

Avaliação clínico-laboratorial de pacientes com síndrome antifosfolípide primária segundo a frequência de anticorpos antinucleares (FAN Hep-2)

Jozélio Freire de Carvalho^{1,2}, Maria Teresa Correia Caleiro², Margarete Vendramini³, Eloísa Bonfá⁴

RESUMO

Objetivo: Avaliar a frequência de manifestações clínicas e laboratoriais em pacientes com síndrome antifosfolípide primária (SAFP) com anticorpos antinucleares positivos (FAN Hep-2+), comparados àqueles com esses anticorpos negativos (FAN Hep-2 -). **Pacientes e Métodos:** Estudo transversal em 58 pacientes (82,8% mulheres) com SAFP. Foram avaliados os dados demográficos, clínicos, comorbidades, medicações e anticorpos antifosfolípidos. **Resultados:** Dos 58 pacientes incluídos no estudo, vinte (34,5%) apresentaram presença de FAN Hep-2. Comparando-se o grupo de pacientes FAN Hep-2+ com aqueles FAN Hep-2 -, verificou-se que ambos os grupos de pacientes com SAFP não diferiram estatisticamente em relação aos dados demográficos, bem como em relação ao tempo de doença. Em relação às manifestações clínicas e laboratoriais, o grupo com FAN Hep-2 + apresentou maior frequência de trombose venosa profunda (85 *versus* 52,6%, $P = 0,04$), uma frequência estatística e significativamente maior de anticardiolipina IgG (85 *versus* 52,6%, $P = 0,02$) e uma tendência para anticardiolipina IgM (80% *versus* 52,6%, $P = 0,05$), bem como maiores medianas desses anticorpos [33 (0-128) *versus* 20 (0-120) GPL, $P = 0,008$] e [33 (0-120) *versus* 18,5 (0-120) MPL, $P = 0,009$]. Tal diferença não foi observada no que se refere a outras manifestações da SAF, presença de comorbidades, estilo de vida e uso de medicações. **Conclusão:** Pacientes com SAFP que apresentam FAN Hep-2+ têm maior frequência de trombose venosa profunda e anticardiolipinas IgG e IgM.

Palavras-chaves: síndrome antifosfolípide, síndrome antifosfolípide primária, anticorpos celulares em células Hep-2, autoanticorpos, anticardiolipina.

INTRODUÇÃO

A síndrome antifosfolípide (SAF) é uma doença autoimune adquirida caracterizada pela ocorrência de trombozes vasculares (arteriais e/ou venosas) que podem evoluir com eventos obstétricos em vigência da presença persistente de anticorpos antifosfolípidos (anticardiolipina, anti-beta-2-glicoproteína I, ou anticoagulante lúpico).¹

Os autoanticorpos contra antígenos presentes em células Hep-2 são praticamente universais no lúpus eritematoso sistêmico (LES). Seu encontro favorece a confirmação diagnóstica da

enfermidade, considerando-se que sua presença é observada em 95% dos pacientes. Contudo, os demais pacientes lúpicos, que integram o percentual restante de 5%, apesar de apresentarem resultado negativo para a pesquisa de anticorpos contra antígenos celulares em Hep-2 por imunofluorescência indireta (IFI), podem demonstrar resultados positivos para antígenos, como por exemplo o SS-A/Ro de 60 kDa, utilizando-se outras técnicas.²⁻⁶

O estudo desse teste de IFI auxilia na detecção de autoanticorpos que são altamente específicos do LES, como o anti-DNA nativo, o anti-P ribossomal e o anti-Sm.⁷⁻⁹ Adicionalmente,

Recebido em 18/01/2010. Aprovado, após revisão, em 28/04/2010. Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)

1. Professor Colaborador da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)

2. Médico-assistente Doutor do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da FMUSP

3. Bióloga da Disciplina de Reumatologia da FMUSP

4. Professora Titular da Disciplina de Reumatologia da FMUSP

Endereço para correspondência: Jozélio Freire de Carvalho. Disciplina de Reumatologia da FMUSP. Av. Dr. Arnaldo, 455, 3º andar, sala 3.190.

CEP: 01246-903. Cerqueira César, São Paulo, SP, Brasil. Tel/fax: 55 (11) 3061-7490. E-mail: jotafc@gmail.com

alguns desses anticorpos (anti-DNA nativo e anti-P ribossomal) podem ser marcadores de atividade de doença, alternando os títulos nos momentos de exacerbação e remissão clínica da enfermidade.^{7,9} Um estudo prévio comparou pacientes lúpicos com e sem anticorpos antinucleares quando testados por IFI em células Hep-2.¹⁰ Esses autores, avaliando 25 lúpicos sem FAN Hep-2 e 91 pacientes com presença desses anticorpos, demonstraram que o acometimento cutâneo foi infrequente no grupo sem FAN Hep-2 positivo. Além disso, a presença de plaquetopenia, trombozes arteriais e venosas, bem como acidente vascular cerebral, foi mais frequente no grupo sem a presença de FAN Hep-2. Esse trabalho demonstrou a existência de um espectro clínico e laboratorial distinto nos pacientes lúpicos com ou sem FAN positivo em Hep-2 e, principalmente, detectou maior frequência de manifestações que são bastante comuns na SAF.

Um trabalho recente demonstrou que pacientes com SAF primária (SAFP) e presença de anticorpo antinucleossomal podem evoluir para lúpus.¹¹ Todos esses dados suscitaram a realização do presente estudo, que tem como objetivo avaliar em uma população com SAF se a presença de autoanticorpos contra antígenos das células Hep-2 é capaz de discriminar um subgrupo de pacientes com manifestações clínicas ou laboratoriais distintas daqueles pacientes sem esses anticorpos.

PACIENTES E MÉTODOS

Neste estudo foram incluídos 58 pacientes de ambos os sexos, com idades entre 18 e 55 anos, com diagnóstico de SAFP segundo os critérios de Sapporo.¹² Os indivíduos incluídos no trabalho são provenientes do ambulatório de SAF do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e foram atendidos no período de fevereiro a maio de 2008. O estudo foi aprovado na Comissão de Ética do mesmo hospital, com processo nº 1109/08.

Para o desenvolvimento da presente pesquisa, foi realizada uma avaliação clínica complementada com os dados colhidos dos prontuários médicos. Os eventos clínicos arteriais e venosos foram todos confirmados por método de imagem, como ultrassonografia com Doppler, cintilografia pulmonar de ventilação-perfusão, tomografia computadorizada, ressonância nuclear magnética (RNM), arteriografia, angiogramografia e angio-RNM. A plaquetopenia foi definida como níveis de plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$ em pelo menos duas ocasiões consecutivas. Foram avaliadas também a presença de comorbidades, como hipertensão arterial sistêmica (PA $\geq 140 \times 90$ mmHg ou uso de medicação anti-hipertensiva), presença de dislipidemia e medicamentos em uso. Não foi realizada coleta de amostras

de sangue para realização de exames laboratoriais, uma vez que foram utilizadas aquelas previamente realizadas pela rotina de acompanhamento ambulatorial.

Foram excluídos do estudo pacientes com outras doenças que levam à SAF secundária, como o LES, a artrite reumatoide, a esclerose sistêmica, a síndrome de Sjögren, bem como aqueles que fizeram implante de silicone e/ou em uso de medicações que podem induzir a formação de autoanticorpos, como a hidralazina, fenitoína e outros. A idade foi limitada até os 55 anos, sabendo-se da maior prevalência de autoanticorpos em indivíduos mais velhos.¹³

Detecção de autoanticorpos

A pesquisa de anticorpos contra antígenos celulares foi realizada pela técnica de IFI tendo células Hep-2 como substrato.^{14,15} Foram considerados resultados positivos aqueles acima de 1:80. Todos os soros foram testados em metodologia padronizada no laboratório onde este estudo foi realizado e os resultados foram confirmados também em kit comercial (Euroimmun, Lubeck, Alemanha).

Anticorpos anti-DNA nativo foram pesquisados também por IFI no hemoflagelado *Crithidia luciliae*¹⁶ e foram considerados resultados positivos aqueles $\geq 1:10$. Os anticorpos dirigidos contra antígenos nucleares extraíveis (anti-ENA), especificamente o anti-U1RNP e anti-Sm, foram detectados por imuno-hemaglutinação, utilizando como fonte de antigênica extrato de timo de coelho (Sigma Chem Co., St. Louis, EUA). Os anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B foram detectados por contraímunoeletroforese em gel de agarose a 1,0% em tampão barbital, pH 8,2, e o antígeno utilizado para esta técnica foi extrato de baço de cão.^{17,18} Os resultados positivos foram aqueles que não apresentaram aglutinação das hemácias visíveis a olho nu para anti-ENA e linha de identidade na precipitação para anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B. Para caracterizar os anticorpos precipitantes, foram utilizados soros referência com especificidades antigênicas conhecidas.

Detecção dos anticorpos antifosfolípides

Os anticorpos anticardiolipina (aCL) foram detectados por ELISA.¹⁹ Resumidamente, orifícios de placas de poliestireno foram sensibilizados com a cardiolipina (Sigma Chem. Co., EUA) na concentração de 50 ug/mL em etanol gelado (50 uL/orifício) por 16 horas a 4° C. Após lavagem, a placa foi bloqueada por 2 horas com soro fetal bovino inativado (56° C por 30 minutos) a 30% em PBS. Os orifícios foram sequencialmente incubados, em duplicata, com os soros diluídos 1:50 e IgG de cabra anti-IgG ou anti-IgM humanas, marcadas com peroxidase (Sigma Chem.

Co., EUA). Os resultados foram expressos em unidades GPL e MPL, determinadas por meio de curva construída a partir dos valores de densidade óptica obtidos de amostras de soros referência definidos internacionalmente. Para o diagnóstico da síndrome, os valores acima de 20 U foram considerados positivos segundo os critérios de Sapporo.¹²

O anticoagulante lúpico (LAC) foi realizado por meio de testes hematológicos funcionais inicialmente pelo teste de rastreamento com o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e, em seguida, o teste do veneno da víbora de Russel (dRVVT), nos casos em que o TTPa foi negativo. Em caso de uma razão entre o TTPa do paciente e do controle normal, maior que 1,2, foi realizada a prova de mistura de 50% de plasma normal com 50% do plasma-teste. Caso houvesse correção do TTPa ou dRVVT, era diagnosticada deficiência de fator de coagulação. Caso contrário, se não houvesse correção e essa fosse obtida com a mistura com plasma rico em fosfolípidos (plaquetas), era diagnosticado o LAC. Esse teste foi realizado tendo-se o cuidado de verificar se o INR do tempo de protrombina era menor que 3,5; caso fosse maior que esse valor, uma pré-mistura com plasma normal era realizada antes de se proceder ao TTPa.

Análise estatística

Os resultados foram apresentados em médias e desvios-padrão. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad InStat versão 2.00 e utilizados os testes *t* de Student para comparação das médias e Mann-Whitney para comparação das medianas e teste exato de Fisher para as frequências. Os resultados foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

RESULTADOS

A média de idade de todos os 58 pacientes com SAF na época da avaliação era de $39,0 \pm 10,0$ anos, sendo 48 (82,8%) mulheres e 79,3% da cor branca. O tempo médio de duração da doença foi de $71,8 \pm 58,5$ meses. Em relação aos eventos vasculares, 53,4% dos pacientes tiveram trombozes arteriais; 51,7%, trombozes venosas; e 31% apresentaram eventos obstétricos.

Vinte (34,5%) dos 58 pacientes apresentaram FAN Hep-2 positivo. O padrão predominante foi o nuclear homogêneo ($n = 9$), seguido pelo nuclear pontilhado ($n = 7$) e, por último, o padrão misto do tipo nuclear homogêneo e nuclear pontilhado ($n = 4$). A maioria deles apresentou títulos $\geq 1/320$ ($n = 10$), seguidos por valores iguais a 1/160 ($n = 7$) e iguais a 1:80 ($n = 3$) (Tabela 1).

A caracterização da especificidade dos padrões demonstrou que seis (30%) dos vinte pacientes com FAN Hep-2 positivo apresentaram anticorpos específicos. Um deles apresentou anti-DNA nativo, entretanto em um título baixo (1:20), e a análise de outras amostras de soro do mesmo paciente não detectaram esse anticorpo. Dois pacientes apresentaram anticorpo anti-ENA, sendo que um deles tinha anti-Sm positivo e o outro anti-U1RNP. Dois pacientes tiveram anti-Ro/SS-A positivo. As pesquisas de olhos e boca seca nesses dois indivíduos resultaram negativas. Um último paciente apresentou positividade em título baixo de fator reumatoide ao látex; entretanto, esse anticorpo foi negativo ao teste de Waaler-Rose. Anticorpos anti-P e anti-La/SS-B não foram encontrados (Tabela 1). Atual-

Tabela 1

Vinte pacientes com síndrome antifosfolípide primária com FAN Hep-2 positivo, títulos desses anticorpos e correspondentes autoanticorpos específicos

Paciente	Padrão do FAN Hep-2 positivo	Título do FAN Hep-2 positivo	Autoanticorpos específicos
1	Nuclear homogêneo	1/160	-
2	Nuclear homogêneo	1/160	Anti-Ro/SS-A
3	Misto do tipo nuclear homogêneo + nuclear pontilhado	$> 1/320$	-
4	Nuclear homogêneo	$> 1/320$	-
5	Nuclear homogêneo	$> 1/320$	-
6	Nuclear homogêneo	$> 1/320$	Anti-U1RNP
7	Misto do tipo nuclear homogêneo + nuclear pontilhado	$> 1/320$	-
8	Nuclear homogêneo	$> 1/320$	-
9	Nuclear homogêneo	1/160	-
10	Misto do tipo nuclear homogêneo + nuclear pontilhado	1/160	Anti-Sm
11	Nuclear pontilhado	1/80	-
12	Nuclear pontilhado	1/160	-
13	Nuclear pontilhado	1/160	-
14	Nuclear pontilhado	1/80	Fator reumatoide (látex) positivo, com Waaler-Rose negativo
15	Nuclear homogêneo	$> 1/320$	-
16	Nuclear pontilhado	$\geq 1/320$	-
17	Nuclear pontilhado	1/80	-
18	Nuclear homogêneo	$> 1/320$	Anti-DNA nativo 1/20
19	Misto do tipo nuclear homogêneo + nuclear pontilhado	$> 1/320$	Anti-Ro/SS-A
20	Nuclear pontilhado	1/160	-

mente, cerca de dois anos, todos os pacientes com anticorpos positivos encontram-se assintomáticos e sem evidência de LES ou outra doença do tecido conjuntivo. Ao compararmos os pacientes com FAN Hep-2 positivo com aqueles negativos, não se observaram diferenças significativas em relação à idade ($37,1 \pm 9,5$ versus $40,0 \pm 10,9$ anos, $P = 0,30$), bem como às frequências do gênero feminino (95 versus $78,9\%$, $P = 0,14$), à cor branca (85 versus $78,9\%$, $P = 0,73$), às médias de peso ($68,3 \pm 16,8$ versus $77,0 \pm 20,5$ kg, $P = 0,10$), à altura ($158,7 \pm 8,8$ versus $162,3 \pm 7,6$ cm, $P = 0,11$) e ao índice de massa corporal ($26,8 \pm 5,7$ versus $29,2 \pm 7,3$ kg/m², $P = 0,19$). O tempo de duração de doença ($77,7 \pm 52,5$ versus $68,4 \pm 61,3$ meses, $P = 0,28$) foi similar em ambos os grupos (Tabela 2).

Em relação às manifestações clínicas da doença, o grupo com FAN Hep-2 positivo apresentou maior frequência de trombose venosa profunda (85 versus $57,9\%$, $P = 0,04$) que o grupo negativo. Ambos os grupos de pacientes foram similares em relação às outras manifestações clínicas e comorbidades relacionadas doença, como eventos arteriais, venosos e obstétricos, tromboembolismo pulmonar, plaquetopenia, acidente vascular cerebral, síndrome de Sneddon, isquemia de extremidades, infarto agudo do miocárdio, angina, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e osteonecrose. Da mesma forma, o estilo de vida, a frequência de prática de atividade física e tabagismo progressivo e atual também não diferiram em ambos os grupos (Tabela 3).

Os dois grupos de pacientes foram também similares em relação ao uso das seguintes medicações: corticoides (uso atual e progressivo), cloroquina, warfarina, estatinas e ácido

Tabela 2

Comparação entre os dados demográficos, antropométricos e duração de doença nos pacientes com síndrome antifosfolípide primária (SAFP) com FAN Hep-2 positivo e FAN Hep-2 negativo

Dados	SAFP FAN Hep-2 + n = 20	SAFP FAN Hep-2 - n = 38	P
Idade (anos)	$37,1 \pm 9,5$	$40,0 \pm 10,9$	0,30
Gênero feminino, n(%)	19 (95)	29 (76,3)	0,14
Cor branca, n(%)	17 (85)	29 (76,3)	0,73
Peso (kg)	$68,3 \pm 16,8$	$77,0 \pm 20,5$	0,10
Altura (cm)	$158,7 \pm 8,8$	$162,3 \pm 7,6$	0,11
Índice de massa corporal (kg/m ²)	$26,8 \pm 5,7$	$29,2 \pm 7,3$	0,19
Duração da doença (meses)	$77,7 \pm 52,5$	$68,4 \pm 61,3$	0,28

Os dados são apresentados em médias \pm desvios-padrão ou porcentagem.

acetilsalicílico. O uso de corticoide em pacientes com SAFP se deveu a manifestações de plaquetopenia, e, em dois deles, por mielite transversa (Tabela 4).

As medianas de anticorpos aCL IgG [33 (0-128) versus 20 (0-120) GPL, $P = 0,008$] e IgM [33 (0-120) versus 18,5 (0-120) MPL, $P = 0,009$] foram significativamente mais elevadas nos pacientes com FAN Hep-2 positivo do que nos indivíduos negativos. Os valores de aCL não apresentaram distribuição gaussiana, sendo utilizado Mann-Whitney. Da mesma forma, maior frequência de aCL IgG (85 versus $52,6\%$, $P = 0,02$) e uma tendência para anticardiolipina IgM (80% versus $68,4\%$, $P = 0,05$) foram observadas nos pacientes FAN Hep-2 positivo

Tabela 3

Comparação entre os dados clínicos, eventos cardiovasculares, comorbidades e estilo de vida dos pacientes com síndrome antifosfolípide primária (SAFP) FAN Hep-2 positivo e FAN Hep-2 negativo

Dados	SAFP FAN Hep-2 + n = 20	SAFP FAN Hep-2 - n = 38	P
Evento arterial, n(%)	9 (45)	23 (60,5)	0,28
Evento venoso, n(%)	11 (55)	19 (50)	0,79
Evento obstétrico, n(%)	4 (20)	14 (36,8)	0,24
Acidente vascular cerebral, n(%)	6 (30)	17 (44,7)	0,40
Síndrome de Sneddon, n(%)	3 (15)	4 (10,5)	0,68
Isquemia de extremidades, n(%)	2 (10)	6 (15,8)	0,70
Infarto agudo do miocárdio, n(%)	0	3 (7,9)	0,54
Angina, n(%)	0	3 (7,9)	0,54
Trombose venosa profunda, n(%)	17 (85)	22 (57,9)	0,04
Tromboembolismo pulmonar, n(%)	5 (25)	9 (23,7)	1,00
Plaquetopenia, n(%)	4 (20)	3 (7,9)	0,22
Osteonecrose, n(%)	1 (5)	2 (5,3)	1,00
Hipertensão arterial sistêmica, n(%)	6 (30)	17 (44,7)	0,40
Dislipidemia, n(%)	4 (20)	11 (28,9)	0,54
Atividade física, n(%)	4 (20)	12 (31,6)	0,54
Tabagismo atual, n(%)	4 (20)	2 (5,3)	0,17
Tabagismo progressivo, n(%)	6 (30)	16 (42,1)	0,41

Tabela 4

Comparação entre as frequências de medicações dos pacientes com síndrome antifosfolípide primária (SAFP) com FAN Hep-2 positivo e FAN Hep-2 negativo

Dados	SAFP FAN Hep-2 + n = 20	SAFP FAN Hep-2 - n = 38	P
Uso atual de corticoide, n(%)	3 (15)	2 (5,3)	0,73
Uso prévio de corticoide, n(%)	9 (23,7)	14 (36,8)	0,58
Uso de warfarina, n(%)	16 (42,1)	30 (78,9)	1,00
Uso de cloroquina, n(%)	6 (30)	6 (15,8)	0,31
Uso de estatina, n(%)	5 (13,2)	10 (26,3)	1,00
Uso atual de ácido acetilsalicílico, n(%)	4 (10,5)	13 (34,2)	0,37

do que no grupo negativo, respectivamente. A presença do anticoagulante lúpico foi comparável nos dois grupos (Tabela 5).

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou um padrão distinto de manifestações clínicas e laboratoriais em pacientes com SAF que apresentam FAN Hep-2 positivo, comparado àqueles sem esses autoanticorpos.

Diversas condições clínicas podem apresentar presença de FAN Hep-2, sendo principalmente representadas pelas doenças difusas do tecido conjuntivo e pessoas que fizeram implante de silicone. Assim, esses indivíduos foram excluídos do presente trabalho para garantir a relevância clínica dos resultados.²⁰⁻²⁴ Da mesma forma, a literatura apresenta trabalhos que demonstram a associação da presença dos anticorpos antinucleares com o aumento da idade do indivíduo, incluindo pessoas saudáveis.¹³ Dessa maneira, neste estudo foram incluídos pacientes com idade limite até os 55 anos.

Não existem estudos com desenho semelhante ao do presente trabalho. Há trabalhos demonstrando que a presença do FAN em SAF pode estar associada ao desenvolvimento posterior de LES, como observado no estudo de Blanco *et al.*²⁵ Na mesma linha de raciocínio, Carbone *et al.* demonstraram que a presença do FAN em 33 mulheres com SAF representou um maior risco de evolução da SAF para o LES em seis pacientes.²⁶

A associação aqui encontrada entre FAN Hep-2 positivo e maior frequência de anticorpos aCL pode sugerir uma ati-

Tabela 5

Comparação entre as frequências de anticorpos antifosfolípides dos pacientes com síndrome antifosfolípide primária (SAFP) com FAN Hep-2 positivo e FAN Hep-2 negativo

Dados	SAFP FAN Hep-2 + n = 20	SAFP FAN Hep-2 - n = 38	P
Anticoagulante lúpico, n(%)	19 (95)	31 (81,2)	0,24
aCL IgG, GPL*	33 (0-128)	20 (0-120)	0,008
aCL IgM, MPL*	33 (0-120)	18,5 (0-120)	0,009
Positividade de aCL IgG, n(%)	17 (85)	20 (52,6)	0,02
Positividade de aCL IgM, n(%)	16 (80)	20 (52,6)	0,05
Positividade de aCL IgG ou IgM	17 (85)	26 (68,4)	0,22

Os dados são apresentados em médias \pm desvios-padrão, mediana* ou porcentagem. aCL = anticardiolipina.

vação policlonal de linfócitos em SAF. Essa ativação já foi previamente demonstrada pela presença de, pelo menos, trinta diferentes autoanticorpos relacionados com a SAF.²⁷

A maior frequência de trombose venosa profunda em indivíduos com FAN Hep-2 positivo já tinha sido anteriormente demonstrada em pacientes com LES,^{28,29} entretanto, não havia estudos demonstrando esses achados em pacientes com SAF. É sabido que indivíduos com LES apresentam maior risco de desenvolver episódios tromboembólicos e esse risco é maior quando da presença de anticorpos antifosfolípides.²⁸⁻³⁰ E, ainda, parecem existir *clusters* de autoanticorpos: por exemplo, a combinação de aCL, anti-DNA nativo e LAC parece discriminar uma população de pacientes com LES com maior risco de eventos tromboembólicos.²⁸⁻³⁰

O presente trabalho demonstrou que cerca de 1/3 dos pacientes com SAF podem apresentar FAN Hep-2 positivo, sendo que a maioria desses indivíduos apresentava um título maior que 1/320. O encontro de seis pacientes com anticorpos específicos, à exceção do fator reumatoide, em baixo título e não confirmado em teste mais específico, traz a possibilidade de que tais indivíduos talvez possam evoluir para outras doenças do tecido conjuntivo. O trabalho de Arbuckle *et al.* demonstrou a presença de anticorpos específicos nos soro de indivíduos normais que, após cerca de cinco anos, evoluíram para LES.³¹

Assim, o presente estudo demonstrou, pela primeira vez, que pacientes com SAF com FAN Hep-2 positivo apresentam maior frequência de trombose venosa profunda e de anticorpos aCL, bem como maiores títulos desses anticorpos.

REFERÊNCIAS

REFERENCES

1. Hughes GR. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983; 287:1088-9.
2. Gardner GC, Kadel NJ. Ordering and interpreting rheumatologic laboratory tests. *J Am Acad Orthop Surg* 2003; 11:60-7.
3. Slater CA, Davis RB, Shmerling RH. Antinuclear antibody testing. A study of clinical utility. *Arch Intern Med* 1996; 156:1421-5.
4. Paprotnik S, Bozic B, Kveder T, Rozman B. Fluctuation of anti-Ro/SS-A antibody levels in patients with systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome: A prospective study. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17:63-8.
5. Charles PJ, Van Venrooij WJ, Maini RN. The consensus workshops for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases: 1989-1992. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10:507-11. Kurien BT, Scofield RH. Autoantibody Determination in the Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus. *Scandinavian J Immunology* 2006; 64:227-35.
6. Kurien BT, Scofield RH. Autoantibody Determination in the Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2006; 64:227-35.
7. Riboldi P, Gerosa M, Moroni G, Radice A, Allegri F, Sinico A *et al.* Anti-DNA antibodies: a diagnostic and prognostic tool for systemic lupus erythematosus? *Autoimmunity* 2005; 38:39-45.
8. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, Brot N *et al.* Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med* 1987; 317:265-71.
9. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity* 2005; 38:47-54.

10. Meyer O, Piette JC, Bourgeois P, Fallas P, Bletry O, Jungers P *et al.* Antiphospholipid antibodies: a disease marker in 25 patients with antinuclear antibody negative systemic lupus erythematosus (SLE). Comparison with a group of 91 patients with antinuclear antibody positive SLE. *J Rheumatology* 1987; 14:502-6.
11. Andreoli L, Pregnotato F, Burlingame RW, Allegrì F, Rizzini S, Fanelli V *et al.* Antinucleosome antibodies in primary antiphospholipid syndrome: a hint at systemic autoimmunity? *J Autoimmun* 2008; 30:51-7.
12. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC *et al.* International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1309-11.
13. Willkens RF, Whitaker RR, Anderson RV, Berven D. Significance of antinuclear factors in older persons. *Ann Rheum Dis* 1967; 26:306-10.
14. Dellavance A, Gabriel Jr A, Nuccitelli B, Taliberti BH, Von Mühlen CA. Pesquisa de autoanticorpos em células Hep-2. Goiânia: Editora UCG, 2008.
15. 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. Definições para a padronização da pesquisa de autoanticorpos contra constituintes do núcleo (FAN Hep-2), nucléolo, citoplasma e aparelho mitótico e suas associações clínicas. *Rev Bras Reumatol* 2003; 43:129-40.
16. Aarden LA, de Groot ER, Feltkamp TE. Immunology of DNA. III. Crithidia luciliae, a simple substrate for the determination of anti-DNA with the immunofluorescence technique. *Ann N Y Acad Sci* 1975; 254:505-15.
17. Kurata N, Tan EM. Identification of antibody to nuclear acidic antigens by counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum* 1976; 19:574-80.
18. Elkon KB, Culhane L. Partial immunochemical characterization of the Ro and La proteins using antibodies from patients with the sicca syndrome and lupus erythematosus. *J Immunol* 1984; 132:2350-6.
19. Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GRV. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:1-6.
20. Neri R, Tavoni A, Cristofani R, Levanti C, Sodini G, d'Ascanio A *et al.* Antinuclear antibody profile in Italian patients with connective tissue diseases. *Lupus* 1992; 1:221-7.
21. Harmon CE. Antinuclear antibodies in autoimmune disease. Significance and pathogenicity. *Med Clin North Am* 1985; 69:547-63.
22. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther* 2003; 5:80-93.
23. Spencer-Green G, Alter D, Welch HG. Test performance in systemic sclerosis: anti-centromere and anti-Scl-70 antibodies. *Am J Med* 1997; 103:242-8.
24. Bridges AJ. Autoantibodies in patients with silicone implants. *Semin Arthritis Rheum* 1994; 24:54-60.
25. Blanco Y, Ramos-Casals M, García-Carrasco M, Cervera R, Font J, Ingelmo M. Primary antiphospholipid syndrome evolving into systemic lupus erythematosus: a report of 3 new cases and a review of the literature. *Rev Clin Esp* 1999; 199:586-8.
26. Carbone J, Orera M, Rodríguez-Mahou M, Rodríguez-Pérez C, Sánchez-Ramón S, Seoane E *et al.* Immunological abnormalities in primary APS evolving into SLE: 6 years follow-up in women with repeated pregnancy loss. *Lupus* 1999; 8:274-8.
27. Shoenfeld Y, Twig G, Katz U, Sherer Y. Autoantibody explosion in antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun* 2008; 30:74-83.
28. To CH, Petri M. Is antibody clustering predictive of clinical subsets and damage in systemic lupus erythematosus? *Arthritis Rheum* 2005; 52:4003-10.
29. Mok CC, Tang SS, To CH, Petri M. Incidence and risk factors of thromboembolism in systemic lupus erythematosus: a comparison of three ethnic groups. *Arthritis Rheum* 2005; 52:2774-82.
30. Somers E, Magder LS, Petri M. Antiphospholipid antibodies and incidence of venous thrombosis in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002; 29:2531-6.
31. 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; 349:1526-33.