

## Auto-Anticorpos na Esclerose Sistêmica (ES)<sup>(\*)</sup>

### *Autoantibody in the Systemic Sclerosis (SS)*

Luís Eduardo Coelho Andrade<sup>(1)</sup> e Paulo Guilherme Leser<sup>(2)</sup>

#### RESUMO

A esclerose sistêmica (ES) é uma enfermidade inflamatória crônica idiopática, cujo principal indício de vínculo com a auto-imunidade é a presença de auto-anticorpos na maior parte dos pacientes. Pelo teste de imunofluorescência indireta em células HEP-2, observa-se reatividade predominantemente contra o nucléolo e o núcleo, sendo que títulos de anticorpos antinúcleolo acima de 1/640 são fortemente sugestivos de ES. Alguns desses auto-anticorpos apresentam alta especificidade para a ES, sendo considerados marcadores diagnósticos dessa enfermidade. São exemplos os anticorpos anti-Scl-70, antifibrilarina e anti-RNA polimerase I. Outros apresentam interessantes associações com manifestações específicas da ES, como os anticorpos anticentrômero, associados às formas limitadas, os anticorpos anti-RNA polimerase III, associados ao extenso comprometimento da pele, e os anticorpos anti-To/Th, associados às formas limitadas com propensão ao desenvolvimento de hipertensão pulmonar. Algumas dessas associações estão bem estabelecidas em diversos estudos, de diferentes grupos de pesquisadores. Outras, entretanto, devem ser vistas com cautela, pois a exigüidade de casos disponíveis para estudo pode ensejar conclusões preliminares e não acuradas. A detecção de anticorpos anticentrômero por técnica de IFI e anti-Scl-70 por imunodifusão dupla ou por ELISA está disponível nos principais laboratórios clínicos capacitados na área de auto-imunidade. O mesmo não se aplica para a maior parte dos demais auto-anticorpos associados à ES. Espera-se que, com a implementação rotineira de técnicas para detecção desses outros auto-anticorpos, o real significado clínico dos mesmos venha a ser melhor conhecido.

**Palavras-chave:** esclerose sistêmica (ES), auto-anticorpos, centrômero, esclerodermia, anticorpos antinúcleo.

#### ABSTRACT

*Systemic Sclerosis (SS) is a chronic idiopathic inflammatory disease whose main hint towards autoimmunity is given by the presence of high serum levels of autoantibodies in the majority of the patients. In indirect immunofluorescence in HEP-2 cells, there is predominant reactivity against the nucleolus and the nucleus. Some of the autoantibodies depict high specificity for SS, to the point of being considered as diagnostic markers for the disease. Examples are anti-Scl-70, antifibrillar, and anti-RNA polymerase I antibodies. Some other autoantibodies present an interesting association with particular features of ES, such as anticentromere antibodies associated with the limited forms of disease, anti-RNA polymerase III antibodies associated with extensive skin involvement, and anti-To/Th antibodies associated with limited forms with propensity to the development of pulmonary hypertension. Some of these associations have been well established through several studies by distinct groups of investigators. Others, however, should be regarded with caution, since the exiguity of patients available for study may induce preliminary and inaccurate conclusions. The identification of anticentromere and anti-Scl-70 antibodies is available in most clinical laboratories with specific interest in autoimmunity. The same is not true for most of the autoantibody specificities associated with SS. The possible implementation of these rarer autoantibodies in routine laboratories might be decisive in providing more definitive evidence of their clinical associations.*

**Keywords:** Systemic Sclerosis (SE), autoantibody, scleroderma, antinuclear antibody.

\* Disciplina de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina (Unifesp/EPM). Recebido em 12/01/2004. Aprovado, após revisão, em 15/03/2004.

1. Disciplina de Reumatologia da Unifesp/EPM.  
2. Instituto de Pesquisa Fleury

Endereço para correspondência: Luís Eduardo Coelho Andrade. Disciplina de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina (Unifesp/EPM). R. Botucatu 740, 3.º andar, São Paulo, SP, CEP 04023-062. E-mail: luis@reumato.epm.br.

## INTRODUÇÃO

A esclerose sistêmica (ES) é uma doença inflamatória sistêmica crônica idiopática. Embora sua etiopatogenia não seja totalmente conhecida, há três vertentes principais em sua fisiopatologia: hiperatividade de fibroblastos, microangiopatia endoproliferativa e distúrbios imunitários sugestivos de auto-imunidade. Esta última tem sua expressão majoritária caracterizada pela presença de altos níveis séricos de auto-anticorpos voltados contra constituintes do núcleo e, principalmente, do nucléolo. Estima-se que 80% ou mais dos pacientes com ES tenham algum auto-anticorpo. Alguns desses auto-anticorpos apresentam associação restrita com a ES, o que lhes confere considerável valor diagnóstico. Outros estão associados a determinados traços fenotípicos da doença, passando a apresentar conotação prognóstica.

O método ideal para rastreamento de auto-anticorpos na ES é o teste de imunofluorescência indireta em células HEp-2. Para alguns auto-anticorpos, o padrão morfológico observado à imunofluorescência indireta é suficiente para definição da especificidade do auto-anticorpo. Para a maior parte, entretanto, o padrão é insuficiente, havendo necessidade de outros testes para identificação do auto-anticorpo em questão. Entre os métodos utilizados para identificação dos auto-anticorpos, encontram-se a imunodifusão dupla, a contraímunoeletroforese, a hemaglutinação passiva, os testes imunoenzimáticos, o *immunoblot* e os testes de imunoprecipitação. Uma parcela considerável dos auto-anticorpos de interesse para a ES é identificada por métodos de aplicação restrita aos laboratórios de pesquisa. Por esse motivo, vários desses auto-anticorpos não estão disponíveis rotineiramente nos laboratórios clínicos.

Os auto-anticorpos na ES apresentam as características fundamentais de uma resposta desencadeada por antígeno (*antigen driven*), tais como altos títulos, isotipo IgG e reconhecimento de múltiplos epítomos no auto-antígeno. Embora os auto-anticorpos sejam um fenômeno freqüente, ocorrendo em cerca de 80% dos pacientes, a resposta auto-imune na ES apresenta caráter mais restrito que no LES ou na SSj, observando-se usualmente apenas um único auto-anticorpo no soro de um paciente individual.

Parentes de primeiro grau de pacientes com ES não compartilham dos auto-anticorpos<sup>(1)</sup>. Em gêmeos monozigóticos discordantes para ES, os auto-anticorpos segregam com a presença da doença<sup>(2)</sup>.

A seguir serão discutidos os principais auto-anticorpos relacionados com a ES. As freqüências citadas dos auto-anticorpos apresentam ampla variação, pois refletem os estudos de diferentes autores em diversas partes do mundo e com a utilização de técnicas distintas. Uma sinopse das principais características dos auto-anticorpos está apresentada na Tabela 1, onde a freqüência dos auto-anticorpos reflete uma estimativa mais conservadora e de consenso. Um alerta especial deve ser feito sobre as associações clínicas relatadas para os auto-anticorpos de baixa prevalência, pois a exigüidade de casos disponíveis pode ensejar conclusões precipitadas e não acuradas.

### ANTICORPOS ANTICENTRÔMERO

Os anticorpos anticentrômero ocorrem em 55% a 80% dos pacientes com a forma limitada de ES<sup>(3-5)</sup>. São mais freqüentes em pacientes brancos e naqueles com mais de 50 anos. Embora altamente relacionados com a ES, os anticorpos anticentrômero não são totalmente exclusivos dessa enfermidade, podendo ser encontrados raramente em pacientes com cirrose biliar primária, síndrome de Sjögren e no lúpus eritematoso sistêmico (LES)<sup>(4,6-8)</sup>. Quando presentes em pacientes com fenômeno de Raynaud isolado representam um risco aumentado 63 vezes para ulterior desenvolvimento de doença reumática auto-imune<sup>(9)</sup>.

Os anticorpos anticentrômero reconhecem três proteínas do centrômero, CENP-A, CENP-B, e CENP-C, que compartilham epítomos em comum. O antígeno CENP-B parece ser o mais universalmente reconhecido<sup>(10)</sup>, razão pela qual os ensaios de ELISA para anticorpos anticentrômero utilizam a proteína CENP-B recombinante como substrato<sup>(11)</sup>. Entretanto, alguns raros soros reconhecem exclusivamente a proteína CENP-A ou CENP-C. Os anticorpos anticentrômero costumam ser bastante estáveis ao longo dos anos, não havendo correlação entre seus níveis séricos e a atividade de doença<sup>(9)</sup>.

Estudos imunogenéticos têm evidenciado a associação entre anticorpos anticentrômero e os alelos HLA-DR1, DR4 e DR8<sup>(12)</sup>. O aprofundamento desses estudos tem demonstrado que essa associação é definida pela ausência de leucina na posição 26 da molécula DQB1<sup>(13)</sup>.

O aspecto observado na IFI em células HEp-2 é suficientemente específico para permitir a identificação definitiva dos anticorpos anticentrômero (Figura 1). Existe também a possibilidade de detecção por ELISA e *immunoblot*, embora a IFI permaneça como o ensaio mais sensível e específico para este auto-anticorpo<sup>(9)</sup>.

TABELA 1  
CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS DOS AUTO-ANTICORPOS ASSOCIADOS À ESCLEROSE SISTÊMICA

Auto-anticorpo	Prevalência	Especificidade	Associações
Scl-70	18%-30% de todas as formas 40%-70% das formas difusas 10%-15% das formas limitadas	Mais de 99%	Fibrose pulmonar, envolvimento visceral, maior mortalidade
Centrômero	15%-43% de todas as formas 55%-80% das formas limitadas 3%-10% das formas difusas	Moderada	Menor envolvimento visceral
Fibrilarina (U3-RNP)	6%-8% das formas difusas 10% das formas limitadas	Alta	HA pulmonar, miopatia, jejuno
Fibrilina	30%-49% de todas as formas	Baixa	Nada digno de nota
Th/TO	5%-10% de todas as formas 10%-20% das formas limitadas	Alta	HA pulmonar
PM-Scl	3% de todas as formas	Baixa	Miopatia
RNA polimerase I	4%-11%	Alta	Mau prognóstico (rim, coração)
RNA polimerase II	5%-30%	Baixa	Doença difusa, acro-osteólise
RNA polimerase III	5%-25%	Alta	Intenso envolvimento da pele
Ku	<5% de ES pura 5%-25% de formas ES/PM	Baixa	Miopatia, HA pulmonar
NOR-90	<5%	Baixa	Não definido
sn-RNP	5%-10% de todas as formas 25% das formas ES/PM >95% de DMTC	Baixa	Miopatia, mãos em pão, dedos em salsicha
SS-A/Ro	4%-10%	Baixa	Fibrose pulmonar

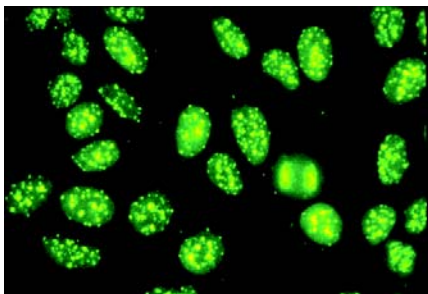


FIGURA 1 – Imunofluorescência indireta em células HEp-2 testadas com soro contendo anticorpos anticentrômero. Magnificação de 400 vezes.

#### **ANTICORPOS ANTI-DNA TOPOISOMERASE I (SCL-70)**

Os anticorpos anti-Scl-70 foram inicialmente identificados por imunodifusão dupla como um sistema independente associado às formas difusas da ES. Por *immunoblot*, seu peso molecular foi inicialmente estimado em 70kDa. Posteriormente, mostrou-se que a reatividade de 70kDa correspondia a um produto de degradação parcial do antígeno original, que tem um peso de 100kDa. Anticorpos anti-Scl-70 são voltados contra a DNA topoisomerase I, enzima responsável pelo relaxamento da dupla hélice de DNA durante os processos de transcrição e duplicação. Os auto-

anticorpos anti-Scl-70 são capazes de inibir a ação da DNA topoisomerase I em sistemas *in vitro*.

A sensibilidade dos anticorpos anti-Scl-70 na ES tem sido variável, encontrada em 26% a 76% dos pacientes, conforme a população e a metodologia utilizada<sup>(14,15)</sup>. A especificidade é de 98% a 99,6%<sup>(16)</sup>. São encontrados em 40% a 70% dos pacientes com a forma difusa da ES<sup>(17-19)</sup>, e em cerca de 10% a 18% daqueles com a forma limitada<sup>(20)</sup>. São mais freqüentes em pacientes com menos de 50 anos de idade. Têm sido descritos com maior freqüência em negros que em brancos<sup>(21)</sup>. O encontro desse anticorpo em paciente com fenômeno de Raynaud isolado permite supor a evolução do quadro para ES<sup>(22)</sup>.

Os anticorpos anti-Scl-70 foram associados à mortalidade aumentada em um estudo longitudinal de cinco anos<sup>(23)</sup>. Também têm sido associados ao envolvimento cardíaco, renal e do interstício pulmonar<sup>(3,24,25)</sup>. Alguns estudos longitudinais em pacientes isolados têm apresentado melhora da doença associada à diminuição dos níveis ou desaparecimento dos anticorpos anti-Scl-70<sup>(26)</sup> e exacerbação ou envolvimento de órgãos associados ao aumento dos níveis ou aparecimento de anticorpos anti-Scl-70<sup>(27)</sup>. Alguns estudos têm sugerido associação entre anti-Scl-70 e coexistência de neoplasias malignas<sup>(28-30)</sup>. Um interessante estudo sobre a especificidade fina dos anticorpos anti-Scl-70 avaliou a reatividade contra um painel de 63 oligopeptídeos de 20 aminoácidos abrangendo toda a extensão da molécula. Os autores puderam identificar 4 epítomos dominantes e 3 desses estavam fortemente associados à presença de pneumopatia intersticial<sup>(31)</sup>.

Estudos imunogenéticos em pacientes portadores de anticorpos anti-Scl-70 têm demonstrado associação desses auto-anticorpos com o alelo DR-11 do complexo principal de histocompatibilidade<sup>(12)</sup> e, mais especificamente, com a presença de uma tirosina na posição 30 da molécula DQB1<sup>(32)</sup>. Além da associação imunogenética, os anticorpos anti-Scl-70 apresentam freqüência aumentada em pacientes com ES e exposição à sílica e solventes<sup>(33,34)</sup>.

O modelo murino TSK1, que apresenta fenótipo superponível à ES, apresenta anticorpos anti-Scl-70<sup>(35)</sup>. Este modelo apresenta duplicação do gene da fibrilina-1. Interessantemente, alguns pacientes com ES apresentam anticorpos antifibrilina<sup>(36)</sup>.

Por imunofluorescência indireta em células HEp-2, os anticorpos anti-Scl-70 ocasionam um aspecto característico das células em interfase, representado por um padrão nuclear pontilhado fino tendendo a homogêneo, com eventual acentuação da coloração do nucléolo. A placa cromossô-

mica em células mitóticas está caracteristicamente corada de forma pontilhada fina densa (Figura 2). Embora característico, este conjunto não é absolutamente específico. Para identificação definitiva pode ser empregada a imunodifusão dupla, contraímunoelctroforese, ELISA, imunoprecipitação e *immunoblot*. Os dois primeiros apresentam maior especificidade e melhor correlação com os achados clínicos. Já os resultados obtidos pela técnica ELISA devem sempre ser avaliados com cautela, em razão de a metodologia apresentar grande sensibilidade e da possibilidade de resultados falso-positivos.

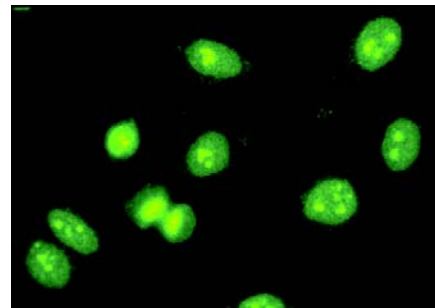


FIGURA 2 – Imunofluorescência indireta em células HEp-2 testadas com soro contendo anticorpos Scl-70. Magnificação de 400 vezes.

#### ANTICORPOS ANTIFIBRILARINA (U3-RNP)

A fibrilarina é uma fosfoproteína de 34kDa, que faz parte do complexo nucleolar U3-RNP, envolvido no processamento do RNA ribossômico. Por isso a fibrilarina está altamente concentrada nos nucléolos.

Anticorpos anti-U3-RNP (fibrilarina) são raros e altamente específicos para ES. Têm sido relatados com freqüência variando de 4% a 18%<sup>(37,38)</sup>. São mais freqüentemente observados em pacientes mais jovens, no sexo masculino e em negros. Ocorrem mais freqüentemente nas formas difusas e estão associados à hipertensão arterial pulmonar, envolvimento muscular, comprometimento do jejuno e doença de início precoce<sup>(38,39)</sup>. Casos raros de pacientes com hepatocarcinoma foram descritos com anticorpos antifibrilarina.

Ao exame de imunofluorescência indireta em células HEp-2, os anticorpos antifibrilarina ocasionam um intenso padrão nucleolar aglomerado (lembrando cacho de uvas) em células em interfase (Figura 3). Nas células mitóticas ocorre uma tênue coloração da periferia dos cromossomos na placa metafásica. Embora o padrão de fluorescência seja

altamente sugestivo, é necessária a confirmação da especificidade por imunoprecipitação com extrato celular marcado com  $^{35}\text{S}$  ou por *immunoblot* com extrato de nucléolos.

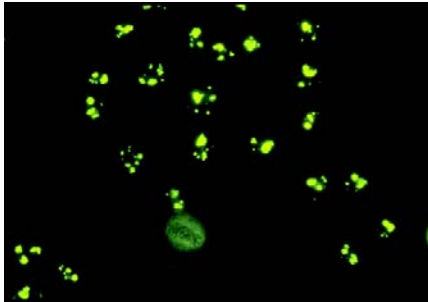


FIGURA 3- Imunofluorescência indireta em células HEp-2 testadas com soro contendo anticorpos antifibrilarina. Magnificação de 400 vezes.

#### **ANTICORPOS ANTI-RNA POLIMERASES I, II E III**

As RNA polimerases são complexos multiprotéicos contendo 8 a 14 polipeptídeos com peso molecular variando de 10 a 220kDa. Há três classes de RNA polimerases: I, II e III, com as funções de transcrever, respectivamente, os genes de RNA ribossômico, RNA mensageiro e pequenos RNAs nucleares. A RNA polimerase I está restrita ao nucléolo, enquanto as demais situam-se no núcleo.

Anticorpos contra os três tipos de RNA polimerase são encontrados na ES, sendo que anticorpos anti-RNA polimerase I e anti-RNA polimerase III são específicos para esta enfermidade. Anticorpos contra a RNA polimerase II são também encontrados no LES e em síndromes de superposição. Os anticorpos anti-RNA polimerase I ocorrem em 4% a 11% dos pacientes com ES, estando associados às formas difusas e graves, com maior frequência de envolvimento cardíaco e renal. Em um estudo longitudinal, a sobrevivência em 5 e 10 anos foi menor em pacientes com anticorpos anti-RNA polimerase I (45% e 30%) que naqueles com anticorpos anti-Scl-70 (80% e 66%)<sup>(25)</sup>. Anticorpos anti-RNA polimerase III têm sido descritos em 12% a 23% dos pacientes com ES, estando associados ao acometimento difuso da pele. Em estudo retrospectivo, os anticorpos anti-RNA polimerase III mostraram associação com pior prognóstico<sup>(25)</sup>. As associações descritas para os anticorpos anti-RNA polimerases podem apresentar alguma imprecisão, pois frequentemente há concomitância de anticorpos contra mais de uma RNA polimerase no mesmo

soro. A elucidação definitiva do significado clínico desses auto-anticorpos pode estar sendo limitada também pela pouca disponibilidade do exame e conseqüente pequeno número de pacientes estudados.

O exame de imunofluorescência indireta em células HEp-2 pode ser indicativo da presença de anticorpos anti-RNA polimerase, seja pela coloração nuclear pontilhada fina dada por anticorpos anti-RNA polimerases II e III, seja pelo padrão nucleolar pontilhado dado pelos anticorpos anti-RNA polimerase I. Entretanto, o padrão não é suficientemente específico, exigindo outros métodos para sua identificação definitiva. O método mais eficiente é a imunoprecipitação, mas há também a possibilidade de realização de *immunoblot* e ELISA com antígenos parcialmente purificados.

#### **ANTICORPOS ANTI-TH-RNP (TH/TO)**

O antígeno To ou Th é uma proteína de 40kDa, participante do complexo nucleolar 7-2 RNP, que tem a função de endo-ribonucleoprotease. É também encontrado no complexo citoplasmático 8-2 RNP, com a mesma função de endo-ribonucleoprotease.

Anticorpos anti-Th-RNP (Th/To) são altamente específicos para ES, embora detectados em apenas 4% a 10% dos casos. São indicativos de forma limitada de ES com pneumonite intersticial ou hipertensão pulmonar<sup>(40)</sup>. Raros pacientes com fenômeno de Raynaud isolado e anticorpos anti-To/Th provavelmente representam formas precoces de ES limitada.

Ao exame de imunofluorescência indireta em células HEp-2, os anticorpos anti-To/Th ocasionam um padrão nucleolar homogêneo. A confirmação deste auto-anticorpo é feita por imunoprecipitação, sendo restrita a laboratórios de investigação.

#### **ANTICORPOS ANTI-NOR-90**

Anticorpos anti-NOR-90 reconhecem o fator de transcrição específico para a RNA polimerase I (*human upstream-binding factor*), que se apresenta como duas formas alternativas, de 94 e 97kDa, respectivamente<sup>(41)</sup>. São relativamente raros e apresentam-se em diversas condições auto-imunes e neoplasias malignas. Em uma revisão recente, constam pacientes com ES, fenômeno de Raynaud isolado, poliartrite, artrite reumatóide, LES, DITC, SSj, carcinoma hepatocelular, melanoma e hepatite B crônica<sup>(42)</sup>. Pelo menos 50% dos casos apresentam fenômeno de Raynaud<sup>(43)</sup>.

Ao exame de imunofluorescência indireta em células HEp-2, os anticorpos anti-NOR-90 apresentam um padrão

nucleolar pontilhado nas células em interfase e 5 a 10 pontos isolados e brilhantes na placa cromossômica em células em metáfase (Figura 4). Este padrão é altamente sugestivo, mas a especificidade deve ser confirmada por imunoprecipitação com extrato celular marcado com <sup>35</sup>S ou por *immunoblot* com antígenos recombinantes.

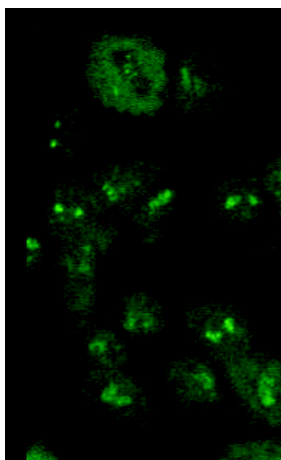


FIGURA 4 – Imunofluorescência indireta em células HEp-2 testadas com soro contendo anticorpos NOR-90. Magnificação de 400 vezes.

#### ANTICORPOS ANTI-PM/SCL

O antígeno PM/Scl representa um complexo protéico de 11 a 16 polipeptídeos, com peso molecular de 20 a 110kDa, e que tem a função de exo-ribonucleoprotease no processamento do RNA. Os principais alvos desse complexo são as proteínas de 100 e 75kDa, que são reconhecidas por aproximadamente 100% e 60%, respectivamente, dos soros com atividade anti-PM/Scl.

Anticorpos anti-PM/Scl estão associados à superposição entre ES forma limitada e polimiosite<sup>(44)</sup>, sendo encontrados em até 40% de tais pacientes na Europa e América do Norte, mas não no Japão<sup>(45,46)</sup>. Embora a maior parte dos pacientes com anticorpos anti-PM/Scl tenha superposição miosite/ES, cerca de 20% tem apenas miosite e 10% tem apenas ES. As manifestações clínicas mais fortemente associadas a este auto-anticorpo são miosite, artrite e fenômeno de Raynaud. O prognóstico dos portadores de anti-PM/Scl é, em geral, favorável.

Ao exame de imunofluorescência indireta em células HEp-2, os anticorpos anti-PM/Scl ocasionam um padrão nucleolar homogêneo intenso, freqüentemente associado a uma marcação mais fraca do núcleo (Figura 5). Embora

sugestivo, este padrão não é específico de anti-PM/Scl. Sua identificação definitiva pode ser obtida pelas técnicas de imunodifusão dupla, contraímunoelctroforese e imunoprecipitação. O uso de ELISA com a proteína PM/Scl-100 recombinante apresenta a possibilidade de resultados falsos positivos. O *immunoblot* com extrato de células MOLT-4 pode apresentar resultados falsos negativos.

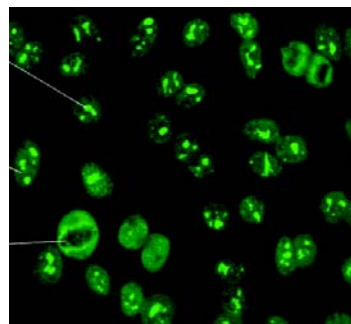


FIGURA 5 – Imunofluorescência indireta em células HEp-2 testadas com soro contendo anticorpos PM/Scl. Magnificação de 400 vezes. As duas setas apontam o nucléolo intensamente corado e a placa cromossômica metafásica não corada, respectivamente.

#### OUTROS AUTO-ANTICORPOS

Vários outros auto-anticorpos podem ocorrer na ES, embora em baixa freqüência e sem conotação de marcadores diagnósticos. O fator reumatóide é encontrado em 30% a 40% dos pacientes<sup>(47)</sup>. Anticorpos anti-SS-A/Ro, caracteristicamente associados ao lúpus eritematoso sistêmico e à síndrome de Sjögren, podem ocorrer em até 10% dos pacientes, estando associados com formas graves e progressão rápida, incluindo envolvimento renal e pulmonar<sup>(48)</sup>.

Anticorpos contra componentes do complexo do *spliceosome* (Sm e snRNP) podem ocorrer em alguns pacientes com ES. Anticorpos anti-Sm foram relatados em 2% dos pacientes com ES e 0,4% dos pacientes com fenômeno de Raynaud isolado<sup>(9)</sup>. Não se pode descartar que alguns desses pacientes representassem formas de superposição com LES. Anticorpos anti-snRNP em altos títulos estão associados à superposição ES/LES/PM, denominada doença mista do tecido conjuntivo<sup>(25,49)</sup>, mas podem ocorrer também na ES isolada, com freqüência variando de 0% a 35%<sup>(47)</sup>. Esta eventualidade é mais freqüente em pacientes japoneses, entre os quais os anticorpos anti-snRNP estão associados à maior incidência de hipertensão pulmonar e de neuropatia periférica<sup>(50)</sup>.

Anticorpos anti-Ku são direcionados contra um heterodímero (p70/p80) ligador de DNA, sendo que a maior parte dos soros reconhece ambas as proteínas do dímero. Alguns soros com reatividade anti-Ku reagem também contra a unidade catalítica da proteínquinase dependente de DNA. Os anticorpos anti-Ku são encontrados em 5% a 25% dos pacientes com superposição miosite/ES. Podem ser encontrados também em até 23% dos pacientes com hipertensão pulmonar primária, em 5% a 10% dos pacientes com LES, e mais raramente em outras doenças reumáticas autoimunes. Esses auto-anticorpos podem ser detectados por imunodifusão dupla, *immunoblot*, ELISA e imunoprecipitação, sendo o último o de melhor desempenho.

Anticorpos anti-Jo-1 (anti-histidil-tRNA sintetase) e anti-PL-7 (antitreonil-tRNA sintetase) são característicos da poli-miosite, mas podem ser encontrados em uma pequena fração de pacientes esclerodérmicos, que em sua maioria apresentam superposição ES/PM.

Anticorpos anticardiolipina foram encontrados em 0% a 25% dos pacientes com ES<sup>(51,52)</sup> e anticorpos anti- $\beta$ 2-glicoproteína I em 8%. Não têm sido encontradas manifestações da síndrome do anticorpo antifosfolípide nesses pacientes.

Anticorpos antimitocôndria, considerados específicos de cirrose biliar primária, foram encontrados em 7% dos pacientes com ES, não se podendo excluir uma associação subclínica nesses casos<sup>(53)</sup>.

#### COEXISTÊNCIA DE AUTO-ANTICORPOS EM PACIENTES COM ES

Exceção feita aos anticorpos contra as RNA polimerases, a coexistência de mais de uma especificidade de auto-anticorpo em um mesmo paciente não é a regra em pacientes com ES. Este fenômeno contrasta com o cenário observado

no LES e na síndrome de Sjögren, em que é freqüente a presença de dois ou mais auto-anticorpos distintos no soro de um mesmo paciente.

Em particular, a coexistência de anticorpos anticentrômero e anti-Scl-70 é extremamente rara, mas não impossível. Dick *et al.*<sup>(54)</sup> investigaram uma série de 173 pacientes com anticorpos anticentrômero e 118 pacientes com anticorpos anti-Scl-70 e encontraram apenas três casos de coincidência dos dois auto-anticorpos, mesmo com o uso de diversos métodos, como ELISA, imunodifusão dupla e *immunoblot*. Amostras seriadas desses três pacientes mostraram que os níveis dos dois auto-anticorpos flutuaram longitudinalmente e de forma recíproca. Interessantemente, os três pacientes apresentaram o terreno imunogenético característico de cada um desses auto-anticorpos, ou seja, pelo menos um alelo com ausência de leucina na posição 26 e outro com a presença de tirosina na posição 30 de DQB1. Dois dos pacientes tinham a forma difusa e o terceiro tinha a forma limitada da doença. Interessantemente, o paciente com forma limitada era o único que não tinha telangiectasia e calcinose cútis. Na revisão de literatura feita por esses autores, 56 publicações referiam séries de pacientes testados para ambos os auto-anticorpos, resultando 5.423 pacientes, dos quais apenas 28 pacientes (0,52%) apresentaram simultaneamente ambos os auto-anticorpos<sup>(54)</sup>.

#### AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio do Fundo de Auxílio à Pesquisa e Ensino em Reumatologia da Sociedade Brasileira de Reumatologia, e do Conselho Nacional para Desenvolvimento da Pesquisa (CNPq).

#### REFERÊNCIAS

1. Harvey GR, Black C, Maddison PJ, McHugh NJ: Characterization of antinuclear antibody reactivity in patients with systemic sclerosis and their relatives. *J Rheumatol* 24: 477-84, 1997.
2. McHugh NJ, Harvey GR, Whyte J, Dorsey JK: Segregation of autoantibody with disease in monozygotic twin pairs discordant for systemic sclerosis. Three further cases. *Arthritis Rheum* 38: 1845-50, 1995.
3. Catoggio LI, Skinner RP, Madisson PJ: Frequency and clinical significance of anticentromere and anti-Scl-70 antibodies in an English connective tissue disease population. *Rheumatol Int* 3: 19-21, 1983.
4. Chang HL, Lee YS, Hong HS, Kuo IT: Anticentromere antibodies (ACA): clinical distribution and disease specificity. *Clin Exp Dermatol* 19: 298-302, 1994.
5. Kallenberg CGM, Pastoor GW, Wouda AA, The TH: Antinuclear antibodies in patients with Raynaud's phenomenon: clinical significance of anticentromere antibodies. *Ann Rheum Dis* 41: 382-7, 1982.
6. Parveen S, Marshad SA, Nishioka M: High prevalence of antibodies to recombinant CENP-B in primary biliary cirrhosis: nuclear immunofluorescence patterns and ELISA reactivities. *J Gastroenterol Hepatol* 10: 438-45, 1995.
7. Nakano M, Ohuchi Y, Hasegawa H, Kuroda T, Ito S, Geiyo F: Clinical significance of anticentromere antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 27: 1403-7, 2000.
8. Zuber M, Golzen R, Filler I: Clinical correlation of anticentromere antibodies. *Clin Rheumatol* 13: 427-32, 1994.
9. Vazquez-Abad D, Rothfield NF: Autoantibodies in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol* 12: 145-57, 1995.

10. Earnshaw WC, Sullivan KF, Machlin PS, et al: Molecular cloning of cDNA for CENP-B, the major human centromere autoantigen. *J Cell Biol* 104: 817-29, 1987.
11. Earnshaw WC, Machlin PS, Bordwell BJ, Rothfield NF, Cleveland DW: Analysis of anticentromere autoantibodies using cloned autoantigen CENP-B. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 4979-83, 1987.
12. Genth E, Mierau R, Genetzky P, et al: Immunogenetic association of scleroderma-related antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 33: 657-65, 1990.
13. Reveille JD, Owerbach D, Goldstein R, Moreda R, Isern RA, Arnett FC: Association of polar amino acids at position 26 of the HLA-DQB1 first domain with the anti-centromere autoantibody response in systemic sclerosis (scleroderma). *J Clin Invest* 89: 1208-13, 1992.
14. Mcneilage LJ, Youngchaiyud U, Whittingham S: Racial differences in antinuclear antibody patterns and clinical manifestations of scleroderma. *Arthritis Rheum* 32: 54-60, 1989.
15. Kuwana M, Kaburaki J, Arnett FC, Howard RF, Medsger TA, Wright TM: Influence of ethnic background on clinical and serologic features in patients with systemic sclerosis and anti-DNA topoisomerase antibody. *Arthritis Rheum* 42: 465-74, 1999.
16. Aeschlimann A, Meyer O, Bourgeois P, et al: Anti-Scl-70 antibodies detected by immunoblotting in progressive systemic sclerosis and clinical correlation. *Ann Rheum Dis* 48: 992-7, 1989.
17. Spencer-Green G, Alter D, Welsch HG: Test performance in systemic sclerosis: anti-centromere and anti-Scl-70 antibodies. *Am J Med* 103: 242-8, 1977.
18. Riboldi P, Asero R, Origgi L, et al: Antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 3: 205-11, 1985.
19. Jablonska S, Blaszczyk M, Jarzabek-Chorzelska M, Chorzelski T, Kalacinska-Strasz Z: Immunological markers of the subsets of systemic scleroderma and its overlap. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 39: 381-90, 1991.
20. Steen VD, Ziegler GL, Rodnan GP, Medsger TA Jr.: Clinical and laboratory associations of anticentromere antibody in patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 27: 125-31, 1984.
21. Reveille JD, Durban E, Goldstein R, Moreda R, Arnett FC: Racial differences in the frequencies of scleroderma-related autoantibodies. *Arthritis Rheum* 35: 216-8, 1992.
22. Weiner ES, Hildebrandt S, Senecal J-L, et al: Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase I antibodies in Raynaud's disease. A prospective study. *Arthritis Rheum* 34: 68-77, 1991.
23. Bryan C, Howard Y, Brennan P, Black C, Silman A: Survival following the onset of scleroderma: results from a retrospective inception cohort study of the UK patient population. *Br J Rheumatol* 35: 1122-6, 1996.
24. Giordanno M, Valentini G, Migliaresi S, Picillo U, Vatti M: Different antibody patterns and different prognoses in patients with scleroderma with various extent of skin sclerosis. *J Rheumatol* 13: 911-6, 1986.
25. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M: Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 37: 75-83, 1994.
26. Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, Kawakami Y, Tojo T: Longitudinal analysis of autoantibody response to topoisomerase I in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 43: 1074-84, 2000.
27. Sato S, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K: Clinical significance of anti-topoisomerase I antibody levels determined by ELISA in systemic sclerosis. *Rheumatology Oxford* 40: 1135-40, 2001.
28. Weiner ES, Earnshaw WC, Senecal J-L, Bordwell B, Johnson P, Rothfield NF: Clinical association of anti-centromere antibodies and antibodies to topoisomerase I. A study of 355 patients. *Arthritis Rheum* 31: 378-85, 1988.
29. Rothfield NF, Kurtzmann S, Vazquez-Abad: Association of anti-topoisomerase I antibodies with cancer (Letter). *Arthritis Rheum* 35: 724, 1992.
30. Kyndt X, Hebbar M, Queyrel V, Hachulla E, Hatron PY, Devulder B: Sclérodémie systémique et cancer. Recherche de marqueurs prédictifs des cancers chez 123 patients atteints de Sclérodémie. *Rev Med Interne* 18: 528-32, 1997.
31. Rizou C, Ioannidis JPA, Panou-Pamonis E, et al: B cell epitope mapping of DNA topoisomerase I defines epitopes strongly associated with pulmonary fibrosis in systemic sclerosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 22: 344-51, 2000.
32. Reveille JD, Durban E, MacLeod S, et al: Association of amino acid sequences in the HLA-DQB1 first domain with anti-topoisomerase I autoantibody response in scleroderma (progressive systemic sclerosis). *J Clin Invest* 90: 973-80, 1992.
33. McHugh NJ, Whyte J, Harvey G, Hausteiner U-F: Anti-topoisomerase I antibodies in silica-associated systemic sclerosis. A model for autoimmunity. *Arthritis Rheum* 37: 1198-205, 1994.
34. Nietert PI, Sutherland SE, Silver RM, Pandey JP, Dosemeci M: Solvent oriented hobbies and the risk of systemic sclerosis. *J Rheumatol* 26: 2369-72, 1999.
35. Muryoi T, Kasturi KN, Kafina MJ, et al: Antitopoisomerase I monoclonal autoantibodies from scleroderma patients and tight skin mouse interact with the same epitopes. *J Exp Med* 175: 1103-9, 1992.
36. Tan FK, Arnett FC, Antohi S, et al: Autoantibodies to the extracellular matrix microfibrillar protein, fibrillin-1, in patients with scleroderma and other connective tissue diseases. *J Immunol* 163: 1066-72, 1999.
37. Kuwana M, Kaburaki J, Mimori T, Tojo T, Homma M: Autoantibody reactive with three classes of RNA polymerases in sera from patients with systemic sclerosis. *J Clin Invest* 91: 1399-404, 1993.
38. Okano Y, Steen VD, Medsger TA: Autoantibody to U3 nucleolar ribonucleoprotein fibrillarin in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 35: 95-100, 1992.
39. Arnett FC, Reveille JD, Goldstein R, et al: Autoantibodies to fibrillarin in systemic sclerosis scleroderma. *Arthritis Rheum* 39: 1151-60, 1996.
40. Mitri GM, Lucas M, Fertig N, Stenn VD, Medsger TA: A comparison between anti-Th/To and anticentromere antibody-positive systemic sclerosis patients with limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum* 48: 203-9, 2003.
41. Chan EKL, Imai H, Hamel JC, Tan EM: Human autoantibody to RNA polymerase I transcription factor hUBF. Molecular identity of nucleolus organizer region autoantigen NOR and ribosomal transcription upstream binding factor. *J Exp Med* 174: 1239-44, 1991.
42. Dagher JH, Scheer U, Voit R, et al: Autoantibodies to NOR 90/hUBF: longterm clinical and serological followup in a patients with limited systemic sclerosis suggests an antigen driven immune response. *J Rheumatol* 29: 1543-47, 2002.



43. Imai H, Fritzler MJ, Neri R, Bombardieri S, Tan EM, Chan EK: Immunocytochemical characterization of human NOR-90 (upstream binding factor) and associated antigens reactive with autoimmune sera. Two MR forms of NOR-90/hUBF autoantigens. *Mol Biol Reports* 19: 115-24, 1994.
44. Oddis CV, Okano Y, Rudert WA, Trucco M, Duquesnoy RJ, Medsger TA: Serum autoantibody to the nucleolar antigen PM-Scl: clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 35: 1211-7, 1992.
45. Mimori T: Structures targeted by the immune system in myositis. *Curr Opin Rheumatol* 8: 521-7, 1996.
46. Hausmanowa-Petrusewicz I, Kowalska-Oledzka E, Miller FW, et al: Clinical, serologic and immunogenetic features in Polish patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* 40: 1257-66, 1997.
47. Pope JE: Scleroderma overlap syndromes. *Curr Opin Rheumatol* 14: 704-10, 2002.
48. Harvey GR, Butts S, Rands AL, Patel Y, McHugh NJ: Clinical and serologic associations with anti-RNA polymerase antibodies in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 117: 395-402, 1999.
49. Jacobsen S, Halberg P, Ullman S, et al: Clinical features and serum antinuclear antibodies in 230 Danish patients with systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 37: 39-45, 1998.
50. Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J, Tojo T, Medsger TA Jr: Racial differences in the distribution of systemic sclerosis-related serum antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 37: 902-6, 1994.
51. Pope JE, Thompson A: The frequency and significance of anticardiolipin antibodies in scleroderma. *J Rheumatol* 27: 1450-2, 2000.
52. Schoenroth L, Fritzler MJ: Antibodies to beta2 glycoprotein I and cardiolipin in SSc. *Ann Rheum Dis* 61: 183-4, 2002.
53. McHugh NJ, James IE, Fairburn K, Maddison PJ: Autoantibodies to mitochondrial and centromere antigens in primary biliary cirrhosis and systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 81: 244-9, 1990.
54. Dick T, Mierau R, Bartz-Bazzanella P, et al: Coexistence of antitopoisomerase I and anticentromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 61: 121-7, 2002.