

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA  
SAÚDE**

**Jozelia Rêgo**

**PESQUISA DE AUTOANTICORPOS CONTRA ANTÍGENOS  
INTRACELULARES, EM CÉLULAS HEp-2,  
EM GOIÂNIA - GOIÁS.**

**Goiânia  
2009**

**Jozelia Rêgo**

**PESQUISA DE AUTOANTICORPOS CONTRA ANTÍGENOS  
INTRACELULARES, EM CÉLULAS HEp-2,  
EM GOIÂNIA - GOIÁS.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Nilzio Antonio da Silva

**Goiânia  
2009**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE MEDICINA

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
da Universidade Federal de Goiás

FOLHA DE APROVAÇÃO DE DEFESA DE  
TESE DE DOUTORADO

**"PESQUISA DE AUTOANTICORPOS  
CONTRA ANTÍGENOS INTRACELULARES,  
EM CÉLULAS HEP-2, EM GOIÂNIA-GOIÁS"**

JOZELIA RÉGO

Defesa defendida e aprovada pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Nélio Antônio da Silva – Presidente

Prof. Dr. Roger A. Levy – Membro

Profa. Dra. Cristina Costa Duarte Lages – Membro

Prof. Dr. Antônio Carlos Ximenes – Membro

Prof. Dr. Salvador Passi – Membro

Prof. Dr. Joffre Rezende Filho – Suplente

Profa. Dra. Edna Regina Silva Pereira – Suplente

Goiânia, 17 de dezembro de 2009.

## *Dedicatória*

Dedico este trabalho ao Prof. Alexandre Gabriel Júnior, que me ensinou a importância da associação do conhecimento clínico com a prática laboratorial.

## **AGRADECIMENTOS...**

Ao meu orientador, Prof. Dr. Nilzio Antonio da Silva, pelos ensinamentos de vida.

Ao Prof. Paulo Leser, pela oportunidade de conhecer a prática laboratorial reumatológica.

Ao Prof. Gercino Monteiro Filho, pela análise estatística dos dados.

Ao Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, pela possibilidade de desenvolver este trabalho.

Aos Profs. Antonio Carlos Ximenes, Joffre Rezende Filho, Edna Regina Silva Pereira e Neusa Batista de Melo, pelas valiosas contribuições durante minha Qualificação.

Ao meu irmão Jadson, pelo carinho, amizade e companheirismo, presentes em toda minha vida.

À amiga Fábria Mara, pela presença constante nos momentos de angústia e desalento.

À Dra. Eleusa, pelas orientações precisas nos momentos de indecisão.

Às amigas Christiane Kobal e Valéria Pigozzi, pelo apoio incondicional ao longo desta jornada.

Aos meus ex-residentes Michelle e Vítor, e às atuais residentes Yadine e Carolina, pela demonstração de que vale a pena querer ensinar.

Ao Dr. Paulo Luiz Francescantonio, à amiga Bárbara Nuccitelli e aos colegas de laboratório Mário Henrique e Rosimeire, pelas orientações técnicas.

**“A vida é cheia de pessoas que vão fazer você rir, chorar e se divertir até não agüentar mais ou pensar que vai explodir de alegria. Mas as que vão deixar marcas na sua alma são aquelas que vão fazer sua vida seguir em frente.”**

**(Natalie Bernot)**

## SUMÁRIO

Lista de tabelas  
Lista de figuras  
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos  
Resumo  
Abstract

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	Patogênese das doenças autoimunes .....	21
1.2	Autoanticorpos e autoimunidade .....	24
1.3	Autoanticorpos como marcadores diagnósticos .....	25
1.4	Autoanticorpos como marcadores preditores .....	27
1.5	Autoanticorpos e doenças reumáticas.....	27
1.6	Os diferentes substratos .....	29
1.7	Comparação entre os substratos .....	31
1.8	Interpretação do teste laboratorial .....	32
1.9	Justificativa.....	42
2	OBJETIVOS .....	43
2.1	Geral .....	44
2.2	Específicos.....	44
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	45
3.1	Casuística.....	46
3.1.1	Critérios de inclusão .....	47
3.1.2	Critérios de exclusão .....	47
3.1.3	Aspectos éticos .....	48
3.2	Métodos .....	48
3.2.1	Análise estatística .....	50
4	RESULTADOS .....	51
5	DISCUSSÃO .....	76
6	CONCLUSÕES .....	87
7	REFERÊNCIAS .....	90
8	ANEXOS.....	103
8.1	Parecer do Comitê de Ética .....	104
8.2	Autorização da Diretoria Técnica.....	106
8.3	Distribuição dos padrões de fluorescência de acordo com os diagnósticos .....	108

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Média e Desvio Padrão da idade dos pacientes do Grupo I (exames solicitados em uma ocasião).....	53
Tabela 2 –	Distribuição da freqüência dos padrões de fluorescência do Grupo I (n=623) na pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares, em Goiânia – Goiás, no período de jan./2000 a dez./2007 .....	54
Tabela 3 –	Distribuição dos padrões de fluorescência do Grupo I (n=623) de acordo com a presença de doença autoimune.....	55
Tabela 4 –	Distribuição dos padrões de fluorescência no lúpus eritematoso sistêmico (n=215).....	56
Tabela 5 –	Distribuição dos padrões de fluorescência na artrite reumatóide (n=54).....	57
Tabela 6 –	Distribuição dos padrões de fluorescência na doença mista do tecido conjuntivo (n=19).....	58
Tabela 7 –	Distribuição dos padrões de fluorescência nas doenças não-autoimunes englobadas no grupo denominado de Outras Causas (n=211).....	62
Tabela 8/1 –	Distribuição dos títulos de fluorescência do Grupo I, de acordo com os diagnósticos clínicos.....	68
Tabela 8/2 –	Distribuição dos títulos de fluorescência do Grupo I, de acordo com os diagnósticos clínicos.....	69

Tabela 9 –	Distribuição dos diagnósticos onde o padrão de fluorescência se manteve (n=19).....	70
Tabela 10 –	Distribuição dos diagnósticos onde o padrão de fluorescência não se manteve (n=06).....	71
Tabela 11 –	Distribuição dos diagnósticos onde ocorreram as duas situações (padrão mantido e padrão não mantido) (n=137).....	71
Tabela 12 –	Média e Desvio Padrão da idade dos pacientes do Grupo II (exames solicitados em mais de uma ocasião) em cada momento da realização do teste.....	72
Tabela 13/1 –	Distribuição do padrão de fluorescência no Grupo II (exames solicitados em mais de uma ocasião) de acordo com os fatores sexo e doença.....	74
Tabela 13/2 –	Distribuição do padrão de fluorescência no Grupo II (exames solicitados em mais de uma ocasião) de acordo com os fatores sexo e doença.....	75

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Árvores de classificação dos Padrões Nucleares segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2..... 34
- Figura 2 – Árvores de classificação dos Padrões Nucleolares segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2..... 34
- Figura 3 – Árvores de Classificação dos Padrões Citoplasmáticos segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2..... 35
- Figura 4 – Árvores de classificação dos Padrões de Aparelho Mitótico segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2..... 35
- Figura 5 – Frequência dos padrões de fluorescência do Grupo I (n=623) na pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares, em Goiânia – Goiás, no período de jan./2000 a dez./2007..... 53
- Figura 6 – Distribuição dos títulos de fluorescência de acordo com a presença de doença autoimune (n=623)..... 63

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AHAI	anemia hemolítica autoimune
AI	autoimune
ANA	anticorpo antinuclear
AR	artrite reumatóide
AIJ	artrite idiopática juvenil
B	linfócito derivado da medula óssea
CREST	calcinose, Raynaud, esofagopatia, esclerodactilia, telangiectasia
DNA	ácido desoxirribonucléico
DNAds	ácido desoxirribonucléico de fita dupla
DNAss	ácido desoxirribonucléico de fita simples
DITC	doença indiferenciada do tecido conjuntivo
DM	dermatomiosite
DMTC	doença mista do tecido conjuntivo
Ea	espondiloartrite
ES	esclerose sistêmica
FAN	fator antinuclear
FITC	fluoresceína isotiocianato
FM	fibromialgia
FR	febre reumática
HC/UFG	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás
HeLa	linhagem de células epiteliais
HEp-2	epitelioma humano tipo 2
HLA	antígeno leucocitário humano
IgG	imunoglobulina G
IFI	imunofluorescência indireta
Jo-1	antígeno histidil – ácido ribonucléico transportador – sintetase
LE	lupus eritematoso
LED	lupus eritematoso discóide
LES	lupus eritematoso sistêmico

MHC	complexo principal de histocompatibilidade
NuMA	aparelho fuso mitótico nuclear
PBS	tampão salina fosfato
PM	polimiosite
PM-Scl	polimiosite – escleroderma
PT	púrpura trombocitopênica
RNA	ácido ribonucléico
SAAF	síndrome dos anticorpos antifosfolípidos
Scl-70	antígeno escleroderma de peso molecular de 70 kilo – daltons
Sm	antígeno Smith
SPSS	“statistical package for the social sciences”
SRP	partícula de reconhecimento de sinal
SS-A/Ro	síndrome de Sjögren – antígeno A
SS-B/La	síndrome de Sjögren – antígeno B
T	linfócito derivado do timo
U1 RNP	uridina 1 ribonucleoproteína
U3 RNP	uridina 3 ribonucleoproteína

## RESUMO

RÊGO, J. Pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares, em células HEp-2, em Goiânia – Goiás. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2009.

As doenças autoimunes são síndromes clínicas causadas pela ativação de células T e/ou B, de origem multifatorial, caracterizadas pela presença de autoanticorpos dirigidos contra componentes celulares. Os autoanticorpos podem atuar como marcadores diagnósticos ou como marcadores preditores destas doenças. O teste de FAN é um exame útil na investigação de doenças autoimunes. **OBJETIVOS:** a) verificar a correlação entre os diagnósticos clínicos e os padrões de fluorescência na pesquisa de FAN em células HEp-2; b) determinar a frequência dos padrões de fluorescência; c) verificar a correlação entre os diagnósticos clínicos e os títulos de fluorescência; d) verificar as possíveis correlações da mudança dos padrões de fluorescência. **CASUÍSTICA E MÉTODOS:** Foram analisadas todas as solicitações de FAN encaminhadas ao Laboratório de Imuno-Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, durante o período de jan./ 2000 a dez./ 2007, e selecionadas as solicitações com resultados positivos. A pesquisa do FAN foi realizada pela técnica de IFI, utilizando-se como substrato células HEp-2. Para a classificação dos padrões de fluorescência utilizou-se as árvores de classificação definidas pelo I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2. **RESULTADOS:** Das 8631 solicitações de FAN, 1167 apresentaram resultados positivos (13,52%). Os testes positivos foram divididos em dois grupos: Grupo I (exames solicitados em uma ocasião) e Grupo II (exames solicitados em

mais de uma ocasião). No Grupo I, os padrões encontrados em maior frequência foram os nucleares (89,41%). Os padrões nucleares pontilhados foram observados em maior frequência (78,81%), destacando-se os padrões nuclear pontilhado fino (32,74%), nuclear pontilhado grosso (29,86%) e nuclear pontilhado fino denso (9,79%). Dentre os diagnósticos clínicos descritos, as doenças autoimunes reumáticas foram observadas em maior frequência (59,87%) e correlacionaram-se, principalmente, com os padrões nucleares pontilhados. FAN positivo foi observado em 216 casos (34,67%) de situações não-autoimunes e em 22 casos (3,53%) de diagnóstico não definido. Os casos com títulos moderados (1:160) e elevados (1:640 e > 1:640) apresentaram maior associação com enfermidades autoimunes (54,25%; 73,23%; 83,91%, respectivamente). No Grupo II, os fatores analíticos diagnóstico clínico e título de fluorescência mostraram associação significativa com a mudança do padrão de fluorescência. **CONCLUSÕES:** 1) A positividade do teste de FAN foi observada em doenças autoimunes (61,80%) e em doenças não-autoimunes (34,67%). 2) A correlação mais frequente do FAN positivo foi observada com o diagnóstico de lupus eritematoso (38,04%), principalmente com os padrões nuclear pontilhado grosso (32,91%), nuclear pontilhado fino (25,73%), nuclear homogêneo (19,40%) e nuclear pontilhado fino denso (10,12%). 3) Os padrões nucleares foram observados em maior frequência (89,41%), sendo os pontilhados os mais comuns (78,81%). 4) Títulos baixos podem ser encontrados em doenças autoimunes reumáticas e, portanto, não devem ser interpretados como critério para exclusão de doença autoimune, desde que exista suspeita clínica. 5) Títulos altos podem ser

encontrados em doenças não-autoimunes e, portanto, não devem ser interpretados como específicos de doença autoimune. 6) Quando o teste de FAN foi solicitado em mais de uma ocasião, para o mesmo paciente, o diagnóstico clínico (principalmente de LES) e o título de fluorescência (1:40 e 1:160) mostraram associação com a mudança do padrão de fluorescência. 7) A valorização correta do teste de FAN deve associar as informações fornecidas pelo resultado positivo à história clínica e exame físico do paciente, quando sugestivos de doença autoimune, principalmente de doenças autoimunes reumáticas.

**Palavras-chave:** autoanticorpos; células HEp-2; doenças autoimunes.

## ABSTRACT

RÊGO, J. Research on autoantibodies against intracellular antigens in HEp-2 cells, in Goiânia – Goiás. Doctoral Thesis – Graduate Program in Health Sciences at the Federal University of Goiás. Goiânia, 2009.

Autoimmune diseases are a clinical syndrome caused by the activation of T and/or B cells. They are multifactorial in nature and characterized by the presence of autoantibodies directed against cellular components. These autoantibodies can act as diagnostic markers or as predictors for these diseases. The ANA test is a very useful tool in the investigation of autoimmune diseases. **OBJECTIVES:** a) establishing a correlation between clinical diagnoses and fluorescence patterns in ANA tests on HEp-2 cells; b) determining the frequency of fluorescence patterns; c) establishing a correlation between clinical diagnosis and fluorescence titers; d) establishing possible correlations of changes in fluorescence patterns. **CASES AND METHODS:** All the ANA requests sent to the Immunorheumatology Laboratory of the Teaching Hospital of the Federal University of Goiás, from January / 2000 to December / 2007 were analyzed and those with positive results were selected. For the ANA research, the investigator used the IFI technique and HEp-2 cells as substrate. To classify the fluorescence patterns decision trees proposed by the Brazilian Consensus for Standardization of ANA in HEp-2 cells were used. **RESULTS:** Among the 8,631 ANA requests, 1,167 presented positive results (13,52%). These positive tests were divided into two groups: Group I (tests requested in one occasion) and Group II (tests requested in more than one occasion). In Group

I, nuclear patterns were more prevalent (89,41%). Speckled nuclear patterns were seen more frequently (78,81%), with special notice to fine speckled nuclear patterns (32,74%), coarse speckled nuclear patterns (29,86%) and fine dense speckled nuclear patterns (9,79%). Among the clinical diagnoses, rheumatic autoimmune diseases were the most prevalent (59,87%) and they correlated mostly with speckled nuclear patterns. A positive ANA was noted in 216 cases (34,67%) of non-immune conditions and in 22 cases (3,53%) of undetermined diagnosis. Cases with moderate (1:160) and high (1:640 and > 1:640) titers presented a high association with autoimmune diseases (54,25%; 73,23%; 83,91%, respectively). In Group II, the analytic clinical diagnosis and fluorescence titer factors showed a significant association with the change in the fluorescence pattern. **CONCLUSIONS:** 1) ANA was found to be positive in autoimmune (61,80%) and in non-autoimmune diseases (34,67%). 2) The most frequently found positive ANA correlation was seen with a diagnosis of lupus erythematosus (38,04%), mainly with coarse speckled nuclear pattern (32,91%), fine speckled nuclear pattern (25,73%), homogeneous nuclear pattern (19,40%) and fine dense speckled nuclear pattern (10,12%). 3) Nuclear patterns were more frequently found (89,41%), and among them, speckled patterns were prevalent (78,81%). 4) Low titers can be found in rheumatic autoimmune diseases and, therefore, can not be interpreted as an exclusion criteria for autoimmune disease, as long as there are clinical indications. 5) High titers can be found in non-autoimmune diseases and, therefore, can not be interpreted as specific to autoimmune diseases. 6) When the ANA test was requested in more than one occasion for the same patient, the clinical diagnosis (especially SLE) and the

fluorescence titer (1:40 and 1:160) showed an association with the change of the fluorescence pattern. 7) A correct valuation of the ANA test should associate information from positive results to the clinical history and the physical examination of the patient when they are suggestive of an autoimmune disease, most notably, of rheumatic autoimmune diseases.

**Keywords:** autoantibodies; HEp-2 cells; autoimmune diseases.

## 1 Introdução

---

A doença autoimune é uma síndrome clínica causada pela ativação de células T ou B, ou ambas, que ocorre na ausência de uma infecção subjacente ou outra causa definida (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

A doença surge quando há uma desordenada regulação e interação de células T e B, em resposta à estimulação antigênica. O mecanismo central deste conceito envolve um distúrbio do delicado balanço entre as atividades supressora e auxiliar (helper) das células T regulatórias. Um excesso da atividade da célula T helper ou a deficiência da atividade da célula T supressora podem levar ao desenvolvimento de autoimunidade (NAKAMURA; BINDER, 1988).

As doenças autoimunes correspondem à terceira causa de morbidade e mortalidade no mundo industrializado, somente ultrapassadas pelo câncer e doenças cardíacas (NOTKINS et al., 2004).

Podem ser classificadas em dois grandes grupos: organo-específicas e sistêmicas (NAKAMURA, BINDER, 1988; DAVIDSON, DIAMOND, 2001).

As doenças autoimunes organo-específicas são caracterizadas por alterações inflamatórias crônicas em um órgão específico. Agrupamento familiar ocorre com freqüência. São exemplos deste grupo: a tireoidite autoimune de

Hashimoto, a gastrite crônica atrófica e a anemia hemolítica autoimune (NAKAMURA; BINDER, 1988).

As doenças autoimunes sistêmicas ou não-organo-específicas caracterizam-se por alterações patológicas em vários órgãos e tecidos do corpo. São exemplos: o lupus eritematoso sistêmico, a artrite reumatóide e a esclerose sistêmica (NAKAMURA; BINDER, 1988).

### **1.1 Patogênese das doenças autoimunes**

O desenvolvimento de doença autoimune em humanos parece ser um processo multifatorial (KOTZIN, 2005).

Evidências relatadas em estudos de epidemiologia genética e em estudos de associação genética indicam que o desenvolvimento de muitas doenças autoimunes tem uma grande base genética (KOTZIN, 2005).

Várias evidências sugerem que genes associados ao Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) podem ser importantes na regulação imune e na patogênese destas doenças (KOTZIN, 2005; NAKAMURA, BINDER, 1988). Várias doenças estão associadas a um haplótipo de HLA em particular (NAKAMURA; BINDER, 1988).

Muitas doenças autoimunes são multigênicas, com múltiplos genes de susceptibilidade trabalhando em conjunto para produzir o fenótipo anormal. Em

geral, os polimorfismos ocorrem também em pessoas normais e são compatíveis com a função imune normal. Somente quando presentes com outros genes de susceptibilidade é que contribuem para autoimunidade (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

Evidências também sugerem que certas influências ambientais podem interagir com esta predisposição genética para resultar em doença, embora para muitas doenças estes gatilhos permaneçam desconhecidos (KOTZIN, 2005).

Estudos de populações geneticamente semelhantes, vivendo em diferentes condições, sugerem a importância de fatores ambientais. Tais observações, associadas à razão, menor do que a esperada, de concordância de doença entre gêmeos monozigóticos, sugerem que um fator ambiental expõe a uma diátese autoimune (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

Antígenos microbianos têm potencial para iniciar autorreatividade através de mimetismo molecular, ativação policlonal ou liberação de antígenos previamente seqüestrados. Por exemplo, a febre reumática representa uma resposta autoimune engatilhada por infecção estreptocócica e mediada por reação cruzada entre o estreptococos e a miosina cardíaca. Na síndrome de Guillain – Barré e suas variantes, reação cruzada é demonstrada entre gangliosídeos humanos e lipopolissacárides do *C.jejuni*. Na esclerose múltipla, as células T reagem com peptídeos da proteína mielínica e peptídeos dos vírus Epstein – Barr, influenza tipo A, e papiloma humano (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

Muitas doenças autoimunes são mais comuns em mulheres do que em homens (DAVIDSON; DIAMOND, 2001)

No LES, anormalidades no metabolismo dos hormônios sexuais podem contribuir para diferenças sexuais na susceptibilidade à doença. Homens e mulheres com LES têm metabolismo de testosterona acelerado. Neste grupo de pacientes, a estrona é preferencialmente hidroxilada na posição C-16, resultando no acúmulo de metabólitos 16- hidroxilados, os quais têm alta atividade estrogênica sustentada. Assim, homens e mulheres com LES terão mais hormônios estrogênicos e menos hormônios androgênicos, ocasionando respostas imunes exacerbadas (HAHN et al., 2005).

Os estrógenos exacerbam o LES em modelos animais, por alteração do repertório de células B, na ausência de inflamação (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

Defeitos na indução ou na regulação da apoptose de células B estão bem caracterizados tanto em modelos humanos quanto em modelos animais de LES. O uso terapêutico de estradiol ou prolactina está associado a uma alta regulação da expressão de Bcl-2 e prejuízo da apoptose destas células, causados por alteração na seleção e na tolerância celular (HAHN et al., 2005).

Drogas (procainamida, hidralazina) podem também alterar o repertório imune. Procainamida frequentemente induz anticorpos antinucleares e, algumas vezes, uma síndrome *lupus-like*. Outras drogas (penicilinas, cefalosporinas) podem agir como haptenos e produzir autoantígenos imunogênicos (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

Alterações no número e funções de células regulatórias podem contribuir para autoimunização. Os antígenos que ativam as células T regulatórias, no corpo, são desconhecidos, e a via pela qual estas células exercem supressão nas respostas imunes é apenas parcialmente conhecida. Mais importante, a razão para redução de seu número em pacientes com doenças autoimunes é desconhecida (DAVIDSON; DIAMOND, 2001).

## **1.2 Autoanticorpos e autoimunidade**

Uma manifestação comum de doença autoimune é a resposta imune humoral representada pela presença de autoanticorpos dirigidos contra proteínas celulares e ácidos nucleicos, os quais atuam como antígenos (TAN, 1991).

A análise do repertório de autoanticorpos nas doenças autoimunes sistêmicas demonstra que cada doença apresenta um espectro característico de autoanticorpos contra múltiplos antígenos intracelulares (TAN, 1991).

Esta diversidade de espécies de autoanticorpos era difícil de compreender até que a identidade funcional e estrutural dos antígenos foi descoberta (TAN, 1991).

Os autoanticorpos podem ser os agentes patogênicos da doença, como por exemplo na anemia hemolítica autoimune; podem surgir como conseqüência de outro processo de doença, como por exemplo alguns anticorpos que reagem com o tecido nervoso ou com o músculo cardíaco após o dano destes órgãos; ou podem

simplesmente marcar a presença do agente etiológico, enquanto eles próprios não causam o dano. Este último papel é suspeitado para muitos dos conhecidos autoanticorpos de doença humana (NAPARSTEK; PLOTZ, 1993).

Estudos sobre autoanticorpos em doenças autoimunes sugerem alguns princípios. Primeiro, os autoanticorpos podem refletir o processo de doença e, quando detectados durante um prolongado período prodrômico, podem predizer doença clínica. Segundo, quando há heterogeneidade etiológica na doença clínica, os autoanticorpos podem ajudar a classificar o processo. Terceiro, um número de distintos autoanticorpos estão associados com qualquer doença e alguns são mais preditores de progressão para sintomas clínicos do que outros. Quarto, o risco de progressão para doença, o tempo de progressão, e a gravidade da doença clínica podem ser estimados pelo número, pelo tipo e pelo título do autoanticorpo (HAWA et al., 2004).

### **1.3 Autoanticorpos como marcadores diagnósticos**

#### **Atividade de Doença**

Os autoanticorpos podem refletir a presença, a natureza e a intensidade de uma resposta imune (HAWA et al., 2004).

Podem ser detectados em doenças com um longo período prodrômico, durante o qual não há sintomas clínicos. Em algumas destas doenças, podem

predizer tanto a probabilidade de doença clínica quanto o tempo de progressão para doença, que é a atividade de doença (HAWA et al., 2004).

Como a atividade de doença pode refletir a gravidade da mesma, é possível estimar a atividade conforme o título de um autoanticorpo e, então, usar esta estimativa como uma medida de gravidade ou progressão de doença (HAWA et al., 2004).

### **Classificação de Doença**

Em pacientes com doença estabelecida, os autoanticorpos podem definir a natureza da doença e proporcionar marcadores para classificar a doença. Por exemplo, diabetes tipo 1, tireoidite, e adrenalite, são classificadas como autoimunes ou não autoimunes baseadas na presença ou ausência de anticorpos associados a doença (HAWA et al., 2004).

As miopatias inflamatórias idiopáticas são caracterizadas pela produção de autoanticorpos contra vários constituintes celulares. Estes autoanticorpos correlacionam-se com certas condições clínicas e prognóstico da doença. Alguns destes anticorpos são encontrados especificamente em pacientes com polimiosite e dermatomiosite, sendo denominados anticorpos miosite-específicos (MIMORI et al., 2007).

Dentre os anticorpos miosite-específicos, os anticorpos anti-Jo-1, anti-SRP e anti-Mi 2 estão associados com diferentes subgrupos clínicos (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

#### **1.4 Autoanticorpos como marcadores preditores**

Uma vez que os autoanticorpos são marcadores de atividade de doença, compreende-se que, em algumas circunstâncias, devam ser capazes de predizer doença (HAWA et al., 2004).

A idéia de que autoanticorpos possam ser usados como preditores de doença autoimune baseia-se em extensos estudos de diabetes tipo 1 e em estudos de outras doenças autoimunes (HAWA et al., 2004; HAREL, SHOENFELD, 2006).

Os autoanticorpos também podem predizer manifestações clínicas específicas, permitindo assim a prevenção terciária das complicações da doença (HAREL, SHOENFELD, 2006).

#### **1.5 Autoanticorpos e doenças reumáticas**

Nas doenças reumáticas autoimunes, os primeiros autoanticorpos descritos foram o fator reumatóide, no final da década de 30, por Erik Waaler (WAALER, 1940), e a célula LE, em 1948, por Malcolm Hargraves (HARGRAVES et al., 1948).

Em 1948, Malcolm Hargraves, Helen Richmond e Robert Morton notaram a presença de células previamente desconhecidas na medula óssea de paciente com lupus eritematoso sistêmico agudo. As células, chamadas células LE, foram

descritas como leucócitos polimorfonucleares neutrofilicos maduros que fagocitavam material nuclear (HARGRAVES et al., 1948).

Em 1949, Haserick e Bortz observaram que soros de pacientes com LES, quando incubados com a medula óssea de doadores normais, eram capazes de produzir células LE (HASERICK; BORTZ, 1949). O fenômeno das células LE transformou-se em um teste de utilidade clínica, embora não se conhecesse sua base fisiopatológica (ANDRADE e cols., 1998).

Em 1953, Peter Miescher observou que soros de coelhos imunizados com núcleo celular eram capazes de induzir a formação da célula LE, usando leucócitos humanos normais. Um ano após, este autor demonstrou que a absorção do soro de LES, utilizando núcleo celular isolado de células tímicas de bezerro, eliminava a habilidade do soro em induzir a formação da célula LE (MIESCHER; FOUCONNET, 1954). Baseado nestes experimentos, o fator LE pôde ser confirmado como um anticorpo antinuclear (HIEPE et al., 2000).

Em 1957, Friou foi o primeiro a aplicar a técnica de imunofluorescência para a detecção de anticorpos antinucleares (FRIOU, 1957).

A imunofluorescência foi uma metodologia crucial para mostrar a presença de múltiplos sistemas antígeno-anticorpo nas doenças autoimunes sistêmicas. Esta técnica possibilitou demonstrar que anticorpos poderiam ser usados como reagentes analiticamente precisos e altamente específicos para localizar antígenos nucleares, nucleolares e citoplasmáticos. A imunofluorescência facilitou o reconhecimento de que múltiplos anticorpos que estavam presentes nas doenças autoimunes eram

capazes de reconhecer antígenos associados com partículas subcelulares, em diferentes formas estruturais (TAN, 1988).

Em 1961, Beck utilizou cortes de fígado de rato para demonstrar fluorescência nuclear no soro de pacientes com uma variedade de doenças reumáticas autoimunes (BECK, 1961).

A partir de 1968, a técnica de imunofluorescência indireta foi cada vez mais usada na rotina dos laboratórios, utilizando-se diferentes substratos, tais como cortes de tecidos, células descamadas, eritrócitos de galinha e células HeLa. As células HEp-2 foram introduzidas para triagem de anticorpos antinucleares em 1975 (HIEPE et al., 2000).

## **1.6 Os diferentes substratos**

### **Os cortes de tecidos de roedores**

O uso da imunofluorescência indireta para triagem de anticorpos antinucleares utilizando como substrato cortes de fígado de camundongo ou rato contribuiu para a identificação de um número maior de autoanticorpos (COONS; KAPLAN, 1950).

Com isto, houve um aumento da sensibilidade do teste para pacientes com LES. O novo teste passou também a indicar a possível presença de alguns

autoanticorpos em pacientes com suspeita de algumas doenças autoimunes como esclerose sistêmica e síndrome de Sjögren (DELLAVANCE; ANDRADE, 2007).

Em ensaios de imunofluorescência indireta é possível observar padrões morfológicos resultantes da maneira como a fluorescência se distribui no substrato e que correspondem à distribuição dos autoantígenos reconhecidos pelo soro do paciente. No caso do ANA-IFI em fígado de roedores, a observação de padrões de imunofluorescência indireta resulta do reconhecimento de antígenos do núcleo dos hepatócitos por autoanticorpos presentes no soro dos pacientes. Nesse contexto, cinco padrões básicos foram definidos e utilizados: 1) periférico e homogêneo; 2) homogêneo; 3) pontilhado fino; 4) pontilhado grosso; 5) nucleolar (DELLAVANCE; ANDRADE, 2007).

### **As células HEp-2**

No início dos anos 50, iniciou-se o estudo de tumores transplantáveis para emprego em experimentos laboratoriais (TOOLAN, 1954; MOORE et al., 1955).

A partir de 1980, começou-se a utilizar cada vez mais a célula HEp-2 como substrato para a realização da pesquisa de autoanticorpos por imunofluorescência indireta. Trata-se de uma linhagem de células tumorais, derivadas de carcinoma de laringe humana, cultivadas em monocamadas sobre lâminas de vidro (DELLAVANCE; ANDRADE, 2007).

A célula HEp-2, por suas características tumorais, apresenta uma vasta gama de antígenos e em alta quantidade. Ademais, os elementos citológicos são

grandes e bem evidenciados, contribuindo para uma ótima visualização dos mesmos quando corados por material fluorescente (DELLAVANCE; ANDRADE, 2007).

A expressão de antígenos dependentes do ciclo celular e a melhor visibilidade dos diferentes compartimentos da célula (núcleo, nucléolo, citoplasma, aparelho mitótico, e placa cromossômica metafásica) resultaram em um espectro ainda maior de padrões de fluorescência. Os cinco padrões básicos observados no ensaio com “imprint” ou corte de fígado de roedores deram lugar a mais de vinte padrões que podem ser identificados com emprego das células HEp-2 (DELLAVANCE; ANDRADE, 2007).

## **1.7 Comparação entre os substratos**

Trabalhos comparativos da sensibilidade e/ou da especificidade entre diferentes substratos têm demonstrado melhores resultados com a utilização das células HEp-2 (KOZIN et al., 1980; MILLER et al., 1985; FORSLID et al., 1994).

O substrato HEp-2 tem comumente substituído os tecidos de roedores e tem se tornado o substrato padrão para realização do teste. A literatura mais relevante, nos recentes anos, baseia-se nos resultados obtidos em células HEp-2 (KAVANAUGH et al., 2000).

Além do aumento da sensibilidade do teste, o emprego de preparações de células isoladas exibindo vários estágios do ciclo celular apresenta as seguintes

vantagens sobre o uso de cortes histológicos de fígado animal: 1) apresentação de autoantígenos humanos que não estão presentes em tecidos de roedores (por exemplo, proteína Ro / SS-A); 2) visualização de novos padrões, tais como os citoplasmáticos e aqueles evidenciados somente nas células em divisão (centromérico, fuso mitótico, centriolar); 3) caracterização de subtipos de padrões (por exemplo, nucleolar homogêneo, aglomerado e pontilhado); 4) observação do dinamismo topográfico de alguns antígenos durante o ciclo celular; 5) possibilidade da manipulação dessas células por técnicas de engenharia genética para proporcionar substratos especiais com aumento seletivo da expressão de um determinado autoantígeno (VIANA e cols., 2009).

## **1.8 Interpretação do teste laboratorial**

O FAN-HEp-2 apresenta-se como um importante método de triagem, pois possibilita o conhecimento dos anticorpos provavelmente envolvidos (PFRIMER e cols., 2001).

O resultado do teste deve informar se o teste é negativo ou positivo na diluição de corte. Quando positivo, deve descrever o padrão de fluorescência e o título de diluição final no qual o padrão é observado (KAVANAUGH et al., 2000).

De acordo com o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2, realizado no Brasil (Goiânia – GO) em 2000, os padrões de

fluorescência devem ser classificados em quatro grupos: 1) nucleares (Figura 1); 2) nucleolares (Figura 2); 3) citoplasmáticos (Figura 3); 4) relacionados com o aparelho mitótico (Figura 4) (PFRIMER e cols., 2001).

O II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em células HEp-2, realizado em 2002 (Goiânia – GO), recomenda a substituição da terminologia tradicional FAN por uma designação mais abrangente e que contemple a pesquisa de anticorpos contra todos os constituintes celulares. Os resultados deste Consenso incluem também uma modificação nos algoritmos de classificação dos padrões, incluindo os padrões mistos, e recomenda que os padrões citoplasmáticos sejam liberados como resultados positivos (DELLAVANCE e cols., 2003).

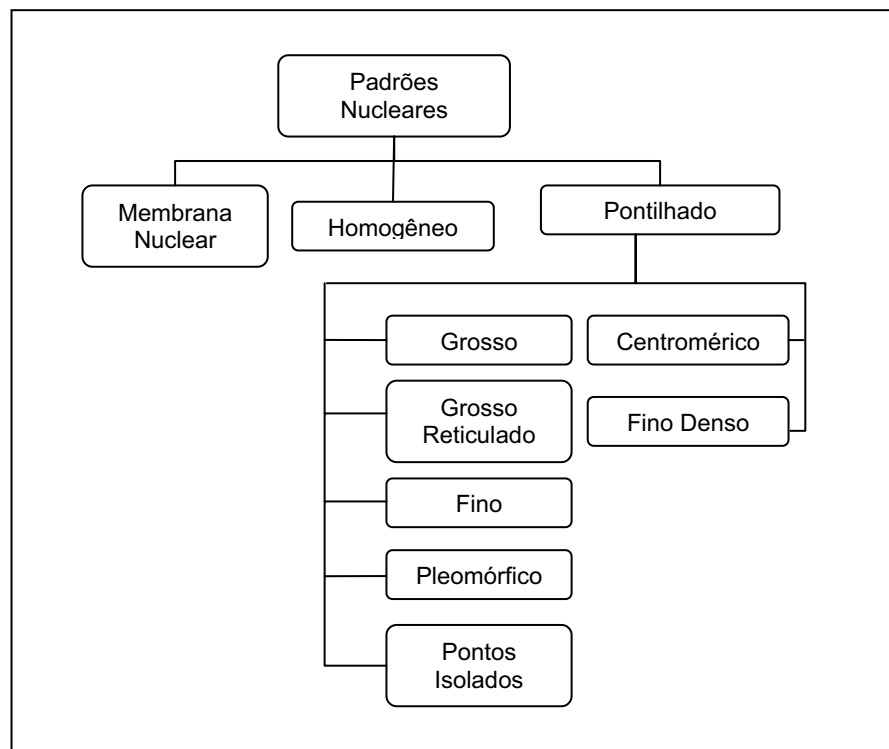


Figura 1 – Árvores de classificação dos Padrões Nucleares segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2.

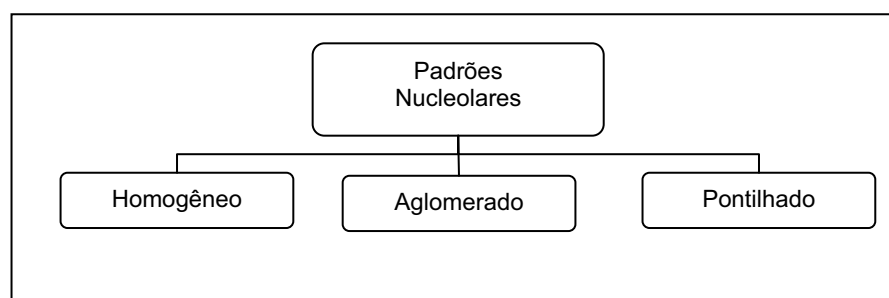


Figura 2 – Árvores de classificação dos Padrões Nucleolares segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2.

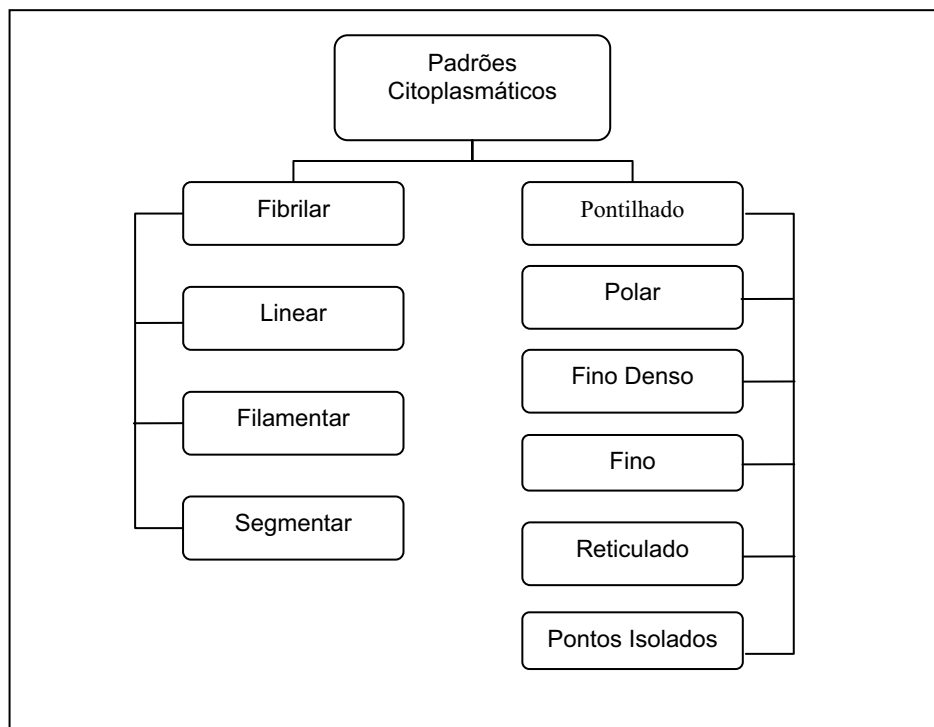


Figura 3 – Árvores de Classificação dos Padrões Citoplasmáticos segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2.

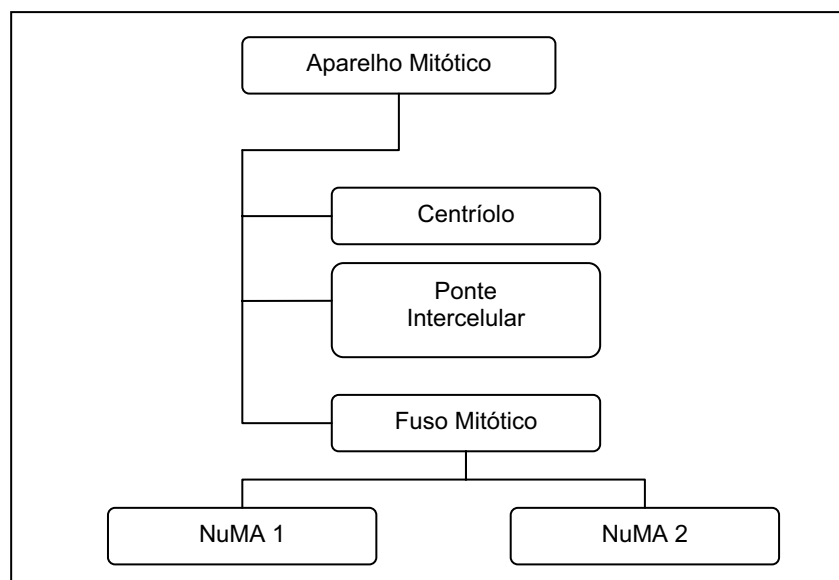


Figura 4 – Árvores de classificação dos Padrões de Aparelho Mitótico segundo o I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2.

## Relevância clínica dos padrões de fluorescência

Alguns padrões de fluorescência são relativamente inespecíficos, podendo ser evocados por vários autoanticorpos distintos. Outros padrões, entretanto, são ocasionados por um número restrito de autoanticorpos e outros, ainda, exclusivamente por um único autoanticorpo. Na maior parte das vezes, entretanto, o padrão de fluorescência não pode identificar qual o autoanticorpo presente, mas sua definição é de vital importância, pois pode sugerir qual o próximo passo na investigação de sua especificidade. Os ensaios para identificação dos autoanticorpos são específicos para cada teste (PFRIMER e cols., 2001).

De acordo com sua relevância clínica para doenças autoimunes reumáticas, os diferentes padrões de fluorescência podem ser divididos em quatro grupos (LESER; ANDRADE, 2004):

- **Padrões com forte relevância clínica:** nucleares homogêneo, pontilhado grosso, centromérico, pontilhado pleomórfico; nuclear pontilhado fino em altos títulos; nucleolar em altos títulos; citoplasmáticos pontilhado fino, e pontilhado fino denso.
- **Padrões com moderada relevância clínica:** nuclear pontilhado grosso reticulado; membrana nuclear; múltiplos pontos nucleares isolados; aparelho mitótico tipos NuMA-1 e NuMA-2; citoplasmático pontilhado reticulado.

- **Padrões com baixa relevância clínica e raramente observados:**  
centríolo; ponte intercelular; raros pontos nucleares isolados; citoplasmático pontilhado polar; pontos citoplasmáticos isolados; citoplasmático fibrilar.
- **Padrões de discutida relevância clínica e alta frequência:** nuclear pontilhado fino denso em qualquer título; nuclear pontilhado fino convencional, na diluição de 1:80.

Estudos de biologia molecular e celular permitiram estabelecer a associação de diversos padrões de fluorescência, domínios celulares e seus respectivos autoantígenos (DELLAVANCE e cols., 2007).

O padrão nuclear homogêneo representa a distribuição da cromatina no núcleo (DELLAVANCE e cols., 2007), e pode resultar de anticorpos anti-DNADs, anti-DNAss e anti-histonas (KEREN, 2002). Enquanto anticorpos anti-histona e anti-DNAss estão frequentemente presentes no LES, eles não representam especificidade para doença, representada pelo anti-DNADs. Alguns anticorpos anti-histona (anti-H1) estão associados com o fenômeno da célula LE. Outras anti-histonas, no entanto, estão associados com lupus induzido por droga (KEREN, 2002).

O padrão nuclear pontilhado grosso representa o mapa de distribuição das proteínas envolvidas no processamento do RNA mensageiro, também conhecido como "spliceosome". Estas proteínas são reconhecidas pelos anticorpos anti-Sm e anti-U1 RNP (DELLAVANCE e cols., 2007).

Cerca de 15 a 30% dos pacientes com LES têm anti-Sm. Quando presente, ele é altamente específico para doença (KEREN, 2002), e tem sido associado com risco aumentado para serosite e manifestações do sistema nervoso central (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Anti-U1 RNP é observado no soro de 30 a 40% dos pacientes com LES. Nestes casos se relaciona com doença menos grave, fenômeno de Raynaud, edema digital e menor frequência de complicações renais (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Anti-RNP é encontrado, em altos títulos, em 95 a 100% dos pacientes com doença mista do tecido conjuntivo (KEREN, 2002).

O padrão nucleolar está comumente associado a esclerose sistêmica. Nesta doença, os autoantígenos específicos identificados como alvos incluem: Scl-70, RNA polimerase I, fibrilarina associada a U3-RNP, PM-Scl (KEREN, 2002).

Anti-Scl 70 é mais específico para doença, e está associado com a forma cutânea difusa e manifestações viscerais precoces, tais como doença renal e envolvimento pulmonar (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Anticorpos para RNA-polimerase associam-se com doença cutânea difusa, alta prevalência de envolvimento visceral e pior sobrevida (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Anticorpos para fibrilarina são encontrados em cerca de 8% dos pacientes e são mais prevalentes em homens (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Anti-PM-Scl é descrito em 25% dos casos de superposição de esclerodermia e miosite. Os pacientes têm manifestações de esclerodermia limitada, a miosite é

usualmente responsiva à terapia, e o prognóstico é relativamente bom (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Dentre os padrões citoplasmáticos, destaca-se a associação a anticorpos antisintetases.

Anti-Jo-1 pode ser encontrado em 20 a 40% dos pacientes com polimiosite, e está frequentemente associado com envolvimento pulmonar. Pacientes com anti-Jo-1 apresentam doença grave, com pobre resposta à terapêutica (HIETARINTA; LASSILA, 1996).

Outros padrões, também associados especificamente a determinados domínios nucleares e seus respectivos antígenos, não são considerados específicos de uma dada doença. Isto decorre do fato de que os anticorpos contra esses antígenos não são estritamente associados a uma condição autoimune ou mesmo à autoimunidade em geral. Alguns exemplos dessa situação são o padrão de raros pontos nucleares isolados e o padrão centriolar (DELLAVANCE e cols., 2007).

### **Relevância clínica dos títulos de fluorescência**

O título do anticorpo antinuclear é uma medida indireta da quantidade total de anticorpos séricos. Quanto maior o título, maior a quantidade de anticorpos (MUTASIN; ADAMS, 2000).

Geralmente o teste é negativo ou muito baixo em indivíduos jovens e saudáveis (DELLAVANCE e cols., 2007; MUTASIN, ADAMS, 2000; BIZZARO, WIJK, 2004; TAN et al., 1997).

Em um grande estudo multicêntrico desenvolvido por 15 laboratórios internacionais (06 – EUA, 05 – Europa, 02 – Austrália, 01 – Japão, 01 – Canadá), realizado com indivíduos saudáveis, entre 20 e 60 anos, encontrou-se as seguintes porcentagens de testes positivos: 1/40, em 31,7% dos indivíduos; 1/80, em 13,3%; 1/160, em 5%; e 1/320, em 3,3% (TAN et al., 1997).

O título é intermediário em alguns pacientes com doença do tecido conjuntivo, bem como em pessoas com uma grande variedade de condições (MUTASIN; ADAMS, 2000). Estas condições incluem: idosos (MUTASIN, ADAMS, 2000; WARD, 1998), gestantes (MUTASIN, ADAMS, 2000; KIUTTU et al., 1994), parentes de pacientes com doença do tecido conjuntivo (MUTASIN, ADAMS, 2000; WARD, 1998), outras doenças autoimunes (tais como cirrose biliar primária e tireoidite autoimune) (MUTASIN, ADAMS, 2000; SONTHEIMER et al., 1991), infecções crônicas (MUTASIN, ADAMS, 2000; SONTHEIMER et al., 1991; FERNANDEZ-MADRID, MATTIOLI, 1976), neoplasias (MUTASIN, ADAMS, 2000; SONTHEIMER et al., 1991; FERNANDEZ-MADRID, MATTIOLI, 1976), e pessoas saudáveis (MUTASIN, ADAMS, 2000; TAN et al., 1997; WARD, 1998).

A presença de anticorpo antinuclear IgG em altos títulos, e sua persistência ao longo do tempo, é característica de algumas doenças reumáticas, tais como LES, esclerodermia, síndrome de Sjögren e doença mista do tecido conjuntivo (BIZZARO; WIJK, 2004).

Entretanto, em algumas situações, o título alto não significa necessariamente presença de doença autoimune, como descrevem os estudos seguintes:

VAILE et al. (2000) revisaram os soros com altos títulos (1/640) de anticorpos antinucleares, após um período de 6 meses, com o objetivo de determinar se estes altos títulos conferiam uma especificidade para doença difusa do tecido conjuntivo. Os autores concluíram que uma significativa proporção de pacientes com altos títulos não tinha doença do tecido conjuntivo no momento do teste.

MYCKATYN e RUSSEL (2003), em sua revisão, após um período de 5 anos, mostraram que 91% dos pacientes que eram re-testados para anticorpos antinucleares permaneciam positivos, enquanto somente 3 pacientes desenvolveram doença do tecido conjuntivo, refletindo a natureza mais sensível, mas menos específica do teste.

WIJEYESINGHE e RUSSEL (2008) revisaram os soros de 27 pacientes, após um período de 10 anos, e observaram que 78% dos indivíduos permaneciam positivos e 5 pacientes foram diagnosticados com doença difusa do tecido conjuntivo. Os autores concluíram que o teste deve ser usado em conjunto com outras evidências e critérios clínicos para validar o diagnóstico de doença difusa do tecido conjuntivo.

## **1.9 Justificativa**

Considerando que a determinação de autoanticorpos pela técnica de imunofluorescência indireta proporciona importantes implicações diagnósticas e preditoras de prognóstico ou de complicações nas várias condições autoimunes, e baseando na inexistência de estudos em nosso Estado a respeito, realizou-se o presente estudo para analisar os resultados da pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares e sua relevância clínica.

## **2 Objetivos**

---

## **2.1 Geral**

Verificar a correlação entre os diagnósticos clínicos e os padrões de fluorescência na pesquisa de anticorpos contra antígenos intracelulares (FAN), utilizando como substrato células HEp-2.

## **2.2 Específicos**

- a) Determinar a frequência dos padrões de fluorescência.
- b) Verificar a correlação entre os diagnósticos clínicos e os títulos de fluorescência.
- c) Verificar as possíveis correlações da mudança dos padrões de fluorescência.

### **3 Casuística e Métodos**

---

### **3.1 Casuística**

Foram analisadas todas as solicitações de pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares (FAN) encaminhadas ao Laboratório de Imuno-Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2007.

Em seguida, foram selecionadas as solicitações com resultados de FAN positivo, e destas se pesquisou nos prontuários os dados de sexo, idade, e diagnóstico clínico.

Para a coleta dos dados referentes ao diagnóstico clínico utilizou-se a definição clínica reportada no prontuário pelo médico assistente.

Os diagnósticos clínicos de doenças infecciosas, doenças linfomieloproliferativas, doenças neoplásicas; os sintomas clínicos isolados; e as alterações laboratoriais hematológicas, isoladas ou associadas, foram englobados em um grupo denominado como “outras causas”.

Nos casos em que não se observou identificação ou conclusão do diagnóstico, utilizou-se a terminologia “não definido”.

### **3.1.1 Critérios de inclusão**

- a) Soros de pacientes com idade igual ou maior que 18 anos;
- b) Pesquisa de anticorpos contra antígenos intracelulares (FAN) utilizando como substrato células HEp-2;
- c) Pesquisa com título igual ou maior que 1:40;
- d) Prontuários de pacientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás;
- e) Prontuários que contivessem dados para análise.

### **3.1.2 Critérios de exclusão**

- a) Soros de pacientes com idade menor que 18 anos;
- b) Pesquisa negativa para anticorpos contra componentes celulares;
- c) Uso do substrato corte (“imprint”) de fígado de camundongo;
- d) Prontuários que não contivessem dados para análise.

### **3.1.3 Aspectos éticos**

A coleta dos dados foi iniciada após a aprovação do protocolo de estudo (107/07) pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e aprovação da verificação dos dados em prontuários pela Diretoria Técnica do Hospital das Clínicas. (ANEXOS 1 e 2)

## **3.2 Métodos**

No Laboratório de Imuno-Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás a pesquisa de anticorpos contra componentes celulares em células HEp-2 é realizada pela técnica de imunofluorescência indireta e utiliza-se o kit comercial VIRGO ANA / HEp-2 IgG IFA (Hemagen Diagnostics, Inc.).

Inicialmente, as células são incubadas com os soros diluídos na titulação de triagem de 1:40, em tampão salina fosfato (PBS) por 30 minutos, em câmara úmida, à temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas são lavadas duas vezes (7 e 8 minutos, respectivamente) em PBS e incubadas por 30 minutos com anticorpos secundários anti-IgG humana conjugada com isotiocianato de fluoresceína (FITC), em câmara úmida, à temperatura ambiente. Após a incubação, as lâminas são lavadas em PBS, por duas vezes (7 e 8 minutos, respectivamente), e montadas com glicerina tamponada e lamínula.

A leitura é feita por um único observador (a pesquisadora) em microscópio de fluorescência, modelo Olympus, sob aumento de 400 vezes.

Os soros que apresentam resultado positivo na titulação de triagem (1:40) são diluídos em titulações seriadas (1:40, 1:160 e 1:640) para a determinação quantitativa.

Utilizando os critérios para graduação da intensidade de fluorescência do kit, os soros na titulação 1:640 que apresentam fluorescência de 4+ são considerados com titulação > 1: 640.

Os critérios apresentados no kit comercial para graduação da intensidade de fluorescência são:

4+ = fluorescência verde-maçã brilhante, cintilante.

3+ = fluorescência verde-maçã clara, brilhante.

2+ = fluorescência verde-maçã clara, identificável.

1+ = fluorescência verde-maçã fosca, faltando em agudeza, mas legível.

0 = não fluorescente ou fluorescência mal visível.

Para a classificação dos padrões de fluorescência utiliza-se as árvores de classificação (Figuras 1, 2, 3 e 4) definidas pelo I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2 (PFRIMER e cols., 2001).

A classificação dos padrões mistos e a identificação dos padrões citoplasmáticos como resultados positivos obedecem às orientações do II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em células HEp-2 (DELLAVANCE e cols., 2003).

### **3.2.1 Análise estatística**

Inicialmente os dados foram tabulados, sendo utilizado o programa Microsoft Excel 2003, e realizado o estudo descritivo das variáveis.

A análise estatística foi realizada pelo programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) for Windows, versão 15.0.

Para apresentação dos dados, utilizou-se a análise estatística exploratória.

Para comparação das variáveis qualitativas, utilizou-se análise de regressão logística.

Foi estabelecido como nível de significância de 95% de confiança ( $p < 0,05$ ) para as variáveis analisadas.

Para comparação das variáveis quantitativas, utilizou-se o teste t-Student.

## 4 Resultados

---

Foram analisados 8631 soros de pacientes com solicitações para FAN, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2007. Encontramos, nesta amostra, 1167 soros com resultado positivo (13,52%).

Estes 1167 testes positivos foram divididos em dois grupos, de acordo com o número de solicitações feitas: 623 testes foram solicitados em uma única ocasião e formaram o Grupo I (n= 623); 327 testes foram solicitados em mais de uma ocasião, para o mesmo paciente, e formaram o Grupo II (n=162). Duzentos e dezessete testes foram excluídos da análise em decorrência da ausência de dados nos prontuários ou da ausência de prontuários.

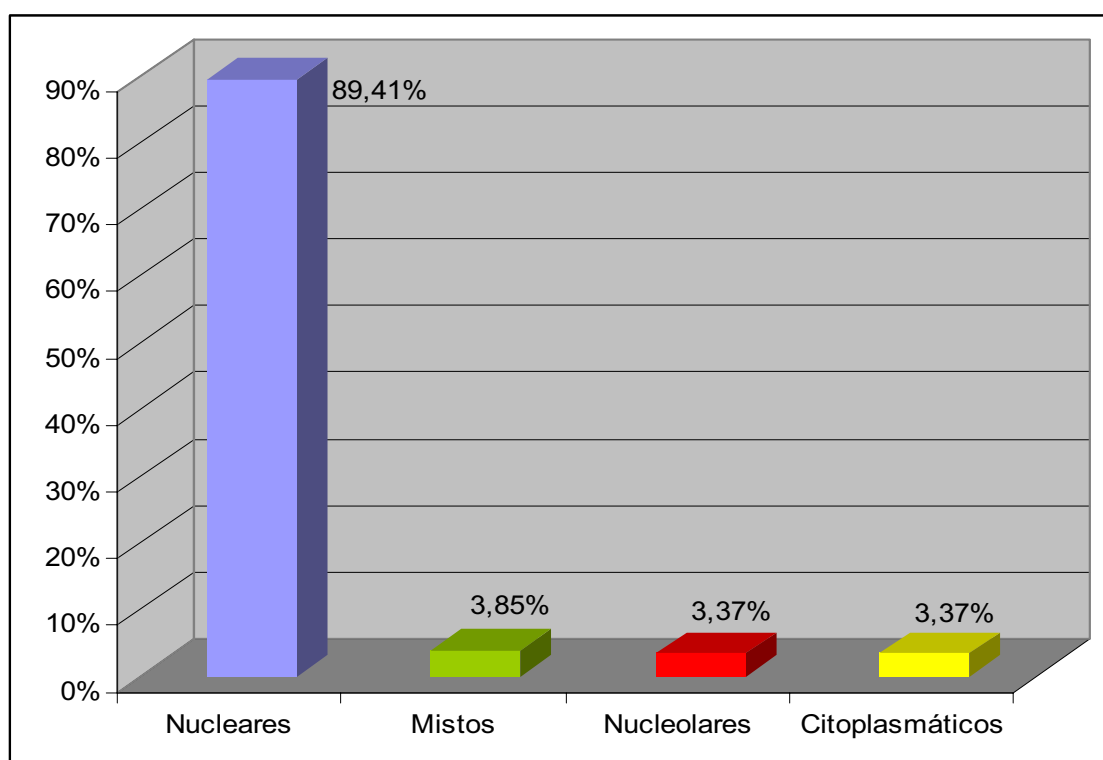
### **ANÁLISE DO GRUPO I:**

A média e desvio padrão da idade dos pacientes do Grupo I encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1** – Média e Desvio Padrão da idade dos pacientes do Grupo I (exames solicitados em uma ocasião).

Variável	n	Média	Desvio Padrão	IC Média (95%)	
				Inferior	Superior
Idade	623	39,70	13,48	38,64	40,77

Na análise deste Grupo detectou-se 17 padrões de fluorescência, distribuídos na seguinte proporção: nucleares, em 557 casos; mistos, em 24 casos; nucleolares, em 21 casos; citoplasmáticos, em 21 casos. A freqüência dos padrões de fluorescência do Grupo I é demonstrada na Figura 5.



**FIGURA 5** – Frequência dos padrões de fluorescência do Grupo I (n=623) na pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares, em Goiânia – Goiás, no período de jan./2000 a dez./2007.

A Tabela 2 apresenta a distribuição da frequência dos padrões de fluorescência.

**TABELA 2** – Distribuição da frequência dos padrões de fluorescência do Grupo I (n=623) na pesquisa de autoanticorpos contra antígenos intracelulares em Goiânia – Goiás, no período de jan./2000 a dez./2007.

Padrão	Número de Pacientes	
	n	%
Nuclear Pontilhado Fino	204	32,74
Nuclear Pontilhado Grosso	186	29,86
Nuclear Homogêneo	65	10,43
Nuclear Pontilhado Fino Denso	61	9,79
Nuclear Pontilhado Centromérico	12	1,93
Nuclear Pontilhado	12	1,93
Nuclear Pontilhado Grosso Reticulado	10	1,61
Nuclear Pontilhado, tipo pontos isolados	6	0,96
Nuclear tipo Membrana Nuclear	1	0,16
Mistos	24	3,85
Nucleolar	21	3,37
Citoplasmático Pontilhado Fino Denso	8	1,28
Citoplasmático Pontilhado Reticulado	6	0,96
Citoplasmático Pontilhado Fino	4	0,64
Citoplasmático Pontilhado Polar	2	0,32
Citoplasmático Fibrilar	1	0,16
Total	623	100,00

Na análise do Grupo I observou-se a descrição de 32 diagnósticos clínicos, assim distribuídos: doenças autoimunes reumáticas, em 373 casos (59,87%); doenças autoimunes não-reumáticas, em 12 casos (1,93%); doenças não autoimunes, em 216 casos (34,67%) e diagnóstico não definido em 22 casos (3,53%).

A distribuição dos padrões de fluorescência de acordo com a presença de doença autoimune está apresentada na Tabela 3.

**TABELA 3:** Distribuição dos padrões de fluorescência do Grupo I (n=623) de acordo com a presença de doença autoimune.

Padrão	Presença		Ausência	
	n	%	n	%
Nuclear Pontilhado Fino (n=204)	106	52,0	98	48,0
Nuclear Pontilhado Grosso (n=186)	129	69,4	57	30,6
Nuclear Homogêneo (n=65)	54	83,1	11	16,9
Nuclear Pontilhado Fino Denso (n=61)	39	63,9	22	36,1
Mistos (n=24)	14	58,3	10	41,7
Nucleolar (n=21)	11	52,4	10	47,6
Nuclear Pontilhado (n=12)	9	75,0	3	25,0
Nuclear Pontilhado Centromérico (n=12)	6	50,0	6	50,0
Nuclear Pontilhado Grosso Reticulado (n=10)	4	40,0	6	60,0
Citoplasmático Pontilhado Fino Denso (n=08)	4	50,0	4	50,0
Citoplasmático Pontilhado Reticulado (n=06)	3	50,0	3	50,0
Nuclear Pontilhado, tipo Pontos Isolados (n=06)	3	50,0	3	50,0
Citoplasmático Pontilhado Fino (n=04)	3	75,0	1	25,0
Citoplasmático Pontilhado Polar (n=02)	—	0,0	2	100,0
Citoplasmático Fibrilar (n=01)	—	0,0	1	100,0
Nuclear, tipo Membrana Nuclear (n=01)	—	0,0	1	100,0
TOTAL	385	61,8	238	38,2

As doenças autoimunes reumáticas observadas em maior frequência foram: lúpus eritematoso, em 237 casos; artrite reumatóide, em 61 casos; doença mista do tecido conjuntivo, em 19 casos e esclerose sistêmica em 16 casos.

A distribuição dos padrões de fluorescência no lúpus eritematoso sistêmico é apresentada na Tabela 4.

**TABELA 4** – Distribuição dos padrões de fluorescência no lúpus eritematoso sistêmico (n=215).

Padrão	n° de casos	%
Nuclear Pontilhado Grosso	70	32,6
Nuclear Pontilhado Fino	51	23,7
Nuclear Pontilhado Fino Denso	23	10,7
Nuclear Pontilhado	04	1,9
Nuclear Pontilhado Grosso Reticulado	02	0,9
Nuclear Pontilhado Centromérico	01	0,5
Nuclear Pontilhado, tipo pontos isolados	01	0,5
Nuclear Homogêneo	43	20,0
Mistos	10	4,7
Nucleolar	04	1,9
Citoplasmático Pontilhado Fino Denso	04	1,9
Citoplasmático Pontilhado Fino	01	0,5
Citoplasmático Pontilhado Reticulado	01	0,5
TOTAL	215	100

No lúpus eritematoso discóide (n=11) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 07 casos (63,6%) e o padrão nuclear pontilhado grosso em 04 casos (36,4%). (ANEXO 3)

Na superposição LES e esclerose sistêmica (n=01) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino denso. (ANEXO 3)

Na superposição LES e síndrome dos anticorpos antifosfolípidos (n=10) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 04 casos (40%), o padrão nuclear pontilhado fino em 03 casos (30%) e o padrão nuclear homogêneo em 03 casos (30%). (ANEXO 3)

A distribuição dos padrões na artrite reumatóide (AR+AIJ) é apresentada na Tabela 5.

**TABELA 5** – Distribuição dos padrões de fluorescência na artrite reumatóide (n=54).

Padrão	n° de casos	%
Nuclear Pontilhado Fino	22	40,7
Nuclear Pontilhado Grosso	13	24,0
Nuclear Pontilhado Fino Denso	10	18,5
Nuclear Pontilhado	01	1,9
Nuclear Pontilhado Grosso Reticulado	01	1,9
Nuclear Pontilhado Centromérico	01	1,9
Nuclear Pontilhado, tipo pontos isolados	01	1,9
Nucleolar	03	5,5
Nuclear Homogêneo	01	1,9
Mistos	01	1,9
TOTAL	54	100

Na superposição artrite reumatóide e LES (n=05) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 03 casos (60%), o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (20%) e o padrão misto em 01 caso (20%). (ANEXO 3)

Na superposição artrite reumatóide e polimiosite (n=01) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso. (ANEXO 3)

Na superposição artrite reumatóide e síndrome de Sjögren (n=01) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino.(ANEXO 3)

A distribuição dos padrões de fluorescência na doença mista do tecido conjuntivo é apresentada na Tabela 6.

**TABELA 6** – Distribuição dos padrões de fluorescência na doença mista do tecido conjuntivo (n=19).

Padrão	n° de casos	%
Nuclear Pontilhado Grosso	13	68,4
Nuclear Pontilhado Fino	03	15,7
Nuclear Homogêneo	01	5,3
Nucleolar	01	5,3
Mistos	01	5,3
TOTAL	19	100

Na esclerose sistêmica (n=06) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 02 casos (33,3%), o padrão nuclear pontilhado fino denso em 02 casos (33,3%), o padrão nuclear pontilhado centromérico em 01 caso (16,7%) e o padrão nuclear homogêneo em 01 caso (16,7%). (ANEXO 3)

Na forma localizada da esclerose sistêmica (CREST) (n=06) observou-se o padrão nuclear pontilhado centromérico em 03 casos (50%), o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (16,7%), o padrão nuclear pontilhado grosso em 01 caso (16,7%) e o padrão misto em 01 caso (16,7%). (ANEXO 3)

Na superposição escleromiosite (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 02 casos (50%) e o padrão nucleolar em 02 casos (50%). (ANEXO 3)

Nas doenças autoimunes reumáticas de menor freqüência observou-se a seguinte distribuição dos padrões:

Na dermatomiosite (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 02 casos (50%), o padrão nuclear pontilhado em 01 caso (25%) e o padrão nuclear pontilhado tipo pontos isolados em 01 caso (25%). (ANEXO 3)

Na polimiosite (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino denso em 02 casos (50%), o padrão nuclear pontilhado grosso em 01 caso (25%) e o padrão citoplasmático pontilhado fino em 01 caso (25%). (ANEXO 3)

Na síndrome de Sjögren (n=07) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 04 casos (57,1%), o padrão nuclear pontilhado fino em 02 casos (28,6%) e o padrão citoplasmático pontilhado reticulado em 01 caso (14,3%). (ANEXO 3)

Na doença de Still (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (25%), o padrão nuclear pontilhado em 01 caso (25%) e o padrão nuclear homogêneo em 02 casos (50%). (ANEXO 3)

Na doença de Behçet (n=02) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (50%) e o padrão nucleolar em 01 caso (50%). (ANEXO 3)

Na síndrome dos anticorpos antifosfolípidos (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 02 casos (50%), o padrão nuclear pontilhado grosso em 01 caso (25%) e o padrão nuclear homogêneo em 01 caso (25%). (ANEXO 3)

Na febre reumática (n=01) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso. (ANEXO 3)

Na espondiloartrite (n=02) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso reticulado em 01 caso (50%) e o padrão citoplasmático pontilhado fino em 01 caso (50%). (ANEXO 3)

O diagnóstico de síndrome reumatóide foi descrito em 06 casos. Nestes, observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 02 casos (33,3%), o padrão nuclear pontilhado grosso em 02 casos (33,3%), o padrão nuclear pontilhado fino denso em 01 caso (16,7%) e o padrão nuclear homogêneo em 01 caso (16,7%). (ANEXO 3)

O diagnóstico de doença indiferenciada do tecido conjuntivo foi descrito em 05 casos. Nestes, observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 04 casos (80%) e o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (20%). (ANEXO 3)

O diagnóstico de colagenose foi descrito em 01 caso e observou-se o padrão nuclear pontilhado fino. (ANEXO 3)

As doenças autoimunes não-reumáticas (n=12) descritas foram: tireoidite autoimune, em 04 casos; púrpura trombocitopênica, em 04 casos; hepatite autoimune, em 02 casos; anemia hemolítica autoimune, em 01 caso e superposição anemia hemolítica autoimune e tireoidite autoimune em 01 caso.

Na tireoidite autoimune (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado grosso em 02 casos (50%), o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (25%) e o padrão nuclear pontilhado em 01 caso (25%). (ANEXO 3)

Na púrpura trombocitopênica (n=04) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 02 casos (50%), o padrão nuclear pontilhado em 01 caso (25%) e o padrão citoplasmático pontilhado reticulado em 01 caso (25%). (ANEXO 3)

Na hepatite autoimune (n=02) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 01 caso (50%) e o padrão nuclear pontilhado grosso em 01 caso (50%). (ANEXO 3)

Na anemia hemolítica autoimune (n=01) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino. (ANEXO 3)

Na superposição anemia hemolítica autoimune e tireoidite autoimune (n=01) observou-se o padrão nuclear homogêneo. (ANEXO 3)

Em 216 casos (34,67%) o diagnóstico clínico não se correlacionou com doença autoimune e apresentou a seguinte distribuição: 05 casos de fibromialgia (2,3%) e 211 casos de outras causas (97,7%).

Na fibromialgia (n=05) observou-se o padrão nuclear pontilhado fino em 04 casos (80%) e o padrão citoplasmático pontilhado polar em 01 caso (20%). (ANEXO 3)

A distribuição dos padrões de fluorescência nas situações clínicas englobadas no grupo de outras causas (n=211) é representada na Tabela 7.

**TABELA 7** – Distribuição dos padrões de fluorescência nas doenças não-autoimunes englobadas no grupo denominado de Outras Causas (n=211).

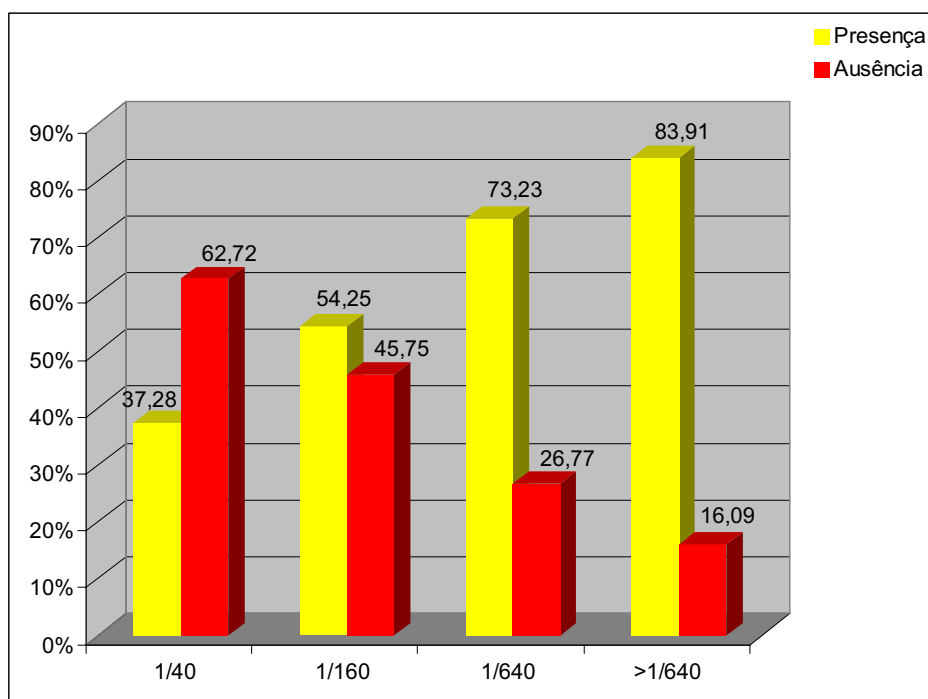
Padrão	nº de casos	%
Nuclear Pontilhado Fino	87	41,2
Nuclear Pontilhado Grosso	50	23,7
Nuclear Pontilhado Fino Denso	20	9,5
Nuclear Pontilhado Grosso Reticulado	06	2,8
Nuclear Pontilhado Centromérico	05	2,4
Nuclear Pontilhado, tipo pontos isolados	03	1,4
Nuclear Pontilhado	03	1,4
Nuclear Homogêneo	09	4,3
Nucleolar	09	4,3
Citoplasmático Pontilhado Fino Denso	03	1,4
Citoplasmático Pontilhado Reticulado	03	1,4
Citoplasmático Pontilhado Fino	01	0,5
Citoplasmático Pontilhado Polar	01	0,5
Nuclear tipo Membrana Nuclear	01	0,5
Mistos	10	4,7
TOTAL	211	100

Em 22 casos (3,53%) o diagnóstico clínico não foi definido. O padrão nuclear pontilhado fino foi observado em 07 casos (31,8%), o padrão nuclear pontilhado grosso em 07 casos (31,8%), o padrão nuclear pontilhado fino denso em 02 casos (9,1%), o padrão nuclear pontilhado centromérico em 01 caso (4,5%) e o padrão nuclear homogêneo em 02 casos (9,1%). Os padrões nucleolar, citoplasmático pontilhado fino denso e citoplasmático fibrilar foram observados, cada, em 01 caso (4,5%). (ANEXO 3)

Com relação ao título de fluorescência, os resultados observados foram: 169 casos (27,12%) apresentaram título 1:40; 153 casos (24,55%) apresentaram título

1:160; 127 casos (20,38%) apresentaram título 1:640; 174 casos (27,92%) apresentaram título > 1:640.

O diagnóstico de doença autoimune foi observado com a seguinte distribuição: em 63 casos (37,28%) com título 1:40 (n=169); em 83 casos (54,25%) com título 1:160 (n=153); em 93 casos (73,23%) com título 1:640 (n=127); em 146 casos (83,91%) com título > 1:640 (n=174). (Figura 6)



**FIGURA 6 – Distribuição dos títulos de fluorescência de acordo com a presença de doença autoimune (n=623).**

A distribuição dos títulos nas doenças autoimunes reumáticas foi:

No lupus eritematoso sistêmico (n=215) observou-se título 1:40 em 21 casos (9,8%), título 1:160 em 45 casos (20,9%), título 1:640 em 55 casos (25,6%) e título > 1:640 em 94 casos (43,7%). (Tabela 8/1)

No lupus eritematoso discóide (n=11) observou-se título 1:40 em 08 casos (72,7%), título 1:640 em 01 caso (9,1%) e título > 1:640 em 02 casos (18,2%). (Tabela 8/2)

Na superposição LES e esclerose sistêmica (n=01) observou-se o título > 1:640. (Tabela 8/2)

Na superposição LES e síndrome dos anticorpos antifosfolípidos (n=10) observou-se título 1:40 em 01 caso (10%), título 1:160 em 02 casos (20%), título 1:640, em 04 casos (40%) e título > 1:640 em 03 casos (30%). (Tabela 8/2)

Na artrite reumatóide (AR+AIJ) (n=54) observou-se título 1:40 em 19 casos (35,18%), título 1:160 em 20 casos (37,03%), título 1:640 em 08 casos (14,81%) e título > 1:640 em 07 casos (12,96%).(Tabela 8/1)

Na superposição artrite reumatóide e LES (n=05) observou-se título 1:160 em 01 caso (20%) e título > 1:640 em 04 casos (80%). (Tabela 8/1)

Na superposição artrite reumatóide e polimiosite (n=01) observou-se título > 1:640. (Tabela 8/1)

Na superposição artrite reumatóide e síndrome de Sjögren (n=01) observou-se título 1:640. (Tabela 8/1)

Na doença mista do tecido conjuntivo (n=19) observou-se título 1:160 em 01 caso (5,3%), título 1:640 em 04 casos (21,1%) e título > 1:640 em 14 casos (73,7%). (Tabela 8/1)

Na esclerose sistêmica (n=06) observou-se título 1:40 em 01 caso (16,7%), título 1:640 em 02 casos (33,3%) e título > 1:640 em 03 casos (50%). (Tabela 8/1)

Na forma localizada da esclerose sistêmica (CREST) (n=06) observou-se título 1:160 em 01 caso (16,7%), título 1:640 em 03 casos (50%) e título > 1:640 em 02 casos (33,3%). (Tabela 8/1)

Na superposição escleromiosite (n=04) observou-se título 1:40 em 01 caso (25%) e título 1:160 em 03 casos (75%). (Tabela 8/1)

Na dermatomiosite (n=04) observou-se título 1:40 em 01 caso (25%), título 1:640 em 01 caso (25%) e título > 1:640 em 02 casos (50%). (Tabela 8/1)

Na polimiosite (n=04) observou-se título 1:640 em 02 casos (50%) e título > 1:640 em 02 casos (50%). (Tabela 8/2)

Na síndrome de Sjögren (n=07) observou-se título 1:160 em 01 caso (14,3%), título 1:640 em 05 casos (71,4%) e título > 1:640 em 01 caso (14,3%). (Tabela 8/2)

Na doença de Still (n=04) observou-se título 1:40 em 01 caso (25%) e título > 1:640 em 03 casos (75%). (Tabela 8/2)

Na doença de Behçet (n=02) observou-se título 1:40 em 01 caso (50%) e título 1:640 em 01 caso (50%). (Tabela 8/2)

Na síndrome dos anticorpos antifosfolípidos (n=04) observou-se título 1:160 em 03 casos (75%) e título > 1:640 em 01 caso (25%). (Tabela 8/2)

Na febre reumática (n=01) observou-se o título 1:40. (Tabela 8/2)

Na espondiloartrite (n=02) observou-se o título 1:40. (Tabela 8/1)

Nos casos de diagnóstico de síndrome reumatóide (n=06) observou-se título 1:40 em 02 casos (33,3%), título 1:160 em 01 caso (16,7%), título 1:640 em 02 casos (33,3%) e título > 1:640 em 01 caso (16,7%). (Tabela 8/2)

Nos casos de diagnóstico de doença indiferenciada do tecido conjuntivo (n=05) observou-se título 1:640 em 01 caso (20%) e título > 1:640 em 04 casos (80%). (Tabela 8/1)

No caso de diagnóstico de colagenose (n=01) observou-se o título > 1:640. (Tabela 8/1)

Nos casos de doenças autoimunes não-reumáticas, a distribuição dos títulos foi:

Na tireoidite autoimune (n=04) observou-se título 1:40 em 01 caso (25%), título 1:160 em 01 caso (25%) e título 1:640 em 02 casos (50%). (Tabela 8/2)

Na púrpura trombocitopênica (n=04) observou-se título 1:40 em 02 casos (50%) e título 1:160 em 02 casos (50%). (Tabela 8/2)

Na hepatite autoimune (n=02) observou-se título 1:160 em 01 caso (50%) e título 1:640 em 01 caso (50%).(Tabela 8/2)

Na anemia hemolítica autoimune (n=01) observou-se o título 1:40 (Tabela 8/1)

Na superposição anemia hemolítica autoimune e tireoidite autoimune (n=01), observou-se o título 1:160. (Tabela 8/1)

Nos casos em que o diagnóstico clínico não se correlacionou com doença autoimune (n=216), a distribuição dos títulos observada foi:

Na fibromialgia (n=05) observou-se título 1:40 em 04 casos (80%) e título 1:160 em 01 caso (20%). (Tabela 8/1)

As situações clínicas englobadas no grupo de outras causas (n=211) apresentaram título 1:40 em 95 casos (45%), título 1:160 em 63 casos (29,9%), título 1:640 em 29 casos (13,7%) e título > 1:640 em 24 casos (11,4%). (Tabela 8/2)

Os casos em que o diagnóstico clínico não foi definido (n=22) apresentaram título 1:40 em 07 casos (31,8%), título 1:160 em 06 casos (27,3%), título 1:640 em 05 casos (22,7%) e título > 1:640 em 04 casos (18,2%).(Tabela 8/2).

**Tabela 8 / 1 – Distribuição dos títulos de fluorescência do Grupo I de acordo com os diagnósticos clínicos.**

Titulo	AHAI		AR		AR+LES		AR+PM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	1	100,0	18	34,6	–	0,0	–	0,0
1 / 160	–	0,0	19	36,5	1	20,0	–	0,0
1 / 640	–	0,0	8	15,4	–	0,0	–	0,0
> 1 / 640	–	0,0	7	13,5	4	80,0	1	100,0
Total	1	100,0	52	100,0	5	100,0	1	100,0

Titulo	AR+SJÖGREN		AIJ		Behçet		Colagenose	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	–	0,0	1	50,0	1	50,0	–	0,0
1 / 160	–	0,0	1	50,0	–	0,0	–	0,0
1 / 640	1	100,0	–	0,0	1	50,0	–	0,0
> 1 / 640	–	0,0	–	0,0	–	0,0	1	100,0
Total	1	100,0	2	100,0	2	100,0	1	100,0

Titulo	CREST		DM		DITC		DMTC	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	–	0,0	1	25,0	–	0,0	–	0,0
1 / 160	1	16,7	–	0,0	–	0,0	1	5,3
1 / 640	3	50,0	1	25,0	1	20,0	4	21,1
> 1 / 640	2	33,3	2	50,0	4	80,0	14	73,7
Total	6	100,0	4	100,0	5	100,0	19	100,0

Titulo	Ea		ES		Escleromiosite		FM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	2	100,0	1	16,7	1	25,0	4	80,0
1 / 160	–	0,0	–	0,0	3	75,0	1	20,0
1 / 640	–	0,0	2	33,3	–	0,0	–	0,0
> 1 / 640	–	0,0	3	50,0	–	0,0	–	0,0
Total	2	100,0	6	100,0	4	100,0	5	100,0

AHAI= anemia hemolítica autoimune; AR= artrite reumatóide; LES= lupus eritematoso sistêmico; PM= polimiosite; AIJ= artrite idiopática juvenil; CREST= calcinose, Raynaud, esofagopatia, esclerodactilia, telangiectasia; DM= dermatomiosite; DITC= doença indiferenciada do tecido conjuntivo; DMTC= doença mista do tecido conjuntivo; Ea= espondiloartrite; ES= esclerose sistêmica; FM= fibromialgia.

**Tabela 8 / 2 – Distribuição dos títulos de fluorescência do Grupo I de acordo com os diagnósticos clínicos.**

Titulo	FR		Hepatite AI		LED		LES	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	1	100,0	-	0,0	8	72,7	21	9,8
1 / 160	-	0,0	1	50,0	-	0,0	45	20,9
1 / 640	-	0,0	1	50,0	1	9,1	55	25,6
> 1 / 640	-	0,0	-	0,0	2	18,2	94	43,7
Total	1	100,0	2	100,0	11	100,0	215	100,0

Titulo	LES+ES		LES+SAAF		PM		PT	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	-	0,0	1	10,0	-	0,0	2	50,0
1 / 160	-	0,0	2	20,0	-	0,0	2	50,0
1 / 640	-	0,0	4	40,0	2	50,0	-	0,0
> 1 / 640	1	100,0	3	30,0	2	50,0	-	0,0
Total	1	100,0	10	100,0	4	100,0	4	100,0

Titulo	SAAF		Síndrome reumatóide		Sjögren		Still	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	-	0,0	2	33,3	-	0,0	1	25,0
1 / 160	3	75,0	1	16,7	1	14,3	-	0,0
1 / 640	-	0,0	2	33,3	5	71,4	-	0,0
> 1 / 640	1	25,0	1	16,7	1	14,3	3	75,0
Total	4	100,0	6	100,0	7	100,0	4	100,0

Titulo	Tireoidite AI		OUTRAS CAUSAS		NÃO DEFINIDO		AHAI+Tireoidite AI	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 / 40	1	25,0	95	45,0	7	31,8	-	0,0
1 / 160	1	25,0	63	29,9	6	27,3	1	100,0
1 / 640	2	50,0	29	13,7	5	22,7	-	0,0
> 1 / 640	-	0,0	24	11,4	4	18,2	-	0,0
Total	4	100,0	211	100,0	22	100,0	1	100,0

FR= febre reumática; AI = autoimune; LED= lupus eritematoso discóide; LES= lupus eritematoso sistêmico; ES= esclerose sistêmica; SAAF= síndrome dos anticorpos antifosfolípidos; PM= polimiosite; PT= púrpura trombocitopênica; AHAI= anemia hemolítica autoimune.

**ANÁLISE DO GRUPO II:**

Na análise do Grupo II (n= 162), os resultados encontrados foram:

Quando o exame foi solicitado em mais de uma ocasião, para o mesmo paciente, observou-se a existência de três grupos de diagnósticos, distribuídos de acordo com o fator padrão (mantido ou não mantido):

Em um grupo de 12 diagnósticos observou-se a manutenção do padrão de fluorescência. (Tabela 9)

**TABELA 9** – Distribuição dos diagnósticos onde o padrão de fluorescência se manteve (n=19).

<b>Diagnóstico</b>	<b>(n)</b>
CREST	03
DITC	03
Escleromiosite	03
LES + ES	02
AHAI	01
Colagenose	01
DDTC	01
Fibromialgia	01
Febre Reumática	01
LED	01
LES + Dermatomiosite	01
SAAF	01
TOTAL	19

CREST = calcinose, Raynaud, esofagopatia, esclerodactilia, telangiectasia; DITC = doença indiferenciada do tecido conjuntivo; LES = lupus eritematoso sistêmico; ES = esclerose sistêmica; AHAI = anemia hemolítica autoimune; DDTC = doença difusa do tecido conjuntivo; LED = lupus eritematoso discóide; SAAF = síndrome dos anticorpos antifosfolípidos.

Em um grupo de 04 diagnósticos observou-se que o padrão de fluorescência não se manteve. (Tabela 10)

**TABELA 10** – Distribuição dos diagnósticos onde o padrão de fluorescência não se manteve (n=06).

<b>Diagnóstico</b>	<b>(n)</b>
Síndrome Reumatóide	02
Síndrome de Sjögren	02
AR + LES	01
LES + SAAF	01
TOTAL	06

AR = artrite reumatóide; LES = lupus eritematoso sistêmico; SAAF = síndrome dos anticorpos antifosfolípidos.

Em um grupo de 08 diagnósticos observou-se as duas situações com relação ao padrão de fluorescência (mantido e não mantido). (Tabela 11)

**TABELA 11** – Distribuição dos diagnósticos onde ocorreram as duas situações (padrão mantido e padrão não mantido) (n=137).

<b>Diagnóstico</b>	<b>Padrão mantido</b>	<b>Padrão não mantido</b>
AR	06	02
Dermatomiosite	02	02
DMTC	04	02
ES	03	01
LES	43	44
PTI	01	03
Outras causas	10	10
Não definido	01	03
TOTAL	70	67

AR = artrite reumatóide; DMTC = doença mista do tecido conjuntivo; ES = esclerose sistêmica; LES = lupus eritematoso sistêmico; PTI = púrpura trombocitopênica idiopática.

Nestes grupos de diagnósticos o fator idade não contribuiu para a mudança do padrão de fluorescência (exame 1,  $p = 0,508$ ; exame 2,  $p = 0,377$ ; exame 3,  $p = 0,664$ ). (Tabela 12)

**Tabela 12** – Média e Desvio Padrão da idade dos pacientes do Grupo II (exames solicitados em mais de uma ocasião) em cada momento da realização do teste.

Grupo	N	Média	Desvio Padrão	P
Exame 1				
Não Manteve Padrão	73	37,3	12,1	
Manteve Padrão	89	36,1	10,6	0,508
Exame 2				
Não Manteve Padrão	73	39,2	11,8	
Manteve Padrão	89	37,6	10,8	0,377
Exame 3				
Não Manteve Padrão	20	37,5	10,9	
Manteve Padrão	23	38,9	9,6	0,664
Exame 4				
Não Manteve Padrão	8	40,1	9,2	
Manteve Padrão	2	40,0	4,2	0,986

O fator sexo não contribuiu para a mudança do padrão de fluorescência ( $p = 0,550$ ). (Tabela 13/1)

O fator doença mostrou associação significativa com a mudança do padrão de fluorescência ( $p = 0,010$ ), destacando-se o LES. (Tabela 13/1)

O fator título, no exame 2, mostrou associação significativa com a mudança do padrão de fluorescência ( $p = 0,040$ ). Observou-se maior ocorrência do padrão não mantido nos títulos 1:40 e 1:160, e maior ocorrência do padrão mantido no título >1:640 (Tabela 13/2)

O fator título, no exame 3, mostrou associação significativa com a mudança do padrão de fluorescência ( $p = 0,010$ ). Observou-se maior ocorrência do padrão não mantido nos títulos 1:40 e 1:160, e maior ocorrência do padrão mantido no título >1:640 (Tabela 13/2).

**Tabela 13 / 1** – Distribuição do padrão de fluorescência no Grupo II (exames solicitados em mais de uma ocasião) de acordo com os fatores sexo e doença.

Fator	Padrão				P	OR
	Não Mantido		Mantido			
	n	%	n	%		
Sexo						
Masculino	4	5,5	7	7,9		
Feminino	69	94,5	82	92,1	0,550	0,679
Total	73	100,0	89	100,0		
Doença						
AHAI	-	0,00	1	1,12		
AR	2	2,74	6	6,74		
AR+LES	1	1,37	-	0,00		
Colagenose	-	0,00	1	1,12		
CREST	-	0,00	3	3,37		
DDTC	-	0,00	1	1,12		
DM	2	2,74	2	2,25		
DITC	-	0,00	3	3,37		
DMTC	2	2,74	4	4,49	0,010	0,939
ES	1	1,37	3	3,37		
Escleromiosite	-	0,00	3	3,37		
FM	-	0,00	1	1,12		
FR	-	0,00	1	1,12		
LED	-	0,00	1	1,12		
LES	44	60,27	43	48,31		
LES+ES	-	0,00	2	2,25		
LES+SAAF	1	1,37	-	0,00		
PTI	3	4,11	1	1,12		
SAAF	-	0,00	1	1,12		
Sd. reumatóide	2	2,74	-	0,00		
Sjögren	2	2,74	-	0,00		
OUTRAS CAUSAS	10	13,70	10	11,24		
NÃO DEFINIDO	3	4,11	1	1,12		
LES+DM	-	0,00	1	1,12		
Total	73	100,00	89	100,00		

AHAI = anemia hemolítica autoimune; AR = artrite reumatóide; LES = lupus eritematoso sistêmico; CREST = calcinose, Raynaud, esofagopatia; esclerodactilia, telangiectasia; DDTC = doença difusa do tecido conjuntivo; DM = dermatomiosite; DITC = doença indiferenciada do tecido conjuntivo; DMTC = doença mista do tecido conjuntivo; ES = esclerose sistêmica; FM = fibromialgia; FR = febre reumática; LED = lupus eritematoso discóide; SAAF = síndrome dos anticorpos antifosfolípidos; PTI = púrpura trombocitopênica idiopática; DM = dermatomiosite.

**Tabela 13 / 2** – Distribuição do padrão de fluorescência no Grupo II (exames solicitados em mais de uma ocasião) de acordo com o fator título.

Fator	Padrão				P	OR
	Não Mantido		Mantido			
	n	%	n	%		
<b>Titulo Exame 1</b>						
1 / 40	8	11,0	11	12,4		
1 / 160	16	21,9	17	19,1		
1 / 640	24	32,9	18	20,2	0,352	1,000
> 1 / 640	25	34,2	43	48,3		
Total	73	100,0	89	100,0		
<b>Titulo Exame 2</b>						
1 / 40	14	19,2	9	10,1		
1 / 160	18	24,7	17	19,1		
1 / 640	16	21,9	21	23,6	0,040	1,001
> 1 / 640	25	34,2	42	47,2		
Total	73	100,0	89	100,0		
<b>Titulo Exame 3</b>						
1 / 40	4	20,0	-	0,0		
1 / 160	7	35,0	5	21,7		
1 / 640	5	25,0	5	21,7	0,010	1,002
> 1 / 640	4	20,0	13	56,5		
Total	20	100,0	23	100,0		

## 5 Discussão

---

Este é o primeiro estudo realizado em nosso Estado com o objetivo de avaliar as correlações dos resultados da pesquisa de FAN em células HEp-2.

O Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás é um hospital terciário, referência no Estado para investigação e tratamento das doenças reumáticas. Além dos habitantes do estado de Goiás, este hospital atende a pessoas de estados vizinhos, onde, na maioria das vezes, não se encontram especialistas.

O teste de FAN é um exame útil na investigação de doenças autoimunes, principalmente das doenças reumáticas.

Deve ser considerado como um teste de triagem e a interpretação e valorização do resultado devem estar fundamentadas no conhecimento da sensibilidade e especificidade do mesmo e no contexto clínico (DELLAVANCE e cols., 2003).

Ao longo das últimas décadas foi tecnicamente modificado de forma a conferir sensibilidade progressivamente maior. O aumento na sensibilidade do teste, entretanto, trouxe um prejuízo na especificidade, pois indivíduos sem evidência clínica ou laboratorial aparentes de doença autoimune também passaram a apresentar resultados positivos em células HEp-2. A perda da especificidade

agravou-se também pelo fato de que uma vasta gama de especialistas médicos passou a utilizá-lo. Atualmente, é um exame solicitado com menos critério por uma grande variedade de especialistas que atendem uma clientela distinta na qual o diagnóstico de doença reumática autoimune é menos prevalente. Assim, a chance de resultados positivos em indivíduos saudáveis ou com apresentações clínicas pouco expressivas tornou-se maior (DELLAVANCE e cols., 2009).

Para realização deste trabalho escolhemos para período de início o ano de 2000 em decorrência da realização do I Consenso de FAN, o qual padronizou a nomenclatura dos laudos deste exame no Brasil.

Este estudo propôs-se a avaliar somente os exames com resultados positivos em células HEp-2, com objetivos de verificar as correlações dos padrões e títulos de fluorescência com os diagnósticos clínicos.

No período de jan./ 2000 a dez./ 2007 foram analisadas amostras de soros de 8631 pacientes para teste de FAN e encontrou-se positividade em 13,52% dos casos. PEENE et al. (2001) avaliaram amostras de soros de 10550 pacientes, no período de 1996 a 1999, e encontraram positividade em 23,5% dos casos. DELLAVANCE et al. (2005) avaliaram 30728 amostras, no período de jan./2001 a jan./2003, e detectaram 44% de testes positivos. Como a população e os períodos de avaliação são diferentes, não foi possível comparar a frequência de positividade deste estudo com os trabalhos descritos.

Na análise do Grupo I, composto por exames solicitados em uma ocasião, os padrões nucleares foram observados em maior frequência (89,41%). Estes resultados são concordantes com as observações de PEENE (2001) e

DELLAVANCE (2005). No estudo de PEENE et al. (2001), os padrões mais prevalentes foram os nucleares, representando 87,8% de sua amostra. No estudo de DELLAVANCE et al. (2005), 91% dos casos apresentaram fluorescência nuclear.

Dentre os padrões nucleares, os padrões pontilhados foram detectados em maior frequência (78,81%), principalmente os padrões nuclear pontilhado fino (37,24%), nuclear pontilhado grosso (29,86%) e nuclear pontilhado fino denso (9,79%). Resultados semelhantes foram descritos em alguns trabalhos. HARMON (1985) descreveu que o padrão pontilhado é o padrão mais comumente observado e o mais variado em sua descrição. No estudo de DELLAVANCE et al. (2005) o padrão nuclear pontilhado fino foi observado em 47% dos casos, o padrão nuclear pontilhado grosso em 4% dos casos e o padrão nuclear pontilhado fino denso em 41% dos casos.

Neste trabalho, as doenças autoimunes reumáticas foram observadas em maior frequência (59,87%) e correlacionaram-se, principalmente, com os padrões nucleares pontilhados. Destacaram-se o lúpus eritematoso (237 casos), a artrite reumatóide (61 casos), a doença mista do tecido conjuntivo (19 casos) e a esclerose sistêmica (16 casos). No lúpus eritematoso, os padrões observados em maior frequência foram o nuclear pontilhado grosso (32,91%), o nuclear pontilhado fino (25,73%), o nuclear homogêneo (19,40%) e o nuclear pontilhado fino denso (10,12%). Na artrite reumatóide, os padrões observados em maior frequência foram o nuclear pontilhado fino (39,34%), o nuclear pontilhado grosso (27,86%) e o nuclear pontilhado fino denso (16,39%). Na doença mista do tecido conjuntivo, destacaram-se os padrões nuclear pontilhado grosso (68,4%) e nuclear pontilhado fino (15,7%).

Na esclerose sistêmica, destacaram-se os padrões nuclear pontilhado centromérico (25%), nuclear pontilhado fino (18,75%) e nuclear pontilhado grosso (18,75%). Em publicações nacionais, as principais associações clínicas com o padrão nuclear pontilhado grosso são LES, doença mista do tecido conjuntivo, esclerose sistêmica e artrite reumatóide; e as principais associações clínicas com o padrão nuclear pontilhado fino são LES e síndrome de Sjögren (DELLAVANCE e cols., 2009).

No presente estudo foram detectados 12 casos de padrão nuclear pontilhado centromérico, sendo 06 casos de doenças reumáticas autoimunes (03 casos de CREST, 01 caso de esclerose sistêmica, 01 caso de artrite reumatóide e 01 caso de LES). Segundo descrições da literatura nacional, este padrão associa-se principalmente com esclerose sistêmica forma CREST e cirrose biliar primária (DELLAVANCE e cols., 2003; DELLAVANCE e cols., 2009). Encontramos um trabalho em que este padrão foi observado em paciente com LES (FRITZLER; KINSELLA, 1980). Não encontramos relatos na literatura da associação do padrão centromérico com artrite reumatóide.

Segundo LESER e ANDRADE (2004) os padrões nucleares pontilhado grosso, pontilhado centromérico, pontilhado fino em altos títulos e o padrão nuclear homogêneo podem ser classificados como padrões com forte relevância clínica para doença autoimune reumática. Nesta casuística, os padrões nucleares pontilhado fino e pontilhado grosso foram observados em doenças autoimunes reumáticas, em doenças autoimunes não-reumáticas, em doenças não-autoimunes e em casos onde o diagnóstico clínico não foi definido. Os padrões nuclear homogêneo e nuclear pontilhado centromérico foram observados em doenças autoimunes reumáticas, em

doenças não-autoimunes (grupo outras causas) e em casos onde o diagnóstico clínico não foi definido. Estes resultados sugerem que padrões com forte relevância clínica para doença autoimune reumática podem ser encontrados em doenças autoimunes não-reumáticas, em doenças não-autoimunes e em situações sem diagnóstico clínico e não devem ser interpretados como específicos de doenças autoimunes reumáticas.

O padrão nuclear pontilhado fino denso pode ser classificado como um padrão de discutida relevância clínica para doença autoimune reumática, sendo observado em alta frequência (LESER; ANDRADE, 2004). Nesta casuística, detectou-se 61 casos com este padrão, correspondendo a 9,79% dos casos. Este padrão foi observado em doenças autoimunes reumáticas, em doenças não-autoimunes (grupo outras causas) e em casos onde o diagnóstico clínico não foi definido. Nas doenças autoimunes reumáticas, o padrão nuclear pontilhado fino denso foi observado em LES, artrite reumatóide, esclerose sistêmica e polimiosite. De acordo com LESER e ANDRADE (2004) este padrão é responsável por 30% dos FAN positivos e está associado a indivíduos com queixas inespecíficas e sem diagnóstico efetivo, pacientes com processos inflamatórios específicos e inespecíficos, tireoidite autoimune e, menos frequentemente, pacientes com doenças reumáticas autoimunes. No estudo de DELLAVANCE et al. (2005) este padrão foi encontrado em 41% dos casos e esteve associado a doenças autoimunes, dentre as quais as doenças reumáticas (LES, artrite reumatóide, esclerose sistêmica); doenças infecciosas; neoplasias; síndromes ginecológicas; dor difusa e miscelâneas. Os resultados do presente trabalho sugerem que, apesar de ser considerado um padrão

de discutida relevância clínica para doença autoimune reumática, o padrão nuclear pontilhado fino denso pode ocorrer neste grupo de doenças, não devendo ser interpretado como exclusão de doença autoimune.

Dentre os casos de doenças não-autoimunes deste estudo, fibromialgia apresentou FAN positivo em 05 casos. Este dado é concordante com KÖTTER et al. (2007), os quais descreveram FAN positivo em 11,6% de 450 pacientes com a referida enfermidade.

Neste material, 211 casos englobados no grupo “outras causas” apresentaram um teste positivo para FAN. Este grupo incluiu os casos de doenças infecciosas, doenças linfoproliferativas, cânceres, sintomas isolados e alterações laboratoriais hematológicas (citopenias). A observação de FAN positivo nestes grupos é concordante com dados da literatura. Algumas condições, bem reconhecidas, tais como doenças infecciosas crônicas e algumas doenças linfoproliferativas estão ocasionalmente associadas com um teste positivo (SCHUR, 2009). Anticorpos antinucleares são descritos em hanseníase (BONFÁ et al., 1987; PERNAMBUCO, 1988; GARCIA-DE La TORRE, 1993), em malária (BOONPUCKNAVIG, EKAPANYAKUL, 1984; BONFÁ et al., 1987; ADEBAJO et al., 1993) e em doença de Chagas (BONFÁ et al., 1993), enfermidades freqüentes em nossa região. Doenças infecciosas virais, principalmente hepatites (B e C), síndrome da imunodeficiência adquirida, e parvovirose estão comumente associadas a autoanticorpos (HANSEN et al, 1998). Anticorpos antinucleares e contra antígenos citoplasmáticos têm sido detectados em pacientes com leucemia, melanomas malignos, carcinoma de pulmão, mama, gastrointestinal, ginecológico, nasofaríngeo,

próstata, carcinoma hepatocelular, síndromes neurológicas paraneoplásicas (IMAI et al., 1992). Em vários casos deste grupo, o exame foi solicitado em decorrência de queixas isoladas do aparelho locomotor, tais como mialgia e artralgia, porém não observou-se conclusão clínica para alguma doença autoimune específica. O mesmo constatou-se com relação às alterações hematológicas (anemia, leucopenia, plaquetopenia) associadas a um teste positivo para FAN. Resultados semelhantes foram descritos por VLACHOYANNOPOULOS et al. (1998).

Também observou-se que 22 casos com diagnóstico não definido apresentaram um teste positivo. Este grupo incluiu os casos em que o diagnóstico não foi identificado ou não foi concluído à época da coleta dos dados para a pesquisa. Constatou-se que, neste grupo, o teste não foi útil no auxílio do diagnóstico clínico.

A diluição de corte utilizada no Laboratório de Imuno-Reumatologia do Hospital das Clínicas / UFG é de 1:40, obedecendo às orientações do kit comercial usado para realização do exame (HEMAGEN Diagnostics, Inc.) e do I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2 (PFRIMER e cols., 2001) que recomenda que as diluições de triagem sejam 1:40 a 1:160, na dependência da lâmpada do microscópio (20W, 50W, 100W). Com diluições seriadas (1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, etc) consideramos como títulos baixos os títulos de 1:40 e 1:80, como títulos moderados os títulos de 1:160 e 1:320 e como títulos altos os títulos igual ou maior que 1:640.

Neste estudo, os títulos de fluorescência apresentaram uma distribuição homogênea: 169 casos (1:40); 153 casos (1:160); 127 casos (1:640) e 174 casos (>

1:640). Os casos com títulos moderados (1:160) e elevados (1:640 e > 1:640) apresentaram maior associação com enfermidades autoimunes (54,25%; 73,23% e 83,91%, respectivamente) Estes resultados são concordantes com as observações de DELLAVANCE e cols. (2007) de que, em geral, os pacientes autoimunes tendem a apresentar títulos moderados (1:160 e 1:320) e elevados (igual ou maior que 1:640).

Em 63 casos (37,28%) com título 1:40 observou-se o diagnóstico de doença autoimune. Nas doenças autoimunes reumáticas este título foi observado em lúpus eritematoso, em artrite reumatóide e em esclerose sistêmica, principalmente. Estes resultados sugerem que títulos baixos também podem ser encontrados em doenças autoimunes reumáticas e não devem ser interpretados como critério para exclusão de doença autoimune, desde que exista suspeita clínica.

Por outro lado, nas situações clínicas englobadas no grupo de outras causas (n=211), o título 1:40 foi observado em maior frequência (45%), quando comparado aos títulos 1:160 (29,9%), 1:640 (13,7%) e > 1:640 (11,4%). Estes resultados sugerem que em doenças não-autoimunes o título do FAN, geralmente, é baixo. Entretanto, títulos altos também podem ser observados nestas situações clínicas e não devem ser interpretados como específicos de doenças autoimunes.

Nos casos em que o diagnóstico clínico não foi definido (n=22), o título 1:40 foi observado em 31,8% dos casos, o título 1:160 em 27,3% dos casos e os títulos igual e maior que 1:640 em 40,9% dos casos. Baseando-nos nas idéias de HAWA et al. (2004) e de HAREL e SHOENFELD (2006) de que os autoanticorpos podem ser usados como preditores de doença autoimune, estes resultados sugerem que, nos

casos de diagnóstico não definido e com altos títulos de FAN, os pacientes devem ser reavaliados clinicamente, por tempo indefinido, para detecção de uma doença autoimune.

Na análise do Grupo II, composto por exames solicitados em mais de uma ocasião, o objetivo deste estudo foi avaliar se a mudança do padrão de fluorescência apresentava correlação com algum fator analítico (sexo, idade, diagnóstico clínico, título de fluorescência). Observou-se que os fatores idade e sexo não contribuíram para a mudança do padrão de fluorescência, e que os fatores diagnóstico clínico e título de fluorescência mostraram associação significativa com a mudança do padrão de fluorescência. Esta associação foi observada principalmente com o diagnóstico de LES e com os títulos baixos (1:40) e moderados (1:160).

Trabalhos de FRITZLER (1985), de von MÜHLEN e TAN (1994; 1995), e de EVANS (1998) demonstraram que as doenças difusas do tecido conjuntivo apresentam um espectro variável de autoanticorpos. O padrão de fluorescência pode fornecer uma idéia preliminar dos possíveis autoanticorpos envolvidos (ANDRADE, 1998). Sendo assim, as justificativas para a associação significativa da mudança do padrão com o diagnóstico clínico podem ser: 1) a predominância, em um dado momento, de um determinado autoanticorpo sobre outro; 2) a variabilidade das manifestações clínicas de uma mesma doença.

DELLAVANCE e cols. (2009) destacam o fato de que a reação de imunofluorescência indireta depende de cinco fatores: microscópio, potência da lâmpada, concentração do conjugado, soros controles de reatividade mínima, e observador. Entendemos que a não observância dos referidos fatores pode interferir

no resultado do teste, podendo ser esta a justificativa para a associação encontrada entre o título de fluorescência e a mudança do padrão.

A análise global destes resultados permite a seguinte consideração final: a interpretação do resultado positivo do FAN deve basear-se, principalmente, na descrição do padrão de fluorescência e não no valor quantitativo do título e deve estar associada à presença de manifestações clínicas quando sugestivas de doenças autoimunes, principalmente reumáticas.

## **6 Conclusões**

---

- 1) A positividade do teste de FAN foi observada em doenças autoimunes (61,80%) e em doenças não-autoimunes (34,67%).
- 2) A correlação mais freqüente do FAN positivo foi observada com o diagnóstico de lupus eritematoso (38,04%), principalmente com os padrões nuclear pontilhado grosso (32,91%), nuclear pontilhado fino (25,73%), nuclear homogêneo (19,40%) e nuclear pontilhado fino denso (10,12%).
- 3) Os padrões nucleares foram observados em maior freqüência (89,41%), sendo os pontilhados os mais comuns (78,81%).
- 4) Títulos baixos podem ser encontrados em doenças autoimunes reumáticas e, portanto, não devem ser interpretados como critério para exclusão de doença autoimune, desde que exista suspeita clínica.

- 5) Títulos altos podem ser encontrados em doenças não-autoimunes e, portanto, não devem ser interpretados como específicos de doença autoimune.
  
- 6) Quando o teste de FAN foi solicitado em mais de uma ocasião, para o mesmo paciente, o diagnóstico clínico (principalmente de LES) e o título de fluorescência (1:40 e 1:160) mostraram associação com a mudança do padrão de fluorescência.
  
- 7) A valorização correta do teste de FAN deve associar as informações fornecidas pelo resultado positivo à história clínica e ao exame físico do paciente, quando sugestivos de doença autoimune, principalmente de doenças autoimunes reumáticas.

## **7 Referências**

---

ADEBAJO, A.O.; CHARLES, P.; MAINI, R.N.; HAZLEMAN, B.L. Autoantibodies in malaria, tuberculosis and hepatitis B in a West African population. **Clin Exp Immunol**, v.92, n.1, p.73-76, 1993.

ANDRADE, L.E.C.; MEDEIROS, K.X.; OLIVEIRA, R.M. Evolução e mudança de paradigma nos métodos laboratoriais para identificação de autoanticorpos. **Rev Bras Reumatol**, v.38, n.5, p.259 – 263, 1998.

BECK, J.S. Variations in the morphological patterns of autoimmune nuclear fluorescence. **Lancet**, n.1, p.1203-1205, 1961.

BIZZARO, N.; WIJK, A. Appropriateness in anti-nuclear antibody testing: from clinical request to strategic laboratory practice. **Clin Exp Rheumatol**, v.22, p.349 – 355, 2004.

BONFÁ, E.; LLOVET, R.; SCHEINBERG, M.; SOUZA, J.M.; ELKON, K.B. Comparison between autoantibodies in malaria and leprosy with lupus. **Clin Exp Rheumatol**, v.70, n.3, p.529-537, 1987.

BONFÁ, E.; VIANA, V.S.T.; BARRETO, A.C.P.; YOSHINARI, N.H.; COSSERMELLI, W. Autoantibodies in Chagas' Disease. **J Immunol**, v.150, n.9, p.3917-3923, 1993.

BOONPUCKNAVIG, S.; EKAPANYAKUL, G. Autoantibodies in sera of Thai patients with Plasmodium falciparum infection. **Clin Exp Immunol**, v.58, n.1, p.77-82, 1984.

COONS, A.H.; KAPLAN, M.H. Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. **J Exp Med**, v.91, p.1 – 13, 1950.

DAVIDSON, A.; DIAMOND, B. Autoimmune diseases. **N Engl J Med**, v.345, n.5, p.340 – 350, 2001.

DELLAVANCE, A.; GABRIEL Jr, A.; CINTRA, A.F.U.; XIMENES, A.C.; NUCCITELLI, B.; TALIBERTI, B.H.; MOREIRA, C.; von MÜHLEN, C.A.; BICHARA, C.D.; SANTOS, C.H.R.; YANO, C.M.; MANGUEIRA, C.L.A.; CARVALHO, D.G.; BONFÁ, E.S.D.O.; DOI, E.M.; GUIMARÃES, F.N.C.; ARAÚJO, F.I.; MUNDIM, H.M.; RÊGO, J.; VIEIRA, L.E.A.; POLI, L.; ANDRADE, L.E.C.; CALLADO, M.R.; MESQUITA, M.M.; SUGIYAMA, M.; SLHESARENKO, N.; SILVA, N.A.; CARBALLO, O.G.; LESER, P.G.; FRANCESCANTONIO, P.L.C.; JARACH, R.; XAVIER, R.M.; LEVY, R.A.; NEVES, S.P.F.; CRUVINEL, W.M.; SANTOS, W.S. II Consenso Brasileiro de fator antinuclear em células HEp-2. **Rev Bras Reumatol**, v.43, n.3, p.129 – 140, 2003.

DELLAVANCE, A.; VIANA, V.S.T.; LEON, E.P.; BONFÁ, E.S.D.O.; ANDRADE, L.E.C.; LESER, P.G. The clinical spectrum of antinuclear antibodies associated with the nuclear dense fine speckled immunofluorescence pattern. **J Rheumatol**, v.32, p.2144 – 2149, 2005.

DELLAVANCE, A.; ANDRADE, L.E.C. Das células LE às células HEp-2: perspectiva histórica e avaliação crítica do teste de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos antinúcleo. **Sinopse Reumatol**, n.1, p.7 – 21, 2007.

DELLAVANCE, A.; LESER, P.G.; ANDRADE, L.E.C. Análise crítica do teste de anticorpos antinúcleo (FAN) na prática clínica. **Rev Bras Reumatol**, v.47, n.4, p.265 – 275, 2007.

DELLAVANCE, A.; GABRIEL Jr, A.; NUCCITELLI, B.; TALIBERTI, B.H; von MÜHLEN, C.A.; BICHARA, C.D.A.; SANTOS, C.H.R.; BUENO, C.; YANO, C.M.; MANGUEIRA, C.L.P.; CARVALHO, D.G.; CARDOSO, E.; BONFÁ, E.; ARAÚJO, F.I.; RASSI, G.G.; MUNDIM, H.M.; BENDET, I.; RÊGO, J.; VIEIRA, L.M.E.A.; ANDRADE, L.E.C.; BARBOSA, M.O.F.; SUGIYAMA, M.; SANTIAGO, M.B.; SLHESSARENKO, N.; SILVA, N.A.; FRANCESCANTONIO, P.L.C.; JARACH, R.; SUDA, R.; LEVY, R.A.; SAMPAIO, S.O.; NEVES, S.P.F.; CRUVINEL, W.M.; SANTOS, W.S.; NÓBREGA, Y.K.M. 3º Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2 (FAN). Recomendações para padronização do ensaio de pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2, controle de qualidade e associações clínicas. **Rev Bras Reumatol**, v.49, n.2, p.89 – 109, 2009.

EVANS, J. Antinuclear antibody testing in systemic autoimmune disease. **Clin Chest Med**, v.19, n.4, p.613 – 625, 1998.

FERNANDEZ – MADRID, F.; MATTIOLI, M. Antinuclear antibodies (ANA): immunologic and clinical significance. **Semin Arthritis Rheum**, v.6, n.2, p.83 – 124, 1976.

FORSLID, J.; HEIGL, Z.; JONSSON, J.; SCHEYNIUS, A. The prevalence of antinuclear antibodies in healthy young persons and adults, comparing rat liver tissue sections with HEp-2 cells as antigen substrate. **Clin Exp Rheumatol**, v.12, p.137 – 141, 1994.

FRIOU, G.J. Clinical application of lupus serum nucleoprotein reaction using fluorescent antibody technique. **J Clin Invest**, v.36, p.890 – 897, 1957.

FRITZLER, M.J.; KINSELLA, T.D. The CREST syndrome: a distinct serologic entity with anticentromere antibodies. **Am J Med**, v.69, p.520 – 526, 1980.

FRITZLER, M.J. Antinuclear antibodies in the investigation of rheumatic diseases. **Bull Rheum Dis**, v.35, p.1 – 10, 1985.

GARCIA – DE la TORRE, I. Autoimmune phenomena in leprosy: particularly antinuclear antibodies and rheumatoid factor. **J Rheumatol**, n.20, p.900-903, 1993.

HAHN, B.H.; KARPOUZAS, G.A.; TASO, B.P. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In HARRIS Jr, E.D.; BUDD, R.C.; FIRESTEIN, G.S.; GENOVESE, M.C.; SERGENT, J.S.; RUDDY, S.; SLEDGE, C.B. **Kelley's Textbook of Rheumatology**, 7<sup>th</sup> ed., Elsevier Saunders, p.1174 – 1200, 2005.

HANSEN, K.E.; ARNASON, J.; BRIDGES, A.J. Autoantibodies and common viral illnesses. **Semin Arthritis Rheum**, v.27, p.263 – 271, 1998.

HAREL, M.; SHOENFELD, Y. Predicting and preventing autoimmunity, myth or reality? **Ann NY Acad Sci**, v.1069, p.322 – 345, 2006.

HARGRAVES, M.M.; RICHMOND, H.; MORTON, R. Presentation of two bone marrow elements: the "tart" cell and the "LE" cell. **Mayo Clin Proc**, v.23, n.2, p.25 – 28, 1948.

HARMON, C.E. Antinuclear antibodies in autoimmune disease. Significance and pathogenicity. **Med Clin North Am**, v.69, n.3, p.547 – 563, 1985.

HASERICK, J.R.; BORTZ, D.W. Normal bone marrow inclusion phenomena induced by lupus erythematosus plasma. **J Invest Dermatol**, n.13, p.47-49, 1949.

HAWA, M.; BEYAN, H.; LESLIE, R.D.G. Principles of autoantibodies as disease – specific markers. **Autoimmunity**, v.37, n.4, p.253 – 256, 2004.

HIEPE, F.; DÖRNER, T.; BURMESTER, G.R. Editorial overview: antinuclear antibody – and extractable nuclear antigen – related diseases. **Int Arch Allergy Immunol**, v.123, p.5 – 9, 2000.

HIETARINTA, M.; LASSILA, O. Clinical significance of antinuclear antibodies in systemic rheumatic diseases. **Ann Med**, v.28, p.283 – 291, 1996.

IMAI, H.; OCHS, R.L.; KIYOSAWA, K.; FURUTA, S.; NAKAMURA, R.M.; TAN, E.M. Nucleolar antigens and autoanibodies in hepatocellular carcinoma and other malignancies. **Am J Pathol**, v.140, n.4, p.859 – 870, 1992.

KAVANAUGH, A.; TOMAR, R.; REVEILLE, J. SOLOMON, D.H. HOMBURGER, H.A. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. **Arch Pathol Lab Med**, n.1, v.124, p.71-81, 2000.

KEREN, D.F. Antinuclear antibody testing. **Clin Lab Med**, v.22, p.447 – 474, 2002.

KIUTTU, J.; HARTIKAINEN, A.L.; MÄRITALO, R. RUUSKA, P. The outcome of pregnancy in antinuclear antibody – positive women. **Gynecol Obstet Invest**, v.37, p.160 – 163, 1994.

KÖTTER, I.; NEUSCHELER, D.; GÜNAYDIN, I.; WERNWT, D.; KLEIN, R. Is there a predisposition for the development of autoimmune diseases in patients with fibromyalgia? Retrospective analysis with long term follow-up. **Rheumatol Int**, v.27,p.1031 – 1039, 2007.

KOTZIN, B.L. Autoimmunity. In HARRIS Jr., E.D.; BUDD, R.C.; FIRESTEIN, G.S.; GENOVESE, M.C.; SERGENT, J.S.; RUDDY, S.; SLEDGE, C.B.; **Kelley's Textbook of Rheumatology**, 7<sup>th</sup> ed., Elsevier Saunders, p.260 – 275, 2005.

KOZIN, F.; FOWLER, M.; KOETHE, S.M. A comparison of the sensitivities and specificities of different substrates for the fluorescence antinuclear antibody test. **Am J Clin Pathol**, v.74, p.785 – 790, 1980.

LESER, P.G.; ANDRADE, L.E.C. A importância do padrão do FAN para a correta valorização do resultado do exame. **Rev Paulista Reumatol**, v.3, n.1, p.5 – 6, 2004.

MIESCHER, P.; FOUCONNET, M. L' absorption du facteur "LE" par des noyaux cellulaires isolés. **Experimentia**, n.10, p.252-254, 1954.

MILLER, M.H.; LITTLEJOHN, G.O.; JONES, B.W.; STRNAD, H. Clinical comparison of cultured human epithelial cells and rat liver as substrates for the fluorescent antinuclear antibody test. **J Rheumatol**, v.12, p.265 – 269, 1985.

MIMORI, T.; IMURA, Y.; NAKASHIMA, R.; YOSHIFUJI, H. Autoantibodies in idiopathic inflammatory myopathy: an update on clinical and pathophysiological significance. **Curr Opin Rheumatol**, v.19, n.6, p.523 – 529, 2007.

MOORE, A.E.; SABACHEWSKY, L.; TOOLAN, H.W. Culture characteristics of four permanent lines of human cancer cells. **Cancer Res**, v.15, p.598 – 562, 1955.

MUTASIN, D.F.; ADAMS, B.B. A practical guide for serologic evaluation of autoimmune connective tissue diseases. **J Am Acad Dermatol**, v.42, p.159 – 174, 2000.

MYCKATYN, S.O.; RUSSELL, A.S. Outcome of positive antinuclear antibodies in individuals without connective tissue disease. **J Rheumatol**, v.30, p.736 – 739, 2003.

NAKAMURA, R.M.; BINDER, W.L. Current concepts and diagnostic evaluation of autoimmune disease. **Arch Pathol Lab Med**, v.112, p.869 – 877, 1988.

NAPARSTEK, Y.; PLOTZ, P.H. The role of autoantibodies in autoimmune disease. **Annu Rev Immunol**, v.11, p.79 – 104, 1993.

NOTKINS, A.L.; LERNMARK, A.; LESLIE, D. Preface. **Autoimmunity**, v.37, n.4, p.251 – 252, 2004.

PEENE, I.; MEHEUS, L.; VEYS, E.M.; De KEYSER, F. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large and consecutive cohort of serum samples referred for ANA testing. **Ann Rheum Dis**, v.60, p.1131 – 1136, 2001.

PERNAMBUCO, J.C.A. Artropatia inflamatória hansênica. Estudo clínico, evolutivo, laboratorial e radiográfico. **Dissertação de Mestrado em Reumatologia**. Escola Paulista de Medicina. São Paulo, p.97, 1988.

PFRIMER, I.A.H.; FRANCESCANTONIO, P.L.C.; von MÜHLEN, C.A. I Consenso Nacional para padronização dos laudos de FAN em células HEp-2. **Rev Bras Reumatol**, v.41, n.5, p.267 – 273, 2001.

SCHUR, P.H. A review of state-of-the-art testing for LES and connective tissue disease. **Rheumatologist**, v.3, n.2, p.16, 2009.

SONTHEIMER, R.D.; Mc CAULIFFE, D.P.; ZAPPI, E.; TARGOFF, I. Antinuclear antibodies: clinical correlations and biologic significance. **Adv Dermatol**, v.7, p.3 – 52, 1991.

TAN, E.M. Antinuclear antibodies: diagnostic markers and clues to the basis of systemic autoimmunity. **Pediatr Infect Dis J**, v.7, n.5, p.S3 – S9, 1988.

TAN, E.M. Autoantibodies in pathology and cell biology. **Cell**, v.67.; p.841 – 842, 1991.

TAN, E.M.; FELTKAMP, T.E.W.; SMOLEN, J.S.; BUTCHER, B.; DAWKINS, R.; FRITZLER, M.J.; GORDON, T.; HARDIN, J.A.; KALDEN, J.R.; LAHITA, R.G.; MAINI, R.N.; McDOUGAL, J.S.; ROTHFIELD, N.F.; SMEENK, R.J.; TAKASAKI, Y.; WIJK, A.; WILSON, M.R.; ROZIOL, J.A. Range of antinuclear antibodies in “healthy” individuals. **Arthritis Rheum**, v.40, n.9, p.1601 – 1611, 1997.

TOOLAN, H.W. Transplantable human neoplasms maintained in cortisone-treated laboratory animals: H.S. # 1; H.Ep. # 1; H.Ep. # 2; H.Ep. # 3; and H.Emb.Rh. # 1. **J Cancer Res**, v.14, p.660 – 666, 1954.

VAILE, J.H.; DYKE, L.; KHERANI, R.; JOHNSTON, C.; HIGGINS, T.; RUSSEL, A.S. Is high titre ANA specific for connective tissue disease? **Clin Exp Rheumatol**, v.18, p.433 – 438, 2000.

VIANA, V.S.T.; BUENO, C.; CARVALHO, J.F. Fator antinuclear: do valor diagnóstico ao valor preditivo de doenças autoimunes. **Rev Bras Reumatol**, v.49, n.2, p.85 – 88, 2009.

VLACHOYIANNOPOULOS, P.G.; TZAVARA, V.; DAFNI, U.; SPANOS, E.; MOUTSOPOULOS, M.H. Clinical features and evolution of antinuclear antibody positive individuals in a rheumatology outpatient clinic. **J Rheumatol**, v.25, p.886-891, 1998.

von MÜHLEN, C.A.; TAN, E.M. Autoantibody specificities in autoimmune rheumatic diseases. **Rev Bras Reumatol**, v.34, n.4, p.173 – 193, 1994.

von MÜHLEN, C.A.; TAN, E.M. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. **Semin Arthritis Rheum**, v.24, n.5, p.323 – 358, 1995.

WAALER, E. On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. **Acta Pathol Microbiol Scand**, v.17, p.172 – 188, 1940.

WARD, M.M. Laboratory testing for systemic rheumatic diseases. **Postgrad Med**, v.103, p.93 – 100, 1998.

WIJEYESINGHE, U.; RUSSELL, A.S. Outcome of high titer antinuclear antibody positivity in individuals without connective tissue disease: a 10-year follow-up. **Clin Rheumatol**, v.27, p.1399 – 1402, 2008.



## **8.1 Parecer do Comitê de Ética**

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
 HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA MÉDICA HUMANA E ANIMAL

PROCOLO CEPMHA/HC/UPG Nº 107/07

Goiania, 23/10/2007

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): *Dra. Josélia Rêgo*

TÍTULO: *"Análise da pesquisa de auto-anticorpos contra antígenos intracelulares (IAG), pela técnica de imunofluorescência, utilizando como substrato células Hep-2."*

Área Temática: *Grupo III*

Local de Realização: *Hospital das Clínicas/UPG – Laboratório Imuno-Reumatologia/SAMB*

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, após análise das respostas aos questionamentos, aprovou o projeto de acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

→ Informamos que não há necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.

→ O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPMHA/HC/UPG, relatórios trimestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).

→ O CEPMHA/HC/UPG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 196/96 (*Manual Operacional Para Comitês de Ética em Pesquisa – Item 13*)

  
 Farm. José Mário Coelho Moraes  
 Coordenador do CEPMHA/HC/UPG

## **8.2 Autorização da Diretoria Técnica**



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
DIRETORIA TÉCNICA



Memorando n.º 146/07 – DT/HC – UFV

Goiânia, 19 de Março de 2007

**De:** Diretoria Técnica HC/UFV

**Para:** Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do HC/UFV

Senhor Coordenador,

Estamos autorizando a pesquisadora Dra. Jozélia Rego, a manusear os prontuários dos pacientes desta Instituição para o desenvolvimento do seu projeto de pesquisa, intitulado: *"Análise da pesquisa de auto-anticorpos contra antígenos intracelulares (IAC), pela técnica de imunofluorescência indireta, utilizando como substrato células HEp-2"*.

Vale ressaltar à Pesquisadora responsável o compromisso de utilizar os dados coletados apenas para esta pesquisa, bem como a garantia do sigilo dos nomes dos pacientes.

Na oportunidade, reiteramos nossos protestos de respeito.

*Prof. Luiz Arantes Resende*  
Diretor Técnico HC/UFV

PRIMEIRA AVENIDA S/N – SETOR LESTE UNIVERSITÁRIO  
CEP. 74.605-006 – FONE: (62) 242.38.00  
GOIÂNIA – GOIÁS

Trabalha conosco comprometido e de resultados e você de caráter integrador de políticas públicas de saúde, através de campo acadêmico e científico, para nossos projetos e causas.

Trabalha conosco  
"Se você trabalhar com Hospital de referência em atendimento integral e com condições tecnológicas e humanas"

### **8.3 Distribuição dos padrões de fluorescência de acordo com os diagnósticos clínicos.**

Padrão	AHAI		AR		AR+LES		AR+PM		AR+SJÖGREN		AIJ		Behçet		Colagenose	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Homogêneo	-	0,0	1	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado	-	0,0	1	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado fino	1	100,0	22	42,3	1	20,0	-	0,0	1	100,0	-	0,0	1	50,0	1	100,0
Pontilhado fino denso	-	0,0	10	19,2	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado grosso	-	0,0	11	21,2	3	60,0	1	100,0	-	0,0	2	100,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado grosso reticulado	-	0,0	1	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado, tipo pontos isolados	-	0,0	1	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Centromérico	-	0,0	1	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Nucleolar	-	0,0	3	5,8	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	50,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado fino	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado fino denso	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado reticulado	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado polar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático fibrilar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Mistos	-	0,0	1	1,9	1	20,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Membrana nuclear	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	1	100,0	52	100,0	5	100,0	1	100,0	1	100,0	2	100,0	2	100,0	1	100,0

AHAI = anemia hemolítica autoimune; AR = artrite reumatóide; LES = lupus eritematoso sistêmico; PM = polimiosite; AIJ = artrite idiopática juvenil.

Padrão	CREST		DM		DITC		DMTC		Ea		ES		Escleromiosite		FM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Homogêneo	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	5,3	-	0,0	1	16,7	-	0,0	-	0,0
Pontilhado	-	0,0	1	25,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado fino	1	16,7	-	0,0	1	20,0	3	15,8	-	0,0	2	33,3	-	0,0	4	80,0
Pontilhado fino denso	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	2	33,3	-	0,0	-	0,0
Pontilhado grosso	1	16,7	2	50,0	4	80,0	13	68,4	-	0,0	-	0,0	2	50,0	-	0,0
Pontilhado grosso reticulado	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	50,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado, tipo pontos isolados	-	0,0	1	25,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Centromérico	3	50,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	16,7	-	0,0	-	0,0
Nucleolar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	5,3	-	0,0	-	0,0	2	50,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado fino	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	50,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado fino denso	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado reticulado	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado polar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	20,0
Citoplasmático fibrilar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Mistos	1	16,7	-	0,0	-	0,0	1	5,3	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Membrana nuclear	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	6	100,0	4	100,0	5	100,0	19	100,0	2	100,0	6	100,0	4	100,0	5	100,0

CREST = calcinose, Raynaud, esofagopatia, esclerodactilia, telangiectasia; DM = dermatomiosite; DITC = doença indiferenciada do tecido conjuntivo; DMTC = doença mista do tecido conjuntivo; Ea = espondiloartrite; ES = esclerose sistêmica; FM = fibromialgia.

Padrão	Hepatite															
	FR		AI		LED		LES		LES+ES		LES+SAAF		PM		PT	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Homogêneo	-	0,0	-	0,0	-	0,0	43	20,0	-	0,0	3	30,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado	-	0,0	-	0,0	-	0,0	4	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	25,0
Pontilhado fino	-	0,0	1	50,0	7	63,6	51	23,7	-	0,0	3	30,0	-	0,0	2	50,0
Pontilhado fino denso	-	0,0	-	0,0	-	0,0	23	10,7	1	100,0	-	0,0	2	50,0	-	0,0
Pontilhado grosso	1	100,0	1	50,0	4	36,4	70	32,6	-	0,0	4	40,0	1	25,0	-	0,0
Pontilhado grosso reticulado	-	0,0	-	0,0	-	0,0	2	0,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Pontilhado, tipo pontos isolados	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	0,5	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Centromérico	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	0,5	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Nucleolar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	4	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado fino	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	0,5	-	0,0	-	0,0	1	25,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado fino denso	-	0,0	-	0,0	-	0,0	4	1,9	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático pontilhado reticulado	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	0,5	-	0,0	-	0,0	-	0,0	1	25,0
Citoplasmático pontilhado polar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Citoplasmático fibrilar	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Mistos	-	0,0	-	0,0	-	0,0	10	4,7	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Membrana nuclear	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	1	100,0	2	100,0	11	100,0	215	100,0	1	100,0	10	100,0	4	100,0	4	100,0

FR = febre reumática; AI = autoimune; LED = lupus eritematoso discóide; LES = lupus eritematoso sistêmico; ES = esclerose sistêmica; SAAF = síndrome dos anticorpos antifosfolípides; PM = polimiosite; PT = púrpura trombocitopênica.

Padrão	SAAF		Síndrome reumatóide		Sjögren		Still		Tireoidite AI		OUTRAS CAUSAS		NÃO DEFINIDO		AHAI+Tireoidite AI	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Homogêneo	1	25,0	1	16,7	–	0,0	2	50,0	–	0,0	9	4,3	2	9,1	1	100,0
Pontilhado	–	0,0	–	0,0	–	0,0	1	25,0	1	25,0	3	1,4	–	0,0	–	0,0
Pontilhado fino	2	50,0	2	33,3	2	28,6	1	25,0	1	25,0	87	41,2	7	31,8	–	0,0
Pontilhado fino denso	–	0,0	1	16,7	–	0,0	–	0,0	–	0,0	20	9,5	2	9,1	–	0,0
Pontilhado grosso	1	25,0	2	33,3	4	57,1	–	0,0	2	50,0	50	23,7	7	31,8	–	0,0
Pontilhado grosso reticulado	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	6	2,8	–	0,0	–	0,0
Pontilhado, tipo pontos isolados	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	3	1,4	–	0,0	–	0,0
Centromérico	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	5	2,4	1	4,5	–	0,0
Nucleolar	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	9	4,3	1	4,5	–	0,0
Citoplasmático pontilhado fino	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	1	0,5	–	0,0	–	0,0
Citoplasmático pontilhado fino denso	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	3	1,4	1	4,5	–	0,0
Citoplasmático pontilhado reticulado	–	0,0	–	0,0	1	14,3	–	0,0	–	0,0	3	1,4	–	0,0	–	0,0
Citoplasmático pontilhado polar	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	1	0,5	–	0,0	–	0,0
Citoplasmático fibrilar	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	1	4,5	–	0,0
Mistos	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	10	4,7	–	0,0	–	0,0
Membrana nuclear	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	–	0,0	1	0,5	–	0,0	–	0,0
Total	4	100,0	6	100,0	7	100,0	4	100,0	4	100,0	211	100,0	22	100,0	1	100,0

SAAF = síndrome dos anticorpos antifosfolípidos; AI = autoimune; AHAI = anemia hemolítica autoimune.