

Fator antinuclear: do valor diagnóstico ao valor preditivo de doenças autoimunes

Os autoanticorpos representam marcadores sorológicos das doenças autoimunes e a sua detecção e quantificação tem se tornado um instrumento laboratorial de grande utilidade diagnóstica e para a condução de pacientes com doenças reumáticas. Considerando sua relevância clínica, alguns dos achados imunológicos laboratoriais foram incluídos nos critérios estabelecidos internacionalmente para a classificação diagnóstica de muitas das doenças autoimunes sistêmicas e órgão-específicas.

Desde a descrição do fenômeno das células LE por Har- graves em 1948 em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES)¹ associado à presença de autoanticorpos específicos para o complexo DNA/histona, houve uma marcante evolução das metodologias laboratoriais com aumento de sua sensibilidade e especificidade. De fato, desde a introdução da técnica de imunofluorescência indireta (IFI), empregando cortes de tecidos animais (*imprint* de fígado de camundongo) ou, posteriormente, de linhagens celulares humanas, o refinamento progressivo nas técnicas de purificação de autoantígenos tem permitido o estabelecimento de metodologias ainda mais sensíveis para o delineamento do perfil dos autoanticorpos e que incluem ELISA, *immunoblotting*, plataforma *multiplex*, além de proteômica.

No entanto, a experiência de diferentes centros laboratoriais tem mostrado que a IFI em células HEp-2 é o teste padrão-ouro na triagem de autoanticorpos ou fatores antinucleares (FAN) nas conectivopatias, exibindo sensibilidade aumentada em relação aos cortes teciduais.

A introdução de linhagens celulares tumorais humanas como as células HEp-2 de carcinoma de laringe em substituição ao tecido hepático de murinos possibilitou evidenciar um aumento no espectro de reatividade dos autoanticorpos nas conectivopatias. Além do já reconhecido 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 não presentes em tecidos de roedores (por exemplo, proteína

Ro/SS-A); 2. visualização de novos padrões morfológicos de imunofluorescência, tais como os citoplasmáticos (citoesqueleto, mitocondriais, ribossomais e aparelho de Golgi) e aqueles evidenciados somente nas células em divisão (centroméricos, 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.

A pluralidade de padrões de imunofluorescência com mais de 30 já descritos exigiu a necessidade de se estabelecer uma standardização na nomenclatura quando da emissão de laudos de FAN. Nesse sentido, em 2001 foi publicado o *I Consenso Nacional para a Padronização dos Laudos de FAN em Células HEp-2* que iniciou a uniformização da nomenclatura dos padrões de imunofluorescência até então divergente entre os diversos centros que realizam esse exame no Brasil. Além disso, esse primeiro Consenso introduziu critérios topográficos e morfológicos a serem devidamente observados quando da leitura do teste e delineou algoritmos de decisão para emissão do laudo dos padrões nucleares, nucleolares, citoplasmáticos e do aparelho mitótico. Além disso, estabeleceu a padronização metodológica, principalmente quanto às diluições de triagem do soro e de sua titulação final.² Já o *II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em Células HEp-2* ratificou os algoritmos de decisão para a leitura dos padrões de imunofluorescência nucleares, nucleolares, citoplasmáticos, aparelho mitótico e adicionou um novo relacionado à descrição de padrões mistos.³ Outra contribuição substancial do II Consenso foi na denominação dos laudos dos *padrões citoplasmáticos* que passaram a ser considerados como *FAN positivos*.

O aumento da sensibilidade e do repertório antigênico permitiu ampliar as potencialidades da IFI em células HEp-2 em patologias de outras especialidades médicas como a Gastroenterologia, Dermatologia, Neurologia e Hematologia. Nesse

sentido, o trabalho de Laurino *et al.*, publicado nesta edição da *Revista Brasileira de Reumatologia*, relata a experiência da aplicação desses dois consensos em um hospital universitário brasileiro na qual foram analisados 12.095 testes de FAN no período de quatro anos antes e após a implantação do I e II Consensos. Esse estudo evidenciou que houve uma maior frequência de resultados positivos após a implantação dos consensos provavelmente devido à introdução de novos padrões nos laudos descritivos do FAN, como o citoplasmático e aqueles evidenciados somente durante a divisão celular. Além disso, os dados ilustrados no trabalho revelaram um aumento das solicitações de FAN em outras especialidades clínicas tais como a Dermatologia, Gastroenterologia e Hematologia que podem ter sido contempladas com a adoção dos laudos de FAN mais abrangentes.

A motivação para a realização do 3º *Consenso Brasileiro para Pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2* foi discutir estratégias para uma melhor padronização da técnica de IFI, estabelecer critérios de controle de qualidade, além de adequar a terminologia de classificação dos padrões, bem como explorar e promover atualização de suas associações clínicas em constante progressão. O artigo de Dellavance *et al.*, publicado nesta edição da *Revista Brasileira de Reumatologia*, faz a divulgação ampla, completa e didática desse conhecimento

para a comunidade médica-científica brasileira que reflete a vigorosa atividade de pesquisa na área dos autoanticorpos.

Dentro desse louvável contexto de mobilização quanto a promover a otimização progressiva do ensaio do FAN, deve-se considerar a importância da reatividade detectada na população de indivíduos normais como controle. Nesse aspecto, embora o valor prático da presença de autorreatividade tenha sido compreendido em algumas situações clínicas, ele tem sido subestimado na população de indivíduos aparentemente saudáveis. No entanto, cada vez mais a literatura tem fornecido evidências da presença de autorreatividade precedendo em anos o surgimento de manifestações clínicas associadas às doenças autoimunes, atribuindo-se assim uma nova perspectiva do valor preditivo dos autoanticorpos.⁴⁻⁶

Vilma dos Santos Trindade Viana

Cleonice Bueno

Jozélio Freire de Carvalho

*Disciplina de Reumatologia da Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo*

REFERÊNCIAS

1. Hargraves M, Richmond M, Morton R. Presentation of two bone marrow elements: the "tart" cells or LE cells. *Mayo Clinic Proc* 1948;23:25-8.
2. Pfrimer IAH, Francescantonio PL, von Mühlhen CA. I Consenso Nacional para a Padronização dos Laudos de FAN em células HEp-2. *Rev Bras Reumatol* 2001;41(5):267-73.
3. Dellavance A, Gabriel Jr A, Cintra AFU, Ximenes AC, Nuccitelli B, Taliberti BH *et al.* II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em células Hep-2. *Rev Bras Reumatol* 2003;43(3):1291-40.
4. Leslie D, Lipsky P, Notkins AL. autoantibodies as predictors of disease. *J Clin Invest* 2001;108(10):1417-22.
5. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, *et al.* Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003; 349(16):1526-33.
6. Shephelovich D, Shoenfeld Y. Prediction and prevention of autoimmune diseases: additional aspects of the mosaic of autoimmunity. *Lupus* 2006;15(3):183-90.