

Enzilab

Reviews

ANTICORPOS ANTINÚCLEO (ANA-HEp-2 / FAN-HEp-2) (PARTE 1)

Introdução

O exame para pesquisa de anticorpos antinúcleo (ANA) pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI), também conhecido como fator antinuclear (FAN), em soro de pacientes com suspeita de doença autoimune, trata-se de um excelente exame de rastreamento de autoanticorpos que, ao longo das últimas décadas, foi tecnicamente modificado de forma a conferir sensibilidade progressivamente maior. Como consequência, o teste ANA passou também a apresentar menor especificidade. Assim, esse teste tem requerido dos profissionais que trabalham (direta ou indiretamente) com o exame uma acurada e constante revisão dos paradigmas que norteiam a interpretação dos resultados obtidos.

Atualmente, um dos fatos mais intrigantes na pesquisa de ANA está no número elevado de achados positivos em indivíduos aparentemente hígidos.

O atual impacto do contexto histórico

Nas últimas duas décadas passou-se a utilizar cada vez mais um substrato para realização do teste de ANA-IFI. Trata-se da célula HEp-2 (American Type Culture Collection CCL-23). Essas células provaram ser excelente substrato para oferta de auto-antígenos no ensaio ANA-IFI, apresentando uma gama de antígenos. Ademais, os elementos citológicos são grandes e bem evidenciados, contribuindo para uma ótima visualização quando corados pelos auto-anticorpos. Hoje, a célula HEp-2 praticamente substituiu os cortes ou imprint de fígado de roedores nos laboratórios clínicos em todo o mundo. Essa substituição inevitável deveu-se a múltiplos fatores, entre os quais o mais importante foi a excelente visibilidade de múltiplos padrões e a oferta de uma miríade de auto-

antígenos inerente a esse substrato.

Padrões de fluorescência associados aos antígenos situados nos diferentes compartimentos celulares (núcleo, nucléolo, citoplasma, placa cromossômica metafásica e aparelho mitótico) que não estavam disponibilizados em tecidos de roedores passaram a ser observados.

Alguns desses padrões de IFI e suas possíveis associações antigênicas e clínicas estão apresentados na Tabela 1, na página 2.

O resultado da maior oferta de antígenos levou a expressivo aumento na sensibilidade do ensaio. Aumentou-se o rol de auto-anticorpos passíveis de serem detectados e reduziu-se o limiar de concentração sérica a partir do qual os mesmos passam a ser detectados. Portanto, níveis baixos de auto-anticorpos por vezes não detectáveis no teste ANA-IFI com tecidos de roedores passaram a ser detectáveis no teste ANA-HEp-2. Consequência direta desse aumento na sensibilidade foi uma considerável perda de especificidade do teste, o que resultou na necessidade de uma interpretação bastante criteriosa dos achados sorológicos.

O ANA(FAN) e a relação clínico-laboratorial

Um dos fatos atuais mais intrigantes na pesquisa de ANA-HEp-2 é o número elevado de achados positivos em indivíduos aparentemente hígidos. Na literatura essa frequência exibe ampla variação (Tabela 2), provável reflexo das diferenças étnicas, ambientais e metodológicas (substrato utilizado, conjugado, microscópio).

Assim como no ANA-IFI, a interpretação de um resultado

positivo do teste ANA-HEp-2 pode ser auxiliada pela detecção de auto-anticorpos específicos associados ao padrão encontrado, como mencionado anteriormente. Por exemplo, a demonstração de anticorpos anti-DNA nativo ou antinucleossomo é fortemente indicativa de LES. Anticorpos anti-JO-1 e anti-Scl-70 são marcadores de polimiosite e esclerose sistêmica, respectivamente. Portanto, o encontro desses ou de outros marcadores específicos contribui para a definição mais acurada da valorização de um resultado positivo de ANA-HEp-2. Em contrapartida, a ausência desses marcadores não invalida, mas diminui a força do achado de ANA-HEp-2, especialmente se este for de características pouco específicas e não houver contrapartida clínica ou laboratorial de doença auto-imune sistêmica.

Essas considerações são de valor inestimável para uma adequada interpretação do teste ANA-HEp-2 e reforçam a necessidade de uma reflexão cuidadosa sobre o contexto histórico do exame que partiu de um achado de extrema especificidade e baixa sensibilidade (células LE em pacientes lúpicos), migrou para o ANA-IFI em tecido animal, um substrato limitado na expressão antigênica, e culminou no ANA-HEp-2, com riqueza extrema em expressão antigênica.

Diante desse novo panorama algumas considerações merecem a nossa atenção:

- qual é a relevância clínica dos padrões de ANA-HEp-2?
- qual é a relevância clínica dos títulos de ANA-HEp-2?
- existe padronização interlaboratorial para a composição dos laudos laboratoriais?

Ver na página 2 as Tabelas 1 e 2 citadas no texto acima.

Acesse nossas páginas na internet:

- www.enzilab.com.br
- www.facebook.com/EnzilabAnalisesClinicas

No próximo mês o ENZILAB REVIEWS nº 44 vai abordar os temas referentes aos ANTICORPOS ANTINÚCLEO (ANA-HEp-2):

- A relevância clínica dos padrões de ANA-HEp2
- A relevância clínica dos títulos de IFI-HEp2
- Como interpretar um resultado positivo de ANA-HEp2 em um paciente sem evidência clínica de doença auto-imune



Enzilab

Análises Clínicas
Confiança sempre

25 anos

Cachoeira do Sul
Rua Marechal Floriano, 88
(51) 3722 6090

Santa Cruz do Sul
Rua Marechal Deodoro, 189
(51)30563026

Rua Euclides Kliemann, 1030
(51) 3715 2919



www.enzilab.com.br



Tabela 1. Exemplos de padrões de ANA-HEp-2, auto-antígenos associados e possíveis correlações clínicas

| Padrão de IFI-ANA | Auto-antígeno(s) associado(s) | Correlação clínica |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nuclear homogêneo | <ul style="list-style-type: none"> DNA nativo DNA de hélice simples Histona (H1, H2A, H2B, H3, e H4) Nucleossomo | <ul style="list-style-type: none"> LES Artrite juvenil idiopática; LES induzido por drogas e LES idiopático LES idiopático; LES induzido por drogas; AR; síndrome de Felty; artrite juvenil idiopática; esclerose sistêmica; cirrose biliar primária; hepatite auto-imune LES |
| Nuclear pontilhado fino | <ul style="list-style-type: none"> La/SS-B Ro/SS-A | <ul style="list-style-type: none"> Síndrome de Sjögren, LES, LES neonatal, LES cutâneo Síndrome de Sjögren, LES, LES cutâneo, LES neonatal, AR, miosite e esclerose sistêmica, polimiosite |
| Nuclear pontilhado grosso | <ul style="list-style-type: none"> Sm U1-RNP (22, 34 e 70kDa) | <ul style="list-style-type: none"> LES DMTC, LES, esclerose sistêmica. |
| Nuclear pontilhado grosso reticulado | Ribonucleoproteínas heterogêneas (hnRNP) | LES, DMTC, outras doenças reumáticas, doenças inflamatórias crônicas e mesmo indivíduos hígidos |
| Membrana nuclear | Lamins, Lamin B, gp210 | Doenças reumáticas auto-ímmunes, hepatopatias, doenças virais e também indivíduos hígidos |
| Raros pontos nucleares | p80 coilina (80kDa) | Síndrome de Sjögren, doenças inflamatórias, indivíduos hígidos |
| Múltiplos pontos nucleares | Sp-100 | CBP |
| Nuclear pleomórfico | Antígenos de célula em proliferação PCNA (34kDa), CENP-F (340kDa) | LES, condições neoplásicas |
| Centromérico | Proteínas associadas ao centrômero (CENPA de 17kDa, CENP-B de 80kDa e CENP-C de 140kDa) | CREST, esclerose sistêmica, CBP |
| Nucleolar | <ul style="list-style-type: none"> Fibrilarina (34kDa) (nucleolar grumoso puro) PMScl (20-110kDa) (nuclear homogêneo e nucleolar pontilhado fino) RNA polimerase I (10 a 220kDa) (nucleolar pontilhado e pontos isolados na placa metafásica) Scl-70 (70 e 86kDa) (nuclear e nucleolar pontilhado fino) | <ul style="list-style-type: none"> Esclerose sistêmica Polimiosite/ES; polimiosite/dermatomiosite, esclerose sistêmica Esclerose sistêmica Esclerose sistêmica, esclerodermia limitada, esclerodermia difusa |
| Citoplasmático pontilhado fino denso | Proteína P ribossomal | LES |
| Citoplasmático pontilhado reticulado | Antígenos mitocondriais | CBP |

LES: lúpus eritematoso sistêmico; AR: artrite reumatóide; DMTC: doença mista do tecido conectivo; CBP: cirrose biliar primária; CREST: acrônimo das principais características clínicas de uma variação da esclerodermia (calcinose, fenômeno de Raynaud, distúrbios da motilidade esofágica, esclerodactilia e telangiectasia).

Tabela 2. Frequência de FAN positivo no teste ANA-HEp-2 em indivíduos hígidos segundo alguns dados bibliográficos

| População estudada | Frequência de FAN positivo em indivíduos hígidos | Autor |
|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------|
| 597 trabalhadores hígidos de um hospital urbano no Japão | 20% | Watanabe et al. (2004) |
| 500 doadores de sangue no Hemocentro de São Paulo | 22,6% | Fernandez et al. (2003) |
| 259 indivíduos com idade superior a 65 anos (UNIFESP) | 12,8% | Santos et al. (1997) |
| Indivíduos entre 6 meses e 20 anos (UNIFESP) | 12,6% | Hilario et al. (2004) |

Fontes:

- Dellavance A., Andrade L.E.C. Como interpretar e valorizar adequadamente o teste de anticorpos antinúcleo. J Bras Patol Med Lab. Vol 43, nº3 (157-168), 2007.
- Dellavance A., Leser P.G., Andrade L.E.C. Análise crítica to teste de anticorpos antinúcleo (FAN) na prática clínica. Rev Bras Reumatol, Vol 47, nº4 (265-275), 2007.
- Editorial da Revista Brasileira de Reumatologia. Rev Bras Reumatol, Vol 54, nº1 (3-6), 2014.