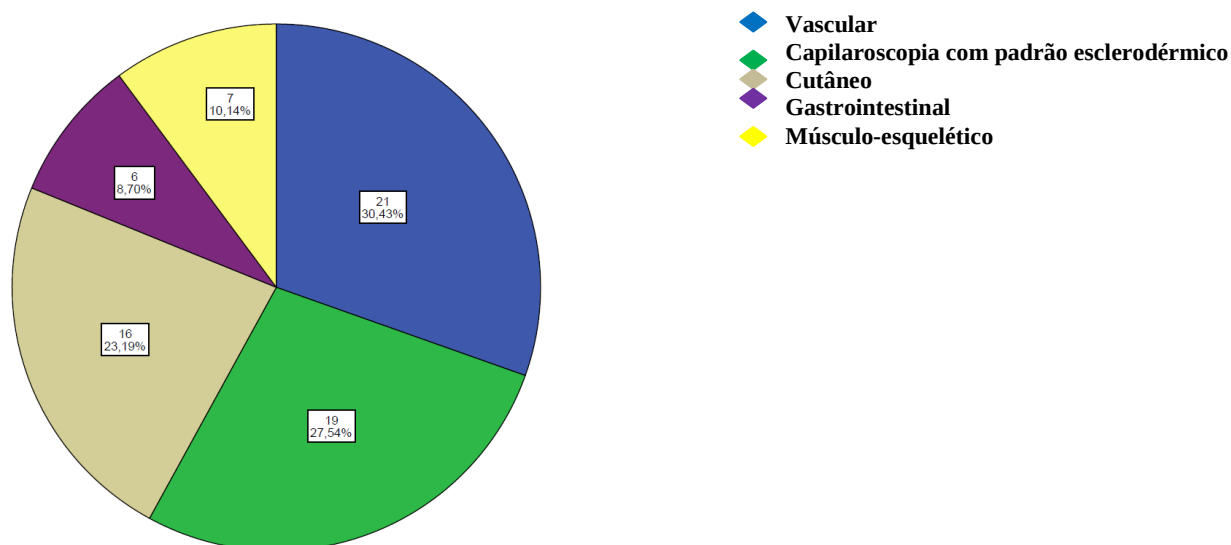


Figura nº 3 – Repercussão por órgãos e sistemas em doentes com anticorpo anti-centrómero positivo

No início do *follow-up* 23,1% dos doentes apresentavam alterações nas provas funcionais respiratórias, 26,7% fibrose pulmonar confirmada por TAC, e 23,2% suspeita de hipertensão pulmonar por ecocardiograma transesofágico com *doppler*.

Ao longo do *follow-up* não se registou evolução significativa na alteração das provas funcionais ou no desenvolvimento de fibrose, excepto no caso da hipertensão pulmonar, em que se registou um aumento de suspeita para 32,1% de doentes.

3.2 Estatística inferencial

3.2.1 Avaliação da validade do teste

O valor preditivo do anticorpo anti-centrómero como teste de diagnóstico para qualquer doença autoimune foi calculado, considerando-se como não doentes todos aqueles pertencentes ao grupo das doenças não autoimunes.

Tabela III – Avaliação do valor preditivo positivo (VPP) do anticorpo anti-centrómero para as doenças autoimunes

	Doença autoimune	Sem doença autoimune estabelecida	Total
Anticorpo anti-centrómero positivo	82	14	96
Anticorpo anti-centrómero negativo	N/D	N/D	1568
Total	N/D	N/D	1664

N/D – Não disponível

Número total de testes para determinação do anti-centrómero requisitados ao Laboratório de Imunologia no mesmo período de tempo (n) = 1664 testes

VPP = Verdadeiro positivo/ (Verdadeiro positivo + Falso positivo)

VPP = $82/(82+14) \approx 85\%$

Tabela IV – Avaliação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do anticorpo anti-centrómero para a esclerodermia

	Esclerodermia	Sem Esclerodermia estabelecida	Total
Anticorpo anti- centrómero positivo	45	51	96
Anticorpo anti- centrómero negativo	47	1521	1568
Total	92	1572	1664

Para completar a tabela acima indicada e por não se possuir população de controlo, extrapolou-se o número de doentes com esclerodermia e anticorpos anti-centrómero negativos a partir dos dados constantes da base de dados da Unidade de Imunologia Clínica para o mesmo período referente ao estudo. Por proporção, se em 116 doentes com esclerodermia 57 têm anti-centrómero positivo, então os 45 doentes desta amostra com esclerodermia e anti-centrómero positivo deverão corresponder a um número total de 92 doentes com esclerodermia, estimando-se assim o número de doentes com esclerodermia e anti-centrómero negativo. Ao número total de testes (n=1664), que foram requisitados ao laboratório para a determinação do anti-centrómero no mesmo período de tempo, subtraiu-se o número de doentes desta amostra, obtendo-se assim uma estimativa do número total de doentes com anti-centrómero negativo.

Sensibilidade = Verdadeiro positivo/ (Verdadeiro positivo + Falso negativo)

Sensibilidade = $45/(45+47) \approx 49\%$

Especificidade = Verdadeiro negativo/ (Falso positivo + Verdadeiro negativo)

Especificidade = $1521/(51+1521) \approx 97\%$

VPP = Verdadeiro positivo/ (Verdadeiro positivo + Falso positivo)

VPP = $45/(45+51) \approx 47\%$

VPN = Verdadeiro negativo/ (Falso negativo + Verdadeiro negativo)

VPN = 1521/(47+1521) $\approx$ 97%

3.2.2 Análise dos títulos/valores dos anticorpos

Usando o teste-t para amostras emparelhadas verifica-se uma diminuição de 1/400 no título dos ANA desde o momento em que os doentes foram diagnosticados até à data mais recente do qual há registo ($p = 0,003$).

Relativamente ao valor dos anticorpos anti-centrómero não ocorreram diferenças estatisticamente significativa entre a média dos valores iniciais e a média dos valores mais recentemente determinados ($p = 0,300$).

Associação do anti-centrómero com as variáveis definidas

Para análise univariada os doentes foram divididos em 2 grupos de acordo com um *cut-off* correspondente a valores elevados do anti-centrómero, sendo considerado grupo padrão o grupo com valores <240 U/mL e o grupo 1 aquele com valores >240 U/mL, de modo a verificar se existe associação entre valores altos de anti-centrómero e as variáveis. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Tabela V – Associação entre valores altos e baixos de anti-centrómero e: Esclerodermia, Cirrose Biliar Primária, Síndrome de Sjögren, Linfoma não-Hodgkin e hipertensão pulmonar

			Intervalo de confiança 95%	
Variáveis	<i>p</i>	Odds Ratio	Mínimo	Máximo
Esclerodermia	0,047	2,390	1,013	5,635
Cirrose biliar primária	0,245	2,267	N/S	N/S
Síndrome de Sjögren	0,618	N/S	N/S	N/S
Linfoma não-Hodgkin	0,794	N/S	N/S	N/S
Hipertensão pulmonar	0,373	N/S	N/S	N/S

N/S – Não significativo

Associação do anti-centrómero com outros anticorpos

Por regressão logística verifica-se que os doentes com anticorpos anti-M2 e valores do anti-centrómero >240 U/mL têm uma associação estatisticamente significativa com a

Cirrose Biliar Primária ($p = 0,030$), apresentando um risco relativo, comparativamente aos restantes, 6,2 vezes superior, de desenvolver Cirrose Biliar Primária.

3.2.3 Análise da repercussão por órgãos e sistemas

O teste-t para amostras emparelhadas indica que o aumento de doentes com suspeita de hipertensão pulmonar no período mais recente é estatisticamente significativo ($t = 2,07$; $p = 0,044$).

Por regressão logística verifica-se que na amostra de doentes com anti-centrómero positivo, não existe associação estatisticamente significativa entre a hipertensão pulmonar e a esclerodermia ($p = 0,888$).

4. Discussão

4.1 Perfil demográfico

Os aspectos demográficos da amostra estudada estão em consonância com a informação publicada^{3,22}, na qual o sexo feminino predomina, e a idade média de diagnóstico da Esclerodermia ronda a 4ª década.

4.2 Diagnósticos clínicos/Validade do teste

Tal como na literatura acima indicada, também nesta amostra a Esclerodermia Sistémica limitada representa a maioria dos casos, sendo a Esclerodermia Localizada a variante menos comum da doença.

Desde que os anticorpos anti-centrómero foram descobertos, a sua associação à Esclerodermia foi sempre considerada como um dado consensual no conhecimento científico. Particularmente em relação ao Síndrome de CREST (calcinose, Fenómeno de *Raynaud*, dismotilidade esofágica, esclerodactilia e telangiectasias), os anticorpos anti-centrómero eram considerados marcadores altamente específicos, predizendo em doentes com Fenómeno de *Raynaud* isolado, o desenvolvimento de doença no futuro.^{8,9,10} No entanto, estudos mais recentes têm vindo a pôr em causa tal relação, dado que se tem detectado que a sua presença está também associada a outras doenças autoimunes, bem como a outras doenças¹²⁻¹⁹.

De facto nesta amostra, e apesar do diagnóstico predominante ser de Esclerodermia (47%), o grupo de doentes com outras doenças autoimunes, incluindo aqueles com Cirrose Biliar Primária perfaz mais da sua metade (28%). Se juntarmos a estes, o grupo de doenças não autoimunes, totaliza-se no conjunto quase metade da amostra. Deste modo, a presença do anticorpo anti-centrómero prediz apenas em cerca de 50% dos casos a probabilidade de se desenvolver Esclerodermia, o que justifica o seu baixo valor preditivo positivo (47%), bem como a diminuída sensibilidade do teste (49%). Ainda assim os dados deste estudo estimam uma sensibilidade superior à que é atribuída em outros estudos, tal como referido na introdução^{4,11} De referir que dada a rara prevalência da doença, seriam de esperar valores preditivos baixos. Desta forma, a presença do anticorpo só deverá ser considerada relevante se aliada a critérios clínicos de Esclerodermia, que aumentam o valor pré-teste. Por outro lado, dada a elevada especificidade e valor preditivo negativo, este poderá ser útil para exclusão de síndromes de sobreposição com Esclerodermia.

Apesar de não ser um estudo caso-controlo, a extrapolação a partir de uma população onde a amostra corresponde a 90% da população anti-centrómero positivo permite uma aproximação fiável aos valores reais. Não obstante, é preciso ter em conta que este estudo sofre de um viés de selecção importante, dado que é feito a partir de uma amostra seleccionada de pessoas não representativa da população em geral.

Já para o caso das doenças autoimunes na sua globalidade, o valor preditivo do anti-centrómero é maior, pois a sua prevalência na amostra é muito superior à prevalência de doentes com esclerodermia. Seria importante verificar qual a evolução dos doentes classificados com doença não autoimune, uma vez que uma grande parte deles possui sintomas característicos de doença autoimune, que apesar de ainda não enquadrados em nenhuma síndrome, poderão evoluir para doença no futuro.

4.3 Pannel de anticorpos

O padrão de anticorpos durante o *follow-up* não se alterou, tal como é esperado¹⁰ tendo havido uma diminuição no título dos ANA que pode não ter qualquer significado mas que também poderá ter a ver com a instituição do tratamento, pelo que teria sido importante verificar se essa diminuição foi de encontro ao controlo da resposta clínica. Apesar disso não houve alteração significativa nos valores (U/mL) dos anticorpos anti-centrómero ao longo do tempo, e ainda assim, quase metade dos doentes inicialmente sem Esclerodermia vieram a desenvolver a doença, o que mais uma vez nos diz não ser suficiente a presença de um anticorpo para levar ao desenvolvimento de uma doença autoimune.

O factor reumatóide é um anticorpo frequente na população, sendo por isso pouco específico, o que pode justificar a sua frequência aumentada nesta amostra.

A presença simultânea, descrita raramente na literatura, do anticorpo anti-Scl-70 com o anti-centrómero ocorreu em dois doentes. Ambos têm fibrose pulmonar o que reforça a associação deste anticorpo com esta complicação no contexto de Esclerodermia, mas apenas um doente tem Esclerodermia difusa, diagnosticada. O outro doente mantém o diagnóstico de Esclerodermia limitada desde há 13 anos, sem qualquer evolução desde aí, o que está de acordo com o facto de este anticorpo (anti-Scl-70) não ter 100% de especificidade para Esclerodermia Sistémica difusa⁷.

Relativamente aos anticorpos anti-mitocondriais, o anticorpo anti-M2 considerado um marcador específico de Cirrose Biliar Primária revela-se como sendo o anticorpo mais frequentemente associado ao anti-centrómero, tal como comprovado em outros estudos

15, 17.

4.4 Repercussão por órgãos e sistemas

O Fenómeno de *Raynaud* constituiu motivo importante de referência dos doentes para a consulta bem como um factor importante ao desenvolvimento de Esclerodermia. Constata-se que quase metade dos doentes enviados por Fenómeno de *Raynaud* inicialmente sem critérios para esclerodermia veio a desenvolver a doença restando apenas 10% de doentes actualmente ainda sem critérios. É importante manter a vigilância clínica destes doentes, pela possibilidade de evolução futura para uma situação de Esclerodermia, atendendo a que a doença pode demorar cerca de 20 anos a progredir.³ Do mesmo modo se entende porque a repercussão vascular juntamente com o atingimento cutâneo com espessamento, constituem os sistemas mais afectados, reportando-se como critérios clínicos importantes no diagnóstico da esclerodermia, tal como é reconhecido em artigos científicos²³. Tudo isto realça a importância da variável Tempo no acompanhamento destes doentes, pois com o tempo o diagnóstico de Esclerodermia vai aumentando e as características operacionais dos testes de diagnóstico podem melhorar.

O ecocardiograma com *doppler* constitui actualmente o método complementar de diagnóstico de eleição para a determinação da hipertensão pulmonar em doentes com Esclerodermia, ainda que perante a suspeita seja necessário proceder-se à cateterização cardíaca para o diagnóstico definitivo.^{24,25} Nesta amostra, cerca de um quarto dos doentes têm suspeita de hipertensão pulmonar e o facto de ter ocorrido um aumento significativo do número de casos deve-se a que a maioria dos doentes inicialmente apenas com Fenómeno de *Raynaud* terem vindo a desenvolver Esclerodermia. No entanto, este valor poderá estar sobrevalorizado, tendo em conta que alguns autores consideram que um valor de PSAP ≥ 30 mmHg mas que seja ≤ 40 mmHg é ainda um valor normal. Neste estudo foi usado um *cut-off* menor (PSAP de 30 mmHg) para limite máximo de valores normais, o que também é válido na opinião de outros autores, pois permite um controlo mais rigoroso do desenvolvimento desta complicação.^{20,24,25}

4.5 Associações com o anti-centrómero

O facto de haver uma maior associação da presença de anticorpos anti-centrómero com Esclerodermia nos doentes com valores mais elevados (>240 U/mL) comparativamente àqueles com valores mais baixos, com um risco relativo 2 vezes superior, leva a pensar se não se deveria elevar o *cut-off*, no sentido de não serem incluídos tantos falsos positivos. Isto demonstra que se tenha em conta o valor do anti-centrómero e não só a positividade/negatividade na interpretação do teste.

Relativamente à associação descrita do anti-centrómero com outras patologias que não a Esclerodermia, infere-se a partir desta amostra que 13% dos doentes com anti-centrómero têm probabilidade de desenvolver Cirrose Biliar Primária. Isto corrobora a informação actual sobre a relação deste anticorpo com outras patologias que não a Esclerodermia, especialmente com a Cirrose Biliar Primária, com uma probabilidade semelhante à que é publicada.¹⁷ Neste caso, um valor de anti-centrómero > 240 U/mL aliado à presença de anti-M2 aumenta em cerca de 6 vezes a probabilidade de Cirrose Biliar Primária. Deste modo, e atendendo ao facto de constituir o diagnóstico mais prevalente a seguir à Esclerodermia o estudo efectuado nesta amostra vai de encontro às informações publicadas na literatura que relacionam a presença do anticorpo anti-centrómero à Cirrose Biliar Primária, especialmente quando em valores aumentados.^{13,15,16,17}

Nesta amostra não existe, relativamente aos doentes com Esclerodermia, uma associação estatisticamente significativa com a hipertensão pulmonar. Também não se provou existir uma associação estatisticamente significativa entre o desenvolvimento desta complicação e valores mais altos de anti-centrómero. Isto está de acordo com o facto de apenas 15% dos doentes com Esclerodermia desenvolverem hipertensão pulmonar³; por outro lado, uma vez que os doentes sem Esclerodermia podem vir a desenvolver mais tarde hipertensão pulmonar, deixa em aberto o papel que os anticorpos anti-centrómero positivos poderão ter no mecanismo fisiopatológico da hipertensão pulmonar. É importante salientar que a hipertensão pulmonar tem vindo a assumir cada vez maior importância na clínica.

5. Comentário final

O estudo das doenças autoimunes constitui um desafio, podendo ser difíceis de diagnosticar e controlar, exigindo a actualização constante de novas fontes de informação científica que se têm vindo a desenvolver neste âmbito, quer ao nível da fisiopatologia quer ao nível da descoberta de novos anticorpos. Neste âmbito, têm vindo progressivamente a ser caracterizados auto-anticorpos associados a diferentes situações clínicas, que apesar da sua detecção não ser patognomónica de doença, a sua presença em determinados valores pode ser relevante, quer como critério de diagnóstico e de monitorização, quer como preditivo da evolução da doença.

6. Referências bibliográficas

1. Shoenfeld, Y.; Gershwin, M.E.; Meroni, P.L. *Autoantibodies*. 2th Ed. Oxford: Elsevier, 2007.
2. Lleo A. *et al.* Definition of human autoimmunity — autoantibodies versus autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews* 2009.
3. Clements, P.J.; Furst, D.E. *Systemic sclerosis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- 4- Grassegger, A. *et al.* Autoantibodies in systemic sclerosis (scleroderma): clues for clinical evaluation, prognosis and pathogenesis. *Wien Med Wochenschr.* 2008; 158: 1-2.
- 5- Doran, J.P; Veale, D. J. Biomarkers in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2008; 47: 36–38.
- 6- Akbarali, Y.; Matousek-Ronck, J. *et al.* Fine Specificity Mapping of Autoantigens Targeted by Anti- Centromere Autoantibodies. *J Autoimmun.* 2006; 27(4): 272–280.
- 7- Dick, T.; Mierau, R. *et al.* Coexistence of antitopoisomerase I and anticentromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2002; 61: 121–127.
- 8- Hesselstrand, A.; Scheja, G.Q. *et al.* The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2003; 42: 534–540.
- 9- Khanh, T.; Reveille, D.J. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther.* 2003; 5: 80-93.
- 10- Steen, D.V. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005; 35: 35-42.
- 11- Frequency and clinical associations of anti-chromo antibodies in connective tissue disease. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1994; 53: 666-670.
- 12- Routsias, J.G; Athanasios, G. Sjögren's Syndrome-Study of Autoantigens and Autoantibodies. *Clinic Rev Allerg Immunol.* 2007; 32: 238–251.
- 13- I., Marie; H., Levesque *et al.* Autoimmune hepatitis and systemic sclerosis: a new overlap syndrome? *Rheumatology.* 2001; 40: 102-106.
- 14- Lee, S.L; Tsay, G.J. Anticentromere antibodies in subjects with no apparent connective tissue disease. *Ann Rheum Dis.* 1993; 52: 586-589.
- 15- Chou, M.J *et al.* Specificity of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Ann Rheum Dis.* 1995; 54: 148-151.
- 16- Nakamura, M. *et al.* Anti-gp210 and Anti-Centromere Antibodies Are Different Risk Factors for the Progression of Primary Biliary Cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45(1).

- 17- Granito, A. Antibodies to SS-A/Ro-52kD and centromere in autoimmune liver disease: a clue to diagnosis and prognosis of primary biliary cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 831–838.
- 18- Vettori, S. *et al.* Non-Hodgkin's lymphoma in systemic sclerosis: case and literature review. *Rheumatol* 2009.
- 19- Derk, T.C. Associations of breast cancer development in patients with systemic sclerosis: an exploratory study. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 1615–1619.
- 20- Hipertensão pulmonar e esclerose sistêmica. *J Bras Pneumol* 2005; 31(2): 24-27.
- 21- Walker, G. J. *et al.* The development of systemic sclerosis classification criteria. *Clin Rheumatol*. 2007; 26: 1401–1409.
- 22- Mtyawaki, S. *et al.* Clinical and Serological Heterogeneity in patients with anticentromere antibodies. *The Journal of Rheumatology* 2005; 32: 8.
- 23 - Koenig M., Dieudé M., Senécal J.L. Predictive value of antinuclear autoantibodies: The lessons of the systemic sclerosis autoantibodies. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7: 588–593.
- 24 - Plastiras, C.S. *et al.* Determinants of Pulmonary Arterial Hypertension in Scleroderma. *Semin Arthritis Rheum*. 2007; 36: 392-396.
- 25 – Rubin, J.L. Diagnosis and Management of Pulmonary Arterial Hypertension: ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2004; 126: 4-6.

Agradecimentos

Agradeço a todos os que contribuíram à realização deste trabalho, particularmente ao Professor Doutor Carlos Vasconcelos, pela sua orientação na planificação e concretização deste trabalho.

Agradeço ainda especialmente ao Dr. Pedro Vita pela sua disponibilidade e pela ajuda prestada para a execução do mesmo.

A toda a equipa do Laboratório de Imunologia, em especial à Dra. Conceição Cerveira, à Dra. Judite Guimarães e à Dra. Paula Carneiro.