

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DAS CIÊNCIAS DA SAÚDE  
MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA**

**RAQUEL ALTOÉ GIOVELLI**

**ANÁLISE HISTOLÓGICA RETROSPECTIVA DE GLÂNDULA  
SALIVAR MENOR EM PACIENTES COM SÍNDROME SECA**

**VITÓRIA**

**2013**

**RAQUEL ALTOÉ GIOVELLI**

**ANÁLISE HISTOLÓGICA RETROSPECTIVA DE GLÂNDULA  
SALIVAR MENOR EM PACIENTES COM SÍNDROME SECA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Medicina do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valéria Valim.

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Carmen Lopes Ferreira Silva Santos.

**VITÓRIA**

**2013**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

G513v Giovelli, Raquel Altoé, 1981-  
Análise histológica retrospectiva de glândula salivar menor em  
pacientes com síndrome seca/ Raquel Altoé Giovelli.  
78 f. : il.

Orientador: Valéria Valim.

Coorientador: Maria Carmen Silva Santos.

Dissertação (Mestrado Profissional em Medicina) –  
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da  
Saúde.

1. Glândulas salivares 2. Diagnóstico. 3. Síndrome de  
Sjögren. 4. Fibromialgia. 5. Biopsia. I. Valim, Valéria. II. Santos,  
Maria Carmen Silva. III. Universidade Federal do Espírito Santo.  
Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

---

**RAQUEL ALTOÉ GIOVELLI**

## **ANÁLISE HISTOLÓGICA RETROSPECTIVA DE GLÂNDULA SALIVAR MENOR EM PACIENTES COM SÍNDROME SECA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Medicina do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito final para obtenção do grau de Mestre Profissional em Medicina.

Avaliação em 18 de novembro de 2013

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valéria Valim

Universidade Federal do Espírito Santo

Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Carmen Lopes Ferreira  
Silva Santos

Universidade Federal do Espírito Santo

Membro interno

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Liliana Aparecida Pimenta de  
Barros

Universidade Federal do Espírito Santo

Membro externo

## AGRADECIMENTOS

Desde já, tenho muitos motivos para agradecer. A Deus, pela vida que me proporcionou, rica em oportunidades, não apenas pelo privilégio de poder estudar, mas pela saúde, força e disposição para superar os obstáculos que se interpuseram no caminho. O encontro de pessoas maravilhosas ao longo da minha vida, que a cada dificuldade estiveram disponíveis a me apoiar, foi fundamental. Seria impossível citar todos os nomes, pois foram muitos. Iniciando pela família, meus pais que sempre me mostraram a importância da educação e me proporcionaram os meios de obtê-la. Meu pai exemplificando com a própria vida de estudante e experiências, e minha mãe impulsionando-me e frisando sempre não desperdiçar qualquer boa oportunidade a mim oferecida. Mãe e Pai amo muito vocês. Agradeço a meu marido Luís Felipe, que mesmo sendo de ramo profissional completamente diferente esteve presente como fiel companheiro, incentivador e compensando minhas faltas domésticas, dividindo nossos momentos de lazer e descanso também para a execução dessa tese, de forma surpreendentemente paciente e motivadora. Muito obrigada, meu amor. Agradeço a meu filho, Luís Geraldo, que mesmo ainda de forma inconsciente, ao mexer em meu ventre, me inspirava força e alegria suficientes para seguir em frente. Obra de Deus em um momento delicado da minha vida. Agradeço a meu irmão Eduardo e a minha cunhada Maria Nazaré, não apenas pela torcida assídua, mas também, no auxílio durante a execução gráfica dos fluxogramas e tabelas.

Agradeço à reumatologista e amiga Érica Vieira Serrana, que com informações de dados dos pacientes do banco analisado, conselhos na execução da tese, motivações, sugestões de correções do artigo, compreensões e substituições nas faltas ocasionais em locais de trabalho em comum foram de grande importância. Agradeço a demais amigos de trabalho, médicos (reumatologistas, residentes e não reumatologistas), enfermeiros e membros da administração da Casa 6 do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM). Agradecimento especial a Cláudia e Marcilene, que com muita boa vontade e paciência ajudaram-me inúmeras vezes na solicitação dos prontuários dos pacientes, além da complementação de

dados demográficos dos mesmos, diante do frequente convívio com eles no ambulatório e surpreendente memória dessas minhas queridas.

Agradeço a todos que deram sua contribuição de alguma forma na operacionalização dessa tese como Maria de Fátima bióloga do laboratório, Adriana enfermeira chefe da Casa 6, Lourdes funcionária do serviço de anatomia patológica e Fabiano estatístico.

Agradeço aos meus colegas de turma de mestrado pelo tempo que partilhamos e pelo incentivo mútuo nos momentos de desânimo.

Agradeço a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Carmen Lopes Ferreira Silva Santos, minha co-orientadora, sempre disponível e solícita, pelo ensino na análise histológica não apenas de glândulas salivares, mas demais tecidos de interesse da reumatologia, por ser compreensível em procurar entender a visão do reumatologista, além das contribuições fundamentais na visão do patologista e experiência em todo processo de elaboração da tese.

Por fim, agradecimento especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valéria Valim que além de ter sido uma orientadora competente e presente, foi a maior entusiasta da realização do meu mestrado. Sua participação se deu desde o momento da sugestão do tema como monografia, ainda no final do 1º ano de residência em Reumatologia, elaboração do desenho do estudo, seguido do incentivo a eu compor a primeira turma do Mestrado Profissional em Medicina do HUCAM aproveitando esse projeto, partilhando as dificuldades, paciência e persistência diante das correções. Durante todo o período de convivência com Dra. Valéria, recebi dela incentivo, reconhecimento dos meus esforços, críticas construtivas, pude desfrutar do seu excelente padrão técnico e de sua dedicação como médica e pesquisadora, além da amizade, ao me encorajar sempre diante dos desafios, dentre eles, o mestrado. É realmente uma pessoa especial, que peço a Deus para abençoá-la em retribuição sempre.

## RESUMO

Introdução: A Síndrome de Sjögren (SS) apesar de prevalente, ainda é pouco diagnosticada. A biópsia de glândula salivar labial (BGSL) é o método diagnóstico com maior acurácia, mas ainda pouco realizada na prática clínica, apesar de fazer parte dos últimos 3 critérios de classificação da doença. O estudo da acurácia da BGSL em uma amostra da prática clínica pode auxiliar a estabelecer quando indicar este procedimento. Objetivos: Este estudo avaliou a utilidade da BGSL para o diagnóstico da SS primária (SSp) estudando a sensibilidade e especificidade da BGSL e o perfil clínico dos pacientes encaminhados para biópsia. Métodos: Análise retrospectiva de laudos anatomopatológicos das BGSL e dados de prontuário de pacientes submetidos à BGSL entre 2008 e 2011. Resultados: Das 290 biópsias realizadas neste período, 74 foram excluídas por dados clínicos insuficientes. Dos 216 pacientes restantes, 0,46% (n=1) era portador de vírus da hepatite C, 30,1% (n=65) apresentava SSp e 8,8% (n=19) SS secundária (SSs). Na amostra, 94,3% (n=203) apresentavam síndrome seca, sendo 51,6% (n=111) somente seca e 42,7% (n=92) outros sintomas associados; 66,9% (n=114) apresentaram fluxo salivar não estimulado e/ou teste de Schirmer I reduzidos. Dentre os pacientes com disfunção lacrimal e/ou salivar associados ao anti-SSA/anti-SSB positivos, 70% (n=14) apresentaram também BGSL compatível com SS e todos preencheram os critérios AEGC para SS. A maioria (85,1%, n=23) sem disfunção lacrimal e salivar, além de anticorpo negativo, tiveram BGSL com < 1 focus score e nenhum preencheu AEGC. A BGSL foi necessária em 67,6% (n=44) para concluir presença de SS baseado no critério AEGC. A sensibilidade e a especificidade da BGSL encontradas foram 86,57% e 97,36% respectivamente. Dos 98 pacientes encaminhados com síndrome seca e fibromialgia, 36,7% (n=36) apresentaram SS e BGSL  $\geq$  1 focus score. Em comparação aos indivíduos sem SS, os pacientes com SS eram mais velhos, apresentaram disfunção salivar e lacrimal mais severa, maior frequência de fibromialgia, de anticorpos FAN, anti-SSA, anti-SSB e mais manifestações sistêmicas. Entre os pacientes com SSp, as manifestações extraglandulares estiveram presentes em 38,46% (n=25) e linfoma em 3% (n=2). Conclusão: A BGSL possui alta sensibilidade e especificidade e tem contribuído na maioria dos casos para o diagnóstico de SS. É especialmente útil em pacientes com disfunção

glandular e anticorpos negativos. A frequência de SS confirmada por BGS� em pacientes com sintomas secura e fibromialgia é elevada e a SS deve ser investigada nestes pacientes.

**Palavras chaves:** Biópsia de glândula salivar labial; Síndrome de Sjögren primária; Critérios para classificação diagnóstica do American-European Consensus Group 2002; Diagnóstico, Fibromialgia.

**ABSTRACT**



**Introduction/Objectives:** In spite of the fact that Sjögren's Syndrome (SS) is prevalent, it is still poorly diagnosed. Labial salivary gland biopsy (LSGB) is the most accurate diagnostic method but little performed in clinical practice, although it is part of the last 3 criteria for disease classification. The study of the accuracy of LSGB in a sample of clinical practice can help establish when recommending this procedure. **Objectives:** This study assessed the usefulness of LSGB for the diagnosis of primary SS studying the sensibility and specificity and the clinical profiles of patients who were referred to biopsy. **Methods:** Retrospective analysis of the anatomopathological reports from LSGB and medical report data from patients who underwent LSGB between 2008 and 2011. **Results:** Two-hundred ninety biopsies were performed during this period, and 74 were excluded due to insufficient clinical data. Of the remaining 216 patients, 0.46% (n=1) was carrier of the hepatitis C virus, 30.1% (n=65) had primary SS and 8.8% (n=19) secondary SS. In the sample, 94.3% (n=203) presented with sicca syndrome with 51.6% (n=111) only having dryness and 42.7% (n=92) having other associated symptoms; 66.9% (n=114) presented unstimulated salivary flow and/or reduced Schirmer test. Among the patients with lachrymal and/or salivary gland dysfunctions associated with positive anti-Ro/anti-La, 70% also showed LSGB compatible with SS and all of them met the American-European Consensus Group criteria 2002 (AEGC) for SS. The majority (85.1%, n=23) with no lachrymal or salivary dysfunctions, besides negative antibody, had LSGB with < 1 focus score and no one met the AEGC. The LSGB was necessary in 67.6% (n=44) in order to conclude the presence of SS based on AEGC criteria. The sensibility and specificity of LSGB were 86.57% and 97.36%, respectively. Of the 98 patients referred with sicca syndrome and fibromyalgia, 36.75% (n=36) presented SS and LSGB  $\geq 1$  focus score. In comparison with individuals without SS, patients with SS were older, showed more severe lachrymal and salivary dysfunctions, greater frequency of fibromyalgia, anti-nuclear antibodies (ANA), anti-SSA-Ro, anti-SSA-La and further systemic manifestations. Among the patients with primary SS, 38,46% (n=25) showed extra glandular manifestations and 3% (n=2) had lymphoma. **Conclusion:** LSGB has a high sensibility and specificity and has contributed to the majority of cases for the diagnosis of SS. It is especially useful in patients with gland dysfunctions and negative antibodies. The frequency of SS confirmed by LSGB in patients with dryness symptoms and fibromyalgia is high and should be investigated in these patients.

**Key words:** Labial salivary gland biopsy, Primary Sjögren's Syndrome, American-European Consensus Group 2002 criteria, Diagnosis, Fibromyalgia

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 -	Infiltrado linfocitário periductal (1 focus score) característico da Síndrome de Sjögren.....	<b>28</b>
Figura 2 -	Técnica de biópsia de glândula salivar por incisão linear foi descrita por Daniels (1984) e Greespan (1974). A seta mostra a glândula salivar exposta pela incisão.....	<b>28</b>
Figura 3 -	Amostra de pacientes incluídos no estudo e prevalência de Síndrome de Sjögren.....	<b>37</b>
Figura 4 -	Anagrama do fluxo de diagnóstico dos pacientes com suspeita de Síndrome de Sjögren.....	<b>38</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 -	Critério para diagnóstico da síndrome de Sjögren (versão revisada pelo Consenso Americano-Europeu em 2002 .....	<b>23</b>
Tabela 2 -	Critérios de Classificação da Síndrome de Sjögren propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia em 2012.....	<b>24</b>
Tabela 3 -	Características Clínicas dos pacientes com Síndrome de Sjögren primária e Síndrome Seca inespecífica.....	<b>39</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

- Síndrome de Sjögren (SS)
- Biópsia de glândula salivar labial (BGSL)
- American-European Consensus Group 2002 (AECG)
- American College of Rheumatology (ACR 2012)
- Síndrome de Sjögren primária (SSp)
- Síndrome de Sjögren secundária (SSs)
- Fibromialgia (FM)
- Artrite reumatóide (AR)
- Lúpus eritematoso sistêmico (LES)
- Fator reumatoide (FR)
- Fator antinúcleo (FAN)
- Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM)
- Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
- Teste de Schirmer I (TS)
- Fluxo salivar não estimulado (FS)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1	CONCEITO, EPIDEMIOLOGIA, ETIOPATOGENESE, MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E TRATAMENTO.....	15
1.2	DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DE SJÖGREN.....	19
1.3	TÉCNICA DE BIÓPSIA DE GLÂNDULA SALIVAR LABIAL.....	26
1.4	SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DA BIÓPSIA DE GLÂNDULA SALIVAR LABIAL.....	29
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	33
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>3</b>	<b>MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>
	<b>ANEXO A.....</b>	<b>53</b>

<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>54</b>
<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>56</b>
<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>68</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONCEITO, EPIDEMIOLOGIA, ETIOPATOGENESE, MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E TRATAMENTO

A Síndrome de Sjögren (SS) pode ser definida como uma doença inflamatória crônica, autoimune, de evolução lenta e progressiva, caracterizada por um infiltrado linfocitário que acomete o epitélio de glândulas exócrinas, principalmente as salivares e lacrimais, que leva a uma diminuição da produção de lágrima e saliva. Além das manifestações glandulares, apresenta manifestações extraglandulares que permitem classificar como uma doença sistêmica<sup>1</sup>.

É a segunda doença reumática autoimune mais frequente. A prevalência varia de 0,1 a 0,4% da população geral, podendo chegar a 3,5 % indivíduos acima de 70 anos<sup>2-6</sup>. No Brasil, a prevalência encontrada foi 0,17%<sup>7</sup>. Além de ser uma doença prevalente, tem impacto sobre a qualidade de vida, nos aspectos físicos e psíquicos<sup>8</sup>. Acomete principalmente mulheres, numa proporção de 9:1, entre 5ª e 6ª décadas de vida, com distribuição universal<sup>9-13</sup>.

A SS pode ocorrer isoladamente (Síndrome de Sjögren primária) ou em associação a outras doenças autoimunes como a artrite reumatóide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES), polimiosite, doença mista do tecido conjuntivo, tireoidite de Hashimoto, cirrose biliar primária e hepatite autoimune. As mais frequentemente associadas são o lúpus eritematoso e artrite reumatóide em cerca de 15% dos pacientes, podendo chegar a 30% em algumas amostras. Dentre as comorbidades mais frequentes estão a fibromialgia em 20 a 50%, diabetes mellitus em 27%, dislipidemia em 22%, hipotireoidismo em 20% e tireoidite de Hashimoto em 7%<sup>14-18</sup>.

Em indivíduos geneticamente predispostos, fatores hormonais e ambientais como o hipoestrogenismo e infecção por Epstein-Baar, Coxsackievirus e herpes vírus resultam na perda do equilíbrio da resposta autoimune. As células epiteliais das glândulas exócrinas são ativadas e passam a recrutar, ativar e promover diferenciação das células imunes. Estas células passam a produzir citocinas que retroativam as células epiteliais alimentando um ciclo vicioso de ativação. As células epiteliais produzem exossomas e vesículas das células apoptóticas contendo antígenos. Estas vesículas podem ser capturadas pelas células apresentadoras de antígenos, em especial as células dendríticas promovendo ativação da resposta imune específica. A ativação de células dendríticas induz a produção de Interferon-alfa que estimula a produção de BAFF (fator de ativação de células B) que junto com as células apresentadoras de antígenos, estimulam o sistema imune adaptativo<sup>18</sup>. A célula epitelial é iniciadora e perpetuadora da resposta imune e inflamatória local e sistêmica. Células epiteliais glandulares de pacientes com SS possuem expressão aumentada de mRNA, expressam moléculas de adesão, MHC classe II, antígeno HLA-DR, receptores Toll-like e moléculas B7, o que corrobora a função dessas células no processo inflamatório, na coestimulação de células T, na organização do foco linfocítico e na perpetuação da doença<sup>19-20</sup>.

Existem dois perfis de manifestações clínicas: sintomas 'benignos' como secura, fadiga e dor, mas com elevado impacto sobre qualidade de vida; e outros sintomas mais graves acometendo órgãos-alvo e que se associam a um aumento da morbidade e mortalidade, com alto risco de desenvolvimento de linfoma. Clinicamente é caracterizada por ceratoconjuntivite seca (xeroftalmia) e xerostomia causadas pela inflamação de glândulas exócrinas, principalmente as salivares e lacrimais<sup>21</sup>. Também ocorre com frequência parotidite, disfonia, queilose, pele seca



(xerodermia), fenômeno de Raynaud, necessidade de ingerir líquidos com frequência, dificuldade para ingerir alimentos secos, perda de peso, vaginite seca<sup>22,23</sup>.

As manifestações extraglandulares ocorrem em cerca de um terço dos casos<sup>24</sup> e indicam a natureza sistêmica desta doença. Podem ocorrer vasculites cutâneas (urticária, úlcera digital, eritema multiforme, nódulos), placas eritematosas em face, polineuropatia periférica, neuropatia de pares cranianos, envolvimento do sistema nervoso central (mielite transversa; lesão central focal como déficit, convulsão, síndrome cerebelar; lesões difusas como encefalopatia, meningite asséptica, distúrbio psiquiátrico, demência, esclerose múltipla símile), miosite, artrite, fadiga, doença pulmonar intersticial, alveolite, acidose tubular renal, diabetes insipidos nefrogênico, cardiopatia por disfunção parassimpática, linfadenopatia, febre baixa, linfopenia, plaquetopenia<sup>22, 25-27</sup>.

A SS possui risco aumentado para neoplasias em geral, especialmente câncer de tireoide, mieloma múltiplo e linfoma Não-Hodgkin (LNH)<sup>28</sup>. Pacientes com Síndrome de Sjögren possuem um risco relativo de 9 a 44 vezes maior de desenvolver linfoma, quando comparados com a população geral. Esta complicação ocorre em aproximadamente 5% dos pacientes com SS<sup>29,30</sup>. O espectro linfoproliferativo varia desde um acúmulo intraglandular de células linfóides passando por proliferação extraglandular (pulmões, linfonodos, baço, fígado e rins) e culmina com doença linfoproliferativa francamente maligna. A presença de púrpura, crioglobulinemia, aumento persistente de parótida, complemento baixo, infiltrado inflamatório exuberante presença de centros germinativos em biópsia de glândula salivar menor são fatores de risco para transformação para linfoma.

O tratamento da síndrome seca inclui o uso de substitutos (saliva e lágrima artificiais) e secretagogos<sup>31</sup> (pilocarpina, cevimelina e N-acetilcisteína) para controle sintomático. Além dessas medidas, a abordagem da xeroftalmia engloba, ainda, colírios lubrificantes, oclusão do ponto lacrimal e uso de drogas imunomoduladoras como ciclosporina tópica e suplementação oral com ômega 3 (óleo de linhaça, por exemplo)<sup>32</sup>.

O tratamento das manifestações glandulares com medicamentos imunossupressores, imunomodulares e biológicos deve ser avaliado caso a caso. A azatioprina e mais recentemente a hidroxicloroquina foram testadas e não mostraram benefício em curto prazo. O rituximabe foi testado em dois ensaios clínicos e tem benefício sobre a fadiga, a secura, a dor e a reduzir o infiltrado inflamatório glandular. Não há recomendação para o uso de agentes biológicos no tratamento de manifestações glandulares, mas podem ser considerados em casos específicos, mais graves e refratários<sup>33</sup>.

Apesar de avanços no entendimento da fisiopatogênese da doença, o tratamento de pacientes com SS é primariamente paliativo e direcionado especialmente aos sintomas de secura. Drogas imunomoduladoras são usadas empiricamente nas manifestações sistêmicas, pois, não existe bom nível de evidência para nortear o seu uso<sup>34</sup>. Por uma extrapolação das evidências em AR, LES, baseado em relatos de casos, casos-controles e estudos não controlados, recomenda-se o uso de hidroxicloroquina e metotrexate para o controle das manifestações articulares. Corticóide e AINE podem ser úteis no controle sintomático. Imunossupressores como pulsoterapia com metilprednisolona, ciclofosfamida, micofenolato mofetil, azatioprina, podem ser usados no acometimento pulmonar, renal e neurológico. Nenhum ensaio clínico foi desenhado para testar os efeitos do rituximabe sobre as

manifestações sistêmicas, mas certamente é uma terapia bem indicada nos casos refratários e graves sistêmicos e na associação com linfoma. Outras opções terapêuticas estão sendo testadas como o belimumabe e o abatacepte e tem mostrado resultados promissores<sup>35, 36</sup>.

## 1.2 DIAGNÓSTICOS DA SÍNDROME DE SJÖGREN

É uma doença subdiagnosticada, em parte pela diversidade e falta de especificidade dos sinais e sintomas, nem sempre concomitantes, baixa prevalência de autoanticorpos e não inclusão de manifestações sistêmicas nos critérios de classificação da doença<sup>22</sup>. Conseqüentemente, o intervalo entre o início dos sintomas da SS e seu diagnóstico é frequentemente longo e demora em média dez anos<sup>34,37</sup>.

A síndrome seca é muito comum e a prevalência na população brasileira é de 18% em adultos abaixo de 65 anos, podendo chegar a 30% na população de idosos<sup>7</sup>. As causas de secura são multifatoriais incluindo uso de medicamentos antidepressivos, anti-hipertensivos, distúrbios hormonais, clima e senilidade. Considerando a elevada frequência de síndrome seca na população em geral, há que se rastrear entre muitos pacientes com secura quais aqueles que preenchem critérios para a SS.

Pode manifestar-se com sintomas inespecíficos como fadiga, dor e secura associado ou semelhante à fibromialgia. Por outro lado, também pode apresentar quadro clínico semelhante à artrite reumatoide, ao lupus eritematoso e pode mimetizar doenças graves como o linfoma, a síndrome de Hiper IgG4 e a esclerose múltipla<sup>38-40</sup>.

É frequente o diagnóstico da manifestação visceral anteceder o diagnóstico da doença. Em uma série de casos observou-se que 30% dos pacientes com SS possuía neuropatia periférica, e que o diagnóstico de SS foi dado cerca de 15 meses depois da início do quadro neurológico<sup>41</sup>. Em outros estudos, pacientes com doença pulmonar intersticial de etiologia indefinida, 30% apresentou biópsia salivar compatível com SS<sup>42</sup> e em pacientes com esclerose múltipla, 16,6% apresentavam critérios para SS<sup>43</sup>.

Os testes confirmatórios de disfunção glandular são úteis no diagnóstico e, também, para dimensionar o impacto da doença. Os testes mais difundidos e de fácil realização sem necessidade do especialista são o teste de Schirmer I (TS) e medida de fluxo salivar total não estimulado (FS). O teste de Schirmer I é realizado por meio de papel de filtro milimetrado colocado na conjuntiva bulbar por 5 minutos. Outras medidas são o tempo de ruptura do filme lacrimal (Break up test – BUT) e a coloração com fluoresceína e lisamina verde. Recentemente, foi proposto pelo Colégio Americano de Reumatologia, a avaliação do olho seco por um escore (Ocular Staining Score – OSS) que pontua 0-12 a coloração da conjuntiva nasal e temporal pela lisamina verde, e a coloração da córnea pela fluoresceína. Outro ponto importante nesta pontuação é a presença de filamentos, coloração sobre a pupila e placas confluentes de coloração<sup>44</sup>. É classificado como olho seco moderado a grave e relevante para o diagnóstico de SS quando o teste de Schirmer I é  $\leq 5$ mm, o BUT é  $\leq 5$  segundos e o OSS  $\geq 3$ . O corante de Rosa-Bengala, apesar da relevância histórica, pois foi introduzido pelo oftalmologista sueco Henrik Sjögren, em 1933, está caindo em desuso por ser desconfortável ao paciente e tem sido substituído pela lisamina verde.

A redução do débito salivar pode ser atestada pela medição de saliva em um

intervalo de 15 minutos. O volume total é pesado em balança de precisão, considerando que 1mg equivale a 1ml. Fluxo salivar total não estimulado  $\leq 1,5\text{ml}/15$  min é relevante para o diagnóstico de SS. A sialografia pode ser de auxílio na confirmação de distorções dos ductos salivares decorrentes do processo inflamatório, mas é um exame desconfortável e pouco usado. É possível obter as mesmas informações com a ressonância magnética. A cintilografia de glândula salivar é um teste que tem se tornado obsoleto<sup>45</sup>.

A análise histopatológica da glândula salivar labial através de biópsia em mucosa labial é considerada o padrão ouro para o diagnóstico da doença. Considera-se sugestivo de SS quando há a presença de 1 ou mais focus score. O focus score é um infiltrado linfocitário com mais de 50 células mononucleares em uma área de 4 mm<sup>2</sup>, na ausência de outras doenças que possam causar sialoadenite semelhante<sup>24</sup>. A biópsia de glândula salivar labial está indicada quando os anticorpos anti-SSA e anti-SSB forem negativos ou diante de critérios incompletos de classificação diagnóstica.

Para se fazer o diagnóstico da doença é extremamente importante excluir outras desordens sistêmicas que podem afetar glândulas exócrinas como sarcoidose, amiloidose, tuberculose, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, hepatite C, linfoma e Síndrome de Hiper IgG4<sup>24,38</sup>.

O Critério Classificatório Europeu-Americano para diagnóstico da SS, publicado em 2002, possui sensibilidade de 96,1% e especificidade de 94,2% (Tabela 1). Um novo critério classificatório para SS foi proposto e validado recentemente pelo Colégio Americano de Reumatologia<sup>44</sup>, com sensibilidade de 92,5% e especificidade de 95,4%. É um critério mais simples que inclui somente parâmetros objetivos como

auto-anticorpos, teste ocular e biópsia de glândula salivar menor e sua utilização tem sido discutida internacionalmente, de forma que ainda não há um consenso em usá-lo em substituição ao critério de 2002. As principais diferenças em relação ao critério anterior de 2002 são: excluiu os sintomas subjetivos, incluiu a presença de FAN+/FR+ como critério imunológico, substituiu o Rosa Bengala pelo OSS (lisamina verde e fluoresceína), aboliu o teste de Schirmer e todos os testes funcionais para disfunção salivar. Este novo critério também incluiu a Síndrome de HiperIgG4 entre os diagnósticos diferenciais que necessitam ser descartados na investigação inicial (ver Tabela 2).

Não parece haver evidência de superioridade do novo ACR sobre o AECG. Embora o ACR 2012 tenha a vantagem de substituir a Rosa Bengala pela lisamina, ser mais simples e ter excluído testes pouco utilizados como a sialografia e cintilografia, tem a desvantagem de ter suprimido o teste de Schirmer e o fluxo salivar que podem ser realizados facilmente em consultório. Para melhorar a acurácia diagnóstica será necessário mais conhecimento sobre a patogênese do que o atualmente disponível, de forma que atualmente a biópsia salivar permanece como o critério com maior sensibilidade e especificidade<sup>45,46</sup>.

A revisão dos critérios de classificação provavelmente irá incluir a ultrassonografia que tem sensibilidade em torno de 50% e especificidade de 90%<sup>47</sup>.

**Tabela 1- Critério para diagnóstico da síndrome de Sjögren (versão revisada pelo Consenso Americano-Europeu em 2002)**

- 1) Sintomas oculares: resposta positiva a pelo menos uma das questões a seguir:
  - a) Você tem apresentado sensação diária e persistente de olho seco há mais de 3 meses?
  - b) Você tem apresentado sensação de areia ou corpo estranho nos olhos?
  - c) Você necessita de usar colírio substituto de lágrima mais que 3 vezes ao dia?
- 2) Sintomas orais: resposta positiva pelo menos a uma das questões a seguir:
  - a) Você tem apresentado sensação diária de boca seca há mais de 3 meses?
  - b) Você tem apresentado aumento decorrente ou persistente de glândulas salivares após a idade adulta?
  - c) Você necessita de beber líquidos para ajudar a deglutir alimentos mais secos?
- 3) Sinais oculares: resultado positivo pelo menos a um dos testes a seguir:
  - a) Schirmer 1  $\leq$  5 mm em 5 minutos
  - b) Rosa bengala  $>$  4 de acordo com os escores de Bijsterveld
- 4) Histopatologia de glândulas salivares menores: escore  $\geq$  1 foco/4 mm<sup>2</sup> de infiltrado linfoplasmocitário (1 foco é o aglomerado de 50 ou mais linfócitos ou plasmócitos).
- 5) Envolvimento de glândulas salivares: resultado positivo em pelo menos um dos exames a seguir:
  - a) Fluxo salivar não-estimulado  $\leq$  1,5 ml/15 minutos
  - b) Sialografia de parótida mostrando sialectasias difusas, sem evidência de obstrução dos ductos maiores.
  - c) Cintilografia salivar com atraso na captação, redução e na concentração e/ou atraso na secreção do traçador.
- 6) Auto-anticorpos: presença dos anticorpos séricos a seguir:
  - a) Anti-SS-A/Ro ou anti-SS-B/La, ou ambos.

**Diagnóstico**

- Síndrome de Sjögren primária:  
Presença de 4 itens positivos em 6, desde que o item 4 ou item 6 seja positivo.
- Síndrome de Sjögren secundária: excluir o item 6 para essa avaliação  
Resposta positiva aos itens 1 ou 2 + duas respostas positivas entre os itens 3 e 5.

**Critério de Exclusão**

- Radioterapia anterior de cabeça e pescoço
- Infecção por Hepatite C
- AIDS
- Linfoma Preexistente
- Sarcoidose
- Doença enxerto-*versus*-hospedeiro
- Uso de drogas anticolinérgicas

**Tabela 2 - Critérios de Classificação da Síndrome de Sjögren propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia em 2012**

Estes critérios se aplicam a indivíduos com sinais/sintomas que podem ser sugestivos de SS.

São classificados como Síndrome de Sjögren, pacientes que apresentarem pelo menos 2 entre os 3 seguintes critérios objetivos:

1. Presença de anti-SSA-Ro e/ou anti-SSB-La ou (fator reumatoide positivo e ANA título  $\geq 1:320$ ).
2. Sialadenite linfocítica focal com presença de focus/score  $\geq 1$  focus/ 4 mm<sup>2</sup>
3. Ceratoconjutivite seca com escore de coloração ocular com  $\geq 3$  (válido para pacientes que não estejam em uso de colírio para glaucoma e não tenham sido submetido à cirurgia em córnea ou estética de pálpebras nos últimos 5 anos).

Os seguintes diagnósticos devem ser excluídos:

História de radioterapia de cabeça e pescoço

Hepatite C

Síndrome de Imunodeficiência adquirida

Sarcoidose

Amiloidose

Doença de enxerto versus hospedeiro

Síndrome de Hiper IgG4

Os anticorpos característicos da SS, Anti-SSB encontrado em cerca de 15-40% e anti-SSA em cerca de 30-60%, embora sejam marcadores de doença, não são específicos da SSp, pois podem ser encontrados em pacientes com LES sem nenhuma evidência de síndrome seca. Ainda assim, os anticorpos anti-SSA e anti-SSB têm especificidade e sensibilidade moderadas, apresentando utilidade na definição diagnóstica da enfermidade em conjunto com outros critérios<sup>26,48,49</sup>.

Fator Reumatóide (FR), presente em 30 a 50% na SS<sup>50-53</sup>, e o fator antinúcleo (FAN) em 80% dos casos<sup>54</sup>, não são específicos o suficiente para diferenciar a SS de outras doenças do tecido conjuntivo. Porém, quando presentes simultaneamente



deve-se suspeitar de SS. O padrão mais comum de FAN é o pontilhado fino justamente pela presença de anti-SSA e anti-SSB.

A presença do infiltrado linfocitário  $\geq 1$  focus score/4mm<sup>2</sup> presente na BGSL permanece considerada de grande utilidade no diagnóstico de SS, haja visto sua permanência nos novos critérios propostos em 2012 pelo grupo Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) (ACR 2012), fundado pelo National Institutes of Health (NIH). A aplicação do mesmo para o diagnóstico de SS requer a presença de ao menos 2 dos 3 itens selecionados: 1) positividade do anti-SSA ou anti-SSB ou (positividade do FR e do FAN com títulos  $\geq 1:320$ ), 2) escore de coloração ocular  $\geq 3$ , ou 3) presença de sialoadenite linfocítica com  $\geq 1$  focus score/4mm<sup>2</sup> em amostra de BGSL<sup>38</sup>. Até recentemente, poucos agentes terapêuticos estiveram disponíveis para o manejo sistêmico da SS, por isso, o desenvolvimento de critérios de classificação para SS eram desenvolvidos apenas com o propósito de estudos epidemiológicos para se estimar a prevalência da doença. Os critérios ACR 2012 foram, então, elaborados com a justificativa da necessidade de critérios de fácil aplicação, utilizando testes objetivos, com alta sensibilidade e especificidade (92,5% e 95,4% respectivamente), diante da emergência de agentes biológicos como tratamento potencial para SS e desses estarem associados a possível desencadeamento de comorbidades<sup>38</sup>.

Deve-se lembrar, entretanto, de excluir demais causas de sintomas de secura e/ou aumento de glândulas salivares antes de se buscar o diagnóstico de SS. Dentre a ampla gama de diagnósticos diferenciais de secura destacam-se: infecção por vírus hepático C, HIV, HTLV, Linfoma, Sarcoidose, Amiloidose, Diabetes descompensado, desidratação, reação enxerto versus hospedeiro, uso recente de medicações com propriedades anticolinérgicas (antidepressivos tricíclicos, antipsicóticos de baixa

potência, antiparkinsonianos, inibidores da monoamino-oxidase, anti-histamínicos, certos antiarrítmicos e anti-hipertensivos, etc.), uso de diuréticos, uso de lentes de contato, uso frequente da tela do computador, passado de radioterapia na cabeça e pescoço<sup>23,25</sup>.

Nas doenças reumáticas em geral, e na SS em particular, não existe um exame que defina por si só o diagnóstico da doença e por isso a avaliação clínica feita por reumatologista experiente é considerado o padrão ouro para o diagnóstico. Acredita-se, dessa forma, que no futuro para o diagnóstico de SS seja novamente revisto incluindo manifestações sistêmicas e outras evidências de envolvimento do sistema imunológico.

Acredita-se ,também, ser necessário difundir mais as técnicas de biópsia labial, sialometria e testes de disfunção lacrimal, bem como os critérios histológicos junto aos patologistas, visando melhorar a capacidade diagnóstica dos serviços de reumatologia. Além disto, toda a comunidade científica interessada em estudar SS anseia e investe em outras metodologias e técnicas inovadoras<sup>21</sup>.

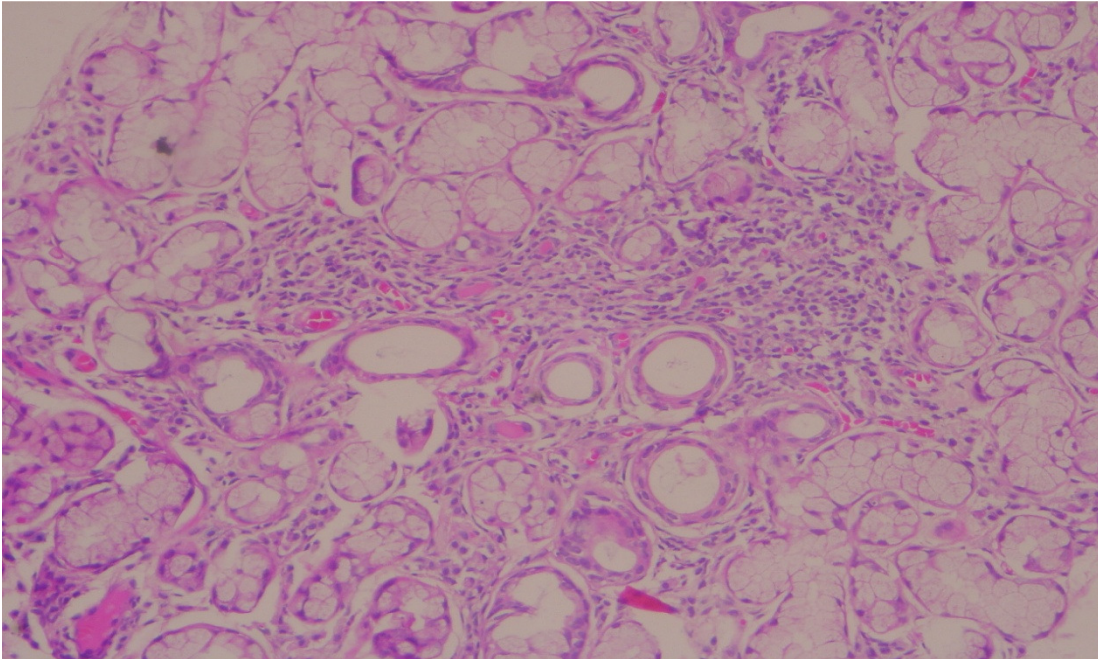
### 1.3 TÉCNICA DE BIÓPSIA DE GLÂNDULA SALIVAR LABIAL

Cada glândula salivar menor normal é formada por ácinos (com células mucosas e serosas) e um sistema de ductos (que se abrem na cavidade oral) agrupados em lobos e lóbulos. Essas glândulas recebem sua denominação segundo a região onde se apresentam como nas glândulas labiais, bucais, palatinas, glosso-palatina e linguais<sup>48</sup>. A principal alteração patológica da SS é essa infiltração linfocítica que afeta mais frequentemente as glândulas salivares e lacrimais. O infiltrado consiste de agregados focais (50 ou mais células) de linfócitos principalmente ao redor dos ductos podendo se espalhar. Os infiltrados linfocíticos são rodeados por ácinos e

permanecem aparentemente normais(Figura 1). Há uma hiperplasia do epitélio ductal salivar que contribui para o alargamento da glândula<sup>55</sup>. Assim, a sialoadenite focal vista à biopsia de glândula salivar menor é um dos principais itens dentre os critérios diagnósticos<sup>56</sup>.

No entanto, por ser um método invasivo e que requer profissionais treinados para a técnica da BGSL e para a análise histológica, a BGSL ainda não é amplamente realizada(Figura 2). Este fato provavelmente contribui também para a dificuldade no diagnóstico de SS. A indicação para a realização da BGSL ainda não está bem estabelecida e poucos estudos avaliaram sua acurácia<sup>57</sup>. A técnica abaixo é rotineiramente realizada no serviço de Reumatologia do HUCAM, e é uma adaptação da “técnica de incisão linear”, descrita por Daniels em 1984<sup>58</sup>.

**Figura 1 – Infiltrado linfocitário periductal (1 foco) característico da Síndrome de Sjögren.**



**Figura 2- Técnica de biópsia de glândula salivar por incisão linear foi descrita por Daniels (1984) e Greespan (1974). A seta mostra a glândula salivar exposta pela incisão.**



Faz-se o bloqueio mentoniano com anestésico local. O local é escolhido visualizando e palpando as glândulas, observando vasos e nervos por transparência. É feita incisão da mucosa sobre a glândula, 0,5 a 1 cm, comprimindo externamente para facilitar a exposição e hemostasia. Durante a dissecação da glândula tem-se atenção para não lesar feixes nervosos e evitam-se novas incisões em áreas de cicatrizes prévias. Sutura-se com fio catgut 5.0, em média 3 pontos.

#### 1.4 SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DA BIÓPSIA DE GLÂNDULA SALIVAR LABIAL

A dificuldade diagnóstica da SS reflete em constantes tentativas de revisão dos critérios de classificação, retratada pelos sete diferentes critérios de classificação criados nos últimos 25 anos<sup>59</sup> e, na maior parte deles, a análise histológica da biópsia de glândula salivar labial (BGSL) é um método de grande importância. Ela é obrigatória para o diagnóstico de SS na ausência de anticorpo anti-SSA e/ou anti-SSB positivo pelos critérios do Consenso Americano-Europeu de 2002 (AEGC); está entre os 3 dos itens dos novos critérios propostos pelo American College of Rheumatology em 2012(ACR 2012)<sup>54</sup>.

Poucos estudos avaliaram a utilidade da BGSL no diagnóstico da SSp. Em recente revisão sistemática foram encontradas 238 publicações, porém apenas 9 puderam ser incluídas na análise. Muitos foram excluídos por n insuficiente, focus score não usual utilizado na análise histológica ou ausência de relato do focus score, a própria BGSL referida como padrão ouro para análise, estudos realizados em populações específicas.

Apenas Quatro dos 9 estudos selecionados nessa revisão apresentaram desenho prospectivo. Oito deles utilizaram os critérios AEGC para o diagnóstico de SS com a

inclusão do focus score  $\geq 1$  a BGSL<sup>59</sup>. Obinata e colaboradores foi o único dentre os trabalhos que utilizou os critérios revisados Japoneses para o diagnóstico de SS, e não inclui a análise da BGSL em amostra de 73 pacientes. O estudo avaliou a confiabilidade do diagnóstico e correlação de cada tipo de exame complementar utilizado no diagnóstico de SS, encontrando prospectivamente 63,9% de sensibilidade, 91,9% de especificidade da BGSL, embora o coeficiente de correlação entre sialografia e ultrassonografia tenha sido significativamente maior se comparado a BGSL para o diagnóstico. Conclui ainda que a ultrassonografia pode ser usado como uma ferramenta de diagnóstico para o SS, com a vantagem do método ser não invasivo e de fácil uso<sup>60</sup>.

Sensibilidade e especificidade da BGSL de 93,7% e 100% respectivamente foi encontrada no estudo prospectivo de Kessel e colaboradores, dentre os estudos da revisão que utilizaram o AECG e o focus score  $\geq 1$  para o diagnóstico de SS. O objetivo do trabalho com amostra de 41 pacientes foi avaliar o quanto a triagem inicial com anti-SSA/anti-SSB é boa o suficientes para o diagnóstico de SS se comparado a BGSL. Concluíram que apenas os indivíduos com resultados negativos para os anticorpos precisam ser submetidos à realização da BGSL, visto que dos 12 pacientes com anti-SSA / SSB positivos, 11 apresentaram focus score  $\geq 1$  para SS. Dos 29 pacientes negativos para anti-SSA/SSB, apenas 4 manifestaram BGSL negativa<sup>61</sup>.

O único estudo que para o diagnóstico de SS foi utilizado a opinião do especialista cego para o resultado da BGSL foi o do Cornec e colaboradores, com amostra de 158 pacientes. Encontrou-se sensibilidade e especificidade de 80.8% e 83.8% respectivamente para BGSL com focus score  $\geq 1$ <sup>62</sup>.

Em estudo retrospectivo incluído na revisão, com amostras de 452 pacientes realizada por Caporali e colaboradores foi encontrado sensibilidade de 69,3% e especificidade de 94,5%, utilizando o critério AECG para o diagnóstico de SS, com cumulativos focus scores  $\geq 1$  encontrados em seções de multiníveis da BGSL. Em 51(41%) dos 124 pacientes com SS, a BGSL foi essencial para atingir o número de critérios necessários para o diagnóstico<sup>63</sup>. Morbini e colaboradores também avaliou a BGSL em 3 níveis diferentes de cortes, com intervalo de 200 $\mu$ m entre eles, afirmando dessa forma aumento da especificidade da análise histológica quando focus score encontrado esteve entre  $\geq 1$  e  $< 2$ . A sensibilidade e a especificidade encontradas foram 85,7% e 89.7% respectivamente<sup>64</sup>.

Um estudo de seguimento através da realização de BGSL com focus scores  $\geq 1$  para o diagnóstico da SS, com amostra de 191 pacientes, foi encontrado sensibilidade e especificidade de 81,7% e 83%, respectivamente para o método. Objetivo desse estudo entretanto, foi demonstrar que repetir realização da BGSL muito raramente acrescenta novas informações, pois só houve mudança histológica a favor do diagnóstico de SS em 3 pacientes da amostra (1,6%)<sup>65</sup>.

Nakamura e colaboradores avaliaram retrospectivamente a utilidade dos critérios AECG em amostras de 112 japoneses, obtendo sensibilidade de 92,1% e especificidade de 61,2% da BGSL para o diagnóstico de SS, incluídas na revisão<sup>66</sup>. Também Yazisiz e colaboradores demonstraram a BGSL ter o maior valor preditivo positivo para o diagnóstico de SSp em amostra de 170 pacientes, com sensibilidade 79% e especificidades 100% do método. Concluiu ainda que os marcadores sorológicos (auto-anticorpos) apresentam maior valor preditivo comparado com os sintomas clínicos para o diagnóstico de SSp<sup>50</sup>.

Milic e colaboradores demonstraram maior acurácia da ultrassonografia para o diagnóstico de SSp, se comparado os métodos invasivos cintilografia das glândulas salivares e a BGSL. Eles encontraram sensibilidade de 63,5% e especificidade de 89.3% da BGSL para o diagnóstico de SSp<sup>67</sup>.

Assim sendo, diante de um fluxo diagnóstico para investigação de SS, montado de forma sistematizada, no Hospital da Universitário Federal do Espírito Santo (HUCAM), há cerca de 10 anos, e que representa a maior experiência brasileira neste assunto, surgiu a ideia de se identificar o valor diagnóstico de BGSL na investigação de pacientes com suspeita clínica de SS, e avaliar a sensibilidade e especificidade do método. O estudo da acurácia da BGSL em uma amostra da prática clínica pode auxiliar a estabelecer o perfil de pacientes que mais podem se beneficiar e ser uma evidencia para consensos e recomendações sobre quando indicar este procedimento.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL:

- 1) Avaliar a utilidade da biópsia de glândula salivar labial para o diagnóstico de Síndrome de Sjögren.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 2) Estudar a sensibilidade e a especificidade da BGSL em pacientes com suspeita clínica de SS;
- 3) Medir a frequência em que o critério histológico foi necessário para definir o diagnóstico de Síndrome de Sjögren baseado nos critérios Americano-Europeu;
- 4) Comparar os sintomas e comorbidades de pacientes com Síndrome de Sjögren com Síndrome Seca inespecífica;
- 5) Estudar a prevalência de Síndrome de Sjögren em pacientes com suspeita diagnóstica encaminhados para biópsia;
- 6) Avaliar a prevalência de Síndrome de Sjögren em pacientes com fibromialgia e síndrome seca;

### 3 MÉTODOS

Estudo transversal de todos os registros de laudos anatomopatológicos de BGSL, no período de Março de 2008 a Março de 2011, pesquisados no arquivo eletrônico do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os pacientes submetidos à BGSL, sistematicamente, responderam às perguntas padronizadas sobre secreta ocular e oral contidos nos critérios AEGC e realizaram teste de Schirmer I e fluxo salivar não estimulado na mesma ocasião da BGSL. Estes e outros dados demográficos e clínicos como a indicação da BGSL, resultados dos autoanticorpos (anti-SSA, anti-SSB, FAN e FR), manifestações extraglandulares e comorbidades foram retrospectivamente obtidos através da revisão dos prontuários utilizando formulário padronizado (anexo 7.2). Os pacientes foram classificados como SS baseado nos critérios AECG<sup>24</sup>.

Pacientes sem dados suficientes para o diagnóstico de SS ou que perderam seguimento foram excluídos da análise. A sensibilidade e a especificidade da BGSL foram calculadas considerando a opinião do especialista como padrão-ouro.

Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo em 26 de Outubro de 2011 com o número 241/11 (anexo 7.1).

Foram utilizados teste de Mann-Whitney e teste z (qui-quadrado) para comparação entre pacientes com e sem SS. Para todos os testes, o nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

Duzentos e noventa indivíduos foram submetidos à BGSF no período estudado para investigação de SS. Foram excluídos 74 pacientes porque não havia informações clínicas suficientes. Os pacientes eram 87,5% mulheres de  $47,7 \pm 12,45$  anos. Dos 216 analisados, 0,48% (n=1) era portador de vírus da hepatite C, 30,1% (n=65) preencheram critério para SS primária (SSp) e 19 (8,8%) para SS secundária (SSs), sendo 8 com Lúpus Eritematoso Sistêmico, 6 com Artrite Reumatoide, 1 com Esclerose Sistêmica, 1 com Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide, 3 com sobreposição (Figura 3).

Na amostra, 94,3% (n=203) dos pacientes foram encaminhados para investigação por apresentarem síndrome seca, sendo que destes, 51,6%(n=111) tinham somente secura e 42,7%(n=92) apresentavam manifestações extraglandulares associadas. Apenas 5,5% (n=12) pacientes foram encaminhados com manifestações extraglandulares sem síndrome seca (2 polineuropatia, 1 FAN positivo e poliartralgia, 3 FAN positivo e poliartrite, 1 vasculite do Sistema Nervoso Central, 1 parotidite de repetição, 1 febre reumática + regurgitação mitral, 1 esclerite, 1 pancitopenia, 1 poliartrite e posteriormente definido como artrite reumatoide).

O fluxo de investigação para o diagnóstico de SS está demonstrado na Figura 4. Dos pacientes encaminhados com suspeita clínica, 66,9% (144) apresentaram testes funcionais alterados (fluxo salivar não estimulado e teste de Schirmer I reduzidos). Setenta por cento (n=14) dos pacientes com disfunção lacrimal ou salivar que apresentaram anti-SSA/anti-SSB positivos, apresentaram BGSF compatível com SS e preencheram os critérios AEGC para SSp. A grande maioria (85,1%/23) dos pacientes sem disfunção lacrimal e salivar, além de anticorpo negativo, tiveram

BGSL < 1 focus score e nenhum preencheu AECG para SS. A BGSL foi necessária em 67,6%(n=44) dos pacientes como quarto critério do AECG para se definir o diagnóstico de SS.

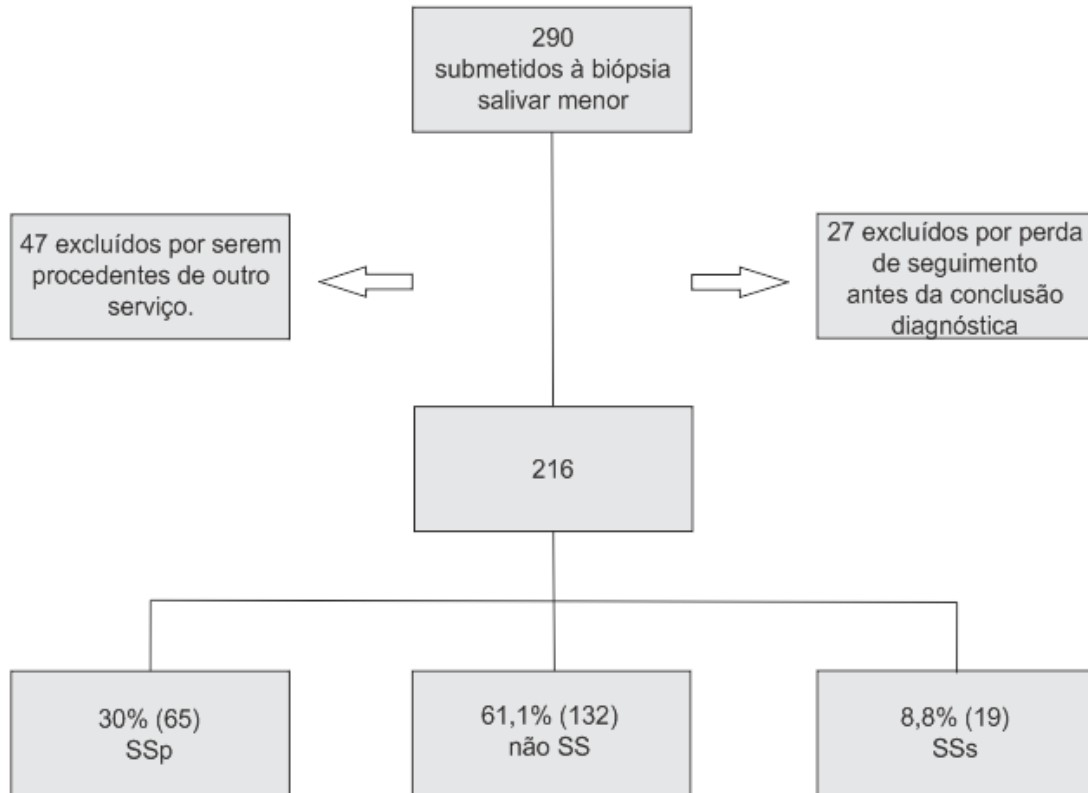
Em comparação aos indivíduos sem SS, os pacientes com SS eram mais velhos, apresentaram disfunção salivar e lacrimal mais severa, maior frequência de anticorpos FAN, anti-SSA, anti-SSB e mais manifestações sistêmicas (Tabela 3).

A presença de FAN  $\geq 1/320$  e FR positivo concomitante com anti-SSA e anti-SSB negativos ocorreu em apenas 2,3% (n= 5) dos pacientes. Destes, 2 apresentaram BGSL  $\geq 1$  focus score e diagnóstico de SS baseado na opinião do especialista. Nos demais, a biópsia e a opinião do especialista também foram concordantes, ambas negativas para SS. Nos pacientes com SSp, as manifestações extraglandulares estiveram presentes em 38,46% (n=25), sendo as mais frequentes a artrite e neuropatia periférica. Alterações hematológicas (anemia, leucopenia ou plaquetopenia), vasculite cutânea, comprometimento pulmonar (doença pulmonar intersticial ou bronquiolopatia), comprometimento renal (glomerular, tubular ou intersticial) e eventos trombóticos foram outras manifestações sistêmicas presentes. Linfoma foi observado em 3% (n=2) dos pacientes com SSp (Tabela 3).

Fibromialgia foi a comorbidade mais prevalente entre os pacientes com SSp (63%, n=41). Dos 98 pacientes portadores de fibromialgia encaminhados por apresentar síndrome seca, 36,7% (n=36) apresentaram BGSL compatível com SS ( $\geq 1$  focus score) (Tabela 3).

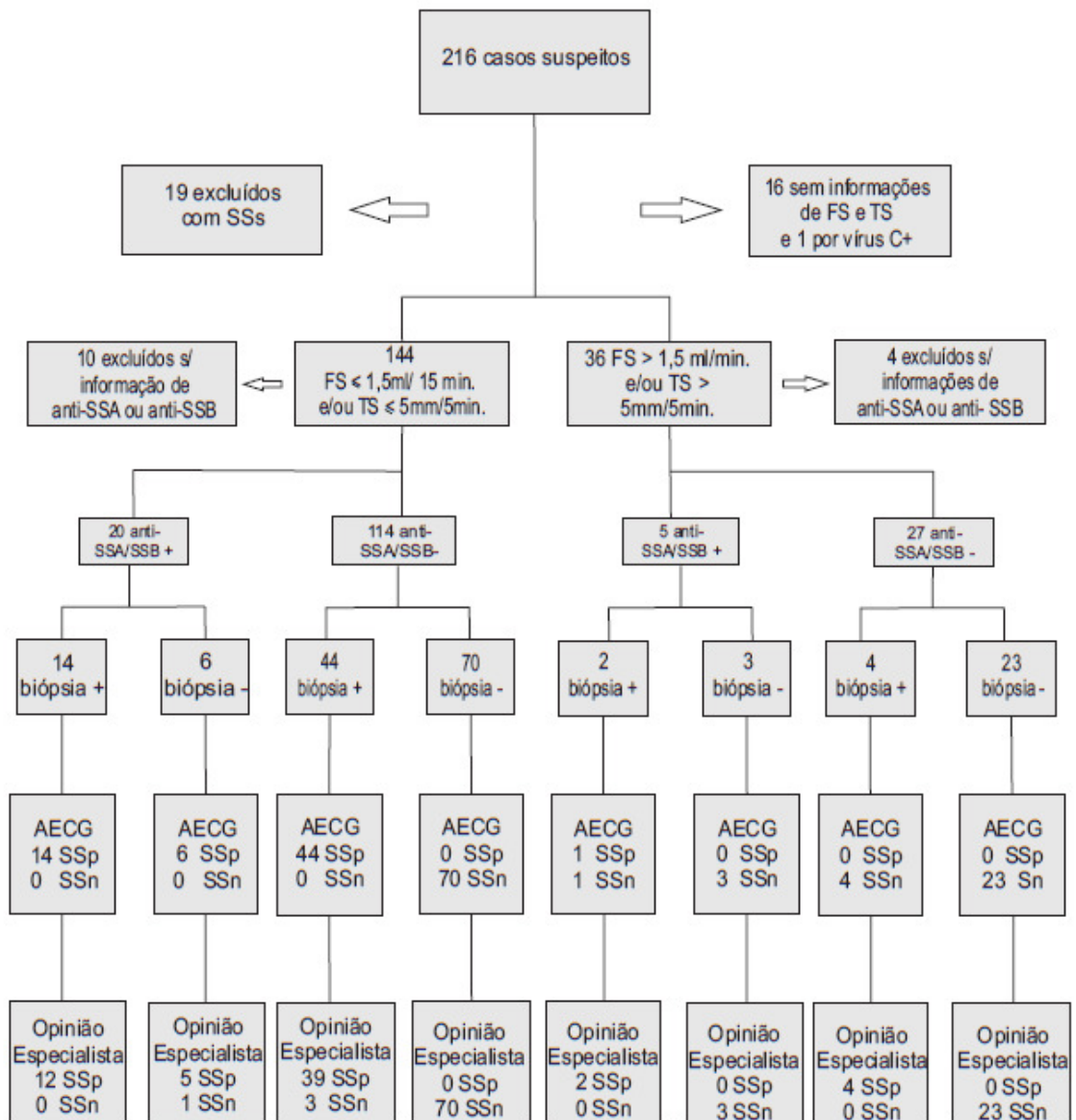
A sensibilidade e a especificidade da BGSL para o diagnóstico de SS foram 86,57% e 97,43% respectivamente. Para esse cálculo, foram incluídos 183 pacientes, pois

dos 216 pacientes da amostra total, foram excluídos 19 pacientes com SS secundário e 13 pacientes que não havia a opinião do especialista no prontuário.



**Figura 3 – Amostra de pacientes incluídos no estudo e prevalência de Síndrome de Sjögren**

SSp: Síndrome de Sjögren primária de acordo com AECG, SSs: Síndrome de Sjögren secundária de acordo com AECG, 8 LES: Lupus Eritematoso Sistêmico, 6 AR: Artrite Reumatoide, 1 SAF: Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide, 1 ES: Esclerose Sistêmica, 3 Sobreposição (ES, SAF, SS).



**Figura 4 - Anagrama do fluxo de diagnóstico dos pacientes com suspeita de Síndrome de Sjögren.**

FS: fluxo salivar não estimulado; TS: teste de Schirmer; anti-SSA/SSB +: anti-SSA e/ou anti-SSB positivos; anti-SSA/SSB -: anti-SSA e/ou anti-SSB negativos; Biópsia +: biópsia de glândula salivar labial  $\geq 1$  foco score; Biópsia -: biópsia de glândula salivar labial  $< 1$  focus score; AECG: critérios do Consenso Americano Europeu 2002; SSp: Síndrome de Sjögren primária; SSn: não Síndrome de Sjögren.

Tabela 3 – Características Clínicas dos pacientes com Síndrome de Sjögren primária e Síndrome Seca inespecífica.

	Síndrome de Sjögren primária (AECG) n=65	Síndrome seca inespecífica n=132	*p-valor
Idade (anos)**	49,6 ± 12	45,8 ± 12,9	<b>0,02</b>
Sexo (Mulheres)	65 (98,5%)	123 (94,6%)	0,36
Sintomas orais	60 (90,9%)	95 (85,6%)	0,42
Sintomas oculares	61 (92,4%)	90 (81,1%)	0,07
Fluxo Salivar não estimulado (≤1.5ml/15min)	53 (80,3%)	51 (46,4%)	<b>0,00</b>
Teste de Schirmer (≤ 5mm)	42 (70,0%)	50 (56,2%)	0,13
Biopsia de glândula salivar labial ≥ 1 focus score	59 (89,4%)	7 (5,4%)	<b>0,00</b>
Anti-SSA e/ou anti-SSB	21 (32,3%)	6 (6,2%)	<b>0,00</b>
Fator Reumatoide (látex)	14 (25,9%)	22 (21,0%)	0,62
FAN	39 (66,1%)	44 (40,0%)	<b>0,00</b>
<b>Manifestação extraglandulares</b>			
Artrite	14 (21,2%)	6 (4,6%)	<b>0,00</b>
Neuropatia periférica	8 (12,1%)	0 (0,0%)	<b>0,00</b>
Manifestação Hematológica	5 (7,6%)	1 (0,8%)	<b>0,03</b>
Púrpura Trombocitopênica Imune	3 (4,5%)	0 (0,0%)	0,06
Vasculite cutânea	3 (4,5%)	1 (0,8%)	0,23
Comprometimento pulmonar	4 (6,1%)	0 (0,0%)	<b>0,02</b>
Comprometimento renal	4 (6,1%)	0 (0,0%)	<b>0,02</b>
Linfoma	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0,22
<b>Comorbidades</b>			
Fibromialgia	41(63%)	57(43,8%)	<b>0,01</b>
Hipertensão	26 (39,4%)	38 (29,2%)	0,20
Dislipidemia	10 (15,2%)	12 (9,2%)	0,31
Diabetes Mellitus	4 (6,1%)	13 (10,0%)	0,52
Depressão	8 (12,1%)	12 (9,2%)	0,70
Hipotireoidismo, Doença de Graves	8 (12,1%)	9 (6,9%)	0,34
Osteoporose/Osteopenia	8 (12,1%)	9 (6,9%)	0,34
Osteoartrite	20 (30,3%)	28 (21,5%)	0,24
Trombose Venosa Profunda/ Tromboembolismos pulmonar	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0,22
Neoplasias	5 (7,6%)	2 (1,5%)	0,08

\*Teste z (quadrado).

## 5 DISCUSSÃO

Este foi um estudo sobre o valor diagnóstico da BGSL no mundo real. Observamos que a BGSL possui alta sensibilidade (86,5%) e especificidade (97,4%) para o diagnóstico de SS e foi necessária em 67,6% dos casos suspeitos como quarto critério AEGC para definir o diagnóstico. A sensibilidade e especificidade da BGSL variaram respectivamente de 63,5% a 93,7% e de 61,2% a 100% em outros estudos<sup>59</sup>.

Nosso estudo mostrou que pacientes com suspeita clínica e disfunção salivar ou lacrimal confirmada por testes objetivos (fluxo salivar não estimulado e/ou teste de Schirmer) associados à anti-SSA/SSB positivo apresentaram SS em 70% dos casos. Nestes pacientes a BGSL não acrescenta acurácia diagnóstica. Por outro lado, pacientes suspeitos com testes funcionais alterados e critérios incompletos devem ser submetidos à BGSL, pois somente ela pode discriminar pacientes com e sem SS. A padronização de um algoritmo de investigação em consensos e diretrizes poderá contribuir para aumentar o número de casos diagnosticados.

O fluxo salivar não estimulado e o teste de Schirmer foram retirados dos novos critérios propostos pelo ACR 2012<sup>38</sup>. No entanto, são testes simples, facilmente realizáveis em consultórios e ambulatórios e são úteis para rastrear quais pacientes devem ser submetidos à BGSL. As alterações de fluxo salivar foram mais intensas nos pacientes com SS comparados àqueles com secura inespecífica e parece ser útil no diagnóstico da doença.

No presente estudo, a frequência de SS em casos suspeitos foi 38,9%, sendo 30,1% SSp e 8,8% SSs. A frequência de SS em casos suspeitos, seja por síndrome seca,



ou por manifestações sistêmicas, utilizando os AECG variou de 32,8% a 79,2%<sup>38,50,57,62-65</sup> em outros estudos.

Apesar da SS ser uma doença heterogênea, a grande maioria dos pacientes são encaminhados para investigação por apresentarem síndrome seca. A síndrome seca ocorre na SS com variação de frequência entre 75,7% a 96,7%<sup>61,64-69</sup>. Portanto a queixa de secura, embora inespecífica, é o sintoma-guia desta doença. Os parâmetros subjetivos dos AECG são instrumentos úteis e frequentemente utilizados no rastreamento de SS na prática clínica. Embora possam ser inespecíficos demais para permanecerem como critérios de classificação, são úteis para rastreamento.

Sintomas de secura também são frequentemente identificados em pacientes sem SS. Possíveis diagnósticos diferenciais incluem envelhecimento, efeitos colaterais de drogas, hipotireoidismo, infecção viral ou fibromialgia. Estudo publicado previamente demonstrou que pacientes com síndrome seca que não preencheram critérios para SS ou para qualquer outra doença do tecido conjuntivo, apresentavam fibromialgia e síndrome da fadiga crônica<sup>70</sup>. Em nosso estudo, na análise comparando pacientes com síndrome seca com e sem SS, observou-se uma alta prevalência de fibromialgia tanto no grupo SSp (63%), quanto no grupo não SS (43,8%). Além disto, 36,7% dos pacientes com fibromialgia encaminhados para BGSL por apresentarem sintomas de secura, apresentaram BGSL com  $\geq 1$  focus score e preencheram critério AECG para SS. Estes dados sugerem que fibromialgia está frequentemente associada a sintomas de secura e que SS deve ser investigada nesses pacientes. Ou ainda por outro lado, considerando a superposição de sintomas não seja possível clinicamente diferenciar fibromialgia de síndrome de Sjögren. Estudos genéticos podem ajudar a compreender melhor este complexo contexto de sintomas e comorbidades compartilhados em SS e fibromialgia.

A frequência de FAN e FR encontrados em nosso estudo foram 20 e 66,1% respectivamente, compatível com o descrito em estudos anteriores nesta doença<sup>51-54,61</sup>. A presença de FAN e FR foram incluídos nos critérios diagnósticos sugeridos por Fox et al em 1986<sup>71</sup>, nos critérios preliminares propostos por Vitali e colaboradores em 1993<sup>72</sup> e foram inseridos novamente nos critérios propostos ACR 2012. Em nosso estudo a presença FAN  $\geq 1/320$  e FR positivos concomitantes em pacientes com anticorpos anti-SSA e anti-SSB negativos ocorreu em apenas 2,3% dos pacientes. Comparando com os dados do SICCA Cohort que observou o benefício deste critério em selecionar menos de 2% dos pacientes, é provável que este critério não permaneça em um futuro consenso, especialmente porque pode confundir pacientes com SS associada a outras doenças do colágeno.

Manifestações extraglandulares estão presentes em cerca de um terço dos casos de SS<sup>24,73</sup>, semelhante ao encontrado em nosso estudo. O grupo de pacientes com SSp apresentaram maior frequência de manifestações extraglandulares (artrite, neuropatia periférica, alteração hematológica, pulmonar e renal). Numa grande coorte espanhola, os pacientes com SS eram mais novos no momento do diagnóstico e apresentaram maior frequência de aumento de parótidas, febre, artrite, vasculites, manifestações neurológicas e hematológicas, elevação dos níveis de velocidade de hemossedimentação, hipergamaglobulinemia, FR positivo e crioglobulinemia. Pacientes com anticorpo anti-SSA positivos tinham também maior frequência de manifestações sistêmicas<sup>54</sup>.

Além da importância diagnóstica, a BGSL também permite verificar o grau de inflamação e cronicidade da doença, e por isso também tem sido estudado a sua utilidade para determinar o prognóstico, predizer a resposta medicamentosa e o risco de transformação para linfoma<sup>35,36,74</sup>. No entanto, é um método invasivo, e por

isso, a ultrassonografia de glândulas salivares tem sido avaliada no diagnóstico e prognóstico da SS<sup>47,70,75</sup>. Estudos preliminares indicam uma boa especificidade do método, mas uma baixa sensibilidade, comparada a BGSL. Então, será bom ter disponível um instrumento diagnóstico menos invasivo, que poderá reduzir o número de indicações de BGSL, mas é provável que a análise histológica continue sendo o método com maior acurácia no diagnóstico da doença e também útil como critério prognóstico.

## 6 CONCLUSÃO

Portanto, a sensibilidade e a especificidade da BGSL encontrada nesse estudo para o diagnóstico de SS foram 86,57% e 97,43% respectivamente.

A BGSL foi necessária em 67,6% dos pacientes como quarto critério do AECG para se definir o diagnóstico de SS.

A prevalência de SS primária encontrada nesse estudo foi de 30,1% e 8,8% para SS secundária dentre os pacientes com suspeita diagnóstica encaminhados para biópsia.

Em comparação aos indivíduos sem SS, os pacientes com SS eram mais velhos, apresentaram disfunção salivar e lacrimal mais severa, maior frequência de anticorpos FAN, anti-SSA, anti-SSB e mais manifestações sistêmicas.

A SS deve ser considerada em pacientes com síndrome seca e fibromialgia. Dos portadores de fibromialgia encaminhados por apresentar síndrome seca, 36,7% (n=36) apresentaram BGSL compatível ( $\geq 1$  focus score) e diagnóstico de SS.

Dessa forma, a biópsia de glândula salivar labial possui alta sensibilidade e especificidade, contribuiu na maioria dos casos para definir o diagnóstico de SSp e é especialmente útil em pacientes com disfunção glandular e anticorpos negativos.

## 7 REFERÊNCIAS

- 1 Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Solans R, Camps MT, Casanovas A, Sopena B, Díaz-López B, Rascón FJ, Qanneta R, Fraile G, Pérez-Alvarez R, Callejas JL, Ripoll M, Pinilla B, Akasbi M, Fonseca E, Canora J, Nadal ME, Red GD, Fernández-Regal I, Jiménez-Heredia I, Bosch JA, Ayala MD, Morera-Morales L, Maure B, Mera A, Ramentol M, Retamozo S, Kostov B; on behalf of the SS Study Group; Autoimmune Diseases Study Group (GEAS) of the Spanish Society of Internal Medicine (SEMI). Systemic involvement in primary Sjogren's syndrome evaluated by the EULAR-SS disease activity index: analysis of 921 Spanish patients (GEAS-SS Registry). *Rheumatology (Oxford)*. 2013 Oct 25.
- 2 Bowman SJ, Ibrahim GH, Holmes G, Hamburger J, Ainsworth JR. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjögren's syndrome in two general practices in Birmingham, UK. *Scand J Rheumatol*. 2004;33(1):39-43.
- 3 Sánchez-Guerrero J, Pérez-Dosal MR, Cárdenas-Velázquez F, Pérez-Reguera A, Celis-Aguilar E, Soto-Rojas AE, et al. Prevalence of Sjögren's syndrome in ambulatory patients according to the American-European Consensus Group criteria. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(2):235-40.
- 4 Kabasakal Y, Kitapcioglu G, Turk T, Oder G, Durusoy R, Mete N, et al. The prevalence of Sjögren's syndrome in adult women. *Scand J Rheumatol*. 2006;35(5):379-83.
- 5 Haugen AJ, Peen E, Hultén B, Johannessen AC, Brun JG, Halse AK, et al. Estimation of the prevalence of primary Sjögren's syndrome in two age-different, community-based populations using two sets of classification criteria: the Hordaland Health Study. *Scand J Rheumatol*. 2008;37(1):30-4.
- 6 Birlik M, Akar S, Gurler O, Sari I, Birlik B, Sarioglu S, et al. Prevalence of primary Sjogren's syndrome in Turkey: a population-based epidemiological study. *Int J Clin Pract*. 2009;63(6):954-61.
- 7 Valim V, Zandonade E, Pereira AM, et al. Primary Sjögren's syndrome prevalence in a major metropolitan area in Brazil. *Rev Bras Reumatol*. 2013;53(1):24-34.
- 8 Segal B, et al. Primary Sjögren's Syndrome: health experiences and predictors of health quality among patients in the United States. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2009;7:46.
- 9 Valim V, Serrano EV, Paixão TS, Vescovi AC, Lody JF, Pereira PHG, et al. Perfil Epidemiológico de 94 pacientes com Síndrome de Sjögren primária do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes, Vitória/ES. In: XXIX

- Congresso Brasileiro de Reumatologia, 2012, Vitória. Rev Bras Reumatol. 2012;52 :23-23.
- 10 Muñoz MG, Castelão WC, Saraiva FM, Costa JC, Queiroz MF. Primary Sjögren's syndrome: exocrine and non-exocrine manifestations. Rev Bras Reumatol. 2004;44(2):129-38.
  - 11 Baldini C, Tavoni A, Merlini G, Sebastiani M, Bombardieri S. Primary Sjögren's syndrome: clinical and serological features of a single centre. Reumatismo. 2005;57(4):256-61.
  - 12 Risselada AP, Kruize AA, Bijlsma JW. Clinical features distinguishing lymphoma development in primary Sjögren's syndrome-A retrospective cohort study. Semin Arthritis Rheum. 2013
  - 13 Garcia CM, et al. Primary Sjögren syndrome: clinical and immunologic disease patterns in a cohort of 400 patients. Medicine. 2002;81(4):270-280.
  - 14 Iannuccelli C, Spinelli FR, Guzzo MP, Priori R, Conti F, Ceccarelli F, et al. Fatigue and widespread pain in systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome: symptoms of the inflammatory disease or associated fibromyalgia? Clin Exp Rheumatol. 2012;30(6 Suppl 74):117-21.
  - 15 Atzeni F, Cazzola M, Benvenuti M, Di Franco M, Salaffi F, Sarzi-Puttini P. Chronic widespread pain in the spectrum of rheumatological diseases. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2011;25(2):165-171.
  - 16 Yao Q, Altman RD, Wang X. Systemic lupus erythematosus with Sjögren syndrome compared to systemic lupus erythematosus alone: a meta-analysis. J Clin Rheumatol. 2012;18(1):28-32.
  - 17 Zeher M, Horvath IF, Szanto A, Szodoray P. Autoimmune thyroid diseases in a large group of Hungarian patients with primary Sjögren's syndrome. Thyroid. 2009;19(1):39-45.
  - 18 Pérez-de-Lis M, Rez-de-Lis M, Akasbi M, Sisó A, Díez-Cascon P, Brito-Zerón P, et al. Cardiovascular risk factors in primary Sjögren's syndrome: a case-control study in 624 patients. Lupus. 2010;19 :941.
  - 19 Tzioufas AG, Kapsogeorgou EK, Manoussakis MN, Moutsopoulos HM. Pathogenetic aspects in Sjögren's Syndrome. In: Ramos-Casals M, Stone JH, Moutsopoulos HM. Sjögren's Syndrome: Diagnosis and Treatment. Londres, Springer, 2012.

- 20 Tzioufas AG, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Pathogenesis of Sjögren's syndrome: What we know and what we want to know. *J Autoimm.* 2012;39(1-2):4-8.
- 21 Gálvez J, Sáiz E, López P, Pina MF, Carrillo A, Nieto A, Pérez A, Marras C, Linares FL, Tornero C, Climent A, Rosique J, Reyes Y. Diagnostic evaluation and classification criteria in Sjögren's Syndrome. *Joint Bone Spine.* 2009 January; 76(1):44-9. Epub 2008 September 30. Pub med- indexed for Medline.
- 22 Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical Manifestations and Early Diagnosis of Sjögren syndrome. *Arch Intern Med.* 2004 June 28;164.
- 23 Fox R, Creamer P. Classification and diagnosis of Sjögren's syndrome. Updated. 2010 Sep 30.
- 24 Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:554-558.
- 25 Fox RI, Stern M, Michelson P. Update in Sjögren syndrome, *Curr Opin Rheumatol.* 2000 September;12(5):391-8. Review. Pub med – indexed for Medline.
- 26 McGuirt WF Jr, Whang C, Moreland W. The Role of Parotid Biopsy in the Diagnosis of Pediatric Sjögren Syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002 Nov; 128(11):1279-81. Pub Med – indexed for Medline.
- 27 Kaplan I, Zuk-Paz L, Wolff A. Association between salivary flow rates, oral symptoms, and oral mucosal status. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Aug; 106 (2): 235-41. Epub 2008 Apr 16.
- 28 Liang Y, Yang Z, Qin B, Zhong R. Primary Sjogren's syndrome and malignancy risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2013 May 17.
- 29 Kassan SS, Thomas TL, Moutsopoulos HM, Hoover R, Kimberly RP, Budman DR et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann Intern Med.* 1978;89 :888-892.
- 30 Johnsen SJ, Brun JG, Gøransson LG, Småstuen MC, Johannesen TB, Haldorsen K, et al. Risk of non-Hodgkin's lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a population-based study. *Arthritis Care Res.* 2013. 65(5):816-21.
- 31 Pinheiro Junior MN, et al. Uso oral do óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) no tratamento do olho seco de pacientes portadores da síndrome de Sjögren. *Arq Bras Oftalmol.* 2007;70(4):649-655.

- 32 Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Sisó-Almirall A, Bosch X, Tzioufas AG. Topical and systemic medications for the treatment of primary Sjögren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol*. 2012 1;8(7):399-411.
- 33 Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Stone JH, Sisó A, Bosch X. Treatment of primary Sjögren syndrome: a systematic review. *JAMA*. 2010 Jul 28;304(4):452-60.
- 34 Asmussen K, Andersen V, Bendixen G, Bendtzen K, Prause JU, Thorn J, Wiik A, Oxholm P. Quantitative assessment of clinical disease status in primary Sjögren's syndrome: a cross sectional study using a new classification model. *Scand J Rheumatol*. 1997;26(3):197-205.
- 35 Seror R, Lazure T, Desmoulins F, et al. Modification of Salivary Gland Lymphocyte Pattern after Belimumab in Primary Sjögren's Syndrome: Results of the Beliss Study. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):89.
- 36 Meiners P, Vissink A, Kroese F, et al. Abatacept Treatment Reduces Disease Activity in Early Primary Sjögren's Syndrome (Phase II Open Label Asap Study). *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):89.
- 37 Manthorpe R., Asmussen K, Oxholm P. Primary Sjögren's syndrome: diagnostic criteria, clinical features, and disease activity. *J Rheumatol*. 1997;24 :8-11.
- 38 Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, et al. For the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups. American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort. *Arthritis Care & Research* 2012;64(4):475-87.
- 39 Massara A, Bonazza S, Castellino G, Caniatti L, Trotta F, Borrelli M, Feggi L, Govoni M. Central nervous system involvement in Sjögren's syndrome: unusual, but not unremarkable--clinical, serological characteristics and outcomes in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 Aug;49(8):1540-9. doi: 10.1093/rheumatology/keq111. Epub 2010 May 5.
- 40 Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Yoshino T, Nakamura S, Kawa S, Hamano H, Kamisawa T, Shimosegawa T, Shimatsu A, Nakamura S, Ito T, Notohara K, Sumida T, Tanaka Y, Mimori T, Chiba T, Mishima M, Hibi T, Tsubouchi H, Inui K, Ohara H. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol*. 2012 Feb;22(1):21-30. doi: 10.1007/s10165-011-0571-z. Epub 2012 Jan 5.
- 41 Peredo R, Impens A, Phillips K. Peripheral neuropathy (PN) in primary Sjögren's Syndrome: implications of clinical assessment, time of diagnosis and treatment. *Annals Rheum Dis*. 2013;72(Suppl 3):102.



- 42 Fischer A, Swigris JJ, du Bois RM, Groshong SD, Cool CD, Sahin H, et al. Minor salivary gland biopsy to detect primary Sjogren syndrome in patients with interstitial lung disease. *Chest*. 2009;136(4):1072-8.
- 43 De Seze J, Devos D, Castelnovo G, Labauge P, Dubucquoi S, Stojkovic T, et al. The prevalence of Sjögren syndrome in patients with primary progressive multiple sclerosis. *Neurology*. 2001;57(8):1359-63.
- 44 Whitcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, Heidenreich AM, Kitagawa K, Zhang S, et al. Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Research Groups. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjögren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol*. 2010;149(3):405-15.
- 45 Bowman SJ, Fox RI. Classification criteria for Sjogren's syndrome: nothing ever stands still! *Ann Rheum Dis*. 2013 Oct 3. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203953. Rheumatology Department, Queen Elizabeth Hospital Birmingham, Birmingham, UK.
- 46 Rasmussen A, Ice JA, Li H, Grundahl K, Kelly JA, Radfar L, Stone DU, Hefner KS, Anaya JM, Rohrer M, Gopalakrishnan R, Houston GD, Lewis DM, Chodosh J, Harley JB, Hughes P, Maier-Moore JS, Montgomery CG, Rhodus NL, Farris AD, Segal BM, Jonsson R, Lessard CJ, Scofield RH, Sivils KL. *Ann Rheum Dis*. Comparison of the American-European Consensus Group Sjogren's syndrome classification criteria to newly proposed American College of Rheumatology criteria in a large, carefully characterised sicca cohort. 2013 Oct 23. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203845.
- 47 Cornec D, Jousse-Joulin S, Pers JO, Marhadour T, Cochener B, Boisramé-Gastrin S, Nowak E, Youinou P, Saraux A, Devauchelle-Pensec V. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjögren's syndrome: toward new diagnostic criteria? *Arthritis Rheum*. 2013 Jan;65(1):216-25. doi: 10.1002/art.37698.
- 48 Barcellos KSA, Andrade LEC. Histopatologia e imunologia de glândulas salivares menores de pacientes com síndrome de Sjögren. In: Artigo de Revisão, *Rev Bras Reumatol*. 2005 Jul/Ago;45(4).
- 49 Belfiore N; Rossi S; Bobbio-Pallavicini F et al. Anti-Ro(SS-A) 52 kDa and 60 kDa specificities in undifferentiated connective tissue disease. *Joint Bone Spine* 2000;67:183-7.
- 50 Yazisiz V, Avci AB, Erbasan F, Kiris E, Terzioglu E. Diagnostic performance of minor salivary gland biopsy, serological and clinical data in Sjögren's syndrome: a retrospective analysis. *Rheumatol Int*. 2009;29:403-9.

- 51 Akpek EK, Klimava A, Thorne JE, Martin D, Lekhanont K, Ostrovsky A. Evaluation of Patients with Dry Eye for Presence of Underlying Sjögren Syndrome. *Cornea* 2009;28:493-7.
- 52 Langerman AJ, Blair EA, Sweiss NJ, Taxy JB. Utility of lip biopsy in the diagnosis and treatment of Sjogren's syndrome. *Laryngoscope* 2007;117:1004-8.
- 53 Diaz-Lopez C, Geli C, Corominas H et al. Are the clinical or serological differences between male and female patients with primary Sjögren's syndrome? *J Rheumatol* 2004;31:1352-5.
- 54 Baldini C, Talarico R, Tzioufas AG, Bombardieri S. Classification criteria for Sjögren's syndrome: A critical review. *J Autoimmun.* 2012;39:9-14.
- 55 Amdanson T, Fox R, Frisman D, et al. Immunohistological analysis of lymphoid infiltrates in primary Sjögren's syndrome using monoclonal antibodies. *J Immunol.* 1983;130:203-13.
- 56 Colella G, Cannavale R, Vicidomini A, Itró A. Salivary gland biopsy: a comprehensive review of techniques and related complications. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 November; 49 (11):2117-21. Epub 2010 July 25.
- 57 Daniels TE, Whitcher JP. Association of patterns of labial salivary gland inflammation with keratoconjunctivitis sicca. Analysis of 618 patients with suspected Sjögren syndrome. *Arthritis Rheum* 1994;37:869-77.
- 58 Daniels TE. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome. Assessment as a diagnostic criterion in 362 suspected cases. *Arthritis Rheum.* 1984 Feb; 27(2):147-56.
- 59 Guellec D, Cornec D, Jousse-Joulin S, et al. Diagnostic value of labial minor salivary for Sjögren's syndrome: A systematic review. *Autoimmunity Reviews* 2013; 12:416-20.
- 60 Obinata K, Sato T, Ohmori K, Shindo M, Nakamura M. A comparison of diagnostic tools for Sjögren syndrome, with emphasis on sialography, histopathology, and ultrasonography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 January; 109 (1): 129-34.
- 61 Kessel A, Toubi E, Rozenbaum M, Zisman D, Sabo E, Rosnes I. Sjögren's syndrome in the community: can serology replace salivary gland biopsy? *Rheumatol Int.* 2006; 26:337-9.
- 62 Cornec D, Jousse-Joulin S, Pers JO, et al. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjögren's syndrome: towards new

- diagnostic criteria? *Arthritis Rheum.* 2013;65(1):216-25. doi: 10.1002/art.37698.
- 63 Caporali R, Bonacci E, Epis O, Bobbio-Pallavicini F, Morbini P, Montecucco C. Safety and usefulness of minor salivary gland biopsy: retrospective analysis of 502 procedures performed at a single center. *Arthritis Rheum* 2008;59:714-20.
- 64 Morbini P, Manzo A, Caporali R, et al. Multilevel examination of minor salivary gland biopsy for Sjogren's syndrome significantly improves diagnostic performance of AECG classification criteria. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R343-8.
- 65 Teppo H, Revonta M. A follow-up study of minimally invasive lip biopsy in the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol.* 2007;26:1099-103.
- 66 Nakamura H, Kawakami A, Iwamoto N, Okada A, Yamasaki S, Tamai M, Ida H, Takagi Y, Hayashi T, Aoyagi K, Nakamura T, Eguchi K. A Single centre retrospective analysis of AECG classification criteria for primary Sjögren's syndrome based on 112 minor salivary gland biopsies in a Japanese population. *Rheumatology* 2010;49:1290-1293 doi:10.1093/rheumatology/keq075.
- 67 Milic VD, Petrovic RR, Boricic IV, et al. Diagnostic value of salivary gland ultrasonographic scoring system in primary Sjögren's syndrome: a comparison with scintigraphy and biopsy. *J Rheumatol.* 2009;36:1495-500.
- 68 Germanò G., Possemato N, Addimanda O, et al. The Role of Salivary Gland ultrasound in Sjögren Syndrome: A Single Center Experience. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):276.
- 69 Cornec D, Saraux A, Pers J., et al. Comparison of AECG 2002 and ACR 2012 Classification Criteria for Sjögren's Syndrome in the *Brittany Cohort*. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):270.
- 70 Price EJ, Venables PJW. Dry eyes and mouth syndrome – a subgroup of patients presenting with sicca symptoms. *Rheumatology* 2002;41:416-422.
- 71 Fox RI, Robinson CA, Curd JG, Kozin F, Howell FV. Sjögren's Syndrome. Proposed criteria for classification. *Arthritis Rheum* 1986;29:577-85.
- 72 Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Preliminary criteria for classification of Sjögren's syndrome Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum.* 1993;36:340-7.
- 73 Gottenberg JE, Ravaud P, Puechal X, et al. Inefficacy of Hydroxychloroquine in Primary Sjögren Syndrome: Results at 12 months of the Randomized Placebo-Controlled Trial of Plaquenil in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):90

- 74 Risselada A, Kruize A, Van Roon J, Lafeber F, Bijlsma J. Prognostic Value of Minor Salivary Gland Assessment in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(Suppl3):264.
- 75 Obinata K, Sato T, Ohmori K, Shindo M, Nakamura M. A comparison of diagnostic tools for Sjögren syndrome, with emphasis on sialography, histopathology, and ultrasonography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:129-34. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.08.033.

## ANEXO A - Aprovação do CEP



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 01 de novembro de 2011.

De: Prof. Dr. Adauto Emmerich Oliveira  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

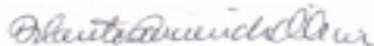
Para: Prof. (a) Valéria Valim Cristo  
Pesquisador (a) Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado "**Análise Histológica Retrospectiva de Glândula Salivar Menor em Pacientes com Síndrome Seca.**"

Senhor (a) Pesquisador (a),

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. **241/11** intitulado "**Análise Histológica Retrospectiva de Glândula Salivar Menor em Pacientes com Síndrome Seca**" e, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 26 de outubro de 2011.

Lembramos que, cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra "c".

Atenciosamente,

  
Coordenador do  
Comitê de Ética em Pesquisa  
CEP/UFES

**APÊNDICE A - Ficha para obtenção de dados dos prontuários médicos dos pacientes com síndrome seca submetidos a biopsia de glândula salivar labial**

**1) Nome: DN: Sexo:**

**Prontuário:**

**2) Data da Biopsia salivar menor: Nº lâmina:**

**Indicação:**

**Resultado Histológico: S/N Focos: Adequação: Grau de Inflamação:**

**3) Critério Objetivo oral: S/N Fluxo salivar(ml/15min):**

**Cintilografia de Parotida:**

**4) Critério Objetivo ocular:S/N Teste de Schirmer (mm) OD: OE:**

**Rosa Bengala:**

**5)Critério Subjetivo oral: S/N**

**Boca seca diariamente por mais de 3 meses? S/N**

**Aumento recorrente ou persistente das glândulas salivares a 3 meses? S/N**

**Você bebe líquido com frequência para ajudar a engolir alimentos secos? S/N**

**6) Critério Subjetivo ocular: S/N**

**Secura persistente e perturbadora nos olhos diariamente por mais de 3 meses? S/N**

**Sensação recorrente de presença de areia nos olhos? S/N**

**Utilização de lágrima artificial mais de 3 vezes por dia? S/N**

**7) FAN: S/N Título: Padrão:**

**8) FR: S/N Título: Método:**

**9) Anti-ENA: S/N Anti-Ro: S/N Anti-La: S/N**

**10) Critérios AECG 2002: S/N**

**11) Opinião do especialista se Síndrome Sjögren: S/N**

**12) Manifestações extra-glandulares:**

**13) Co-morbidades:**

## APÊNDICE B - Artigo versão em português

### “Valor diagnóstico da biópsia de glândula salivar para o diagnóstico da Síndrome de Sjögren primária”

Altoé R<sup>1</sup>, Santos MCS<sup>2</sup>, Serrano EV<sup>3</sup>, Valim V<sup>4</sup>

Universidade Federal do Espírito Santo <sup>1,2,3,4</sup>

#### RESUMO:

*Introdução/Objetivos:* A Síndrome de Sjögren (SS) apesar de prevalente, ainda é pouco diagnosticada. A biópsia de glândula salivar labial (BGS�) é o método diagnóstico com maior acurácia, mas ainda pouco realizada na prática clínica. Este estudo avaliou a utilidade da BGS� para o diagnóstico da SS primária (SSp) estudando a sensibilidade e especificidade da BGS� e o perfil clínico dos pacientes encaminhados para biópsia. *Métodos:* Análise retrospectiva de laudos anatomopatológicos das BGS� e dados de prontuário de pacientes submetidos à BGS� entre 2008 e 2011. *Resultados:* Das 290 biópsias realizadas neste período, 74 foram excluídas por dados clínicos insuficientes. Dos 216 pacientes restantes, 0,46% (n=1) era portador de vírus da hepatite C, 30,1% (n=65) apresentava SSp e 8,8% (n=19) SS secundária (SSs). Na amostra, 94,3% (n=203) apresentavam síndrome seca, sendo 51,6% (n=111) somente secura e 42,7% (n=92) outros sintomas associados; 66,9% (n=114) apresentaram fluxo salivar não estimulado e/ou teste de Schirmer I reduzidos. Dentre os pacientes com disfunção lacrimal e/ou salivar associados a anti-SSA/anti-SSB positivos, 70% (n=14) apresentaram também BSGL compatível com SS e todos preencheram os critérios American-European Consensus Group 2002 (AECG) para SS. A maioria (85,1%, n=23) sem disfunção lacrimal e salivar, além de anticorpo negativo, tiveram BSGL com < 1 focus score e nenhum preencheu AECG (SSn). A BSGL foi necessária em 67,6% (n=44) para concluir presença de SS baseado no critério AECG. A sensibilidade e a especificidade da BSGL foram 86,57% e 97,36%. Dos 98 pacientes encaminhados com síndrome seca e fibromialgia, 36,7% (n=36) apresentaram SS e BSGL ≥ 1 focus score. Em comparação aos indivíduos sem SS, os pacientes com SS eram mais velhos, apresentaram disfunção salivar e lacrimal mais severa, maior frequência de fibromialgia, de anticorpos FAN, anti-SSA, anti-SSB e mais manifestações sistêmicas. Entre os pacientes com SSp, as manifestações extraglandulares estiveram presentes em 38,46% (n=25) e linfoma em 3% (n=2). *Conclusão:* A BSGL possui alta sensibilidade e especificidade e contribuiu na maioria dos casos para o diagnóstico de SS e é especialmente útil em pacientes com disfunção glandular e anticorpos negativos. A SS deve ser considerada em pacientes com síndrome seca e fibromialgia.

**Palavras chaves:** Biópsia de glândula salivar labial, Síndrome de Sjögren primária, Critérios American-European Consensus Group 2002, Diagnóstico, Fibromialgia



## **INTRODUÇÃO**

A Síndrome de Sjögren (SS) é considerada a segunda doença reumática mais comum, acometendo cerca de 0,1 a 0,4% da população mundial ocidental<sup>1,2</sup>. Apesar de elevada prevalência, é pouco diagnosticada por ter apresentação pleomórfica, variando desde quadros leves de síndrome seca, fadiga e dor que confundem com fibromialgia (FM) até quadros sistêmicos graves, semelhante à artrite reumatóide e lúpus eritematoso sistêmico. Também tem amplo diagnóstico diferencial incluindo infecção por hepatite C e HIV, síndrome de HiperIgG4, sarcoidose e linfoma<sup>3</sup>.

A dificuldade diagnóstica reflete em constantes tentativas de revisão dos 7 critérios de classificação, criados apenas nos últimos 25 anos<sup>4</sup>, entretanto, na maioria a análise histológica da BGSL é um método de grande importância, sendo critério obrigatório na ausência de anticorpo anti-SSA e/ou anti-SSB positivo pelo Consenso Americano-Europeu de 2002 (AEGC) e nos critérios propostos pelo American College of Rheumatology em 2012(ACR 2012)<sup>5</sup>. No entanto, a BGSL não é amplamente realizada, por ser um método invasivo e que requer profissionais treinados para a técnica de biópsia e para a análise histológica. Este fato provavelmente contribui também para o diagnóstico tardio e frequência subestimada desta doença. A indicação para a realização da BGSL ainda não está bem estabelecida e poucos estudos avaliaram sua acurácia<sup>4</sup>.

O objetivo deste estudo foi estudar a sensibilidade e a especificidade da BGSL em pacientes com suspeita clínica de SS, bem como descrever os motivos dos encaminhamentos para o procedimento e a frequência de disfunção glandular e de Síndrome de Sjögren em uma série de pacientes submetidos à biópsia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os registros de laudos anatomopatológicos de BGSL, no período de Março de 2008 a Março de 2011, foram pesquisados. Os pacientes submetidos à BGSL, sistematicamente, responderam às perguntas padronizadas sobre secreção ocular e oral contidos nos critérios AEGC e realizaram teste de Schirmer I e fluxo salivar não estimulado na mesma ocasião da BGSL. Estes e outros dados demográficos e clínicos como a indicação da BGSL e comorbidades foram retrospectivamente obtidos através da revisão dos prontuários. Os pacientes foram classificados como SS baseado nos critérios AEGC<sup>6</sup>.

Pacientes sem dados suficientes para o diagnóstico de SS ou que perderam seguimento não foram incluídos na análise. A sensibilidade e a especificidade da BGS� foram calculadas considerando a opinião do especialista como padrão-ouro.

Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo em 26 de Outubro de 2011 com o número 241/11.

Foram utilizados teste de Mann-Whitney e teste z (qui-quadrado) para comparação entre pacientes com e sem SS. Para todos os testes, o nível de significância adotado foi de  $p=0,05$ .

## RESULTADOS

Duzentos e noventa indivíduos foram submetidos a BGS� no período estudado para investigação de SS. Foram excluídos 74 pacientes porque não havia informações clínicas suficientes. Os pacientes eram 87,5% mulheres de  $47,7 \pm 12,45$  DP anos. Dos 216 analisados, 0,48% ( $n=1$ ) era portador de vírus da hepatite C, 30,1% ( $n=65$ ) preencheram critério para SS primária (SSp) e 19 (8,8%) para SS secundária (SSs), sendo 8 com Lúpus Eritematoso Sistêmico, 6 com Artrite Reumatoide, 1 com Esclerose Sistêmica, 1 com Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide, 3 com sobreposição (Figura 1).

Na amostra, 94,3% ( $n=203$ ) dos pacientes foram encaminhados para investigação por apresentarem síndrome seca, sendo que destes, 51,6% ( $n=111$ ) tinham somente secura e 42,7% ( $n=92$ ) apresentavam manifestações extraglandulares associadas. Apenas 5,5% ( $n=12$ ) pacientes foram encaminhados com manifestações extraglandulares sem síndrome seca (2 polineuropatia, 1 Fator antinuclear positivo (FAN) e poliartralgia, 3 FAN positivo e poliartrite, 1 vasculite do Sistema Nervoso Central, 1 parotidite de repetição, 1 Febre reumática + regurgitação mitral, 1 esclerite, 1 pancitopenia, 1 poliartrite e posteriormente definido como artrite reumatóide.

O fluxo de investigação para o diagnóstico de SS está demonstrado na Figura 2. Dos pacientes encaminhados com suspeita clínica, 66,9% (144) apresentaram testes funcionais alterados (fluxo salivar não estimulado e teste de Schirmer I reduzidos). Setenta por cento ( $n=14$ ) dos pacientes com disfunção lacrimal ou salivar que apresentaram anti-SSA-Ro/anti-SSB-La positivos, apresentaram BGS� compatível com SS e preencheram os critérios AEGC para SSp. A grande maioria

(85,1%/23) dos pacientes sem disfunção lacrimal e salivar, além de anticorpo negativo, tiveram BGSL < 1 focus score e nenhum preencheu AECG para SS. A BGSL foi necessária em 67,6%(n=44) dos pacientes como quarto critério do AECG para se definir o diagnóstico de SS.

Em comparação aos indivíduos sem SS, os pacientes com SS eram mais velhos, apresentaram disfunção salivar e lacrimal mais severa, maior frequência de anticorpos FAN, anti-SSA, anti-SSB e mais manifestações sistêmicas (Tabela 1).

A presença de FAN  $\geq 1/320$  e FR positivo concomitante com anti-SSA e anti-SSB negativos ocorreu em apenas 2,3% (n= 5) dos pacientes. Destes, 2 apresentaram BGSL  $\geq 1$  focus score e diagnóstico de SS baseado na opinião do especialista. Nos demais, biópsia a opinião do especialista também foram concordantes, ambas negativas para SS. Nos pacientes com SSp, as manifestações extraglandulares estiveram presentes em 38,46% (n=25), sendo as mais frequentes a artrite e neuropatia periférica. Alterações hematológicas (anemia, leucopenia ou plaquetopenia), vasculite cutânea, comprometimento pulmonar (doença pulmonar intersticial ou bronquiopatia), comprometimento renal (glomerular, tubular ou intersticial) e eventos trombóticos foram outras manifestações sistêmicas presentes. Linfoma foi observado em 3% (n=2) dos pacientes com SSp (Tabela 1).

Fibromialgia foi a comorbidade mais prevalente entre os pacientes com SSp (63%, n=41). Dos 98 pacientes portadores de fibromialgia encaminhados por apresentar síndrome seca, 36,7% (n=36) apresentaram BGSL compatível com SS ( $\geq 1$  focus score) (Tabela 1).

A sensibilidade e a especificidade da BGSL para o diagnóstico de SS foram 86,57% e 97,43% respectivamente. Para esse cálculo, foram incluídos 183 pacientes, pois dos 216 pacientes da amostra total, foram excluídos 19 pacientes com SS secundário e 13 pacientes que não havia a opinião do especialista no prontuário.

Tabela 1 – Características Clínicas dos pacientes com Síndrome de Sjögren primária e Síndrome Seca inespecífica.

	Síndrome de Sjögren primária (AECG) n=65	Síndrome seca inespecífica n=132	*p-valor
Idade (anos)	49,6 ± 12	45,8 ± 12,9	<b>0,02</b>
Sexo (Mulheres)	65 (98,5%)	123 (94,6%)	0,36
Sintomas orais	60 (90,9%)	95 (85,6%)	0,42
Sintomas oculares	61 (92,4%)	90 (81,1%)	0,07
Fluxo Salivar (<1.5ml/15 min)	53 (80,3%)	51 (46,4%)	<b>0,00</b>
Schirmer (≤ 5mm)	42 (70,0%)	50 (56,2%)	0,13
Biopsia salivar ≥ 1 focus score	59 (89,4%)	7 (5,4%)	<b>0,00</b>
Anti-SSA e/ou anti-SSB	21 (32,3%)	6 (6,2%)	<b>0,00</b>
Fator Reumatoide (látex)	14 (25,9%)	22 (21,0%)	0,62
FAN	39 (66,1%)	44 (40,0%)	<b>0,00</b>
<b>Manifestação extraglandulares</b>			
Artrite	14 (21,2%)	6 (4,6%)	<b>0,00</b>
Neuropatia periférica	8 (12,1%)	0 (0,0%)	<b>0,00</b>
Manifestação Hematológica	5 (7,6%)	1 (0,8%)	<b>0,03</b>
Púrpura Trombocitopênica Imune	3 (4,5%)	0 (0,0%)	0,06
Vasculite cutânea	3 (4,5%)	1 (0,8%)	0,23
Comprometimento pulmonar	4 (6,1%)	0 (0,0%)	<b>0,02</b>
Comprometimento renal	4 (6,1%)	0 (0,0%)	<b>0,02</b>
Trombose Venosa Profunda/ Tromboembolismos pulmonar	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0,22
Linfoma	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0,22
<b>Comorbidades</b>			
Fibromialgia	41 (63%)	57 (43,8%)	<b>0,01</b>
Hipertensão	26 (39,4%)	38 (29,2%)	0,20
Dislipidemia	10 (15,2%)	12 (9,2%)	0,31
Diabetes Mellitus	4 (6,1%)	13 (10,0%)	0,52
Depressão	8 (12,1%)	12 (9,2%)	0,70
Hipotireoidismo, Doença de Graves	8 (12,1%)	9 (6,9%)	0,34
Osteoporose/Osteopenia	8 (12,1%)	9 (6,9%)	0,34
Osteoartrite	20 (30,3%)	28 (21,5%)	0,24
Neoplasias	5 (7,6%)	2 (1,5%)	0,08

\*Teste z (quadrado).

## DISCUSSÃO

Este foi um estudo sobre o valor diagnóstico da BGSGL no mundo real. Observamos que a BGSGL possui alta sensibilidade (86,5%) e especificidade (97,4%) para o diagnóstico de SS e foi necessária em 67,6% dos casos suspeitos como quarto critério AEGC para definir o diagnóstico. A sensibilidade e especificidade da BGSGL

variaram respectivamente de 63,5% a 93,7% e de 61,2% a 100% em outros estudos<sup>7</sup>.

Nosso estudo mostrou que pacientes com suspeita clínica e disfunção salivar ou lacrimal confirmada por testes objetivos (fluxo salivar não estimulado e teste de Schirmer) associado a anti-SSA/SSB positivo apresentaram SS. Nestes pacientes a BGSL não acrescenta acurácia diagnóstica. Por outro lado, pacientes suspeitos com testes funcionais alterados e critérios incompletos devem ser submetidos à BGSL, pois somente ela pode discriminar pacientes com e sem SS. A padronização de um algoritmo de investigação em consensos e diretrizes poderão contribuir para aumentar o número de casos diagnosticados.

O fluxo salivar não estimulado e o teste de Schirmer foram retirados dos novos critérios propostos pelo ACR 2012<sup>18</sup>. No entanto, são testes simples, facilmente realizáveis em consultórios e ambulatorios e são úteis para rastrear quais pacientes devem ser submetidos à BGSL. As alterações de fluxo salivar foram mais intensas nos pacientes com SS comparados àqueles com secura inespecífica e parece ser útil no diagnóstico da doença.

No presente estudo, a frequência de SS em casos suspeitos foi 38,9%, sendo 30,1% SSp e 8,8% SSs. A frequência de SS em casos suspeitos, seja por síndrome seca, ou por manifestações sistêmicas, utilizando os AECG variou de 32,8% a 79,2%<sup>4, 8-15</sup> em outros estudos.

Apesar da SS ser uma doença heterogênea, a grande maioria dos pacientes são encaminhados para investigação por apresentarem síndrome seca. A síndrome seca ocorre na SS com variação de frequência entre 75,7% a 96,7%<sup>9, 12,14-17</sup>. Portanto a queixa de secura, embora inespecífica, é o sintoma-guia desta doença. Os parâmetros subjetivos e objetivos dos AECG são instrumentos úteis e frequentemente utilizados no rastreamento de SS na prática clínica.

Sintomas de secura também são frequentemente identificados em pacientes sem SS. Possíveis diagnósticos diferenciais incluem envelhecimento, efeitos colaterais de drogas, hipotireoidismo, infecção viral ou fibromialgia. Estudo publicado previamente demonstrou que pacientes com síndrome seca que não preencheram critérios para SS ou para qualquer outra doença do tecido conjuntivo, apresentavam fibromialgia e síndrome da fadiga crônica<sup>5</sup>. Em nosso estudo, na análise comparando pacientes com síndrome seca com e sem SS, observou-se uma alta prevalência de fibromialgia tanto no grupo SSp (63%), quanto no grupo não SS

(43,8%). Além disto, 36,7% dos pacientes com fibromialgia encaminhados para BGSL por apresentarem sintomas de secura, apresentaram BGSL com  $\geq 1$  focus score e preencheram critério AECG para SS. Estes dados sugerem que fibromialgia está frequentemente associada a sintomas de secura e que SS deve ser investigada nesses pacientes.

A frequência de FAN e FR reumatóide encontrados em nosso estudo foram 20 e 66,1% respectivamente, compatível com o descrito em estudos anteriores nesta doença<sup>5,9,19-21</sup>. A presença de FAN e FR foram incluídos nos critérios diagnósticos sugeridos por Fox et al em 1986<sup>22</sup>, nos critérios preliminares propostos por Vitali e colaboradores em 1993<sup>23</sup> e foram inseridos novamente nos critérios propostos ACR 2012. Em nosso estudo a presença FAN  $\geq 1/320$  e FR positivos concomitantes em pacientes com anticorpos SSA/Ro e SSB/La negativos ocorreu em apenas 2,3% dos pacientes.

Manifestações extraglandulares estão presentes em cerca de um terço dos casos de SS<sup>6, 24</sup>, semelhante ao encontrado em nosso estudo. O grupo de pacientes com SS<sub>p</sub> apresentaram maior frequência de manifestações extraglandulares (artrite, neuropatia periférica, alteração hematológica, pulmonar e renal). Numa grande coorte espanhola, os pacientes com SS eram mais novos no momento do diagnóstico e apresentaram maior frequência de aumento de parótidas, febre, artrite, vasculites, manifestações neurológicas e hematológicas, elevação dos níveis de velocidade de hemossedimentação, hipergamaglobulinemia, FR positivo e crioglobulinemia. Pacientes com anticorpo anti-Ro/SSA positivos tinham também maior frequência de manifestações sistêmicas<sup>5</sup>.

Além da importância diagnóstica, a BGSL também permite verificar o grau de inflamação e cronicidade da doença, e por isso também tem sido estudado sua utilidade para determinar o prognóstico, prever a resposta medicamentosa e o risco de transformação para linfoma<sup>26,27,28</sup>. No entanto, é um método invasivo, e por isso, a ultrassonografia de glândulas salivares tem sido avaliada no diagnóstico e prognóstico da SS<sup>10,29,30</sup>. Estudos preliminares indicam uma boa especificidade do método, mas uma baixa sensibilidade, comparada a BGSL. Então, será bom ter disponível um instrumento diagnóstico menos invasivo, que poderá reduzir o número de indicações de BGSL, mas é provável que a análise histológica continue sendo o método com maior acurácia no diagnóstico da doença.

Em conclusão, a biópsia de glândula salivar labial possui alta sensibilidade e especificidade, contribuiu na maioria dos casos para definir o diagnóstico de SSp e é especialmente útil em pacientes com disfunção glandular e anticorpos negativos. A SS deve ser considerada em pacientes com síndrome seca e fibromialgia.

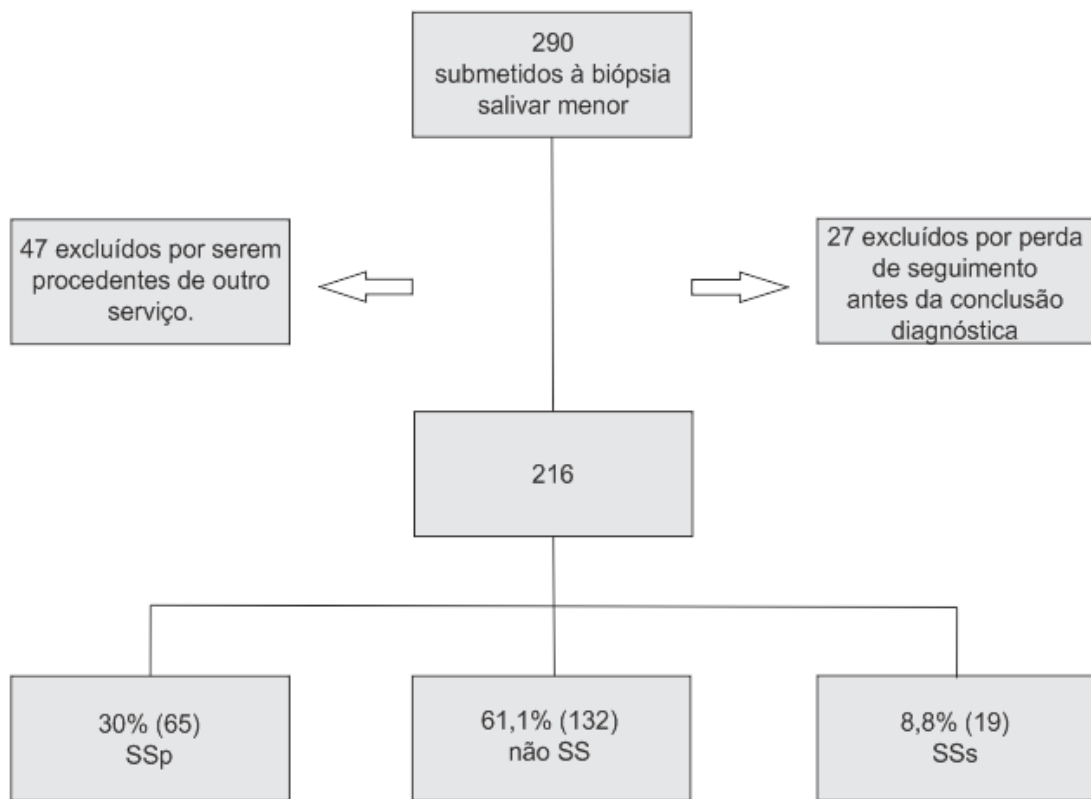
#### REFERÊNCIAS:

- 1 Bowman SJ, Ibrahim GH, Holmes G, Hamburger J, Ainsworth JR. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjögren's syndrome in two general practices in Birmingham, UK. *Scand J Rheumatol*. 2004;33(1):39-43.
- 2 Valim V, Zandonade E, Pereira AM, et al. Primary Sjögren's syndrome prevalence in a major metropolitan area in Brazil. *Rev Bras Reumatol* 2013; 53(1):24-34.
- 3 Fox RI, Stern M, Michelson P. Update in Sjögren syndrome, *Curr Opin Rheumatol*. 2000; 12:391-8.
- 4 Daniels TE, Whitcher JP. Association of patterns of labial salivary gland inflammation with keratoconjunctivitis sicca. Analysis of 618 patients with suspected Sjögren syndrome. *Arthritis Rheum* 1994;37:869-77.
- 5 Baldini C, Talarico R, Tzioufas AG, Bombardieri S. Classification criteria for Sjögren's syndrome: A critical review. *J Autoimmun*. 2012;39:9-14.
- 6 Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554-8.
- 7 Guellec D, Cornec D, Jousse-Joulin S, et al. Diagnostic value of labial minor salivary for Sjögren's syndrome: A systematic review. *Autoimmunity Reviews* 2013;12:416-20
- 8 Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, et al. for the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups. American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort. *Arthritis Care & Research* 2012;64(4):475-87.
- 9 Kessel A, Toubi E, Rozenbaum M, Zisman D, Sabo E, Rosnes I. Sjögren's syndrome in the community: can serology replace salivary gland biopsy? *Rheumatol Int* 2006;26:337-9.
- 10 Yazisiz V, Avci AB, Erbasan F, Kiris E, Terzioglu E. Diagnostic performance of minor salivary gland biopsy, serological and clinical data in Sjögren's syndrome: a retrospective analysis. *Rheumatol Int* 2009;29:403-9.
- 11 Cornec D, Jousse-Joulin S, Pers JO, et al. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjögren's syndrome: towards new diagnostic criteria? *Arthritis Rheum*. 2013;65(1):216-25. doi: 10.1002/art.37698.

- 12 Nakamura H, Kawakami A, Iwamoto N, et al. A single centre retrospective analysis of AECG classification criteria for primary Sjogren's syndrome based on 112 minor salivary gland biopsies in a Japanese population. *Rheumatology* 2010;49:1290-3.
- 13 Caporali R, Bonacci E, Epis O, Bobbio-Pallavicini F, Morbini P, Montecucco C. Safety and usefulness of minor salivary gland biopsy: retrospective analysis of 502 procedures performed at a single center. *Arthritis Rheum* 2008;59:714-20.
- 14 Teppo H, Revonta M. A follow-up study of minimally invasive lip biopsy in the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2007;26:1099-103.
- 15 Morbini P, Manzo A, Caporali R, et al. Multilevel examination of minor salivary gland biopsy for Sjogren's syndrome significantly improves diagnostic performance of AECG classification criteria. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R343-8.
- 16 Germanò G., Possemato N, Addimanda O, et al. The Role of Salivary Gland ultrasound in Sjögren Syndrome: A Single Center Experience. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):276
- 17 Cornec D, Saraux A, Pers J., et al. Comparison of AECG 2002 and ACR 2012 Classification Criteria for Sjögren's Syndrome in the Brittany Cohort. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):270
- 18 Nacul SF, Secco A, Oliver M, et al. Clinical Manifestations and Their Association with The Immunological Profile of Primary Sjogren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):920
- 19 Akpek EK, Klimava A, Thorne JE, Martin D, Lekhanont K, Ostrovsky A. Evaluation of Patients with Dry Eye for Presence of Underlying Sjögren Syndrome. *Cornea* 2009; 28:493-7.
- 20 Langerman AJ, Blair EA, Sweiss NJ, Taxy JB. Utility of lip biopsy in the diagnosis and treatment of Sjogren's syndrome. *Laryngoscope* 2007;117:1004-8.
- 21 Diaz-Lopez C, Geli C, Corominas H et al. Are the clinical or serological differences between male and female patients with primary Sjögren's syndrome? *J Rheumatol* 2004;31:1352-5.
- 22 Fox RI, Robinson CA, Curd JG, Kozin F, Howell FV. Sjögren's Syndrome. Proposed criteria for classification. *Arthritis Rheum* 1986;29:577-85.
- 23 Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Preliminary criteria for classification of Sjögren's syndrome Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 1993; 36:340-7.
- 24 Gottenberg JE, Ravaud P, Puechal X, et al. Inefficacy of Hydroxychloroquine in Primary Sjögren Syndrome: Results at 12 months of the Randomized Placebo-

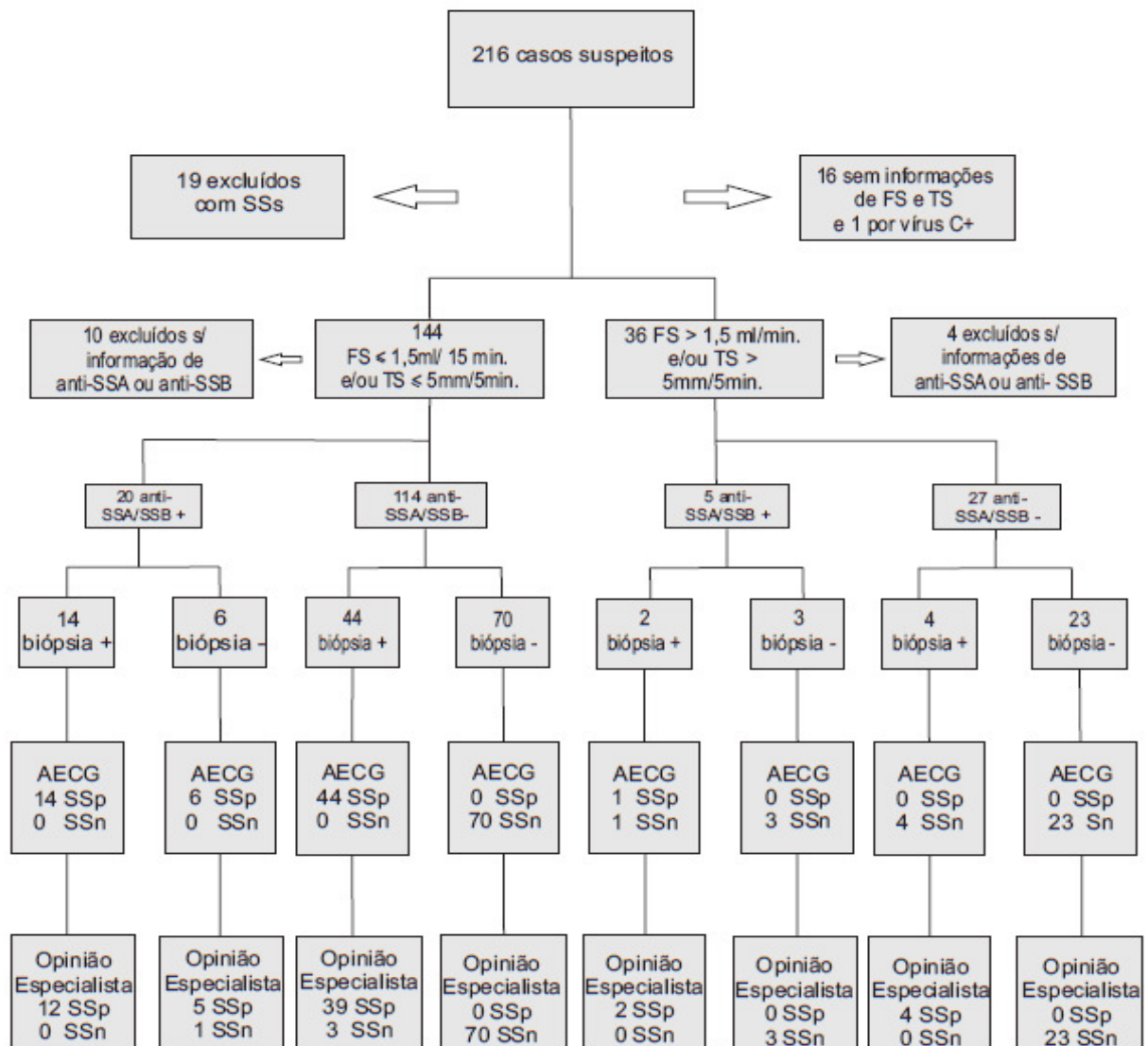


- Controlled Trial of Plaquenil in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):90
- 25 Prince EJ, Venables PJW. Dry eyes and mouth syndrome – a subgroup of patients presenting with sicca symptoms. *Rheumatology* 2002; 41:416-422
- 26 Seror R, Lazure T, Desmoulins F, et al. Modification of Salivary Gland Lymphocyte Pattern after Belimumab in Primary Sjogren's Syndrome: Results of the Beliss Study. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):89
- 27 Meiners P, Vissink A, Kroese F, et al. Abatacept Treatment Reduces Disease Activity in Early Primary Sjögren's Syndrome (Phase II Open Label Asap Study). *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):89
- 28 Risselada A, Kruize A, Van Roon J, Lafeber F, Bijlsma J. Prognostic Value of Minor Salivary Gland Assesment in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):264
- 29 Obinata K, Sato T, Ohmori K, Shindo M, Nakamura M. A comparison of diagnostic tools for Sjögren syndrome, with emphasis on sialography, histopathology, and ultrasonography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:129-34. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.08.033.
- 30 Milic VD, Petrovic RR, Boricic IV, et al. Diagnostic value of salivary gland ultrasonographic scoring system in primary Sjögren's syndrome: a comparison with scintigraphy and biopsy. *J Rheumatol* 2009;36:1495-500.



**Figura 1 – Amostra de pacientes incluídos no estudo e prevalência de Síndrome de Sjögren**

SSp: Síndrome de Sjögren primária de acordo com AECG, SSs: Síndrome de Sjögren secundária de acordo com AECG, 8 LES: Lupus Eritematoso Sistêmico, 6 AR: Artrite Reumatoide, 1 ES: Esclerose Sistêmica, 1 SAF: Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide, 3 Sobreposição (ES, SAF, SS).



**Figura 2 - Anagrama do fluxo de diagnóstico dos pacientes com suspeita de Síndrome de Sjögren.**

FS: fluxo salivar; TS: teste de Schirmer; anti-SSA/SSB +: anti-SSA e/ou anti-SSB positivos; anti-SSA/SSB -: anti-SSA e/ou anti-SSB negativos; Biópsia +: biópsia de glândula salivar  $\geq 1$  foco score; Biópsia -: biópsia de glândula salivar  $< 1$  foco score; AECG: critérios do Consenso Americano Europeu 2002; SS<sub>p</sub>: Síndrome de Sjögren primária pelo AECG; não SS: não Síndrome de Sjögren pelo AECG<sup>6</sup>.

## APÊNDICE C - Artigo versão em inglês

### **Diagnostic value of labial salivary gland biopsy for Primary Sjögren's Syndrome in the Clinical Practice**

Raquel Altoé Giovelli, Maria Carmen Silva Santos, Érica Vieira Serrano, Valéria Valim

#### ABSTRACT:

**Introduction/Objectives:** In spite of the fact that Sjögren's Syndrome (SS) is prevalent, it is still poorly diagnosed. Labial salivary gland biopsy (LSGB) is the most accurate diagnostic method but little performed in clinical practice. This study assessed the usefulness of LSGB for the diagnosis of primary SS (pSS) studying the sensibility and specificity and the clinical profiles of patients who were referred to biopsy. **Methods:** Retrospective analysis of the anatomopathological reports from LSGB and medical report data from patients who underwent LSGB between 2008 and 2011. **Results:** Two-hundred ninety biopsies were performed during this period, and 74 were excluded due to insufficient clinical data. Of the remaining 216 patients, 0.46% (n=1) was carrier of the hepatitis C virus, 30.1% (n=65) had pSS and 8.8% (n=19) secondary SS (sSS). In the sample, 94.3% (n=203) presented with sicca syndrome with 51.6% (n=111) only having dryness and 42.7% (n=92) having other associated symptoms; 66.9% (n=114) presented unstimulated salivary flow and/or reduced Schirmer test. Among the patients with lachrymal and/or salivary gland dysfunctions associated with positive anti-SSA/anti-SSB, 70% also showed LSGB compatible with SS and all of them met the American-European Consensus Group criteria 2002 (AEGC) for SS. The majority (85.1%, n=23) with no lachrymal or salivary dysfunctions, besides negative antibody, had LSGB with < 1 focus score and no one met the AEGC. The LSGB was necessary in 67.6% (n=44) in order to conclude the presence of SS based on AEGC criteria. The sensibility and specificity of LSGB were 86.57% and 97.36%, respectively. Of the 98 patients referred with sicca syndrome and fibromyalgia, 36.75% (n=36) presented SS and LSGB  $\geq 1$  focus score. In comparison with individuals without SS, patients with SS were older, showed more severe lachrymal and salivary dysfunctions, greater frequency of fibromyalgia, anti-nuclear antibodies (ANA), anti-SSA, anti-SSB and further systemic manifestations. Among the patients with pSS, 38,46% (n=25) showed extra glandular manifestations and 3% (n=2) had lymphoma. **Conclusion:** LSGB has a high sensibility and specificity and has contributed to the majority of cases for the diagnosis of SS and it is especially useful in patients with gland dysfunctions and negative antibodies. SS should be regarded in patients with sicca syndrome and fibromyalgia.

**Key words:** Labial salivary gland biopsy, Primary Sjögren's Syndrome, American-European Consensus Group 2002 criteria, Diagnosis, Fibromyalgia

#### INTRODUCTION

Sjögren's Syndrome (SS) is considered the second most common rheumatic disease affecting between 0.1 to 0.4% of the eastern world population <sup>1,2</sup>. In spite of the high

prevalence it is still little diagnosed for having a pleomorphic presentation varying from mild cases of sicca syndrome, fatigue and pain which confound with fibromyalgia (FM) to severe systemic cases similar to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. It also has a wide differential diagnosis including infection by hepatitis C and HIV, hyperIgG4 syndrome, sarcoidosis and lymphoma<sup>3</sup>. The diagnosis difficulty reflects on continuous review attempts of the 7 classification criteria that have been created in the last 25 years<sup>4</sup>. However, the histological analysis of LSGB is mostly a method of great importance being a mandatory criterion in the lack of positive anti-SSA-Ro and/or anti-SSB-La antibodies according to American-European Consensus Group 2002 (AEGC) and the criteria proposed by the American College Rheumatology in 2012 (ACR 2012)<sup>5</sup>. Nevertheless, the LSGB is not widely performed due to its invasive method and it requires trained professionals for the biopsy technique and for the histological analysis. This fact is likely to contribute for the delay in diagnosis and underestimated frequency of the disease. The indication for the LSGB performance has not been well established yet and few studies have evaluated its accuracy<sup>4</sup>.

The objective of this paper is to study the sensibility and specificity of LSGB as well as to describe frequency of glandular dysfunction and Sjögren's Syndrome in patients referred to biopsy to investigate SS.

## **MATERIAL AND METHODS**

All the recordings of anatomopathological reports from LSGB between March 2008 and March 2011 have been assessed. The patients who underwent LSGB systematically answered the standardized questions about eye and mouth dryness (AEGC criteria) and they performed Schirmer test I (ST) and unstimulated salivary flow (USF) at the same time of LSGB. These and other demographic and clinical data as the reasons for referring to LSGB and co morbidities were obtained through the review of medical reports. Patients were classified as SS based on AEGC<sup>6</sup> criteria.

Patients with insufficient data for the SS diagnosis or withdrawers were not included in the analysis. Sensibility and specificity of LSGB were calculated regarding the specialist's opinion as gold-standard.

This Project was approved by the Ethics Committee in Research of the Health Science Center from the Federal University of Espirito Santo in October 26, 2011 (protocol number 241/11).

Mann-Whitney and z (qui-square) tests were used for comparison between patients with and without SS. Level of significance was  $p < 0.05$ .

## RESULTS

Two-hundred and ninety individuals underwent LSGB in period to investigate SS. Seventy-four patients were excluded due to the lack of clinical information. Patients were women (87.5%) at the age of  $47.7 \pm 12.45$  years. From the 216 assessed patients, 0.48% (n=1) was carrier of the hepatitis C virus patient, 30.1% (n=65) met the criteria for primary SS (pSS) and 19 (8.8%) for secondary SS (sSS) including 8 Systemic Lupus Erythematosus, 6 Rheumatoid Arthritis, 1 Systemic Sclerosis, 1 Antibody Antiphospholipid Syndrome and 3 with overlap syndrome (Figure 1).

In the sample, sicca syndrome was the reason to investigate SS in 94.3% (n=203). Among them, 51.6% (n=111) had only dryness and 42.7% (n=92) had associated extra glandular manifestations. Only 5.5% (n=12) patients were referred because extra glandular manifestation without sicca syndrome, being 2 polyneuropathy, 1 positive Anti-nuclear antibody (ANA) and polyarthralgia, 3 positive ANA and polyarthritis, 1 Central Nervous System Vasculitis, 1 recurrent parotiditis, 1 Rheumatic fever with mitral regurgitation, 1 scleritis, 1 pancytopenia, 1 polyarthritis that was defined as rheumatoid arthritis afterwards.

The investigation flow for the diagnosis of SS is shown in Figure 2. Of the patients referred to biopsy, 66.9% (144) showed altered functional tests (low unstimulated salivary flow and Schirmer I test). Seventy per cent (n=14) of patients with lachrymal or salivary dysfunction who presented positive anti-SSA-Ro/anti-SSB-La, showed LSGB compatible with SS and met the AECG criteria for pSS. The great majority (85.1%/23) of the patients with no lachrymal and salivary dysfunction, besides negative antibody, had LSGB focus score  $< 1$  and no one fulfilled AECG for SS. The LSGB was necessary in 67.6% (n=44) to fulfill AECG for SS.

In comparison with individuals without SS, the patients with SS were older, presented more severe salivary and lachrymal dysfunction, more frequency of antibodies ANA, anti-SSA-Ro, Anti-SSA-La and more systemic manifestations (table 1).

The presence of ANA  $\geq 1/320$  and positive Rheumatoid Factor (RF) concomitantly with negative anti-SSA-Ro and anti-SSB-La occurred with only 2.3% (n=5) patients. Among those, 2 presented LSGB focus score  $\geq 1$  and diagnosis of SS based on the specialist's opinion. With the others, the biopsy and the specialist's opinion were agreeable and both negative for SS. Extra-glandular manifestations were present in 38.46% (n=25) in patients with pSS and the arthritis and peripheral neuropathy were the most frequent ones. Hematologic alterations (anemia, leucopenia, thrombocytopenia), cutaneous vasculitis, pulmonary involvement (pulmonary interstitial disease or bronchopathy), renal involvement (glomerular, tubular or interstitial) and thrombotic events were others systemic manifestations. Lymphoma was observed in 3% (n=2) of the patients with pSS (table 1).

Fibromyalgia was the most prevalent co morbidity among patients with pSS (63%, n=41). Of the 98 patients who have fibromyalgia and were referred because of sicca syndrome, 36.7% (n=36) displayed LSGB compatible with SS (focus score  $\geq 1$ ) (Table 1).

Sensibility and specificity of LSGB for the diagnosis of SS were 86.57% and 97.43%, respectively. For this analysis 183 patients were included since 19 with secondary SS and 13 without the specialist's opinion in the medical report were excluded from a total of 216.

Table 1 – Clinical characteristics of patients with primary Sjögren’s Syndrome and unspecified Sicca Syndrome.

	Primary Sjögren’s Syndrome (AECG) n=65	unspecified Sicca Syndrome n=132	*p-value
Age (years)**	49,6 ± 12	45,8 ± 12,9	<b>0,02</b>
Gender (Women)	65 (98,5%)	123 (94,6%)	0,36
Oral symptoms	60 (90,9%)	95 (85,6%)	0,42
Ocular symptoms	61 (92,4%)	90 (81,1%)	0,07
Salivary flow (<1.5ml/15 min)	53 (80,3%)	51 (46,4%)	<b>0,00</b>
Schirmer (≤ 5mm)	42 (70,0%)	50 (56,2%)	0,13
Salivary biopsy focus score ≥ 1	59 (89,4%)	7 (5,4%)	<b>0,00</b>
Anti-SSA and/or anti-SSB	21 (32,3%)	6 (6,2%)	<b>0,00</b>
Rheumatoid Factor (látex)	14 (25,9%)	22 (21,0%)	0,62
ANA	39 (66,1%)	44 (40,0%)	<b>0,00</b>
<b>Extraglandular manifestations</b>			
Arthritis	14 (21,2%)	6 (4,6%)	<b>0,00</b>
Peripheral Neuropathy	8 (12,1%)	0 (0,0%)	<b>0,00</b>
Hematologic manifestations	5 (7,6%)	1 (0,8%)	<b>0,03</b>
Immune thrombocytopenic purpura	3 (4,5%)	0 (0,0%)	0,06
Cutaneous Vasculitis	3 (4,5%)	1 (0,8%)	0,23
Pulmonary involvement	4 (6,1%)	0 (0,0%)	<b>0,02</b>
Renal involvement	4 (6,1%)	0 (0,0%)	<b>0,02</b>
Lymphoma	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0,22
<b>Comorbidity</b>			
Fibromyalgia	41 (63%)	57 (43,8%)	<b>0,01</b>
Hypertension	26 (39,4%)	38 (29,2%)	0,20
Dyslipidemia	10 (15,2%)	12 (9,2%)	0,31
Diabetes Mellitus	4 (6,1%)	13 (10,0%)	0,52
Depression	8 (12,1%)	12 (9,2%)	0,70
Hyperthyroidism, Graves Disease	8 (12,1%)	9 (6,9%)	0,34
Osteoporosis/Osteopenia	8 (12,1%)	9 (6,9%)	0,34
Osteoarthritis	20 (30,3%)	28 (21,5%)	0,24
Deep vein thrombosis/Pulmonary Thromboembolism	2 (3,0%)	0 (0,0%)	0,22
Neoplasia	5 (7,6%)	2 (1,5%)	0,08

\*Z test (chi square)

## DISCUSSION

This study was about a diagnostic value of LSGB in a real world. We have observed that LSGB has a high sensibility (86.5%) and specificity (97.4%) for the diagnosis of SS. In order to define the diagnosis, LSGB was necessary in 67.6% of the suspected cases as the forth criterion of the AEGC. In others studies <sup>7</sup>, Sensibility and Specificity of LSGB varied from 63.5% to 93.7% and from 61.2% to 100% respectively.



Our study showed that patients with clinical indication, salivary and lacrimal dysfunction confirmed by objective tests (unstimulated salivary flow and Schirmer test) associated to positive anti-SSA/SSB had SS. Labial salivary gland biopsy has not added diagnostic accuracy to these patients. On the other hand, patients with abnormal functional tests and incomplete AECG criteria must be submitted to LSGB since it is the only way to discriminate patients with or without SS. Consensus recommendation to standard an investigation algorithm might contribute to increase the number of diagnosed cases.

Unstimulated salivary flow and Schirmer test were removed from the new criteria proposed by ACR 2012<sup>18</sup>. However, they are simple tests, easily performed in doctor offices and outpatient clinics and useful for identifying which patients should undergo LSGB. The alterations of salivary flow were more intense in patients with SS compared to the ones with unspecified sicca and they seem to be useful for the disease diagnosis.

In the current study, the frequencies of SS in suspected cases were 38.9% (30.1% pSS and 8.8% sSS). The frequency of SS in suspected cases, either by sicca syndrome or by systemic manifestations using the AECG criteria varied from 32.8% to 79.2%<sup>8,15</sup> in other cases.

Sicca syndrome occurs in SS between 75.7% to 96.7%<sup>12,14,17</sup>. In spite of the fact that SS is a heterogeneous disease, the great majority of patients are referred to investigation for having sicca syndrome. It is an unspecified symptom, but it is the key -symptom of this disease. The subjective and objective parameters of AECG to evaluate sicca syndrome are an useful tool frequently applied in clinical practice.

Sicca symptoms are frequently identified in patients without SS as well. Differential and possible diagnoses include aging, drug side effects, hyperthyroidism, viral infection or fibromyalgia. A previous published study showed that patients with sicca syndrome who did not meet the criteria for SS or any other connective tissue disease presented with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome<sup>5</sup>. Whenever comparing patients with sicca syndrome with or without SS in our study, we noticed a high prevalence of fibromyalgia in both groups the pSS (63%) and the non SS (43.8%). Moreover, 36.7% of patients with fibromyalgia referred to LSGB for presenting with sicca symptoms, displayed LSGB with focus score  $\geq 1$  and met AECG criteria for SS. These data suggest that fibromyalgia is frequently associated with dryness and SS should be investigated in these patients.

The frequency of ANA and RF found in our study were 20 and 66.1%, respectively. It was similar to previous studies<sup>5,9,19-21</sup>. The presence of FAN and RF were included in the diagnosis criteria suggested by Fox et al in 1986<sup>22</sup>, in the preliminary criteria proposed by Vitali and contributors in 1993<sup>23</sup> and were inserted again in the criteria proposed by ACR 2012. In our study the concomitant presence of ANA  $\geq$  1/320 and RF positive in patients without anti-SSA-Ro and anti-SSB-La antibodies occurred in only 2.3% of the patients.

Extra-glandular manifestations are presented in about one third of the cases of SS<sup>6,24</sup> like one found in our study. The group of patients with pSS showed greater frequency of extra-glandular manifestations (arthritis, peripheral neuropathy, hematologic, pulmonary and renal alterations). In a great Spanish cohort, patients with SS were younger at the moment of diagnosis and displayed a greater frequency of parotid swelling, fever, arthritis, vasculitis, hematologic and neurologic manifestations, high levels of erythrocyte sedimentation rate, hypergammaglobulinemia, positive RF and cryoglobulinemia. Patients with positive anti-Ro/SSA antibody also had greater frequency of systemic manifestations<sup>5</sup>.

Beside the diagnostic importance, LSGB also enables the verification of inflammatory state and chronicity of disease and therefore it seems to be useful to know prognosis, predict drug efficiency and lymphoma risk<sup>26,27,28</sup>. Nevertheless, it is an invasive method and for that reason the salivary gland ultrasound has been assessed in the diagnosis and prognosis of SS<sup>10,29,30</sup>. Previous studies showed a good specificity of the method but a low sensitivity compared to LSGB. Then it will be important to have a less invasive diagnostic tool which might reduce the number of LSGB indications. Yet, there is still a probability that the histological analysis will continue being the method with greater accuracy in the disease diagnosis.

In conclusion, the labial salivary gland biopsy has high sensibility and specificity, contributes to the majority of cases to define the diagnosis for pSS and it is especially useful in patients with glandular dysfunctions and negative antibodies. Sjögren's Syndrome should be considered in patients with sicca syndrome and fibromyalgia.

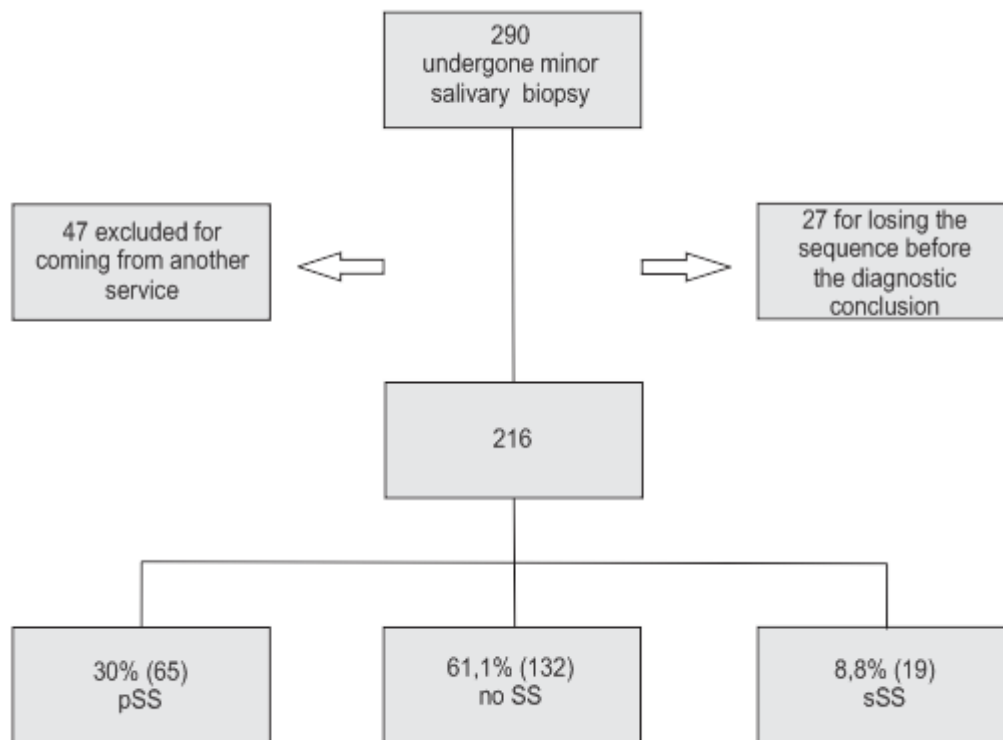
## REFERENCES:

- 1 Bowman SJ, Ibrahim GH, Holmes G, Hamburger J, Ainsworth JR. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjögren's syndrome in two general practices in Birmingham, UK. *Scand J Rheumatol.* 2004;33(1):39-43.

- 2 Valim V, Zandonade E, Pereira AM, et al. Primary Sjögren's syndrome prevalence in a major metropolitan area in Brazil. *Rev Bras Reumatol* 2013; 53(1):24-34.
- 3 Fox RI, Stern M, Michelson P. Update in Sjögren syndrome, *Curr Opin Rheumatol*. 2000; 12:391-8.
- 4 Daniels TE, Witcher JP. Association of patterns of labial salivary gland inflammation with keratoconjunctivitis sicca. Analysis of 618 patients with suspected Sjögren syndrome. *Arthritis Rheum* 1994;37:869-77.
- 5 Baldini C, Talarico R, Tzioufas AG, Bombardieri S. Classification criteria for Sjögren's syndrome: A critical review. *J Autoimmun*. 2012;39:9-14.
- 6 Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554-8.
- 7 Guellec D, Cornec D, Jousse-Joulin S, et al. Diagnostic value of labial minor salivary for Sjögren's syndrome: A systematic review. *Autoimmunity Reviews* 2013;12:416-20
- 8 Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, et al. for the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups. American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort. *Arthritis Care & Research* 2012;64(4):475-87.
- 9 Kessel A, Toubi E, Rozenbaum M, Zisman D, Sabo E, Rosnes I. Sjögren's syndrome in the community: can serology replace salivary gland biopsy? *Rheumatol Int* 2006;26:337-9.
- 10 Yazisiz V, Avci AB, Erbasan F, Kiris E, Terzioglu E. Diagnostic performance of minor salivary gland biopsy, serological and clinical data in Sjögren's syndrome: a retrospective analysis. *Rheumatol Int* 2009;29:403-9.
- 11 Cornerc D, Jousse-Joulin S, Pers JO, et al. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjögren's syndrome: towards new diagnostic criteria? *Arthritis Rheum*. 2013;65(1):216-25. doi: 10.1002/art.37698.
- 12 Nakamura H, Kawakami A, Iwamoto N, et al. A single centre retrospective analysis of AECG classification criteria for primary Sjogren's syndrome based on 112 minor salivary gland biopsies in a Japanese population. *Rheumatology* 2010;49:1290-3.
- 13 Caporali R, Bonacci E, Epis O, Bobbio-Pallavicini F, Morbini P, Montecucco C. Safety and usefulness of minor salivary gland biopsy: retrospective analysis of 502 procedures performed at a single center. *Arthritis Rheum* 2008;59:714-20.
- 14 Teppo H, Revonta M. A follow-up study of minimally invasive lip biopsy in the

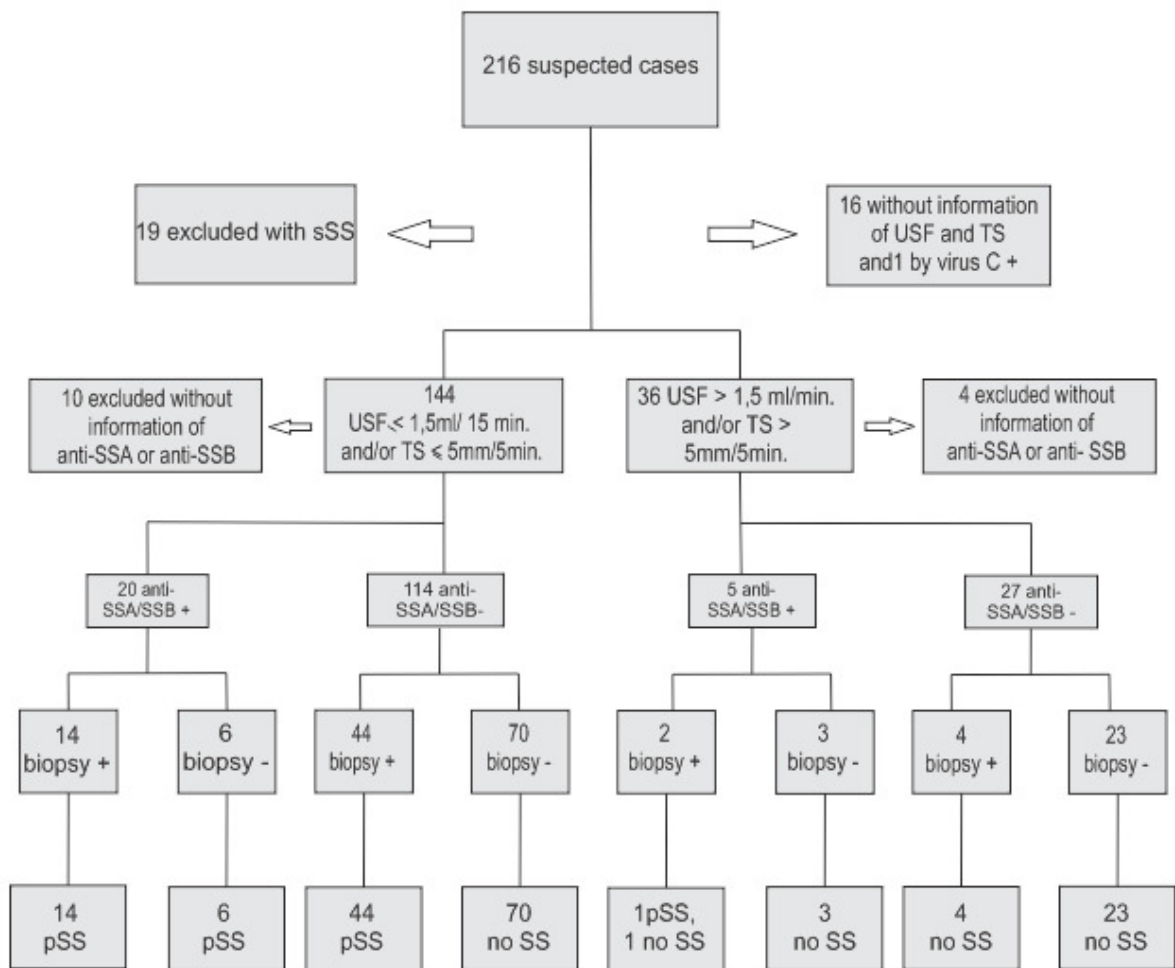
- diagnosis of Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2007;26:1099-103.
- 15 Morbini P, Manzo A, Caporali R, et al. Multilevel examination of minor salivary gland biopsy for Sjogren's syndrome significantly improves diagnostic performance of AECG classification criteria. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R343-8.
  - 16 Germanò G., Possemato N, Addimanda O, et al. The Role of Salivary Gland ultrasound in Sjögren Syndrome: A Single Center Experience. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):276
  - 17 Cornec D, Saraux A, Pers J., et al. Comparison of AECG 2002 and ACR 2012 Classification Criteria for Sjögren's Syndrome in the Brittany Cohort. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):270
  - 18 Nacul SF, Secco A, Oliver M, et al. Clinical Manifestations and Their Association with The Immunological Profile of Primary Sjogren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):920
  - 19 Akpek EK, Klimava A, Thorne JE, Martin D, Lekhanont K, Ostrovsky A. Evaluation of Patients with Dry Eye for Presence of Underlying Sjögren Syndrome. *Cornea* 2009; 28:493-7.
  - 20 Langerman AJ, Blair EA, Sweiss NJ, Taxy JB. Utility of lip biopsy in the diagnosis and treatment of Sjogren's syndrome. *Laryngoscope* 2007;117:1004-8.
  - 21 Diaz-Lopez C, Geli C, Corominas H et al. Are the clinical or serological differences between male and female patients with primary Sjögren's syndrome? *J Rheumatol* 2004;31:1352-5.
  - 22 Fox RI, Robinson CA, Curd JG, Kozin F, Howell FV. Sjögren's Syndrome. Proposed criteria for classification. *Arthritis Rheum* 1986;29:577-85.
  - 23 Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Preliminary criteria for classification of Sjögren's syndrome Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 1993; 36:340-7.
  - 24 Gottenberg JE, Ravaud P, Puechal X, et al. Inefficacy of Hydroxychloroquine in Primary Sjögren Syndrome: Results at 12 months of the Randomized Placebo-Controlled Trial of Plaquenil in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):90
  - 25 Prince EJ, Venables PJW. Dry eyes and mouth syndrome – a subgroup of patients presenting with sicca symptoms. *Rheumatology* 2002; 41:416-422
  - 26 Seror R, Lazure T, Desmoulins F, et al. Modification of Salivary Gland Lymphocyte Pattern after Belimumab in Primary Sjogren's Syndrome: Results of the Beliss Study. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):89
  - 27 Meiners P, Vissink A, Kroese F, et al. Abatacept Treatment Reduces Disease Activity in Early Primary Sjögren's Syndrome (Phase II Open Label Asap Study). *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):89

- 28 Risselada A, Kruize A, Van Roon J, Lafeber F, Bijlsma J. Prognostic Value of Minor Salivary Gland Assessment in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl3):264
- 29 Obinata K, Sato T, Ohmori K, Shindo M, Nakamura M. A comparison of diagnostic tools for Sjögren syndrome, with emphasis on sialography, histopathology, and ultrasonography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:129-34. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.08.033.
- 30 Milic VD, Petrovic RR, Boricic IV, et al. Diagnostic value of salivary gland ultrasonographic scoring system in primary Sjögren's syndrome: a comparison with scintigraphy and biopsy. *J Rheumatol* 2009;36:1495-500.



**Figure 1 – Flow chart study**

pSS: primary Sjögren's Syndrome according to AECG, sSS:secondary Sjögren's Syndrome according to AECG, 8 SLE: Systemic Erythematosus Lupus, 6 RA:Rheumatoid Arthritis, 1 SSc: Systemic Sclerosis, 1 APS: Antiphospholid Syndrome, 3 Overlap (SSc, APS, SS).



**Figure 2 –Diagnostic flow of suspected patients of Sjögren Syndrome.**

USF: unstimulated salivary flow; ST: Schirmer test; anti-SSA/SSB +: anti-SSA and/or anti-SSB positive; anti-SSA/SSB -: anti-SSA and/or anti-SSB negative; Biopsy +: score focus  $\geq 1$ ; Biopsy -: focus score  $< 1$ ; no SS: no Sjögren's Syndrome; pSS: primary Sjögren's Syndrome according to the American European Consensus Group 2002.