

Autoanticorpos na artrite reumatoide inicial – coorte Brasília – resultados de uma análise seriada de três anos

Licia Maria Henrique da Mota¹, Leopoldo Luiz dos Santos Neto², Ivânio Alves Pereira³, Rufus Burlingame⁴, Henri A. Ménard⁵, Ieda Maria Magalhães Laurindo⁶

RESUMO

O valor diagnóstico e prognóstico da análise seriada dos anticorpos como fator reumatoide (FR), anticorpos anti-peptídeos citrulinados cíclicos (anti-CCP) e antivimentina citrulinada (anti-Sa) não está definido nos pacientes com artrite reumatoide inicial (ERA). **Objetivos:** Avaliar de forma prospectiva a presença de FR, anti-CCP e anti-Sa em pacientes com ERA. **Pacientes e métodos:** Quarenta pacientes da coorte Brasília de ERA (menos de 12 meses) foram avaliados e monitorados durante três anos. Os dados clínicos e demográficos foram registrados, além dos resultados (ELISA) para FR (IgM, IgG e IgA), anti-CCP (CCP2, CCP3 e CCP3.1) e anti-Sa na avaliação inicial e aos 3, 6, 12, 18, 24 e 36 meses de acompanhamento. Comparações pelos testes *t* de Student e *t* pareado. **Resultados:** A idade média foi de 45 anos, 90% dos pacientes do gênero feminino. No momento do diagnóstico, FR foi observado em 50% dos casos (FR IgA 42%, FR IgG 30% e FR IgM 50%), anti-CCP em 52,5% (não houve diferença entre CCP2, CCP3 e CCP3.1) e anti-Sa em 10%. Após três anos, não houve diferença na prevalência de FR e anti-CCP, mas a de anti-Sa aumentou para 17,5% ($P = 0,001$). **Conclusão:** A análise repetida do FR e anti-CCP, incluindo aqui diferentes isotipos, durante três anos de acompanhamento, não mostrou mudanças significativas. A terceira geração do anti-CCP não aumentou o valor diagnóstico dos testes de segunda geração.

Palavras-chave: artrite reumatoide, fator reumatoide, citrulina, vimentina.

© 2011 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) permanece, ainda hoje, como uma doença crônica, com potencial de danos ósseo e cartilaginoso irreversíveis, acarretando altos custos para o indivíduo acometido e para a sociedade.

A generalização do conceito de “AR inicial ou precoce” (ERA) e da existência de uma “janela de oportunidade terapêutica” – período no qual a instituição de terapia adequada para a doença determinaria melhor evolução clínica – firmou a noção

de que diagnóstico e tratamento precoces podem modificar o curso da doença.¹

Até o momento, os estudos não definiram o valor da análise seriada dos marcadores sorológicos como o fator reumatoide (FR), anticorpos anti-peptídeos citrulinados cíclicos (anti-CCP) e antivimentina citrulinada (anti-Sa) na avaliação seriada de pacientes com diagnóstico de ERA. Estabelecer o comportamento dos marcadores sorológicos ao longo do tempo, individualmente e em conjunto, é de grande importância, pois poderia validar ou não a necessidade da

Recebido em 21/01/2011. Aprovado, após revisão, em 30/08/2011. O autor RB trabalha para a INOVA Diagnostics, Inc., onde foram realizados os testes sorológicos. RB não teve acesso aos dados clínicos dos pacientes previamente aos resultados dos exames. Os demais autores declaram a inexistência de conflito de interesses. Comitê de Ética: CEP-FM 028/2007.

Serviço de Reumatologia, Hospital Universitário de Brasília, Universidade de Brasília – HUB-UnB.

1. Professora-Colaboradora de Clínica Médica e do Serviço de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (FMUnB); Doutora em Ciências Médicas pela FMUnB

2. Doutor em Patologia Clínica pela UnB; Professor-Associado de Clínica Médica e do Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário de Brasília – HUB-UnB

3. Doutor em Reumatologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP; Professor da disciplina de Reumatologia da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

4. MD, PhD; Sênior da INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, Califórnia, EUA

5. MD, PhD; Diretor da Divisão de Reumatologia, McGill University, Montreal, Quebec, Canadá

6. MD, PhD; Professora-Colaboradora do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HC/FMUSP

Correspondência para: Licia Maria Henrique da Mota. Centro Médico de Brasília. SHLS 716/916 – bloco E, salas 501-502 – Asa Sul. CEP: 71660-020. Brasília, DF, Brasil. E-mail: liciamhota@yahoo.com.br

dosagem rotineira (e repetida durante o acompanhamento) desses marcadores.

O objetivo deste trabalho foi avaliar prospectivamente o comportamento dos marcadores sorológicos FR, anti-CCP e anti-Sa durante o acompanhamento prospectivo por três anos de uma coorte de pacientes com ERA (menos de 12 meses de sintomas), a coorte Brasília.

PACIENTES E MÉTODOS

Os dados apresentados fazem parte da coorte Brasília, um estudo prospectivo de coorte incidente em que foram avaliados 40 pacientes consecutivos com o diagnóstico de ERA, acompanhados de forma regular por 36 meses a partir do diagnóstico, realizado na Clínica de Artrite Reumatoide Inicial do Hospital Universitário de Brasília – Brasília, DF, Brasil.

Definiu-se AR inicial como a ocorrência de sintomas articulares compatíveis com a doença (dor e edema articulares de padrão inflamatório, acompanhados ou não de rigidez matinal ou de outras manifestações sugestivas de doença articular inflamatória, segundo avaliação por um observador único), com duração superior a seis semanas e inferior a 12 meses, independente do preenchimento dos critérios classificatórios do *American College of Rheumatology* (ACR)² – embora, como será apresentado nos resultados, todos os pacientes tenham preenchido os critérios classificatórios do ACR.

A titulação dos marcadores sorológicos foi realizada na avaliação inicial e seriadamente ao longo de 36 meses (avaliações aos 3, 6, 12, 18, 24 e 36 meses).

A pesquisa de FR (IgG, IgM e IgA) foi realizada utilizando os ensaios Quanta Lite™ FR IgA ELISA, Quanta Lite™ FR IgG ELISA e Quanta Lite™ FR IgM ELISA (INOVA Diagnostics, CA, EUA), de acordo com o protocolo do fabricante. Foram considerados pontos de corte de positividade valores superiores a 15 UI/mL (FR IgM e IgA) e 20 UI/mL (FR IgG).

Anti-CCP foi pesquisado utilizando os ensaios Quanta Lite™ CCP IgG ELISA, Quanta Lite™ CCP3 IgG ELISA e Quanta Lite™ CCP3.1 IgG/IgA ELISA (INOVA Diagnostics, CA, EUA), de acordo com o protocolo do fabricante. O soro de cada paciente foi diluído inicialmente a 1:100 em amostra de diluente. Se o resultado de uma amostra fosse superior a 2,5 densidade óptica (OD, do inglês, *optical density*), ela era retestada com diluições de 1:500 e 1:2.500, e a unidade de valor resultante era multiplicada pelo fator de diluição. Os resultados foram expressos em unidades (U), e foram negativos quando < 20 U, positivos fracos de 20–39 U, positivos moderados de 40–59 U e positivos fortes quando ≥ 60 U, para todos os ensaios.

O ensaio para detecção de anti-Sa foi realizado nas placas originais desenvolvidas pelo McGill University Autoimmune Research Laboratory – ensaio proteína mielina básica (MBP) bovina ELISA.³ Os resultados, calculados e liberados em unidades, foram negativos quando < 20 U, duvidosos de 21–79 U e positivos quando ≥ 80 U.

Durante todo o acompanhamento os pacientes receberam o esquema padrão de tratamento utilizado no serviço, incluindo drogas modificadoras do curso da doença (DMCD) tradicionais e/ou terapia modificadora da resposta biológica, de acordo com a necessidade, mas sempre conforme uma sequência padronizada.

Para a detecção de diferenças entre duas médias, utilizou-se o teste *t* de Student ou o teste *t* pareado para as amostras de distribuição normal, considerando-se os valores de média e desvio-padrão. Para as variáveis não paramétricas, aplicou-se o teste de Wilcoxon ou o de Mann-Whitney, levando-se em conta o valor de mediana e a amplitude interquartil. Considerou-se o nível de significância de 5%.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

RESULTADOS

Características da população estudada

As características demográficas e clínicas da coorte Brasília foram publicadas anteriormente.⁴

Nesse subgrupo de 40 pacientes acompanhados na coorte Brasília com o diagnóstico de ERA predominaram o gênero feminino (36 pacientes, 90%), o grupo étnico branco (14 pacientes, 35%), e a idade média foi de 45,3 anos (21–71). O período médio de duração dos sintomas articulares no momento do diagnóstico foi de 27 semanas ($\pm 15,6$), e 13 pacientes (32,5%) tinham menos de 12 semanas de sintomas ao diagnóstico. A maioria dos pacientes (34, representando 85%) não havia recebido tratamento prévio para AR até o momento da avaliação inicial. Todos os pacientes preencheram os critérios classificatórios do *American College of Rheumatology* na avaliação inicial. As características gerais estão resumidas na Tabela 1.

Os pacientes da coorte Brasília foram acompanhados em um hospital público, com todas as medicações oferecidas gratuitamente. Não houve perda de seguimento de nenhum paciente nos três anos de duração do estudo.

Autoanticorpos

As características laboratoriais basais da coorte Brasília foram publicadas anteriormente.⁵ As Tabelas 2 e 3 resumem a frequência dos autoanticorpos testados no período basal e ao longo de três anos de acompanhamento da coorte.

Tabela 1

Características gerais na avaliação basal dos pacientes com ERA (n = 40)

Característica	n
Idade (anos)	45,37 (± 12,01)
Gênero	
Masculino	4 (10%)
Feminino	36 (90%)
Grupo étnico	
Branco	14 (35%)
Branco/negro	13 (32,5%)
Branco/indígena	11 (27,5%)
Negro	1 (2,5%)
Negro/indígena	1 (2,5%)
Escolaridade (anos)	7,65 (± 5,02)
Duração da doença (semanas)	27 (± 15,6)
Tabagismo atual ou prévio	5 (12,5%)
DAS 28	6,86 (± 1,07)
HAQ	1,89 (± 0,78)
Erosão radiográfica	21 (52,5%)

DAS 28: 28 Joint Disease Activity Score; HAQ: Health Assessment Questionnaire.

Tabela 2

Características sorológicas basais dos pacientes com ERA (n = 40)

Sorologia	n (%) / título (UI/dL) média (± DP)
FR (qualquer isotipo)	21 (52,5%)
FR IgM	20 (50%)/95 (± 73,2)
FR IgG	12 (30%)/69,1 (± 41,1)
FR IgA	17 (42,5%)/70 (± 54,8)
FR IgM+ IgG+ IgA+	10 (25%)
FR IgA+ IgM+ IgG-	6 (15%)
FR IgM+ IgG- IgA-	3 (7,5%)
FR IgA+ IgM- IgG-	2 (5%)
Anti-CCP (qualquer técnica)	21 (52,5%)
CCP2	19 (47,5%)/533 (± 1.014,7)
CCP3	21 (52,5%)/1.065 (± 1.769,7)
CCP3.1	21 (52,5%)/1.209 (± 1.991,3)
Anti-Sa	4 (10%)/209,16 (± 206,54)

Tabela 3

Análise seriada dos títulos de FR, anti-CCP e anti-Sa no período basal e ao longo de três anos de seguimento

	FR IgM	FR IgG	FR IgA	CCP2	CCP3	CCP3.1	Anti-Sa
Basal	20 (50%)/96	12 (30%)/69,1	17 (42,5%)/70	19 (47,5%)/533	21 (52,5%)/1065	21 (52,5%)/1209	4 (10%)/209,16
3 m	19 (45%)/94,6	9 (22,5%)/62,4	17 (42,5%)/66,5	19 (45%)/567,68	21 (52,5%)/1093,33	21 (52,5%)/1153,47	3 (7,5%)/319
6 m	17 (42,5%)/98,9	8 (20%)/66,25	16 (40%)/73,56	20 (50%)/637,9	21 (52,5%)/1233	22 (55%)/1308,31	5 (12,5%)/197,4
12 m	18 (45%)/104,5	9 (22,5%)/72,44	15 (37,5%)/65,26	18 (45%)/721,5	20 (50%)/1393,75	21 (52,5%)/1436,9	6 (15%)/242,8
18 m	17 (42,5%)/101,94	9 (22,5%)/63,44	15 (37,5%)/100	15 (37,5%)/559,73	20 (50%)/1029,4	20 (50%)/1109,8	4 (10%)/358,5
24 m	17 (42,5%)/120,9	13 (32,5%)/60,53	17 (42,5%)/86,05	16 (40%)/649,25	19 (47,5%)/1165,73	18 (45%)/1593,9	4 (10%)/359
36 m	17 (42,5%)/114,29	12 (30%)/62,91	15 (37,5%)/108,86	18 (45%)/583,72	20 (50%)/1207,63	20 (50%)/1413,2	7 (17,5%)/274,14
Teste t pareado (basal vs. 36 m)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P = 0,01

Fator reumatoide

Na primeira avaliação, dos 40 pacientes, 21 (52,5%) foram positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR; desse total, 17 pacientes (42,5%) foram positivos para FR IgA, 12 (30%) para FR IgG, e 20 (50%) para FR IgM, respectivamente.

Entre aqueles com sorologia positiva para FR, a média dos títulos de FR IgA na avaliação inicial foi de 70 UI/dL (± 54,81), a de FR IgG foi de 69,1 UI/mL (± 41,09), e a de FR IgM foi de 95 UI/mL (± 73,22).

Dezesseis pacientes (40% do total da amostra e 76,19% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR)

foram positivos para mais de um sorotipo. Dez pacientes (25% do total da amostra e 47,61% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR) foram positivos para os três sorotipos de FR. Dois pacientes (5% do total da amostra e 9,52% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR) foram positivos apenas para FR IgA. Nenhum paciente apresentou resultados positivos exclusivamente para FR IgG.

Após três anos de acompanhamento, não houve mudanças significativas no perfil de positividade para o FR entre os 40 pacientes analisados prospectivamente. Vinte indivíduos (50%) continuavam positivos para pelo menos um dos sorotipos de

FR, 15 pacientes (37,5%) foram positivos para FR IgA, 12 (30%) para FR IgG e 17 (42,5%) para FR IgM, respectivamente ($P > 0,05$ para todos, teste t , em relação à avaliação inicial).

Entre aqueles com sorologia positiva para FR, a média dos títulos de FR IgA na avaliação após três anos de acompanhamento foi de 108,86 UI/dL ($\pm 78,54$), a de FR IgG foi de 62,91 UI/mL ($\pm 55,09$), e a de FR IgM foi de 114,29 UI/mL ($\pm 67,93$). Os títulos de FR IgA e FR IgM foram significativamente mais elevados após três anos de acompanhamento em relação à avaliação basal ($P = 0,002$ para FR IgA e $P = 0,003$ para FR IgM, teste t pareado). Não houve mudança significativa em relação aos títulos de FR IgG ($P > 0,05$, teste t pareado).

Treze pacientes (32,5% do total da amostra e 65% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR) foram positivos para mais de um sorotipo. Onze pacientes (27,5% do total da amostra e 55% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR) foram positivos para os três sorotipos de FR. Três pacientes (7,5% do total da amostra e 15% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR) foram positivos apenas para FR IgA, e quatro pacientes (10% do total da amostra e 20% daqueles positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR) foram positivos apenas para FR IgM e negativos para os demais sorotipos. Nenhum paciente apresentou resultado positivo exclusivamente para FR IgG.

Um indivíduo (2,5% da amostra total e 5% daqueles positivos para pelo menos um sorotipo de FR) foi positivo para FR IgG e IgM, mas negativo para FR IgA, e outro indivíduo foi positivo para FR IgA e IgM e negativo para FR IgG. Nenhum paciente foi positivo para FR IgA e IgG e negativo para IgM.

Em relação às mudanças ocorridas no perfil de positividade para os diferentes sorotipos durante os três anos de acompanhamento, quatro pacientes que eram positivos para FR IgA tornaram-se negativos, enquanto dois que eram negativos positivaram a sorologia. Um indivíduo que era positivo para FR IgG tornou-se negativo, e três que eram negativos apresentaram resultados positivos após três anos de seguimento. Três pacientes que eram positivos para FR IgM tornaram-se negativos, enquanto um que era negativo positivou a sorologia.

Anticorpos anti-peptídeos citrulinados cíclicos (anti-CCP)

Quanto aos anticorpos anti-CCP, na avaliação basal dos 40 pacientes, 21 (52,5% do total) foram positivos para pelo menos uma das técnicas utilizadas na averiguação (CCP2, CCP3 ou CCP3.1). Utilizando-se a técnica ELISA 2 (CCP2), 21 pacientes (52,5% da população total avaliada) foram negativos,

quatro (10%) foram positivos fracos e 15 (37,5%) foram positivos fortes. Quando se utilizou a técnica ELISA 3 (CCP3), 19 pacientes (47,5%) foram negativos, dois (5%) foram positivos fracos, três (7,5%) foram positivos moderados e 16 (40%) foram positivos fortes. Pela técnica ELISA 3.1 (CCP 3.1), 19 pacientes (47,5%) foram negativos, dois (5%) foram positivos fracos, dois (5%) foram positivos moderados e 17 (42,5%) foram positivos fortes.

Entre aqueles com sorologia positiva para anti-CCP, a média dos valores obtidos pela técnica CCP2 na avaliação inicial foi de 533 UI/dL ($\pm 1.014,67$), por CCP3 foi de 1.065 UI/mL ($\pm 1.769,73$) e por CCP3.1 foi de 1.209 UI/mL ($\pm 1.991,28$) ($P > 0,05$).

Os 20 pacientes positivos para anti-CCP o foram por mais de uma técnica, e 18 pacientes (45% do total e 90% daqueles positivos) foram positivos para as três técnicas utilizadas. Dois pacientes (5% do total e 10% dentre os positivos) foram positivos para anti-CCP3 e anti-CCP3.1 e negativos para CCP2 (resultado positivo fraco para CCP3 e CCP3.1). Após três anos de acompanhamento, não houve mudanças significativas no perfil de positividade para o anti-CCP. Vinte e um indivíduos (52,5%) continuavam positivos por pelo menos uma das técnicas utilizadas. Utilizando-se a técnica CCP2, 22 pacientes (55% da população total avaliada) apresentaram resultados negativos, dois (5%) foram positivos fracos, um (2,5%) foi positivo moderado e 15 (37,5%) foram positivos fortes. Quando se utilizou a técnica CCP3, 20 pacientes (50%) foram negativos, um (2,5%) foi positivo fraco, três (7,5%) foram positivos moderados e 16 (40%) foram positivos fortes. Pela técnica CCP3.1, 20 pacientes (50%) foram negativos, um (2,5%) foi positivo fraco, dois (5%) foram positivos moderados e 17 (42,5%) foram positivos fortes.

Entre aqueles com sorologia positiva para anti-CCP, a média dos valores obtidos pela técnica CCP2 na avaliação após três anos foi de 583,72 UI/dL ($\pm 717,68$), por CCP3 foi de 1.207,63 UI/mL ($\pm 1.768,31$), e por CCP3.1 foi de 1.413,2 UI/mL ($\pm 2.156,69$). Não houve diferença significativa em relação aos títulos de anti-CCP pelas três técnicas utilizadas ($P > 0,05$; teste t pareado).

Os 21 pacientes positivos para anti-CCP o foram por mais de uma técnica, e 17 pacientes (42,5% do total e 80,95% daqueles positivos) foram positivos para as três técnicas utilizadas. Três pacientes (7,5% do total e 14,28% dentre os positivos) foram positivos para anti-CCP3 e anti-CCP3.1 e negativos para CCP2 (resultado positivo fraco para CCP3 e CCP3.1), e um indivíduo (2,5% do total e 4,76% dentre os positivos) foi positivo para CCP2 e CCP3.1 (em baixos títulos) e negativo para CCP3.

Em relação às mudanças ocorridas no perfil de positividade para os diferentes sorotipos durante os três anos de acompanhamento, para a técnica CCP2, um paciente com sorologia negativa tornou-se positivo fraco, dois pacientes positivos (um positivo fraco e um positivo forte) negataram seus resultados, um indivíduo com resultado positivo fraco passou a positivo moderado, e outro passou a positivo forte. Pela técnica CCP3, dois pacientes com títulos positivos fracos negataram seus resultados, um indivíduo com resultado positivo fraco e outro positivo moderado passaram a positivo forte, enquanto dois indivíduos com resultado positivo forte passaram a positivo moderado e fraco. Utilizando-se a técnica CCP3.1, um paciente inicialmente negativo tornou-se positivo moderado, dois pacientes (um positivo fraco e um positivo moderado) negataram seus resultados, um indivíduo com resultado inicialmente positivo fraco tornou-se positivo forte, e outro com sorologia positivo forte na avaliação basal passou a positivo fraco após três anos de acompanhamento.

Antivimentina citrulinada (anti-Sa)

Quanto aos anticorpos anti-Sa, na avaliação basal dos 40 pacientes acompanhados prospectivamente na coorte Brasília, 34 (85%) eram negativos para anti-Sa, dois (5%) apresentaram resultado duvidoso e quatro (10%) foram positivos.

Entre aqueles com sorologia positiva, a média dos títulos obtidos na avaliação basal foi de 209,16 UI/dL (\pm 206,54).

Após três anos de acompanhamento, 32 indivíduos (80%) eram negativos para anti-Sa, um (2,5%) teve resultado duvidoso e sete (17,5%) eram positivos. A positividade para anti-Sa após três anos foi significativamente superior em relação à avaliação basal ($P = 0,01$; teste t pareado).

Entre aqueles com sorologia positiva após três anos de acompanhamento, a média dos valores de anti-Sa obtidos foi de 274,14 UI/dL (\pm 215,57). Não houve diferença significativa em relação à avaliação basal ($P > 0,05$; teste t pareado).

Em relação às mudanças ocorridas no perfil de positividade para o anti-Sa durante os três anos de acompanhamento, três pacientes com sorologia negativa tornaram-se positivos, um paciente positivo negatou seus resultados, e um indivíduo com sorologia duvidosa passou a positivo.

Todos os pacientes positivos para anti-Sa também o eram para anti-CCP ou FR.

DISCUSSÃO

Este é um importante estudo que demonstra que a pesquisa simultânea e seriada de diversos autoanticorpos e seus diferentes

isotipos em artrite inicial não se altera de forma significativa em um seguimento de três anos em uma população com considerável diversidade étnica e com baixos índices de tabagismo.

Na primeira avaliação, cerca de 50% dos pacientes de nossa coorte foram positivos para pelo menos um dos sorotipos de FR, semelhante a outros trabalhos que utilizaram ELISA,^{6,7} incluindo os resultados da metanálise de Nishimura *et al.*⁸

Embora haja controvérsia, tem sido sugerido que tanto FR IgM quanto FR IgA e IgG estão significativamente associados ao diagnóstico de AR.⁹ Em nosso estudo, encontramos FR IgM em cerca de 50%, IgA em 42% e IgG em 30% dos pacientes com diagnóstico de AR e menos de 12 meses de duração de sintomas. Essas taxas são similares às referidas em outros trabalhos, como o de Vittecoq *et al.*,¹⁰ que descreveram a presença de FR IgM em 51%, FR IgA em 36% e FR IgG em 32% de pacientes com diagnóstico de AR de menos de dois anos de duração. A positividade dos isotipos parece ser variável de acordo com a população estudada.^{10,11}

O FR IgM é um marcador útil para discriminar pacientes com poliartrite que evoluirão ou não para AR.^{10,12-17} Já as propriedades diagnósticas do FR IgA e IgG são questionáveis.^{10,17,18} Em nosso estudo, a pesquisa dos sorotipos FR IgA e FR IgG não aumentou a frequência de positividade do FR, e, portanto, não contribuiu para o diagnóstico de AR.

Após três anos de acompanhamento, a positividade para os três sorotipos pesquisados de FR, bem como seus títulos, manteve-se semelhante aos valores iniciais, o que é condizente com outros trabalhos,^{8,19} confirmando o pouco valor da repetição desses testes.

Metade dos pacientes de nossa coorte foram positivos para pelo menos uma das técnicas utilizadas na averiguação (CCP2, CCP3 ou CCP3.1), e a maioria foi positiva forte pelas três técnicas. A porcentagem de positividade para anti-CCP em nosso estudo foi semelhante à relatada por diversos outros estudos envolvendo pacientes com ERA. Em uma revisão sistemática da literatura, a análise combinada de publicações referentes a mais de 2.000 pacientes com artrite indiferenciada inicial mostrou uma prevalência de 23% de anticorpos anti-CCP (ELISA segunda geração). Essa prevalência aumentou para 51% em mais de 1.000 pacientes que preencheram critérios de classificação para AR, após um período médio de acompanhamento de 18 meses.²⁰

Em nossa coorte, a prevalência de anti-CCP foi aproximadamente a mesma (considerando-se CCP positivo por qualquer uma das três técnicas analisadas) do FR, o que foi semelhante a outros estudos publicados sobre o tema.^{21,22} Conforme relatado por diversos autores, o CCP2 parece ser tão sensível quanto o FR IgM, e mais específico. Sua vantagem estaria na detecção

de anticorpos em aproximadamente 15% dos pacientes com AR que são negativos para FR.²³⁻³¹ Já Nishimura *et al.*,⁸ em sua metanálise de estudos publicados sobre a acurácia de anti-CCP e FR para AR, concluíram que a positividade para o anti-CCP isoladamente é mais específica que a positividade isolada para FR IgM no diagnóstico de AR.

É importante ressaltar, no entanto, que quando testamos isoladamente cada uma das técnicas, a prevalência de anti-CCP foi aproximadamente a mesma pelas três técnicas (40%, aumentando para 50% quando utilizamos as três técnicas conjugadas). Isoladamente, portanto, CCP2, CCP3 e CCP3.1 apresentaram, em nosso estudo, uma prevalência inferior à de FR IgM e similar à de FR IgA, o que difere dos diversos estudos relatados anteriormente.²³⁻³¹ A diferença de sensibilidade, especificidade e custo-benefício entre as três técnicas para detecção de anti-CCP é ainda assunto controverso na literatura, e são necessários trabalhos em diferentes populações.³²

Em 2005, uma terceira geração de anti-CCP (CCP3) tornou-se disponível para o diagnóstico laboratorial de AR. Relatou-se que esses ensaios reconheceriam epítomos citrulinados adicionais, que não seriam identificados pelos ensaios de segunda geração (CCP2), com sensibilidade 5% maior que CCP2, mantendo a especificidade.³³ O teste CCP3 foi avaliado por Santiago *et al.*³⁴ e Wu *et al.*³⁵ e considerado mais sensível que o CCP2, mantendo a especificidade. Anjos *et al.*³² relataram em uma população de 70 pacientes com AR do Sul do Brasil que tanto CCP2 quanto CCP3 apresentaram boa *performance* diagnóstica, em que o CCP3 foi 4,3% mais sensível que o CCP2, mantendo a especificidade. No entanto, outros autores relataram *performance* diagnóstica muito similar entre os ensaios CCP2 e CCP3.^{36,37}

O CCP3.1 avaliado em nosso estudo (INOVA) utiliza um conjugado que detecta anticorpos IgA, além dos anticorpos IgG habituais, o que teoricamente melhoraria a sensibilidade do método, já que alguns pacientes com AR apresentam anticorpos IgA contra o CCP3, na ausência de anticorpos IgG.³⁸ Bizzaro *et al.*,³⁹ no entanto, comparando 11 técnicas laboratoriais diversas para a detecção de CCP, observaram uma discreta diferença de resultados entre CCP2 e CCP3 da INOVA (sensibilidade de 64% e 67%, respectivamente) e nenhuma diferença entre CCP3 e CCP3.1, sugerindo que a combinação de anticorpos IgA e IgG não melhoraria a *performance* do teste, semelhante ao que foi observado em nossa coorte.

Chibnik *et al.*⁴⁰ relataram que os títulos de anti-CCP e sua flutuação são importantes na fase pré-desenvolvimento da AR – quanto maiores os títulos, menor o intervalo para o

surgimento da doença. Os títulos de anti-CCP aumentaram gradualmente até a abertura dos sintomas típicos de AR, e então se estabilizaram. Rantapää-Dahlqvist *et al.*⁴¹ já haviam sugerido que os títulos de anti-CCP sofrem um aumento antes do início da doença. Bos *et al.*,⁴² em sua coorte de 188 pacientes consecutivos com diagnóstico de AR tratados com adalimumabe, estudaram as mudanças relativas nos níveis de anti-CCP e não observaram modificações substanciais entre a positividade do anti-CCP nas avaliações inicial e final, de forma semelhante ao observado em nossa coorte. Como esses autores, nossos dados apontam para a possibilidade de que anticorpos anti-CCP são marcadores de AR qualitativamente estáveis, não associados à atividade da doença.⁴²

Na coorte Brasília, menos de 15% dos pacientes apresentaram anticorpos anti-Sa na avaliação inicial, valor inferior ao relatado por Boire³ – 28% de sua coorte de 165 pacientes com poliartrite inicial – e por Vossenaar *et al.*⁴³ – 40% de 87 soros de pacientes com AR estabelecida. Entretanto, a porcentagem de positividade para anti-Sa passou de 10% para 18% ao final do seguimento, diferença estatisticamente significativa e talvez associada à doença mais estabelecida.

Os títulos médios de anti-Sa encontrados em nossa coorte variaram de 200 a 300 UI/dL, valor semelhante ao encontrado por outros autores,^{3,44} embora existam poucas publicações sobre o tema. Variações dos títulos de anti-Sa foram demonstradas nos trabalhos de Innala *et al.*⁴⁴ e Ménard⁴⁵ de acordo com a atividade da doença e a resposta ao tratamento, enquanto em nossa coorte elas mantiveram-se estáveis ao longo do seguimento de três anos.

CONCLUSÕES

É possível concluir que a pesquisa de diferentes isotipos de FR não aumenta a frequência de positividade do FR em artrite inicial, e, assim, sua pesquisa não contribui para o diagnóstico.

A estabilidade observada do FR ao longo do tempo não justifica solicitações repetidas do FR durante a evolução da ERA. A porcentagem de pacientes que apresentam anti-CCP positivo, bem como seus títulos, manteve-se estável ao longo do tempo, o que também não justifica a solicitação de dosagens seriadas de anti-CCP. Não houve diferença entre as técnicas analisadas para a detecção do anti-CCP (CCP2, CCP3 e CCP3.1), sugerindo que os ensaios de terceira geração não trouxeram contribuição para o diagnóstico e o acompanhamento da ERA. A pesquisa de anti-Sa não foi útil para o diagnóstico da ERA em relação ao FR e ao anti-CCP.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Drs. Francisco Aires Corrêa Lima, Rodrigo Aires Corrêa Lima e Ana Patrícia de Paula, ao Professor Cezar Kozak Simaan, aos Drs. José Antonio Braga da Silva, Hermes Matos Filho, Regina Alice von Kirschheim, Luciana Alves Almeida, Talita Yokoy Souza, Jamille Nascimento Carneiro e Francieli Sousa Rabelo, pelo encaminhamento dos pacientes avaliados, e ao Dr. Paulo Sérgio Mendlovitz, pela realização dos exames radiológicos.

REFERENCES

REFERÊNCIAS

- van der Horst-Bruinsma IE, Speyer I, Visser H, Breedveld FC, Hazes JM. Diagnosis and course of early-onset arthritis: results of a special early arthritis clinic compared to routine patient care. *Br J Rheumatol* 1998; 37(10):1084–8.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31(3):315–24.
- Boire G, Cossette P, de Brum-Fernandes AJ, Liang P, Niyonsenga T, Zhou ZJ *et al.* Anti-Sa antibodies and antibodies against cyclic citrullinated peptide are not equivalent as predictors of severe outcomes in patients with recent-onset polyarthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7(3):R592–603.
- Da Mota LM, Laurindo IM, Dos Santos Neto LL. Demographic and clinical characteristics of a cohort of patients with early rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol* 2010; 50(3):235–48.
- Da Mota LM, Dos Santos Neto LL, Burlingame R, Ménard HA, Laurindo IM. Laboratory characteristics of a cohort of patients with early rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol* 2010; 50(4):375–88.
- Nell-Duxneuner V, Machold K, Stamm T, Eberl G, Heinzl H, Hoefler E *et al.* Autoantibody profiling in patients with very early rheumatoid arthritis: a follow-up study. *Ann Rheum Dis* 2009; 19 Jan on line (abstract) [epub ahead of print].
- Tedesco A, D'Agostino D, Soriente I, Amato P, Piccoli R, Sabatini P. A new strategy for the early diagnosis of rheumatoid arthritis: a combined approach. *Autoimmun Rev* 2009; 8(3):233–7.
- Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S *et al.* Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007; 146(11):797–808.
- Renaudineau Y, Jamin C, Saraux A, Youinou P. Rheumatoid factor on a daily basis. *Autoimmunity* 2005;38(1):11–6.
- Vittecoq O, Pouplin S, Krzanowska K, Jouen-Beades F, Menard JF, Gayet A *et al.* Rheumatoid factor is the strongest predictor of radiological progression of rheumatoid arthritis in a three-year prospective study in community-recruited patients. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42(8):939–46.
- Visser H, Gelinck LB, Kampfraath AH, Breedveld FC, Hazes JM. Diagnostic and prognostic characteristics of the enzyme linked immunosorbent rheumatoid factor assays in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1996; 55(3):157–61.
- Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Förger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63(9):1079–84.
- Greiner A, Plischke H, Kellner H, Gruber R. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050:295–303.
- Wolfe F, Cathey MA, Roberts FK. The latex test revised. Rheumatoid factor testing in 8,287 rheumatic disease patients. *Arthritis Rheum* 1991; 34(8):951–60.
- Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC *et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43(1):155–63.
- Visser H. Early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19(1):55–72.
- Saraux A, Berthelot JM, Chalès G, Le Henaff C, Mary JY, Thorel JB *et al.* Value of laboratory tests in early prediction of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 47(2):155–65.
- Procaccia S, Gasparini A, Colucci A, Lanzanova D, Bianchi M, Forcellini P *et al.* ELISA determined IgM, IgG and IgA rheumatoid factors in rheumatoid arthritis and in other connective tissue diseases. *Clin Exp Rheumatol* 1987; 5(4):335–42.
- Westwood OM, Nelson PN, Hay FC. Rheumatoid factor: what's new? *Rheumatology Oxford* 2006; 45(4):379–85.
- Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value for anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(7):845–51.
- Dörner T, Egerer K, Feist E, Burmester GR. Rheumatoid factor revisited. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16(3):246–53.
- Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, Hoxworth J, Yarboro C, Smolen JS *et al.* Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2002; 2(3):236–43.
- Saraux A, Berthelot JM, Devauchelle V, Bendaoud B, Chalès G, Le Henaff C *et al.* Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30(12):2535–9.
- Sauerland U, Becker H, Seidel M, Schotte H, Willeke P, Schorat A *et al.* Clinical utility of the anti-CCP assay: experiences with 700 patients. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050:314–8.
- Dubrous P, Gardet V, Hugard L. Value of anti-cyclic citrullinated peptides antibodies in comparison with rheumatoid factor for rheumatoid arthritis diagnosis. *Pathol Biol (Paris)* 2005; 53(2):63–7.
- Silveira IG, Burlingame RW, von Mühlen CA, Bender AL, Staub HL. Anti-CCP antibodies have more diagnostic impact than rheumatoid factor (RF) in a population tested for RF. *Clin Rheumatol* 2007; 26(11):1883–9.
- Vallbracht I, Helmke K. Additional diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2005; 4(6):389–94.
- Solanki K, Spellerberg M, Chapman P, Moller P, O'Donnell J. Anti-cyclic citrullinated antibodies: complementary to IgM rheumatoid factor in the early diagnosis of rheumatoid arthritis. *N Z Med J* 2004; 117(1203):U1097.

29. Araki C, Hayashi N, Moriyama M, Morinobu S, Mukai M, Koshiba M *et al.* Usefulness of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Rinsho Byori* 2004; 52(12):966–72.
30. van Dongen H, van Aken J, Lard LR, Visser K, Roday HK, Hulsmans HM *et al.* Efficacy of methotrexate treatment in patients with probable rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2007; 56(5):1424–32.
31. Quinn MA, Gough AK, Green MJ, Devlin J, Hensor EM, Greenstein A *et al.* Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(4):478–80.
32. Anjos LME, Pereira IA, d’Orsi E, Seaman A, Burlingame RW, Morato EF. A comparative study of IgG second- and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) ELISAs and their combination with IgA third-generation CCP ELISA for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2009; 28(2):153–8.
33. Vieira LMEA, d’Orsi E, Pereira IA, Morato EF, Burlingame RW. Rheumatoid arthritis diagnosis: a comparative study of second and third generation anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody ELISAs. *INOVA Newsletter* 2007; 2:8–9.
34. Santiago M, Baron M, Miyachi K, Fritzler MJ, Abu-Hakima M, Leclercq S *et al.* A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2008; 27(1):77–83.
35. Wu R, Shovman O, Zhang Y, Gilburd B, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. Increased prevalence of anti-third generation cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis and CREST syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007; 32(1):47–56.
36. Luis Caro-Oleas J, Fernández-Suárez A, Reneses Cesteros S, Porrino C, Núñez-Roldán A, Wichmann Schlipf I. Diagnostic usefulness of a third-generation anti-cyclic citrulline antibody test in patients with recent-onset polyarthritis. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(10):1396–401.
37. Lutteri L, Malaise M, Chapelle JP. Comparison of second- and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide antibodies assays for detecting rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 2007; 386(1–2):76–81.
38. Szekanecz Z, Burlingame R. The INOVA CCP 3.1 IgA/IgG ELISA represents significant improvement in the laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis. *INOVA Newsletter* 2007; 2:6–7.
39. Bizzaro N, Tonutti E, Tozzoli R, Villalta D. Analytical and diagnostic characteristics of 11 2nd- and 3rd-generation immunoenzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins. *Clin Chem* 2007; 53(8):1527–33.
40. Chibnik LB, Mandl LA, Costenbader KH, Schur PH, Karlson EW. Comparison of threshold cutpoints and continuous measures of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting future rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009; 36(4):706–11.
41. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H *et al.* Antibodies against citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(10):2741–9.
42. Bos WH, Bartelds GM, Wolbink GJ, de Koning MH, van de Stadt RJ, van Schaardenburg D *et al.* Differential response of the rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies during adalimumab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2008; 35(10):1972–7.
43. Vossenaar ER, Després N, Lapointe E, van de Heijden A, Lora M, Senshu T *et al.* Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res Ther* 2004; 6(2):R142–50.
44. Innala L, Kokkonen H, Eriksson C, Jidell E, Berglin E, Dahlqvist SR. Antibodies against mutated citrullinated vimentin are a better predictor of disease activity at 24 months in early rheumatoid arthritis than antibodies against cyclic citrullinated peptides. *J Rheumatol* 2008; 35(6):1002–8.
45. Ménard HA. Effects of RA treatments on citrullinated immune systems in vitro and in vivo. 28th European Workshop on Rheumatology Research, March 1, 2008, Toulouse, France.