

Universidade Federal de Minas Gerais
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

CLARICE GARCIA VALADARES XAVIER

**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA INTRA E INTEROBSERVADOR E DA
ACURÁCIA DA BIÓPSIA DE GLÂNDULAS SALIVARES MENORES PARA A
CLASSIFICAÇÃO DA DOENÇA DE SJÖGREN**

Belo Horizonte

2024

CLARICE GARCIA VALADARES XAVIER

**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA INTRA E INTEROBSERVADOR E DA
ACURÁCIA DA BIÓPSIA DE GLÂNDULAS SALIVARES MENORES PARA A
CLASSIFICAÇÃO DA DOENÇA DE SJÖGREN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Área de Concentração: Ciências Clínicas

Orientador: Profa. Dra. Gilda Aparecida Ferreira

Coorientador: Profa. Débora Cerqueira Calderaro

Belo Horizonte

2024

X3a	Xavier, Clarice Garcia Valadares. Avaliação da Concordância Intra e Interobservador e da Acurácia da Biópsia de Glândulas Salivares Menores para o Diagnóstico da Doença de Sjögren [recursos eletrônicos]. / Clarice Garcia Valadares Xavier. - - Belo Horizonte: 2024. 98f.: il. Formato: PDF. Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions. Orientador (a): Gilda Aparecida Ferreira. Área de concentração: Saúde do Adulto. Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. 1. Síndrome de Sjögren. 2. Neoplasias das Glândulas Salivares. 3. Confiabilidade dos Dados. 4. Sensibilidade e Especificidade. 5. Reprodutibilidade dos Testes. 6. Dissertação Acadêmica. I. Ferreira, Gilda Aparecida. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título. NLM: WE 346
-----	--

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às 08:00 horas do dia quatro de abril de dois mil e vinte e quatro, Av. Prof. Alfredo Balena, 190 - Santa Efigênia, SALA 526 DA FACULDADE DE MEDICINA DA UFMG, realizou-se a sessão pública para a defesa da Dissertação de CLARICE GARCIA VALADARES XAVIER, número de registro 2021701292, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO. A presidência da sessão coube à professora Gilda Aparecida Ferreira, Orientadora. Inicialmente, a presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: Gilda Aparecida Ferreira (UFMG), Débora Cerqueira Calderaro (UFMG), Valeria Valim Cristo (UFES) e Virginia Fernandes Moça Trevisani (UNIFESP). Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua Dissertação de Mestrado, intitulada: AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA INTRA E INTEROBSERVADOR E DA ACURÁCIA DA BIÓPSIA DE GLÂNDULAS SALIVARES MENORES PARA O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE SJÖGREN. Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar aprovada a Dissertação de Mestrado. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 04 de abril de 2024.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por Debora Cerqueira Calderaro, Professora do Magistério Superior, em 04/04/2024, às 14:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Gilda Aparecida Ferreira, Professora do Magistério Superior, em 04/04/2024, às 18:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Virginia Fernandes Moça Trevisani, Usuária Externa, em 15/04/2024, às 19:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Valeria Valim Cristo, Usuário Externo, em 14/05/2024, às 22:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 3117888 e o código CRC 4D8A869B.

Universidade Federal de Minas Gerais

Reitora

Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor

Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitora de Pós-Graduação

Isabela Almeida Pordeus

Pró-Reitor de Pesquisa

Fernando Marcos dos Reis

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Diretor

Alamanda Kfoury Pereira

Chefe do Departamento de Clínica

Médica

Márcio Weissheimer Lauria

Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Coordenadora

Luciana Costa Faria

Subcoordenadora

Gilda Aparecida Ferreira

Representantes docentes

Adriana Maria Kakehasi

Claudia Alves Couto

Luciana Costa Faria

Maria de Lourdes de Abreu Ferrari

Melissa Orlandin Premaor

Teresa Cristina de Abreu Ferrari

AGRADECIMENTOS

A Deus!

À Profa. Gilda Ferreira pela paciência, oportunidade e confiança.

À Profa. Debora Calderaro pelos conselhos, dedicação e empenho.

Ao Stanley Araújo e ao David Wanderley pela disponibilidade indispensável para a realização desta dissertação.

Ao Gustavo Resende e ao Leandro Tanure pela parceria e compartilhamento de experiências.

A meus pais, Johnson e Linete, por me mostrarem que o conhecimento é a maior riqueza que poderia adquirir.

Ao meu irmão, Hygino, pelo companheirismo.

Ao Bruno por não me deixar desistir, pela compreensão, cumplicidade e amor, indispensáveis para que eu alcançasse o que queria.

Aos demais familiares por entenderem minha ausência.

“Ninguém caminha sem aprender a caminhar, sem aprender a fazer o caminho caminhando, refazendo e retocando o sonho pelo qual se pôs a caminhar”.

Paulo Freire

RESUMO

Introdução: A doença de Sjögren é caracterizada pela invasão linfocítica e hipofunção das glândulas exócrinas, principalmente das glândulas salivares e lacrimais. A biópsia de glândula salivar menor (BGSMS) é relevante para seu diagnóstico, estratificação e prognóstico. No entanto, pesquisas anteriores observaram concordância limitada na avaliação do BGSMS, atribuída a variações nos critérios histológicos e a uma subestimação de características histológicas como o escore focal (FS) e estruturas semelhantes a centros germinativos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a reprodutibilidade interobservador e intraobservador da análise histológica das BGSMS realizadas de novembro de 2017 a abril de 2022 em um hospital universitário e sua acurácia para os pacientes classificados com doença de Sjögren. **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal realizado em duas etapas distintas. Primeiramente foram revisados prontuários médicos e laudos patológicos de pacientes submetidos a BGSMS de novembro de 2017 a abril de 2022. Foram calculados sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos, negativos e acurácia para avaliar o desempenho da BGSMS para classificação da doença de Sjögren. Para avaliar a reprodutibilidade interobservador, os laudos de BGSMS foram submetidos a um reexame realizado por dois patologistas. Para análise intraobservador, todos as BGSMS foram revisados independentemente pelo menos duas vezes, com pelo menos dois meses de intervalo, pelo mesmo patologista experiente, usando um procedimento cego. Foi seguida a padronização proposta pela EULAR em 2017. **Resultados:** As análises inter e intraobservadores mostraram boa concordância (coeficientes Kappa $> 0,6$) para avaliação do FS dicotomizado (presença ou ausência de FS ≥ 1) e diagnóstico histológico de sialadenite linfocítica focal. Por outro lado, de uma forma geral a avaliação dos danos estruturais indicou uma concordância modesta a razoável (coeficientes Kappa $\leq 0,4$). O Coeficiente de Correlação Intraclassa apresentou uma boa concordância (CCI $> 0,6$) tanto nas análises inter e intraobservadores. A BGSMS apresentou sensibilidade de 86,76%, especificidade de 95,42%, valor preditivo positivo de 90,77%, valor preditivo negativo de 93,28% e acurácia de 92,46%. O resultado foi falso em 7,54% dos casos. **Conclusão** Neste estudo transversal, a reprodutibilidade interobservador e intraobservador exibiu níveis favoráveis para diagnóstico histológico de sialadenite linfocítica focal, enquanto uma confiabilidade comparativamente menor foi observada para a estimativa de danos estruturais. Essa discrepância pode ser resultado do menor preparo dos patologistas para avaliação de danos, em comparação com a avaliação de alterações inflamatórias. BGSMS é um procedimento com alta sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivos e negativos para diagnóstico de doença de Sjögren. O aprimoramento imperativo da reprodutibilidade da BGSMS exige o estabelecimento de uma padronização robusta da avaliação histopatológica e treinamento abrangente de patologistas.

Palavras-chave: doença de Sjögren; biópsia de glândula salivar menor; acurácia; reprodutibilidade.

ABSTRACT

Introduction: Sjögren's disease is characterized by lymphocytic invasion and hypofunction of exocrine glands, mainly the salivary and lacrimal glands. Minor salivary gland biopsy (MSGB) is relevant for its diagnosis, stratification and prognosis. Despite this, previous studies have observed a low concordance in the evaluation of the MSGB, which is due to the use of different histological criteria in its analysis and underestimation of useful histopathological characteristics such as focus scores (FS) and the presence of structures similar to germinal centers (GC). The present study aimed to evaluate the accuracy of MSGB for the diagnosis of Sjögren's Disease and the interobserver and intraobserver reproducibility of histological analysis of MSGBs performed from November 2017 to April 2022 in a university hospital. **Methodology:** This is a cross-sectional study carried out in two distinct stages. Firstly, medical records and pathology reports of patients who underwent MSGB from November 2017 to April 2022 were reviewed. Sensitivity, specificity, positive, negative predictive values and accuracy were calculated to evaluate the performance of MSGB for patients classified as having Sjögren's disease. To assess interobserver reproducibility, the MSGB reports were reexamined by two pathologists. For intraobserver analysis, all MSGB were independently reviewed twice, at least two months apart, by the same expertise as the pathologist, using a blinded procedure. The standardization proposed by EULAR in 2017 was followed. **Results:** Inter and intraobserver analyses showed good agreement (Kappa coefficients > 0.6) for dichotomized FS (presence or absence of FS ≥ 1) and histological diagnosis of focal lymphocytic sialadenitis. Conversely, assessment of structural damage indicated only modest to fair agreement ($k \leq 0.4$) for interobserver reliability. Intraclass Correlation Coefficient showed good agreement (ICC > 0.6) in both inter and intraobserver analyses. MSGB obtained sensitivity of 86.76%, specificity of 95.42%, positive predictive value of 90.77%, negative predictive value of 93.28% and accuracy of 92.46%. The result was false in 7.54% of cases. **Conclusion:** In this cross-sectional study, interobserver and intraobserver reproducibility exhibited favorable levels for histological diagnosis of focal lymphocytic sialadenitis, while comparatively lower reliability was observed for the estimation of structural damage. This discrepancy may be the result of pathologists' lesser preparation for damage assessment, compared to the assessment of inflammatory changes. BGSM is a procedure with high sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values for diagnosing Sjögren's disease. Imperative enhancement of MSGB reproducibility requires the establishment of robust standardization of histopathological assessment and comprehensive training of pathologists.

Keywords: Sjögren's disease; minor salivary gland biopsy; accuracy; reproducibility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Foto ilustrando foco em biopsia de glândula salivar.....	21
Figura 2- Foto ilustrando estrutura semelhante a centro germinativo.....	27
Figura 3-Foto ilustrando focos confluentes.....	28
Figura 4- Foto ilustrando quadriculado utilizado para estimar área da glândula salivar.....	31
Figure 1- A, B, C and D photographs illustrating salivary gland biopsy.....	45
Figure 2- Study design.....	46
Figure 3 – Focus score according to the classification of Sjögren’s disease for each pathologist reading.....	49
Figure 1- Study flowchart and classification of patients according to 2016 ACR/EULAR classification criteria Sjögren's Disease and minor labial salivary gland biopsy analysis.....	60
Figure 2- Minor Salivary Gland Area.....	63
Figure 3: ROC curve of Focus Score values in the population of patients with suspected Sjögren's disease.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resumo dos estudos que avaliaram a reprodutibilidade da BGSM.....	25
Tabela 2- Classificação da acurácia em relação a área sob a curva ROC.....	34
Tabela 3- Classificação do coeficiente kappa.....	35
Tabela 4- Classificação do coeficiente de correção intraclasse.....	35
Table 1-Interobserver reliability of MSGB.....	47
Table 2- Intraobserver reliability of MSGB.....	48
Table 1- Characteristics of patients with suspected Sjögren's disease.....	61
Table 2- Treatment at the time of Minor Salivary Gland Biopsy.....	62
Table 3- Characteristics of Minor Salivary Gland Biopsies.....	63
Table 4- Assessment of minor labial salivary gland biopsy performance for classification of Sjogren's disease.....	64
Table 5- Cutoff points for Focus Score by the occurrence of the ACR/EULAR 2016 classification according to sensitivity and specificity values.....	65
Table 6- Multiple regression model with MSGB FS $\geq$ 1 as dependent Variable....	67

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ACR/EULAR Against Rheumatism	<i>American College of Rheumatology/European League</i>
ANA	Antinuclear antibodies
BGSM	Biópsia de glândula salivar menor
CI	Confidence interval
EXA	Examiner A
EX. A	Examinador A
EXB	Examiner B
EX. B	Examinador B
EX R	Routine examiners
EX. R	Examinadores da rotina
ESSDAI	<i>EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index</i>
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i>
FAN	Fator antinuclear
FLS	Focal lymphocytic sialadenitis
FS	Escore focal/ Focus scores
FS ≥ 1	Escore focal maior ou igual a um
GC	Germinal centers
HE	Hematoxilina e eosina
ICC	Intraclass Correlation Coefficient
MSGGB	Minor salivary gland biopsy
NPV	Negative predictive value
PPV	Positive predictive value
OSS	SICCA Ocular Staining Score
p-STAT1 transcrição 1	Transdutor de sinal fosforilado e ativador de proteínas de
SD	Sjögren's disease
SLF	Sialoadenite linfocítica focal

TBUT	Tempo de ruptura do filme lacrimal
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VPP	Valor preditivo positivo
VPN	Valor preditivo negativo

SUMÁRIO

1. Considerações iniciais.....	15
2. Introdução.....	16
3. Antecedentes científicos.....	18
3.1 Manifestações clínicas e sorológicas da doença de Sjögren.....	18
3.2 Critérios classificatórios e avaliação da atividade de doença.....	19
3.3 Doença de Sjögren e Biópsia da glândula salivares menores.....	20
3.4 Preditores de maior benefício diagnóstico com a BGSM.....	21
3.5 Avaliação intra e interobservador.....	22
4. Objetivos.....	29
4.1 Objetivo Principal.....	29
4.2 Objetivos Secundários.....	29
5. Metodologia.....	30
5.1 Delineamento do estudo.....	30
5.2 Técnica de realização da Biópsia.....	30
5.3 Análise dos dados do prontuário.....	31
5.4 Análise intra e interobservador.....	32
5.5 Ética.....	33
5.6 Análise estatística.....	33
6. Referências bibliográficas.....	36
7. Artigos.....	41
7.1 Artigo 1: Inter and Intraobserver Reliability of Histopathological Salivary Gland Biopsy Assessment in Sjögren's Disease Using the Standardization Suggested by the EULAR Group in 2017.....	41
7.2 Artigo 2: Performance of Minor Salivary Gland Biopsy for the classification of Sjögren's Disease.....	55
8. Considerações finais.....	74
ANEXO A- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.....	76
ANEXO B- Classification criteria for Sjögren syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group-AECG (2002).....	82
ANEXO C- American College Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome (2012).....	84

ANEXO D- American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome (2016).....	85
ANEXO E- EULAR Sjogren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI).....	86
ANEXO F: Sistemas de classificação da BGSM.....	91
Apêndice A: Instrumento de avaliação da reprodutibilidade intra e interobservadores dos laudos anatomopatológicos das glândulas salivares menores.....	92
Apêndice B: Termo de consentimento livre e esclarecido.....	93

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Este trabalho, desenvolvido no Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no período outubro de 2021 a março de 2024, faz parte da linha de pesquisa “Mecanismos reguladores e mediadores da resposta inflamatória sistêmica” e será apresentado como dissertação de mestrado. O projeto também integra o grupo de pesquisa do CNPq intitulado “Estudos das Afecções do Aparelho Locomotor”, do Departamento do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina da UFMG.

O projeto de Pesquisa “Estudo das variáveis clínicas, laboratoriais, imaginológicas, histológicas, de outros exames complementares, terapêuticas e prognósticas de pacientes com síndrome de Sjögren” do qual esse subprojeto faz parte, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (parecer nº 4.964.309), ANEXO A.

O presente estudo avaliou o perfil clínico e laboratorial dos pacientes com suspeita de doença de Sjögren encaminhados para realização de biópsia de glândula salivar menor (BGSM) em um Hospital Universitário. Além disso, analisou-se a reprodutibilidade intra e interobservador da avaliação da BGSM e seu desempenho para o diagnóstico da doença de Sjögren nesse hospital.

A dissertação será apresentada no formato de artigo e compreende os seguintes tópicos principais:

1. Introdução
2. Antecedentes científicos sobre a doença de Sjögren, particularmente as características da BGSM relacionadas com o diagnóstico, critérios de classificação e concordância intra e interobservador da avaliação da BGSM
3. Objetivos geral e específicos
4. Metodologia
5. Artigo 1: Inter and Intraobserver Reliability of Histopathological Salivary Gland Biopsy Assessment in Sjögren's Disease Using the Standardization Suggested by the EULAR Group in 2017
Artigo 2: Performance of Minor Salivary Gland Biopsy for the classification of Sjögren's Disease
6. Considerações finais: conclusões do estudo, limitações e perspectivas futuras.
7. Referências bibliográficas da dissertação.
8. Anexos e Apêndices.

2. INTRODUÇÃO

A doença de Sjögren é uma doença reumática imunomediada sistêmica, caracterizada pela infiltração linfocítica das glândulas exócrinas, principalmente as lacrimais e salivares. Acomete predominantemente mulheres (proporção de 9:1) durante a quarta à sexta década de vida [1]. É a segunda doença do tecido conjuntivo mais frequente, com variação da prevalência de 0,1% a 4,8% dependendo da população analisada [2,3. Estudo regional brasileiro descreveu prevalência de doença de Sjögren de 0,17% [3].

A alta frequência de sintomas secos na população, associada ao acometimento multissistêmico e heterogêneo pela doença de Sjögren e à diversidade de condições que a mimetizam dificultam seu diagnóstico. Os sintomas da supracitada condição reumatológica podem assemelhar-se com os da menopausa, efeito colaterais de medicações ou outras doenças (lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, fibromialgia, etc). Além disso, embora comumente associada à xerostomia e xeroftalmia, os pacientes podem apresentar manifestações extraglandulares, até vinte anos antes do desenvolvimento dos sintomas secos, o que dificulta o diagnóstico definitivo [1,4, 5,6]. Devido todos estes fatores verifica-se um atraso entre os sintomas iniciais e diagnóstico de seis a dez anos [4].

Tendo em vista tratar-se de uma doença subdiagnosticada, principalmente nos quadros com ausência de sintomas secos evidentes e pesquisa para autoanticorpos negativos, torna-se de fundamental importância estudar os testes diagnósticos utilizados na propedêutica da doença de Sjögren [1,2,4,7].

Diante disto, é importante traçar o perfil de pacientes que se beneficiaram com a realização da BGSM durante a propedêutica da doença de Sjögren, considerando que, apesar do baixo risco, trata-se de um procedimento invasivo.

Além disto, não houve consenso até o momento entre os estudos que tentaram identificar quais sintomas, achados sorológicos e outras características que poderiam prever achados da BGSM, sobretudo aqueles que atuariam como marcadores prognósticos [7,8,9].

O desempenho da BGSM para o diagnóstico da doença de Sjögren é pouco estudado na população brasileira [7]. A ampliação do conhecimento sobre a acurácia e

reprodutibilidade da análise histológica da BGSM possibilitará a identificação de possíveis falhas na metodologia atualmente adotada e o aperfeiçoamento da técnica. Dessa forma, será possível garantir aos pacientes um diagnóstico mais seguro e, indiretamente, uma melhor assistência.

Até o momento, nenhum trabalho que a equipe de pesquisa tenha conhecimento avaliou a concordância dos resultados da BGSM entre patologistas utilizando a padronização sugerida pelo *European League Against Rheumatism* (EULAR) em 2017 [10].

3. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

3.1 Manifestações clínicas e sorológicas da doença de Sjögren

A doença de Sjögren pode se manifestar desde síndrome SICCA ao envolvimento sistêmico caracterizado pelas manifestações extraglandulares. Os sintomas secos comprometem principalmente a qualidade de vida do paciente e podem ocasionar complicações na mucosa envolvida, contudo as manifestações sistêmicas são mais graves e por isso estão correlacionadas ao prognóstico do paciente [6]. As manifestações extraglandulares estão presente em aproximadamente 50% a 60% dos pacientes com doença de Sjögren [4].

As manifestações articulares, após os sintomas secos, são as manifestações mais frequentes da doença de Sjögren, acometendo um pouco mais de 50% dos pacientes [6]. O envolvimento neurológico ocorre em 18 a 45% dos pacientes, podendo acometer o sistema nervoso central, periférico ou o sistema nervoso autônomo. A complicação neurológica mais comum é a neuropatia periférica, em particular, a polineuropatia sensorial [11].

Aproximadamente um terço dos pacientes com doença de Sjögren apresentam aumento das glândulas parótidas e/ou submandibulares, que podem se desenvolver de forma aguda, intermitente ou crônica persistente [5]. A prevalência de doença pulmonar clinicamente significativa apresenta variação entre 9 a 20%, embora manifestações subclínicas possam ser encontradas em mais da metade dos pacientes através da realização de tomografia computadorizada ou por achados de lavado broncoalveolar [12]. [6]. A vasculite leucocitoclástica, apesar de manifestar-se em outras condições reumáticas, é um importante sinal de alerta para o diagnóstico de doença de Sjögren [6]. Cerca de 5% dos pacientes com doença de Sjögren apresentam envolvimento renal, frequência claramente subestimada se o envolvimento tubular oculto for avaliado sistematicamente [5,6].

Além disso, os pacientes podem apresentar diversas alterações hematológicas, como anemia, leucopenia e trombocitopenia. A anemia, presente em cerca de 20% dos casos, pode manifestar-se em decorrência de anemia de doença crônica ou

hemolítica, mais raramente secundária a anemia aplástica, perniciosa ou síndrome mielodisplásica. A eletroforese de proteínas deve ser solicitada regularmente, pois a hipergamaglobulinemia policlonal é frequente e geralmente associada com atividade da doença. Todavia, na presença de hipergamaglobulinemia monoclonal deve-se pesquisar complicações como mieloma múltiplo e linfoma [1].

O fator antinuclear (FAN) é positivo em mais de 80% dos pacientes com doença de Sjögren, autoanticorpos anti-Ro/SSA e/ou anti-La/SSB são identificados em 50 a 90% e 25 a 60% dos pacientes, respectivamente, fator reumatoide em 50% dos casos. Os anticorpos anti-Ro/SSA e anti-La/SSB são associados com idade mais jovem ao diagnóstico, maior duração da doença, disfunção mais grave das glândulas exócrinas, aumento recorrente de glândulas parótidas e maior intensidade dos infiltrados linfocíticos nas glândulas salivares menores [5,6,13].

Manifestações clínicas graves, que demandam imunossupressão, tais como neuropatia sensitivo-motora axonal, neutropenia ou linfopenia grave, vasculite cutânea, acidose tubular renal, miosite, vasculite cerebral ativa e mielite transversa foram descritas em 15 a 20% dos pacientes com doença de Sjögren. O aumento de parótidas, a vasculite cutânea, linfadenomegalia, esplenomegalia, glomerulonefrite, crioglobulinemia, consumo de complemento, neutropenia, gamopatia monoclonal e fator reumatoide positivo são preditores de linfoma, cuja prevalência foi estimada em cinco por cento [14,15].

3.2 Critérios classificatórios e avaliação da atividade de doença

Diversos critérios de classificação da doença de Sjögren foram publicados com o objetivo de uniformizar uma definição da doença, que possibilitasse a realização de estudos com grupos homogêneos de pacientes. Os três Critérios de Classificação para doença de Sjögren mais recentes são os *Classification criteria for Sjögren syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group-AECG* (2002) (ANEXO B), *American College Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome* (2012) (ANEXO C) e o *American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) Classification Criteria* (2016) (ANEXO D) [16,17,18]. Por definição, os

critérios de classificação são específicos, mas podem carecer de sensibilidade e não devem ser usados cegamente como critérios diagnósticos, mas como um guia na prática clínica [1,5]. Dentre os mencionados critérios classificatórios o ACR/EULAR *Classification Criteria (2016)* é o que apresenta melhor sensibilidade e especificidade, 96% e 95% respectivamente [18].

A atividade da doença pode flutuar ao longo do tempo e evoluir com períodos de recidivas e remissões. Em 2009 o grupo norte-americano de estudo em doença de Sjögren, em parceria com *European League Against Rheumatism* (EULAR), elaboraram o *EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index* (ESSDAI) (ANEXO E), considerado o padrão ouro para medir a atividade da doença em estudos clínicos. No ESSDAI, as manifestações clínicas ou laboratoriais são classificadas em 12 domínios, como “baixa” (1 ponto), “moderada” (2 pontos) ou “alta” (3 pontos) “atividade”. O valor do nível mais alto de atividade para cada domínio é multiplicado pelo peso do domínio (1 a 6) e depois somado. A pontuação máxima do ESSDAI é 123. O nível de atividade de doença pelo ESSDAI é classificado como baixo se entre 1 e 4, moderado entre 5 e 13 e alto se ≥ 14 . A melhora clinicamente significativa foi definida como uma melhora de pelo menos três pontos no ESSDAI [19].

3.3 Doença de Sjögren e Biópsia da glândula salivares menores

A doença de Sjögren é caracterizada pela infiltração de células linfocíticas e hipofunção de glândulas exócrinas, principalmente as salivares e lacrimais. Nas glândulas salivares menores a infiltração de linfócitos varia de leves e focais a maciços e difusos, com perda da arquitetura tecidual de acordo com a extensão e gravidade [1,5,20].

A BGSM tem desempenhado um papel importante na investigação da doença de Sjögren por ser pouco invasiva e permitir a avaliação das células inflamatórias ativas e do dano em um órgão-alvo da mencionada doença autoimune [21,22].

A identificação de sialoadenite linfocítica focal (SLF) com escore focal maior ou igual a um ($FS \geq 1$) é um dos cinco critérios para a classificação da doença de Sjögren estabelecido pelo ACR/EULAR em 2016 [10]. O escore focal (FS) é definido como um ou mais agregados densos de pelo menos 50 células mononucleares, principalmente

linfócitos, por 4 mm², localizados nas regiões periductal ou perivascular, adjacentes a ácinos de aparência normal [23]. A presença de SLF com FS $\geq$ 1 apresentou sensibilidade e especificidade maior que 80% para o diagnóstico da Doença de Sjögren, com valor preditivo positivo (VPP) entre 74,2% e 100% e valor preditivo negativo (VPN) entre 39,1% e 96,1% [18,24]. Até o momento, apenas um estudo brasileiro avaliou o desempenho da BGSM para o diagnóstico da doença de Sjögren. Nesse estudo, que utilizou o diagnóstico da doença baseado na opinião do especialista como padrão de referência, a BGSM apresentou sensibilidade de 86,57%, especificidade de 97,43%, VPP de 95% e VPN de 92,6% [7].

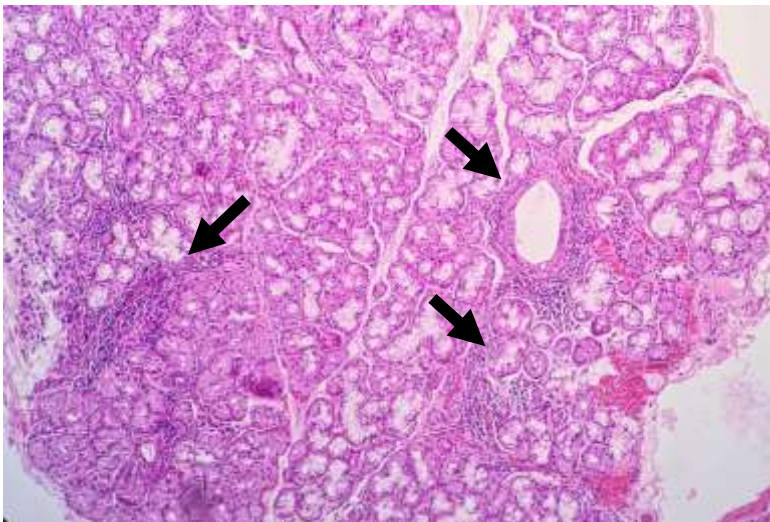


Figura 1- Foto ilustrando biópsia da glândula salivar obtida de um paciente com Doença de Sjögren, corada com hematoxilina-eosina. As setas estão sinalizando os agregados de células mononucleares recresentando cada uma um foco.

3.4 Preditores de maior benefício diagnóstico com a BGSM

A avaliação histopatológica das glândulas salivares menores é relevante para o diagnóstico, estratificação e prognóstico da doença de Sjögren, bem como para exclusão de outras doenças que podem causar hipofunção salivar e hipertrofia glandular como, por exemplo, a sarcoidose, amiloidose e doença relacionada ao IgG4. Pacientes com FS maior ou igual a três, presença de estruturas semelhantes a centro germinativo ou lesões linfoepiteliais nas BGSM apresentam doença mais sistêmica, maior valor do ESSDAI cumulativo, e aumento do risco de linfoma [1,19,25].

Apesar de ser um método diagnóstico seguro, a BGSM é um método invasivo, sendo passível de complicações, e como já mencionado pode ainda produzir resultados falsos negativos e positivos [26,8]. Em estudos prévios, 18-40% dos pacientes com doença de Sjögren apresentam FS menor que um na BGSM, enquanto 6-15% dos indivíduos saudáveis tiveram $FS \geq 1$ sem qualquer sintoma [27,28].

A fim de determinar quais pacientes têm maior probabilidade de se beneficiar da realização da BGSM, vários estudos tentaram identificar sintomas, achados sorológicos e outras características que poderiam prever achados de BGSM, contudo há pouco consenso entre eles. A maioria deles evidenciou que uma biópsia com alterações compatíveis com doença de Sjögren é particularmente importante no grupo de pacientes com pesquisa para autoanticorpos negativa [8,9,15,29]. A frequência de autoanticorpos anti-Ro/SSA ou anti-La/SSB costuma ser menor em pacientes com doença de Sjögren apresentando apenas envolvimento neurológico, logo estes pacientes normalmente necessitam da realização da BGSM para estabelecer o diagnóstico [5].

3.5 Avaliação intra e interobservador

Três diferentes critérios de classificações para interpretar a BGSM foram propostas (ANEXO F):

1. Chisholm e Mason (1968): a classificação é realizada em graus, que variam de 0 a 4, de acordo com a extensão e forma de organização da infiltração linfocítica. O grau 0 corresponde a ausência de infiltração; o grau 1 a uma leve infiltração de células mononucleares, porém não formando foco; grau 2 à presença de um infiltrado de células mononucleares organizando-se em focos, mas cuja densidade é menor que um foco por 4 mm^2 ; os graus 3 e 4 correspondem à presença de igual ou maior que um foco por 4 mm^2 , respectivamente. Todos os agregados são considerados, qualquer que seja o aspecto do parênquima glandular adjacente [30].
2. Greenspan e Daniels (1974) acrescenta o conceito de FS, definindo-o como o número de focos em uma área de 4 mm^2 da glândula com parênquima de aparência normal, e estabelece o conceito de SLF, definida como $FS \geq 1$ [23].
3. Tarpley (1974) apresenta os conceitos de destruição acinar e fibrose [31].

Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) é um registro internacional da doença de Sjögren que avaliou 1.726 amostras de BGSM e descreveu seis padrões inflamatórios possíveis para BGSM [32]:

- SLF: presença de um ou mais agregados densos de 50 ou mais linfócitos, localizados perivasculares ou periductais, adjacentes aos ácinos de aparência normal nos lobos ou nos lóbulos glandulares sem dilatação ductal ou fibrose intersticial.
- Sialoadenite crônica inespecífica: presente quando há infiltrados dispersos ou focais de células mononucleares que não são adjacentes aos ácinos de aparência normal e localizados em lóbulos glandulares que exibem alguma combinação de atrofia acinar, fibrose intersticial e/ou dilatação ductal.
- Sialoadenite crônica esclerosante: provável estágio avançado da sialoadenite crônica inespecífica em que predominam a fibrose intersticial, vários padrões de inflamação crônica e atrofia acinar.
- Dentro dos limites normais: glândulas salivares menores com arquitetura de aparência normal e células plasmáticas dispersas, mas sem atrofia acinar e poucos ou nenhum linfócito.
- Inflamação granulomatosa: presente quando há aglomerados de macrófagos CD68 positivos, com ou sem células gigantes multinucleadas ocasionais e ausência de necrose.
- Linfoma da zona marginal (MALT): glândulas salivares menores exibindo infiltração linfocítica difusa com perda da arquitetura glandular e composta por camadas de células CD20 positivas sem distribuição folicular, poucas células CD3 positivas dispersas e poucas ou nenhuma células dendríticas foliculares (CD21 ou CD23 positivas).

Neste registro foi constatado que os pacientes com SLF com $FS \geq 1$ apresentaram características fenotípicas de doença de Sjögren de forma mais significativa que aqueles que apresentavam SLF com $FS < 1$, sialoadenite crônica inespecífica ou sialoadenite crônica esclerosante, concluíram que a SLF com $FS \geq 1$ representa uma entidade distinta dos demais padrões inflamatórios. Sugeriu-se que as BGSM devem ser avaliadas primeiro qualitativamente para avaliar a presença de SLF versus sialoadenite crônica inespecífica/sialoadenite crônica esclerosante e apenas se a SLF estiver presente realizar a avaliação do FS [32].

O critério de classificação de Chisholm e Mason foi criticado por não considerar níveis de gravidade acima de 1 foco e principalmente por não distinguir entre os diferentes padrões inflamatórios da BGSM, ou seja, SLF de sialoadenite crônica inespecífica ou sialoadenite crônica esclerosante [32].

A tabela 1 sumariza as características e os resultados de estudos prévios que avaliaram a reprodutibilidade da BGSM [33-36]. Deve-se destacar que somente o estudo de Costa e colaboradores (2014), analisou a reprodutibilidade intra e interobservador [33].

Tabela 1- Resumo dos estudos que avaliaram a reprodutibilidade da BGSM

Estudo	Objetivo	Desenho	Amostra	Metodologia	Resultados
Wicheta et al (2019) [33]	Avaliar se aplicação critérios rigorosos de pontuação de FS alteraram a sensibilidade e o valor preditivo da BGSM no diagnóstico da doença de Sjögren em comparação com a interpretação inicial	Transversal	73 pacientes. Idade Média: 48,5 anos. Área glandular média: 14,2 mm ² .	Pacientes encaminhados para BGSM no Hospital Geral de Massachusetts de 2011 a 2016 devido a suspeita de doença de Sjögren. Exclusão: Registros incompletos, encaminhamento por motivos além do diagnóstico presuntivo de doença de Sjögren, presença prévia das seguintes condições: exposição à radiação de cabeça e pescoço, infecção por hepatite C, síndrome da imunodeficiência adquirida, sarcoidose, amiloidose e doença do enxerto contra o hospedeiro	Na primeira avaliação que usou o laudo da patologia anotado em prontuário, houve sensibilidade de 80%, especificidade de 87,5%, VPP de 57,1% e VPN de 95,5%. Na reavaliação, foram encontradas sensibilidade de 95,4%, especificidade de 76,4%, VPP de 63,6% e VPN de 97,5%. Houve discrepância entre a leitura inicial da lâmina e a reavaliação em 30 (41%) BGSM. Dos 16 exames indeterminados à avaliação inicial, 10 apresentaram, na reavaliação, características sugestivas de doença de Sjögren. Cinco lâminas inicialmente positivas, na reavaliação, foram julgadas como negativas e nove inicialmente negativas foram definidas como positivas.
Costa et al (2014) [34]	Avaliar a confiabilidade intra e interobservador da BGSM na doença de Sjögren.	Transversal	89 lâminas BGSM, 77 com relatórios patológicos de base.	Pacientes com doença de Sjögren (critérios AECG 2002) e início dos sintomas há pelo menos 10 anos, em atividade clínica ou laboratorial. Para análise intraobservador a releitura da BGSM ocorreu com intervalo de 2 meses. A análise interobservador foi realizada através da comparação da análise da lâmina entre um patologista treinado e o laudo de base.	Concordância intraobservador: substancial para detecção de SLF, sialoadenite crônica discreta e inespecífica e estruturas semelhantes a centros germinativos ($\kappa = 0,71$, $\kappa = 0,64$ e $\kappa = 0,67$, respectivamente); moderada para fibrose e dilatação ductal ($\kappa = 0,44$ e $\kappa = 0,59$, respectivamente) e razoável para focos confluentes ($\kappa = 0,29$). Concordância interobservador: ausente para dilatação ductal ($\kappa = -0,12$), leve para fibrose ($\kappa = 0,16$) e moderada para depleção acinar ($\kappa = 0,41$), SLF ($\kappa = 0,46$) e sialoadenite

						crônica discreta e inespecífica ($\kappa = 0,42$). A revisão das BGSM por patologista treinado resultou em um diagnóstico histopatológico diferente em 8 dos 63 laudos (12,6%): seis (9,5%) BGSM tiveram FS alterado para <1 e dois (3,1%) para ≥ 1 .
Tavoni <i>et al</i> (2012) [35]	Verificar concordância interobservadores na avaliação da BGSM entre diferentes centros reumatológicos italianos experientes	a	Transversal multicêntrico	50 BGSM Área: 6 a 24,57 mm ²) Idade média de 50,1 anos	Participação de sete centros italianos. Classificação de Chisholm e Mason Todas as amostras foram agrupadas e reavaliadas cegamente por cada patologista.	Mudança do diagnóstico inicial em 53% dos casos. Foi estabelecido o diagnóstico de doença de Sjögren não diagnosticada anteriormente em 12 pacientes e refutado esse diagnóstico em 8 pacientes.
Vivino <i>et al</i> (2002) [35]	Avaliar concordância diagnóstica de amostras de BGSM de pacientes com sintomas ou sinais de xerostomia e/ou xeroftalmia encaminhados para avaliação de possível doença de Sjögren	a	Transversal	60 BGSM de 58 pacientes. Idade média: 54,5 anos.	Foram incluídas todas as BGSM em que foi solicitada revisão pelo reumatologista assistente de diferentes instituições entre fevereiro de 1994 e dezembro de 2000. A revisão foi solicitada devido a: incerteza diagnóstica nas descrições ou conclusões histológicas, ausência de autoanticorpos marcadores ou falta de evidência objetiva de olhos secos e/ou boca seca. Um ou dois patologistas reavaliaram todas as BGSM, utilizando a classificação de Greenspan e Daniels.	Mais da metade (32 dos 60) dos diagnósticos gerais das BGSM foram revisados, produzindo 8 resultados de testes falsos positivos e 12 falsos negativos, uma taxa de erro de 37%. A principal razão para a imprecisão na interpretação inicial foi a falha em aplicar o sistema de pontuação de FS em 58 de 60 BGSM. O atraso no diagnóstico para os 12 casos foi de 302 dias.

BGSM: biópsia de glândulas salivares menores; VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo; AECG: American-European Consensus Group.

SLF: sialoadenite linfocítica focal. FS: escore focal.

A falta de consenso sobre qual critério classificatório utilizar ocasionou uma baixa concordância na avaliação da BGSM na maioria dos estudos. Na prática diária, muitas das características histopatológicas úteis são subestimadas. O FS não é calculado rotineiramente por todos os patologistas, contribuindo ainda mais para a discrepância de interpretação da BGSM. Estruturas semelhantes a centros germinativos foram insuficientemente avaliadas, apesar de sua importância para o prognóstico da doença de Sjögren. Observou-se ainda, cálculo inadequado do FS, principalmente quando havia confluência de focos, dificuldade em determinar a área de superfície, se o parênquima da glândula era atrófico ou fibrótico e avaliação de glândulas com acentuadas alterações inflamatórias periductais associadas a sialoadenite [26,30,31,33,34,35,36].

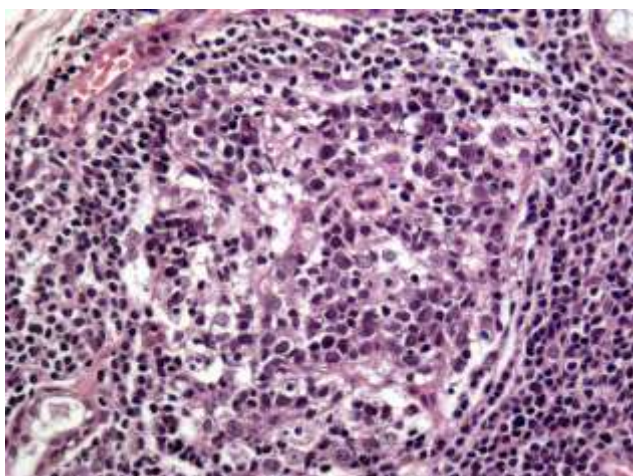


Figura 2- Foto ilustrando estrutura semelhante a centro germinativo em biópsia da glândula salivar menor obtida de um paciente com doença de Sjögren, corada com hematoxilina-eosina. Observa-se área de coloração mais escura densamente compactada e uma clara central, característica típica das estruturas semelhantes a centros germinativos.

Em 2017 foram publicadas, pelo EULAR, recomendações para padronizar a técnica e a interpretação da biópsia, e assim aumentar a precisão desse método diagnóstico. Segundo estas recomendações, a amostra ideal deve ter área mínima de 8mm² ou contemplar de 4 a 6 glândulas. Deve-se relatar a presença ou ausência de atrofia, fibrose, dilatação do ducto, sialoadenite crônica e inespecífica, estruturas semelhantes a centros germinativos e lesões linfoepiteliais. O cálculo da pontuação do foco deve incluir toda a área da superfície glandular no denominador, incluindo áreas anormais, para evitar a introdução de viés e extensão das características relacionadas com atrofia. Além da coloração com hematoxilina e eosina (HE), foi sugerida a realização

de imuno-histoquímica para CD21, CD3 e CD20, para o cálculo das proporções entre células B e T nos focos e seu grau de segregação, o que ajuda na identificação de centros germinativos [10].

Quando os focos são confluentes sugere-se que seja adotado um “teto” de 12 FS sem tentar contar focos individuais. A SLF não pode ser atribuída quando a aparência histológica das glândulas é dominada por características associadas à sialoadenite crônica e inespecífica, como atrofia acinar, dilatação do ducto e fibrose, sem evidência de qualquer foco adjacente ao parênquima normal. Por outro lado, considerando a prevalência da sialoadenite crônica e inespecífica, alguns focos podem estar adjacentes a características atróficas [10].

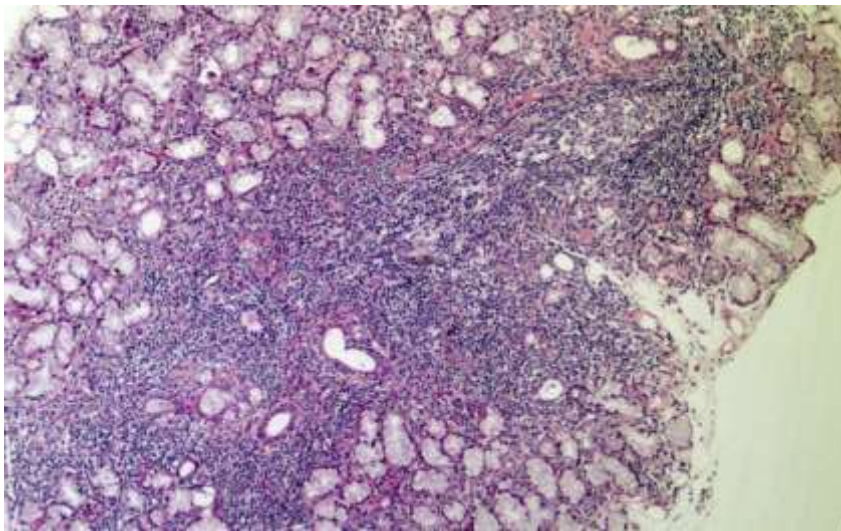


Figura 3 - Foto ilustrando biópsia de glândula salivar menor com focos confluentes obtida de um paciente com doença de Sjögren, corada com hematoxilina-eosina.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Principal

- Avaliar a concordância intra e interobservador entre patologistas na avaliação da BGSM, utilizando as recomendações publicadas pelo grupo EULAR em 2017 [10].

4.2 Objetivos Secundários

- Descrever o perfil clínico dos pacientes encaminhados para BGSM.
- Definir o perfil clínico dos pacientes que se beneficiaram com a realização da BGSM
- Avaliação da acurácia da BGSM para a classificação da doença de Sjögren considerando como padrão de referência o *ACR/EULAR Classification Criteria* (2016).
- Avaliar as variáveis clínicas e laboratoriais associadas com o diagnóstico histopatológico da doença de Sjögren.
- Analisar a relação do tratamento com glicocorticoides e/ou imunossupressores com o diagnóstico histopatológico de SLF em pacientes com suspeita de doença de Sjögren na população estudada.
- Analisar a relação da atividade de doença avaliada pelo ESSDAI com o valor do FS da BGSM.

5. METODOLOGIA

5.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo transversal realizado em duas etapas distintas. Primeiramente foram analisados retrospectivamente os prontuários e laudos anatomopatológicos de todos os pacientes, com idade superior ou igual a 18 anos, com suspeita clínica de doença de Sjögren, submetidos a BGSM como parte de seus cuidados clínicos de rotina, no período de novembro de 2017 a abril de 2022 no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Neste período foram realizadas 211 BGSM.

Na segunda etapa do estudo foi avaliada a reprodutibilidade intra e interobservador das BGSM. Para tanto, dois patologistas, avaliaram as biópsias selecionadas na primeira fase do estudo, segundo um procedimento cego padronizado no tempo zero e, após um período de pelo menos dois meses, um deles reavaliou todas as biópsias [33].

5.2 Técnica de realização da Biópsia

As BGSM foram realizadas por um profissional experiente, que recebeu treinamento específico, utilizando a técnica descrita por Greenspan et al (1974) [23], após autorização pelo paciente. O material foi acondicionado em frasco com solução de formol 10%, processado com inclusão de parafina, submetido a secções em micrótomo rotativo, obtendo-se cortes de 3 micrômetros de espessura. Esses cortes foram corados com HE e posteriormente submetidos a exame histológico. As lâminas foram visualizadas por uma equipe de patologistas previamente submetidos a treinamento acerca das recomendações padronizadas pelo EULAR [10]. A BGSM foi considerada positiva para doença de Sjögren quando apresentava SLF com FS $\geq$ 1.

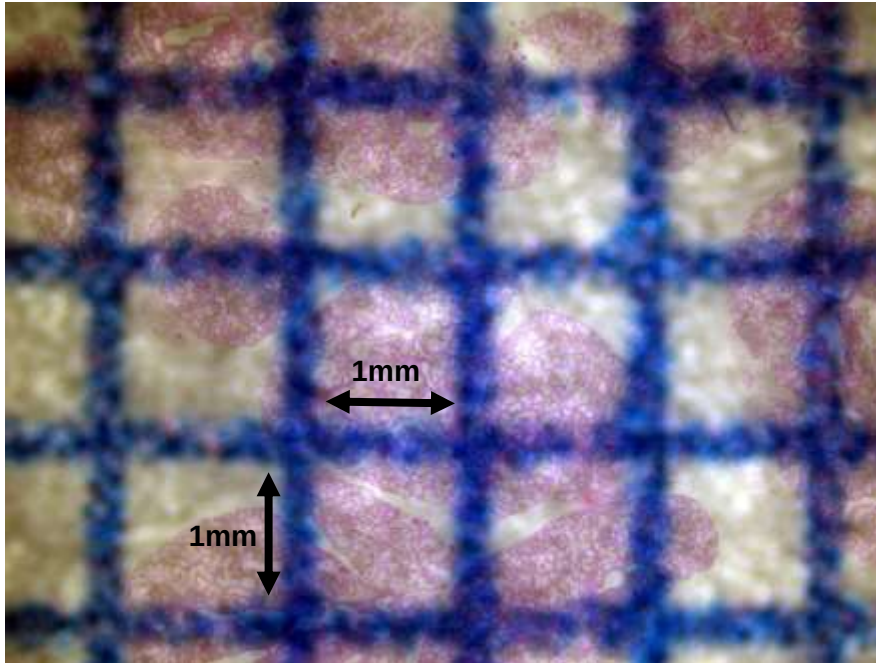


Figura 4 - Foto ilustrando o quadriculado de eletrocardiograma utilizado durante a leitura das lâminas pela equipe de patologia para avaliar a área das biópsias de glândula salivar menor, corada com hematoxilina-eosina.

5.3 Análise dos dados do prontuário

Para cada paciente, coletamos dos prontuários clínicos:

- características demográficas (idade e sexo)
- data dos primeiros sintomas
- presença de manifestações clínicas sugestivas de doença de Sjögren (sintomas constitucionais, xerostomia subjetiva, xeroftalmia subjetiva e objetiva, linfadenopatia, aumento de parótida, manifestações articulares, neurológicas com acometimento de sistema nervoso periférico e central, pulmonares, renais e cutâneas)
- presença dos seguintes parâmetros laboratoriais: citopenia , consumo de C3 e/ou C4, presença de hipergamaglobulinemia policlonal, fator reumatoide, FAN, crioglobulinas e anticorpos anti-Ro/SSA e anti-La/SSB
- ESSDAI no momento do diagnóstico, no momento da BGSM e cumulativo (qualquer manifestação já ocorrida) [19].
- Laudo das biópsias realizado segundo as recomendações EULAR 2017 por patologistas treinados descrevendo: a área de amostra glandular, presença ou ausência de estruturas semelhantes a centros germinativos e FS [10].

- Uso de imunomodulador, imunossupressor ou corticosteroide no momento da biópsia.
- Diagnósticos diferenciais: história de tratamento com radiação de cabeça e pescoço, infecção ativa de hepatite C, síndrome de imunodeficiência adquirida, sarcoidose, amiloidose, doença do enxerto contra hospedeiro, doença relacionada a IgG4.

Toda a população do estudo foi avaliada em relação aos critérios de classificação ACR/EULAR 2016 [18]. No presente estudo, foi escolhido o critério de classificação ACR-EULAR *Classification Criteria* (2016) por apresentar boa sensibilidade e especificidade, 96% e 95% respectivamente, e ser o adotado na prática clínica diária do ambulatório de doença de Sjögren do Hospital das Clínicas da UFMG [18].

Para a avaliação objetiva do olho seco o teste de Schirmer, o tempo de ruptura do filme lacrimal (TBUT) e o SICCA Ocular Staining Score (OSS), foram realizados no serviço de oftalmologia do Hospital das Clínicas da UFMG, por profissionais capacitados para realização dos mencionados exames [16].

5.4 Análise intra e interobservador

A análise da reprodutibilidade intra e interobservador da revisão da BGSM foi realizada a partir da releitura realizada por dois patologistas das lâminas dos 201 pacientes que preencheram os critérios de inclusão no estudo. O examinador A (EX. A) avaliou todas as lâminas em dois momentos, com pelo menos dois meses de intervalo entre elas, em ordem aleatória, por procedimento cego padronizado. O examinador B (EX. B) avaliou 115 lâminas escolhidas aleatoriamente uma única vez. Um formulário padronizado foi utilizado na coleta de dados das características da BGSM (Apêndice A). As seguintes características foram avaliadas: área total da amostra glandular, número de focos observados, FS, presença ou ausência de centros germinativos, lesões linfoepiteliais, atrofia acinar, dilatação acinar, dilatação ductal, fibrose e infiltração adiposa. Quando presentes, atrofia acinar, dilatação acinar, dilatação ductal, fibrose e infiltração adiposa foram graduadas em discreta, moderada ou acentuada. Os patologistas emitiram, ao fim da análise, uma das seguintes conclusões histológicas: glândulas salivares sem alterações histológicas relevantes, sialoadenite crônica e inespecífica, SLF ou miscelânea. As avaliações do EX. A do

primeiro momento foram comparadas aos laudos dos examinadores da rotina (EX. R) destas biópsias (análise interobservador) e com as avaliações do segundo momento (análise intraobservador). As avaliações do EX. A do primeiro momento também foram comparadas a avaliação do EX. B (análise interobservador). Todos os EX. R haviam sido previamente treinados para realizar análise da BGSM segundo as recomendações EULAR 2017 [10].

5.5 Ética

O projeto de Pesquisa “Estudo das variáveis clínicas, laboratoriais, imaginológicas, histológicas, de outros exames complementares, terapêuticas e prognósticas de pacientes com Síndrome de Sjögren” do qual esse subprojeto faz parte, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (parecer nº 4.964.309) em 10 de setembro de 2021 (ANEXO A). Todos os pacientes concordaram em participar e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B).

5.6 Análise estatística

As análises foram feitas nos programas R 3.6.3, MINITAB e PASW Statistics versão 18. Foi considerado o nível de significância de 5%.

Foi realizada a estatística descritiva das variáveis coletadas. Variáveis categóricas foram descritas como número (frequência) e as variáveis numéricas analisadas quanto à distribuição normal ou não normal e descritas, respectivamente, como média (desvio-padrão) e mediana (mínimo-máximo). Os testes do Qui-quadrado foram aplicados às variáveis categóricas, para comparação entre frequências ou proporções.

As comparações de médias e medianas foram realizadas, respectivamente, com os testes T-Student (variáveis de distribuição normal) e Mann-Whitney (variáveis de distribuição não normal).

As análises de desempenho (sensibilidade, especificidade, VPP e VPN) da BGSM para a classificação da doença de Sjögren na população estudada foram calculadas considerando o critério de classificação ACR/EULAR (2016) como padrão de referência.

Foi construída a curva ROC para FS com objetivo de encontrar o melhor ponto de corte desta característica em relação ao paciente ser classificado como apresentando doença de Sjögren pelo critério de classificação ACR/EULAR (2016), ponderando sensibilidade e especificidade. A classificação adotada para interpretação dos valores obtidos é apresentada no Tabela 2 [37].

Tabela 2 – Classificação da acurácia em relação à área sob a curva ROC

Área sob a curva ROC	Classificação
Maior que 0,9	Alta acurácia
Entre 0,7 e 0,9	Moderada acurácia
Entre 0,5 e 0,7	Baixa acurácia
Menor que 0,5	Resultado ao acaso

Modelos de regressão logística univariada e multivariada foram ajustados para avaliar os efeitos simultâneos das características clínicas e laboratoriais (variáveis preditoras) dos pacientes com suspeita de doença de Sjögren sobre o desfecho “biópsia positiva para doença de Sjögren (FS $\geq$ 1)” (variável dependente).

Para os modelos de regressão logística univariada foi adotado um nível de significância de 75%. Então foi realizada regressão logística multivariada pelo método de backward entre as variáveis independentes que apresentaram associação com a variável resposta na análise univariada. Para estabelecimento do modelo final de regressão logística multivariado considerou-se um nível de significância de 95%. A qualidade do ajuste da final o modelo foi avaliado pelo teste de Hosmer-Lemeshow.

O cálculo do coeficiente Kappa foi realizado para avaliação da concordância intra e interobservadores na análise da BGSM em relação às variáveis dicotômicas. As classificações do coeficiente Kappa são apresentadas na Tabela 3. A partir dos valores amostrais, foi estimado o coeficiente Kappa assim como seu respectivo intervalo de 95% de confiança [38].

Tabela 3 – Classificação do coeficiente Kappa

Kappa	Classificação
0,00 a 0,20	Pobre
0,21 a 0,40	Razoável
0,41 a 0,60	Moderada
0,61 a 0,80	Boa
0,81 a 1,00	Muito boa

Para a avaliação da concordância do FS quantitativo, variável contínua, entre os patologistas foi calculado o Coeficiente de Correlação Intraclassa (ICC). O ICC é uma medida da confiabilidade definida como a razão da variância entre unidades de análise e a variância total. A classificação do ICC é apresentada na Tabela 4 [39].

Tabela 4– Classificação do Coeficiente de Correlação Intraclassa

ICC	Classificação
0,00 a 0,40	Pobre
0,40 a 0,60	Razoável
0,60 a 0,75	Boa
0,75 a 1,00	Excelente

6. Referências bibliográficas

1. PARISIS, Dorian *et al.* Current State of Knowledge on Primary Sjögren's Syndrome, an Autoimmune Exocrinopathy. **Journal of clinical medicine**, v. 9, ed. 7, p. 1-61, 20 jul. 2020. DOI <https://doi.org/10.3390/jcm9072299>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/7/2299>.
2. BINARD, A. *et al.* Epidemiology of Sjögren's syndrome: where are we now?. **Clinical and experimental rheumatology**, n. 1, ed. 25, p. 1-4, 23 set. 2007. Disponível em: <https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=2996>.
3. VALIM, Valéria *et al.* Primary Sjögren's syndrome prevalence in a major metropolitan area in Brazil. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 53, ed. 1, p. 24-34, 14 ago. 2012. DOI <https://doi.org/10.1590/S0482-50042013000100003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S048250041370055X?via%3Dihub>.
4. MAVRAGANI, Clio P.; MOUTSOPOULOS, Haralampos M. The geoepidemiology of Sjögren's syndrome. **Autoimmunity Reviews**, v. 9, ed. 5, p. A305-A310, 10 nov. 2009. DOI <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.11.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997209001827?via%3Dihub>.
5. BRITO-ZERÓN, Pilar *et al.* Sjögren syndrome. **Nature reviews. Disease primers**, v. 2, p. 1-20, 7 jul. 2016. DOI [doi:10.1038/nrdp.2016.47](https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.47). Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201647>.
6. Ramos-Casals, Manuel *et al.* "Characterization of systemic disease in primary Sjögren's syndrome: EULAR-SS Task Force recommendations for articular, cutaneous, pulmonary and renal involvements." *Rheumatology (Oxford, England)* vol. 54,12 (2015): 2230-8. doi:10.1093/rheumatology/kev200Giannouli, Stavroula, and Michael Voulgarelis. "Predicting progression to lymphoma in Sjögren's syndrome patients." *Expert review of clinical immunology* vol. 10,4 (2014): 501-12. doi:10.1586/1744666X.2014.872986
7. GIOVELLI, Raquel A. *et al.* Clinical characteristics and biopsy accuracy in suspected cases of Sjögren's syndrome referred to labial salivary gland biopsy. **Rheumatic & musculoskeletal diseases open**, v. 16, ed. 30, p. 1-7, 2015. DOI <https://doi.org/10.1186/s12891-015-0482-9>. Disponível em: <https://bmcmusculoskeletdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12891-015-0482-9>.

8. BAMBA, Ravinder *et al.* The minor salivary gland biopsy as a diagnostic tool for Sjögren syndrome. **Laryngoscope**, v. 119, ed. 10, p. 1922-1926, 2009. DOI <https://doi.org/10.1002/lary.20292>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lary.20292>.

9. LANGERMAN, Alexander *et al.* Utility of lip biopsy in the diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. **Laryngoscope**, [s. l.], v. 117, ed. 6, p. 1004-1008, 2007. DOI <https://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31804654f7>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/MLG.0b013e31804654f7>.

10. FISHER, Benjamin *et al.* Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 76, ed. 7, p. 1161-1168, 12 dez. 2016. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210448. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/76/7/1161.long>

11. ALUNNO, Alessia *et al.* The kaleidoscope of neurological manifestations in primary Sjögren's syndrome. **Clinical and experimental rheumatology**, 2019 May-Jun;37 Suppl 118(3):192-198. Epub 2019 Aug 28. PMID: 31464676.

12. FLAMENT, Thomas *et al.* Pulmonary manifestations of Sjögren's syndrome. **European Respiratory Society**. 2016 Jun;25(140):110-23. doi: 10.1183/16000617.0011-2016.

13. FAYYA, Anum *et al.* Autoantibodies in Sjögren's Syndrome. **Rheumatic diseases clinics of North America**, v. 42, ed. 3, p. 419-434, 21 jun. 2016. DOI: 10.1016/j.rdc.2016.03.002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4955792/>.

14. BALDINI, Chiara *et al.* Primary Sjögren's syndrome as a multi-organ disease: impact of the serological profile on the clinical presentation of the disease in a large cohort of Italian patients. **Rheumatology (Oxford)**, v. 53, ed. 5, p. 839-844, 4 nov. 2013. DOI: 10.1093/rheumatology/ket427. Epub 2013. Disponível em: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/53/5/839/1797882?login=false>.

15. GIANNOULI, Stavroula; VOULGARELIS, Michael. Predicting progression to lymphoma in Sjögren's syndrome patients. **Expert review of clinical immunology**, v. 10, ed. 4, p. 501-512, 2014. DOI <https://doi.org/10.1586/1744666X.2014.872986>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/1744666X.2014.872986>.

16. VITALI, C. *et al.* Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 61, ed. 6, p. 554-

- 558, 2002. DOI:10.1136/ard.61.6.554. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/61/6/554.long>.
17. SHIBOSKI, S. C. *et al.* 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**, v. 64, ed. 4, p. 475-487, 2012. DOI: 10.1002/acr.21591. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3349440/>.
 18. SHIBOSKI, Caroline H *et al.* 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome. **Arthritis & rheumatology**, v. 69, ed. 1, p. 35-45, 22 set. 2016. DOI:10.1002/art.39859. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5650478/>.
 19. SEROR, Raphaële *et al.* EULAR Sjögren's syndrome disease activity index (ESSDAI): a user guide. **Rheumatic & musculoskeletal diseases open**, v. 1, ed. 1, p. 1-9, 31 maio 2015. DOI: 10.1136/rmdopen-2014-000022. Disponível em: <https://rmdopen.bmj.com/lookup/pmidlookup?view=long&pmid=26509054>.
 20. JANKA, Mária; ZALATNAI, Attila. Correlations between the histopathological alterations in minor salivary glands and the clinically suspected Sjögren's syndrome. **Pathology oncology research**. 2023 May 15;29:1610905. doi: 10.3389/pore.2023.1610905.
 21. CHRISTODOULOU, Maria I. *et al.* Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome. **Journal of autoimmunity**, v. 34, ed. 4, p. 400-407, 19 out. 2009. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.10.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841109001310?via%3Dihub>.
 22. TROY, Daniels E. *et al.* Associations between salivary gland histopathologic diagnoses and phenotypic features of Sjögren's syndrome among 1,726 registry participants. **Arthritis & Rheumatism**, v. 63, ed. 7, p. 2021-2030, 24 mar. 2011. DOI 10.1002/art.30381. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3128201/>
 23. GREENSPAN, J. S. *et al.* The histopathology of Sjögren's syndrome in labial salivary gland biopsies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 37, ed. 2, p. 217-229, 1974. DOI [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90417-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90417-4)
 24. GUELLEC, Dewi *et al.* Diagnostic value of labial minor salivary gland biopsy for Sjögren's syndrome: a systematic review. **Autoimmunity reviews**, v. 12, ed. 3, 7 ago. 2012. DOI <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.08.001>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997212001656?via%3Dihub>.

25. TREVISANI , Virginia *et al.* Recommendations from the Brazilian society of rheumatology for the diagnosis of Sjögren's syndrome (Part I): glandular manifestations (systematic review). **Advances in rheumatology**, v. 59, ed. 1, p. 1-17, 2019. <https://doi.org/10.1186/s42358-019-0102-8>
26. SPIJKERVET, Fred *et al.* Parotid Gland Biopsy, the Alternative Way to Diagnose Sjögren Syndrome. **Rheumatic disease clinics of North America**, v. 42, ed. 3, p. 485–499, 2016. DOI <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2016.03.007>
27. KROESE , Frans *et al.* The role of salivary gland histopathology in primary Sjögren's syndrome: promises and pitfalls. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 112, ed. 3, p. 222-233, 13 jul. 2018.
28. DE WILDE , P. C. *et al.* Morphometric study of histological changes in sublabial salivary glands due to aging process. **Journal of clinical pathology**, v. 39, ed. 4, p. 406-417, 1986. DOI:10.1136/jcp.39.4.406
29. GORDON, Alex *et al.* Minor Salivary Gland Biopsy in Diagnosis of Sjögren's Syndrome. **OTO open**, v. 6, ed. 3, p. 1-6, 2022. DOI: 10.1177/2473974X221116107. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9326841/>.
30. CHISHOLM , D. M *et al.* Labial salivary gland biopsy in Sjogren's disease. Journal of Clinical Pathology. **Journal of clinical pathology**, v. 21, ed. 5, p. 656-660, 1968. DOI <https://doi.org/10.1136/jcp.21.5.656>
31. TARPLEY, TM Jr *et al.* Minor salivary gland involvement in Sjögren's syndrome. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 37, ed. 1, p. 64-74, 1974. DOI [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90160-1](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90160-1)
32. DANIELS, Troy *et al.* Associations between salivary gland histopathologic diagnoses and phenotypic features of Sjögren's syndrome among 1,726 registry participants. **Arthritis and rheumatism**, v. 63 (7), p. 2021-30, 2011. DOI doi:10.1002/art.30381. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3128201/>
33. WICHETA, Sarah *et al.* Discrepancies in Interpretation of the Minor Salivary Gland Biopsy in the Diagnosis of Sjogren's Syndrome. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 77, ed. 8, p. 1628-1635, 2019. DOI: 10.1016/j.joms.2019.01.052. Disponível em: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(19\)30127-2/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(19)30127-2/fulltext).

34. COSTA, Sebastian *et al.* Reliability of histopathological salivary gland biopsy assessment in Sjogren's syndrome: a multicentre cohort study. *Rheumatology*. **Rheumatology (Oxford)**, v. 54, ed. 6, p. 1056-1064, 2014. DOI: 10.1093/rheumatology/keu453. Disponível em: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/54/6/1056/1800052?login=false>.
35. TAVONI , Antonio *et al.* Minor salivary gland biopsy and Sjögren's syndrome: comparative analysis of biopsies among different Italian rheumatologic centers. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 30, ed. 6, p. 929-933, 2012.
36. VIVINO, Frederick *et al.* Change in final diagnosis on second evaluation of labial minor salivary gland biopsies. **The Journal of rheumatology**, v. 29, ed. 5, p. 938-944, 2002. PMID: 12022353.
37. FISCHER J. E., BACHMANN L. M., JAESCHKE R. A readers' guide to the interpretation of diagnostic test properties: clinical example of sepsis. *Intensive Care Med.* 2003;29(7):1043-51.
38. LANDIS, J. R. & KOCH, G. G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33:159-174.
39. CICCHETTI, Domenic V., 1994. "Guidelines, criteria, and rules of thumb for evaluating normed and standardized assessment instruments in psychology." *Psychological Assessment*, 6, 284-290.
40. SALOMONSSON , Stina *et al.* Minor salivary gland immunohistology in the diagnosis of primary Sjögren's syndrome. **Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 38, ed. 3, p. 282-288, 9 maio 2008. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2008.00697.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0714.2008.00697.x>.
41. ZHENG , Qing *et al.* Phosphorylated signal transducer and activator of transcription proteins 1 in salivary glandular tissue: an important histological marker for diagnosis of primary Sjögren's syndrome. **RMD open**, v. 9, ed. 1, p. 1-14, 23 jan. 2023. DOI: 10.1136/rmdopen-2022-002694. Disponível em: <https://rmdopen.bmj.com/content/9/1/e002694.long>.

7.ARTIGOS

7.1 Artigo 1

INTER AND INTRAOBSERVER RELIABILITY OF HISTOPATHOLOGICAL SALIVARY GLAND BIOPSY ASSESSMENT IN SJÖGREN'S DISEASE USING THE STANDARDIZATION SUGGESTED BY THE EULAR GROUP IN 2017

Clarice Garcia Valadares Xavier¹, Débora Cerqueira Calderaro², Stanley de Almeida Araújo³, Leandro Augusto Tanure⁴, Gustavo Gomes Resende⁴, David Campos Wanderley⁵, Gilda Aparecida Ferreira²

¹Post Graduate Program in Sciences Applied to Adult Health Care, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;

²Department of Locomotor System, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;

³Department of Pathology, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;

⁴Department of Rheumatology, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;

⁵Institute of Nephropathology, Belo Horizonte, Brazil.

Abstract

Objectives: This study aimed to evaluate the inter and intraobserver reliability of Minor Salivary Gland Biopsy (MSGB) analysis, following the 2017 recommendations by the EULAR group.

Methods: The reproducibility of MSGB in patients suspected of Sjögren's disease (SD) performed by two experienced pathologists was analyzed. Examiner A (ExA) reviewed 196 slides twice, with a two-month gap, using a standardized blind procedure, while Examiner B (ExB) assessed 115 slides randomly. Agreement on qualitative variables was assessed using the Kappa coefficient (k), and the Intraclass Correlation Coefficient (ICC) was calculated for quantitative variables.

Results: Inter and intraobserver analyses showed good agreement ($k \geq 0.6$) for area, dichotomized Focus Score ($FS \geq 1$ or not), and diagnosis of focal lymphocytic sialadenitis (FLS). However, agreement on assessing structural damage was only modest to fair ($k \leq 0.4$) for interobserver reliability, with a similar pattern observed in the intraobserver analysis. The ICC for FS demonstrated good agreement (≥ 0.61) between routine examiners and ExA's evaluations. Additionally, almost perfect agreement ($ICC \geq 0.76$) was observed between ExA and ExB evaluations, as well as in the intraobserver evaluation.

Conclusion: Inter and intraobserver reliability exhibited favorable levels for diagnosing FLS histologically, while reliability for estimating structural damage was comparatively lower. This difference may stem from pathologists being less prepared to assess damage compared to evaluating inflammatory alterations. Enhancing MSBG reliability requires robust standardization of histopathological assessment and comprehensive training for pathologists.

Key words:

Sjögren's disease. Minor salivary gland biopsy. Reliability. Intraobserver.
Interobserver

Key messages

- Focus score and focal lymphocytic sialadenitis assessment have substantial inter and intraobserver reliability.
- Reliability on damage assessment is lower when compared to assessing inflammatory changes.
- Standardizing biopsy analysis and training pathologists, focusing on structural alterations, are essential to enhance trustworthiness.

INTRODUCTION

Sjögren's disease (SD) is a systemic immune-mediated disease affecting exocrine glands, mainly lacrimal and salivary glands, with subsequent reduction of saliva, tear production and possible multiorgan systemic manifestations [1]. The diagnosis of SD relies on a combination of clinical and laboratory findings. Minor salivary gland biopsy (MSGB) abnormalities have significant relevance in the diagnostic framework and are therefore mentioned in all sets of disease classification criteria [2,3,4].

Three main different classification systems for its interpretation have been described by Chisholm and Mason (1968), Greenspan and Daniels (1974), and Tarpley (1974) [5-7]. Chisholm and Mason propose histological classification in grades, which vary from 0 to 4, according to the extent and form of organization of the lymphocytic infiltration, with a focus defined as an aggregate of at least 50 lymphocytes, all aggregates are considered, whatever be the appearance of the adjacent glandular parenchyma [5]. Greenspan and Daniels add the concept of focus score (FS), defining it as the number of foci in a 4 mm² area of the gland with normal-appearing parenchyma, and establish the concept of focal lymphocytic sialadenitis (FLS), defined as $FS \geq 1$ [6]. Tarpley presents the importance of quantifying the degree of acinar destruction and fibrosis [7].

According to previous studies, the lack of standardization of which methodology should be used to read MSGB caused discrepancies in interobserver and intraobserver agreement for its histological diagnosis during its reanalysis [8-11].

In 2017, European League Against Rheumatism (EULAR) published recommendations to standardize the technique and interpretation of biopsy, aiming to increase the accuracy of this diagnostic method. To the authors knowledge, no work has evaluated the agreement of MSGB results between pathologists using this standardization. This study aimed to assess the interobserver and intraobserver reliability of MSGB analysis, according to the recommendations published by the EULAR group [12].

METHODS

Study design

This is a cross-sectional study. All slides from patients aged 18 years or over with suspicion of Sjogren's disease who underwent MSGB from November 2017 to April 2022 at the Rheumatology Service of the Federal University of Minas Gerais were re-analyzed by two pathologists. Patients whose biopsy slide were not found were excluded.

This study was approved by the Institutional Ethics Committee (CAAE 50177521.2.0000.5149). All patients agreed to participate and signed the Informed Consent Form.

Intra and Interobserver reliabilities

The analysis of intra and interobserver reproducibility of the BGSM review was carried out by re-reading the slides by two pathologists. Examiner A (ExA) reviewed all slides that met the inclusion criteria twice, with an interval of at least two months, using a standardized blind procedure. Examiner B (ExB) evaluated 115 slides randomly selected. The evaluations of the first round of the ExA were compared with those of the routine examiners (ExR) and ExB (interobserver analysis) and with the evaluations of the second round (intraobserver analysis). ExA is the most experienced pathologist (the expert pathologist), while ExB is a less experienced pathologist, previously trained by ExR during the routine assistance. All pathologists, including ExR, underwent prior training for MSGB analysis following EULAR 2017 recommendations. This training was aimed at assistance and not designed for the present study [12].

The following characteristics were evaluated: total area of the glandular sample, number of foci observed, FS, presence or absence of germinal center-like structures, lymphoepithelial lesions, acinar atrophy, acinar dilation, ductal dilation, fibrosis and adipose infiltration. When present, acinar atrophy, acinar dilation, ductal dilation, fibrosis and adipose infiltration are graded as mild, moderate or severe. At the end of the analysis, pathologists listed one of the following histological conclusions: salivary glands without relevant histological changes, chronic and nonspecific sialadenitis, FLS or miscellany.

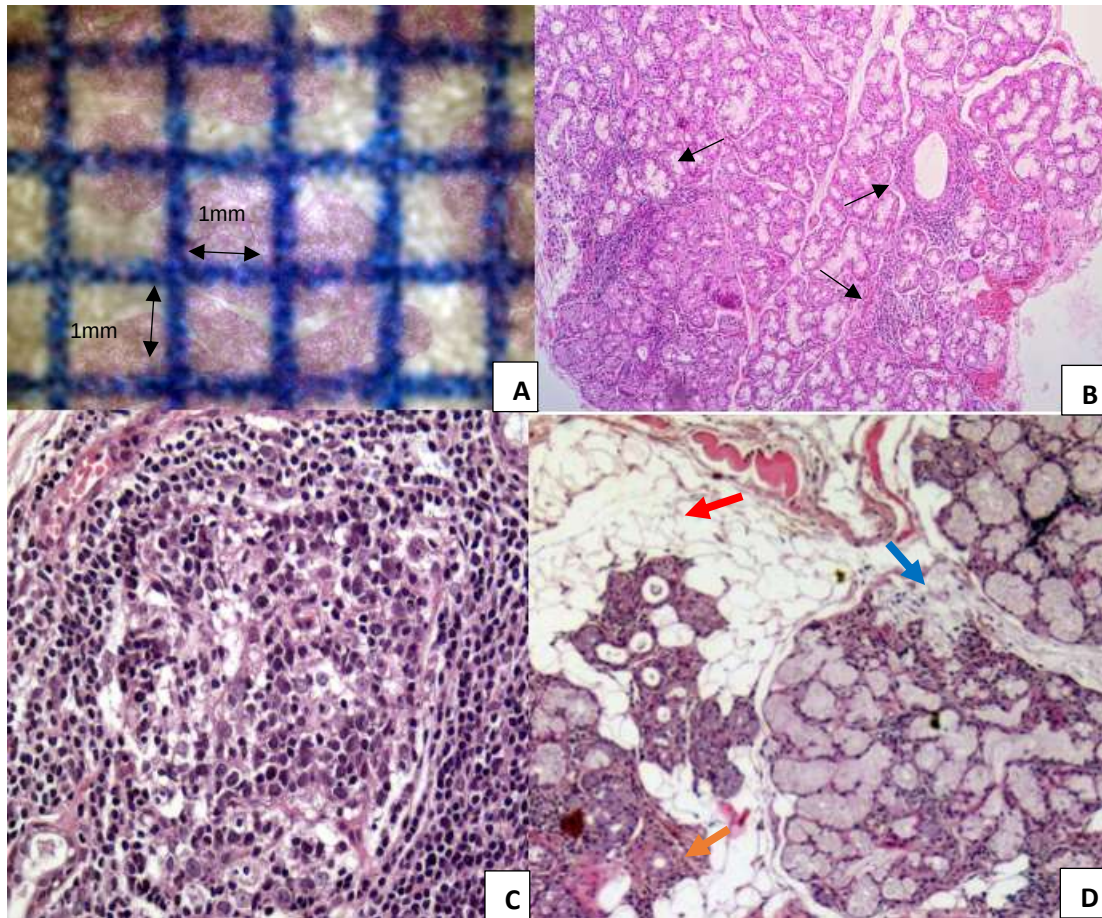


Figure 1- A, B, C and D photographs illustrating salivary gland biopsy obtained from a patient with Sögren's disease, stained with H&E. A. illustrates grid used to read the slides to evaluate the area. B. Black arrows indicate aggregates of mononuclear cells, each representing a focus. C. Germinal center-like structures, a densely packed area of darker color and a central light area are observed. D. The red arrow indicates adipose infiltration, the blue arrow indicates fibrosis and the orange arrow indicates lymphoepithelial lesions.

Statistical analysis

The analyzes were carried out in the programs R 3.6.3, MINITAB and PASW Statistics version 18. A significance level of 5% was considered. Agreement of the pathologists on qualitative variables was analyzed using the Kappa coefficient (κ). Values of κ were interpreted as follows [13]: 0.81–1.00, almost perfect agreement; 0.61–0.80, substantial agreement; 0.41–0.60, moderate agreement; 0.21–0.40, fair agreement; 0–0.20, slight agreement; –1.0–0, no agreement. For quantitative FS agreement, the Intraclass Correlation Coefficient (ICC) was calculated. Values of ICC were interpreted as follows [14]: 0.76–1.00, almost perfect agreement; 0.61–0.75, substantial agreement; 0.41–0.60, fair agreement; 0.00–0.40, slight agreement. The 95% confidence interval (CI) were computed.

RESULTS

During the study data collection period, 211 BGSM were performed, fifteen patients were excluded: nine younger than eighteen years-old, two due to the missing of the slides, two biopsies lacking glandular tissue on the slide, one due to identification of amyloid deposits in the material and one for presenting insufficient data in medical records for diagnostic definition. Among the patients included, 66 were classified with SD considering the 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria. Figure 2 summarizes the inclusion of patients in the research.

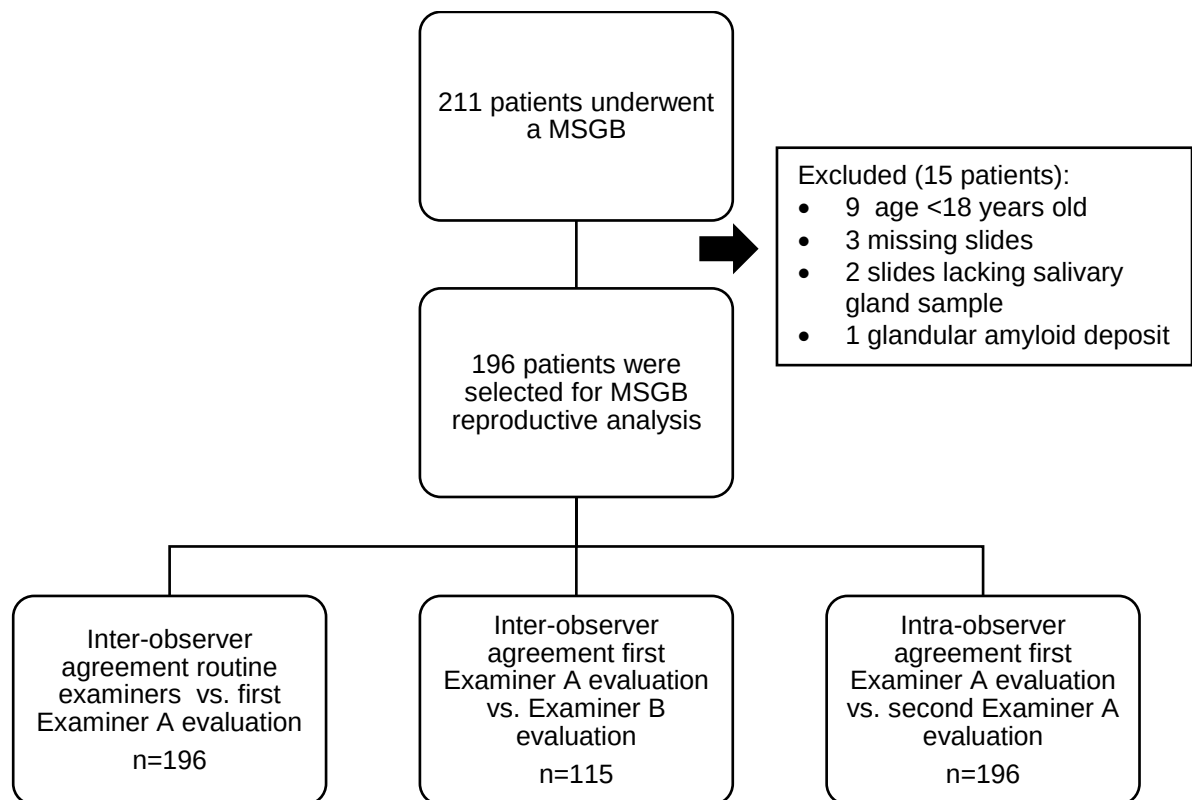


Figure 2- Study design

The first and second evaluations of Examiner A were done at least 2 months apart to assess intraobserver agreement. The first evaluation by this pathologist was compared with the baseline reports by the routine examiners and with the evaluation of Examiner B, interobserver agreement. MSGB: minor labial salivary gland biopsy.

Interobserver reliabilities

Table 1 depicts the results for interobserver reproducibility. The interobserver assessment of MSGB between ExR and the initial ExA assessment showed substantial agreement (κ : 0.61-0.80) for area, dichotomized FS (presence or absence of $FS \geq 1$), histological diagnosis of FLS, and identification of germinal center-like structures. It exhibited moderate agreement (κ : 0.41-0.6) for identifying non-specific chronic sialadenitis and glands within the normal limit. However, it only showed modest agreement (κ : 0.21-0.4) for assessing structural damage (acinar depletion, acinar dilatation, duct dilatation, fibrosis, and adiposis). Lymphoepithelial lesions were not evaluated by routine ExR.

The comparison of analyses between the initial ExA and ExB demonstrated almost perfect agreement (κ : 0.81–1.00) for dichotomized FS; substantial agreement (κ : 0.61–0.80) for dichotomized area (<8 or $\geq 8\text{mm}^2$) and FLS; moderate agreement (κ : 0.41–0.60) for lymphoepithelial lesions; fair agreement (κ : 0.21–0.40) for identification of germinal center-like structures; and slight agreement (κ : 0–0.20) for identifying acinar depletion and fibrosis. Lack of agreement was observed for acinar dilation, ductal dilation, adipose infiltration, and BGSM without changes (p-values > 0.05). The ICC for FS was 0.71 (95% CI 0.63-0.77) when comparing the ExR and ExA evaluations, 0.86 (95% CI 0.77-0.91) when comparing the ExA and ExB evaluations.

Table 1 Interobserver reliability of MSGB

		Interobserver ExR/ExA (n=196)		Interobserver ExA/ExB (n=115)	
		p-value	Kappa (95% CI)	p-value	Kappa (95% CI)
Area		<0.001	0.660 (0.454-0.867)	<0.001	0.782 (0.569-0.994)
dFS		<0.001	0.734 (0.632-0.837)	<0.001	0.843 (0.737-0.949)
Acinar depletion		<0.001	0.302 (0.171-0.432)	0.001	0.184 (0.032-0.336)
Acinar dilatation		0.002	0.213 (0.076-0.349)	0.253	0.023 (0.000-0.173)
Duct dilatation		<0.001	0.254 (0.084-0.424)	0.253	0.037 (0.000-0.170)
Fibrosis		<0.001	0.220 (0.100-0.344)	0.010	0.109 (0.000-0.253)
Adiposis		<0.001	0.402 (0.268-0.535)	0.142	0.054 (0.000-0.189)
GC-like structures		<0.001	0.417 (0.180-0.654)	<0.001	0.308 (0.000-0.638)
LESA		-	-	<0.001	0.603 (0.420-0.785)
Final Report Conclusion	WLN	<0.001	0.557 (0.426-0.689)	0.185	0.030 (0.000-0.271)
	NSCS	<0.001	0.431 (0.301-0.561)	0.032	0.173 (0.002-0.344)
	FLS	<0.001	0.734 (0.628-0.839)	<0.001	0.759 (0.629-0.890)

MSGB: Minor Salivary Gland biopsy; ExA: Examiner A; ExB: Examiner B; ExR: routine examiners; dFS: dichotomized focus score; GC: germinal centers; LESA: lymphoepithelial lesions; WLN: within limits of normal; NSCS: non-specific chronic sialadenitis; FLS: focal lymphocytic sialadenitis

Intraobserver reliability

Table 2 depicts the results for each intraobserver reproducibility parameter. The intraobserver evaluation, comparison between the first and second EXA. analysis, showed almost perfect agreement ($k:0.81-1.00$) for area, dichotomized FS, histological diagnosis of FLS and gland within the normal limit; showed substantial agreement ($k:0.61-0.8$) for identification of nonspecific chronic sialadenitis and lymphoepithelial lesions; moderate agreement ($k:0.41-0.60$) for identification of ductal dilation, fibrosis, adiposis and germinal center-like structures; modest agreement ($0.21-0.4$) for identification of acinar depletion and acinar dilation. The ICC for FS was 0.93 (95% CI 0.91-0.95) for the intraobserver evaluation (ExA-ExA).

Table 2 Intraobserver reliability of MSGB

Intraobserver ExA/ExA (n=196)			
		p-value	Kappa (95% CI)
Area		<0.001	0.816 (0.671-0.962)
dFS		<0.001	0.870 (0.794-0.945)
Acinar depletion		<0.001	0.383 (0.246-0.520)
Acinar dilatation		<0.001	0.316 (0.177-0.454)
Duct dilatation		<0.001	0.498 (0.335-0.661)
Fibrosis		<0.001	0.530 (0.397-0.663)
Adiposis		<0.001	0.600 (0.465-0.735)
GC-like structures		<0.001	0.564 (0.400-0.729)
LESA		<0.001	0.703 (0.588-0.819)
Final Report Conclusion	WLN	<0.001	0.827 (0.742-0.912)
	NSCS	<0.001	0.743 (0.647-0.840)
	FLS	<0.001	0.886 (0.812-0.959)

MSGB: Minor Salivary Gland biopsy; ExA: Examiner A; ExB: Examiner B; dFS: dichotomized focus score; GC: germinal centers; LESA: lymphoepithelial lesions; WLN: within limits of normal; NSCS: non-specific chronic sialadenitis; FLS: focal lymphocytic sialadenitis

Classified as Sjogren's disease

Considering only patients classified as SD, each pathologist's assessment revealed the following median focus scores with corresponding interquartile ranges: 1.75 (1.09-2.40) for ExR; 1.47 (0.85-2.00) and 1.33 (0.80-2.00) for the first and for second readings of ExA; and 1.72 (0.84-2.28) for ExB. Conversely, for those without a diagnosis of SD, the median FS (IQR) was 0.18 (0.00-0.50) for ExR; 0.00 (0.00-0.48)

and 0.00 (0.00-0.52) for the first and second readings of ExA; and 0.190 (0.00-0.71) for ExB. These results are depicted in Figure 3.

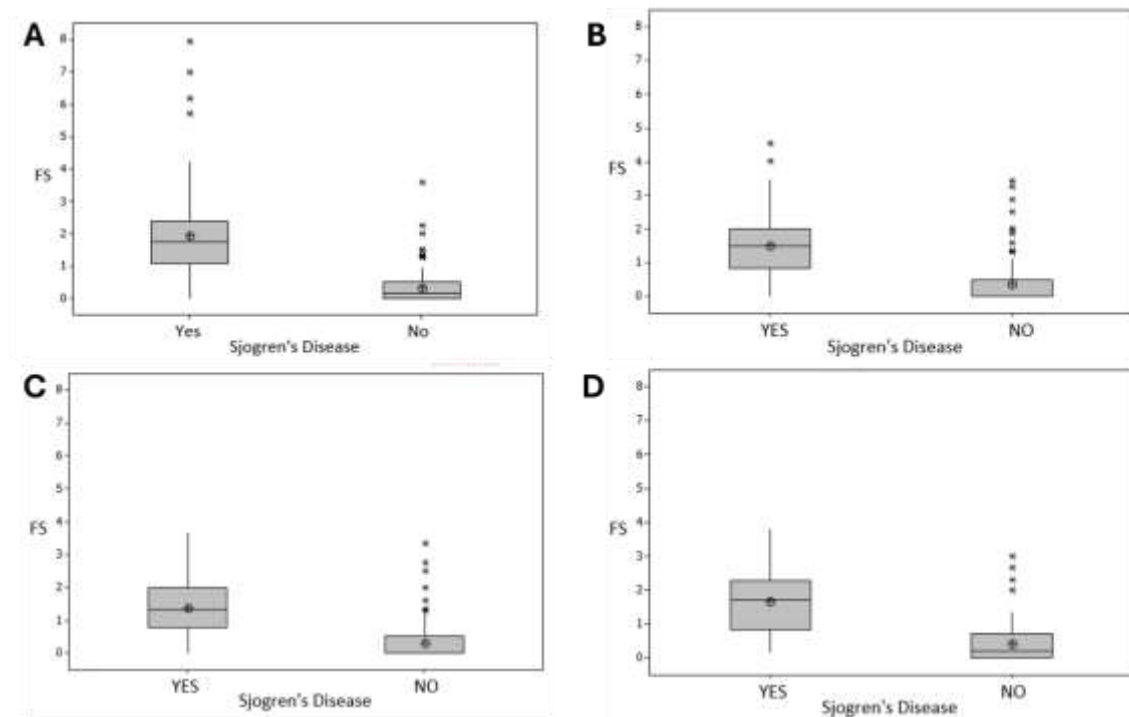


Figure 3 – Focus score according to the classification of Sjögren's disease for each pathologist reading.

Box-plot of focal MSGB scores assigned by routine pathologists – ExR (A), Examiner A – ExA in his first assessment (B), and in his second assessment (C), and Examiner B (D) according to presence or absence of the classification of Sjögren's Disease.

Discussion

To the authors' knowledge, this is the first study evaluating the inter and intra-observer reliability of MSGB after standardization by the EULAR group in 2017 [12]. Agreement among examiners was moderate to good for inflammatory changes, but only slight to moderate for the assessment of structural damage.

Compared to previous studies, our study demonstrated higher levels of interobserver agreement for the histological diagnosis of FLS [8-11]. Only one previous study evaluated intraobserver agreement and structural damage, although it did not follow EULAR standardization. Instead, it standardized the pathologist's analysis by training

the pathologist before the start of the study. We obtained a result similar to the aforementioned study in the intraobserver evaluation, with good agreement for identifying FS in histopathological reports and comparatively lower agreement for identifying structural damage [9]. This discrepancy may result from pathologists' lesser preparation for damage assessment compared to the assessment of inflammatory changes.

According to previous studies, FS is not routinely calculated by all pathologists, and inadequate calculation of FS may occur, especially when there is a confluence of foci, difficulty in determining the surface area, whether the gland parenchyma is atrophic or fibrotic, and evaluation of glands with marked periductal inflammatory changes associated with sialadenitis. Another deviation is the lack of mention in the reports whether there were structures similar to germinal centers in the biopsy [8-11]. In this work, FS was calculated for all slides, estimating the degree of atrophy, fibrosis, duct dilation. The pathologists specified that they identified structures similar to germinal centers and issued the following histopathological report of the final salivary glands without relevant histological changes, chronic and nonspecific sialadenitis, FLS, or miscellaneous. Lymphoepithelial lesions were identified by ExA and ExB, but not by ExR. No confluent foci were identified on any slide of the sample.

The reliability of the evaluation of structures similar to germinal centers was moderate when compared to the evaluation between ExR and ExA, reasonable between ExA and ExB, and moderate in the intraobserver assessment. Adequate identification of GC is important given their association with a higher frequency of systemic disease, disease severity, and the risk of non-Hodgkin's lymphoma [15]. Due to the unavailability of labeling with CD21, CD3, and CD20 in our service, only hematoxylin-eosin was performed. GC was considered present when a well-circumscribed chronic inflammatory cellular infiltrate was observed, consisting of at least 50 mononuclear cells, with characteristics indicative of lymphoid organization, such as a densely packed dark zone and a light zone within the normal range. Labeling with CD21, CD3, and CD20, as recommended by the EULAR group, would likely significantly improve the reliability of their identification [12].

Inter and intraobserver agreement in the evaluation of GC were only evaluated in one previous study that also did not use immunohistochemistry to assist in its identification. In this study, a lack of agreement was found in the interobserver analysis and moderate

agreement in the intraobserver analysis [9]. Despite not evaluating the agreement between pathologists in GC identification in his study, Wicheta et al. conclude that their identification on only one slide probably indicates that they were underestimated, as was found here in previous studies, and that the use of immunohistochemistry staining could assist in their proper identification [8].

The most characteristic finding of SD is FLS [6]. However, features suggestive of nonspecific chronic sialadenitis (atrophy, fibrosis, duct dilatation, and diffuse inflammation) and age-related fat replacement of salivary gland tissue are common findings, especially in older populations, and may even coexist with FLS [12,16]. Despite the quantification of the extent of structural damage in the reports, the lack of agreement among pathologists makes it impossible for the assistant rheumatologist to safely interpret the biopsy since FLS cannot be attributed when there is a predominance of acinar atrophy, ductal dilatation, and fibrosis without any focus adjacent to the parenchyma. In this case, the most assertive histological diagnosis would be chronic and nonspecific sialadenitis. Improving the reliability of MSGB imperatively requires the establishment of robust standardization of histopathological assessment and comprehensive training of pathologists.

Evaluation of other biomarkers in addition to FS to improve the accuracy of MSGB for the diagnosis of SD, such as the relative reduction of plasma cells expressing IgA in the salivary gland and the increase in those expressing IgG and IgM and positive transducer staining of phosphorylated signal and activator of transcription proteins 1 (p-STAT1) compared to control individuals, are prospects for future studies [17,18].

Among the strengths of the present study are the robust number of MSGB evaluated and the reading of the slides by trained pathologists. The main limitation may be the cross-sectional design that doesn't allow establishing causality in the associations found. Besides, only hematoxylin-eosin was performed for MSGB slides, which could be a limiting factor for the identification of GC. The little number of germinative centers described may have been influenced by the lack of labeling with CD21, CD3, and CD20, as recommended by the EULAR group.

Conclusions

Inter and intraobserver reliability of MSBG in a tertiary university hospital, with trained pathologists, is good, especially for inflammatory changes. Improving the reliability of MSBG, mainly for the evaluation of structural damage, imperatively requires the establishment of robust standardization of histopathological assessment and comprehensive training of pathologists for this aspect.

References

1. PARISIS, Dorian *et al.* Current State of Knowledge on Primary Sjögren's Syndrome, an Autoimmune Exocrinopathy. **Journal of clinical medicine**, v. 9, ed. 7, p. 1-61, 20 jul. 2020. DOI <https://doi.org/10.3390/jcm9072299>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/7/2299>.
2. VITALI, C. *et al.* Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 61, ed. 6, p. 554-558, 2002. DOI:10.1136/ard.61.6.554. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/61/6/554.long>.
3. SHIBOSKI, S. C. *et al.* 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**, v. 64, ed. 4, p. 475-487, 2012. DOI: 10.1002/acr.21591. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3349440/>.
4. SHIBOSKI, Caroline H *et al.* 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome. **Arthritis & rheumatology**, v. 69, ed. 1, p. 35-45, 22 set. 2023. DOI:10.1002/art.39859. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5650478/>.
5. CHISHOLM, D. M *et al.* Labial salivary gland biopsy in Sjogren's disease. *Journal of Clinical Pathology*. **Journal of clinical pathology**, v. 21, ed. 5, p. 656-660, 1968. DOI <https://doi.org/10.1136/jcp.21.5.656>
6. GREENSPAN, J. S. *et al.* The histopathology of Sjögren's syndrome in labial salivary gland biopsies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 37, ed. 2, p. 217-229, 1974. DOI [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90417-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90417-4)
7. TARPLEY, TM Jr *et al.* Minor salivary gland involvement in Sjögren's syndrome. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 37, ed. 1, p. 64-74, 1974. DOI [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90160-1](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90160-1)
8. WICHETA, Sarah *et al.* Discrepancies in Interpretation of the Minor Salivary Gland Biopsy in the Diagnosis of Sjogren's Syndrome. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 77, ed. 8, p. 1628-1635, 2019. DOI: 10.1016/j.joms.2019.01.052. Disponível em: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(19\)30127-2/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(19)30127-2/fulltext).
9. COSTA, Sebastian *et al.* Reliability of histopathological salivary gland biopsy assessment in Sjogren's syndrome: a multicentre cohort study.

- Rheumatology. **Rheumatology (Oxford)**, v. 54, ed. 6, p. 1056-1064, 2014. DOI: 10.1093/rheumatology/keu453. Disponível em: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/54/6/1056/1800052?login=false>.
10. TAVONI, Antonio *et al.* Minor salivary gland biopsy and Sjögren's syndrome: comparative analysis of biopsies among different Italian rheumatologic centers. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 30, ed. 6, p. 929-933, 2012.
 11. VIVINO, Frederick *et al.* Change in final diagnosis on second evaluation of labial minor salivary gland biopsies. **The Journal of rheumatology**, v. 29, ed. 5, p. 938-944, 2002. PMID: 12022353.
 12. FISHER, Benjamin *et al.* Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 76, ed. 7, p. 1161-1168, 12 dez. 2016. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210448. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/76/7/1161.long>.
 13. LANDIS, J. R. & KOCH, G. G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33:159-174.
 14. CICCETTI, Domenic V., 1994. "Guidelines, criteria, and rules of thumb for evaluating normed and standardized assessment instruments in psychology." *Psychological Assessment*, 6, 284-290.
 15. DAMIEN, Sène *et al.* GC was considered to be present when a well-circumscribed chronic inflammatory cellular infiltrate was observed, consisting of at least 50 mononuclear cells, with characteristics indicative of lymphoid organization, such as a densely packed dark zone and a light zone within the normal range. **Arthritis & rheumatology**, vol. 70,9 (2018): 1481-1488. doi:10.1002/art.40528
 16. VERED, V *et al.* Age-related histomorphometric changes in labial salivary glands with special reference to the acinar component. **Experimental gerontology**, vol. 35,8 (2000): 1075-84. doi:10.1016/s0531-5565(00)00129-7
 17. SALOMONSSON, Stina *et al.* Minor salivary gland immunohistology in the diagnosis of primary Sjögren's syndrome. **Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 38, ed. 3, p. 282-288, 9 maio 2008. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2008.00697.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0714.2008.00697.x>.
 18. ZHENG, Qing *et al.* Phosphorylated signal transducer and activator of transcription proteins 1 in salivary glandular tissue: an important histological marker for diagnosis of primary Sjögren's syndrome. **RMD open**, v. 9, ed. 1, p. 1-14, 23 jan. 2023. DOI: 10.1136/rmdopen-2022-002694. Disponível em: <https://rmdopen.bmj.com/content/9/1/e002694.long>.

7.2. Artigo 2

PERFORMANCE OF MINOR SALIVARY GLAND BIOPSY FOR CLASSIFICATION OF SJÖGREN'S DISEASE

Clarice Garcia Valadares Xavier¹, Débora Cerqueira Calderaro², Gustavo Gomes Resende³, Leandro Augusto Tanure³, Gilda Aparecida Ferreira²

¹Post Graduate Program in Sciences Applied to Adult Health Care, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;

²Department of Locomotor System, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. ³Department of Rheumatology, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

Abstract

Background: Histopathological analysis of minor salivary glands is essential for diagnosis, stratification, and prognosis of Sjögren's disease (SD). This study evaluated the accuracy of the minor salivary gland biopsy (MSGB) for SD classification, the clinical profile of patients referred for biopsy and the impact of disease treatment on the MSGB results.

Methods: Medical records and pathology reports of patients undergoing MSGB were reviewed. The performance analyzes (sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and accuracy of the MSGB, for the classification of SD, were calculated considering ACR/EULAR Classification Criteria (2016) as a reference standard. The ROC curve was constructed to find the best cutoff point of factor score (FS) on MSGB in the study population. Disease activity was accessed by ESSDAI. Multiple regression model was performed to identify the variables associated with positive BGSM.

Results: In total, 201 patients were included. Sixty-eight (33.83%) patients were classified as SD according to the 2016 ACR/EULAR Classification Criteria. The ESSDAI (median) at the time of MSGB was 3 in the group of SD patients. Sixty-five (32.34%) biopsies showed FS $\geq$ 1. MSGB presented sensitivity of 86.76%, specificity of 95.42%, PPV of 90.77%, NPV of 93.28% and accuracy of 92.46% for SD classification. A false negative result occurred in 7.54% of the cases. FS was a good predictor of SD (area under the ROC curve = 0.925, 95% CI: 0.882 to 0.969). The FS cutoff point $\geq$ 1.0 on MSGB showed sensitivity of 86.8% and specificity of 95.5% for the SD classification. By the time the MSGB was conducted, 59.70% of patients were using hydroxychloroquine, immunosuppressants and/or corticosteroids, but treatment did not associate with the biopsy findings. In the logistic regression model, anti-Ro/SSA positivity (OR=8.856 (4.293-19.437), xerostomia (OR=2.643 (1.188-6.200), hypergammaglobulinemia (OR=2.541(1.254-5.236) and rheumatoid factor (OR=2.161 (1.046-4.521) were independently associated with increased chance of the patient presenting FS $\geq$ 1 in MSGB.

Conclusions: In this cross-sectional study, MSGB presented good performance for classifying SD. FS was a good predictor of SD. Xerostomia, anti-Ro/SSA positivity,

rheumatoid factor and hypergammaglobulinemia were associated with positivity of MSGB ($FS \geq 1$).

Keywords: Sjögren's Disease, minor salivary gland biopsy, Sensibility, Specificity

BACKGROUND

Sjögren's disease (SD) is a systemic immune-mediated disease characterized by the presence of local lymphocytic infiltration of the exocrine glands, affecting mainly the lacrimal and salivary glands, with subsequent reduction of saliva, tear production and possible multiorgan systemic manifestations [1-3]. It is the most common connective tissue disease after rheumatoid arthritis, with prevalence between 0.1% and 4.8% according to the studied population [1,4,5]. Brazilian regional study described a SD prevalence of 0.17% [5].

Although commonly associated with xerostomia and xerophthalmia, SD can present extraglandular manifestations that make definitive diagnosis difficult [1,6]. Histopathological evaluation of the minor salivary glands is important for diagnosis, as well as to exclude other diseases that can cause salivary hypofunction and glandular enlargement [7-9]. Furthermore, positive minor labial salivary gland biopsy (MSGB) is particularly important in autoantibody-negative SD patients [10].

Focal lymphocytic sialadenitis is one of five criteria for SD classifications established by the American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) in 2016 [11]. It is defined as one or more dense aggregates consisting of at least 50 mononuclear cells per 4 mm², 1 focus score (FS), located in the periductal or perivascular regions [7]. Studies have described sensitivity and specificity of MSGB, with focal lymphocytic sialadenitis (FS $\geq$ 1), for the diagnosis of SD of 63.5 to 93.7% and 61.2 to 100%, respectively [10,12].

Standardization and interpretation of the biopsy technique is necessary to increase the accuracy of this diagnostic method. In 2017, EULAR proposed a standardization of MSBG performance and interpretation. [7]. Data on the performance of MSBG for classification of SD according to these recommendations are scarce.

This study intends to evaluate the performance (sensitivity, specificity, positive, negative predictive values and accuracy) of MSGB for the classification of SD, clinical profile of patients referred for biopsy and the impact of disease treatment on the of MSGB result.

METHODS

Study design

This is a cross-sectional study. All medical records and anatomopathological reports of patients who underwent MSGB, from November 2017 to April 2022 at the Rheumatology Service of the Federal University of Minas Gerais, were reviewed.

This study was approved by the Institutional Ethics Committee (CAAE 50177521.2.0000.5149). All patients agreed to participate and signed the Informed Consent Form.

Minor salivary gland biopsy and histological evaluation

MSGB were performed by an experienced rheumatologist using the technique described by Greenspan et al (1974) [13]. The salivary glands samples were stained with hematoxylin-eosin and subsequently submitted to histological examination. They were viewed by a team of pathologists trained according to EULAR recommendations [7]. The histological report was considered positive for SD when presented focal lymphocytic sialadenitis with FS $\geq$ 1.

Study Variables

The medical records of the patients were retrospectively evaluated for demographic, clinical, and laboratory [antinuclear antibodies (ANA), anti-Ro/SSA and/or anti-La/SSB autoantibodies, rheumatoid factor (RF), complement levels, cryoglobulinemia, hypergammaglobulinemia and cytopenias] parameters, in addition to pathological reports.

Objective assessments of dry eye as Schirmer test, tear break-up time (TBUT), and SICCA Ocular Staining Score (OSS), carried out by experienced ophtalmologists, were also collected. Disease activity was assessed by EULAR Sjögren's Disease Activity Index (ESSDAI) [14]. Treatment data (doses of corticosteroid, immunosuppressive and immunomodulatory) were collected at the time of biopsy.

Patients were classified as SD according to 2016 ACR/EULAR classification criteria SD [11].

Statistical analysis

The analyzes were carried out in the programs R 3.6.3, MINITAB and PASW Statistics version 18. A significance level of 5% was considered. Chi-square tests were applied to categorical variables, to compare frequencies or proportions. Comparisons of means and medians were performed using the T-Student or Mann-Whitney tests according to normality distribution.

The performance analyzes (sensitivity, specificity, PPV, NPV, and accuracy) of the MSGB, for the classification of SD, were calculated considering ACR/EULAR Classification Criteria (2016) as a reference standard [11].

The ROC curve for the FS was constructed with the aim of finding the best cutoff point for this characteristic for patients classified as SD by the ACR/EULAR Classification Criteria (2016), weighing sensitivity and specificity.

Multivariate logistic regression model was adjusted to evaluate the simultaneous effects of clinical and laboratory characteristics (predictor variables) of patients with suspected SD on the outcome “positive biopsy for classification of SD ($FS \geq 1$)” (dependent variable). The quality of fit of the final model was evaluated by the Hosmer-Lemeshow test.

RESULTS

Study population

During data collection period of the study, 211 MSGB were performed. Two hundred one patients were included. Figure 1 summarizes the inclusion of patients in the study, the characteristics of MSGB and describes patients classification according to the 2016 ACR/EULAR classification criteria SD and MSGB analysis.

Age at time of biopsy varied from 21.4 to 77.8 (mean 52.78) years old. Only 34 patients (17%) had no subjective complaints of dryness. Sixty-eight patients were classified as SD according to the 2016 ACR/EULAR Classification Criteria. The characteristics of the patients studied are detailed in Table 1.

Five patients presented some exclusion diagnosis according to the ACR-EULAR Classification Criteria (2016) for SD (one with amyloidosis, one with IgG4-related disease, one with active hepatitis C, one with sarcoidosis and one with immunodeficiency syndrome acquired).

Among patients classified with SD, the median ESSDAI at the time of MSGB was 3. The average diagnostic delay of patients classified with SD was 9.81 years.

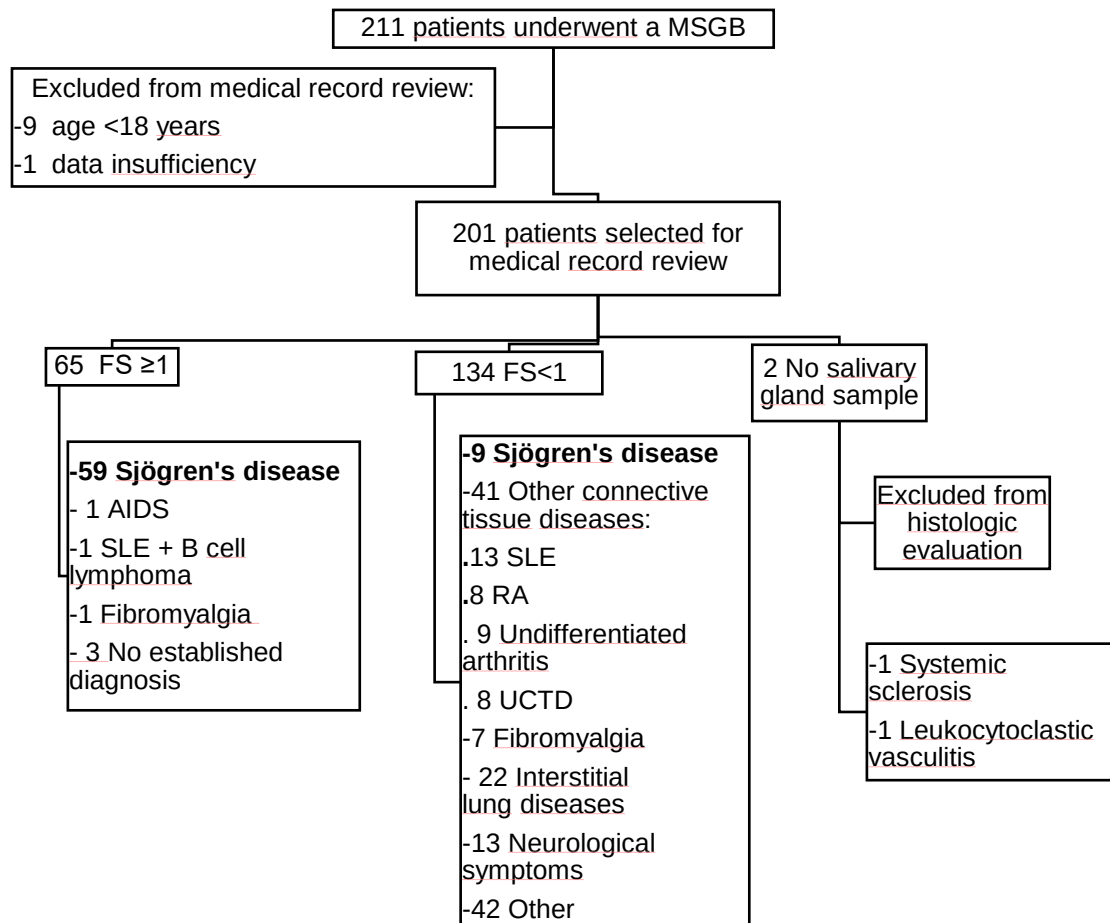


Figure 1- Study flowchart and classification of patients according to 2016 ACR/EULAR classification criteria Sjögren's Disease and minor labial salivary gland biopsy analysis

MSGB: minor labial salivary gland biopsy; FS: focus score; AIDS: Acquired Immunodeficiency Syndrome; SLE: Systemic Lupus Erythematosus; RA: Rheumatoid Arthritis; UCTD: Undifferentiated connective tissue disease.

Table 1- Characteristics of patients with suspected Sjögren's disease

	Sjögren's disease [#]			P *
	Total	Yes	No	
<i>Demographic data</i>				
Number	201	68	133	
Age;years; mean	52.78	51.39	53.49	0.44
Female, n (%)	178 (88.56)	61 (88.71)	118 (88.72)	0.64
<i>Clinical data</i>				
Xerophthalmia, n (%)	149 (74.13)	51 (75.00)	98 (73.68)	0.62
Xerostomia, n (%)	141 (70.15)	50 (73.52)	91 (68.42)	0.33
Arthritis, n (%)	64 (31.84)	25 (39.06)	39 (29.32)	0.34
Arthralgias, n (%)	61 (30.35)	21 (34.42)	40 (30.30)	1.0
Lung involvement, n (%)	59 (29.35)	19 (27.94)	40 (30.30)	0.34
Enlarged Parotid, n (%)	22 (10.95)	9 (13.24)	13 (9.77)	0.48
Peripheral neuropathy, n (%)	20 (10.00)	4 (5.88)	16 (12.03)	0.13
Constitutional Symptoms, n (%)	20 (9.95)	6 (8.82)	14 (10.53)	0.81
Renal involvement, n (%)	14 (7.00)	6 (8.82)	8 (6.02)	0.56
Central nervous system involvement, n (%)	12 (6.00)	4 (5.88)	8 (6.02)	0.62
Cutaneous Vasculitis, n (%)	12 (5.97)	5 (7.35)	7 (5.26)	0.38
Lymphadenopathy, n (%)	8 (3.98)	2 (2.94)	6 (4.51)	0.45
B cell lymphoma, n (%)	2 (1.00)	0 (0.00)	2 (1.50)	0.44
Myositis, n (%)	2 (1.00)	1 (1.47)	1 (0.75)	0.56
<i>Objective evaluation of dry eye</i>				
TBUT, n+/n (%)	100/108 (92.59)	43/45 (95.56)	58/63 (92.06)	0.28
OSS, n+/n (%)	45/103 (43.69)	27/40 (67.50)	18/63 (28.57)	<0.001
Schirmer, n+/n (%)	35/107 (32.71)	21/41 (51.21)	14/66 (21.21)	0.005
OSS or Schirmer, n+/n (%)	62/114 (54.39)	38/45 (84.44)	24/69 (34.78)	<0.001
<i>Laboratory</i>				
ANA, n (%)	148 (73.63)	65 (95.59)	83 (62.41)	<0.001
Anti-Ro/SSA, n (%)	93 (46.27)	61 (89.71)	32 (24.06)	<0.001
Hypergammaglobulinemia, n (%)	92 (45.77)	42 (61.76)	47 (35.34)	0.002
Rheumatoid Fator, n (%)	72 (35.82)	32 (47.06)	40 (30.08)	0.02
Cytopenia, n (%)	59 (29.35)	25 (36.76)	34 (25.56)	0.11
Consumption of C3 or C4, n (%)	50 (24.88)	22 (32.35)	28 (21.05)	0.09
Anti-La/SSB, n (%)	40 (19.9)	24 (35.29)	16 (2.26)	<0.001
Cryoglobulinemia, n (%)	5 (2.5)	2 (2.94)	3 (2.26)	0.55
<i>ESSDAI of patients with Sjögren's disease</i>				
ESSDAI at the time of biopsy; median (Min-Max.)		4.91 (0-20)		
ESSDAI in Sjogren's disease diagnosis; median (Min-Max.)		6.09 (0-34)		
ESSDAI Accumulative; median (Min-Max.)		11.23 (0-38)		

[#]Sjögren's disease according to 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren syndrome

n: Number; Min: Minimum; Max: Maximum; TBUT: Tear break-up time; OSS: SICCA Ocular Staining Score; ANA: antinuclear antibodies; ESSDAI: EULAR Sjögren's Disease Activity Index

* Mann-Whitney tests, Chi-square tests

Table 2 details the treatment of SD patients at the time of the biopsy. Only 121 patients were on corticosteroids, immunomodulatory or immunosuppressive therapy when they underwent the MSGB. 59.70% of patients were using hydroxychloroquine, immunosuppressants and/or glucocorticosteroids at the time of biopsy, but treatment did not associate with the biopsy results. The glucocorticosteroid dose ranged from 2.5 mg of prednisone to the pulse therapy dose of methylprednisolone 1g per day for 3 days. The immunosuppressants used were methotrexate (38/19.1%), azathioprine (13/6.53%), cyclophosphamide (11/5.53%), cyclosporine (6/3.01%), mycophenolate mofetil and sodium (6/3.02%), leflunomide (6/3.02%), tacrolimus (2/1%), adalimumab (2/1%), golimumab (1/0.5%), abatacept (1/0.5%) and tofacitinib (1/0.5%). No patients were using B cell depletion therapies.

Table 2 Treatment at the time of Minor Salivary Gland Biopsy

	Total	Sjögren's disease [#]		P*
		Yes	No	
<i>Medicine, n(%)</i>	121 (60)	46 (68)	75 (56)	0.13
Hydroxychloroquine, n (%)	31 (15)	15 (22)	16 (12)	0.09
Glucocorticoids, n (%)	64 (32)	23 (34)	41 (31)	0.75
Immunosuppressive drugs§, n (%)	82 (41)	29 (42.6)	53 (39.8)	0.76
Immunosuppressive drugs§ + Glucocorticoids, n (%)	43 (21)	14 (21)	29 (22)	1.0
None, n (%)	80 (40)	22 (32)	58 (44)	0.13

[#]**Sjögren's disease according to** 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome

§Azathioprine, Cyclosporine, Methotrexate, Mycophenolate, Tacrolimus, Leflunomide or Cyclophosphamide.

* Mann-Whitney tests, Chi-square tests

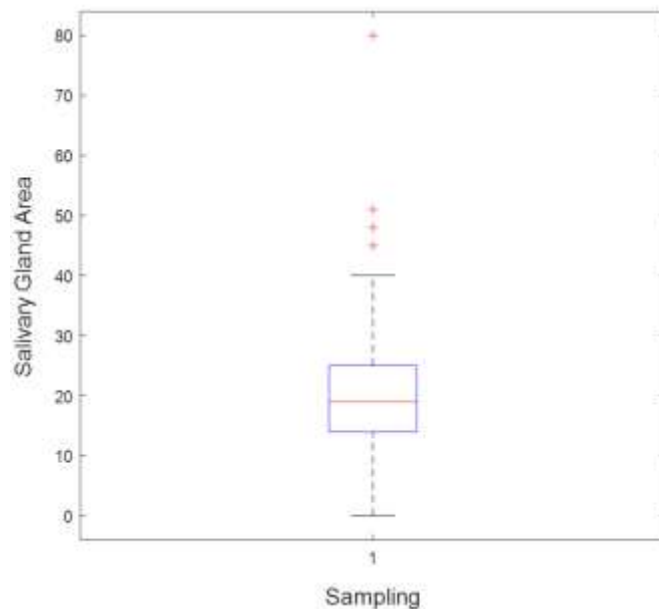
Characteristics of Minor salivary gland biopsy

Among the 201 biopsies evaluated, in two no salivary glands were identified in the sample and 199 were analyzed. The median area of the samples obtained from biopsies was 20mm², as shown in Figure 2. Only 7.04% of the samples had an area smaller than 8mm². Sixty-five (32.34%) patients had FS $\geq$ 1 (59 classified with SD, according to the 2016 ACR/EULAR classification criteria), of these, 9 (4.48%) had FS $\geq$ 3 and 9 (4.48%) germinal center (GC) (Table 3).

Table 3 Characteristics of Minor Salivary Gland Biopsies (n=199)

		Sjögren's disease [#]		p-value
	Total	Yes	NO	
<i>Reports of pathology</i>				
Sample > 8mm², n (%)	185 (92.96)	67 (98.53)	118 (90.08)	0.01
Area of samples, median; (Min-Max)	20.00 (2-80)	20.00 (7-51)	18.06 (3-80)	0.06
FS; median (Min-Max)	0.40 (0,00-7,95)	1.74 (0,00-7.95)	0.13 (0.00-3.60)	<0.001
FS ≥1, n (%)	65 (32.34)	59 (86.76)	6 (4.58)	<0.001
FS ≥3, n (%)	9 (4.48)	8 (11.76)	1 (0.76)	0.001
Centro germinativo, n (%)	9 (4.48)	7 (10.29)	2 (1.53)	0.008
FS ≥3 or Germinal center, n (%)	14 (6.97)	12 (17.65)	2 (1.53)	<0.001

n: Number; Min: Minimum; Max: Maximum; FS: focus score. * Mann-Whitney tests, Chi-square tests

**Figure 2- Minor Salivary Gland Area**

Performance of MSGB for Sjögren's disease classification

MSGB had a sensitivity of 86.76%, specificity of 95.42%, PPV of 90.77%, NPV of 93.28% and accuracy of 92.46% to classify patients with SD. The results were false (positive or negative) in 7.54% of cases (table 4).

Table 4- Assessment of minor labial salivary gland biopsy performance for classification of Sjogren's disease

		Sjögren's disease [#]		
		Yes	No	Total
MGSM	Positive	59 (86.76%)	6 (4.58%)	65 (32.66%)
	Negative	9 (13.24%)	125 (95.42%)	134 (67.34%)
Total		68	131	199

Sensitivity: 86.76%; Specificity:95.42%; PPV: 90.77%; NPV:93.28%; Accuracy:92.46%

MSGB: minor labial salivary gland biopsy;

[#]Sjögren's disease according to 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome

FS was a good predictor of SD (area under the ROC curve = 0.925, 95% CI: 0.882 to 0.969) (Figure 3).

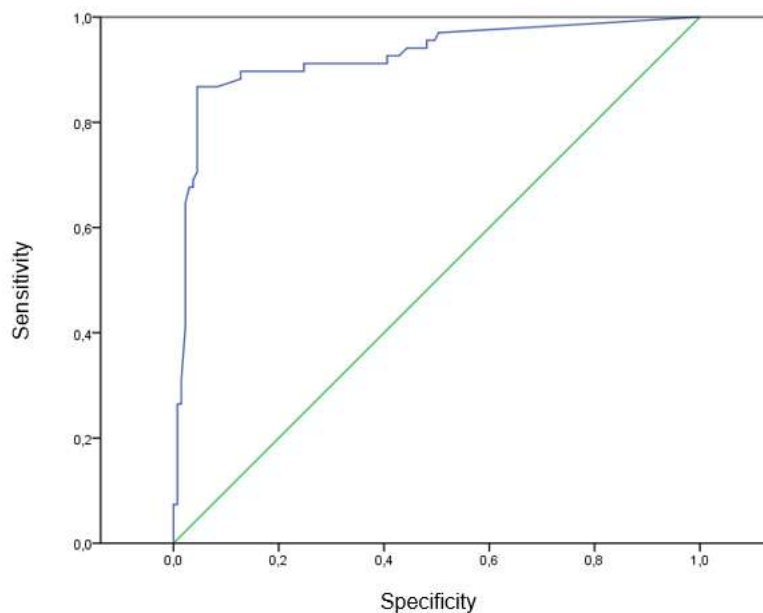


Figure 3: ROC curve of Focus Score values in the population of patients with suspected Sjögren's disease

The blue line represents patients classified by ACR/EULAR 2016 with Sjögren's disease.

Table 5 presents the summary of cutoff points obtained from the evaluation of the point that maximized sensitivity and specificity (highest sum, described as total in the table). Considering the $FS \geq 1$ as a cutoff point, a sensitivity of 86.8% and specificity of 95.5% (highest total) were observed.

Table 5- Cutoff points for Focus Score by the occurrence of the ACR/EULAR 2016 classification according to sensitivity and specificity values

Cutoff points	Sensitivity	Specificity	Total
≥ 0.00	100.0	0.0	100.0
≥ 0.08	97.1	48.9	145.9
≥ 0.11	97.1	49.6	146.7
≥ 0.13	95.6	50.4	146.0
≥ 0.14	95.6	51.1	146.7
≥ 0.15	95.6	51.9	147.5
≥ 0.16	94.1	51.9	146.0
≥ 0.18	94.1	52.6	146.7
≥ 0.19	94.1	54.1	148.3
≥ 0.20	94.1	55.6	149.8
≥ 0.21	92.6	57.1	149.8
≥ 0.22	92.6	58.6	151.3
≥ 0.23	92.6	59.4	152.0
≥ 0.24	91.2	59.4	150.6
≥ 0.25	91.2	60.9	152.1
≥ 0.26	91.2	61.7	152.8
≥ 0.28	91.2	62.4	153.6
≥ 0.29	91.2	63.2	154.3
≥ 0.30	91.2	63.9	155.1
≥ 0.35	91.2	66.2	157.3
≥ 0.36	91.2	66.9	158.1
≥ 0.38	91.2	68.4	159.6
≥ 0.40	91.2	70.7	161.9
≥ 0.41	91.2	74.4	165.6
≥ 0.42	91.2	75.2	166.4
≥ 0.44	89.7	75.2	164.9
≥ 0.50	89.7	75.9	165.6
≥ 0.52	89.7	79.7	169.4
≥ 0.57	89.7	80.5	170.2
≥ 0.60	89.7	81.2	170.9
≥ 0.61	89.7	82.0	171.7
≥ 0.66	89.7	82.7	172.4
≥ 0.70	89.7	84.2	173.9
≥ 0.72	89.7	85.0	174.7
≥ 0.75	89.7	86.5	176.2
≥ 0.76	89.7	87.2	176.9
≥ 0.80	88.2	87.2	175.5
≥ 0.88	86.8	91.7	178.5
≥ 0.89	86.8	92.5	179.2
≥ 0.93	86.8	93.2	180.0
≥ 0.94	86.8	94.0	180.7
≥ 0.96	86.8	94.7	181.5
≥ 1.00	86.8	95.5	182.3

≥ 1.03	79.4	95.5	174.9
≥ 1.09	77.9	95.5	173.4
≥ 1.10	75.0	95.5	170.5
≥ 1.14	73.5	95.5	169.0
≥ 1.26	72.1	95.5	167.5
≥ 1.27	70.6	95.5	166.1
≥ 1.28	69.1	96.2	165.4
≥ 1.30	67.6	96.2	163.9
≥ 1.33	67.6	97.0	164.6
≥ 1.40	64.7	97.7	162.5
≥ 1.50	61.8	97.7	159.5
≥ 1.60	57.4	97.7	155.1
≥ 1.64	54.4	97.7	152.2
≥ 1.70	52.9	97.7	150.7
≥ 1.73	51.5	97.7	149.2
≥ 1.74	50.0	97.7	147.7
≥ 1.75	48.5	97.7	146.3
≥ 1.83	45.6	97.7	143.3
≥ 1.86	44.1	97.7	141.9
≥ 1.93	42.6	97.7	140.4
≥ 2.00	41.2	97.7	138.9
≥ 2.08	30.9	98.5	129.4
≥ 2.20	29.4	98.5	127.9
≥ 2.26	26.5	98.5	125.0
≥ 2.36	26.5	99.2	125.7
≥ 2.40	25.0	99.2	124.2
≥ 2.46	22.1	99.2	121.3
≥ 2.47	20.6	99.2	119.8
≥ 2.50	19.1	99.2	118.4
≥ 2.51	17.6	99.2	116.9
≥ 2.57	16.2	99.2	115.4
≥ 2.70	14.7	99.2	114.0
≥ 3.00	11.8	99.2	111.0
≥ 3.27	10.3	99.2	109.5
≥ 3.50	8.8	99.2	108.1
≥ 3.60	7.4	99.2	106.6
≥ 4.20	7.4	100.0	107.4
≥ 5.70	5.9	100.0	105.9
≥ 6.20	4.4	100.0	104.4
≥ 7.00	2.9	100.0	102.9
≥ 7.95	1.5	100.0	101.5
≥ 7.96	0	100.0	100.0

Profile of patients who benefited from MSGB

In the logistic regression model, positive anti-Ro/SSA antibody (OR:8.86; CI:95%: 4.29-19.44), xerostomia (OR: 2.64; 95% CI: 1, 19-6.20), hypergammaglobulinemia (OR:2.54; 95% CI; 1.25-5.24) and positive rheumatoid factor (OR:2.16; 95% CI; 1.046-4.521) were associated with greater chance of the patient presenting FS $\geq$ 1 in MSGB (Table 6).

Table 6- Multiple regression model with MSGB FS $\geq$ 1 as dependent variable

Independent variables				
	Initial model		Final model	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
Xerostomia	2.112 (1.069-4.401)	0.037	2.643 (1.188-6.200)	0.021
Anti-Ro/SSA	9.268 (4.678-19.490)	<0.001	8.856 (4.293-19.437)	<0.001
Rheumatoid factor	2.327 (1.266-4.304)	0.007	2.161 (1.046-4.521)	0.038
Hypergammaglobulinemia	3.470 (1.882-6.550)	<0.001	2.541(1.254-5.236)	0.010
ANA	8.589 (3.286-29.527)	<0.001		
Anti-La/SSB	2.262 (1.109-4.608)	0.024		
Joint involvement	1.747 (0.937-3.345)	0.085		
Cytopenia	1.521 (0.801-2.866)	0.196		
Germinal centres-like structures	18.948 (3.366-355.578)	0.006		

MSGB: minor labial salivary gland biopsy; FS: focus score; OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval; ANA: antinuclear antibodies

DISCUSSION

This study showed important data on the good performance of MSGB for the classification of Sjögren's in an university hospital with pathologists previously trained by EULAR standardization for the report of these biopsies [7]. To the authors knowledge, this was the first Brazilian study to evaluate MSGB's performance considering the 2016 ACR/EULAR criteria for SD as reference standard [11].

The present study also described the clinical profile of patients usually referred for the MSGB. The medical records of 201 patients treated at the Rheumatology Service with suspected SD were reviewed. The results of this study showed that the majority of patients with suspected SD were women (88.56) who presented with xerophthalmia (74.13%) or xerostomia (70.15%), joint involvement (62.19%), pulmonary involvement (29.35%) and/or cytopenias (29.25%). Only 36% of patients undergoing MSGB met the 2016 ACR/EULAR criteria for Sjögren's Disease. MSGB is a safe but invasive

procedure, therefore, describing the patient population that will benefit from the procedure is of fundamental importance. Anti-Ro/SSA antibody positivity, xerostomia, hypergammaglobulinemia, and the presence of rheumatoid factor, were associated with positive MSGB (with FS $\geq$ 1).

SD is an underdiagnosed disease due to the variability and complexity of clinical manifestations, especially in cases with no obvious dry symptoms and tests for negative autoantibodies [1,2,3,4,5,6,10]. Therefore, it is of fundamental importance to study the diagnostic tests used in its workup.

In a previous Brazilian study, which evaluated the performance of MSGB for diagnosing SD based on specialist's opinion, the accuracy was good and too similar to the present study (sensitivity, specificity, PPV and NPV was 86.57%, 97.43%, 95%, 92.6%, respectively [10]. In that study, histopathological analysis was also performed by experienced pathologists. These data corroborates the importance of previous training of the pathologists to assure a good performance of the MSGB in the classification of SD [10].

The FS $\geq$ 1 showed to be the best cutoff point to classify patients with SD in our population [11,15,16]. This score value is the same as previously established in the classification criteria for SD [11,15,16].

Most (51.24%) patients of our sample were using corticosteroids and/or immunosuppressants at the time of MSGB. These medications were not associated with MSGB results. Some previous studies have suggested MSGB as a possible tool to evaluate therapeutic response [17-22]. Others have concluded that FS likely remains stable over time despite treatment [17-19]. The cross-sectional design of our study makes it impossible to shed light on this issue.

Several studies have attempted to identify symptoms, serological findings and other characteristics that could predict MSGB findings, however there is little consensus among them. Most of them showed that a biopsy with changes compatible with SD is particularly important in the group of patients with negative autoantibody testing [10,23,24,25].

In this study, the variables xerostomia, anti-Ro/SSA, rheumatoid factor and hypergammaglobulinemia were independently associated with a greater chance of MSGB positivity (FS $\geq$ 1). Among the strengths of the present study, we must mention the robust number of MSGB evaluated, having been carried out in a tertiary service,

which allowed better data quality, adequate sampling in approximately 93% of the slides, patient evaluation carried out by a trained rheumatologist, as well as the reading of the slides by trained pathologists.

The main limitation of the study is related to the design. The cross-sectional study does not allow to establish cause-and-effect correlations. Furthermore, data were collected through medical record review, so registration bias may have influenced the evaluation of some clinical characteristics. The 2016 ACR/EULAR criteria was used as a reference standard for performance analyzes (sensitivity, specificity, PPV and NPV) of the MSGB. However, focal lymphocytic sialadenitis with $FS \geq 1$ is included as one of the criteria for scoring and consequent classification of patients as having Sjögren's disease. This might possibly have caused an overvaluation of MSGB performance.

Other limitations of our study are the small number of patients with $FS \geq 3$ and/or with structures similar to germinal centers and the difficulty in accessing, during the data collection period, other methods for evaluating dry symptoms. Only 53.21% of the sample underwent objective assessment of dry eye and in none of the patients, salivary flow was assessed. The concordance of the biopsy result when evaluated by different pathologists was not evaluated, which should be explored in future studies [26-29].

CONCLUSIONS

MSGB is a procedure with high sensitivity, specificity and positive and negative predictive values for SD classification in a tertiary center with trained pathologists. In this cross-sectional study xerostomia, anti-Ro/SSA, rheumatoid factor and hypergammaglobulinemia were independently associated with a higher chance of positivity of MSGB ($FS \geq 1$). The adequate selection of patients referred to MSGB and training of pathologists are necessary to improve care and assure an adequate assessment of patients with suspected SD.

References

1. PARISIS, Dorian *et al.* Current State of Knowledge on Primary Sjögren's Syndrome, an Autoimmune Exocrinopathy. **Journal of clinical medicine**, v. 9, ed. 7, p. 1-61, 20 jul. 2020. DOI <https://doi.org/10.3390/jcm9072299>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/7/2299>.
2. GERLI, R. *et al.* Quantitative assessment of salivary gland inflammatory infiltration in primary Sjögren's syndrome: its relationship to different demographic, clinical and serological features of the disorder. **British journal of rheumatology**, v. 36, ed. 9, p. 969–975., 28 fev. 1997. DOI <https://doi.org/10.1093/rheumatology/36.9.969>
3. ASTRID, Rasmussen *et al.* 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. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 73, ed. 1, p. 31–38, 1 jan. 2014. DOI <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203845>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3855629/>.
4. BINARD, A. *et al.* Epidemiology of Sjögren's syndrome: where are we now?. **Clinical and experimental rheumatology**, n. 1, ed. 25, p. 1-4, 23 set. 2007. Disponível em: <https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=2996>.
5. VALIM, Valéria *et al.* Primary Sjögren's syndrome prevalence in a major metropolitan area in Brazil. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 53, ed. 1, p. 24-34, 14 ago. 2012. DOI <https://doi.org/10.1590/S0482-50042013000100003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S048250041370055X?via%3Dihub>.
6. MAVRAGANI, Clio P.; MOUTSOPOULOS, Haralampos M. The geoepidemiology of Sjögren's syndrome. **Autoimmunity Reviews**, v. 9, ed. 5, p. A305-A310, 10 nov. 2009. DOI <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.11.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997209001827?via%3Dihub>.
7. FISHER, Benjamin *et al.* Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 76, ed. 7, p. 1161-1168, 12 dez. 2016. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210448. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/76/7/1161.long>.
8. FISHER, Benjamin *et al.* A review of salivary gland histopathology in primary Sjögren's syndrome with a focus on its potential as a clinical trials

- biomarke. **Annals of the rheumatic diseases**. 2015 Sep;74(9):1645-50. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-207499.
9. TREVISANI , Virginia *et al*. Recommendations from the Brazilian society of rheumatology for the diagnosis of Sjögren's syndrome (Part I): glandular manifestations (systematic review). **Advances in rheumatology**, v. 59, ed. 1, p. 1-17, 2019. <https://doi.org/10.1186/s42358-019-0102-8>
 10. GIOVELLI, Raquel A. *et al*. Clinical characteristics and biopsy accuracy in suspected cases of Sjögren's syndrome referred to labial salivary gland biopsy. **Rheumatic & musculoskeletal diseases open**, v. 16, ed. 30, p. 1-7, 2015. DOI <https://doi.org/10.1186/s12891-015-0482-9>. Disponível em: <https://bmcmusculoskeletdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12891-015-0482-9>.
 11. SHIBOSKI, Caroline H *et al*. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome. **Arthritis & rheumatology**, v. 69, ed. 1, p. 35-45, 22 set. 2023. DOI:10.1002/art.39859. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5650478/>.
 12. GUELLEC, Dewi *et al*. Diagnostic value of labial minor salivary gland biopsy for Sjögren's syndrome: a systematic review. **Autoimmunity reviews**, v. 12, ed. 3, 7 ago. 2012. DOI <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.08.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997212001656?via%3Dihub>
 13. GREENSPAN, J. S. *et al*. The histopathology of Sjögren's syndrome in labial salivary gland biopsies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 37, ed. 2, p. 217-229, 1974. DOI [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(74\)90417-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(74)90417-4)
 14. SEROR, Raphaële *et al*. EULAR Sjögren's syndrome disease activity index (ESSDAI): a user guide. **Rheumatic & musculoskeletal diseases open**, v. 1, ed. 1, p. 1-9, 31 maio 2015. DOI: 10.1136/rmdopen-2014-000022. Disponível em: <https://rmdopen.bmj.com/lookup/pmidlookup?view=long&pmid=26509054>.
 15. VITALI, C. *et al*. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 61, ed. 6, p. 554-558, 2002. DOI:10.1136/ard.61.6.554. Disponível em: <https://ard.bmj.com/content/61/6/554.long>.
 16. SHIBOSKI, S. C. *et al*. 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**, v. 64, ed. 4, p. 475-487, 2012. DOI: 10.1002/acr.21591. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3349440/>.

17. RISSELADA, Anna P *et al.* The prognostic value of routinely performed minor salivary gland assessments in primary Sjögren's syndrome. **Annals of the rheumatic diseases** vol. 73,8 (2014): 1537-40. doi:10.1136/annrheumdis-2013-204634
18. KAPSOGEOURGOU, Efstathia K *et al.* Minor salivary gland inflammatory lesions in Sjögren syndrome: do they evolve?. **The Journal of rheumatology** vol. 40,9 (2013): 1566-71. doi:10.3899/jrheum.130256
19. FOX, P C *et al.* Prednisone and piroxicam for treatment of primary Sjögren's syndrome. **Clinical and experimental rheumatology** vol. 11,2 (1993): 149-56.
20. CARUBBI, Francesco *et al.* Efficacy and safety of rituximab treatment in early primary Sjögren's syndrome: a prospective, multi-center, follow-up study. **Arthritis research & therapy** vol. 15,5 R172. 30 Oct. 2013, doi:10.1186/ar4359
21. ADLER, Sabine *et al.* Evaluation of histologic, serologic, and clinical changes in response to abatacept treatment of primary Sjögren's syndrome: a pilot study. **Arthritis care & research** vol. 65,11 (2013): 1862-8. doi:10.1002/acr.22052
22. ZANDBELT, M M *et al.* Reversibility of histological and immunohistological abnormalities in sublabial salivary gland biopsy specimens following treatment with corticosteroids in Sjögren's syndrome. **Annals of the rheumatic diseases** vol. 60,5 (2001): 511-3. doi:10.1136/ard.60.5.511
23. BAMBA, Ravinder *et al.* The minor salivary gland biopsy as a diagnostic tool for Sjögren syndrome. **Laryngoscope**, v. 119, ed. 10, p. 1922-1926, 2009. DOI <https://doi.org/10.1002/lary.20292>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lary.20292>.
24. LANGERMAN, Alexander *et al.* Utility of lip biopsy in the diagnosis and treatment of Sjogren's syndrome. **Laryngoscope**, [s. l.], v. 117, ed. 6, p. 1004-1008, 2007. DOI <https://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31804654f7>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/MLG.0b013e31804654f7>
25. GORDON, Alex *et al.* Minor Salivary Gland Biopsy in Diagnosis of Sjögren's Syndrome. **OTO open**, v. 6, ed. 3, p. 1-6, 2022. DOI: 10.1177/2473974X221116107. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9326841/>.
26. WICHETA, Sarah *et al.* Discrepancies in Interpretation of the Minor Salivary Gland Biopsy in the Diagnosis of Sjogren's Syndrome. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 77, ed. 8, p. 1628-1635, 2019. DOI: 10.1016/j.joms.2019.01.052. Disponível em: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(19\)30127-2/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(19)30127-2/fulltext).

27. COSTA, Sebastian *et al.* Reliability of histopathological salivary gland biopsy assessment in Sjogren's syndrome: a multicentre cohort study. *Rheumatology*. **Rheumatology (Oxford)**, v. 54, ed. 6, p. 1056-1064, 2014. DOI: 10.1093/rheumatology/keu453. Disponível em: <https://academic.oup.com/rheumatology/article/54/6/1056/1800052?login=false>.
28. TAVONI , Antonio *et al.* Minor salivary gland biopsy and Sjögren's syndrome: comparative analysis of biopsies among different Italian rheumatologic centers. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 30, ed. 6, p. 929-933, 2012.
29. VIVINO, Frederick *et al.* Change in final diagnosis on second evaluation of labial minor salivary gland biopsies. **The Journal of rheumatology**, v. 29, ed. 5, p. 938-944, 2002. PMID: 12022353.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A confiabilidade interobservador e intraobservador exibiram concordância boa para avaliação de lesões inflamatórias e para as conclusões das biópsias, enquanto uma concordância comparativamente diminuída foi observada para a estimativa de dano estrutural. Essa discrepância pode resultar da maior dificuldade associada à avaliação de danos em comparação com a avaliação de alterações inflamatórias. O aprimoramento imperativo da confiabilidade da BGSM requer o estabelecimento de uma padronização robusta da avaliação histopatológica e um treinamento abrangente do patologista.

A confiabilidade da avaliação de estruturas semelhantes a centros germinativos foi moderada tanto na avaliação interobservador quanto intraobservador. Diante do seu valor prognóstico, provavelmente a reavaliação das lâminas utilizando além da coloração utilizada com HE, a marcação com CD21, CD3 e CD20 melhoraria significativamente a confiabilidade de sua identificação.

As características clínicas dos pacientes encaminhados para realização de BGSM de novembro de 2017 a abril de 2022, no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG, devido à suspeita de doença de Sjögren, foram idade média de 52,78 anos, maioria de mulheres (88,56%), queixas de xerofthalmia (74,13%), xerostomia (70,15%), acometimento articular (62,19%), pulmonar (29,35%) e/ou citopenias (29,25%).

Quanto ao perfil clínico e laboratorial dos pacientes que mais se beneficiariam da realização da BGSM para o diagnóstico da doença de Sjögren, este estudo sugere que seriam aqueles que apresentam as variáveis xerostomia, anti-Ro/SSA, fator reumatoide e hipergamaglobulinemia, que foram associados de forma independente com maior chance de positividade de BGSM ($FS \geq 1$).

A BGSM apresentou bom desempenho, com alta sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos para a classificação da doença de Sjögren. Não foi encontrada associação entre o tratamento no momento da BGSM e alteração no seu resultado, assim como relação da atividade de doença avaliada pelo ESSDAI, com o valor do FS da BGSM.

Entre os pontos fortes do presente estudo, devem-se citar o número robusto de BGSM avaliadas, ter sido realizado em um serviço terciário, o que possibilitou melhor

qualidade dos dados, a avaliação dos pacientes ter sido feita por reumatologista capacitado, assim como a leitura das lâminas por patologistas treinados.

As principais limitações deste estudo são tratar-se de um estudo transversal, impossibilitando o estabelecimento de correlações de causa e efeito, e o fato de utilizar como padrão referência para análises de desempenho (sensibilidade, especificidade, VPP e VPN) da BGSM o critério de classificação ACR/EULAR (2016) o qual contempla a SLF com FS $\geq$ 1 como um dos critérios para pontuação para classificação do paciente como apresentando doença de Sjögren, o que provavelmente ocasionou supervalorização do desempenho da BGSM.

Outras limitações do nosso estudo são o pequeno número de pacientes com FS $\geq$ 3 e/ou com estruturas semelhantes a centros germinativos e a dificuldade de acesso, no período da coleta de dados, a outras propedêuticas de avaliação dos sintomas secos. Apenas 57,21% da amostra foi submetida a avaliação objetiva de olho seco e em nenhum dos pacientes foi avaliado o fluxo salivar.

Avaliação de outros biomarcadores além do FS para melhorar a precisão da BGSM para o diagnóstico de doença de Sjögren, tais como, a redução relativa de células plasmáticas que expressam IgA na glândula salivar e o aumento das que expressam IgG e IgM e coloração positiva de transdutor de sinal fosforilado e ativador de proteínas de transcrição 1(p-STAT1) em comparação com indivíduos controle, são perspectivas para estudos futuros [40,41].

ANEXO A- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das variáveis clínicas, laboratoriais, imaginológicas, histológicas, de outros exames complementares, terapêuticas e prognósticas de pacientes com síndrome de Sjögren

Pesquisador: Débora Cerqueira Calderaro

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50177521.2.0000.5149

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da UFMG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.964.309

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto para estudo da apresentação e história natural da Síndrome de Sjögren (SS). Embora relativamente comum na população, sendo a segunda doença do tecido conjuntivo mais comum, a SS é subdiagnosticada em parte devido a falta de conhecimento da maioria dos médicos sobre a doença em parte pelo desconhecimento da história natural da própria doença. Esse projeto pretende estudar manifestações clínicas e laboratoriais da SS para melhor entendimento da sua apresentação, delineamento de marcadores e teste de instrumentos de diagnóstico e avaliação.

Segundo os autores:

A síndrome de Sjögren primária (SSp) é segunda doença do tecido conjuntivo mais frequente. Além dos sintomas secos e manifestações associadas à infiltração linfocitária das glândulas exócrinas, suas manifestações sistêmicas (extraglandulares) vêm sendo reconhecidas. O acompanhamento clínico, laboratorial, e com a realização de outros exames complementares, além do tratamento, são importantes para a melhora do prognóstico e sobrevida dos pacientes. Objetivos: O presente estudo pretende estudar, histórica e prospectivamente, pacientes com SSp em acompanhamento regular em serviço de Reumatologia, o que permitirá o melhor entendimento desta doença e de suas manifestações clínicas, em exames complementares, de tratamento e prognósticas. Métodos:

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 8627 e 2º. Andar e Sala 2005 e Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.964.309

Trata-se de uma coorte para acompanhamento longitudinal de pacientes com SSp. Será composto pela revisão de prontuários médicos para registro retrospectivo (coorte retrospectiva) das características clínicas, laboratoriais, de exames de imagem e histologia, além de outros exames complementares realizados por esses pacientes, e acompanhamento longitudinal dos mesmos (coorte prospectiva), para avaliação de variáveis prognósticas. Variáveis utilizadas no acompanhamento incluem o EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI), o EULAR Sjögren's Syndrome Patient Report Index (ESSPRI) e o Sjögren's Syndrome Disease Damage Index (SSDDI) serão avaliadas neste estudo. Dados de biópsia de glândulas salivares de lábio inferior serão registrados, revistos e comparados. Os desfechos que serão avaliados no acompanhamento longitudinal incluirão a ocorrência de atividade (segundo o ESSDAI), dano (segundo o SSDDI), neoplasias, hospitalizações e morte. Na análise estatística, será usado o SPSS. Será realizada análise avaliação da normalidade das variáveis numéricas (usando os testes de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk) e então, será realizada a análise descritiva da população (frequências das variáveis categóricas, médias (desvio-padrão) das variáveis numéricas de distribuição normal, mediana (mínimo-máximo) das variáveis numéricas de distribuição não-normal. Testes de associação (Chi-quadrado ou exato de Fisher, T-Student e Mann-Whitney) serão realizados. No acompanhamento longitudinal, a análise de regressão de Cox, curvas de sobrevida (Kaplan-Meier) e testes para avaliação de amostras pareadas (Teste T-Student pareado, teste de McNemar, Teste de Wilcoxon, ANOVA, teste de Friedman). O valor de $p < 0,05$ será considerado significativo. Para os pacientes que realizaram biópsia de pequenas glândulas salivares, será realizada a análise de concordância inter e intraobservador. O modelo de regressão múltipla será usado para identificar variáveis associadas a uma biópsia positiva. O coeficiente de concordância de kappa será usado para avaliar a concordância entre observadores.

Critério de Inclusão:

Idade igual ou superior a 18 anos.

Diagnóstico de SSp conforme os critérios de classificação EULAR/ACR 2016 [13].

Realização de biópsia de pequenas glândulas salivares (mesmo se o diagnóstico de SSp não se confirmar)

Acompanhamento regular em serviço de Reumatologia

Concordância em participar do estudo através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 e 2º. Andar e Sala 2005 e Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS**

Continuação do Parecer: 4.964.309

Critério de Exclusão:

Pacientes com dados de prontuários insuficientes para a definição ou exclusão da SSp.

Pessoas com doenças que mimetizam a SSp (infecção pelo HIV, infecção pelo vírus da hepatite C, linfoma, sarcoidose, doença por IgG4, doença do enxerto versus hospedeiro, outras) terão analisados apenas os dados referentes à biópsia de glândulas salivares menores. Para as demais avaliações, serão excluídos. Perda do acompanhamento longitudinal dos pacientes.

Objetivo da Pesquisa:**Hipótese:**

A SSp é frequente, mas subdiagnosticada. O melhor entendimento das variáveis clínicas, laboratoriais, imaginológicas, histológicas, de outros exames complementares, terapêuticas e prognósticas de pacientes com síndrome de Sjögren é importante para seu conhecimento e melhora em seu reconhecimento.

Objetivo Primário:

Descrever as variáveis clínicas, laboratoriais, imaginológicas, histológicas, de outros exames complementares, terapêuticas e prognósticas de pacientes com síndrome de Sjögren.

Objetivo Secundário:

- Avaliar o valor diagnóstico de BGSM para SSp em pacientes com síndrome de Sicca ou outros sintomas sugestivos de SS (sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos).
- Avaliar prospectivamente a concordância entre patologistas distintos e do mesmo patologista na avaliação da BGSM, utilizando as recomendações publicadas pelo grupo EULAR em 2017.
- Avaliar retrospectivamente (com os dados do prontuário) o perfil clínico dos pacientes com SSp acompanhados em serviço de Reumatologia.
- Realizar o acompanhamento prospectivo dos pacientes com SSp acompanhados em serviço de Reumatologia.
- Avaliar fatores prognósticos associados ao dano (SSDDI), neoplasias, hospitalizações e

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 e 2º. Andar e Sala 2005 e Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.964.309

mortalidade nestes pacientes.

- Avaliar a associação entre o tratamento e a ocorrência de dano (SSDDI), neoplasias, hospitalizações ou mortalidade nos pacientes com SSp acompanhados em serviço de Reumatologia.
- Avaliar as causas e a evolução das hospitalizações em pacientes com SSp.
- Avaliar as causas de óbito em pacientes com SSp.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos associados à presente pesquisa são mínimos, uma vez que será realizada apenas a coleta dos dados constantes nos prontuários médicos e acompanhamento longitudinal do acompanhamento usual destes pacientes. Contudo, incluem o risco (mínimo, uma vez que os pesquisadores se comprometeram a manter o total anonimato dos pacientes participantes do estudo) de divulgação de informações que permitam a identificação dos mesmos. Ainda, mesmo se tratando de procedimentos previstos em seu tratamento usual, haverá o desconforto associado à realização periódica de exames complementares, consultas médicas e com outros profissionais de saúde e à necessidade de responder o ESSPRI.

Benefícios:

Não existem benefícios diretos imediatos previstos para os pacientes da pesquisa. A ampliação do conhecimento acerca da SSp poderá trazer benefício indireto, uma vez que poderemos identificar a doença mais precocemente, entender os fatores prognósticos a ela associados e, desta forma, melhorar sua assistência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é relevante para a área, tanto para o estabelecimento da história natural da doença, quanto para estabelecer novos marcadores de diagnóstico e evolução. Além disso, o projeto tem também um caráter educativo, pois ao se conhecer melhor a doença, será mais fácil criar estratégias para o ensino mais eficaz na escola médica sobre a mesma.

O TCLE é claro e ressalta a voluntariedade e a possibilidade de retirada de consentimento sem prejuízo, o incômodo de que as consultas serão mais longas devido à aplicação dos instrumentos

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 8627 e 2º. Andar e Sala 2005 e Campus Pampulha
 Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE
 Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.964.309

(questionários de avaliação), refere-se ao uso de dados secundários e ressalta que o tratamento e acompanhamento seguirá critérios clínicos, ou seja, o uso de exames pela pesquisa seguirá a conveniência clínica. Há menção de que não haverá compensação financeira pela participação e nem gastos e que os participantes podem procurar indenização caso se sintam lesados.

Projeto não apresenta orçamento, mas trata-se de estudo observacional com dados de conveniência de custo mínimo.

Embora a PI não tenha anexado seu currículo, a avaliação do currículo lattes indica competência técnica para o projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados

Projeto completo - adequado

TCLE - adequado

Folha de rosto – adequado

Parecer consubstanciado do departamento de aparelho locomotor da FM/UFMG.

Anuência do GEP

Anuências de unidades funcionais do HC/UFMG

Não foi apresentado

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis pela aprovação do projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 e 2º. Andar e Sala 2005 e Campus Pampulha
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.964.309

notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1758119.pdf	23/07/2021 12:36:47		Aceito
Outros	ParecerGEP.pdf	23/07/2021 12:36:20	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoSSJAssinada.pdf	23/06/2021 12:33:23	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Outros	ParecerUnidadeFuncionalSSJ.pdf	23/06/2021 12:32:52	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Outros	ParecerSetorCuidadosAndreia.pdf	23/06/2021 12:32:27	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Outros	ParecerLuzimarSSJ.PDF	23/06/2021 12:31:55	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Outros	AnuenciaServicoReumatoSSJ.pdf	23/06/2021 12:30:55	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	BrochuraSSp.docx	20/05/2021 18:00:55	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
Outros	ParecerDALOSSJ.pdf	20/05/2021 13:46:16	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLESSp.docx	20/05/2021 13:45:43	Débora Cerqueira Calderaro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 10 de Setembro de 2021

Assinado por:
Críssia Carem Paiva Fontainha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 e 2º Andar e Sala 2005 e Campus Pampulha
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

ANEXO B- Classification criteria for Sjögren syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group-AECG (2002)

I.	Sintomas oculares: pacientes devem apresentar resposta positiva para pelo menos uma das seguintes questões: 1. Você tem apresentado algum problema de secreção nos olhos, diariamente, nos últimos 3 meses? 2. Você tem a sensação recorrente de areia nos olhos? 3. Você usa lágrima artificial por mais de 3 vezes ao dia?
II.	Sintomas orais: pacientes devem apresentar resposta positiva para pelo menos uma das seguintes questões: 1. Você tem apresentado a sensação de boca seca diariamente por mais de 3 meses? 2. Você tem apresentado edema persistente na glândula salivar? 3. Você frequentemente ingere líquidos para auxiliar na deglutição de alimentos secos?
III.	Sinais oculares: envolvimento ocular detectado por pelo menos um dos dois testes seguintes: 1. Teste de Schirmer realizado sem anestesia (<5mm/5minutos) 2. Escore de Rosa-bengala ou outro escore para medir a secreção ocular (<4, de acordo com o Van Bijsterveld)
IV.	Histopatologia: Presença de sialoadenite linfocítica focal detectada por um patologista experiente, com FS $\geq$ 1 - um ou mais agregados densos de pelo menos 50 células mononucleares, principalmente linfócitos, por 4 mm ² , localizados nas regiões periductal ou perivascular, adjacentes a ácinos de aparência normal)
V.	Envolvimento da glândula salivar detectado por pelo menos um dos seguintes testes de diagnóstico: 1. Ausência completa de estimulação do fluxo salivar (<1,5ml/15 minutos) 2. Sialografia de parótida mostrando a presença de sialectasias difusas (padrão puntiforme, cavitário ou destrutivo) sem evidência de obstrução do ducto principal. 3. Cintilografia salivar mostrando absorção lenta, concentração reduzidas e/ou excreção lenta do isótopo
VI.	Autoanticorpos: presença no soro dos seguintes autoanticorpos: 1. Anticorpos para antígenos Anti-RO/SSA, Anti-La/SSB ou ambos

Síndrome de Sjögren Primária	Síndrome de Sjögren Secundária
Em pacientes sem qualquer doença potencialmente associada a Doença de Sjögren pode ser definida da seguinte forma:	Em pacientes com outra doença do tecido conjuntivo potencialmente associada, a SSS pode ser definida da seguinte forma:
a) Presença de 4 dos 6 critérios, ou ainda positividade no item IV (histopatologia) ou item VI (sorologia).	a) Presença do item I ou II em adição a dois dos seguintes itens: III, V e VI.
b) Presença de 3 dos 4 critérios objetivos (III, IV, V, VI)	

ANEXO C- American College Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome (2012)

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

São classificados como SS pacientes que apresentam pelo menos 2 entre os 3 seguintes critérios objetivos:

1. Presença de anti-Ro/SSA e/ou Anti-La/SSB ou fator reumatoide + e FAN com título $\geq 1:320$
2. Sialoadenite linfocítica focal com presença de ≥ 1 focus/ 4mm^2
3. Ceraroconjuntivite seca com escore de coloração ocular com ≥ 3 (válido para pacientes que não estejam em uso de colírio para glaucoma e não tenham sido submetidos a 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
- Doença relacionada ao IgG4

ANEXO D- American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome (2016)

	Pontuação
Sialodenite linfocítica focal com presença de escore focal ≥ 1 focus/4 mm ²	3
Presença de Anti-SSA/Ro	3
Ocular Staining Score ≥ 5 (ou van Bijsterveld score ≥ 4) em pelo menos um olho	1
Teste de Schirmer ≤ 5 mm/5 min em pelo menos um olho	1
Fluxo salivar não estimulado total ≤ 0.1 mL/min	1
A classificação da Síndrome de Sjögren primária se aplica a qualquer indivíduo com sintomas de secura ou manifestações sistêmicas sugestivas de Síndrome de Sjögren, não tenha nenhuma das condições listadas como critérios de exclusão [(1) história de tratamento de radiação de cabeça e pescoço, (2) infecção de hepatite C ativa (com confirmação por PCR), (3) SIDA, (4) sarcoidose, (5) amiloidose, (6) doença do enxerto contra hospedeiro, (7) doença relacionada a IgG4., e tem uma pontuação de ≥ 4 quando os pesos dos cinco critérios, os itens abaixo são somados	

ANEXO E- EULAR Sjogren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI)

Domínio constitucional (3) Por favor, atenção para não avaliar sintomas constitucionais não relacionados a doença (como febre de origem infecciosa, perda voluntária de peso).		
Nenhuma atividade	Ausência dos sintomas a seguir	0
Atividade baixa	Febre moderada ou intermitente (37,5°-38,5°C) / suores noturnos ou perda de peso involuntária de 5% a 10% do peso corporal	1
Atividade moderada	Febre alta (> 38,5°C) / suores noturnos ou perda de peso involuntária de > 10% do peso corporal	2
Domínio de linfadenopatia (4)		
Nenhuma atividade	Ausência dos sintomas a seguir	0
Atividade baixa	Linfadenomegalia ≥ 1 cm em qualquer região ou ≥ 2 cm na região inguinal	1
Atividade moderada	Linfadenomegalia ≥ 2 cm em qualquer região ou ≥ 3 cm em região inguinal ou esplenomegalia (cl clinicamente palpável ou avaliada por exame de imagem)	2
Atividade alta	Doença proliferativa maligna das células B recente	3
Domínio glandular (2) Por favor, atenção para não avaliar aumento do volume glandular não relacionado a doença (p. ex., litíase ou infecção).		
Nenhuma atividade	Ausência de aumento glandular	0
Atividade baixa	Pequeno aumento glandular com: • parótida aumentada (≤ 3cm) ou aumento discreto submandibular ou lacrimal	1
Atividade moderada	Aumento glandular maior com: • parótida aumentada (> 3cm) ou aumento importante submandibular ou lacrimal	2
Domínio articular (2) Por favor, atenção para não avaliar envolvimento articular não relacionado a doença, como a osteoartrite		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento articular ativo no momento	0
Atividade baixa	Artralgia nas mãos, punhos, tornozelos e pés acompanhados por rigidez matinal (> 30 min)	1
Atividade moderada	1 a 5 artrites dentre as 28	2
Atividade alta	≥ 6 artrites dentre as 28	3
Domínio cutâneo (3) Por favor, atenção em avaliar como “Nenhuma atividade” lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (sequela) do que a atividade da doença ou ao envolvimento cutâneo não relacionado a doença.		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento cutâneo ativo no momento	0
Atividade baixa	Eritema multiforme	1

Atividade moderada	Vasculite cutânea limitada, incluindo vasculite urticariforme ou purpura limitada aos pés e tornozelos ou lúpus cutâneo subagudo	2
Atividade alta	Vasculite cutânea difusa, incluindo vasculite urticariforme ou purpura difusa ou úlceras relacionadas a vasculite	3
Domínio respiratório (5) Por favor, atenção em avaliar como “Nenhuma atividade” lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (sequela) do que a atividade da doença ou ao envolvimento respiratório não relacionado a doença (p. ex., cigarro).		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento pulmonar ativo no momento	0
Atividade baixa	Tosse persistente ou envolvimento brônquico sem nenhuma alteração radiológica no raio X simples ou evidência de doença pulmonar intersticial no raio X simples ou TCAR, com: • nenhuma dispneia e • prova de função pulmonar normal	1
Atividade moderada	Envolvimento pulmonar moderadamente ativo, tal como doença pulmonar intersticial diagnosticada pelo TCAR com: • dispneia aos grandes esforços (NYHA II) ou prova de função pulmonar alterada dentro dos seguintes parâmetros: $70\% > \text{DLCO} \geq 40\%$ e/ou $80\% > \text{CVF} \geq 60\%$	2
Atividade alta	Envolvimento pulmonar altamente ativo como doença pulmonar intersticial diagnosticada pelo TCAR com: • dispneia aos pequenos esforços ou ao repouso (NYHA4 III, IV) ou prova de função pulmonar alterada: $\text{DLCO} < 40\%$ e/ou $\text{CVF} < 60\%$	3
Domínio renal (5) Por favor, atenção em avaliar como “Nenhuma atividade” lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (sequela) do que a atividade da doença e ao envolvimento renal não relacionado a doença. Se a biópsia for feita, favor classificar a atividade baseada, primeiramente, nas características histológicas.		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento renal ativo no momento: • proteinúria $< 0,5\text{g/d}$, nenhuma hematúria, nenhuma leucocitúria, nenhuma acidose ou • proteinúria estável de longa duração devido ao dano/sequela	0
Atividade baixa	Evidência de envolvimento específico da atividade renal, limitada a: • acidose tubular sem insuficiência renal ou • envolvimento glomerular: - com proteinúria (entre $0,5$ e 1 g/dL) e - sem hematúria ou insuficiência renal ($\text{TGF} \geq 60\text{ mL/min}$)	1
Atividade moderada	Atividade renal moderada: • acidose tubular com insuficiência renal ($\text{TGF} < 60\text{ mL/min}$) ou	2

	• envolvimento glomerular: - com proteinúria entre um e 1,5 g/dL e - sem hematúria ou insuficiência renal ($\text{TGF} \geq 60 \text{ mL/min}$) ou • evidencia histológica: - glomerulonefrite e/ou - infiltração intersticial linfóide importante	
Atividade alta	Atividade renal alta: • envolvimento glomerular: - proteinúria > 1,5 g/dL e/ou - hematúria e/ou - insuficiência renal ($\text{TGF} < 60 \text{ mL/min}$) ou • evidencia histológica de: - glomerulonefrite proliferativa ou - crioglobulinemia relacionada ao envolvimento renal	3
Domínio muscular (6) Por favor, atenção para não avaliar envolvimento muscular não relacionado a doença, como fraqueza devido a corticosteroides.		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento muscular ativo no momento	0
Atividade baixa	Miosite levemente ativa diagnosticada pela EMG ou biópsia com: • ausência de fraqueza e creatinaquinase alterada ($N < CK \leq 2N$)	1
Atividade moderada	miosite moderadamente ativa diagnosticada pela EMG ou biópsia com: • fraqueza (déficit máximo de 4/5) ou creatinaquinase elevada ($2N < CK \leq 4N$)	2
Atividade alta	miosite altamente ativa diagnosticada pela EMG ou biópsia com: • fraqueza (déficit $\leq 3/5$) ou creatinaquinase elevada ($> 4N$)	3
Domínio do sistema nervoso periférico (5) Por favor, atenção em avaliar como “Nenhuma atividade” lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (sequela) do que a atividade ou ao envolvimento do sistema nervoso periférico não relacionado a doença.		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento ativo do sistema nervoso periférico, no momento	0
Atividade baixa	Evidência de envolvimento ativo do sistema nervoso periférico, como: • polineuropatia periférica axonal diagnosticada pelo ECN/ENMG ou • neuralgia do nervo trigêmeo (V nervo craniano)	1
Atividade moderada	Evidência de envolvimento moderadamente ativo, do sistema nervoso periférico, como: • neuropatia axonal motora e sensorial diagnosticada pelo ECN/ENMG, sem déficit motor ou • neuropatia sensorial pura com a presença de vasculite crioglobulinêmica ou	2

	• gangliopatia com sintomas restritos a ataxia moderada ou • polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (CIDP) com deficiência funcional moderada (sem déficit motor ou ataxia moderada) ou • envolvimento do nervo craniano de origem periférica – exceto nervo do Trígêmeo (V)	
Atividade alta	Evidência de envolvimento altamente ativo do sistema nervoso periférico, como: • neuropatia axonal motora e sensorial diagnosticada pela ENMG com déficit motor $\leq 3/5$ ou • envolvimento do nervo periférico atribuído a vasculite (mononeurite múltipla) ou • ataxia severa atribuída a ganglionopatia ou • polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (CIDP) com deficiência funcional severa: déficit motor $\leq 3/5$ ou ataxia grave	3
Domínio do sistema nervoso central (5) Por favor, atenção em avaliar como “Nenhuma atividade” lesões antigas e estáveis mais relacionadas ao dano (sequela) do que a atividade da doença ou envolvimento do sistema nervoso central não relacionado a doença.		
Nenhuma atividade	Ausência de envolvimento ativo do SNC no momento	0
Atividade baixa	Manifestações clínicas moderadamente ativas do SNC, como: • envolvimento de nervo craniano de origem central ou • neurite óptica ou • síndrome semelhante a esclerose múltipla com sintomas restritos a deficiência sensorial pura ou deficiência cognitiva comprovada	1
Atividade moderada	Manifestações clínicas altamente ativas do SNC, como: • vasculite cerebral com acidente vascular cerebral ou ataque isquêmico transitório • convulsões ou • mielite transversa ou • meningite linfocítica ou • síndrome semelhante a esclerose múltipla com déficit motor	2
Domínio hematológico (2) Por favor, atenção: levando em conta anemia, neutropenia e trombocitopenia, somente a citopenia autoimune deve ser considerada; não avaliar citopenia que não esteja relacionada a doença (p. ex., deficiência de vitamina ou de ferro, ou ainda citopenia induzida por droga, como p. ex. linfocitopenia associada a ciclosfosfamida).		
Nenhuma atividade	Ausência de citopenia autoimune	0
Atividade baixa	citopenia de origem autoimune com: • neutropenia ($1000 < \text{neutrófilos} < 1500/\text{mm}^3$) ou - anemia ($10 < \text{Hb} < 12 \text{ g/dL}$) ou trombocitopenia	1

	(100.000 < plaquetas < 150.000/mm ³) ou linfopenia (500 < linfócitos < 1000/mm ³)	
Atividade moderada	Citopenia de origem autoimune com: • neutropenia (500 ≤ neutrófilos ≤ 1000/mm ³) ou anemia (8 ≤ Hb ≤ 10 g/dL) ou trombocitopenia (50.000 ≤ plaquetas ≤ 100.000/mm ³) ou linfopenia (≤ 500/mm ³)	2
Atividade alta	Citopenia de origem autoimune com: • neutropenia (neutrófilos < 500/mm ³) ou anemia (Hb < 8 g/dl) ou trombocitopenia (plaquetas < 50.000/mm ³)	3
Domínio biológico (1)		
Nenhuma atividade	Ausência de qualquer uma das seguintes alterações	0
Atividade baixa	• pico clonal ou hipocomplementemia (C4 ou C3 ou CH50 baixos) ou hipergamaglobulinemia ou nível de IgG entre 1600 e 2000 mg/dL	1
Atividade moderada	• Presença de crioglobulinemia ou hipergamaglobulinemia ou nível alto de IgG > 2000 mg/dL ou início recente de hipogamaglobulinemia ou diminuição recente de nível de IgG (< 500 mg/dL)	2

ANEXO F: Sistemas de classificação da BGSM

Chisholm e Mason (1968)		Greenspan e Daniels (1974)		Tarpley (1974)	
Grau	Infiltrado linfoplasmocitário/4 mm² de área glandular	FS		Classe 0	Normal
0	Ausência de alterações histológicas	1	1 foco	Classe I (1+)	Agregados de células, compostas de linfócitos, células plasmáticas e histiócitos 1 ou 2 agregados (infiltração mínima)
		2	2 focos		
1	Infiltrado em grau leve	...	...focos	Classe 2 (2+)	Mais de 3 agregados (múltiplos) de células redondas por lóbulo
2	Infiltrado em grau moderado	10	10 focos	Classe 3 (3+)	Infiltração lobular difusa de células redondas com destruição parcial de tecido acinar com ou sem fibrose, a célula predominante variando de linfócito a plasmócito
		12	Infiltrado confluent e		
3	Formação de um foco	Escore de foco (FS): número de focos em uma área de 4 mm² de parênquima de aparência normal. Sialoadenite linfocítica focal: FS≥1		Classe IV (4+)	Infiltrado difuso de células redondas com ou sem fibrose destruindo completamente a arquitetura lobular
4	Formação de mais de um foco				
Foco = um agregado de 50 ou mais linfócitos e histiócitos.					
				Cada agregado = aproximadamente 50 células (linfócitos, plasmócitos ou histiócitos).	

Apêndice A: INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE INTRA E INTEROBSERVADORES DOS LAUDOS ANATOMOPATOLÓGICOS DAS GLÂNDULAS SALIVARES MENORES

Nº da lâmina:

Cortes histológicos exibem glândulas salivares menores com as seguintes características:

- 1- Área total da amostra glandular (Adequação do material): _____ mm²
- 2- Número de focos observados: _____
- 3- Escore focal: _____ (Nº de focos/Área totalX4)
- 4- Grau de inflamação:
- 5- Outros achados histopatológicos:

-Estruturas Semelhantes a Centros germinativos:	Presentes	Ausentes
-Lesões linfoepiteliais:	Presentes	Ausentes
-Atrofia acinar:	Ausentes	Discreta Moderada Acentuada
-Dilatação acinar:	Ausentes	Discreta Moderada Acentuada
-Dilatação ductal:	Ausentes	Discreta Moderada Acentuada
-Fibrose:	Ausentes	Discreta Moderada Acentuada
-Infiltração adiposa:	Ausentes	Discreta Moderada Acentuada

CONCLUSÃO:

-GLÂNDULAS SALIVARES MENORES SEM ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS RELEVANTES

-SIALOADENITE CRÔNICA DISCRETA E INESPECÍFICA

-SIALODENITE LINFOCÍTICA FOCAL (ALTERAÇÕES CONSISTENTE COM AS OBSERVADAS NA DOENÇA DE SJÖGREN)

-MISCELÂNEA

Apêndice B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: Estudo longitudinal das variáveis clínicas, laboratoriais, imaginológicas, histológicas, de outros exames complementares, terapêuticas e prognósticas de pacientes com síndrome de Sjögren.

Coordenador: Profa. Dra. Débora Cerqueira Calderaro

Pesquisadores: Profa. Gilda Aparecida Ferreira, Dr. Leandro Augusto Tanure, Dr. Gustavo Gomes Resende, Dra. Clarice Garcia Valadares Xavier.

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP): Av. Antônio Carlos, 6627 - Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005 - CEP: 31.270-901 - BH/MG - Tel: (31) 3409-4592 - Fax: e-mail: prpq@coep.ufmg.br

Prezado(a) Sr./Sra.,

Você está sendo convidado(a) a participar desse estudo porque apresenta uma doença reumática chamada síndrome de Sjögren.

O seu reumatismo é uma doença inflamatória, na qual ocorre um descontrole do processo de inflamação e, conseqüentemente, agressão ao seu próprio organismo. Sua doença tem períodos em que ela pode estar melhor (inativa), intercalados com períodos em que ela pode estar pior e provocar maiores alterações em diversas partes de seu corpo, principalmente dor na coluna e nas articulações (atividade).

O acompanhamento da sua doença inclui a realização periódica de exames de sangue, visitas regulares ao reumatologista e a realização de exames de imagem, como radiografias ou tomografia, exames histológicas (como biópsias) e outros, quando indicados.

A avaliação da presença de atividade depende dos exames de sangue e da avaliação clínica do seu médico reumatologista, e hoje há uma série de questionários que permitem uma melhor análise tanto da atividade, quanto da presença de lesões crônicas (dano) por sua doença reumática.

Desejamos estudar nos pacientes que, como você, apresentam síndrome de Sjögren e fazem seu tratamento em serviço de Reumatologia de hospitais terciários, as características da sua doença reumática e a presença de atividade, danos, o impacto da doença em sua vida e a ocorrência de alterações clínicas, laboratoriais e em exames de imagem ou biópsias que poderiam se relacionar à evolução da síndrome de Sjögren.

Para realizar este estudo, você, em dia de consulta regular para o tratamento e acompanhamento do seu reumatismo, será convidado a participar dele. Se você concordar em participar, será realizada uma consulta usual com médico reumatologista, que incluirá seu exame clínico, conferência dos exames laboratoriais e radiográficos de seguimento usual e aplicação de questionários para avaliação de atividade da doença, como você está se sentindo por sua doença ou a presença de danos associados à sua doença. Serão ainda registradas as características do seu tratamento e a presença de outras doenças (comorbidades). Os resultados dos exames de sangue que serão usados na pesquisa são os mesmos que você faz rotineiramente para o acompanhamento do seu reumatismo. Os riscos associados à punção da veia para coleta do sangue são raros e leves e incluem dorimento, hematoma ou infecção no local da punção. Eles são reduzidos através do uso de técnica correta e de coleta realizada por colhedor experiente no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG. As radiografias e os exames de tomografia apresentam risco associado à exposição à radiação, no entanto, a dose utilizada é a menor possível para produzir imagens de boa qualidade. Além disto, apenas os exames deste tipo que fazem parte da rotina de acompanhamento dos pacientes com síndrome de Sjögren serão avaliados na presente pesquisa. Os demais exames que serão registrados nessa pesquisa, como biópsia de glândulas salivares, espirometria pulmonar (exame que avalia a função do pulmão), ecocardiograma (do coração), entre outros, apresentam riscos mínimos, associados a dor ou desconforto pela biópsia, cansaço ou dificuldade de realizar o exame de função do pulmão e o tempo necessário à realização do ecocardiograma, mas serão indicados conforme seu médico assistente julgar necessários e seus riscos serão explicados durante sua consulta.

Se você realizou biópsia de glândulas salivares no lábio, seu exame será revisto por dois patologistas diferentes, para reavaliação dos achados da mesma.

Seu tratamento sofrerá alterações apenas se necessário, conforme presença de atividade da doença e julgamento clínico de seu médico.

Os resultados do estudo serão divulgados através de apresentação em congressos ou publicação em revistas médicas e sua identidade não será divulgada de forma alguma.

Não será cobrado nem oferecido nenhum valor em troca de sua participação.

A principal desvantagem de participar do estudo refere-se à necessidade de um

pouco mais de tempo durante a consulta para realização dos questionários.

É importante que você entenda que sua participação no estudo é totalmente voluntária e, em qualquer momento, você pode solicitar que seja retirado dele. Se você não concordar em participar dessa pesquisa, ou optar por deixá-la, não haverá nenhum prejuízo ao seu tratamento e acompanhamento, que continuarão normalmente.

Outra informação importante é que você poderá pedir indenização em caso de prejuízo (sequela) relacionado com a pesquisa.

O Termo de Consentimento seguirá em duas vias, sendo que uma via será entregue a você (participante da pesquisa).

Em caso de dúvidas, entrar em contato com os doutores Débora Cerqueira Calderaro, Gildal Leandro, Gustavo ou Clarice: Ambulatório Bias Fortes no endereço: Alameda Álvaro Celso, 179/2o andar, Santa Efigênia, BH, MG; fone: (31) 3307-9532.

Declaro que li e entendi o estudo acima descrito e, de livre e espontânea vontade, concordei em participar dele. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Entendo que não receberei compensação monetária por minha participação neste estudo.

Belo Horizonte, __ de _____ de ____.

Nome do paciente:

Assinatura do paciente:

Nome da testemunha:

Assinatura da testemunha:

Nome do pesquisador:

Assinatura do pesquisador:
