

LABORATÓRIO EM REUMATOLOGIA

Antônio Scafuto SCOTTON, Marcelo ALVARENGA, Rafael de Oliveira FRAGA, Juliana Maria PERNAMBUCO, Ana Carolina Benini Scafuto SCOTTON, Márcio S. GOLDNER

Serviço de Reumatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora

INTRODUÇÃO

A maioria das doenças reumáticas evolui de forma crônica, agredindo o sistema músculo-esquelético em graus variáveis e mantendo como característica comum a inflamação.

A avaliação desses pacientes deve ser fundamentalmente clínica e, se executada corretamente, permite o esclarecimento diagnóstico de 80% das afecções reumáticas, além de orientar a solicitação de exames.¹ Os testes laboratoriais devem ser interpretados associados aos achados da anamnese e do exame físico, podendo desempenhar importante papel, tanto no estabelecimento do diagnóstico, como na monitorização da atividade da doença e da resposta à terapêutica.²

Um grande problema que enfrentamos ao tentar quantificar a extensão da inflamação por testes laboratoriais está na ambigüidade do conceito de inflamação por si mesmo. Inflamação não é um processo único, mas desencadeado por diferentes estímulos e cada tipo de resposta inflamatória representa um complexo jogo de interações entre células, mediadores solúveis e matriz tecidual. Assim, não é de se esperar que um único teste possa refletir todos esses processos. Com raríssimas exceções, nenhum exame laboratorial estabelece, por si só, um diagnóstico em Reumatologia.³

Ademais, há de se considerar que todo exame laboratorial possui uma margem de erro inerente ao exame, que depende da sensibilidade e especificidade do teste e da prevalência da doença na população estudada.

REAGENTES DE FASE AGUDA

Os reagentes de fase aguda são indicadores inespecíficos da presença de inflamação, sendo de pesquisa obrigatória em paciente com suspeita de doença inflamatória e úteis no monitoramento de seu estado clínico. São proteínas cuja síntese hepática é rapidamente induzida em resposta a um estímulo inflamatório. Enquanto persiste o estímulo, os níveis dessas proteínas são mantidos alterados, proporcionalmente à atividade inflamatória. Porém, em alguns casos, os reagentes de fase aguda podem encontrar-se mais baixos que o esperado para tal atividade inflamatória.⁴

a) Velocidade de Hemossedimentação (VHS)

A VHS mede a extensão da queda das hemácias em uma coluna, num dado intervalo de tempo. Encontra-se alterada em vários processos inflamatórios, até mesmo em neoplasias. É um método indireto, simples e barato, para medir proteínas de fase aguda, sendo o fibrinogênio a mais importante.² A concentração plasmática do fibrinogênio eleva-se lentamente, frente a um dado estímulo inflamatório, e possui meia-vida longa, persistindo em níveis elevados por vários dias. Por isso, pode-se encontrar normal no início do processo inflamatório e permanecer elevada, por vários dias após, a resolução do mesmo.

Diversos fatores influenciam a VHS (Tabela nº1).

Tabela 1

Fatores que influenciam o VHS

AUMENTO

Anemia
Gravidez
Temperatura alta
Paraproteinemia

DIMINUIÇÃO

Alterações na forma das hemácias
Policitemia
Retardo na realização do exame
Hipoalbuminemia
Insuficiência cardíaca congestiva
Hiperviscosidade
Hipofibrinogemia

O valor de referência também varia com sexo, idade e com a massa corporal.

Atualmente, a principal utilização da VHS é no diagnóstico e monitorização da atividade e da resposta terapêutica na artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, espondiloartropatias soronegativas, arterite temporal e polimialgia reumática.

b) Proteína C Reativa (PCR)

A associação da PCR com doença reumática inflamatória foi primeiro descrita em 1951. Tem um importante papel biológico como imunomodulador, ativando complemento, neutrófilos e monócitos. Há uma diferença clara na cinética temporal e na magnitude do aumento da PCR, em relação aos outros reagentes de fase aguda. Na realidade, a PCR existe em concentrações mínimas na corrente sanguínea, podendo se elevar mais de 500 vezes na vigência de um processo inflamatório, podendo ser detectada seis a dez horas após o início do estímulo inflamatório. Possui meia-vida de menos de 20 horas, com rápido declínio de sua concentração sérica.^{1,5} Além disto, apresenta vantagem em relação à VHS, pois não é alterada por fatores plasmáticos e hematológicos. Uma elevação súbita da PCR, em paciente que se apresenta em remissão e sem sinais inflamatórios, deve chamar a atenção para a possibilidade de infecção intercorrente.⁶ Devemos sempre exigir sua quantificação, sendo pouco útil um resultado semiquantitativo em cruces. Está elevada em pacientes com artrite reumatóide, gota aguda e febre reumática.

c) Eletroforese de proteínas plasmáticas

Evidencia o processo inflamatório agudo ou crônico, através do aumento de determinadas frações protéicas representadas por albumina, a1, a2, b e g-globulinas. A elevação da concentração de a2 e, algumas vezes, a1 sugere resposta inflamatória aguda, enquanto que a elevação policlonal de g-globulinas é sugestiva de processo inflamatório crônico.

d) Mucoproteínas (alfa 1 glicoproteína ácida)

Apresenta pequena especificidade, fato que limita seu uso. Está elevada em processos inflamatórios e na presença de destruição celular. Apresenta importância na fase aguda da febre reumática, constituindo o melhor critério de alta após sua normalização.¹

e) Complemento

O sistema complemento é composto por uma série de proteínas séricas, capazes de causar a lise de células, quando ligadas com anticorpos específicos. É utilizada a dosagem da atividade de complemento total (CH50 ou CH100) e dos complementos C3 e C4. É possível avaliar o consumo dos componentes da via clássica (C3 e C4 diminuídos) e da via alternativa (apenas C3 diminuído) presente no LES (especialmente nefrite lúpica), glomerulonefrite membranoproliferativa e nefrite pós-estreptocócica.² É o melhor exame para acompanhamento de atividade e resposta terapêutica do LES.¹

Entretanto, é comum a deficiência genética em um dos componentes do sistema complemento em pacientes com LES (especialmente C2 e C4), sendo uma limitação ao teste. Outro ponto importante está no fato de o complemento ser um reagente de fase aguda, podendo sua síntese estar aumentada, se o paciente estiver infectado, e o nível sérico dessas proteínas pode estar normal, apesar do consumo acelerado durante a atividade da doença. Assim, a dosagem dos produtos de ativação do complemento parece ser de maior utilidade.

f) Crioglobulinas

São imunoglobulinas que precipitam em baixas temperaturas. Estão presentes em doenças linfoproliferativas, LES, artrite reumatóide, síndrome de Sjögren (Sj) primária e Hepatite C.

AUTO-ANTICORPOS

Os auto-anticorpos são anticorpos produzidos contra antígenos intracelulares. Sua detecção, associada a achados clínicos, pode auxiliar no diagnóstico de várias doenças reumáticas auto-imunes. Entretanto, cabe salientar que a presença de auto-anticorpos, por si só, não é específica de auto-imunidade, já que indivíduos com condições inflamatórias crônicas e mesmo pessoas híginas podem apresentá-los positivos. Assim, sua pesquisa deve ser realizada apenas quando há suspeita clínica e nunca deve ser usada como teste de *screening*, pois poderá ser apenas um fator complicador no caso.

Fator antinúcleo (FAN) é a denominação dada ao teste de imunofluorescência indireta (IFI), para a pesquisa de auto-anticorpos que reagem com componentes intracelulares. Utiliza-se o *imprint* de fígado de camundongo ou células de cultura de tecido humano (HEp-2), sendo o último substrato o mais recomendado. A interpretação da reatividade se baseia no padrão da fluorescência observado (identificando a distribuição dos antígenos nas organelas subcelulares – Tabela nº2) e análise semiquantitativa, representando a titulação do exame. O FAN, quando em títulos mais baixos (geralmente menor 1:160),

não é específico para nenhuma doença reumática e pode ocorrer na AR, esclerodermia, Sj, hepatite auto-imune, entre outras.⁷ Em geral, valores acima de 1:320 são significativos na avaliação de uma auto-imunidade. Vale ressaltar que o FAN, em geral, não tem utilidade para o acompanhamento de doença, já que seus títulos não guardam necessariamente correlação com o grau de atividade da mesma.^{1,7}

Tabela 2

Padrões de Fluorescência: especificidades de auto-anticorpos e associações clínicas.

Padrões do Fan	Auto-anticorpo	Associação clínica
Periférico	Anti-DNA Nativo (Dupla Hélice)	LES (Nefrite)
Pontilhado (Salpicado)	Anti-ENA* (Ro/SSA, La/SSB, Sm, RNP)	LES; Sjögren; DMTC
Nucleolar	Anti-Scl 70 e outras enzimas Nucleolares	Esclerose Sistêmica (forma Difusa)
Homogêneo	Anti-Histonas	LES / LE induzido por drogas / HAI**

(*) anti-ENA: Antígenos Nucleares Extraíveis

(**) HAI: Hepatite Auto-Imune

Após o teste inicial positivo, deverá ser feita pesquisa dos auto-anticorpos separadamente, sendo alguns desses, marcadores diagnósticos, prognósticos ou indicadores de determinadas características clínicas. O anticorpo anti-DNA nativo é encontrado em cerca de 80% dos pacientes lúpicos com doença ativa, estando claramente envolvido na patogênese do LES e relacionado com maior probabilidade de acometimento renal.¹ Existem vários métodos para a detecção deste anticorpo, sendo a imunofluorescência para *Cithidia luciliae* o mais difundido em nosso meio, devido à rara ocorrência de reações falso-positivas.

De acordo com o II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em Células Hep-2 (2003), foram propostas alterações quanto à classificação e pesquisa de anticorpos contra constituintes do núcleo, nucléolo, citoplasma, aparelho mitótico e placa metafísica cromossômica, além da criação dos padrões mistos e a denominação de padrões citoplasmáticos. Com a finalidade de facilitar a interpretação do FAN, foram elaboradas as relevâncias clínicas relacionadas a cada padrão (4 padrões mistos e 25 padrões específicos mais frequentes).⁸

Exemplo:

Paciente: J.S.

FAN

Núcleo: reagente.

Nucléolo: reagente.

Citoplasma: não reagente.

Aparelho mitótico: não reagente.

Placa metafísica cromossômica: reagente.

Padrão: misto tipo nuclear e nucleolar pontilhado com placa metafísica cromossômica positiva.

Interpretação: padrão típico do Anti-SCI70, anticorpo relacionado à esclerose sistêmica progressiva forma difusa e à doença muscular inflamatória.

Os anticorpos antifosfolípidos são auto-anticorpos associados ao LES e à Síndrome do Anticorpo Antifosfolípido, está caracterizada por fenômenos tromboembólicos recorrentes, abortos de repetição e plaquetopenia. Podem ser pesquisados por dois métodos: ELISA, que utiliza a cardiolipina como substrato, e ensaios de coagulação para anticoagulante lúpico. Podem estar presentes em outras doenças crônicas e infecciosas.⁹

Há auto-anticorpos dirigidos também contra antígenos citoplasmáticos. São os anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA), detectados por IFI e que apresentam dois padrões de fluorescência (p-ANCA e c-ANCA). São utilizados para o diag-

nóstico e acompanhamento da atividade da Granulomatose de Wegener, Poliangeíte Microscópica e Glomerulonefrite Rapidamente Progressiva com crescentes, entre outras doenças.¹⁰

O Fator Reumatóide (FR) é a denominação dada aos auto-anticorpos dirigidos contra determinantes antigênicos presentes no fragmento Fc da molécula de imunoglobulina. A maioria desses anticorpos é da classe M, porém são também encontrados FR da classe IgG e IgA. Os métodos de detecção mais utilizados são a aglutinação com partículas de látex revestidas com IgG (teste do látex) e a hemaglutinação com hemácias de carneiro revestidas com IgG de coelho (teste de Waaler-Rose). Esse é menos sensível, porém apresenta maior especificidade que o teste do látex.¹¹ Aproximadamente 80% dos pacientes com Artrite Reumatóide possuem FR positivo. Entretanto, o teste não é específico para a doença e a sua ausência também não a exclui. Títulos baixos podem ser encontrados na população sadia e títulos mais elevados podem estar associados a doenças caracterizadas por formação persistente de imunocomplexos e com doenças inflamatórias crônicas. Em pacientes com Artrite Reumatóide, a presença de altos títulos (títulos maiores que 1:320 ou concentrações maiores que 300 UI/ml) está associada a doença mais severa, com manifestações extra-articulares e nódulos reumatóides.^{4,7}

O teste de célula LE era um método usado para a detecção de anticorpos antinucleares, nas décadas de 1950 e 1960. O teste detecta anticorpos dirigidos contra DNA-histona. É um método obsoleto, caro e trabalhoso, que foi substituído pelas técnicas de fluorescência. Porém, a presença de células LE *in vivo*, nos derrames cavitários, líquidos corporais ou na medula óssea, pode representar grande importância clínica.¹

ANTIESTREPTOLISINA O (ASLO)

A febre reumática é uma complicação da faringoamigdalite, causada pelo estreptococo do grupo A de Lancefield. O diagnóstico é baseado no preenchimento dos critérios de Jones e não apenas na presença da ASLO. A determinação de anticorpos para produtos extracelulares de estreptococos auxilia no diagnóstico de tal enfermidade.

A detecção do anticorpo antiestrepolisina O (ASLO) é muito utilizada na maior parte do mundo. Cerca de 80% dos indivíduos com febre reumática apresentam elevação dos títulos da ASLO, sendo que esses variam de acordo com a idade, região geográfica, estação do ano e outros fatores que afetam a frequência e a intensidade da doença estreptocócica.⁴ Em crianças e adolescentes, títulos de ASLO até 333 Unidades TODD são considerados normais, pelo fato de tais pacientes estarem em contato contínuo com os diversos tipos de estreptococos prevalentes na região. Os títulos de ASLO se elevam a partir da segunda semana após a infecção estreptocócica e atingem níveis máximos entre a terceira e quinta semana. Não há relação entre os níveis atingidos pela ASLO e a demora de sua normalização com a duração e a severidade do quadro agudo de Febre Reumática. Alguns pacientes, após o surto de estreptococcia, permanecem com níveis elevados de ASLO por longo tempo, sem exibirem qualquer quadro clínico. Tais pacientes são submetidos a diversas tentativas de erradicação do estreptococo, sem que se obtenha qualquer declínio dos valores da isoenzima.

O SISTEMA HLA

O complexo de histocompatibilidade maior (HLA) representa uma região cromossômica, em que se localizam genes codificadores de antígenos, que diferem indivíduos de uma mesma espécie. Está envolvido no processo de rejeição de transplantes e estímulo da resposta imune. A associação de

várias doenças reumáticas com o HLA nos fornece importantes avanços no entendimento da patogênese das doenças reumáticas. A associação de HLA-B27 com espondilite anquilosante (EA) é um exemplo de forte relação entre uma informação genética e presença de uma enfermidade, inclusive já tendo sido proposta a sua inclusão nos critérios diagnósticos das espondiloartropatias soronegativas. É encontrado em 90% dos pacientes com EA. Entretanto, cerca de 8% de pessoas sadias são HLA-B27 positivas.⁴ Assim, a utilidade clínica desse marcador depende da sua correta utilização e interpretação.

Outros marcadores menos sensíveis, como o HLA-DRB1, associado a Artrite Reumatóide, e o HLA-DR2 e DR3, associados ao LES, podem auxiliar na identificação dessas doenças. Entretanto, não devem fazer parte da rotina clínica, ainda que a sua importância como ferramenta de pesquisa seja inquestionável.²

ÁCIDO ÚRICO

Cerca de 90% dos pacientes portadores de gota apresentam níveis de ácido úrico elevados, porém seu achado isolado não autoriza o diagnóstico, já que 3 a 5% dos indivíduos sadios apresentam hiperuricemia assintomática. Além disso, muitos pacientes apresentam crise aguda com níveis normais de ácido úrico sérico.

O limite superior da normalidade para a uricemia é 7,0 mg/dl para o sexo masculino e 6-6,5 mg/dl para o sexo feminino. Acima dessa concentração, o plasma torna-se supersaturado e poderão se formar cristais de monurato de sódio, que se depositam preferencialmente em locais ricos em tecido conjuntivo, como as articulações, tendões, cartilagens e interstício renal. Alguns fatores, como baixa temperatura, nível de proteínas plasmáticas e dano articular prévio podem favorecer o depósito do monurato de sódio e eclodir a crise aguda.

A hiperuricemia pode ser causada por hiporexcreção renal ou hiperprodução. A uricosúria de 24 horas permite avaliar qual é o mecanismo subjacente à hiperuricemia: diferencia os hiporexcretos dos hiperprodutores. Se o paciente é um normo ou hiperexcretor (maior 800mg/dia) e mantém níveis séricos elevados de ácido úrico, então esse paciente deve ser um hiperprodutor. Se, ao contrário, o paciente é um hiporexcretor (menor 250mg/dia), então a sua hiperuricemia se deve a uma reduzida excreção urinária e esses pacientes podem se beneficiar de terapêutica com uricosúricos.

O diagnóstico definitivo de gota é estabelecido pela demonstração de cristais de urato de sódio no líquido sinovial, no exame de luz polarizada.

ANÁLISE DO LÍQUIDO SINOVIAL

A análise do líquido sinovial, no diagnóstico de doença do tecido conectivo, deve ser considerada tão importante quanto a análise de urina, no estudo de doença renal. Os estudos podem ter especificidade diagnóstica, como por exemplo na artrite séptica ou induzida por cristais. Em outros casos, os achados podem ser inespecíficos, mas ainda assim são úteis na diferenciação de doença articular não-inflamatória da inflamatória. O exame completo do líquido envolve não somente estudos macroscópicos, mas também avaliações bacteriológicas e microscópicas detalhadas.

a) Análise Macroscópica

O líquido sinovial normal apresenta uma coloração amarelo-palha e é suficientemente claro, para que um impresso de letras grandes possa ser lido através dele. A turvação aumenta com o grau de inflamação. A presença de sangue ou xantocromia sugere um possível diagnóstico de fratura, rompimento capsular ou ligamentar, sinovite vilonodular pigmentada e outros tumores ou

discrasias sanguíneas. O sangramento também pode ser observado algumas vezes em pacientes com artrite reumatóide, osteoartrite e pseudogota.²

O líquido sinovial normal apresenta uma viscosidade alta, fluindo lentamente em um tubo de teste invertido e, quando colocado entre os dedos, pode ser esticado por vários centímetros, sem rompimento do fluido (filância). Na presença de inflamação, o líquido torna-se menos viscoso e mais aquoso, com conseqüente redução da filância. O líquido sinovial normal não coagula, por falta de vários fatores essenciais de coagulação por outro lado, os líquidos patológicos coagulam e a rapidez da coagulação aumenta com a severidade da inflamação.⁴

b) Análise Microscópica

O estudo microscópico do líquido sinovial envolve a contagem total de leucócitos com diferencial, determinações de proteína, glicose, cultura para microrganismos e análise para cristais.

Normalmente o número total de leucócitos é menor do que 200 células/mm³ e o diferencial de leucócitos apresenta menos de 25% de células polimorfonucleares. À medida que aumenta o processo inflamatório, a contagem leucocitária total e a porcentagem de células polimorfonucleares aumentam progressivamente. Os níveis de 100.000 leucócitos/mm³, com um diferencial de 95% de polimorfonucleares, são comuns na artrite séptica. Elevações um pouco menos acentuadas ocorrem em pacientes com inflamação induzida por cristais.^{2,4}

A determinação da glicose no líquido sinovial é importante no diagnóstico, principalmente quando se suspeita de artrite séptica. A glicose do líquido sinovial normal varia em uma faixa de mais ou menos 10% da glicemia de jejum. Valores baixos são característicos de artrite séptica grave. Entretanto, podem ocorrer valores baixos também nos pacientes com artrite tuberculosa ou reumatóide crônica.

O valor da proteína do líquido sinovial aumenta proporcionalmente ao grau de inflamação.

Quando se suspeita de infecção, devem-se fazer esfregaços e culturas como rotina. Nos pacientes em que se suspeita de infecção gonocócica, o líquido deve ser semeado diretamente em agar-sangue e agar-chocolate e incubado imediatamente.²

A análise do líquido sinovial quanto à presença de cristais é importante no diagnóstico de gota e pseudogota. A identificação inicial de cristais pode ser feita pela morfologia. Os cristais de urato monossódico (UMS) são lineares e em forma de agulha. Os cristais de pirofosfato de cálcio são lineares ou rombóides. Os cristais de urato exibem uma birrefringência fortemente negativa. Os cristais diidratados de pirofosfato de cálcio (DPFC), por outro lado, são fracamente ou não são birrefringentes.

Além dos cristais, a análise microscópica pode demonstrar partículas protéicas de inclusão no citoplasma de células polimorfonucleares. Essas células com inclusões são chamadas "células AR", pois foram descritas pela primeira vez em efusões sinoviais reumatóides. Embora sejam vistas mais consistentemente e mais freqüentemente na artrite reumatóide, são inespecíficas e podem ocorrer em outras afecções reumáticas.

A presença de fator reumatóide no líquido sinovial tende a apresentar um paralelo positivo no soro. Sua presença no líquido sinovial tem valor diagnóstico limitado, pois um teste positivo pode ser visto em outras afecções reumáticas.

As determinações de complemento no líquido sinovial ajudam no diagnóstico diferencial, os níveis baixos são característicos no LES e AR soro positiva, mas também foram observados na artrite séptica e induzida por cristais. Níveis elevados foram descritos em pacientes com Síndrome de Reiter.²

SUMMARY

LABORATORY IN RHEUMATOLOGY

Rheumatic diseases, which primarily target the locomotor system, affect multiple organs and systems, with their fluctuating course demanding constant clinical and laboratory follow-up.

Laboratory tests, however, may remain unchanged in people with definite rheumatic disease, while many normal people may show false-positive results.

On the other hand, symptoms may precede laboratory alterations in weeks or even months, making a thorough knowledge of such interplay essential for the assistant doctor ordering these exams.

KEY WORDS

rheumatic diseases; locomotor system; laboratory tests

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Pardini, R. Laboratório nas doenças reumáticas. In: Reumatologia: diagnóstico e tratamento, 2ª ed. Rio de Janeiro, Ed. Medsi, 2001: 101-122.
- 2 - Inês, LS. Laboratório em Reumatologia. Acta Reumatológica Portuguesa, 1999; 24: 27-35.
- 3 - Klippel JH, Dieppe PA. Rheumatology, 2ª ed. London, Ed. Mosby, 1998.
- 4 - Emery P, Lugmani R. The validity of surrogate markers in rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1993; 32: 3-8.
- 5 - Hill AGS. C-Reactive Protein in chronic rheumatic diseases. *Lancet* 1951; 807-811.
- 6 - Pereira DA, Silva JA, Elkon KB, Hughes GRV. C-Reactive Protein levels in Systemic Lupus Erythematosus: a classification criterious. *Arthritis Rheum*: 1980; 23: 770.
- 7 - Von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*: 1995; 24: 323-358.
- 8 - II Consenso Brasileiro de Fator Antinuclear em células Hep-2. *Rev Bras Reumatol* 2003; 43: 129-140.
- 9 - Shmerling RH, Liang MH. Laboratory Assessment. In: Primer on the Rheumatic Diseases, 11ª ed. Atlanta, Ed. Arthritis Foundation, 1997: 94-97.
- 10 - Natalino HY, Eloísa SDOB. Análise laboratorial em reumatologia. In: Reumatologia para o clínico. 2000: 222-231.
- 11 - Tighe H, Carson DA. Rheumatic Factors. In: Text Book of Rheumatology, 5ª ed, Ed. W.B.Saunders Company, 1997: 241-249.