



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:  
CLÍNICA MÉDICA

JOÃO CARLOS TAVARES BRENIOL

FREQÜÊNCIA DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES E SUAS ASSOCIAÇÕES  
COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS, NUMA POPULAÇÃO DE  
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DO RIO GRANDE DO SUL

*Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul. Curso de Pós-Graduação em Medicina:  
Clínica Médica*

ORIENTADOR: Prof. Dr. Mario Rigatto  
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Alexandre Gabriel Jr.

PORTO ALEGRE  
1994

## FICHA CATALOGRAFICA

Preparada pela Biblioteca da

Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

B838f Brenol, João Carlos Tavares

Frequência dos auto-anticorpos antinucleares e suas associações com manifestações clínico-laboratoriais, numa população de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico do Rio Grande do Sul. / João Carlos Tavares Brenol; Mario Rigatto, orient.; Alexandre Gabriel Junior, co-orient. - Porto Alegre: UFRGS, 1994.

134f.; 28 cm.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica, 1994.

Descritores: 1. Auto-anticorpos. 2. Lúpus eritematoso sistêmico. 3. Auto-anticorpos no lúpus eritematoso sistêmico.

A minha esposa,

*Marli Viegas Brenol, e*

aos meus filhos,

*Claiton e Marlise,*

pelo afeto e

estímulo para a

realização de mais

esta etapa do meu

ideal de vida.

Aos meus pais,

*Emilio Carlos Renk Brenol e*

*Eugênia Tavares Brenol,*

pelo aprendizado dos verdadeiros

valores da vida.

*"in memoriam"*

## AGRADECIMENTOS

- Aos meus amigos e colegas do Serviço de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela valiosa cooperação, durante todo o tempo de realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Mario Rigatto, pela acolhida como orientador que aceitou a idéia da realização deste trabalho, estimulou a sua execução e pelo prestígio que seu nome representa nas áreas de ensino e pesquisa em nível nacional e internacional.
- Ao Prof. Dr. Alexandre Gabriel Jr., pela orientação brilhante e segura como co-orientador, cuja demonstração de amizade e apoio científico e material foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.
- Aos funcionários da Unidade de Imunologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
- As bioquímicas Maria Clara Medina Correia e Marisa Chesky, pela dedicação e eficiência na realização e padronização dos métodos empregados.
- A bióloga Maria Cristina de Martino, do Centro Imuno-Reumatológico de São Paulo - CIRESP, pela competência e presteza no processamento dos soros utilizados nesta pesquisa.



- A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - FAPERGS
- que proporcionou bolsa de iniciação científica ao Ddo. Ubirajara Canabarro cujo trabalho e dedicação foram de grande valia para este estudo.
  
- A Dra. Tatiana Tourinho, pela gentileza e eficiência na revisão dos textos e competente colaboração nas atividades do Serviço de Reumatologia do HCPA.
  
- Aos amigos e colegas Roberto Eichenberg, Solange Toffoli, Ana Maria Collares e André Sessegolo, pela compreensão e estímulo.
  
- A Dra. Mary Clarisse Buseti, pelo auxílio metodológico na análise dos dados.

## ÍNDICE

1 - ABREVIACÕES.....	02
2 - SUMÁRIO/SUMMARY.....	06
3 - INTRODUÇÃO.....	11
4 - OBJETIVOS.....	37
5 - MATERIAL E MÉTODOS.....	39
6 - RESULTADOS.....	50
7 - DISCUSSÃO.....	81
8 - CONCLUSÕES.....	97
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
ANEXO.....	134

## **1 - ABREVIACÕES**

Ac	≡	Anticorpo
ACR	≡	Colégio Americano de Reumatologia (substituiu a ARA)
Ag	≡	Antígeno
AR	≡	Artrite reumatóide
ARA	≡	Associação Americana de Reumatologia
BSE	≡	Extrato de baço
C2	≡	Fração do complemento
C3	≡	Fração do complemento
C4	≡	Fração do complemento
CIRESP	≡	Centro Imuno-Reumatológico de São Paulo
DE 52	≡	Especificação de gel
DMTC	≡	Doença mista do tecido conjuntivo
DNA	≡	Ácido desoxiribonucleico
DNAds	≡	Ácido desoxiribonucleico de dupla hélice
DNAn	≡	Ácido desoxiribonucleico nativo
DNAss	≡	Ácido desoxiribonucleico de hélice simples
DTT	≡	Ditionotreitól
ELISA	≡	Enzima imuno ensaio
KNA	≡	Antígeno nuclear extraível
FAN	≡	Fatores antinucleares
FR	≡	Fenômeno de Raynaud
Ha	≡	Iniciais do nome do paciente. Antígeno encontrado em pacientes com LES e SS, imunologicamente idêntico ao La
HCPA	≡	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HEp-2	≡	Células epiteliais humanas

HLA	≡	Antígenos leucocitários humanos
HLA-DR	≡	Antígeno de histocompatibilidade do loco DR (D Relacionado)
IgA	≡	Imunoglobulina A
IgG	≡	Imunoglobulina G
Jo 1	≡	Iniciais do nome do paciente. Antígeno encontrado em pacientes com polimiosite
La	≡	Iniciais do nome do paciente. Antígeno encontrado em pacientes com LES e SS
LDR	≡	Lúpus droga relacionado
LES	≡	Lúpus eritematoso sistêmico
LIT	≡	Meio de cultura para <i>Criethidia luciliae</i>
Ma	≡	Iniciais do nome do paciente. Antígeno associado a um subgrupo de LES grave
Mo	≡	Iniciais do nome do paciente - Antígeno nuclear, imunologicamente idêntico ao nRNP
MEM	≡	Meio de Eagle
nRNP	≡	Ribonucleoproteína nuclear
PBS	≡	Solução salina tamponada
PMSF	≡	Fenilmetilsulfonilfluoreto
RANA	≡	Antígeno nuclear associado a artrite reumatóide
RAP	≡	Precipitina da artrite reumatóide. Antígeno idêntico ao RANA
RNA	≡	Ácido ribonucleico
RNP	≡	Ribonucleoproteína
Ro	≡	Iniciais do nome do paciente. Antígeno associado ao LES e SS
Scl70	≡	Antígeno da esclerose sistêmica

- SJD     ≡   Síndrome de Sjögren antígeno D
- SjT     ≡   Síndrome de Sjögren antígeno T
- Sm     ≡   Iniciais do nome do paciente. Antígeno associado ao LES
- SS     ≡   Síndrome de Sjögren
- SS-A   ≡   Síndrome de Sjögren - antígeno A. Idêntico ao Ro
- SS-B   ≡   Síndrome de Sjögren - antígeno B. Idêntico ao La
- SS-C   ≡   Síndrome de Sjögren - antígeno C associado a AR. Idêntico ao  
RANA
- U1 RNP ≡   Ribonucleoproteína rica em uridina. Antígeno associado à DMTC e  
ao LES



**2 - SUMÁRIO/SUMMARY**

Com o objetivo de determinar a freqüência dos auto-anticorpos antinucleares e suas associações com manifestações clínico-laboratoriais e entre si, no Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), foi elaborado o presente estudo numa população de 120 pacientes do Rio Grande do Sul.

A freqüência da positividade dos anticorpos antinucleares, pesquisados no soros dos 120 pacientes com LES, foi a seguinte: 117 (97,5%) FAN; 54 (45%) anti-DNA; 29 (24,2%) anti-Sm; 41 (34,2%) anti-U1 RNP; 41 (34,2%) anti-Ro/SS-A; e 31 (25,8%) anti-La/SS-B.

A comparação de grupos de pacientes caracterizados pela presença ou ausência de determinada expressão clínica e/ou laboratorial e "com e sem" a positividade dos auto-anticorpos pesquisados, levou às seguintes conclusões: todos os auto-anticorpos foram mais freqüentes nos pacientes lúpicos de raça negra, embora sem significância estatística; a presença do Lúpus Discóide associou-se a uma maior freqüência do anticorpo anti-Ro/SS-A, embora estatisticamente não significante; os pacientes com serosite tiveram marcante associação com o anticorpo anti-DNA<sub>n</sub> ( $p < 0,00006$ ) e associação menos expressiva com o anticorpo anti-Ro/SS-A ( $p < 0,02$ ); os pacientes com alteração renal tiveram associação significativa com o anti-DNA<sub>n</sub> ( $p < 0,004$ ) e uma maior freqüência dos anticorpos anti-Sm, anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B, embora sem significância estatística; os pacientes com nefrite tipo IV da OMS tiveram associação significativa com o anti-DNA<sub>n</sub> ( $p < 0,0001$ ); a maior freqüência

do anticorpo anti-Ro/SS-A nos pacientes com nefrite tipo IV da OMS, não foi estatisticamente significante; a maior freqüência do anticorpo anti-U1 RNP, no grupo de pacientes sem alteração renal, não obteve significância estatística; os pacientes com alterações neurológicas tiveram uma associação significante com o anticorpo anti-DNAn ( $p < 0,001$ ); os pacientes com alterações hematológicas mostraram uma maior freqüência do anticorpo anti-DNAn, embora sem significância estatística; os pacientes com alopecia tiveram significante associação com o anticorpo anti-Ro/SS-A ( $p < 0,003$ ); os pacientes com fenômeno de Raynaud apresentaram significante associação com o anticorpo anti-U1 RNP; os pacientes com síndrome *sicca* não mostraram associação, estatisticamente significante, com os auto-anticorpos pesquisados.

Quando se comparou a relação dos auto-anticorpos entre si, foram destacadas as seguintes associações: FAN padrão periférico com o anti-DNAn ( $p < 0,0002$ ); FAN padrão salpicado com o anti-U1 RNP ( $p < 0,003$ ); anti-La/SS-B com o anti-Ro/SS-A ( $p < 0,000001$ ); anti-Sm com o anti-U1 RNP ( $p < 0,000001$ ).

A análise multivariada confirmou a maioria dos resultados obtidos na análise prévia, exceto as seguintes prováveis associações: ausência de serosites e FAN padrão salpicado; ausência de alterações neurológicas e anti-Sm; e ausência de úlceras orais e anti-La/SSB.

In order to determine the frequency of antinuclear autoantibodies, their relationships between themselves and with different clinical and laboratory features, 120 patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE) from the state of Rio Grande do Sul were studied.

The frequency of positive antinuclear antibodies tested in the serum of 120 SLE patients were as follows: ANA 117 (97.5%), anti-DNAs 54 (45.0%), anti-Sm 29 (24.2%), anti-U1 RNP 41 (34.2%), anti-Ro/SS-A 41 (34.2%) and anti-La/SS-B 31 (25.8%).

When the patients were grouped according to the presence or not of certain clinical and laboratory features and studied for the positivity of antibodies, it could be demonstrated that: black SLE patients had a higher frequency of positive autoantibodies which was not statistically significant; a significant association between absence of malar rash and anti-DNAs antibodies could be demonstrated; discoid lupus was associated to a higher frequency of anti-Ro/SS-A antibodies, which was not significant; serositis had a markedly significant association with anti-DNAs antibodies ( $p < 0.000001$ ) and less intense association with anti-Ro/SS-A antibodies ( $p < 0.02$ ); renal abnormalities had a significant association with anti-DNAs antibodies ( $p < 0.004$ ); even though not significant, renal abnormalities had a higher frequency of positive anti-Sm, anti-Ro/SS-A and anti-La/SS-B antibodies; type IV nephritis (OMS) had a significant association with anti-DNAs antibodies ( $p < 0.0001$ ); the increased frequency of positive anti-Ro/SS-A antibodies in patients with type IV nephritis was



not statistically significant; the increased frequency of anti-U1 RNP antibodies in the group of patients with renal abnormalities had no statistical significance; neurological abnormalities were significantly associated with positive anti-DNAs antibodies ( $p < 0.001$ ); hematological abnormalities were associated to a higher but not significant frequency of anti-DNAs antibodies; alopecia was significantly associated with anti-Ro/SS-A antibodies ( $p < 0.003$ ); Raynaud's phenomenon was significantly associated to positive anti-U1 RNP antibodies; sicca syndrome was not associated to any of the autoantibodies studied.

When the relationship of the different antibodies among themselves was studied, the following associations were noticed: peripheral pattern ANA with anti-DNAs ( $p < 0.0002$ ); speckled pattern ANA with anti-U1 RNP ( $p < 0.003$ ); anti-La/SS-B with anti-Ro/SS-A ( $p < 0.000001$ ); anti-Sm with anti-U1 RNP ( $p < 0.000001$ ).

The multivariate analysis confirmed the majority of the results obtained in the previous analysis, with the exception of the following associations: absence of serositis and speckled pattern ANA; absence of neurologic abnormalities and anti-Sm; absence of oral ulcers and anti-La/SS-B.

### **3 - INTRODUÇÃO**



O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica, de etiologia desconhecida, caracterizada basicamente pela arterite de vasos de pequeno e médio calibres, decorrente de anormalidades imunológicas. De evolução variável, pode ter curso fulminante ou indolente, com recorrências que assumem síndromes e subsíndromes distintas a cada novo surto e remissões relacionadas a variações individuais, manejo terapêutico e outros fatores desconhecidos (ROTHFIELD, 1985; WALLACE & DUBOIS, 1987; BRENOL, 1989). Trata-se, na verdade, de uma doença que "pode virtualmente apresentar qualquer manifestação clínica" (DECKER, 1975), com uma complexidade que apaixona o médico, mas também o desnorreia, principalmente quando se trata de estabelecer condutas terapêuticas ou mesmo quando o problema é o diagnóstico diferencial (BRENOL, 1989).

O diagnóstico do LES está associado com um grande número de auto-anticorpos. A presença ou ausência de anticorpos específicos influenciam a certeza com que este diagnóstico é feito (TAN, 1985). A presença dos auto-anticorpos e os depósitos de imunoglobulinas são as fortes evidências de que o lúpus é uma doença auto-imune (YUNIS, 1983; PEMBREY, 1987). Existem indícios circunstanciais de que os auto-anticorpos são responsáveis por específicas manifestações clínicas da doença (ISENBERG et al., 1984; HARLEY & GAITHER, 1988). No LES, a produção de anticorpos decorre de distúrbios imunológicos, com a participação de fatores genéticos e ambientais (KOOPTMAN, 1985; NEPOM & NEPOM, 1993). Entre eles, devem ser destacados a hiperatividade das células T, defeitos intrínsecos das células

B, bem como anormalidades nas células *natural killer* e macrófagos. Provavelmente, participam da patogênese da doença uma variedade de mediadores solúveis da imunidade, incluindo citocinas e prostaglandinas (ALPERT et al., 1987; QUISMORIO Jr., 1987). Os linfócitos T exercem um importante papel na regulação da resposta imune nos seres humanos. Eles modulam a produção de anticorpos pelas células B e a ação de outros tipos de células, como as células T citotóxicas e as células *natural killer*. Em resposta aos estímulos imunes, os linfócitos T atuam no sistema através de sinais. Estes diferentes sinais são produzidos em resposta aos estímulos imunes emitidos por subpopulações de células T que podem ser distinguidas entre si pelas diferentes expressões dos antígenos de superfície celular. Há evidências de que defeitos individuais em subpopulações de células T podem alterar a imunorregulação, exercendo um papel central na patogênese das doenças auto-imunes (SMOLEN, et al. 1982; VAN DER WOUDE et al., 1984; KIMBERLY, 1987; BOCKENSTEDT et al., 1987; CHIORAZZI, 1987; CRUICKSHANG, 1987; FYE & SACK, 1987; HORWITZ, 1987; KLINAM & STEINBERG, 1987; CHRISTIAN, 1987; CRONIN, 1988; STEINBERG & KLINMAN, 1988).

Um marcante aumento da incidência do LES foi registrado desde a clássica descrição da célula LE por HARGRAVES, em 1948. O LES, até então considerado uma raridade médica, transformou-se numa enfermidade comumente vista em enfermarias gerais de hospitais de ensino (DUBOIS & WALLACE, 1987; SMITH & CYR, 1988). A incidência de doenças do tecido conjuntivo, através do número de admissões de pacientes no Hospital Medical Center, em Los Angeles, evidenciou o crescente aumento do número de casos de LES por ano

desde 1928: 1928, nenhum caso; 1938, 4 casos; 1948, 9 casos; 1958, 36 casos; 1968, 97 casos; 1978, 149 casos; 1982, 211 casos (DUBOIS & WALLACE, 1987).

O LES tem uma distribuição universal. Conflitantes estudos têm documentado aparente aumento da incidência e prevalência entre certas raças ou regiões geográficas. Muitos grupos raciais têm sido apontados como possuidores de uma maior prevalência e/ou incidência do LES quando comparados com os brancos. Estes estudos incluem negros americanos; portorriquenhos na cidade de Nova Iorque; orientais incluindo chineses, filipinos e japoneses; e certas tribos de índios norte-americanos - Arapahoe, Crow e Sioux (KURLAND et al., 1969; HOCHBERG & ARNETT, 1983; MEDSGER Jr & MASI, 1985; WALLACE & DUBOIS, 1987; FESSEL, 1988). Apesar dos trabalhos que indicam um aumento da incidência do LES entre negros americanos, a enfermidade é provavelmente rara entre negros africanos (HOCHBERG et al., 1983; FESSEL, 1988). Foram registradas discrepâncias na incidência da doença entre pequenos grupamentos raciais americanos. As estatísticas do Serviço de Saúde dos índios nos Estados Unidos sugere que a incidência anual do LES varia de 5 a 10/100.000 na maioria das tribos e aumenta para 67/100.000 entre os Sioux (WALLACE & DUBOIS, 1987).

Os estudos epidemiológicos apresentam conclusões variáveis com relação à incidência e prevalência da doença. FESSEL (1988) encontrou uma incidência de 7,4/100.000 por ano, numa pesquisa realizada em São Francisco - EUA, de 1965 a 1973. No mesmo estudo, foi encontrada uma prevalência de



1 caso para 1969 habitantes (FESSEL, 1974). KURLAND et al. (1969) em trabalho realizado em Rochester, Minnesota, registraram uma incidência de 2,8/100.000 por ano, no período de 1951 a 1959, e 5,7/100.000 por ano, no período de 1960 a 1967. Registraram, também, a prevalência do LES de 17/100.000, em 1960, e 48/100.000, em 1968. FESSEL (1988) reportou uma prevalência de 50,6/100.000, em julho de 1973, em São Francisco - EUA.

Estudos clínicos têm consistentemente mostrado uma predominância do acometimento das mulheres numa proporção aproximada de 10:1 no LES (WALLACE & DUBOIS, 1987; FESSEL, 1988; BRENNOL 1989). Estudos representativos realizados nos Estados Unidos, entre 1954 a 1981, obtiveram os seguintes resultados: HARVEY (138 casos, em 1954) 78% mulheres e 22% homens; LARSON (200 casos, 1961) 96% mulheres e 4% homens; DUBOIS (520 casos, 1964) 89% mulheres e 11% homens; URMAN (209 casos, em 1977) 92% mulheres e 8% homens; e WALLACE (609 casos, em 1981) 90% mulheres e 10% homens. O LES pode iniciar em qualquer faixa etária, sendo a maior incidência nas mulheres entre 15 e 30 anos (WALLACE & DUBOIS, 1987).

A heterogeneidade das manifestações clínicas, fisiopatológicas e de prognóstico do LES pode não ser apenas o reflexo de variações individuais, mas também de diferentes estímulos etiológicos (ZVAIFLER & WOODS, 1985; CHRISTIAN, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987; TALAL, 1987). O LES permanece uma doença caracterizada como de etiologia desconhecida, porque restam ainda muitas dúvidas sobre o estímulo para o desencadeamento das reações imunológicas. É necessário um melhor conhecimento das relações

entre os distúrbios da imunidade - humorais e celulares - com a inflamação e a injúria tecidual. Ainda não foram determinados os fatores que interferem na evolução intermitente da enfermidade, caracterizada por períodos de exacerbação e remissão (REEVES & LAHITA, 1987). Não se conhece como os fatores genéticos interagem com as variáveis ambientais, para participarem da expressão da doença (FRIES, 1977; CRISTIAN, 1987; WILSON, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987; TALAL, 1987; FESSKL, 1988).

Um grande número de teorias tenta explicar os fenômenos relacionados à etiologia do LES. São destacados fatores relacionados ao sexo, fatores genéticos, radiação ultravioleta, drogas e produtos químicos, anormalidades imunológicas e infecção (FRIES, 1977; REINERSTEIN, 1982; CHRISTIAN, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987; TALAL, 1987; WOODS, 1993).

A marcante preponderância da doença nas mulheres, sugere maior participação hormonal do que genética, mas em certos modelos animais como no camundongo BXSD há uma predileção por machos (ANDREWS et al., 1978; HAHN, 1987). Neste modelo murino do LES, a influência do cromossoma Y é claramente independente do estado hormonal (CRISTIAN, 1987). Existem poucas pesquisas sobre o perfil hormonal do paciente lúpico. Há registro de aumento de 16 hidroesterona tanto em homens como em mulheres com LES, bem como em parentes de primeiro grau (LAHITA et al., 1982; LAHITA, 1987). A possível ação dos estrógenos na etiopatogenia do LES pode ser referendada, em parte, pelos achados da coexistência do lúpus com a síndrome de Klinefelter (XXY). A participação genética na etiologia do LES fica bem

caracterizada pelos inúmeros estudos familiares (SATO, 1986; CHRISTIAN, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987; FESSEL, 1988), a significativa relação com os marcadores HLA do Complexo Maior de Histocompatibilidade, estudos em gêmeos, estudos em diferentes grupos étnicos e os resultados dos cruzamentos experimentais entre os camundongos NZB e NZW que mimetizam a expressão do LES humano (KURLAND, 1969; HOCHBERG & ARNETT, 1983; STEINBERG et al., 1981 e 1984; DUBOIS & WALLACE, 1987; FESSEL, 1987). Os relatos da associação do LES com defeitos hereditários da imunidade é outro argumento em favor da participação genética na etiopatogenia da doença (GOLDSTEIN & ARNETT, 1987; SCHIFENBAUER & SCHWARTZ, 1987; FESSEL, 1988; SOLINGER, 1987).

É evidente a participação da radiação ultravioleta (UV) no desencadeamento da expressão clínica e imunopatológica do LES (CRISTIAN, 1987; TALAL, 1987; CALLEN, 1988; STEINBERG & KLINMAN, 1988). Alguns pacientes apresentam exacerbação da doença após exposição ao sol. Embora o mecanismo da participação da radiação ultravioleta no LES seja desconhecido, há experimentos evidenciando foto-desnaturação do DNA, alterações da microvasculatura favorecendo a deposição de imunocomplexos, ativação de infecção viral latente e alterações no sistema imunorregulador (CHRISTIAN, 1987). Os raios ultravioleta com comprimento de onda entre 280 e 320 nm parecem ser os mais implicados no desencadeamento e agravamento das lesões cutâneas, ou mesmo com um período de agudização da doença sistêmica (IAHITA, 1987). Ambas as radiações UV-A e B podem produzir lesões, embora a associação mais comum seja com a UV-B (KELLEY, 1993).



O lúpus droga-relacionado (LDR) foi descrito pela primeira vez em 1945, associado com a sulfadiazina. Desde aquela época, um grande número de drogas tem sido implicado com esta síndrome e suas características anormalidades laboratoriais. Muitos mecanismos para estes achados têm sido postulados. O espectro clínico do LDR é caracterizado por artrite e poliserosite (SOLINGER, 1988). O LDR é significativamente diferente da doença espontânea, em seus aspectos clínicos e imunológicos, mas é suficientemente similar para enfatizar a hipótese que elementos químicos do nosso meio ambiente exercem um papel semelhante ao das drogas na indução do LES (CHRISTIAN, 1987; SOLINGER, 1988). Inúmeros mecanismos podem estar envolvidos: ativação de latente infecção viral; inibição da biossíntese normal do colágeno; alergia à droga ou metabólitos da droga; alteração da regulação imune; condição de acetilador lento, no caso da hidralazina e procainamida (BATCHELOR et al., 1980; SOLINGER, 1988; CHRISTIAN, 1987). Muitas destas hipóteses têm sido testadas em animais de laboratório, mas nenhuma tem sido capaz de estabelecer definitivamente, ou mesmo apontar com evidência inequívoca, o mecanismo específico do LDR (JOHANSSON et al., 1976; SOLINGER, 1988). Estima-se que 6% a 12,4% dos LES sejam relacionados ao uso de drogas (LEE & CHASE, 1975; FRIES, 1977). Para se admitir que o lúpus seja induzido por droga, dois critérios são necessários: os sinais clínico-laboratoriais devem desaparecer com a retirada da droga e a reintrodução da mesma deve recidivar o quadro. A relação das drogas capazes de induzir ao LES aumenta a cada ano (SOLINGER, 1988).

A participação das infecções virais crônicas na etiopatogenia das doenças auto-imunes, em modelos animais, tem merecido especial destaque na literatura. O grupo de vírus tipo C, que possui a enzima transcriptase reversa, capaz de transferir seu código genético ao genoma da célula infectada, tem sido alvo de muitos estudos (vírus endógeno) (LAHITA, 1987). Os vírus poderiam induzir ao LES, em hospedeiros geneticamente suscetíveis (ZVAIFLER & WOODS, 1985). Embora haja evidências da participação viral na etiologia do LES, não se conseguiu isolar vírus dos pacientes lúpicos. A presença de altos títulos de anticorpos antivirais pode ser uma das expressões da hiperreatividade humoral. O achado de inclusões túbulo-reticulares à microscopia eletrônica, inicialmente referidos como possíveis partículas virais nos tecidos dos pacientes com LES, atualmente é caracterizado como resultante da expressão da lesão tecidual (ZVAIFLER & WOODS, 1985).

O LES é uma doença multissistêmica caracterizada por inumeráveis auto-anticorpos com diferentes especificidades (GOLDSTEIN & ARNETT, 1987). Os auto-anticorpos podem causar manifestações de doença diretamente através da formação e depósitos de complexos imunes, com ativação do complemento e indução a uma resposta inflamatória (ALPERT et al., 1987; CHRISTIAN, 1987; KIMBERLY, 1987; CRONIN, 1988; STEIMBERG & KLINMAN, 1988). A constituição genética influencia a resposta imune, com participação dos gens HLA, gens do complemento e outros gens de imunoglobulinas (CRONIN, 1988). A literatura apresenta um significativo número de relatos sobre a ocorrência familiar do LES. A frequência de LES

entre familiares de primeiro e segundo grau varia de 5 a 10% (WINCHESTER & LAHITA, 1987; ARNETT, 1987; GOLDSTEIN & ARNETT, 1987; FESSEL, 1988). Outras doenças auto-imunes e auto-anticorpos ocorrem com frequência elevada. Acima de 20% de familiares de pacientes lúpicos apresentam auto-anticorpos e/ou hiperglobulinemia (CLELAND et al., 1978; SATO, 1986; GOLDSTEIN & ARNETT, 1987). As evidências indicam que o LES familiar deve ser decorrente de fatores genéticos e/ou ambientais.

Os fatores genéticos na patogênese do LES têm sido evidenciados nos estudos com gêmeos. Os estudos iniciais em gêmeos monozigotos mostraram elevada concordância para LES (69%), enquanto em gêmeos dizigotos foram discordantes (ARNETT et al., 1984; SATO, 1986; ARNETT, 1987; GOLDSTEIN & ARNETT, 1987; FESSEL, 1988). As mais recentes estimativas indicam uma contribuição genética menos marcante (FESSEL, 1988). Num registro multicêntrico, foram estudados 66 pares de gêmeos monozigotos e 44 pares de dizigotos, com um ou mais em cada par tendo LES. Entre os 66 pares monozigotos, somente 15 (23%) foram concordantes para LES, enquanto entre os 44 pares dizigotos, 4 (9%) foram concordantes para LES (FESSEL, 1988). Este registro sugere que fatores ambientais exercem um papel mais significativo na etiologia do que fatores genéticos. No entretanto, a marcante participação genética é enfatizada no relato daqueles raros gêmeos monozigotos que viveram em ambientes diferentes desde a época do nascimento e que desenvolveram a doença. Um par de gêmeos monozigotos russos foram separados aos 16 meses de idade e viveram em ambientes diferentes. Aos 14 anos de idade, desenvolveram LES, com pequena diferença na época de início



da doença (FESSEL, 1988). A concordância para anormalidades sorológicas, assim como anticorpo antinuclear e hiperglobulinemia, é sempre elevada (92%) em gêmeos monozigotos (SATO, 1986; ARNETT, 1987; GOLDSTEIN & ARNETT, 1987).

Muitos estudos têm examinado a associação entre LES e os clássicos marcadores genéticos (RIGBY et al., 1978; ZVAIFLER & WOODS, 1985; LAHITA et al., 1987; DUPOTS & WAIJACK, 1987; FESSEL, 1988; BRENOL, 1989). Cerca de 40% das pessoas com deficiência homozigótica para o componente do complemento C2 têm LES (FESSEL, 1988). Parece haver também uma associação entre LES e deficiência de C3 e C4. Entretanto, C2 e C4 têm uma ligação de desequilíbrio com o gen HLA, tanto que não está claro se a própria deficiência do complemento, o gen HLA, ou outro gen ligado ao HLA é responsável pela associação (SATO, 1986; BRENOL, 1989). É evidente o aumento da frequência do HLA-B8, HLA-DR3 e HLA-DR2 em pacientes com LES (FESSEL, 1988; BRENOL, 1989).

As evidências indicam a importância da participação de fatores genéticos e ambientais no LES. Quando os fatores genéticos estão presentes, os fatores ambientais têm efeito aditivo. Mas na ausência de fatores genéticos conhecidos, parece que os fatores ambientais podem funcionar isoladamente no desencadeamento do LES (FESSEL, 1988).

A etiologia e a fisiopatologia do LES permanecem obscuras em muitos aspectos. Para o desenvolvimento da doença concorrem múltiplos

fatores: genéticos, endócrinos, ambientais, infecciosos e imunológicos (ZVAIFLER & WOODS, 1985; PISETSKY, 1986; TALAL, 1987; CHRISTIAN, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987; LAHITA et al., 1987; BRENOL, 1989; ARNETT & REVEILLE, 1992). O conhecimento da associação dos marcadores HLA - *Human Leukocyte Antigen* - e doenças suscitaram a possibilidade da interrelação genética entre a presença destas moléculas glicoprotéicas da superfície celular e a predisposição ao LES (SCHWARTZ, 1987; NEPOM & NEPOM, 1993). Os estudos internacionais ao tentarem correlacionar o sistema HLA, através da determinação dos locos A, B, e C, com o LES, mostraram resultados conflitantes, embora o HLA-B8 e, com menor expressão, o HLA-A1 tenham sido encontrados com maior frequência na população lúpica em relação aos controles (BELL & MADDISON, 1980; SCHIFFENBAUER & SCHWARTZ, 1987).

Quando as tentativas de associação do LES com os locos A, B e C não obtiveram o sucesso esperado, as atenções voltaram-se para a relação do LES e suas manifestações clínicas com os antígenos das regiões D e DR. As primeiras pesquisas evidenciaram a alta frequência de DR2 e DR3 nas populações lúpicas (CELADA et al., 1980; AHEARN et al., 1982; FIELDER et al., 1983; KACHRU, 1984; SCHIFFENBAUER & SCHWARTZ, 1987; BRENOL, 1989). Estes conhecimentos poderão propiciar ou facilitar o diagnóstico ou mesmo auxiliar no prognóstico dos pacientes lúpicos, à medida que estes marcadores se associem com específicas manifestações clínicas da doença e específicos auto-anticorpos - anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B, anti-Sm, anti-U1 RNP e outros (GOLDSTEIN & ARNETT, 1987; KIMBERLY, 1987; STEINBERG & KLINMAN, 1988; HARLEY & GAITHER, 1988).

Além das possibilidade dos HLA-DR marcarem as populações de risco para desenvolver LES, podem, através deles, ser correlacionados a idade de início da doença, severidade, número de órgãos comprometidos e associação com outros distúrbios auto-imunes (GRIFFING et al., 1980; CATOGGIO et al., 1984; KIMBERLY, 1987; SCHIFFENBAUER & SCHWARTZ, 1987). Os pacientes com LES, idosos e jovens, podem ter diferentes determinantes genéticos da expressão da doença e o lúpus pode ser desencadeado por diferentes mecanismos. Esta hipótese é suportada pela forte associação entre os anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B e o antígeno HLA-DR3. Os anticorpos Ro/SS-A e La/SS-B são freqüentemente encontrados no LES do idoso e sua identificação representa uma ajuda no diagnóstico do lúpus neste grupo etário (CATOGGIO et al., 1984). O método da dupla difusão (OUCHTERLONY, 1958), permitiu a JONES em 1958 encontrar precipitinas no soro de pacientes com síndrome de Sjögren. Esta observação possibilitou a ANDERSON et al (1961 e 1962) identificar os antígenos agora conhecidos como Ro/SS-A e La/SS-B na síndrome de Sjögren e no LES (ALSPAUGH & MADDISON, 1979). Foram identificadas também outras precipitinas lúpicas entre as quais poderiam estar os auto-anticorpos mais tarde reconhecidos como Sm e nRNP (TAN & KUNKELL, 1966).

Certos antígenos HLA parecem mais fortemente associados com a presença de determinados auto-anticorpos do que com a própria doença. Os relatos da associação dos marcadores HLA com anticorpos específicos têm aumentado (HARLEY & GAITHER, 1988). Em particular, o anti-La/SS-B é encontrado com maior freqüência em indivíduos com HLA-B8, DR3, enquanto



anti-U1 RNP é mais comum em indivíduos DR4 (HARLEY & GAITHER, 1988). Um estudo realizado em pacientes lúpicos japoneses evidenciou um significativo aumento de HLA-DQw3 em pacientes com anticorpos anti-U1 RNP (GOLDSTEIN & ARNETT, 1987). Os auto-anticorpos Ro/SS-A e La/SS-B têm mostrado a mais consistente associação com o HLA no LES. BELL & MADDISON (1980) relataram que todos os 15 pacientes brancos com LES que tinham anticorpos anti-Ro/SS-A, eram HLA-DR3, e 81% eram HLA-B8 positivos também. AHEARN et al. (1982) e ALVARELLOS et al. (1983) confirmaram a ligação do anticorpo anti-Ro com o HLA-DR3. HAMILTON et al. (1988) verificaram que pacientes com anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B eram quase sempre HLA-DR3 positivos. O grupo com anti-Ro/SS-A sem anti-La/SS-B tem um significativo excesso de HLA-DR2, mas não DR3. Estes dois grupos tendem a mostrar diferentes quadros clínicos. Os pacientes com ambos os anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B são significativamente mais velhos e têm maior associação com a síndrome de Sjögren. Apresentam lesões de pele similares àquelas vistas no Lúpus Eritematoso Cutâneo Subagudo, sendo infreqüentes o envolvimento renal, a presença do fator reumatóide IgM no soro e hipergamaglobulinemia. O grupo de pacientes lúpicos com o anticorpo anti-Ro/SS-A sem anti-La/SS-B tem o início da doença numa idade mais jovem. Parece que o HLA-DR3 e o HLA-DR2 predispõem significativamente à resposta dos anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B em pacientes com LES, assim como em indivíduos normais. ALVARELLOS et al. (1983) encontraram uma significativa associação entre altos títulos de anticorpos anti-DNAss e anti-DNAds com HLA-DR2. CATOGGIO, L.J. et al. (1984) enfatizaram que os anticorpos anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B, representam um auxílio para o diagnóstico no LES no grupo de pacientes

idosos, já que outros achados laboratoriais assim como o anticorpo anti-DNA estão frequentemente ausentes.

No final da década de 1970, com a associação dos achados sorológicos do LES e técnicas de biologia molecular, passou-se a identificar proteínas que podem ter implicações etiológicas ou imunopatogênicas na expressão clínica da doença (LERNER & STEITZ, 1979; LERNER et al., 1980; ALVARELLOS et al., 1983; GOLDSTEIN & ARNETT, 1987). Os anticorpos dirigidos contra constituintes moleculares normais do núcleo celular são chamados de antinucleares. O reconhecimento dos anticorpos antinucleares teve início com a descrição do fenômeno da célula LE, no soro de pacientes lúpicos (HARGRAVES et al., 1948). Os auto-anticorpos podem ser demonstrados em alguma fase da doença e por uma das inúmeras técnicas aceitas. O teste para a pesquisa dos fatores antinucleares (FAN) por imunofluorescência, descrito por FRIOU em 1957, constitui-se no método mais utilizado para a detecção de auto-anticorpos. Embora sensível, o teste é pouco específico, pois inúmeras outras condições clínicas podem conduzir a resultados positivos (FRIKS, 1977; BELL & MADDISON, 1980; DUBOIS & WALLACE, 1987; KIFFLER, 1987; CRAFT & HARDIN, 1993). Uma das mais importantes contribuições para o entendimento do LES foi o registro dos anticorpos anti-DNA (ROBBINS et al., 1957). O anti-DNA nativo (DNAds ou DNAn) é virtualmente diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistêmico (CRAFT & HARDIN, 1993), enquanto o DNA de hélice simples (DNAss) é considerado não específico e pode ser comumente encontrado em muitas síndromes reumáticas, também é encontrado em pacientes com hepatite e mononucleose (HARLEY &

GAITHER, 1988). O anti-DNA tem sido identificado nos rins de pacientes lúpicos (KOFFLER et al., 1974). O registro se constitui numa forte evidência da participação do complexo DNA/anti-DNA na lesão glomerular e na expressão clínica da doença renal (WINFIELD et. al., 1977). Os complexos imunes DNA/anti-DNA têm sido implicados na patogênese da nefrite lúpica (GOLDSTEIN & ARNETT, 1987; KIMBERLY, 1987; HARLEY & GAITHER, 1988), embora os detalhes do mecanismo de agressão permaneçam obscuros. As teorias mais aceitas são: depósitos de imunocomplexos pré-formados diretamente no glomérulo; formação do complexo DNA/anti-DNA no local; ou a ligação direta do anti-DNA com a membrana basal, através da reação cruzada com elementos da membrana basal (SMEENK, 1993). Para identificação do anticorpo anti-DNA o método mais utilizado é o da imunofluorescência com *Crithidia lucilliae* (AARDEN et al., 1975). Um grande número de auto-anticorpos específicos são conhecidos e outros ainda estão em fase de identificação. Um exemplo é o peptídeo anti-ribossomal P que se relaciona com a psicose lúpica (BONFA, et al., 1987; ELKON et al., 1992), mas num significativo número de casos, a importância clínica ainda é desconhecida. Algumas evidências da importância dos auto-anticorpos na expressão da doença são as seguintes: associação de auto-anticorpos com particular expressão clínica; o achado de depósitos de imunoglobulinas nos tecidos dos pacientes; anticorpos com particular especificidade têm sido encontrados em maiores concentrações nos tecidos afetados; a associação de bloqueio cardíaco congênito completo e dermatite lúpica com auto-anticorpos maternos transportados através da membrana placentária (HARLEY & GAITHER, 1988).



A denominação ENA (Antígeno Nuclear Extraível, por solução salina) foi criada por HOLMAN, em 1965, ao descrever um anticorpo contra um antígeno nuclear não-histona. Alguns autores utilizam a denominação KNA para qualquer antígeno extraível do núcleo, enquanto outros reservam a denominação apenas para os denominados Sm e nRNP. A especificidade Sm - denominação originada das duas primeiras letras do nome do paciente cujo soro possibilitou a primeira indentificação do anticorpo - foi originalmente relatada por TAN & KUNKEL (1966). O anticorpo anti-Sm é uma glicoproteína nuclear ácida, não-histona (WINFIELD et al., 1978). Os anticorpos anti-Sm são específicos para o diagnóstico de LES, sendo encontrados em aproximadamente 15% a 30% dos pacientes (FRITZLER, 1993) e incluídos como um dos critérios da *American Rheumatism Association* (atual *American College of Rheumatology*) para o diagnóstico do LES (TAN, et al., 1982; CRAFT, 1992; CRAFT & HARDIN, 1993). Os anticorpos anti-Sm ocorrem mais frequentemente em pessoas de origem africana e asiática, em comparação com aqueles de origem européia (CRAFT & HARDIN, 1993). Os anticorpos anti-nRNP (ribonucleoproteína nuclear) são parcialmente relacionados ao Sm imunologicamente (SHARP et al., 1976; PETERSSON et al., 1984; REICHLIN & HARLEY, 1988; ASKRO, et al., 1988). Em dupla difusão, eles formam uma linha de identidade parcial com o Sm que é apagada pela ação da ribonuclease. O U1 snRNP é um do numeroso grupo de U snRNPs, incluindo RNAs ricos em uridina (U por ser rico em uridina) e proteínas, todos envolvidos no processamento do RNA mensageiro dentro do núcleo. Três das nove proteínas do U1 snRNP, 70K, A, e C, são os alvos dos anticorpos anti-U1 RNP. O anti-U1 RNP é composto de pelo menos três anticorpos separados, anti-70K, anti-A



e anti-C que podem ocorrer juntos ou isoladamente nos pacientes (PETERSON et al., 1984; SAITTA & KEENE, 1992; CRAFT & HARDIN, 1993). Os anticorpos anti-U1 RNP estão presentes em aproximadamente 30% dos pacientes com LES (FRITZLER, 1993). Estes anticorpos são mais comuns em indivíduos negros do que em brancos (CRAFT & HARDIN, 1993). Os pacientes lúpicos com anti-U1 RNP têm doença suave e são poupados do comprometimento renal, permitindo um prognóstico mais favorável (REICHLIN, M. & MATTIOLI, M., 1972). Esta observação, induziu SHARP et al., em 1972, a sugerir que os pacientes com altos títulos de anticorpo anti-nRNP com a coexistência de características clínicas e laboratoriais de LES, Polimiosite e Esclerose Sistêmica devam ser separados num grupo distinto chamado de Doença Mista do Tecido Conjuntivo (DMTC), o que ainda hoje se constitui numa questão controversa (SHARP et al., 1972 e 1976; HARLEY & GAITHER, 1988). Os anticorpos anti-70K são encontrados em aproximadamente todos os pacientes com DMTC e em 85% dos pacientes com LES (CRAFT, 1992). Em títulos baixos e menor frequência, o anticorpo anti-U1 RNP tem sido encontrado em soros de pacientes com Doença Reumatóide, Esclerose Sistêmica e síndrome de Sjögren (NOTMAN et al., 1975; HAMBURGER et al., 1977; NUNVES & SCHUR, 1983). Quase que simultaneamente, em 1971, foi descrito um anticorpo nuclear encontrado em soro de pacientes com LES que foi denominado Mo (MATTIOLI & REICHLIN, 1971). Em seguida, verificou-se que os antígenos nRNP e Mo eram imunologicamente idênticos (MATTIOLI & REICHLIN, 1974; TAN et al., 1977).

Existem trabalhos evidenciando que todo o nRNP está complexado com Sm, embora o Sm possa se apresentar isoladamente (MATTIOLI & REICHLIN,

1974; TAN, 1982). Mesmo associados, os seus determinantes antigênicos localizam-se em moléculas diferentes. Esta constatação justificaria o fato do Sm ser resistente ao tratamento enzimático com ribonuclease e parcialmente sensível a tripsina, sendo o nRNP muito sensível a ambos; a permanência da antigenicidade do Sm a uma temperatura de 56°C por uma hora, enquanto o nRNP a perde completamente; o Sm é estável num pH que oscila entre 3 e 11, enquanto o nRNP entre 7 e 9. Os estudos com os anticorpos anti-Sm e anti-nRNP, com a utilização de técnicas de biologia molecular, permitiu verificar que o anticorpo anti-nRNP precipitava o U1 RNA, enquanto o anticorpo anti-Sm o U1 e outros 4 RNAs: U2, U4, U5 e U6 (LERNER & STEITZ, 1979; TAN, 1982). Existem ainda controvérsias a respeito dos componentes protéicos dos antígenos Sm e nRNP e os diferentes resultados obtidos nas pesquisas podem ser justificados pelo estado dinâmico de associação e dissociação entre si e com outras moléculas (TAN, 1982).

O anticorpo anti-Ma foi descrito num subgrupo de pacientes com LES grave, caracterizado por erupção cutânea, comprometimento renal e do sistema nervoso, com hipocomplementemia (WINN et al., 1979). É encontrado num pequeno número de pacientes lúpicos.

Em 1961, ANDERSON et al. identificaram 4 sistemas antígeno-anticorpos (Ag-Ac) dois dos quais foram encontrados com maior freqüência em pacientes com síndrome de Sjögren, o anti-SjD e anti-SjT. CLARK et al., em 1969, estudando soros de pacientes lúpicos, identificaram um antígeno, o qual passaram a chamar de Ro. MATTIOLI & REICHLIN, em 1974, descreveram um

anticorpo citoplasmático que reagia com um antígeno protéico RNA, encontrado no soro de pacientes com LES, o qual denominaram La. ALSPAUGH & TAN, em 1975, estudando soros de pacientes com síndrome de Sjögren, encontraram anticorpos que reagiam com antígenos celulares não relacionados à histona, identificando os complexos SS-A, SS-B e SS-C. Em 1977, foi descrito um antígeno nuclear denominado Ha, no soro de pacientes com síndrome de Sjögren e LES, por AKIZUKI et al., que se mostrou idêntico ao SS-B. Dois anos mais tarde, num estudo de colaboração interlaboratorial, ficou demonstrado que os antígenos Ro e SS-A eram idênticos, bem como os antígenos La, SS-B e Ha (ALSPAUGH & MADDISON, 1979). O antígeno que reagia com antígeno SS-C passou a ser associado a Artrite Reumatóide, com ou sem síndrome de Sjögren, e recebeu as denominações de Precipitina da Artrite Reumatóide (RAP) ou Antígeno Nuclear Associado a Artrite Reumatóide (RANA).

Os anticorpos Ro/SS-A são encontrados em aproximadamente 25% a 60% dos pacientes com LES (CLARK et al., 1969; MADDISON, 1982; SESTAK et al., 1987; REICHLIN & HARLEY, 1988; HARLEY et al., 1992; CRAFT & HARDIN, 1993; FRITZLER, 1993). O Ro/SS-A é uma proteína RNA composta de peptídeos com 60.000 daltons, associados com certas pequenas uridinas ricas de RNAs. Há evidência que um polipeptídeo de 52.000 daltons é parte do Ro RNPs. Os pacientes com LES e síndrome de Sjögren produzem anticorpos contra ambos 60-kD e 52-kD formas de Ro (CRAFT & HARDIN, 1993). No homem, existem 4 RNAs que são associados com o peptídeo Ro/SS-A. Este antígeno se pensou ser inicialmente citoplasmático (CLARK et al., 1969), mas os pesquisadores identificaram o Ro/SS-A também no núcleo (HARMON, et al., 1984; GAITHER, et



al., 1987). A presença do Ro/SS-A pode estar associada a muitas expressões clínicas da doença, incluindo nefrite, deficiência de C2 e lúpus cutâneo com fotossensibilidade (MADDISON, 1982). Este anticorpo tem também sido encontrado em mães de crianças com Lúpus Cutâneo Neonatal ou bloqueio cardíaco completo (SCOTT et al., 1983; LANES & WATSON, 1984; CALMES & BARTHOLOMEW, 1985; HARLEY et al., 1985), em 0,1% de pacientes hospitalizados, assim como em parentes de pacientes com doenças auto-imunes (CRAFT & HARDIN, 1993). O papel desta proteína RNA no metabolismo celular não é conhecido. Nem é entendido porque o Ro/SS-A é um antígeno relativamente comum no homem, muito menos quais os fatores determinantes para este auto-anticorpo estar associado, em certos indivíduos, com particular estado de doença ou manifestações clínicas, enquanto outros são assintomáticos (GAITHER et al., 1987). Aproximadamente dois terços dos pacientes chamados lúpicos FAN negativos apresentam anti-Ro/SS-A (MADDISON, 1982). Estes pacientes tendem a ter uma elevada incidência de fotossensibilidade. Os anticorpos anti-Ro são também encontrados em pacientes com Lúpus Cutâneo Subagudo (SONTHEIMER et al., 1982; CALLEN, 1988). As células de cultura de tecidos são substratos mais sensíveis e a maioria dos pacientes lúpicos FAN negativos com positividade da precipitina Ro/SS-A se tornam FAN positivos quando são utilizadas células de tecido cultivado, como substrato. Alguns pacientes com LES podem produzir grandes quantidades de anticorpos específicos que contribuem significativamente para a hipergamaglobulinemia (MADDISON & REICHLIN, 1977). Altos níveis de anti-Ro/SS-A foram encontrados em 13% dos soros de pacientes com gamopatas monoclonais. O anti-Ro pode ser encontrado em pequena percentagem em



pacientes com Artrite Reumatóide, Polimiosite e Esclerose Sistêmica (HARLEY et al., 1992). O anti-Ro é encontrado também em pacientes com Cirrose Biliar Primária (REICHLIN M. & HARLEY, 1988).

O anti-Ro/SS-A associa-se com o fator reumatóide (LIEU et al., 1988; MAMULA et al., 1989). Existem relatos de associação do anti-Ro/SS-A com envolvimento pulmonar e nefrite no lúpus. Quase todas as crianças com bloqueio cardíaco congênito completo são nascidas de mães com anti-Ro/SS-A (SCOTT et al., 1983). Somente uma minoria destas mães tem LES e a maioria é assintomática (WATSON et al., 1984). Estudos *postmortem* em crianças com bloqueio cardíaco congênito completo tem mostrado dano endocárdico e tem levado à especulação de que o bloqueio cardíaco resulta da interferência com o desenvolvimento normal do tecido de condução ou do dano no tecido de condução após ele ter sido normalmente formado. Existem fortes evidências que os anticorpos transmitidos via placentária podem atuar diretamente no tecido cardíaco para produzir bloqueio (LITSEY et al., 1985). O Lúpus Dermatite Neonatal é relacionado com o anticorpo anti-Ro/SS-A. As lesões de pele surgem logo após o nascimento e são fotossensíveis. Assemelham-se às lesões descritas como Lúpus Eritematoso Cutâneo Subagudo que também se associa ao anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B (SONTHEIMER et al., 1982).

Na síndrome de Sjögren (SS), o auto-anticorpo Ro/SS-A tem sido associado com anormalidades hematológicas (anemia, leucopenia e trombocitopenia). Foi registrada a associação do anti-Ro/SSA com

hipergamablogulinemia, aumento da reatividade sorológica em termos de fatores reumatóide e antinuclear, crioglobulinemia e hipocomplementemia. A presença do anticorpo anti-Ro/SS-A define um subtipo de pacientes com síndrome de Sjögren que tem manifestações clínicas sistêmicas incluindo vasculite, anormalidades hematológicas e hiperreatividade sorológica (ANDERSON et al., 1961 e 1962; ALEXANDER et al., 1983). Mais de 95% dos pacientes com síndrome de Sjögren podem ter anti-Ro/SS-A, enquanto 85% ou mais podem ter anti-La/SS-B (HARLEY & GAITHER, 1988).

Com a utilização de técnicas sensíveis, foi possível detectar a presença de baixos níveis de anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B em indivíduos normais, podendo ser um indicativo de que os auto-anticorpos ocorrem na doença pela amplificação da resposta imune pré-existente (GAITHER et al., 1987). O anti-Ro/SS-A e o anti-La/SS-B são associados um ao outro como são o anti-Sm e o anti-U1 RNP. Estes últimos, no entanto, não são encontrados em pessoas normais. O anti-Ro/SS-A é uma específica para-proteína, enquanto o anti-U1 RNP e o anti-Sm não parecem ser. Estas diferenças sugerem que podem existir mecanismos diferentes de geração destes auto-anticorpos (HARLEY et al., 1988; St CLAIR, 1992).

Em 1974, foi descrito um outro anticorpo encontrado em soro de pacientes lúpicos que reagia com antígeno protéico RNA citoplasmático, não associado com ribossomo que foi denominado de anti-La (MATTIOLI & REICHLIN 1974). Quase todos os pacientes com precipitinas La/SS-B têm também precipitinas Ro/SS-A. O anti-La/SS-B é um congênere do anti-Ro/SS-A, embora

ambos possam coexistir numa mesma partícula, os antígenos são claramente separados (HARLEY et al., 1988; St CLAIR, 1992). O peptídeo La/SS-B possui 45.000 daltons e se liga a um grande número de pequenos RNAs. O La/SS-B é uma fosfoproteína cuja função celular é desconhecida. O vírus Epstein-Barr, o adenovírus e o vírus da estomatite vesicular produzem pequenos RNAs que se ligam ao peptídeo La/SS-B. Especula-se que esse fenômeno possa ser o responsável pela geração dos auto-anticorpos anti-La/SS-B (HARLEY et al., 1987; St CLAIR, 1992). A maneira como estes auto-antígenos se apresentam para o sistema imune permanece desconhecida. A proteína La pode interagir com o sistema imune de diversas formas: desnaturada, nativa, como uma molécula livre ou na partícula RNP. Nas células vivas, o antígeno La existe no núcleo e no citoplasma onde ele presumivelmente escaparia da atenção do sistema imune. Poderia interagir com o sistema imune nos processos inflamatórios ou na morte celular, ou mesmo na translocação para a superfície celular. Estudos evidenciaram que a radiação ultravioleta induz os queratinócitos a expressar a proteína La na sua superfície. A imunogenicidade da proteína La pode ser conferida pelas suas propriedades estruturais (St CLAIR, 1992).

Na relação clínico-sorológica, a precipitina anti-La foi encontrada no soro de 10% a 15% de pacientes com LES (St CLAIR, 1992; FRITZLER, 1993). Os pacientes lúpicos com anti-Ro, sem anti-La, mostram alta freqüência de sério comprometimento renal (53%) e a presença de anticorpo anti-DNA (77%), enquanto os que apresentam anti-Ro e anti-La têm baixa prevalência de doença renal (9%) e de anti-DNA (30%). A mais alta



freqüência do anti-La foi encontrada em pacientes com lúpus de início tardio e na síndrome de Sjögren secundária, onde há associação com o HLA-DR3. Utilizando-se a técnica de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assays*), 12,5% do soros de pacientes normais apresentavam anticorpos anti-La (HARLEY et al., 1984; St CLAIR, 1992; CRAFT & HARDIN, 1993).

Estudos recentes evidenciam a importância dos anticorpos anti-La como marcadores sorológicos do lúpus neonatal e bloqueio cardíaco congênito (BUYON et al. 1989; BUYON et al., 1993). Houve freqüência menor dos anticorpos contra proteína Ro. Mulheres com LES e anti-La, na ausência de anti-Ro, têm crianças com Lúpus Cutâneo Neonatal ou bloqueio cardíaco congênito. Esse auto-anticorpo pode isoladamente servir como marcador de doença e ser relevante para sua patogênese (BUYON, 1989; St CLAIR, 1992).

Na síndrome de Sjögren (SS), utilizando-se a imunodifusão, a precipitina anti-La tem sido identificada em 23% a 73% dos pacientes (ANDERSON et al., 1961 e 1962; ASPAUGH & MADDISON, 1979; St CLAIR, 1992; FRITZLER, 1993). Na maioria dos estudos, a precipitina anti-La foi mais prevalente nos pacientes com SS primária. Quando utilizada a técnica de ELISA, a presença do anti-La atingiu a 87% dos pacientes com SS (HARLEY & GAITHER, 1988). Nestes estudos, não foram verificadas diferenças entre a SS primária e secundária, mas os pacientes com SS primária apresentavam os mais altos títulos de anti-La. Elevados títulos de anti-La, assim como de anti-Ro, foram registrados nos pacientes com manifestações extraglandulares da SS primária, incluindo: púrpura, leucopenia, linfopenia e



hipergamaglobulinemia. Os níveis de anti-La e anti-Ro apresentaram correlação com os níveis de fator reumatóide IgG e IgA (St CLAIR, 1992).

Em virtude dos auto-anticorpos mostrarem forte correlação com específicas manifestações clínicas do LES; do relevante significado dos achados para o diagnóstico, prognóstico e orientação terapêutica; das evidências da participação de mecanismos genéticos e ambientais na resposta imune; e da ainda pequena experiência em nosso meio; foi proposta a realização do presente estudo prospectivo numa população de pacientes lúpicos do Rio Grande do Sul, procurando relacionar auto-anticorpos específicos com as múltiplas expressões da doença. Na análise dos resultados foi dada ênfase aos auto-anticorpos antinucleares anti-Sm, anti-U1 RNP, anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B.

Embora haja evidências da participação dos auto-anticorpos na expressão clínica do Lúpus Eritematoso Sistêmico, num significativo número de casos, a importância clínica é desconhecida. Há necessidade de um maior número de trabalhos visando obter informações mais precisas da associação das manifestações clínicas do LES com a presença de auto-anticorpos.

#### **4 - OBJETIVOS**

1 - Determinar a freqüência dos auto-anticorpos anti-Sm, anti-U1 RNP, anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B e anti-DNA<sub>n</sub> numa população de pacientes portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico, do Rio Grande do Sul.

2 - Estabelecer possíveis associações entre a presença dos auto-anticorpos e as manifestações clínico-laboratoriais do Lúpus Eritematoso Sistêmico, nos pacientes estudados.

3 - Verificar as relações dos auto-anticorpos estudados, entre si.

## 5 - MATERIAL E MÉTODOS



## 5 - MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 - DELINEAMENTO

Este é um estudo transversal, observacional, controlado, com dados contemporâneos, de uma população composta de pacientes com diagnóstico de LES, tendo como objetivo principal a identificação da freqüência de auto-anticorpos antinucleares, nestes pacientes, e relacioná-la com as manifestações clínico-laboratoriais de LES, presentes nos mesmos.

### 5.2 - CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão ou exclusão de indivíduos no estudo seguem o estabelecido pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) (TAN et. al., 1982) (ver anexo). Além destes critérios, avaliou-se a presença ou não de fenômeno de Raynaud (FR) e de manifestações clínicas compatíveis com a síndrome *sicca* (SS).

### 5.3 - AMOSTRAGEM

A população em estudo se constituiu de todos os casos incidentes e prevalentes de LES que compareceram aos ambulatórios do Serviço de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) ou estiveram internados no HCPA, no período de 01 de abril de 1989 a 31 de março de 1992, e que preencheram os critérios de inclusão previamente definidos.

Para o cálculo do tamanho da amostra foram utilizados os seguintes parâmetros: erro alfa = 5%; diferença entre proporção esperada e proporção encontrada do fator em estudo na população alvo = 8%; proporção esperada do fator em estudo = 30%. O total de indivíduos, assim estimado foi de 120. Foram, portanto, estudados 120 pacientes.

### 5.4 - VARIÁVEIS DO ESTUDO

As variáveis coletadas neste estudo incluem os critérios clínicos e laboratoriais preconizados pelo ACR, para diagnóstico de LES. Foi destacada a identificação dos auto-anticorpos fator antinuclear, anti-DNAn, anti-Sm, anti-U1 RNP, anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B. As provas laboratoriais utilizadas foram hemograma completo, proteinúria de 24 horas, exame do sedimento urinário, pesquisa da célula LE, sorologia para sífilis e dosagem das frações C3 e C4 do complemento.

A identificação dos auto-anticorpos foi realizada no Laboratório de Imunologia do HCPA e no laboratório do Centro Imuno-



- Meio de Cultura para Células HEp - 2:
  - meio de Eagle (MEM) com glutamina
  - soro fetal bovino 5%
  - 100 U de penicilina G cristalina/ml
  - 100 mg de estreptomicina/ml

- Solução de Tripsina:
 

tripsina	0,20 %
EDTA	0,02 %
pH	7,80

#### 5.5.2 - SUBSTANCIAS QUÍMICAS - REAGENTES BIOLÓGICOS - APARELHOS

- Etanol - Merck - São Paulo
- Metanol - Merck - São Paulo
- Acetona - Merck - São Paulo
- Histona - Calbiochem - La Jolla, Califórnia
- HCL - Merck - São Paulo
- Conjugado antiimunoglobulina - Hyland - Califórnia
- Agarose - Sigma type II - St. Lois - Missouri
- Ac. Tânico - Merck - Darmstadt
- Formol - Herzog (37%) - São Paulo
- Azida sódica - Merck - Rio de Janeiro
- Rabbit Thymus Extract - Peel Freeze - Arkansas
- Leite Molico - Nestlé - Estado de São Paulo
- Glutamato de Sódio - Merck - Darmstadt
- Glicina - Merck - Darmstadt
- Tiogluconato de Sódio - Merck - Darmstadt
- Hemina - Becton, Dickinson and Company - Juiz de Fora
- Albumina Bovina - Sigma - St. Lois - Missouri
- Triptose - Merck - Darmstadt
- Infusão de Fígado - Difco - Detroit
- MEM/Karle Basf - W/L Glutamine - KC Biological Inc - Kansas
- Soro de Vitelo - Flow Laboratories - Mc Lean - Virginia
- Microscópio de Luz Ultravioleta - Nikon - type 104 - New York



5.5.3 - *IMPRINT* DE FÍGADO DE CAMUNDONGO - utilizado em lâminas como substrato para imunofluorescência indireta para detecção de FAN. Camundongos foram sacrificados e o fígado retirado cirurgicamente. Pequenos fragmentos, de aproximadamente 5mm, foram cortados e pressionados em lâmina de microscopia. Após secagem, em temperatura ambiente, as lâminas foram conservadas a -20°C, até serem usadas. Imediatamente antes do uso, os *imprints*, assim realizados, foram fixados em solução de acetona por dez minutos em temperatura ambiente.

5.5.4 - *IMPRINT* DE CAMUNDONGO RECONSTITUÍDO COM HISTONA - a técnica utilizada, com algumas modificações, foi anteriormente descrita por TAN et al., em 1976. Sumariamente, os *imprints* acima preparados, não fixados em acetona, foram tratados, por dez minutos, em temperatura ambiente com solução salina tamponada, contendo HCL a 0,1 N. Em seguida, as lâminas foram lavadas em salina tamponada e incubadas com solução de histona purificada a 30 mg/ml, no mesmo tampão, por período de 30 minutos, em temperatura ambiente. Este material foi utilizado nas reações de imunofluorescência indireta.

5.5.5 - CÉLULAS HÉp-2 - utilizadas como substrato para reação de imunofluorescência indireta para detecção de FAN. As células HÉp-2, obtidas originariamente pelo *Center for Disease Control* (Atlanta - USA), foram cultivadas segundo o método de ANGELO (1983). Para crescimento foi utilizado o meio de Eagle (MEM), contendo 5% de soro fetal bovino. O meio de manutenção foi igual ao de crescimento, mas com diminuição do soro fetal

bovino para 2%. Células, com dois a sete dias de cultura, tratadas com solução de tripsina e transferidas para tubos de centrifugação, foram lavadas em solução salina tamponada e ressuspensas em água destilada com 0,1% de albumina bovina, de modo a obter  $5 \times 10^6$  células/mililitro. Esta suspensão foi depositada em lâminas de microscopia, deixadas secar e fixadas em acetona. Este material foi estocado a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até ser usado.

5.5.6 - *CRITHIDIA LUCILIAE* - utilizada como substrato para reação de imunofluorescência para detecção de anti-DNA. Foram cultivadas em meio de cultura apropriado (LIT), com repicagens a cada 10 dias, numa proporção de 1:5. Após 24 horas de incubação a  $28^{\circ}\text{C}$ , o conteúdo do tubo de cultura foi centrifugado, lavado por três vezes com solução salina tamponada e, finalmente, ressuspensa em água destilada contendo 0,1 % de albumina bovina, de modo a obter uma suspensão com aproximadamente  $5 \times 10^6$  protozoários/mililitro. Esta suspensão foi depositada em lâminas de microscopia e deixada secar em temperatura ambiente com posterior fixação em metanol a  $4^{\circ}\text{C}$ . As lâminas foram estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até serem usadas.

5.5.7 - IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA - as reações de imunofluorescência seguiram o padrão já descrito (AARDEN et al., 1975; HOLBOROW et al., 1957; TAN et al., 1976; TAN, 1982). Os soros foram incubados com os seguintes substratos e diluições:

- *imprint* de fígado de camundongo: 1/10; 1/100; 1/500; 1/1000
- *imprint* de fígado de camundongo/histona: 1/10; 1/100
- células HEp-2: 1/20; 1/200
- *Crithidia luciliae*: 1/5; 1/100

As diluições dos soros foram realizadas com solução salina tamponada e incubadas, por 30 minutos, a 37°C em câmara úmida. Em seguida, as lâminas foram lavadas no mesmo tampão e incubadas com conjugado anti-imunoglobulina humana, marcado com isotiocianato de fluoresceína em diluições previamente tituladas com soros padrões, da mesma forma que na primeira fase desta reação. As preparações foram exaustivamente lavadas com solução salina tamponada e montadas com glicerina, tamponadas e submetidas à microscopia de luz ultravioleta.

#### 5.5.8 - IMUNODIFUSÃO (OUCHTERLONY, 1958)

5.2.8.1 - PLACAS DE IMUNODIFUSÃO - agarose na concentração de 0,4 % em solução salina tamponada, contendo azida sódica 0,1%, foi preparada e adicionada a placas de Petri de 9 cm de diâmetro, de modo a obter uma altura de 4mm, onde foram feitos orifícios de 5mm de diâmetro, distantes 6 mm entre si. As placas foram mantidas a 4°C, até serem usadas.



5.5.8.2 - EXTRATOS ANTIGENICOS - dois tipos de extratos antigênicos celulares foram utilizados nestas reações: extrato de timo de coelho e extrato de baço bovino. Timo de coelho liofilizado foi dissolvido em solução salina tamponada, contendo metabissulfito de sódio 0,015M, na concentração de 90 mg/ml e mantido sob agitação magnética em 4°C, por 18 horas. Após este período, o material foi centrifugado e o sobrenadante, após a concentração protéica, mantido aliqotado a -20°C, até ser usado. O extrato de baço bovino foi obtido de baço de boi recém abatido e processado no mesmo dia. Se o processamento não fosse imediato, o baço era colocado em saco plástico e congelado imediatamente com a utilização de gelo seco e, em seguida, conservado a -70°C. O fragmento de baço a ser utilizado era moído, num moedor de carne a 4°C. O material moído era homogeneizado num liquidificador (Virtis) com solução salina tamponada pH 7,2, numa relação 1:1 (peso/volume). Este PBS contém: DTT (Ditionitroto) na concentração de 0,3g/litro de PBS; e PMSF (Fenilmetilsulfonilfluoreto) na concentração de 0,035g/litro de PBS. A homogeneização foi feita a máxima velocidade, por pelo menos 2 minutos, ou até que o homogeneizado ficasse uniforme e, se possível, sem nenhum fragmento em pedaço visível. O homogeneizado era então centrifugado, a 9000 rpm por 1 hora. O sobrenadante era filtrado, através de uma gaze-filtro (Cheesecloth), para remover gordura, e mantido sempre bem gelado (<4°C). O precipitado era desprezado e o material filtrado, misturado com DE 52 pH 9,0, numa relação 4:1 (volume:volume). Logo após, agitado ocasionalmente por 2 horas ou mais, sempre mantido à temperatura <4°C. O BSE DE 52 é centrifugado - sorval 6S-3 - a 3000 rpm, durante 3 minutos, mantido à temperatura <4°C. O sobrenadante era guardado, para



posterior extração de outros antígenos, e o precipitado era lavado com PBS gelado. A lavagem termina quando o sobrenadante fica claro. O BSE DE 52 era então eluído com 0,7M NaCl em PBS. É essencial manter o volume tão mínimo quanto possível. Por exemplo: 200 de BSE DE 52 deve ser eluído com um volume eluente não maior do que 400 ml. O eluente é, então, filtrado, através de um funil de vidro com filtro e de uma pequena coluna 6-25, para remover partículas de BSE DE 52.

5.5.8.3 - IMUNODIFUSÃO EM GEL - os antígenos foram colocados no orifício central, na concentração de 30 mg/ml e os soros nos orifícios periféricos, na diluição de 1/1 a 1/8, intercalados com soros padrões, previamente caracterizados contra protótipos obtidos do *Center for Disease Control*, ou gentilmente cedidos pelo Dr. Eng M. Tan - La Jolla - Califórnia. A incubação se processou em temperatura ambiente por 72 horas, com leituras a cada 24 horas. Os resultados foram anotados e as linhas de precipitação caracterizadas pela identidade com soros padrões.

## 5.6 - LOGÍSTICA

Os pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de LES eram convidados a participar do estudo, sendo esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa. Após o consentimento explícito, o paciente era encaminhado ao pesquisador para preenchimento do protocolo, com dados clínicos e laboratoriais. Posteriormente, recebia um encaminhamento

especial ao laboratório do HCPA, onde era coletada uma amostra de 20 ml de sangue total que era centrifugada e o soro separado em 2 frascos e estocados em *freezer* a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para posterior processamento no laboratório do HCPA e no laboratório do Centro Imuno-Reumatológico de São Paulo (CIRES), visando a identificação dos auto-anticorpos pesquisados.

#### 5.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foram utilizados os programas EPIINFO (CDC - Atlanta) e LE SPHINX (Moscorola J. & Laguarde J. 1991). Foi utilizado o teste do qui quadrado, ou o teste exato de Fischer, para tabelas 2x2 baseadas em pequenos números. Para propósitos de significância estatística, o erro alfa foi fixado em 5%.

Foi, também, utilizada a análise de correspondência (SOUZA, 1991), a qual permitiu o estudo simultâneo de todas as variáveis coletadas. A interpretação desta análise foi feita através da leitura de gráficos, com a finalidade de verificar a proximidade entre os elementos de uma mesma nuvem de pontos, sugerindo uma possível associação entre os mesmos.

## 6 - RESULTADOS

## 6.1 - CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

O grupo de pacientes era constituído por 103 (83,5%) mulheres e 17 (16,5%) homens. Foram registrados 98 (81,7%) brancos, 14 (11,7%) pretos e 8 (6,7%) de outras cores. As idades oscilaram entre 12 e 64 anos ( $33,9 \pm 12,3$  anos) (média aritmética  $\pm$  desvio padrão da média). A idade de início da doença oscilou entre 7 e 60 anos ( $27,3 \pm 11,0$  anos). O tempo de duração da doença variou entre 3 meses e 30 anos ( $6,7 \pm 5,7$  anos). Os dados acima descritos estão incluídos na tabela 1.

Tabela 1 - Características da população estudada

Característica	Nº de pacientes (%)	$\bar{x} \pm DP$
Sexo:		
Masculino	17 (16,5%)	
Feminino	103 (83,5%)	
Cor:		
Branca	98 (81,7%)	
Negra	14 (11,7%)	
Outra	8 (6,6%)	
Idade (em anos)	120 (100%)	$33,9 \pm 12,3$
Idade de início da doença (em anos)	120 (100%)	$27,3 \pm 11,0$
Tempo de duração da doença (em anos)	120 (100%)	$6,70 \pm 5,7$



## 6.2 - FREQUÊNCIA DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES E DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DO LES

A frequência da positividade dos anticorpos antinucleares pesquisados nos soros de 120 pacientes com LES foi a seguinte: 117 (97,5%) FAN; 54 (45%) anti-DNAn; 29 (24,2%) anti-Sm; 41 (34,2%) anti-U1 RNP; 41 (34,2%) anti-Ro/SS-A; e 31 (25,8%) anti-La/SS-B (tabela 1). A frequência dos critérios de classificação do LES estabelecidos pelo ACR, verificada nos 120 pacientes estudados, obedece o que segue: 119 (99,2%) apresentavam artrite; 117 (97,5%), FAN positivo; 111 (92,5%), alterações imunológicas; 107 (89,2%), fotossensibilidade; 99 (82,5%), alterações hematológicas; 74 (61,7%), *rash* malar; 72 (60%), alterações renais; 58 (48,3%), serosite; 58 (48,3%), ulcerações orais e nasais; 21 (17,5%), alterações do sistema nervoso central; e 7 (5,8%), lúpus discóide (Figura 1).

Tabela 2 - Frequência dos auto-anticorpos antinucleares na população estudada

Auto-anticorpo	No de pacientes	Percentual da amostra
Anti-Ro/SS-A	41	34,2%
Anti-La/SS-B	31	25,8%
Anti-Sm	29	24,2%
Anti-U1 RNP	41	34,2%
Anti-DNAn	54	45,0%

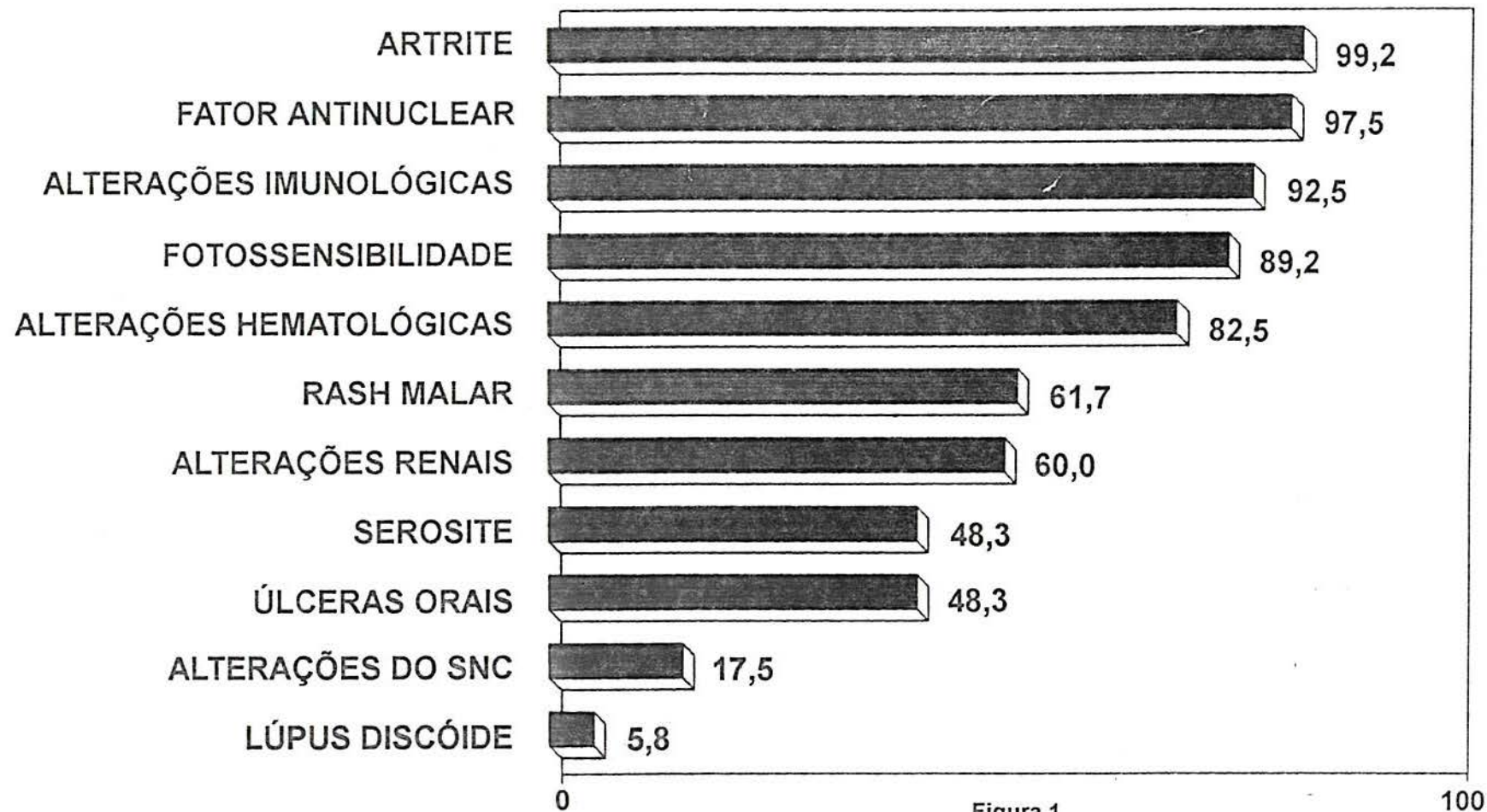


Figura 1  
Frequência (%) dos Critérios de Classificação do LES em 120 pacientes

### 6.3 - RELAÇÃO DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES COM O SEXO E A COR

A amostra era constituída de 103 mulheres (83,5%) e 17 (16,5%) homens. Das 103 mulheres, 33 (32%) tinham anticorpos anti-Ro/SS-A, 29 (28,2%) anti-La/SS-B, 25 (24,3%) anti-Sm, 37 (35,9%) anti-U1 RNP e 45 (43,7%) anti-DNAn. Dos 17 homens, 8 (47,1%) apresentavam anticorpos anti-Ro/SSA, 2 (11,8%) anti-La/SSB, 4 (23,5%) anti-Sm, 4 (23,5%) anti-U1 RNP e 9 (53,1%) anti-DNAn. Estes dados estão descritos na tabela 3, juntamente com os resultados da análise estatística dos mesmos.

Tabela 3 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com o sexo

Auto-anticorpo	Sexo		p*
	Masculino n=17 (16,5%)	Feminino n=103 (83,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 8 (47,1%)	n = 33 (32,0%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 2 (11,8%)	n = 29 (28,2%)	NS
Anti-Sm	n = 4 (23,5%)	n = 25 (24,3%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 4 (23,5%)	n = 37 (35,9%)	NS
Anti-DNAn	n = 9 (53,1%)	n = 45 (43,7%)	NS

\* valor de p correspondente; NS  $\equiv$  não significante

Foram registrados 98 (81,7%) pacientes brancos, 14 (11,7%) negros e 8 (6,7%) mistos. Dos 98 pacientes brancos, 30 (30,6%) possuíam anticorpo anti-Ro/SS-A, 23 (23,5%) anti-La/SS-B, 22 (22,4%) anti-Sm, 32 (32,7%) anti-U1 RNP e 42 (42,0%) anti-DNA. Dos 14 pacientes negros, 7 (50,0%) tinham anticorpo anti-Ro/SS-A, 6 (42,9%) anti-La/SS-B, 5 (35,7%) anti-Sm, 8 (57,1%) anti-U1 RNP e 8 (57,1%) anti-DNA. Todos os auto-anticorpos pesquisados foram mais freqüentes na cor negra, em comparação com os brancos, embora a diferença não tenha alcançado significância estatística. Estes resultados compõem a tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com a cor

Auto-anticorpo	Cor		p*
	Negros n=14 (11,7%)	Branco n=98 (81,7%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 7 (50,0%)	n = 30 (30,6%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 6 (42,9%)	n = 23 (23,5%)	NS
Anti-Sm	n = 5 (35,7%)	n = 22 (22,4%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 8 (57,1%)	n = 32 (32,7%)	NS
Anti-DNA	n = 8 (57,1%)	n = 42 (42,0%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante



6.4 - RELAÇÃO ENTRE OS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES E OS CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DO LES

Do total dos 120 pacientes, 74 (61,7%) apresentavam *rash* malar e 46 (38,3%) não. Dos 74 pacientes que apresentavam *rash* malar, 71 (95,9%) tinham FAN positivo, 35 (47,3%) anticorpos anti-DNAn, 22 (29,7%) anti-Ro/SS-A, 18 (24,3%) anti-La/SS-B, 20 (27,0%) anti-Sm e 28 (37,8%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 46 pacientes sem *rash* malar os quais apresentavam 46 (100%) FAN positivo, 19 (41,5%) anticorpos anti-DNAn, 19 (41,3%) anti-Ro/SS-A, 13 (28,3%) anti-La/SS-B, 9 (19,6%) anti-Sm e 13 (28,3%) anti-U1 RNP. A análise dos dados expostos não evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Estes dados estão dispostos na tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com o *rash* malar

Auto-anticorpo	<i>Rash</i> Malar		p*
	Presente n=74 (61,7%)	Ausente n=46 (38,3%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 22 (29,7%)	n = 19 (41,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 18 (24,3%)	n = 13 (28,3%)	NS
Anti-Sm	n = 20 (27,0%)	n = 9 (19,6%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 28 (37,8%)	n = 13 (28,3%)	NS
Anti-DNAn	n = 35 (47,3%)	n = 19 (41,5%)	NS

\* valor de p correspondente; NS  $\equiv$  não significante

Entre os 120 pacientes da amostra, 7 (5,8%) apresentavam lúpus discóide e 113 (94,2%) não. Dos 7 pacientes com lúpus discóide, 7 (100%) tinham FAN positivo, 3 (42,9%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 3 (42,9%) anti-Ro/SS-A, 1 (14,3%) anti-La/SS-B, 1 (14,3%) anti-Sm e 1 (14,3%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 113 sem lúpus discóide nos quais 110 (97,3%) apresentavam FAN positivo, 51 (45,1%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 38 (33,6%) anti-Ro/SS-A, 30 (26,5%) anti-La/SS-B, 28 (24,8%) anti-Sm e 40 (35,4%) anti-U1 RNP. Os pacientes com lúpus discóide apresentaram uma maior frequência do anticorpo anti-Ro/SS-A, embora a diferença não tenha alcançado significância estatística. Cabe salientar que o número de pacientes com lúpus discóide é relativamente pequeno. Estes dados estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com o lúpus discóide

Auto-anticorpo	Lúpus Discóide		p*
	Presente n=7 (5,8%)	Ausente n=113 (94,2%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 3 (42,9%)	n = 38 (33,6%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 1 (14,3%)	n = 30 (26,5%)	NS
Anti-Sm	n = 1 (14,3%)	n = 28 (24,8%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 1 (14,3%)	n = 40 (35,4%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 3 (42,9%)	n = 51 (45,1%)	NS

\* valor de p correspondente; NS ≡ não significante

A fotossensibilidade estava presente em 107 (89,2%) pacientes, sendo que apenas 13 (10,8%) não apresentavam este critério. Dos 107 pacientes com fotossensibilidade, 104 (97,2%) tinham FAN positivo, 45 (42,8%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 35 (32,7%) anti-Ro/SS-A, 26 (24,3%) anti-La/SS-B, 25 (23,4%) anti-Sm e 36 (33,6%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 13 sem fotossensibilidade que apresentavam 13 (100%) FAN positivo, 9 (69,2) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 6 (46,2%) anti-Ro/SS-A, 5 (38,5%) anti-La/SS-B, 4 (30,8%) anti-Sm e 5 (38,5%) anti-U1 RNP. Não foram registradas diferenças estatisticamente significantes entre estes grupos. Estes dados estão dispostos na tabela 7.

Tabela 7 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com a fotossensibilidade

Auto-anticorpo	Fotossensibilidade		p*
	Presente n=107 (89,2%)	Ausente n=13 (10,8%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 35 (32,7%)	n = 6 (46,2%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 26 (24,3%)	n = 5 (38,5%)	NS
Anti-Sm	n = 25 (23,4%)	n = 4 (30,8%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 36 (33,6%)	n = 5 (38,5%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 45 (42,8%)	n = 9 (69,2%)	NS

\* valor de p correspondente; NS ≡ não significante

As úlceras orais estavam presentes em 58 (48,3%) pacientes, sendo que 62 (51,7%) não apresentavam esta manifestação clínica. Dos 58 pacientes com úlceras orais, 56 (96,6%) tinham FAN positivo, 27 (46,5%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 18 (31,0%) anti-Ro/SS-A, 13 (22,4%) anti-La/SS-B, 15 (25,9%) anti-Sm e 18 (31,0%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 62 sem úlceras orais que apresentavam 61 (98,4%) FAN positivo, 27 (43,5%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 23 (37,1%) anti-Ro/SS-A, 18 (29%) anti-La/SS-B, 14 (22,6%) anti-Sm e 23 (37,1%) anti-U1 RNP. Não foram registradas diferenças estatisticamente significantes entre estes grupos. Os dados estão dispostos na tabela 8.

Tabela 8 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com a presença de úlceras orais

Auto-anticorpo	Úlceras Orais		p*
	Presentes n=58 (48,3%)	Ausentes n=62 (51,7%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 18 (31,0%)	n = 23 (37,1%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 13 (22,4%)	n = 18 (29,0%)	NS
Anti-Sm	n = 15 (25,9%)	n = 14 (22,6%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 18 (31,0%)	n = 23 (37,1%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 27 (46,5%)	n = 27 (43,5%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante



As serosites foram identificadas em 58 (48,3%) pacientes, sendo que 62 (51,7%) não as tinham. Dos 58 pacientes com serosite, 57 (98,3%) apresentavam FAN positivo, 37 (63,7%) anticorpos anti-DNAn, 26 (44,8%) anti-Ro/SS-A, 17 (29,3%) anti-La/SS-B, 18 (31,0%) anti-Sm e 20 (34,5%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 62 sem serosite que tinham 60 (96,8%) FAN positivo, 17 (27,4%) anticorpos anti-DNAn, 15 (24,2%) anti-Ro/SS-A, 14 (22,6%) anti-La/SS-B, 11 (17,7%) anti-Sm e 21 (33,9%) anti-U1 RNP. A análise estatística destes dados, mostrou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação aos anticorpos anti-DNAn ( $p < 0,00006$ ) e do anti-Ro/SS-A ( $p < 0,02$ ), tendo o grupo com serosites uma maior proporção de ambos os anticorpos. Estes dados estão dispostos na tabela 9.

Tabela 9 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com as serosites.

Auto-anticorpo	Serosites		p*
	Presentes n=58 (48,3%)	Ausentes n=62 (51,7%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 26 (44,8%)	n = 15 (24,2%)	0,02
Anti-La/SS-B	n = 17 (29,3%)	n = 14 (22,6%)	NS
Anti-Sm	n = 18 (31,0%)	n = 11 (17,7%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 20 (34,5%)	n = 21 (33,9%)	NS
Anti-DNAn	n = 37 (63,7%)	n = 17 (27,4%)	0,00006

\* valor de p correspondente; NS  $\equiv$  não significante

A amostra estudada continha 72 (60,0%) pacientes com alterações renais e 48 (40%) sem comprometimento renal. Dos 72 pacientes com comprometimento renal, 69 (95,8%) tinham FAN positivo, 40 (55,5%) anticorpos anti-DNAn, 26 (36,1%) anti-Ro/SS-A, 20 (27,8%) anti-La/SS-B, 20 (27,8%) anti-Sm e 24 (33,3%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 48 sem comprometimento renal que apresentavam 48 (100%) FAN positivo, 14 (29,2%) anticorpos anti-DNAn, 15 (31,3%) anti-Ro/SS-A, 11 (22,9%) anti-La/SS-B, 9 (18,8%) anti-Sm e 17 (35,4%) anti-U1 RNP. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao anticorpo anti-DNAn ( $p < 0,004$ ). Os anticorpos anti-Sm, anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B foram mais freqüentes no grupo com alteração renal, enquanto o anti-U1 RNP foi mais freqüente no grupo sem alteração renal, embora estas diferenças não tenham tido significância estatística. Estes resultados estão dispostos na tabela 10.

Tabela 10 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com as alterações renais

Auto-anticorpo	Alterações Renais		p*
	Presentes n=72 (60,0%)	Ausentes n=48 (40,0%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 26 (36,1%)	n = 15 (31,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 20 (27,8%)	n = 11 (22,9%)	NS
Anti-Sm	n = 20 (27,8%)	n = 9 (18,8%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 24 (33,3%)	n = 17 (35,4%)	NS
Anti-DNAn	n = 40 (55,5%)	n = 14 (29,2%)	0,004

\* valor de p correspondente; NS = não significante

O comprometimento do sistema nervoso central foi registrado em 21 (17,5%) dos pacientes, sendo que 99 (82,5%) não apresentavam estas alterações. Dos 21 pacientes com alterações do sistema nervoso central, 21 (100%) apresentavam FAN positivo, 16 (76,1%) anticorpos anti-DNAn, 7 (33,3%) anti-Ro/SS-A, 4 (19%) anti-La/SS-B, 5 (23,8%) anti-Sm e 6 (28,6%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 99 sem alterações do sistema nervoso central que tinham 96 (97%) FAN positivo, 38 (38,3%) anticorpo anti-DNAn, 34 (34,3%) anti-Ro/SS-A, 27 (27,3%) anti-La/SS-B, 24 (24,2%) anti-Sm e 35 (35,4%) anti-U1 RNP. A frequência da presença do anticorpo anti-DNAn se mostrou significativamente maior no grupo de pacientes com alterações do sistema nervoso central ( $p < 0,001$ ). A tabela 11 apresenta os resultados desta análise.

Tabela 11 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com as alterações neurológicas

Auto-anticorpo	Alterações Neurológicas		p*
	Presentes n=21 (17,5%)	Ausentes n=99 (82,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 7 (33,3%)	n = 34 (34,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 4 (19,0%)	n = 27 (27,3%)	NS
Anti-Sm	n = 5 (23,8%)	n = 24 (24,2%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 6 (28,6%)	n = 35 (35,4%)	NS
Anti-DNAn	n = 16 (76,1%)	n = 38 (38,3%)	0,001

\* valor de p correspondente; NS = não significante

Os pacientes com alterações hematológicas eram 99 (82,5%); 21 (17,5%) não as apresentavam. Dos 99 pacientes com alterações hematológicas, 96 (97,0%) apresentavam FAN positivo, 47 (47,4%) anticorpos anti-DNAn, 34 (34,3%) anti-Ro/SS-A, 26 (26,3%) anti-La/SS-B, 22 (22,2%) anti-Sm e 34 (34,3%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 21 sem alterações hematológicas que tinham 21 (100%) FAN positivo, 7 (33,3%) anticorpo anti-DNAn, 7 (33,3%) anti-Ro/SS-A, 5 (23,8%) anti-La/SS-B, 7 (33,3%) anti-Sm e 7 (33,3%) anti-U1 RNP. Não foram registradas diferenças estatisticamente significantes entre estes grupos. Estes dados podem ser observados na tabela 12.

Tabela 12 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com as alterações hematológicas

Auto-anticorpo	Alterações Hematológicas		p*
	Presentes n=99 (82,5%)	Ausentes n=21 (17,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 34 (34,3%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 26 (26,3%)	n = 5 (23,8%)	NS
Anti-Sm	n = 22 (22,2%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 34 (34,3%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-DNAn	n = 47 (47,4%)	n = 7 (33,3%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante



6.5 - RELAÇÃO ENTRE OS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES COM ALOPÉCIA, FENÔMENO DE RAYNAUD E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS COMPATÍVEIS COM A SÍNDROME *SICC*A

Os pacientes com alopecia eram 85 (70,8%), sendo que 35 (29,2%) não a tinham. Dos 85 pacientes com alopecia, 83 (79,6%) apresentavam FAN positivo, 42 (49,4%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 36 (42,4%) anti-Ro/SS-A, 25 (29,4%) anti-La/SS-B, 24 (28,2%) anti-Sm e 29 (34,1%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 35 sem alopecia que tinham 34 (97,1%) FAN positivo, 12 (34,3%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 5 (14,3%) anti-Ro/SS-A, 6 (17,1%) anti-La/SS-B, 5 (14,3%) anti-Sm e 12 (34,3%) anti-U1 RNP. O anti-Ro/SSA foi mais freqüente no grupo de pacientes com alopecia, sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,003$ ). Observou-se, ainda, uma maior freqüência dos anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, anti-La/SS-B e anti-Sm no grupo de pacientes com alopecia, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significantes. Estes dados podem ser observados na tabela 13.

Tabela 13 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com a alopecia

Auto-anticorpo	Alopecia		p*
	Presente n=85 (70,8%)	Ausente n=35 (29,2%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 36 (42,4%)	n = 5 (14,3%)	0,003
Anti-La/SS-B	n = 25 (29,4%)	n = 6 (17,1%)	NS
Anti-Sm	n = 24 (28,2%)	n = 5 (14,3%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 29 (34,1%)	n = 12 (34,3%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 42 (49,4%)	n = 12 (34,3%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante

O fenômeno de Raynaud estava presente em 73 (60,8%) dos pacientes, sendo que 47 (39,2%) não o apresentavam. Dos 73 pacientes com fenômeno de Raynaud, 71 (97,3%) possuíam FAN positivo, 29 (39,7%) anticorpos anti-DNAn, 23 (31,5%) anti-Ro/SS-A, 19 (26%) anti-La/SS-B, 20 (27,4%) anti-Sm e 30 (41,1%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 47 sem fenômeno de Raynaud que tinham 46 (97,9%) FAN positivo, 25 (53,1%) anticorpos anti-DNAn, 18 (38,3%) anti-Ro/SS-A, 12 (25,5%) anti-La/SS-B, 9 (19,1%) anti-Sm e 11 (23,4%) anti-U1 RNP. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos para o anti-U1 RNP ( $p < 0,04$ ). A tabela 14 mostra estes resultados.

Tabela 14 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com o fenômeno de Raynaud

Auto-anticorpo	Fenômeno de Raynaud		p*
	Presente n=73 (60,8%)	Ausente n=47 (39,2%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 23 (31,5%)	n = 18 (38,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 19 (26,0%)	n = 12 (25,5%)	NS
Anti-Sm	n = 20 (27,4%)	n = 9 (19,1%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 30 (41,1%)	n = 11 (23,4%)	0,04
Anti-DNAn	n = 29 (39,7%)	n = 25 (53,1%)	NS

\* valor de p correspondente; NS  $\equiv$  não significante

Os pacientes com queixas compatíveis com a síndrome *sicca* eram 30 (25,0%), sendo que 90 (75,0%) não a apresentavam. Dos 30 pacientes com síndrome *sicca*, 29 (96,7%) apresentavam FAN positivo, 9 (30%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 9 (30,0%) anti-Ro/SS-A, 9 (30,0%) anti-La/SS-B, 7 (23,3%) anti-Sm e 12 (40,0%) anti-U1 RNP. Estes foram comparados com os 90 (75,0%) sem manifestações clínicas da síndrome que tinham 88 (97,8%) FAN positivo, 45 (50,0%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 32 (35,6%) anti-Ro/SS-A, 22 (24,4%) anti-La/SS-B, 22 (24,4%) anti-Sm e 29 (32,2%) anti-U1 RNP. A comparação entre os grupos não mostrou diferenças estatisticamente significantes. Estes dados estão na tabela 15.

Tabela 15 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com a síndrome *sicca*

	Síndrome <i>sicca</i>		p*
	Presente n=30 (25,0%)	Ausente n=90 (75,0%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 9 (30,0%)	n = 32 (35,6%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 9 (30,0%)	n = 22 (24,4%)	NS
Anti-Sm	n = 7 (23,3%)	n = 22 (24,4%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 12 (40,0%)	n = 29 (32,2%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 9 (30,0%)	n = 45 (50,0%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante

6.6 - RELAÇÃO DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES COM ALTERAÇÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Além dos dados já apresentados na tabela 10, os 21 pacientes com alterações do sistema nervoso central foram divididos em grupos de acordo com a(s) manifestação(ões) neurológica(s) apresentada(s). Convulsão mais psicose estavam presentes em 5 (4,2%) pacientes que tinham 5 (100%) FAN positivo, 5 (100%) anticorpos anti-DNAn, 2 (40,0%) anti-Ro/SS-A, 2 (40,0%) anti-La/SS-B, 2 (40,0%) anti-Sm e 1 (20,0%) anti-U1 RNP. Quando comparados com os pacientes sem alterações do sistema nervoso central, observou-se uma diferença, estatisticamente significativa ( $p < 0,006$ ), para o anti-DNAn, com valores maiores no primeiro grupo. Um percentual maior de anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B e anti-Sm foi registrado no grupo com convulsão mais psicose, embora a diferença não tenha tido significância estatística. Estes resultados estão na tabela 16.

Tabela 16 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com alterações neurológicas (psicose mais convulsão).

Auto-anticorpo	Convulsão e psicose		p*
	Presentes n=5 (4,2%)	Sem alt. neuro n=99 (82,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 2 (40,0%)	n = 34 (34,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 2 (40,0%)	n = 27 (27,3%)	NS
Anti-Sm	n = 2 (40,0%)	n = 24 (24,2%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 1 (20,0%)	n = 35 (35,4%)	NS
Anti-DNAn	n = 5 (100%)	n = 38 (38,3%)	0,0006

\* valor de p correspondente; NS = não significante



Convulsão era registro em 12 (10,0%) pacientes que tinham 12 (100%) FAN positivo, 10 (83,0%) anticorpos anti-DNAn, 5 (41,7%) anti-Ro/SS-A, 3 (25,0%) anti-La/SS-B, 5 (41,7%) anti-Sm e 3 (25,0%) anti-U1 RNP. Quando estes dados foram comparados com os pacientes sem alterações do sistema nervoso central, a análise estatística mostrou que a presença do anti-DNAn no grupo de pacientes com convulsão foi significativamente maior ( $p < 0,003$ ). Foi registrado também um maior percentual da presença do anticorpo anti-Sm, embora a diferença não tenha tido significância estatística. Estes dados podem ser observados na tabela 17.

Tabela 17 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com alterações neurológicas (convulsão).

Auto-anticorpo	Convulsão		p*
	Presente n=12 (10,0%)	Sem alt. neuro n=99 (82,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 5 (41,7%)	n = 34 (34,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 3 (25,0%)	n = 27 (27,3%)	NS
Anti-Sm	n = 5 (41,7%)	n = 24 (24,2%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 3 (25,0%)	n = 35 (35,4%)	NS
Anti-DNAn	n = 10 (83,0%)	n = 38 (38,3%)	0,003

\* valor de p correspondente; NS = não significante

Psicose estava presente em 14 (11,7%) dos pacientes que apresentavam 14 (100%) FAN positivo, 11 (78,1%) anticorpos anti-DNA<sub>n</sub>, 4 (28,6%) anti-Ro/SS-A, 3 (21,4%) anti-La/SS-B, 2 (14,3%) anti-Sm e 4 (28,6%) anti-U1 RNP. Quando estes dados foram comparados com os pacientes sem alterações do sistema nervoso central, a presença do anti-DNA<sub>n</sub> foi significativamente maior no grupo dos pacientes com psicose ( $p < 0,004$ ). Estes dados estão na tabela 18.

Tabela 18 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com alterações neurológicas (psicose).

Auto-anticorpo	Psicose		p*
	Presente n=14 (11,7%)	Sem alt. neuro n=99 (82,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 4 (28,6%)	n = 34 (34,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 3 (21,4%)	n = 27 (27,3%)	NS
Anti-Sm	n = 2 (14,3%)	n = 24 (24,2%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 4 (28,6%)	n = 35 (35,4%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 11 (78,1%)	n = 38 (38,3%)	0,004

\* valor de p correspondente; NS = não significante

## 6.7 - RELAÇÃO DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES COM A NEFRITE

Além dos dados já apresentados na tabela 9, os 72 pacientes com alterações renais foram analisados especificamente em relação à presença ou ausência de nefrite lúpica classe IV. A biópsia renal foi realizada em 40 pacientes e os achados classificados de acordo com os critérios da OMS. Do total de pacientes biopsiados, 22 eram do tipo IV e tinham todos os 22 (100%) FAN positivo, 17 (77,2%) anticorpo anti-DNAn, 9 (40,9%) anti-Ro/SS-A, 6 (27,3%) anti-La/SS-B, 5 (22,7%) anti-Sm e 6 (27,3%) anti-U1 RNP. Quando estes dados foram comparados com os pacientes sem alterações renais, a análise estatística mostrou que a presença do anti-DNAn foi significativamente maior nos pacientes com nefrite IV ( $p < 0,0001$ ). O anti-U1 RNP foi mais freqüente no grupo de pacientes sem alterações renais, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Estes resultados podem ser observados na tabela 19.

Tabela 19 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com a nefrite lúpica classe IV da OMS.

Auto-anticorpo	Nefrite Classe IV da OMS		p*
	Presente n=22 (18,3%)	Sem alt. renais n=48 (40,0%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 9 (40,9%)	n = 15 (31,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 6 (27,3%)	n = 11 (22,9%)	NS
Anti-Sm	n = 5 (22,7%)	n = 9 (18,8%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 6 (27,3%)	n = 17 (35,4%)	NS
Anti-DNAn	n = 17 (77,2%)	n = 14 (29,2%)	0,0001

\* valor de p correspondente; NS = não significante

Os 22 pacientes do grupo com nefrite tipo IV apresentavam níveis baixos de C3 em 15 pacientes (68,2%), níveis baixos de C3 ou C4 em 21 pacientes (95,5%) e níveis baixos de C3 e C4 em 15 pacientes (68,2%). Quando estes dados foram comparados com o grupo de pacientes sem alterações renais, observou-se que a queda das frações do complemento é significativamente mais freqüente no grupo com nefrite IV (níveis baixos de C3,  $p < 0,000002$ ; níveis baixos de C3 ou C4,  $p < 0,000001$ ; níveis baixos de C3 mais C4,  $p < 0,00002$ ). Estes dados podem ser observados na tabela 20.

Tabela 20 - Consumo de complemento na nefrite lúpica classe IV da OMS

Frações de C	Nefrite Lúpica classe IV		p*
	Presente n=22 (18,3%)	Sem alt. renais n=48 (40,0%)	
C3	n=15 (68,2%)	n=6 (12,5%)	0,000002
C3 OU C4	n=21 (95,5%)	n=19 (39,6%)	0,000001
C3 + C4	n=15 (68,2%)	n=6 (12,5%)	0,000002

\* valor de p correspondente



6.8 - RELAÇÃO DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES COM ALTERAÇÕES  
HEMATOLÓGICAS

Os 99 pacientes com alterações hematológicas, além dos dados apresentados na tabela 11, foram analisados de acordo com a alteração hematológica apresentada. Do total da amostra, 57 (45,6%) tinham anemia, 59 (47,2%) leucopenia, 41 (32,8%) trombocitopenia e 85 (68,0%) linfocitopenia. Os 57 com anemia apresentavam 55 (96,5%) FAN positivos, 32 (57,6%) anticorpo anti-DNAn, 21 (36,8%) anti-Ro/SS-A, 16 (28,0%) anti-La/SS-B, 15 (26,1%) anti-Sm e 21 (36,8%) anti-U1 RNP. Quando comparados com os pacientes sem alterações hematológicas, os pacientes com anemia apresentaram uma maior presença de anti-DNAn, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Estes resultados podem ser observados na tabela 21.

Tabela 21 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com as alterações hematológicas (anemia)

Auto-anticorpo	Anemia		p*
	Presente n=57 (45,6%)	Sem alt. hemat. n=21 (17,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 21 (36,8%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 16 (28,0%)	n = 5 (23,8%)	NS
Anti-Sm	n = 15 (26,1%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 21 (36,8%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-DNAn	n = 32 (57,6%)	n = 7 (33,3%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significativa

Os 59 pacientes com leucopenia tinham 58 (98,3%) FAN positivo, 31 (52,7%) anticorpos anti-DNAn, 17 (28,8%) anti-Ro/SS-A, 14 (23,7%) anti-La/SS-B, 8 (13,7%) anti-Sm e 20 (33,9%) anti-U1 RNP. Quando comparados com o grupo de pacientes sem alterações hematológicas, houve um maior percentual da presença do anti-Sm no grupo de pacientes sem alterações hematológicas, cuja diferença se mostrou estatisticamente significativa ( $p < 0,04$ ). O anti-DNAn foi mais freqüente no grupo de pacientes com leucopenia, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Estes dados podem ser vistos na tabela 22.

Tabela 22 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com alterações hematológicas (leucopenia)

Auto-anticorpo	Leucopenia		p*
	Presente n=59 (47,2%)	Sem alt. hemat. n=21 (17,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 17 (28,8%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 14 (23,7%)	n = 5 (23,8%)	NS
Anti-Sm	n = 8 (13,7%)	n = 7 (33,3%)	0,04
Anti-U1 RNP	n = 20 (33,9%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-DNAn	n = 31 (52,7%)	n = 7 (33,3%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significativa

Os 41 pacientes com trombocitopenia apresentavam 38 (92,7%) FAN positivo, 21 (52,0%) anticorpo anti-DNA<sub>n</sub>, 15 (36,6%) anti-Ro/SS-A, 8 (19,5%) anti-La/SS-B, 9 (22,0%) anti-Sm e 13 (31,7%) anti-U1 RNP. Quando comparados com o grupo de pacientes sem alterações hematológicas, percebeu-se um percentual maior do anticorpo anti-DNA<sub>n</sub> no grupo de pacientes com trombocitopenia, embora sem significância estatística. Estes resultados estão na tabela 23.

Tabela 23 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com alterações hematológicas (trombocitopenia)

Auto-anticorpo	Trombocitopenia		p*
	Presente n=41 (32,8%)	Sem alt. hemat. n=21 (17,5)	
Anti-Ro/SS-A	n = 15 (36,6%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 8 (19,5%)	n = 5 (23,8%)	NS
Anti-Sm	n = 9 (22,0%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 13 (31,7%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-DNA <sub>n</sub>	n = 21 (52,0%)	n = 7 (33,3%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante

Os 85 pacientes com linfocitopenia tinham 83 (97,6%) FAN positivo, 42 (50,4%) anticorpo anti-DNAn, 30 (35,2%) anti-Ro/SS-A, 21 (24,7%) anti-La/SS-B, 20 (23,5%) anti-Sm e 30 (35,3%) anti-U1 RNP. Observou-se um maior percentual de anti-DNAn no grupo de pacientes com linfocitopenia, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Estes resultados podem ser observados na tabela 24.

Tabela 24 - Distribuição dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com alterações hematológicas (linfocitopenia)

Auto-anticorpo	Linfocitopenia		p*
	Presente n=85 (68,0%)	Sem alt. hemat. n=21 (17,5%)	
Anti-Ro/SS-A	n = 30 (35,2%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-La/SS-B	n = 21 (24,7%)	n = 5 (23,8%)	NS
Anti-Sm	n = 20 (23,5%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-U1 RNP	n = 30 (35,3%)	n = 7 (33,3%)	NS
Anti-DNAn	n = 42 (50,4%)	n = 7 (33,3%)	NS

\* valor de p correspondente; NS = não significante



## 6.9 - RELAÇÃO ENTRE OS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES ESTUDADOS E OS PADRÕES DO FAN

A positividade do FAN foi registrada em 117 pacientes (93,6%), sendo 19 (16,2%) padrão periférico, 35 (29,9%) padrão homogêneo e 63 (53,8%) padrão salpicado.

Os 19 pacientes com padrão periférico apresentavam: 16 (84,2%) anticorpo anti-DNAn; 7 (36,8%) anti-Ro/SS-A; 5 (26,3%) anti-La/SS-B; 4 (21,1%) anti-Sm; e 6 (31,6%) anti-U1 RNP. A análise estatística dos dados expostos na tabela 25 mostrou que houve uma associação estatisticamente significativa entre o FAN padrão periférico e o anticorpo anti-DNAn ( $p < 0,0002$ ).

Os 35 pacientes com padrão homogêneo tinham: 13 (37,1%) anticorpo anti-DNAn; 15 (42,9%) anti-Ro/SS-A; 11 (31,4%) anti-La/SS-B; 5 (14,3%) anti-Sm; e 5 (14,3%) anti-U1 RNP. A análise estatística dos dados expostos não mostrou associação estatisticamente significativa do FAN padrão homogêneo com os auto-anticorpos pesquisados (tabela 25).

Os 63 pacientes com padrão salpicado apresentavam: 25 (39,7%) anticorpo anti-DNAn; 18 (28,6%) anti-Ro/SS-A; 14 (22,2%) anti-La/SS-B; 19 (30,2%) anti-Sm; e 29 (46,0%) anti-U1 RNP. Observou-se (tabela 25) uma associação estatisticamente significativa entre o FAN padrão salpicado e o anticorpo anti-U1 RNP ( $p < 0,003$ ).

Tabela 25 - Frequência dos auto-anticorpos antinucleares de acordo com o padrão do fator antinuclear

PADRÕES	Auto-anticorpos					p*
	Ro/SS-A	La/SS-B	SM	U1 RNP	DNA <sub>n</sub>	
PERIFÉRICO n=19 (16%)	7(37%)	5(26%)	4(21%)	6(32%)	16(84%)*	0,0002
HOMOGENEO n=35 (30%)	15(43%)	11(31%)	5(14%)	5(14%)	13(37%)	NS
SALPICADO n=63 (54%)	18(29%)	14(22%)	19(30%)	29(46%)*	25(40%)	0,003
NUCLEOLAR n=zero						

\*valor de p correspondente; NS = não significante.

#### 6.10 - RELAÇÃO DOS AUTO-ANTICORPOS ANTINUCLEARES ENTRE SI

Em relação aos outros auto-anticorpos, observou-se que os 29 pacientes com anticorpos anti-Sm apresentavam: 28 (96,6%) FAN positivo; 16 (55,2%) anticorpo anti-DNA<sub>n</sub>; 17 (58,6%) anti-Ro/SS-A; 15 (51,7%) anti-La/SS-B; e 25 (86,2%) anti-U1 RNP. Os 41 pacientes com anticorpos anti-Ro/SSA tinham: 40 (97,6%) FAN positivo; 25 (61,0%) anticorpo anti-DNA<sub>n</sub>; 24 (58,5%) anti-La/SS-B; 17 (41,5%) anti-Sm; e 17 (41,5%) anti-U1 RNP. Os 31 pacientes com anticorpos anti-La/SS-B apresentavam: 30 (96,8%) FAN positivo; 16 (51,5%) anticorpo anti-DNA<sub>n</sub>; 24 (77,4%) anti-Ro/SS-A; 15 (48,4%) anti-Sm; e 14 (45,2%) anti-U1 RNP. Os 41 pacientes com anticorpos anti-U1 RNP tinham: 40 (97,6%) FAN positivo; 18 (43,9%) anticorpo anti-DNA<sub>n</sub>; 17 (41,5%) anti-Ro/SS-A; 14 (34,1%) anti-La/SSB; e 25 (61,0%)

anti-Sm. Os 54 pacientes com anticorpo anti-DNAN apresentavam: 54 (100%) FAN positivo; 25 (46,3%) anti-Ro/SS-A; 16 (29,6%) anti-La/SS-B; 16 (29,6%) anti-Sm; e 19 (35,2%) anti-U1 RNP. Cada um destes grupos foi comparado com o restante da amostra. A análise dos dados expostos mostrou relação, estatisticamente significativa, entre o anticorpo anti-Sm e o anti-Ro/SS-A ( $p < 0,001$ ); entre o anti-Sm e o anti-La/SS-B ( $p < 0,0002$ ); entre o anti-Sm e o anti-U1 RNP, que foi das mais nítidas ( $p < 0,000001$ ); entre o anti-DNAN e o anti-Ro/SS-A ( $p < 0,01$ ); entre o anti-La/SS-B e o anti-Ro/SS-A, também marcante ( $p < 0,000001$ ). Estes resultados estão representados na tabela 26.

Tabela 26 - Relação dos auto-anticorpos antinucleares entre si

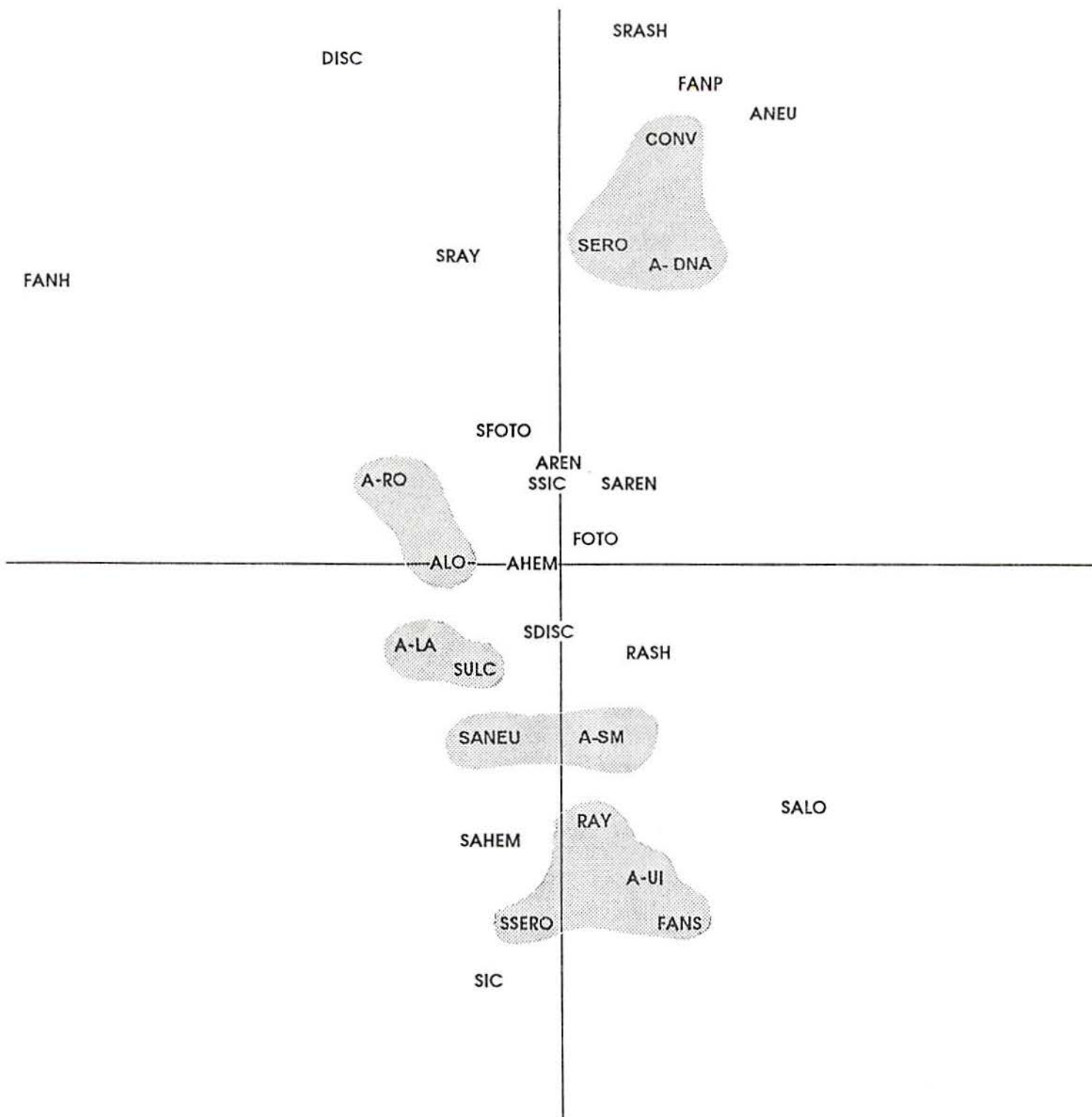
	Auto-Anticorpos				
	Ro/SSA n=41 (34,2%)	La/SSB n=31 (25,8%)	Sm n=29 (24,9%)	U1 RNP n=41 (34,2%)	DNAN n=54 (46,1%)
Ro/SS-A		24(77%)*	17(59%)*	17(41%)	25(46%)*
La/SS-B	24(58%)*		15(52%)*	14(34%)	16(30%)
Sm	17(41%)*	15(48%)*		25(61%)*	16(30%)
U1 RNP	17(41%)	14(45%)	25(86%)*		19(35%)
DNAN	25(61%)*	16(52%)	16(55%)	18(44%)	

\* $p < 0,05$

## 6.11 - ANÁLISE DE CORRESPONDÊNCIA

Os resultados desta análise são apresentados na figura 2. A interpretação dos resultados se faz através da leitura do gráfico, verificando a proximidade entre os elementos de uma mesma nuvem de pontos sugerindo uma possível associação entre os mesmos. O gráfico (figura 2) sugere associação entre os anticorpos anti-Ro/SS-A e a presença de alopecia. Em relação aos anticorpos anti-U1 RNP, parece haver associação com a presença do fenômeno de Raynaud, ausência de serosites e presença de FAN de padrão salpicado, bem como dos anticorpos anti-DNA com a presença de serosites e convulsões. O gráfico sugere, também, que os anticorpos anti-Sm e anti-La/SS-B estejam associados com a ausência de alterações neurológicas e a ausência de úlceras orais, respectivamente.





A-DNA ≡ Ac. anti-DNA	DISC ≡ lúpus discóide	SAREN ≡ sem alterações renais
A-LA ≡ Ac. anti-La	FANH ≡ fator antinuclear homogêneo	SDISC ≡ sem lúpus discóide
A-RO ≡ Ac. anti-Ro	FANP ≡ fator antinuclear periférico	SERO ≡ serosite
A-SM ≡ Ac. anti-Sm	FANS ≡ fator antinuclear salpicado	SFOTO ≡ sem fotossensibilidade
A-UI ≡ Ac. anti-U1 RNP	FOTO ≡ fotossensibilidade	SIC ≡ síndrome <i>sicca</i>
AHEM ≡ alterações hematológicas	RASH ≡ rash malar	SRASH ≡ sem rash malar
ALO ≡ alopecia	RAY ≡ fenômeno de Raynaud	SKAY ≡ sem fenômeno de Raynaud
ANEU ≡ alterações neurológicas	SAHEM ≡ sem alterações hematológicas	SSERO ≡ sem serosite
AREN ≡ Alterações renais	SALO ≡ sem alopecia	SSIC ≡ sem síndrome <i>sicca</i>
CONV ≡ convulsão	SANEU ≡ sem alterações neurológicas	SULC ≡ sem ulcerações orais

Figura 2 - O gráfico da análise de correspondência mostra a proximidade entre os elementos de uma mesma nuvem de pontos, sugerindo uma possível associação entre os mesmos.

## 7 - DISCUSSÃO

A interpretação clínica dos achados laboratoriais, relacionados à positividade dos auto-anticorpos, tem determinado inúmeras dificuldades aos médicos, na prática diária. A evolução dos conhecimentos, com a utilização de técnicas como a imunofluorescência, a Elisa, o Blot e outras mais sofisticadas, tem permitido um melhor entendimento do significado da identificação de determinado antígeno ou anticorpo e o seu verdadeiro papel na expressão clínica da doença. Os pesquisadores, mesmo com o avanço dos métodos de investigação, têm verificado discrepâncias entre os achados laboratoriais e as manifestações da doença. Constatou-se que os testes utilizados apresentam diferentes graus de sensibilidade, podendo o mesmo paciente apresentar pesquisa positiva por um método e negativa por outro. Estes fatos evidenciam a necessidade da realização de mais pesquisas, visando o aperfeiçoamento da metodologia e o esclarecimento dos pontos controversos.

A imunofluorescência, por ter sido incluída nos critérios para classificação do LES, ocupa, no momento atual, a posição de melhor teste para o diagnóstico do LES. É uma técnica sensível para a detecção de auto-anticorpos antinucleares, tanto em *Imprint* de fígado de camundongo, como em células HEp-2. Na interpretação desta técnica, deve ser observado, não apenas o substrato, mas também o padrão obtido.

O FAN padrão periférico sugere a presença do anticorpo anti-DNA<sub>n</sub> (BICKEL et al., 1968; TAN, 1967) e, algumas vezes, anti-DNA-histona (ROTHFIELD & STOLLAR, 1967). Estes achados, foram reproduzidos neste

trabalho. Dos 19 pacientes com FAN padrão periférico 16 (84,2%) possuíam anticorpos anti-DNAn. A análise estatística evidenciou uma significativa associação do FAN periférico com o anticorpo anti-DNAn ( $p < 0,0002$ ) (tabela 25).

O FAN padrão homogêneo sugere anticorpo anti-histona (TAN et al., 1976) e DNA-histona (BECK, 1961; LACHMANN et al., 1961). No grupo dos pacientes com FAN padrão homogêneo, não houve associação, estatisticamente significativa, com nenhum dos auto-anticorpos pesquisados (tabela 25). Altos títulos deste padrão de FAN costumam ser encontrados no Lúpus Drogas Relacionado (MONESTIER & KOTZIN, 1992; CRAFT & HARDIN, 1993).

O FAN padrão salpicado sugere anticorpos contra o grande grupo de proteínas não histonas (ENAs) (BECK, 1969; LACHMANN & KUNKEL, 1961; MATTIOLI & REICHLIN, 1971; TAN, 1967; TAN & KUNKEL, 1966). Dos 63 pacientes com FAN padrão salpicado, 29 (46%) possuíam anticorpo anti-U1 RNP. Esta associação foi estatisticamente significativa ( $p < 0,003$ ) (tabela 25) e ilustrada pela análise de correspondência (figura 2).

Os padrões nucleolar e centromérico sugerem anticorpos contra estruturas do RNA (RITCHIE, 1968) e centrômero (MOROI et al., 1980). Na amostra estudada, nenhum paciente apresentou este padrão de FAN que, quando presente, sugere a possibilidade diagnóstica de Esclerose Sistêmica (CRAFT & HARDIN, 1993). O padrão misto sugere a presença de mais de uma especificidade participando da reação (TAN, 1967). A negatividade da



pesquisa do FAN torna remota a possibilidade diagnóstica de LES. Foram registrados, na pesquisa, 3 casos de LES com FAN negativo. O teste positivo não confirma o diagnóstico, mas associado à clínica e à positividade da pesquisa de outros auto-anticorpos passa a ter um grande valor, para identificação do paciente lúpico. O teste possui uma elevada sensibilidade que alcança níveis superiores a 95%, quando se utiliza como substrato fígado de rato e aumenta para 98% com a utilização de células HEP-2. Nos casos estudados, a positividade do FAN, através da imunofluorescência indireta foi de 97,5%. A especificidade do teste é baixa, porque se encontra positividade em inúmeras outras doenças e mesmo em indivíduos normais (LAHITA, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987; KELLEY, 1993).

A presença de anticorpos, reagindo especificamente contra o DNAn, foi detectada pela técnica de imunofluorescência em *Crithidia luciliae*, pois o cinetoplasto deste flagelado parece conter somente DNAs (AARDEN et al., 1975; PSETSKY, 1987 e 1992). A opção pela técnica de imunofluorescência em *Crithidia luciliae* foi feita pela boa correlação com a presença de anticorpos contra o DNAn e a fácil aplicabilidade (MAINI & HOLBOROW, 1977).

A técnica da imunodifusão constitui-se num dos métodos mais importantes para a caracterização dos anticorpos antinucleares. Apresenta uma elevada especificidade, embora com algumas limitações. Constitui-se numa técnica de fácil execução e de custos acessíveis. Permite identificar não só a presença do auto-anticorpo, mas ainda a sua especificidade através

de soros padrões. A limitação na utilização desta técnica está vinculada à sua reduzida sensibilidade, já que a sua positividade está na dependência da presença de altas concentrações dos anticorpos pesquisados. Esta técnica permite a identificação dos auto-anticorpos anti-Sm, anti-U1 RNP, anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B, cujos antígenos estão presentes no núcleo em concentrações que possibilitam a utilização da imunodifusão. Com relação a outros antígenos, mais especificamente Scl 70, Jo 1 e outros, tendo em vista a pequena quantidade destes no núcleo, a detecção dos seus respectivos auto-anticorpos é raramente obtida através da técnica de imunodifusão. Existe, ainda hoje, uma grande dificuldade na purificação e produção dos antígenos específicos para os anticorpos que se conhecem (TAN & RODNAM, 1975; STITES & RODGES, 1987; STITES, 1987; REEVES, 1992; CRAFT & HARDIN, 1993).

O método de identificação dos auto-anticorpos por hemaglutinação é muito sensível, mas favorece a falsa positividade por possibilitar a detecção de níveis muito baixos de anticorpos. Esta constatação tem-se constituído, em algumas situações, em fator de confusão na prática médica dos ambulatórios. A vantagem desta técnica é o menor tempo de execução, em comparação com a imunodifusão.

A técnica de ELISA encontra-se ainda em fase de padronização, no nosso meio. Há necessidade de maior experiência e um melhor relacionamento custo-benefício para que possa ser aceita como rotina na prática médica.

No presente trabalho, foi utilizada a técnica de imunodifusão para identificação dos auto-anticorpos por ser de fácil execução, não necessitar de equipamento especial, e poder ser executada em qualquer laboratório clínico a um custo relativamente baixo. Não houve a preocupação de elaborar protocolos de sensibilidade e especificidade, porque as técnicas e os anti-soros são universalmente testados.

A assistência ao paciente lúpico poderia ser facilitada, se os parâmetros laboratoriais refletissem com fidelidade o grau de envolvimento dos sistemas (ROTHFIELD, 1985; SCHUR, 1993). Este objetivo ainda não foi atingido de forma satisfatória. Os inúmeros estudos realizados com os auto-anticorpos, frações do complemento e imunocomplexos circulantes, diretamente envolvidos na patogênese da doença, são insuficientes. O complemento parece ser um parâmetro de utilidade na avaliação da atividade da doença (KRAEMER, 1991). Os anticorpos anti-DNA<sub>n</sub> tem sido relacionados com a atividade da doença e o comprometimento renal, embora a nefrite não tenha expressão em todos os pacientes com anticorpos anti-DNA<sub>n</sub> circulantes (CRONIN et al, 1989). Na nossa amostra, 50% dos pacientes sem alterações renais apresentavam anticorpos anti-DNA<sub>n</sub> (tabela 10). Permanece a discussão do significado clínico da determinação dos níveis séricos de imunocomplexos circulantes (VALENTJIN et al., 1985; ASHERSON & HUGHES, 1988; SENALDI et al., 1988; CRAFT & HARDIN, 1993). Todos estes fatos apontam para a necessidade da realização de novos trabalhos de pesquisa com populações lúpicas de diferentes etnias e influências ambientais.



No que se refere às características da população estudada, a marcante predominância do sexo feminino (83,5%) (tabela 1) não difere da literatura (WALLACE & DUBOIS, 1987; FESSEL, 1988). O mecanismo da participação do sexo no desencadeamento e severidade da doença não é bem conhecido, mas anormalidades no metabolismo do estrógeno tem sido demonstradas em certas mulheres com LES (LAHITA, 1987). No presente estudo, não houve diferenças estatisticamente significantes nas pesquisas dos auto-anticorpos, entre os pacientes do sexo masculino e feminino.

O grupo de pacientes estudados tinha uma média de idade de 33,9 anos, oscilando entre 12 e 64 anos. A média da idade de início da doença foi de 27,3 anos, oscilando entre 7 e 60 anos (tabela 1). No que se refere à idade, a literatura registra uma prevalência do anticorpo anti-Ro nas populações de pacientes lúpicos com início da doença tardio (HAMILTON et al., 1988). Neste trabalho, o estudo desta relação ficou prejudicado, em virtude da amostra apresentar um pequeno número de pacientes com início da doença acima dos 50 anos.

A acentuada prevalência de brancos (81,7%) (tabela 1) na amostra atribuímos às origens étnicas da população do Rio Grande do Sul e à localização do nosso hospital, numa zona de classe média, onde predomina a população branca (BRENOL, 1989). Conflitantes estudos têm documentado aparente aumento da incidência e prevalência do LES entre certas raças e regiões geográficas (KURLAND, 1969; HOCHBERG, 1983; MEDGER Jr, 1985; WALLACE & DUBOIS, 1987; FESSEL, 1988). Não foram identificadas diferenças,



estatisticamente significantes, na pesquisa dos auto-anticorpos, entre os pacientes de cor branca e negra, na nossa amostra. Verificou-se, entretanto, um percentual maior da presença de todos os auto-anticorpos pesquisados no grupo de pacientes de cor negra (tabela 4). O anti-Sm é duas vezes mais comum em negros do que em brancos americanos. A literatura registra que o anti-Sm é mais freqüente em pessoas de origem africana ou asiática, em comparação com as de origem européia (CRAFT & KUNKELL, 1993).

A freqüência do anti-Sm na população lúpica estudada foi de 24,2%, percentual que coincide com os da literatura (TAN et al., 1982). O percentual de anti-U1 RNP da amostra foi de 34,2%, cifra que se situa próxima das mais freqüentemente referidas na literatura, ao redor de 40% (PETERSSON et al., 1984; TAN, 1985; CRAFT & HARDIN, 1993). O anti-Ro/SS-A é encontrado entre 25 a 50% dos pacientes com LES, enquanto o anti-La/SS-B em aproximadamente 15% (TAN, 1982; HARLEY et al., 1992; St CLAIR, 1992). No presente estudo, o anti-Ro/SS-A estava presente em 34,2% dos pacientes, enquanto o anti-La/SS-B em 25,8%, percentuais que não apresentam marcantes diferenças com os da literatura (tabela 2).

Em relação à freqüência das manifestações clínicas na amostra estudada, observamos que a quase totalidade dos pacientes (99,2%) (figura 1) tinha comprometimento articular. O achado é atribuível à elevada prevalência do comprometimento articular no LES e à seleção de pacientes procedentes de um serviço de reumatologia. O achado é pouco superior ao da literatura, 92 a 95% (LAHITA, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1987).

A alta prevalência de fotossensibilidade registrada (89,2%) (figura 1) pode ser atribuída a fatores genéticos, raciais e ambientais. As características étnicas da população gaúcha, de ascendência européia com mistura de outras raças, poderiam favorecer a expressão clínica da doença, à semelhança do registro feito com o melanoma maligno (BAKOS, 1991). A literatura médica internacional refere uma prevalência de fotossensibilidade no LES que oscila entre 11% e 43% (FRIES, 1977; TAN et al., 1982; DUBOIS & WALLACE, 1987). Refere, também, que o anticorpo anti-Ro/SS-A se associa com fotossensibilidade (CALLEN, 1988; SONTHEIMER et al., 1982). Esta associação não ocorreu neste estudo e nenhum outro auto-anticorpo estudado apresentou diferença estatisticamente significativa, nem mesmo tendência, no que se refere à fotossensibilidade (tabelas 7).

O *rash* malar foi encontrado em 61,7% (figura 1) dos pacientes da amostra, percentual que se encontra no limite superior da variação apresentada pela literatura - 30% a 60% (DUBOIS & WALLACE, 1987; LAHITA, 1987; KELLEY et al., 1993; McCARTY, 1993). Quando se estudou a associação do *rash* malar com a presença dos auto-anticorpos, não se evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (tabela 5). Estudos prévios chamam a atenção para a associação do auto-anticorpo anti-Ro/SS-A com manifestações de pele do tipo Lúpus Cutâneo Subagudo (CALLEN, 1988; SONTHEIMER et al., 1982). No presente trabalho, não individualizamos este tipo de expressão clínica porque nos propusemos a avaliar os que estão incluídos nos

critérios de classificação da doença e, além destes, alopecia, fenômeno de Raynaud e manifestações clínicas compatíveis com a síndrome *sicca*.

As lesões de Lúpus Crônico Discóide foram identificadas em 5,8% dos pacientes (figura 1), ficando um pouco abaixo dos índices registrados pela literatura - 10% a 30% (DUBOIS & WALLACE, 1987; LAHITA, 1987; KELLEY et al., 1993; McCARTY, 1993). A discrepância poderia ser atribuída a características raciais e genéticas da população estudada.

As ulcerações nas mucosas orais e nasais foram observadas em 48,3% dos pacientes (figura 1), enquanto a literatura registra uma variação de 7% a 40% (DUBOIS & WALLACE, 1987; LAHITA, 1987; KELLEY et al., 1993; McCARTY, 1993). Não foram encontradas associações estatisticamente significantes entre os auto-anticorpos pesquisados e esta manifestação lúpica (tabela 8), embora a análise de correspondência (figura 2) tenha sugerido que o anticorpo anti-La/SS-B possa estar associado com a ausência de úlceras orais.

As serosites ocorreram em 48,3% dos pacientes da amostra (figura 1), percentual que se inclui nos limites das variações da literatura, 10% a 50% (DUBOIS & WALLACE, 1987; LAHITA, 1987; KELLEY et al., 1993; McCARTY, 1993). Neste grupo, a associação com os auto-anticorpos foi positiva e altamente significativa para o anti-DNAse (p<0,00006) e o anti-Ro/SS-A (p<0,02) (tabela 9). Quando se estudaram isoladamente



pericardite e pleurite, houve superposição com os achados no grupo serosites. Além de confirmar a associação do anti-DNAn com serosite, a análise de correspondência (figura 2) sugere que o anticorpo anti-U1 RNP estaria associado com a ausência de serosites.

As alterações renais foram observadas em 60% dos pacientes estudados (figura 1), percentual que se encontra no limite superior das diversas séries da literatura - 46% a 60% (DUBOIS & WALLACE, 1987; TAN et al., 1982). A variação do registro de envolvimento renal, nos diversos centros de pesquisa, pode ser atribuída à metodologia dos estudos e às características das populações de pacientes. A pesquisa dos auto-anticorpos nos pacientes da amostra, divididos em grupos com e sem alterações renais, mostrou diferença estatisticamente significativa da presença do anticorpo anti-DNAn ( $p < 0,004$ ). Observa-se, também, que os auto-anticorpos anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B e anti-Sm foram mais freqüentes no grupo de pacientes com alteração renal, enquanto o anti-U1 RNP foi mais frequente no grupo sem alteração renal (tabela 10).

Quando foram comparados os pacientes com nefrite tipo IV da classificação da OMS com o grupo sem nefrite, foi identificada uma diferença estatisticamente significativa da presença do anticorpo anti-DNAn nos pacientes com nefrite ( $p < 0,0001$ ) (tabela 19). Não foi registrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos com nefrite e sem nefrite, no que se refere a presença do anti-Sm. A literatura registra que os pacientes com Sm costumam ter nefrite menos severa (WINN et al., 1979).



Estudos mais recentes, com a utilização de ELISA, sugerem que este auto-anticorpo não se relaciona com particular manifestação da doença (FIELD et al., 1988). Quando foram separados os 16 pacientes com o anticorpo anti-U1 RNP e sem o anticorpo anti-Sm, verificou-se que apenas 6 (37%) apresentavam alterações renais, percentual inferior ao percentual do total da amostra (60%), sugerindo que a presença isolada do anti-U1 RNP possa determinar um melhor prognóstico no que se refere ao comprometimento renal no LES. A literatura registra que os pacientes com o anti-U1 RNP têm doença mais suave e costumam ser poupados do comprometimento renal (REICHLIN, M. & MATTIOLI, M., 1972). Dos 17 pacientes com anti-Ro/SS-A e sem anti-La/SS-B, 7 tinham biópsia renal dos quais 4 (57%) apresentavam achados histológicos compatíveis com nefrite tipo IV da OMS. Este achado corrobora os registros da literatura que associam a presença do anti-Ro/SS-A, sem anti-La/SS-B, à elevada freqüência (53%) de sério comprometimento renal (St CLAIR, 1992). Quando foram separados os 24 pacientes com anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B, 12 tinham biópsia renal, sendo 5 (40%) com características histológicas compatíveis com o tipo IV da OMS. Uma freqüência menor do que os pacientes que tinham somente o anti-Ro/SS-A, mas mesmo assim muito superior ao registro na literatura de apenas 9% de doença renal severa, no grupo de pacientes que apresentam o anti-Ro/SS-A e anti-La/SS-B (St CLAIR, 1992).

O estudo do complemento, no grupo de pacientes com nefrite IV, em comparação com o grupo sem alteração renal, evidenciou importante consumo no grupo com nefrite IV, com alta significância estatística, de

acordo com o que segue: níveis baixos de C3,  $p < 0,000002$ ; níveis baixos de C3 ou C4,  $p < 0,000001$ ; e diminuição de C3 mais C4,  $p < 0,000002$  (tabela 20). Estes dados corroboram os registros da literatura que apontam a presença do anti-DNA<sub>n</sub> e baixos níveis do complemento como fatores de risco para nefrite (HARLEY & GAITHER, 1988; CRAFT & HARDIN, 1993).

As alterações do sistema nervoso central foram registradas em 17,5% dos pacientes estudados (figura 1), percentual que se inclui nos limites de variação da literatura, 10% a 59% (DUBOIS & WALLACE, 1987; LAHITA, 1987; KELLEY et al., 1993; McCARTY, 1993). Houve significância estatística apenas na associação com o anticorpo anti-DNA<sub>n</sub> ( $p < 0,001$ ) (tabela 11). O estudo isolado de psicose e/ou convulsão evidenciou a mesma associação significativa com o DNA<sub>n</sub> para convulsão ( $p < 0,003$ ), psicose ( $p < 0,004$ ) e convulsão mais psicose ( $p < 0,006$ ) (tabelas 16, 17 e 18). A literatura registra que a presença do anti-Sm é indicativo de pacientes com menos envolvimento do sistema nervoso central (WINN et al., 1979), embora estudos mais recentes não tenham reproduzido o achado (FIELD, 1988). No presente estudo, não foram registradas diferenças significantes que possam sustentar a presença do anti-Sm como indicador de pacientes com menos envolvimento do sistema nervoso central (tabela 11), embora a análise de correspondência sugira esta associação (figura 2).

As alterações hematológicas foram identificadas em 82,5% pacientes (figura 1), percentual que não difere dos registrados na literatura (FRIES, 1977; DUBOIS & WALLACE, 1977). A pesquisa dos auto-

anticorpos, nos pacientes com e sem alterações hematológicas, não mostrou diferenças estatisticamente significantes (tabela 12). Também não foram registradas diferenças estatisticamente significantes, quando os pacientes foram separados em grupos com anemia, trombocitopenia e linfocitopenia (tabelas 21, 23 e 24). Quando foram estudados os pacientes com leucopenia, houve significância estatística no registro da presença do anti-Sm, no grupo sem alterações hematológicas ( $p < 0,04$ ) (tabela 22).

A alopecia estava presente em 70% dos pacientes estudados, percentual um pouco superior aos registros da literatura que variam de 40 a 60% (LAHITA, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1989). A presença do anticorpo anti-Ro/SS-A, nos pacientes com alopecia, foi estatisticamente significativa ( $p < 0,03$ ), quando comparada com os pacientes sem a expressão clínica (tabela 13), achado confirmado pela análise de correspondência (figura 2).

O fenômeno de Raynaud foi identificado em 60,8% dos pacientes estudados, enquanto a literatura registra aproximadamente 30% (LAHITA, 1987; DUBOIS & WALLACE, 1989). A discrepância pode ser atribuída ao fato do protocolo ter registrado também os casos incompletos. Neste grupo, houve significativa associação com o anticorpo anti-U1 RNP ( $p < 0,04$ ) (tabela 14), o que foi confirmado pela análise de correspondência (figura 2).

Manifestações clínicas compatíveis com a síndrome *sicca* foram registradas em 25% dos pacientes, percentual que se situa próximo à média



da literatura que oscila entre 5% e 50% (LAHITA, 1987). A pesquisa dos auto-anticorpos, pela técnica da imunodifusão, não evidenciou diferenças estatisticamente significantes neste grupo (tabela 15). No mesmo, os pacientes foram selecionados pelas respostas afirmativas às perguntas sobre sintomas relacionados a olhos secos e boca seca. Não se exigiram exames complementares, como biópsia de glândulas salivares, nem cintilografia. Um número significativo destes pacientes com síndrome *sicca* pode ter os auto-anticorpos anti-Ro/SS-A e/ou anti-La/SS-A em níveis inferiores aos detectados pela técnica de imunodifusão, à semelhança dos achados relatados na literatura em pesquisa com adultos normais (JACOBSON et al., 1992).

Quando foi estudada a relação dos auto-anticorpos entre si, ficou evidenciada uma marcante associação do anticorpo anti-Sm com o anti-U1 RNP ( $p < 0,000001$ ) (tabela 26). Dos 29 pacientes que tinham anticorpos anti-Sm, 25 (86%) possuíam anticorpos anti-U1 RNP. A literatura evidencia que os anticorpos anti-Sm e anti-U1 RNP, são comumente encontrados juntos. Existem trabalhos evidenciando que quase todo o Sm está complexado com nRNP, embora o Sm possa se apresentar isoladamente (MATTIOLI & REICHLIN, 1974; TAN, 1982). Outra marcante associação encontrada foi do anti-La/SS-B com o anti-Ro/SS-A ( $p < 0,000001$ ). Dos 31 pacientes com anti-La/SS-B, 24 (77%) possuíam anticorpo anti-Ro/SS-A. Dos 41 pacientes com anti-Ro/SS-A, 24 (58%) tinham anticorpo anti-La/SS-B. A literatura destaca que o anti-Ro/SS-A pode, com alguma freqüência, ser encontrado só nos pacientes com LES, mas o achado isolado de anticorpos anti-La/SS-B é raro (MATTIOLI & REICHLIN, 1974; CRAFT & HARDIN, 1993). Embora não tão



marcantes, outras associações, estatisticamente significantes, foram encontradas: entre o anti-Sm e o anti-Ro/SS-A ( $p < 0,001$ ); entre o anti-Sm e o anti-La/SS-B ( $p < 0,0002$ ); e entre o anti-DNA<sub>n</sub> e o anti-Ro/SS-A ( $p < 0,01$ ) (tabela 26).

Este trabalho evidenciou diversificadas relações entre os achados clínicos e laboratoriais no LES. Inúmeras variáveis devem ser consideradas, na valorização dos auto-anticorpos como marcadores de expressão da doença. Os resultados freqüentemente conflitantes, entre as pesquisas, podem ser atribuídos não só à fascinante complexidade do LES, evidenciando síndromes e subsíndromes distintas, mas também a fatores genéticos, raciais e ambientais. Deve ser enfatizado o estado dinâmico dos componentes protéicos dos antígenos, de associação e dissociação entre si e com outras moléculas. Esta pesquisa, ilustra a necessidade do desenvolvimento de novas técnicas, mais sensíveis e específicas, de fácil execução e de custo acessível, para a detecção dos auto-anticorpos antinucleares, não só no LES, como em outras doenças nas quais os auto-anticorpos possam ter significado patogênico. Há necessidade de estudos buscando o real significado dos auto-anticorpos e sua associação com as variáveis clínicas.

## **8 - CONCLUSÕES**

A realização do presente trabalho conduziu às seguintes conclusões ( $p < 0,05$ ):

1.0 - O estudo da frequência dos auto-anticorpos antinucleares, pela reação de imunodifusão dupla em gel de agarose (OUCHTERLONY) e imunofluorescência, e das características clínico-laboratoriais de 120 pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), no Estado do Rio Grande do Sul, levou às seguintes conclusões:

1.1 - Há associação do auto-anticorpo anti-DNAn com a presença de serosite, alterações renais, nefrite tipo IV (OMS), convulsão mais psicose e convulsão e psicose, isoladamente.

1.2 - Há associação do auto-anticorpo anti-Ro/SS-A com serosite e alopecia.

1.3 - Há associação do auto-anticorpo anti-U1 RNP com o fenômeno de Raynaud.

2.0 - O estudo das possíveis relações, entre si, dos auto-anticorpos antinucleares analisados, levou às seguintes conclusões:

2.1 - Há associação do auto-anticorpo anti-Sm com os auto-anticorpos anti-U1 RNP, anti-Ro SS-A e anti-La/SS-B.

2.2 - Há associação do auto-anticorpo anti-La/SS-B com o anti-Ro/SS-A.

2.3 - Há associação do auto-anticorpo anti-Ro/SS-A com a presença do anti-DNAn.

2.4 - Há associação do auto-anticorpo anti-DNA<sub>n</sub> com o FAN padrão periférico.

2.5 - Há associação do auto-anticorpo anti-U1 RNP com o FAN padrão salpicado.

3.0 - As associações indicadas nos itens 1.0 e 2.0 não diferem das registradas na literatura médica internacional.

4.0 - Além das conclusões relacionadas aos objetivos específicos, buscados no presente estudo, o desenvolvimento do mesmo possibilitou as seguintes conclusões:

4.1 - Há associação entre a queda dos níveis séricos das frações do complemento com a nefrite tipo IV (OMS). Esta observação é concordante com os registros da literatura médica internacional.

4.2 - As manifestações clínicas mais freqüentes, na casuística estudada, foram: artrite e/ou artralgia, fotossensibilidade, *rash* malar, alopecia e fenômeno de Raynaud. A prevalência da fotossensibilidade e do fenômeno de Raynaud mostrou-se significativamente mais elevada que a registrada em estudos da literatura médica internacional, e pode se constituir em peculiaridades da população estudada.



**9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AARDEN, L.A.; DE GROOT, E.R.; FELTKAMP, T.E.W. - Immunology of DNA. III. Crithidia Lucilliae, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. Ann. N. Y. Acad. Sci., 254: 505-15, 1975.
- ABDOU, N.I.; WALL, H.; LINDSEY, H.B.; HALSEY, J.F. & SUZUKI, T. - Network theory in autoimmunity: in vitro suppression of serum anti-DNA antibody binding to DNA by anti-idiotypic antibody in systemic lupus erythematosus. J. Clin. Invest., 67: 1297-304, 1981.
- AHEARN, J.; PROVOST, T. T.; DORSCH, C. A.; STEVENS, M.; BIAS, W. & ARNETT, F. - Interrelationship of HLA-DR, MB and MT phenotypes, autoantibody expression, and clinical features in Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheum., 25 (9): 1031-40, 1982.
- AKIZUKI, M.; POWERS, R. & HOLMAN, H.R. - Soluble acidic protein of the cell nucleus which reacts with serum from patients with systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. J. Clin. Invest., 59: 264, 1977.
- ALEXANDER, E.L.; ARNETT, F.C.; PROVOST, T.T. & STEVENS, M.B. - Sjögren's syndrome: associations of anti-Ro(SSA) antibodies with vasculitis, hematologic abnormalities, and serologic hyperreactivity. Ann. Intern. Med., 98: 155-9, 1983.

- ALPKERT, S.D.; KOIDE, J.; TAKADA, S. & ENGLEMAN, R.G. - The cell regulatory disturbances in the rheumatic diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 13 (3): 431-45, 1987.
- ALSPAUGH, M. & MADDISON, P. - Resolution of the identity antigen-antibody systems in systemic lupus erythematosus and Sjögren syndrome: an interlaboratory collaboration. *Arthritis Rheum.*, 22(7): 796-8, 1979.
- ALSPAUGH, M.A. & TAN, E.M. - Antibodies to cellular antigens in Sjögren's Syndrome. *J. Clin. Invest.*, 55: 1067, 1975.
- ALVARELLOS, A.; AHEARN, J.M.; PROVOST, T.T. - Relationships os HLA-DR and MT antigens to autoantibody expression in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 26: 1533-35, 1983. (Letter).
- ANDERSON, J.R.; GRAY, K.G.; BECK, J.S.; BUCHANAN, W.W.; McELHINNEY, A.J. - Precipitating autoantibodies in the connective tissue diseases. *Ann. Rheum. Dis.*, 21: 360-9, 1962.
- ANDERSON, J.R.; GRAY, K.G.; BECK, J.S.; KINNEAR, W.F. - Precipitating autoantibodies in Sjögren's disease. *Lancet*, 2: 456-60, 1961.
- ANDREWS, B.S.; EISENBERG, R.A.; THEOFILOPOULOS, A.N. - Spontaneous murine lupus-like syndrome. Clinical and immunopathological manifestations in several strains. *J. Exp. Med.*, 148: 1198-215, 1978.

- ANGELO, M.J.O. - Estudo das reações de fixação do complemento, da imunofluorescência indireta e da inibição de hemaglutinação na Parvirose canina. São Paulo, 1983. (Tese - Doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).
- ARNETT, F.C. & REVEILLE, J.D. - Genetics of Systemic Lupus Erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 18(4): 865-892, 1992.
- ARNETT, F.C. - Familial systemic lupus erythematosus, the HLA system and the genetics lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L. - *Dubois' Lupus Erythematosus*. Philadelphia, Lea & Febiger, p.161-84, 1987.
- ARNETT, F.C.; REVEILLE, J.D.; PROVOST, T.T. & BIAS, W.B. - Systemic lupus erythematosus: current state of the genetic hypothesis. *Sem. Arthritis Rheum.*, 14 (1): 24-35, 1984.
- ASERO, R.; D'AGOSTINO, P.; BERTETTI, E.; ORIGGI, L. & RIBOLDI, P. - Clinical findings in patients with whose sera contain antibodies to ribosomal ribonucleoprotein. *Immunol. Letters* 18: 1-4, 1988.
- ASHERSON, R.A. & HUGHES, G.R.V. - Systemic lupus erythematosus. Clinical Features. In: SHUMACHER, H.R. - *Primer on the Rheumatic Diseases*. 9th ed. Atlanta, GA. Arthritis Foundation, p.96-100, 1988.



- ASHERSON, R.A.; FEI, H.M.; STAUB, H.L.; KHAMASHTA, M.A.; HUGHES, G.R.V.;  
FOX, R.I. - Antiphospholipid antibodies and HLA associations in  
primary Sjögren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.*, 51:495-98, 1992.
- ASSAD, R.L. - Comportamento dos anticorpos antinucleares em doenças difusas  
do tecido conjuntivo. São Paulo, 1984. (Tese - Mestrado - Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo).
- BAKOS, L. - Melanomas malignos e etnia. *An. Bras. Dermatol.*, 66(6): 299-  
302, 1991.
- BALOW, J.E. & AUSTIN III, H.A. - Renal disease in systemic lupus  
erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 117-33, 1988.
- BATCHELOR, J.R.; WELSH, K.I.; TINOCO, R.M.; DOLKRY, C.T.; HUGHES, G.R.V.;  
BERNSTEIN, R.; RYAN, P.; NAISH, P.F.; ABER, G.M.; BING, R.F. & RUSSEL,  
G.I. - Hidralazine induced systemic lupus erythematosus: influence of  
HLA-DR and sex on susceptibility. *Lancet*, 24: 1107-09, 1980.
- BECK, J.S. - Antinuclear antibodies: methods of detection and significance.  
*Mayo Clin. Proc.*, 44: 600, 1969.
- BECK, J.S. - Variations in the morphological patterns of "autoimmune"  
nuclear fluorescence. *Lancet*, 1:1203, 1961.

- BELL, D.A. & MADDISON, P.J. - Serologic subsets in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 23 (11): 1268-73, 1980.
- BENACERRAF, B. & GERMAIN, R. - The immune response genes of the major histocompatibility complex. *Immunol. Rev.*, 38: 70-119, 1978.
- BICKEL, Y.B.; BARNETT, E.V. & PEARSON, C.M. - Immunofluorescent patterns and especificity of human antinuclear antibodies. *Clin. Exp. Immunol.*, 3: 641, 1968.
- BOCKENSTEDT, L.K.; GOLDSMITH, M.A.; KORETZKY, G.A. & WEISS, A. - The activation of T lymphocytes. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 13 (3): 411-30, 1987.
- BONFA, E.; GOLOMBEK, S.J.; KAUFMAN, L.D.; SKELLY, S.; WEISSBACH, H.; BROT, N.; ELKON, K.B. - Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N. Engl. J. Med.*, 317(5): 265-71, 1987.
- BRENOL, J.C.T. - Os marcadores HLA-DR do lúpus eritematoso sistêmico do brasileiro caucasóide do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1989. (Dissertação de Mestrado - Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul).

- BUYON, J.P.; BKN-CHETRIT, E.; KARP, S. - Acquired congenital heart block: Pattern of maternal antibody response to biochemically defined antigens of the SSA/Ro-SSB/La system in neonatal lupus. *J. Clin. Invest.*, 84: 627-634, 1989.
- BUYON, J.P.; WINCHESTER, R.J.; SLADE, S.G.; ARNETT, F.; COPEL, J.; FRIEDMAN, D.; LOCKSHIN, M.D. - Identification of mothers at risk for congenital heart block and other neonatal lupus syndromes in their children. *Arthritis Rheum.*, 36 (9): 1263-73, 1993.
- CALLEN, J. P. - Mucocutaneous changes in patients with lupus erythematosus: The relationship of these lesions to systemic disease. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 79-97, 1988.
- CALMES, M. & BARTHOLOMEW, B.A. - SS-A (Ro) antibody in random mother-infant pairs. *J. Clin. Pathol.*, 38: 73-5, 1985
- CARETTE, S. - Cardiopulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 135-47, 1988.
- CATOGGIO, L.J.; SKINNER, R.P.; SMITH G. & MADDISON, P.J. - Systemic lupus erythematosus in the elderly: clinical and serologic characteristics. *J. Rheumatol.*, 11: 175-81, 1984.

- CELADA, A.; BARRAS, C.; BENZONANA, G. & JEANNET, M. - Increased frequency of HLA-DRw3 in systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens*, 15: 283-8, 1980.
- CHIORAZZI, N. - An overview of cellular immune function in systemic lupus erythematosus. In: LAHITA, R.G.. *Systemic Lupus Erythematosus*. New York, John Wiley & Sons, p. 23-63, 1987.
- CHRISTIAN, C.L. - Etiologic hypothesis for systemic lupus erythematosus. In: LAHITA, R.G.. *Systemic Lupus Erythematosus*. New York, John Wiley & Sons, p. 65-79, 1987.
- CLARK, G.; REICHLIN, M. & TOMASI, T. - Characterization of soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with SLE. *J. Immunol.*, 102: 117, 1969.
- CLELAND, L.G.; BELL, D.A.; WILLANS, M. & SAURINO, B.C. - Familial lupus. *Arthritis Rheum.*, 21 (2): 183-91, 1978.
- CRAFT, J. & HARDIN, J.A. - Antinuclear antibodies. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.164-171, 1993.
- CRAFT, J. - Antibodies to snRNPs in Systemic Lupus Erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 18 (2): 311-36, 1992.



CRONIN, M.E.; LEAIR, D.W.; JARONSKI, S.; LIGHTFOOT JR., R.W. - Simultaneous use of multiple serologic tests in assessing clinical activity in systemic lupus erythematosus. Clin. Immunol. Immunopathol., 51:99-109, 1989.

CRONIN, M.E. - Musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. Rheum. Dis. Clin. North Am., 14(1): 99-116, 1988.

CRUICKSHANK, B. - The basic pattern of tissue damage and pathology of systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.53-104, 1987.

DECKER, J.L. - Systemic lupus erythematosus contrasts and comparisons. Ann. Int. Med., 82: 391-404, 1975.

DECKER, J.L.; STEINBERG, A.D. & REINERTSEN, J.L. - Systemic lupus erythematosus: Evolving concepts. Ann. Intern. Med., 91: 587-604, 1979.

DUBOIS, E.L. & WALLACE, D.J. - Clinical and laboratory manifestations of systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.317-449, 1987.

- DUBOIS, E.L. & WALLACE, D.J. - Etiology and pathophysiology: introduction and historical review. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p. 33-37, 1987.
- DUBOIS, E.L.; STRAIN, A.L. & WALLACE, D.J. - The LE cell test. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p. 211-226, 1987.
- ELKON, K.B.; BONFA, E. & BROU, N. - Antiribosomal Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus. Rheum. Dis. Clin. North Am., 18 (2):377-90, 1992.
- FAUCI, A.S.; MACHER, A.M. & LONGO, D.L. - Acquired immunodeficiency syndrome: Epidemiologic, clinical, immunologic and therapeutic considerations. Ann. Intern. Med., 100: 92-106, 1984.
- FESSEL, W.J. - Epidemiology of systemic lupus erythematosus. Rheum. Dis. Clin. North Am., 14(1): 15-23, 1988.
- FESSEL, W.J. - Lupus erythematosus systemic in the community. Arch. Int. Med., 134:1027-35. 1974.
- FIELD, M.; WILLIAMS, D.G.; CHARLES, P & MAINI, R.N. - Specificity of anti-Sm antibodies by ELISA for systemic lupus erythematosus: increased sensitivity of detection using peptide antigens. Ann. Rheum. Dis., 47:820, 1988.

- FIELDER, A.H.L.; WALPORT, M.J.; BATCHELOR, J.R.; RYNES, R.I.; BLACK C.M.;  
DODI, I.A. & HUGHES, G.R.V. - Family study of the MHC in patients with  
systemic lupus erythematosus: importance of null cells of C4A and C4B  
in determining disease susceptibility. *Br. Med. J.*, 286: 425-8, 1983.
- FRIES, J.F. - Aspectos clínicos do lupus eritematoso sistêmico. *Med. Clin.  
North Am.*, 61(2): 229-39, 1977.
- FRIOU, G.J. -Clinical application of lupus serum-nucleoprotein reaction  
using fluorescent antibody technique. *J. Clin. Invest.*, 36: 890, 1957
- FRITZLER, M.J. - Autoantibodies: pathogenesis and disease. *Rev. Esp.  
Reumatol.*, 20 (suppl. 1): 15-16, 1993.
- FYE, K.H. & SACK K.E. - Rheumatic Diseases. In: STITES, D.P.; STOBO, J.D. &  
WELLS J.V.. *Basic & Clinical Immunology*, California, p.356-85, 1987.
- GAITHER, K.K.; FOX, O.F.; YAGAMATA, H.; MAMULA, M.J.; REICHLIN M. &  
HARLEY J.B. - Implications of anti-Ro/Sjögren's syndrome A antigen  
autoantibody in normal sera for autoimmunity. *J. Clin. Invest.*, 79:  
841-6, 1987.
- GINZLER, E.M. & SCHORN, K. - Outcome and prognosis in systemic lupus  
erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 67-78, 1988.

- GOLDSTEIN, R. & ARNETT, F.C. - The genetics of rheumatic disease in man. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 13 (3): 487-510, 1987.
- GRIFFING, W.L.; MOORE, S.B.; LUTHRA, H.S.; MACKENNA C.H. & FATHMAN, C.G. - Association of antibodies to native DNA with HLA-DRw3. *J. Exp. Med.*, 152: 319-25, 1980.
- HAHN, B.H. - Animal models of systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. *Dubois' Lupus Erythematosus*. Philadelphia, Lea & Febiger, p.130-60, 1987.
- HAMBURGER, M.; HODGS, S. & BARLAND, P. - The incidence and clinical significance of antibodies to extractable nuclear antigens. *Amer. J. Med. Sci.*, 273: 21, 1977.
- HAMILTON, R.G.; HARLEY, J.B.; BIAS, W.B.; ROKBBER, M.; REICHLIN, M.; HOCHBERG, M.C. & ARNETT, F.C. - Two Ro (SS-A) autoantibody responses in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 31 (4): 496-505, 1988.
- HARGRAVES, M.M.; RICHMOND, H. & MORTON, R. - Presentation of two bone marrow elements: the "tart" cells and the "L<sub>K</sub>" cell. *Mayo Clin. Proc.*, 23: 25, 1948.



- HARLEY, J.B. & GAITHER, K.K. - Autoantibodies. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14 (1): 43-56, 1988.
- HARLEY, J.B.; KAINÉ, J.L.; FOX, O.F.; REICHLIN, M. & GRUBER, B. - Ro(SS-A) antibody and antigen in a patient with congenital complete heart block. *Arthritis Rheum.*, 28(12): 1321-5, 1985.
- HARLEY, J.B.; SCOFIELD, R.H. & REICHLIN, M. - Anti-Ro in Sjögren's Syndrome and Systemic Lupus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 18 (2):337-58, 1992.
- HARLEY, J.B.; YAGAMATA, H. & REICHLIN, M. - Anti-La/SSB antibody is present in some normal sera and is coincident with anti-Ro/SSA precipitins in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 11: 309-14, 1984.
- HARMON, C.R.; DENG, J.S.; PEEBLES, C.L. & TAN, E.M. - The importance of tissue substrate in the SS-A/Ro antigen-antibody system. *Arthritis Rheum.*, 27(2): 166-73, 1984.
- HOCHBERG, M.C. & ARNETT, F.C. - Systemic lupus erythematosus epidemiology and genetics. *Md State Med. J.*, 32: 524-8, 1983.
- HOLBOROW, E.J.; WEIR, D.M. & JOHNSON, G.D. - A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Brit. Med. J.*, 2: 732, 1957.

- HOLMAN, H.R. - Partial purification and characterization of an extractable nuclear antigen which reacts with SLE sera. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 124: 800, 1965.
- HORS, J. - HLA et maladies. In: DAUSSET, J. & PLA, M.. HLA - Complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme. Paris, Flammarion Médecine-Sciences, p.227-56, 1985.
- HORWITZ, D.A. - Lymphocytes and immune regulation in systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.194-210, 1987.
- HUNNINGHAKE, G.W. & FAUCI, A.S. - Pulmonary involvement in the Collagen vascular diseases. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 119: 471-503, 1979.
- ISENBERG, D.A.; SHOENFELD, V. & SCHWARTZ, R.S. - Multiple serologic reactions and their relationship to clinical activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 27 (2): 132-38, 1984.
- JACOBSON, L.; HANSEN, B.; MANTHORPE, R.; HARDGRAVE, K.; NEAS, B. & HARLEY, J.B. - Association of dry eyes and dry mouth with anti-Ro/SSA and anti-La/SSB autoantibodies in normal adults. *Arthritis Rheum.*, 35(12): 1492-1501, 1992.

- JOHANSSON, E.A.; MUSTAKALLIO, K.K.; MATTILA, M.M. & TIILIKAINEN -  
Cutaneous reactions to drugs acetylation phenotype and without  
sistemic lupus erythematosus (SLE). Ann. Clin. Res., 8: 126-28, 1976.
- KACHRU, R.B.; SEQUEIRA, W.; MITTAL, K.; SIEGKL, M. & TELISCHI, M. - A  
significant increase of HLA-DR3 and DR2 in systemic lupus  
erythematosus among blacks. J. Rheumatol., 11: 471-4, 1984.
- KELLEY, W.N. - Textbook of Rheumatology 4th ed., Philadelphia, W.B. -  
Saunders Co., 1993.
- KIMBERLY, R.P. - Immune complexes in the rheumatic diseases. Rheum. Dis.  
Clin. North Am., 13 (3): 583-95, 1987.
- KLINAM, D.M. & STEINBERG, A.D. - Autoimmunity. In: LAHITA, R.G.. Systemic  
Lupus Erythematosus. New York, John Wiley & Sons, p.7-22, 1987.
- KOFFLER, D. - Laboratory evaluation of systemic lupus erythematosus. In:  
LAHITA, R.G.. Systemic lupus erythematosus. New York, John Wiley &  
Sons, p. 497-521, 1987.
- KOFFLER, D.; AGNELLO, V. & KUNKEL, H.G. - Polynucleotide Immune complexes  
in serum and glomeruli of patients with systemic lupus erythematosus.  
Am. J. Pathol., 74(1): p. 109-22, 1974.

- KOOPMAN, W.J. - Genetic control of immune response. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. Textbook of Rheumatology. Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.54-71, 1985.
- KRAEMER, E.S. - Proposição para uma nova abordagem clínico-laboratorial no lúpus eritematoso sistêmico utilizando a dosagem de C3d. São Paulo, 1991. (Tese - Doutorado - Escola Paulista de Medicina).
- KURLAND, L.T.; HAUSSER, W.A.; GERGUSON, R.H. & HOLLEY, K.E. - Epidemiologic features of diffuse connective tissue disorders in Rochester, Minn., 1951 through 1967, with especial reference to systemic lupus erythematosus. Mayo Clin. Proc., 44: 649, 1969.
- LACHMAN, P.J.; MULLER-EBERHARD, H.J.; KUNKEL, H.G. & PARONETTO, F. - The localization of in vivo bound complement in tissue section. J. Exp. Med., 115: 63, 1962.
- LACHMANN, P.J. & KUNKEL, H.G. - Correlation of antinuclear antibodies and nuclear staining patterns. Lancet, 2: 436, 1961.
- LAFER, E.M.; RAUCH, J. & ANDRZEJEWSKI, C. - Polyspecific monoclonal lupus autoantibodies reactive with both polynucleotides and phospholipids. J. Exp. Med., 153: 897-909, 1981.



- LAHITA, R.G. - Sex and age in systemic lupus erythematosus. In: LAHITA, R.G.. Sistemic lupus erythematosus. New York, John Wiley & sons, p.523-539, 1987.
- LAHITA, R.G.; BRADLOW, H.L.; KUNKEL, H.G. & FISHMAN, J. - Estrogen metabolism in systemic lupus erythematosus (patients and family members). *Arthritis Rheum.*, 25: 843-6, 1982.
- LANE, A. & WATSON, R.M. - Neonatal lupus erythematosus. *Am. J. Dis. Child*, 138: 663-6, 1984.
- LEE, S.L. & CHASE, P.H. - Drug-induced systemic lupus erythematosus: A critical review. *Semin. Arthritis Rheum.*, 5: 83-103, 1975.
- LERNER, M.R. & STEITZ, J.A. - Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 76(11): 5495-9, 1979.
- LERNER, R.M.; BOYLE, J.A.; MOUNT, S.M.; WOLIN, S.L.; STEITZ, J.A. - Are snRNPs involved in splicing ? *Nature*, 283: 220-4, 1980.
- LIANG, M.H.; STERN, S. & ESDAILE, J.M. - Systemic lupus erythematosus: an operational definition. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 57-66, 1988.

- LIEBERMAN, J.D. & SCHITTEN, S. - Treatment: disease-modifying therapies. Rheum. Dis. Clin. North Am., 14(1):223-43, 1988.
- LIEU, T.S.; NEWKIRK, M.M.; CAPRA, J.D. & SONTHEIMER, R.D. - Molecular characterization of human Ro/SS-A antigen. J. Clin. Invest., 82: 96-101, 1988.
- LITSEY, S.E.; NOONAM, J.A.; O'CONNOR, W.N.; COTTRILL, C.M. & MITCHELL, B. - Maternal connective tissue disease and congenital heart block. N. Engl. J. Med., 312(2): 98-100, 1985.
- MACHAY, I.- Autoimmunity in relation to lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L., Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.44-52, 1987.
- MADDISON P.J. & REICHLIN, M. - Deposition of antibodies to a soluble cytoplasmic antigen in the kidneys of patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum., 22(8): 858-63, 1979
- MADDISON, P.J. & REICHLIN, M. - Quantitation of precipitating antibodies to certain soluble nuclear antigens in SLE. Arthritis Rheum., 20(3): 819-24, 1977.
- MADDISON, P.J. - ANA-negative SLE. Clin. Rheum. Dis. 8(1): 105-19, 1982.

- MAINI, R.N. & HOLBOROW, E.J. - Detection and measurement of anti-DNA antibodies. *Ann. Rheum. Dis.*, 36 (Suppl.): 67, 1977.
- MAMULA, M.J.; SILVERMAN, E.D.; LAXER, R.M.; BENTUR, L.; ISACOVICS, B. & HARDIN, J.A. - Human monoclonal anti-La antibodies: the La protein resides on a subset of Ro particles. *J. Immunol.* 143(9): 2923-8, 1989.
- MATTIOLI, M. & REICHLIN, M. - Characterization of soluble nuclear ribonucleoprotein antigen reactive with SLE sera. *J. Immunol.*, 107: 1281, 1971.
- MATTIOLI, M. & REICHLIN, M. - Heterogeneity of RNA protein antigens reactive with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 17: 421, 1974.
- MATTIOLI, M. & REICHLIN, M. - Physical association of two nuclear antigens and mutual occurrence of their antibodies. The relationship of the Sm and RNA proteins (Mo) systems in SLE sera. *J. Immunol.*, 110: 1318, 1973.
- MCCARTY, D.J. - *Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology* Philadelphia, Lea & Febiger, 1993.
- MCCUNE, W.J. & GOLBUS, J. - Neuropsychiatric lupus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 149-67, 1988.

- MEDSGER Jr, T.A. & MASI, A.T. - Epidemiology of the rheumatic diseases. In: McCARTY, D.J.. Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology. Philadelphia, Lea & Febiger, p.9-39, 1985.
- MONESTIER, M. & KOTZIN, B.L. - Antibodies to Histones in Systemic Lupus Erythematosus and Drug-Induced Syndromes. Rheum. Dis. Clin. North Am., 18(2):415-36, 1992.
- MOROI, Y.; PEEBLES, C.; FRITZLER, M.J.; STEIGERWALD, J. & TAN, E.M. - Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. Proc. Nat. Acad. Sci., 77: 1627, 1980.
- MUNVES, E.F. & SCHUR, P.H. - Antibodies to Sm and RNP. Arthritis Rheum., 26: 848, 1983.
- NAKAMURA, R.M.; PEEBLES, C.L. & TAN, E.M. - Microhemagglutination test for detection of antibodies nuclear Sm and ribonucleoprotein antigens in systemic lupus erythematosus and related diseases. Amer. Clin. Path., 70: 800, 1978.
- NEPOM, B.S. & NEPOM, G.T. - Immunogenetics and the rheumatic diseases. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. Textbook of Rheumatology. Philadelphia, W.B. Saunders Co., p.89-104, 1993.



- NOTMAN, D.D.; KURATA, N. & TAN, E.M. - Profiles of antinuclear antibodies in systemic rheumatic diseases. *Ann. Intern. Med.*, 83: 464, 1975.
- OUCHTERLONY, O. - Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. *Progr. Allergy*, 5: 1, 1958.
- PEMBREY, M. - Impact of molecular biology on clinical genetics. *Br. Med. J.*, 295: 711-13, 1987.
- PETTERSSON, I.; HINTERBERGER, M.; MIMORI, T.; GOTTLIEB, E. & STREITZ, J.A. - The Structure of Mammalian Small Nuclear Ribonucleoproteins: Identification of multiple protein components reactive with anti-(U1)ribonucleoprotein and anti-Sm autoantibodies. *J. Biol. Chem.*, 259(9): 5907-14, 1984.
- PISETSKY, D.S. - Anti-DNA Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 18(2):437-54, 1992.
- PISETSKY, D.S. - Mechanisms of antinuclear antibody production in the rheumatic diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 13 (3): 569-81, 1987.
- PISETSKY, D.S. - Systemic lupus erythematosus. *The Med. Clin. North Am.*, 70 (2): 353-71, 1986.

- POLLAK, V.E. & PIRANI, C.L. - The kidney in systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.105-129, 1987.
- PROVOST, T.T.; WATSON, R.; GAMMON, W.R.; RADOWSKY, M.; HARLEY, J.B. & REICHLIN, M. - The neonatal lupus syndrome associated with U1RNP (nRNP) antibodies. N. Engl. J. Med., 316 (18): 1135-8, 1987.
- QUISMORIO Jr, F.P. - Other serologic abnormalities in systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.244-261, 1987.
- RAPAPORT, S.I. & FEINSTEIN, D.J. - Lupus anticoagulant and hemostatic problems. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E. L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.271-282, 1987.
- REEVES, W.H. & LAHITA, R.G. - Clinical presentation of systemic lupus erythematosus in the adult. In: LAHITA, R.G.. Systemic Lupus Erythematosus. New York, John Wiley & sons, p.355-382, 1987.
- REEVES, W.H. - Antibodies to the p70/p80 (Ku) antigens in systemic lupus erythematosus. Rheum. Dis. Clin. North Am., 18(2): 391-414, 1992.

- REICHLIN M. & HARLEY J.B. - Immune response to the RNA protein particles in systemic lupus erythematosus: a distinctive dichotomy. *Am. J. Med.*, 85(suppl 6A): 35-7, 1988.
- REICHLIN, M. & MATTIOLI M. - Correlation of a precipitin reaction to an RNA protein antigen and a low prevalence of nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.*, 286: 908-11, 1972.
- REINERSTEN, J.L.; KLIPPEL, J.H.; JOHNSON, A.H.; STEINBERG, A.D.; DECKER, J.L. & MANN, D.L. - Family studies of B lymphocyte alloantigens in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 9: 253-62, 1982.
- REINERTSEN, J.L.; KLIPPEL, J.H.; JOHNSON, A.H.; STEINBERG, A.D.; DECKER, J.L. & MANN, D.L. - B lymphocyte alloantigens associated with systemic lupus erythematosus. *N. Eng. J. Med.*, 299: 515-8, 1978.
- RIGBY, R.J.; DAWINS, R.L.; WETHERALL, J.D. & HAWKINS, B.R. - HLA in systemic lupus erythematosus: influence on severity. *Tissue Antigens*, 12: 25-31, 1978.
- RITCHIE, R.F. - Two new antinuclear antibodies: their relationship to the homogeneous immunofluorescent pattern. *Arthritis Rheum.*, 11: 37, 1968.

- ROBINS, W.C.; HOLMANJ, H.R.; DEICHER, H.; KUNKEL, H.G. - Complement fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 96: 575-9, 1957.
- ROTHFIELD, N. - Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. Textbook of Rheumatology. Philadelphia, W.B. Saunders C., p.1070-1097, 1985.
- ROTHFIELD, N.F. & STOLLAR, B.D. - The relation of immunoglobulin class, pattern of antinuclear antibody and complement-fixing antibodies to DNA in sera from patients with systemic lupus erythematosus. J. Clin. Invest., 46: 1785, 1967.
- ROTHFIELD, N.F. - Systemic lupus erythematosus: clinical aspects and treatment. In: McCARTY, D.J.. Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology. Philadelphia, Lea & Febiger, p.911-935, 1985.
- ROWELL, N.R. - The natural history of lupus erythematosus. Clin. Exp. Dermatol., 9:217-31, 1984.
- SAITTA, M.R. & KEENE, J.D. - Molecular Biology of Nuclear Autoantigens. Rheum. Dis. Clin. North Am., 18(2):283-310, 1992.



- SATO, E.I. - Estudo familiar do lúpus eritematoso sistêmico. São Paulo, 1986. (Tese - Doutorado - Escola Paulista de Medicina).
- SCHIFFENBAUER, J. & SCHWARTZ, B.D. - The HLA complex its relationship to rheumatic diseases. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 13 (3): 463-85, 1987.
- SCHUR, P.H. - Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia, W.B. Saunders Co., v.2, p.1017-1042, 1993.
- SCHUR, P.H. - Complement and immune complexes in systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. *Dubois' Lupus Erythematosus*. Philadelphia, Lea & Febiger, p.185-193, 1987.
- SCHWARTZ, B.D. - The human major histocompatibility HLA complex. In: STITES, D.P.; STOBO, J.D. & WELLS, J.V.. *Basic & Clinical Immunology*. California, p.50-64, 1987.
- SCOTT, J.S.; MADDISON, M.D.; TAYLOR, P.V.; ESSCHER, M.D.; SCOTT, O. & SKINNER, R.P. - Connective-tissue disease, antibodies to ribonucleoprotein, and congenital heart block. *N. Engl. J. Med.*, 309(4): 209-12, 1983.

- SENALDI, G.; MAKINDE, V.A.; VERGANI, D.; ISENBERG, D.A. - Correlation of the activation of the fourth component of complement (C4) with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.*, 47:913-7, 1988.
- SESTAK, A.L.; HARKEY, J.B.; YOSHIDA, S. & REICHLIN, M. - Lupus/ Sjögren autoantibody specificities in sera with paraproteins. *J. Clin. Invest.*, 80: 138-44, 1987.
- SHARP, G.C.; IRVIN, W.S.; MAY, C.M. & HOLMAN, H.R. - Association of antibodies to ribonucleoprotein and Sm antigens with mixed connective tissue disease systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. *New Engl. J. Med.*, 295: 1149, 1976.
- SHARP, G.C.; IRVIN, W.S.; TAN, R.M., et al. - Mixed connective tissue disease - an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am. J. Med.*, 52:148-159, 1972.
- SHULMAN, L.R. - Systemic lupus erythematosus and the chronic biologic false-positive test for syphilis. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L., Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.262-270, 1987.

- SMEENK, R. - Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. Rev. Esp. Reumatol., 20 (suppl. 1): 118-19, 1993.
- SMITH, C.D. & CYR, M. - The history of lupus erythematosus: from Hippocrates to Osler. Rheum. Dis. Clin. North Am., 14(1): 1-14, 1988.
- SMOLEN, J.S.; CHUSED, T.M. & LEISERSON, W.M. - Heterogeneity of immunoregulatory T cell subsets in systemic lupus erythematosus. Correlation with clinical features. Am. J. Med., 72: 783-90, 1982.
- SOLINGER, A.M. - Drug-related lupus: clinical and etiologic considerations. Rheum. Dis. Clin. North Am., 14(1): 187-202, 1988.
- SONTHEIMER, R.D.; PETER, M.D.; MADDISON, P.J.; REICHLIN, M.; JORDON, R.E.; STASTNY, P. & GILLIAM J.N. - Serologic and HLA associations in subacute cutaneous lupus erythematosus, a clinical subset of lupus erythematosus. Ann. Intern. Med., 97: 664-71, 1982.
- SOUZA, N.M. - Análise de correspondência. Cadernos de Matemática. Porto Alegre, Editora UFRGS, série D, n. 4, 56 pg, 1991.
- St. CLAIR, E.W. - Anti-La Antibodies. Rheum. Dis. Clin. North Am., 18(2): 359-76, 1992.

- STAVITSKY, A.B. - Micro methods for the study of proteins and antibodies.  
I. Procedure and general applications of hemagglutination and  
hemagglutination-inhibition reactions with tannic acid and protein-  
treated red blood cells. *J. Immunol.*, 72: 360, 1954.
- STEINBERG, A.D. & KLINMAN, D.M. - Pathogenesis of systemic lupus  
erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 14(1): 25-41, 1988.
- STEINBERG, A.D.; HUSTON, D.P. & TAUROG, J.D. - The cellular and genetic  
basis of murine lupus. *Immunol. Rev.*, 55: 121-54, 1981.
- STEINBERG, A.D.; RAVECHE, E.S. & LASKIN, C.A. - Systemic lupus  
erythematosus: Insights from animal models. *Ann. Intern. Med.*,  
100: 714-27, 1984.
- STITES, D.P. & RODGES, R.P. - Clinical laboratory methods for detections of  
antigens & antibodies. In: STITES, D.P.; STOBO, J.D. & WELLS J.V..  
*Basic & Clinical Immunology*. California, p. 241-287, 1987.
- STITES, D.P. - Clinical laboratory methods for detection of cellular immune  
functions. In: STITES D.P.; STOBO, J.D. & WELLS, J.V.. *Basic &  
Clinical Immunology*, p.285-303, California, 1987.



- TALAL, N. - The etiology of systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.39-43, 1987.
- TALBOT, J.H. - Historical background of discoid and systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus erythematosus. Philadelphia, Lea & Febiger, p.3-37, 1987.
- TAN, E.M. & KUNKEL H.G. - Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. J. Immunol., 96(3): 464-71, 1966.
- TAN, E.M. & RODNAM, G.P. - Report of an antigen present in scleroderma patients. Arthritis Rheum., 18: 430, 1975 (Abstr.).
- TAN, E.M. - Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their immunobiology and medicine. Advanc. Immunol., 33:167, 1982
- TAN, E.M. - Relationship of nuclear staining patterns with precipitating antibodies in SLE. J. Lab. Clin. Med., 70:800, 1967.
- TAN, E.M. - Systemic lupus erythematosus: Immunologic aspects. In: McCARTY, D.J.. Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology. Philadelphia, Lea & Febiger, p. 936-941, 1985.

- TAN, E.M.; CHRISTIAN, C. & HOLMAN, H.R. - Antitissue antibodies in rheumatic disease. Standardization and nomenclature. *Arthritis Rheum.*, 20: 1419, 1977.
- TAN, E.M.; COHEN, A.S.; FRIES, J.F.; MASI, A.T.; McSHANE, D.J.; TOTFIELD, N.F.; SCHALLER, J.G.; TALAL, N. & WINCHESTER, R.J. - The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 25 (11): 1271-77, 1982.
- TAN, E.M.; ROBINSON, J. & ROBITAILE, P. - Studies on antibodies to histone by immunofluorescence. *Scand. J. Immunol.*, 5: 811, 1976.
- VALENTJIN, M.B.; VAN OVERHAGEN, H.; HAZEVOET, H.M.; HERMANS, T.; CATS, A.; DAHA, M.R.; VAN ES, L.A. - The value of complement and immune complex determinations in monitoring disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 28:904-13, 1985.
- VAN DER WOUDE, F.J.; VAN DER GIESSEN, M.; KALLENBERG, C.G.; OUWEHAND, W.; BEEKHUIS, H.; BERLEN, J.M.; VAN SON, W.; HOEDEMAEKER, J.; VAN DER HEM, G.K. & THE, T.H. - Reticuloendotelial Fc receptor function in systemic lupus erythematosus patients. I. Primary HLA linked defect or acquired dysfunction secondary to disease activity ? *Clin. Exp. Immunol.*, 55: 473-80, 1984.

VAN DER WOUDE, F.J.; VAN DER GIESSEN, M.; KALLENBERG, C.G.; OUWEHAND, W.;  
BEEKHUIS, H.; BEELEN, J.M.; VAN SON, W.; HOEDEMAEKER, J.; VAN DER HEM,  
G.K. & THE, T.H. - Reticuloendotelial Fc receptor function in systemic  
lupus erythematosus patients. II. Associations with humoral immune  
response parameters in vivo and in vitro. Clin. Exp. Immunol., 55:  
481-486, 1984.

WALLACE, D.J.; PODELL, T.; WEINER, J.; KLINENBERG, J.R.; FOROUZESKH, S. &  
DUBOIS, E.L. - Systemic lupus erythematosus - survival patterns. JAMA,  
245 (9): 934-938, 1981.

WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L. - Lupus, pregnancy, and neonatal lupus. In:  
WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus.  
Philadelphia, Lea & Febiger, p.565-579, 1987.

WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L. - Definition, classification and  
epidemiology of systemic lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. &  
DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus. Philadelphia, Lea &  
Febiger, p.15-32, 1987.

WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L. - Psychopathology of the lupus patient. In:  
WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. Dubois' Lupus Erythematosus.  
Philadelphia, Lea & Febiger, p.488-500, 1987.

- WALPORT, M.J.; BLACK, C.M. & BATCHLOR, J.R. - The immunogenetics of systemic lupus erythematosus. *Clin. Rheum. Dis.*, 8 (1): 3-21, 1982.
- WATSON, R.M.; LANE, A.T. & BARNETT, N.K. - Neonatal lupus erythematosus. A clinical, serological and immunogenetic study with review of the literature. *Medicine*, 63: 362-78, 1984.
- WILSON, M.R. - Antinuclear antibodies and anticytoplasmic antibodies in lupus erythematosus. In: WALLACE, D.J. & DUBOIS, E.L.. *Dubois' Lupus Erythematosus*. Philadelphia, Lea & Febiger, p.227-243, 1987.
- WINCHESTER, R.J. & LAHITA, R.G. - Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus. In: LAHITA, R.G.. *Systemic Lupus Erythematosus*. New York, John Wiley & Sons, p.81-118, 1987.
- WINFIELD J.B.; BRUNNER, C.M. & KOFFLER D. - Serologic studies in patients with systemic lupus erythematosus and central nervous system dysfunction. *Arthritis Rheum.*, 21(3): 289-94, 1978.
- WINFIELD, J.B.; FAIFERMAN, I. & KOFFLER, D. - Activity of anti-DNA antibodies in serum and IgG glomerular eluates from patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.*, 59: p. 90-6, 1977.



WINN, D.M.; WOLFE, J.F.; HARMON, D. & SHARP, G.C. - Characterization of a distinct nuclear acidic protein antigen (MA) and clinical findings in systemic lupus erythematosus patients with MA antibodies. *J. Clin. Invest.*, 64: 820, 1979.

WINN, D.M.; WOLFE, J.F.; LINDBERG, D.A.; FRISTOE, F.A.; KINGLAND, L. & SHARP, G.C. - Identificacion of a clinical subject of systemic lupus erythematosus by antibodies to the Sm antigen. *Arthritis Rheum.*, 22:1334, 1979.

WOODS JR, V.L. - Etiology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia, W.B. Saunders Co., v.2, p.999-1007, 1993.

YOCUM, M.W.; GROSSMAN, J. & WATERHOUSE, C. - Monozygotic twin discordant for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 18: 193-9, 1975.

YUNIS, E. - The cellular and humoral basis of the imune response. *Sem. Arthritis Rheum.*, 13 (suppl.1): 89-93, 1983.

ZVAIFLER, N.J. & WOODS JR, V.L. - Etiology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In: KELLEY, W.N.; HARRIS, E.D.; RUDDY, S. & SLEDGE, C.B.. *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia, W.B. Saunders Co., v.2, p.1042-1070, 1985.

FONTE CONSULTADA

BIREME- CENTRO LATINO-AMERICANO E DO CARIBE DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA DA SAÚDE - Normas para a apresentação de dissertações e teses. São Paulo, 1990. 45 p.

**ANEXO**

CRITÉRIOS	DEFINIÇÃO
1-RASH MALAR	Eritema fixo, plano ou elevado, sobre as eminências malares, com tendência a evitar os sulcos nasolabiais.
2-LÚPUS DISCÓIDE	Placas eritematosas elevadas com escamas queratóticas aderentes e espículas foliculares; nas lesões antigas pode existir cicatrização atrófica.
3-FOTOSENSIBILIDADE	Exantema cutâneo, como reação inusual à exposição solar, referido na história do paciente ou observado pelo médico.
4-ÚLCERAS ORAIS	Úlceras orais ou nasofaríngeas, geralmente indolores, observadas pelo médico.
5-ARTRITE	Artrite não erosiva que afeta duas ou mais articulações periféricas, caracterizada por dolorimento, tumefação ou derrame.
6-SEROSITE	a) Pleurite - história convincente de dor pleurítica ou atrito auscultado pelo médico, ou evidência de derrame pleural OU b) Pericardite - documentada por ECG ou atrito, ou evidência de derrame pericárdico.
7-ALTERAÇÃO RENAL	a) Proteinúria persistente maior do que 0,5g/dia ou maior do que 3+, se a quantificação não foi feita OU b) Sedimento com hemácias, hemoglobina, cilindros granulares, tubulares ou mistos.
8-ALTERAÇÃO NEUROLÓGICA	a) Convulsões - na ausência de fármacos convulsivantes ou alterações metabólicas; ex.: uremia, cetoacidose ou desequilíbrio eletrolítico OU b) Psicose - na ausência de fármacos que induzem à psicose ou alterações metabólicas; ex.: uremia, cetoacidose ou desequilíbrio eletrolítico.
9-ALTERAÇÃO HEMATOLÓGICA	a) Anemia hemolítica - com reticulocitose OU b) Leucopenia - menor do que 4000/mm <sup>3</sup> em 2 ou mais ocasiões OU c) Linfocitopenia - menor do que 1500/mm <sup>3</sup> em 2 ou mais ocasiões OU d) Trombocitopenia - menor do que 100.000/mm <sup>3</sup> na ausência de fármacos trombocitopênicos.
10-ALTERAÇÃO IMUNOLÓGICA	a) Célula LE positiva OU b) Anti-DNA: anticorpo anti-DNA nativo em títulos anormais OU c) Anti-Sm: anticorpo contra o antígeno nuclear Sm OU d) Teste sorológico falso-positivo para Lues, durante pelo menos 6 meses e confirmado pelo teste de imobilização do <i>treponema pallidum</i> ou fluorescência.
11-ANTICORPO ANTINUCLEAR	Um título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência ou um método equivalente, em qualquer momento da doença, na ausência de fármacos associados à síndrome lúpus droga relacionado.

OBS.: PARA O DIAGNÓSTICO SÃO NECESSÁRIOS 4 OU MAIS CRITÉRIOS  
(TAN et al., 1982)