


Este exemplar corresponde à versão final da tese de Doutorado, apresentada a Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Medicina, da médica Regina Maria Innocêncio.

Campinas, 07 de novembro de 1994.

  
Prof. Dr. João Francisco Marques Neto  
Orientador

**Regina Maria Innocencio**

**"AMILÓIDE, AMILOIDOSE E PROTEÍNA SÉRICA  
AMILÓIDE A: FREQUÊNCIA E IMPORTÂNCIA NA  
ARTRITE REUMATÓIDE E ESCLEROSE SISTÊMICA"**

**Campinas, 1994**

Regina Maria [Innocencio] *n/Int/n.c*

**"AMILÓIDE, AMILOIDOSE E PROTEÍNA SÉRICA  
AMILÓIDE A: FREQUÊNCIA E IMPORTÂNCIA NA  
ARTRITE REUMATÓIDE E ESCLEROSE SISTÊMICA"**

**Tese apresentada à Faculdade de  
Ciências Médicas da Universidade  
Estadual de Campinas, para a  
obtenção do título de Doutor em  
Medicina.**

**Orientador:**

**Prof. Dr. João Francisco [Marques Neto] *lt***

**Campinas, 1994**



Aos meus pais Nelson e Maria Helena, pelo carinho e compreensão.

Aos meus filhos Giovanni e Daniel, que acrescentaram uma nova dimensão à minha vida.

À minha irmã Urânia, pela amizade e colaboração.

Aos meus avós Manoel e Antonia, Luis e Maria, pelo exemplo.

## **Dedicatória**

Esta Tese é dedicada à memória de  
minha avó Antonia, a mulher mais  
corajosa e sensível que eu já  
conheci. Saudades...

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Francisco Marques Neto, pelo incentivo, orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Adil Muhib Samara, pelo exemplo de dignidade e profissionalismo.

Às Prof<sup>as</sup> Dr<sup>as</sup> Lilian T.L. Costallat, Sandra M. Fernandes e Maria Domitila de Napoli, pela colaboração em minha formação profissional.

Ao Dr. José Roberto Provenza pelo estímulo e apoio.

Aos Drs Silvia S. Neder, Valéria R. Kuhl e Percival D.S. Barros, pela gentil colaboração.

A José N. Oliveira, pela análise estatística dos dados.

A Luciano Gallette, pelo trabalho de digitação.

Aos colegas e suas equipes de trabalho:

Dr. Ricardo Manoel de Oliveira, Prof. Visitante da Universidade de Boston, Escola de Medicina.

Dr<sup>a</sup> Eliane Maria Ingrid Amstalden

Departamento de Anatomia Patológica de FCM - UNICAMP.

Dr<sup>a</sup> Patrícia Sabino Matos

Departamento de Anatomia Patológica das FCM - UNICAMP e PUCAMP.

Dr. Ricardo de Lima Zollner

Laboratório de Investigação em Imunologia Clínica, Alergia e Reumatologia da FCM - UNICAMP.

Dr<sup>a</sup> Dalcélia Bueno Figueiredo e Dr<sup>a</sup> Ruth Aparecida Moraes

Laboratório de Análises Clínicas do Hospital e Maternidade Celso Pierro - PUCAMP.

# Índice

I	-	<b>INTRODUÇÃO</b>	1
		I.1. HISTÓRICO	2
		I.2. NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO	6
		I.3. SÍNDROMES CLÍNICAS	8
		I.3.1. Amiloidose AL	8
		I.3.2. Amiloidose AA	9
		I.3.3. Amiloidoses heredofamiliais	10
		I.3.4. Amiloidose A $\beta$	11
		I.3.5. Amiloidose A $\beta$ 2M	11
		I.3.6. Amiloidose de origem endócrina	12
		I.3.7. Amiloidose localizada	12
		I.4. DIAGNÓSTICO	14
		I.5. ARTRITE REUMATÓIDE, ESCLEROSE SISTÊMICA - APECTOS GERAIS, MORTALIDADE E SOBREVIVÊNCIA	17
		I.5.1. Artrite reumatóide	17
		I.5.2. Esclerose sistêmica	23
		I.6. PROTEÍNA SAA E OUTRAS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA	28
II	-	<b>OBJETIVOS</b>	37
III	-	<b>CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS</b>	39
		III.1. CARACTERIZAÇÃO DA CASUÍSTICA	40
		III.2. AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXAMES SUBSIDIÁRIOS NOS PACIENTES ACOMETIDOS POR AR E ES	50
		III.3. DOSAGEM DA PROTEÍNA SAA	52
		III.4. BIÓPSIA DE TECIDO ADIPOSITO PERIUMBELICAL	53
		III.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
IV	-	<b>RESULTADOS</b>	63
		IV.1. GRUPOS CONTROLE	64
		IV.2. AR	67
		IV.3. ES	84
V	-	<b>DISCUSSÃO</b>	107
VI	-	<b>CONCLUSÕES</b>	132
VII	-	<b>RESUMO</b>	135
VIII	-	<b>SUMMARY</b>	137
		<b>APÊNDICE</b>	139
		1. Considerações gerais sobre o amilóide	140
		2. Tratamento	160
		prontuário para AR	164
		prontuário para ES	165
		<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	167



# **Introdução**

# I - Introdução

## I.1.- HISTÓRICO

Amiloidose consiste em um distúrbio do metabolismo proteico caracterizado pelo depósito extracelular de material fibrilar amilóide em determinados tecidos, órgãos ou sistemicamente distribuído através do organismo (PEPYS, 1986; KYLE, 1992).

Datam dos séculos XVII e XVIII relatos de Fontanus, Glisson, Malpighi, Portal, referentes ao achado em necrópsias de vários órgãos com amiloidose (COHEN, 1992).

ROKITANSKY em 1842 relatou depósitos no fígado e baço de um material eosinofílico, e considerou-os resultado de degeneração lardácea (GAZMURI et al, 1960; COHEN & CONNORS, 1987). Foi VIRCHOW (1855) quem introduziu e popularizou o termo amilóide, derivado das raízes grega amylon e latina amylum. Considerando sua coloração positiva pelo iodo e ácido sulfúrico, indicadora da presença de amido ou celulose, pensou tratar-se de substância de natureza

polissacarídica (COHEN, 1967a; GLENNER, 1980a; COHEN & CONNORS, 1987; ELGHETANY & SALEEM, 1988).

Em 1875 foi introduzida para o amilóide a coloração metacromática pelo violeta de metila (COHEN, 1992).

Posteriormente FRIEDREICH & KEKULE caracterizaram o amilóide como substância de natureza proteica (COHEN, 1992).

Em 1922 BENNHOLD estabeleceu o vermelho Congo como teste diagnóstico e corante histológico para pesquisa do amilóide, o mais utilizado até os dias atuais (ELGHETANY & SALEEM, 1988; COHEN, 1992).

Foi DIVRY, neurologista belga, o primeiro a relatar a presença de birrefringência positiva e de cor verde esmeralda do amilóide após coloração pelo vermelho Congo e exposição à luz polarizada (COHEN, 1992).

HASS et al (1940; 1942; 1943) demonstraram material polissacarídico similar ao ácido condroitin sulfúrico fazendo parte dos depósitos amilóides, confirmando, em parte, a proposta de VIRCHOW, de que o amilóide era composto por carboidratos (apud DAHLIN, 1950; HUSBY, 1992b).

Estudos das proteínas amilóides a microscopia eletrônica revelaram que estas apresentam estrutura submolecular fibrilar (COHEN & CALKINS, 1959).

EANES & GLENNER (1968) demonstraram através da difração pelos raios X que estas fibrilas se organizam em uma estrutura laminar de pregueado tipo  $\beta$ .

Outra proteína denominada componente P, de estrutura pentagonal e pertencente à classe das pentraxinas, foi descrita fazendo parte dos depósitos amilóides (SKINNER et al, 1974; COHEN, 1992; HUSBY, 1992b).

Os primeiros relatos clínicos descreveram a amiloidose associada a doenças infecciosas crônicas e neoplásicas, como tuberculose (DAHLIN, 1950), hanseníase (COHEN et al, 1978) ou mieloma (COHEN & CONNORS, 1987).

Em 1932, ØSTERTAG relatou acometimento renal decorrente de amiloidose heredofamiliar; em 1939 Corino de Andrade caracterizou em Fóvoa do Varzim a polineuropatia amiloidótica familiar portuguesa ("mal dos pezitos"); em 1955 HELLER descreveu a febre familiar do Mediterrâneo; em 1964 OSSERMAN sugeriu a participação da proteína de Bence Jones na amiloidose primária (COHEN, 1992).

Amiloidose AA, caracterizada pelo depósito de fibrilas AA, derivadas da proteína sérica amilóide A(SAA), sua precursora, pode ocorrer como complicação de doenças infecciosas, inflamatórias crônicas, neoplásicas ou heredofamiliares. A deposição do amilóide em órgãos vitais, como rins, coração, trato gastrointestinal pode alterar a sobrevida dos pacientes acometidos (GERTZ, 1992).

A artrite reumatóide dentre as doenças reumáticas, é a que, com maior frequência, se associa à amiloidose AA (LAAKSO et al, 1986; MITCHELL et al, 1986; GERTZ, 1992).

Em nosso meio há poucos estudos sobre a frequência desta associação (MARCONI et al, 1978; LOPES, 1991; NEDER et al, 1992).

Na esclerose sistêmica, raramente a amiloidose tem sido descrita (HOLZMANN & KORTING, 1969; LOWE, 1969; HORWITZ et al, 1982; KUMAGAI et al, 1989; ITO et al, 1990).

Espondilite anquilosante, artrites crônicas da infância, artrite psoriásica (HUSBY, 1975) e mais raramente doença de Reiter, dermatopolimiosite, lupus eritematoso sistêmico e síndrome de Sjögren podem também compor essa associação (DHILLON et al, 1989).

A participação da proteína SAA, quer na patogênese da amiloidose AA, quer como proteína de fase aguda, liberada pelo fígado a partir de estímulos de diversas naturezas, tem sido também objeto de estudos na última década (CHAMBERS et al, 1983; BRANDWEIN et al, 1984; MAURY et al, 1985a; MOZES et al, 1989; MIWATA et al, 1993; NAKAYAMA et al, 1993).

Atualmente os avanços tecnológicos têm permitido a caracterização bioquímica de diversas moléculas associadas às diferentes formas de amiloidose, ampliando sua classificação (HUSBY et al, 1993).

Biópsias de reto, tecido adiposo periumbelical e outras, além do diagnóstico por imagem com traçadores radioativos ligados ao componente sérico P têm conduzido a um diagnóstico precoce desta condição clínica (ENNEVAARA & OKA, 1964; WESTERMARK & STENKVIST, 1973; CASPY et al, 1987).

A avaliação da extensão dos depósitos amilóides e planejamento terapêutico tem como objetivo melhorar a sobrevida dos pacientes acometidos por esta complicação (GAFNI & SOHAR, 1960; WESTERMARK & STENKVIST, 1973; HUSBY, 1975; DHILLON et al, 1989).

## I.2.- NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO

As fibrilas amilóides compartilham propriedades físico-químicas e biológicas semelhantes, persistindo nos tecidos uma vez depositadas, ocasionando lesões estruturais e funcionais irreversíveis (COHEN, 1985).

Diversos estudos têm revelado que o amilóide é composto por diferentes subunidades proteicas (BENDITT & ERIKSEN, 1964, 1971), contudo a fibrila amilóide é seu principal componente. Várias proteínas aparentemente não relacionadas podem constituir a subunidade fibrilar amilóide em distintas formas clínicas de amiloidose. Assim, vários tipos de amiloidose podem ser definidos e classificados de acordo com a análise estrutural da proteína fibrilar (COHEN & WEGELIUS, 1980; HUSBY, 1992a). Atualmente apenas aquelas proteínas que compõem as fibrilas amilóides e com sequência de aminoácidos conhecida podem ser classificadas.

No passado a amiloidose foi classificada em primária, associada ao mieloma e secundária (DAHLIN, 1950). Posteriormente novas classificações foram propostas (COHEN & WEGELIUS, 1980; HUSBY & SLETTEN, 1986) e vieram sendo gradualmente aperfeiçoadas com a caracterização bioquímica das diversas fibrilas amilóides conhecidas, até culminarem na classificação atual (HUSBY et al, 1993).

De acordo com a nomenclatura mais recente (HUSBY et al, 1993) a primeira letra utilizada para designar qualquer proteína

amilóide é sempre A maiúsculo, seguida pela designação abreviada da proteína considerada, também com letra maiúscula.

O termo proteína precursora se refere ao substrato do qual a fibrila amilóide é derivada. Com exceção da proteína precursora  $\beta$ , estas proteínas podem ser demonstradas no soro e em muitos casos a fibrila amilóide é um fragmento ou um produto da degradação incompleta de sua precursora.

O tipo de proteína ou variante é representado por várias classes e subgrupos de imunoglobulinas, variantes moleculares nas amiloidoses hereditárias e proteínas precursoras de hormônios.

Os termos amiloidose sistêmica e localizada devem ser evitados, pois, muitas vezes alguns depósitos que parecem ser localizados, são apenas sítios de predileção da amiloidose sistêmica.

O quadro I.1 apresenta a nomenclatura e classificação atualmente aceitas. (HUSBY, 1992a; HUSBY et al, 1993).

### **1.3.- SÍNDROMES CLÍNICAS ASSOCIADAS AO DEPÓSITO DE MATERIAL AMILÓIDE**

#### **1.3.1.- Amiloidose AL**

Apresenta-se como idiopática (ou primária), associada ao mieloma ou à macroglobulinemia (HUSBY & SLETTEN, 1986; HUSBY, 1992b; HUSBY et al, 1993).

Os depósitos amilóides ocorrem com predileção no coração, pulmões, pele, língua, trato intestinal, nervos periféricos, articulações, músculos, rins.

Os principais sinais clínicos são: insuficiência cardíaca, arritmias, angina pectoris, infarto do miocárdio, tosse, dispnéia (BLAVIA et al, 1992), insuficiência renal, macroglossia, lesões cutâneas purpúricas, papulares ou tumorais, síndrome do túnel do carpo, síndrome de má absorção, neuropatia autonômica, artrite de grandes e pequenas articulações podendo simular artrite reumatóide (WIERNIK, 1972; KYLE & BAYARD, 1975; CANO CASTELLANOS et al, 1981; HALL & LUTHRA, 1983; MCGILL et al, 1986; AZEVEDO & SABBAGA, 1988; CORRENT & RENDON, 1992; HUSBY, 1992b). Sangramentos por deficiência do fator X podem ocorrer, devido à grande afinidade deste pelos depósitos amilóides podendo aí ficar sequestrado (HUSBY, 1992b).

As principais causas de óbito nos pacientes se associam à insuficiência cardíaca refratária, arritmias cardíacas e outras



alterações cardíacas, em cerca de 50% dos casos (KILE & BAYARD, 1975; HUSBY, 1992b), nefrose e insuficiência renal em 35% deles (HUSBY, 1992b).

### **I.3.2.- Amiloidose AA**

Denominada anteriormente amiloidose reativa ou secundária, associa-se à febre familiar do Mediterrâneo (COHEN et al, 1962), à Síndrome de Muckle-Wells (HUSBY et al, 1993), a doenças infecciosas, como tuberculose, hanseníase, osteomielite crônica, sífilis, bronquiectasias supuradas (DAHLIN, 1950; GAZMURI et al, 1960; COHEN et al, 1978; MONTAÑO-ESPINOZA & RÍOS-DALENZ, 1983), a doenças inflamatórias, como artrite reumatóide (HUSBY, 1975; LAAKSO et al, 1986; GERTZ & KYLE, 1991), espondilite anquilosante (GEFFRIAUD et al, 1988; VISINONI et al, 1991; QUINTON et al, 1992), artrites crônicas da infância (FILIPOWICZ-SOSNOWSKA & BAUM, 1979, 1980; CABANE et al, 1990; WOO, 1992), lúpus eritematoso sistêmico (PETTERSSON et al, 1987), gota (LENS et al, 1985; CHAPIRA et al, 1988), artrite psoriásica, síndrome de Reiter (DHILLON et al, 1989), doença mista do tecido conjuntivo (PIIRAINEN et al, 1989), esclerose sistêmica (ITO et al, 1990). Associa-se também à doença experimental induzida em animais (COHEN & CALKINS, 1959) e a neoplasias malignas, como carcinoma renal, doença de Hodgkin (HUSBY, 1992b).

Os principais órgãos acometidos são os rins, o baço, o fígado, o trato intestinal, as glândulas supra-renais, os linfonodos. Os principais sinais e sintomas decorrentes do acometimento visceral

são: hematúria, proteinúria até níveis nefróticos, insuficiência renal, constituindo a lesão renal a principal causa de óbito; hepatoesplenomegalia, síndrome de má absorção, sangramento digestivo, hipotensão postural (GASMURI et al, 1960; MONTANO-ESPINOZA & RÍOS-DALENZ, 1983; MCGILL et al, 1986; SCHUMACHER et al, 1987; HUSBY, 1992b).

MAURI et al (1985b) descreveram um dos relatos de caso encontrados na literatura de possível amiloidose AA primária ou idiopática. Entretanto, esta terminologia é questionável, pois o paciente pode ser portador de uma patologia de base que não foi identificada.

### **1.3.3.- Amiloidoses heredofamiliais**

São constituídas por um grupo heterogêneo das amiloidoses familiares geralmente de herança autossômica dominante. A febre familiar do Mediterrâneo, amiloidose AA, é de herança autossômica recessiva (WOO, 1992). São ocasionadas por mutações gênicas que levam à troca de um aminoácido nas proteínas precursoras (transtirretina, gelsolina, cistatina C). A síndrome de Muckle-Wells (nefropatia, surdez e urticária) relaciona-se à proteína AA.

Apresentam características geográficas (vide quadro I.1) e os principais achados clínicos decorrem dos tecidos de predileção para o amiloide depositar-se: neuropatia periférica, cardiopatia, nefropatia, opacidade vítrea, hemorragia cerebral (HUSBY, 1992b).

#### I.3.4.- Amiloidose A $\beta$

Associa-se à doença de Alzheimer, à síndrome de Down e à hemorragia cerebral hereditária holandesa. Na primeira ocorrem depósitos extracelulares em placas, nas paredes vasculares e intraneuronais (HUSBY, 1992b).

#### I.3.5.- Amiloidose A $\beta_2$ M

Ocorre em pacientes hemodialisados cronicamente. As fibrilas amilóides são constituídas por  $\beta_2$ -microglobulina, estruturalmente relacionada à IgG. É idêntica à cadeia leve  $\beta$ , glicoproteína de membrana do complexo maior de histocompatibilidade de classe I (CASEY et al, 1986; HUSBY & SLETTEN, 1986; ACESES & HERRERO-BEAUMONT, 1992).

Clinicamente os pacientes apresentam síndrome do túnel do carpo, artropatia, lesões ósseas císticas periarticulares, espondiloartropatia destrutiva, cistos renais, fraturas patológicas, preferencialmente quando em hemodiálise há mais de oito anos (PEPYS, 1988; HUSBY, 1992b).

### **1.3.6.- Amiloidose de origem endócrina**

A presença de fibrilas amilóides foi demonstrada em vários tumores endócrinos, como o carcinoma medular de tireóide, produtor de pró-calcitonina, o insulinoma, produtor do polipeptídeo da ilhota denominado amilina. Este componente dos depósitos amilóides no diabetes tipo II, tem efeito modulador sobre as ações da insulina e é de importância na homeostase do cálcio, provocando hipocalcemia grave em ratos e coelhos (HUSBY & SLETTEN, 1986; MacINTYRE, 1989; NATHAN, 1993).

### **1.3.7.- Amiloidose localizada**

Embora a classificação atual (HUSBY et al, 1993) desaconselha o emprego desta terminologia, na literatura são relatados casos de amiloidose tumoral (PINEROS & D'ACHIARDI, 1978), restrita a alguns órgãos (BEGLIOMINI et al, 1983; GOES et al, 1986) ou a estruturas do aparelho locomotor, preferencialmente em idosos, acometendo meniscos dos joelhos, cápsulas articulares, discos intervertebrais, associada a cristais de pirofosfato de cálcio ou à osteoartrose (GOFFIN et al, 1981; LADEFEGED, 1983; ATHANASOU & SALLIE, 1992). Segundo GOFFIN et al (1981) o depósito de amilóide nas articulações parece não se associar a uma patologia sistêmica, podendo tratar-se apenas de um fenômeno degenerativo relacionado ao envelhecimento.

Depósitos de substância amilóide em valvas mitrais com lesões reumáticas crônicas também já foram descritos. Entretanto, um precursor sérico ainda não foi documentado (ASSIS et al, 1988).

O envolvimento cutâneo pode ocorrer na amiloidose primária (AL), secundária (AA), heredofamiliar (AF) através do depósito das fibrilas amilóides presentes em cada uma delas (YONEDA et al, 1989).

Amiloidose cutânea localizada primária, sem evidência de comprometimento visceral e constituída por fibrila amilóide de composição bioquímica desconhecida (DAHLBACK & SAKAI, 1990), pode se associar à presença de anticorpos antiqueratina (YONEDA et al, 1989). Clinicamente estas formas são denominadas amiloidose macular e líquen amilóide (RABELLO, 1981; DAHLBACK & SAKAI, 1990; CORRENT & RENDON, 1992).

## I.4.- DIAGNÓSTICO

A amiloidose secundária tem sido descrita com prevalências variáveis quanto às doenças de base associadas. Têm-se observado, também, mudanças no decorrer do tempo quanto às condições predisponentes, quer na própria instituição, quer quando se leva em conta se são casuísticas de países de diferentes condições sócio-econômicas (GAZMURI et al, 1960; KYLE & BAYARD, 1975; GERTZ & KYLE, 1991).

Nos países mais desenvolvidos houve redução das causas infecciosas associadas à amiloidose secundária nos últimos 40 anos e aumento da associação às doenças inflamatórias crônicas (KYLE & BAYARD, 1975; GERTZ & KYLE, 1991).

Em países nos quais as doenças infectocontagiosas e parasitárias não foram ainda adequadamente controladas, observa-se com maior frequência, amiloidose secundária a tuberculose (GAZMURI et al, 1960; MONTAÑO-ESPINOZA & RÍOS-DALENZ, 1983), bronquiectasias, endocardite bacteriana (MONTAÑO-ESPINOZA & RÍOS-DALENZ, 1983), esquistossomose mansônica (LICHEWITZ & CAVALLO, 1964).

Clinicamente pode-se suspeitar de amiloidose secundária quando na evolução de doença infecciosa ou inflamatória crônica ocorrer proteinúria ou síndrome nefrótica, hepatoesplenomegalia, síndrome de má absorção, insuficiência renal ou cardíaca, neuropatia periférica (DAHLIN, 1950; COHEN, 1967b, 1967c; KYLE & BAYARD, 1975).

Técnicas não invasivas para o diagnóstico de amiloidose, como o teste do vermelho Congo, caíram em desuso devido aos resultados falso-negativos e ao risco de choque anafilático com a injeção intravenosa deste corante (COHEN, 1967c).

Como regra geral, qualquer órgão pode ser submetido à biópsia desde que suspeito de infiltração amilóide (GLENNER, 1980b).

Biópsia renal (ENNEVAARA & OKA, 1964; ANSELL & JOEKES, 1972; FILIPOWICZ-SOSNOWSKA & BAUM, 1980; PUDDU et al, 1982; MONTANO-ESPINOZA & RIOS-DALENZ, 1983; HELIN et al, 1986) ou hepática, dotadas de maior risco, como hemorragia têm sido preferencialmente substituídas por técnicas menos invasivas (GLENNER, 1980b).

A biópsia retal pode ser utilizada com bons resultados e sensibilidade de 86,67% (GAFNI & SOHAR, 1960), é aplicável à pesquisa de amilóide em pacientes portadores de AR (ARAPAKIS & TRIBE, 1963; ENNEVAARA & OKA, 1964).

Em 1971 e 1972 WESTERMARK observou a presença de depósitos amilóides na pele e tecido subcutâneo de portadores de AR com amiloidose secundária. Em 1973 este autor e STENKVIST desenvolveram uma técnica, de simples execução e pouco invasiva, de biópsia por aspiração de tecido adiposo subcutâneo para o diagnóstico desta complicação. Posteriormente este método mostrou-se de utilidade não apenas para o diagnóstico histológico, mas também para a classificação da amiloidose em primária e secundária (WESTERMARK et al, 1979, 1989). A partir destes trabalhos vários autores a têm utilizado com resultados satisfatórios em comparação com o procedimento padrão representado pela biópsia retal (LIBBEY et al, 1983; DRFILA et al, 1986, 1988; KLEMI et al, 1987; MARIN L et al, 1987; HORLAIT et al, 1988; ARIZA et al, 1988; TIITNEN et al, 1988;

BREEDVELD et al, 1989; DUSTON et al, 1989; FRANZEN & SUTINEN, 1990; LOPES, 1991; BLUMENFELD & HILDEBRANDT, 1993).

Outros sítios de biópsia, como tecidos gengival (SORSA et al, 1988; PROKAEVA et al, 1990), labial (CHOMETTE et al, 1992; HACHULLA et al, 1992), gástrico (NAKANO et al, 1989; KIKUCHI et al, 1991; OZAWA et al, 1992), tireoidiano (KAPILA & VERMA, 1993) vêm sendo recentemente utilizados na prática clínica para o diagnóstico de amiloidose.

O quadro I.2 apresenta os resultados da sensibilidade de vários estudos em diferentes locais de biópsia na amiloidose comprovada.

O amilóide presente nos materiais de biópsia pode ser identificado através da coloração pelo vermelho Congo (PUCHTLER et al, 1962; BENEDITT & ERICKSEN, 1971; ELGHETANY & SALEEM, 1988) ou através de técnicas imunoquímicas usando anti-soros anti AA (OZAWA et al, 1992) ou anti-SAP (HACHULLA et al, 1992).

A extensão e distribuição dos depósitos amilóides em tecidos e órgãos pode ser avaliada através de técnicas de diagnóstico por imagem, empregando-se o componente P sérico marcado com iodo radioativo. Esta metodologia tem-se revelado de valor considerável, porém está disponível em apenas alguns centros de investigação (CASPI et al, 1987; HAWKINS et al, 1988, 1990; PEPYS, 1992).



## **I.5.- ARTRITE REUMATÓIDE E ESCLEROSE SISTÊMICA - ASPECTOS GERAIS, MORTALIDADE E SOBREVIVÊNCIA**

### **I.5.1.- Artrite Reumatóide**

Artrite reumatóide (AR), doença inflamatória crônica caracterizada pelo envolvimento predominantemente articular, pode apresentar também manifestações extra-articulares, tendo critérios diagnósticos desenvolvidos por comitês científicos do American College of Rheumatology (ACR) (ARNETT et al, 1988; ARNETT, 1990; SPECTOR, 1990).

AR tem sido relatada em todo o mundo, sem limites geográficos, com prevalência pouco variável nos diversos países e raças, parecendo ser mais frequente em níveis educacionais e sócio-econômicos menos favorecidos (SAMARA & MARQUES NETO, 1985).

Estudo epidemiológico recente revelou prevalência variando entre 0,2 e 1% em amostras populacionais do Brasil (MARQUES NETO et al, 1993).

Sua incidência anual varia de dois a quatro casos para cada dez mil adultos, com predileção pelo sexo feminino em relação ao masculino na proporção de 3:1, entre a quarta e sexta décadas da vida, com picos de maior incidência entre 45 e 55 anos (WILLIAMS & McCARTY, 1985; SPECTOR, 1990).

Os mecanismos etiopatogênicos na AR permanecem não completamente elucidados. Entretanto, atualmente admite-se que a AR

resulta da interação entre antígeno adequado e hospedeiro geneticamente susceptível. As variantes clínicas observadas podem ser explicadas através de diversos antígenos desencadeantes, diferentes respostas do hospedeiro ao antígeno ou ambos (WORTMANN, 1991; ROOK, 1993).

A maioria dos estudos que avaliam a sobrevida na AR sugere que a mortalidade entre estes pacientes está elevada em relação à população geral.

VANDENBROUCKE et al (1984) observaram uma redução da expectativa de vida em sete anos para os homens e em três anos para as mulheres acometidos por AR, quando comparados com a população de referência.

MITCHELL et al (1986) constataram média de idade ao óbito de quatro anos abaixo daquele observado na população geral masculina e dez anos abaixo na população geral feminina em portadores de AR.

Nestes estudos, as patologias cardio e cerebrovasculares aparecem como a causa de morte mais frequente, porém semelhante (VANDENBROUKE et al, 1984; MITCHELL et al, 1986) ou acima das taxas de mortalidade por estas causas na população geral (LAAKSO et al, 1986).

A incidência de neoplasias malignas é a mesma da população de referência (MITCHELL et al, 1986).

Um aumento da mortalidade por causas infecciosas tem sido constatado na AR em relação à população de controle (LAAKSO et al, 1986; MITCHELL et al, 1986).

No quadro I.3 estão representadas as principais alterações renais associadas a maior mortalidade na AR.

MISSEN & TAYLOR (1956), com base em trabalhos post-mortem, estimaram a prevalência média de 15,9% de amiloidose secundária à AR.

BOERS et al (1987) em 132 necrópsias de pacientes com AR, encontraram amiloidose renal em 14 deles (10,61%). Doença de longa evolução, uremia e proteinúria se associaram à presença de amiloidose.

Relatos de casos de AR com tempo de doença acima de dez anos ressaltam síndrome nefrótica e óbito por insuficiência renal e sepsis (MARTÍN & DELBONO, 1986) ou por broncopneumonia e insuficiência supra-renal aguda (ACCHIARDO et al, 1961). Ao estudo anatomopatológico foram demonstrados depósitos amilóides em órgãos como fígado, baço e rins.

GERTZ & KYLE (1991) em trabalho prospectivo com 64 pacientes portadores de amiloidose AA, constataram em 42 deles como secundária a doenças reumáticas (65,62%), sendo 31 com AR, cinco com espondilite anquilosante, três com artrite psoriásica e os três restantes respectivamente com artrite crônica de infância, lúpus eritematoso sistêmico e polimiosite. Constataram 47 óbitos no grupo inicial de 64 pacientes (73,44%) e tempo médio de sobrevivência de 24,5 meses. A principal causa de óbito foi uremia ou complicações relativas à diálise em 32 pacientes (68,01%) como consequência de amiloidose renal.

A deposição amilóide no rim se faz preferencialmente no glomérulo. O padrão de deposição glomerular pode ser classificado, para fins descritivos, como segmentar, difuso, nodular ou misto, nodular-difuso. O padrão nodular é mais frequente entre pacientes com amiloidose secundária a patologias de curso clínico prolongado (DIKMAN et al, 1981; PUDDU et al, 1982). Deposição amilóide na

membrana basal peritubular, no interstício, nos vasos sanguíneos pode também ocorrer. Os estágios avançados da doença cursam com atrofia ou dilatação dos túbulos renais, os quais podem estar ocupados por material eosinofílico e birrefringente. Supõe-se que a grande perda proteica ocorra em áreas nas quais a membrana basal é ocupada pela substância amilóide e despojada de sua cobertura epitelial (LERNER, 1984).

A deposição amilóide na forma de espículas na superfície externa da membrana basal capilar glomerular também já foi descrita. Estes depósitos podem apresentar semelhança com as espículas da nefropatia membranosa. Há evidências experimentais e clínicas que estas espículas representam depósitos amilóides recentes e se associam à síndrome nefrótica. A sua presença, mais frequente entre pacientes com amiloidose primária, pode explicar o curso clínico com proteinúria grave (DIKMAN et al, 1981; PUDDU et al, 1982; LERNER, 1984). Assim, também, a estabilização ou regressão da amiloidose renal pode se associar à perda das espículas e diminuição dos depósitos glomerulares (DIKMAN et al, 1981).

Quanto à evolução clínica, há pacientes que cursam com deterioração da função renal em semanas ou meses, podendo apresentar amiloidose glomerular de rápida progressão e atrofia tubular. Entretanto, nem sempre há evidências morfológicas que expliquem o decréscimo de função renal (DIKMAN et al, 1981).

A identificação da forma clínica de amiloidose tem valor prognóstico para os pacientes com amiloidose renal, visto que a expectativa de vida a partir do diagnóstico é menor entre pacientes com amiloidose primária (nove meses) em relação àqueles com amiloidose secundária (acima de 50 meses) (DIKMAN et al, 1981).

Estas observações fazem supor a necessidade do diagnóstico precoce de amiloidose secundária à AR, tendo em vista o pior prognóstico e evolução potencialmente fatal daqueles pacientes com esta complicação (RUBENS-DUVAL & VILLIAUMEY, 1959; GERTZ, 1992).

As várias técnicas de biópsia desenvolvidas têm contribuído para o diagnóstico in vivo da amiloidose associada à AR.

As estimativas de incidência e prevalência de amiloidose secundária à AR sofrem influência da sensibilidade e viabilidade das técnicas utilizadas para se pesquisar esta complicação (ARAPAKIS & TRIBE, 1963).

Na década de 60, ARAPAKIS & TRIBE (1963) estudaram a incidência de amiloidose na AR utilizando a biópsia retal. Entre 115 pacientes com AR e tempo de doença acima de três anos, constataram seis com amiloidose (5,22%), sendo três deles com sedimento urinário normal.

UNZER (1979), através de biópsia renal, constatou maior incidência de amiloidose renal à microscopia eletrônica (92,3%) em comparação com a microscopia de luz polarizada (58,6%).

LIBBEY et al (1983) utilizaram a técnica de tecido adiposo periumbelical e obtiveram resultados de prevalência da amiloidose comparáveis àqueles constatados através da biópsia retal e superiores àqueles comprovados nas biópsias gengival e cutânea.

FRANZÉN & SUTINEN (1990), empregando biópsia aspirativa de tecido adiposo, comprovaram amiloidose em 91% de pacientes portadores de AR grave seguidos ambulatorialmente. Em outro grupo de pacientes constataram 13% de amiloidose secundária, com predomínio das classes anatômicas III e IV.

PROKAEVA et al (1990), empregando biópsia de mucosa gengival, encontraram amiloidose secundária em 44,2% e 48,6% respectivamente dos homens e mulheres portadores de AR. Observaram maior prevalência em grupos etários acima dos 50 anos. Discutem a possibilidade de que idade avançada e infecções do trato urinário possam predispor ao desenvolvimento de amiloidose.

LOPES (1991) em casuística nacional, constatou amiloidose secundária em 35,18% dos pacientes acometidos por AR, através da biópsia de tecidos adiposo e retal.

NEDER et al (1992), empregando a mesma metodologia desta autora, verificaram a presença de amiloidose em 5,8% dos pacientes acometidos por AR. Estes autores associaram a presença de amiloidose a doença de longa evolução, positividade para o fator reumatóide e formas mais agressivas da AR.

OZAWA et al (1992), através de biópsia gástrica, estimaram em 6,4% a prevalência de amiloidose secundária à AR. Os pacientes com amiloidose pertenciam ao sexo feminino, com tempo médio de doença de 15,3 anos e 58,33% deles não apresentavam alterações de função renal ou ao sedimento urinário.

Desse modo, têm-se buscado o diagnóstico precoce da amiloidose secundária à AR, preferencialmente através de técnicas menos invasivas, bem como medidas terapêuticas na tentativa de melhorar a sobrevida dos pacientes acometidos por esta complicação.

Assim também, a monitorização dos níveis da proteína SAA têm sido de valor quer como índice de atividade inflamatória, quer como orientador da terapêutica e prognóstico em pacientes com AR e/ou amiloidose secundária (MAURY, 1984). Entretanto, níveis elevados desta proteína nas doenças reumáticas não indicam necessariamente a

ocorrência de amiloidose, estando envolvidos outros fatores de natureza imunogenética (SCHEINBERG, 1977; HARATS et al, 1989), bioquímica (HUSBY, 1992b), metabólica (SHIRAHAMA & COHEN, 1975; KISILEVISKY, 1992), entre outros.

### **I.5.2.- Esclerose Sistêmica**

Esclerose sistêmica (ES) é uma doença difusa do tecido conjuntivo caracterizada pela presença de fibrose e alterações vasculares ao nível da pele, sinóvia, músculos e órgãos como trato gastrointestinal, pulmões, coração e rins (MEDSGER Jr, 1985).

Os critérios diagnósticos propostos pelo ACR (MASI et al, 1980), bem como sua classificação atual em formas difusa e limitada (LeROY, 1988) permitem sua caracterização clínica.

O escore cutâneo total (MEDSGER Jr et al, 1980) permite uma avaliação semiquantitativa do grau e extensão do envolvimento cutâneo (STEEN et al, 1982).

O clima e a região geográfica parecem não influenciar no curso evolutivo da doença. Algumas condições profissionais, como exposição à sílica, cloroeto de vinil, uso de instrumentos vibratórios ou de drogas como captopril, bleomicina ou de implantes de silicone e parafina, são consideradas indutoras de estados esclerodermóides (ANDRADE & ATRA, 1991).

É enfermidade pouco comum, sua incidência anual tem sido estimada entre cinco a oito casos novos por milhão de habitantes, acometendo mais frequentemente o sexo feminino que o masculino, em

proporção que varia nas diferentes casuísticas entre 3:1 e 15:1 (ANDRADE & ATRA, 1991). MARQUES NETO & SAMARA (1985) observaram a proporção de 7:1 entre os sexos feminino e masculino, com predomínio de raça branca (91,38%) em relação à negra (8,62%).

Inicia-se com maior frequência entre quarta e quinta décadas da vida, sendo rara na infância (MARQUES NETO & SAMARA, 1985).

Quanto aos fatores genéticos e hereditários há um acúmulo de relatos de casos de ES ocorrendo em parentes de primeiro grau e a consaguinidade pode estar contribuindo para esta associação (STEEN & MEDSGER Jr, 1990).

Estudos de HLA não têm revelado predominância de quaisquer um deles na ES. Entretanto, algumas associações têm sido demonstradas entre HLADR<sub>1</sub> e anticorpo anticentrômero e HLADR<sub>3</sub> e anticorpo antitopoisomerase I (STEEN et al, 1988).

A etiologia da ES permanece obscura. Sua fisiopatologia é representada por lesões vasculares como a endarterite proliferativa, hipóxia tecidual e deposição de colágeno e proteoglicanas em diversos órgãos e tecidos, desencadeadas provavelmente a partir de lesão endotelial em vasos de pequeno calibre ou alteração do controle vasomotor da circulação capilar (LALLY et al, 1988).

Parecem implicados na patogênese da ES alterações nos mecanismos imunorreguladores, fenômenos autoimunes, influências genéticas e alterações funcionais dos fibroblastos (LALLY et al, 1988).

Parâmetros clínicos e laboratoriais têm sido examinados com a finalidade de se identificar fatores que possam prever a evolução da ES a partir do diagnóstico (LALLY et al, 1988).



Assim, fatores prognósticos têm sido identificados e utilizados por varios autores nos ultimos 50 anos (STEEN & MEDGGER Jr, 1990), sendo considerados de mau prognóstico (STEEN, 1990; ANDRADE & ATRA, 1991):

1.- De primeira ordem:

- 1.1.- comprometimento renal
- 1.2.- hipertensão arterial
- 1.3.- pericardite com derrame
- 1.4.- hipertrofia de ventriculo esquerdo

2.- De segunda ordem:

- 2.1.- forma clinica difusa
- 2.2.- fibrose pulmonar
- 2.3.- hipertensão pulmonar
- 2.4.- síndrome de superposição
- 2.5.- resposta insatisfatória ao tratamento
- 2.6.- síndrome de má absorção intestinal
- 2.7.- atividade de renina plasmática elevada

3.- De terceira ordem:

- 3.1.- anemia progressiva
- 3.2.- déficit de imunidade celular e humoral
- 3.3.- presença de HLA-Bg
- 3.4.- idade de inicio acima de 45 anos
- 3.5.- raça negra
- 3.6.- sexo masculino
- 3.7.- velocidade de hemossedimentação elevada

Estudos da mortalidade na ES têm enfatizado as diferenças existentes entre as formas clínicas difusa e limitada. Casuísticas populacionais incluindo pacientes de todas as faixas etárias e ambos os sexos têm revelado taxas de sobrevida cumulativa entre 60 a 70% aos cinco anos e entre 40 e 50% aos dez anos após o diagnóstico (STEEN, 1990; ANDRADE & ATRA, 1991).

LALLY et al (1988) obtiveram taxas de sobrevida de 77% aos 5 anos e de 61% aos 9 anos de doença. Pacientes com a forma rapidamente progressiva de ES apresentaram taxa de sobrevida significativamente reduzida, aos 5 anos (18%) quando comparada com aquela apresentada pelos pacientes com doença de longa evolução (93%). A progressão da doença nos dois primeiros anos a partir do início da ES vai determinar evolução do processo esclerodérmico.

Como causa mortis, além de intercorrências, como infecções e neoplasia, são relatadas em ordem de frequência a insuficiência renal, insuficiência respiratória, hipertensão pulmonar levando à insuficiência cardíaca direita e caquexia por síndrome de má absorção intestinal (MARQUES NETO et al, 1986; ANDRADE & ATRA, 1991).

O envolvimento renal, entre os diversos órgãos potencialmente acometidos na ES, tem sido associado às maiores taxas de mortalidade. Muitos pacientes apresentam atividade de renina plasmática elevada, que precede ou coincide com a rápida deterioração da função renal, durante a denominada crise renal e podem responder satisfatoriamente à introdução de drogas inibidoras da enzima conversora, com normalização da pressão arterial e muitas vezes, da insuficiência renal (MARKENSON & SHERMAN, 1979; STEEN, 1990; STEEN & MEDSSER Jr, 1990).

Embora o envolvimento renal, importante causa de óbito na ES, possa ser atribuído a proliferação do colágeno e lesão do leito vascular renal, a rara ocorrência de síndrome nefrótica pode conduzir à possibilidade de amiloidose secundária. Assim LOWE (1969) descreveu um paciente que se apresentou com sinais e sintomas sugestivos de ES, o qual desenvolveu síndrome nefrótica sete meses após o início da doença. Evoluiu a óbito por trombose cerebral extensa e a necrópsia foi demonstrada a presença da substância amilóide nos rins e no reto, porém não na pele.

HOLZMANN & KORTING (1969) relataram o caso de um paciente com ES e depósitos de amilóide pericolágeno em diversos órgãos, mas não na pele. Estes autores também realizaram biópsia cutânea em 16 pacientes com esclerodermia e constataram amilóide pericolágeno em dois deles, um com a forma localizada e outro com a forma sistêmica.

Estes autores utilizaram coloração pelo vermelho Congo (LOWE, 1969; HOLZMANN & KORTING, 1969) e violeta cristal (LOWE, 1969) para pesquisa do amilóide.

Há também descrições de amiloidose associada à síndrome de superposição, como ES e síndrome de Sjögren (ITO et al, 1990) ou ES, AR e dermatopolimiosite (KUMAGAI et al, 1989).

## I.6.- PROTEÍNA SAA E OUTRAS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

Várias proteínas são sintetizadas pelo fígado e têm seus níveis séricos elevados após estímulos desencadeantes. Entre as principais estão:

1 - Proteína C-reativa - pertencente a classe das pentraxinas, é capaz de ligar-se ao polissacarídeo C do "Streptococcus pneumoniae". Seus níveis séricos podem se elevar em centenas de vezes durante resposta de fase aguda. Seus principais efeitos biológicos são a modulação da função dos polimorfonucleares, a ativação do complemento, a opsonização, a ativação da fagocitose (GRANI et al, 1987; SCHULTZ & ARNOLD, 1990).

2 -  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida - também denominada orosomucóide, seu papel biológico não está completamente esclarecido. Parece ter efeito imunorregulador e sítios para ligação de várias drogas (SCHULTZ & ARNOLD, 1990).

3 - Fibrinogênio - é uma glicoproteína composta por três pares de cadeias polipeptídicas. Após clivagem enzimática pela trombina dá origem à fibrina, que sofre posterior polimerização e estabilização. Seus níveis séricos podem aumentar em até cerca de quatro vezes durante a resposta de fase aguda. Seus principais efeitos biológicos

residem na coagulação sanguínea e cicatrização de úlceras (SCHULTZ & ARNOLD, 1990).

4 - Proteína SAA - é precursora das fibrilas amilóides na amiloidose secundária. Entre as demais proteínas de fase aguda, é a que apresenta aumento imediato e mais significativo diante de um estímulo adequado (MOZES et al, 1989). A distribuição de seus subtipos circulantes não se modifica com a doença de base, sugerindo que a resposta orgânica à agressão tissular é independente do estímulo desencadeador (MAURY et al, 1985a).

A determinação dos níveis de SAA tem sido utilizada na monitorização da atividade de doenças, resposta à terapêutica e prognóstico (CHAMBERS & WHICHER, 1983; MAURY & WEBELIUS, 1985).

Os níveis da proteína SAA representam um sensível indicador de lesão tissular causada por eventos infecciosos, traumáticos inflamatórios, neoplásicos (GRANT et al, 1987; MOZES et al, 1989).

Entre as doenças reumáticas, SAA tem-se correlacionado com atividade de doença e resposta à terapêutica nas artrites crônicas da infância (SCHEINBERG & BENSON, 1980; SCHEINBERG et al, 1980).

Entre pacientes com artrite reumatóide mostrou-se mais sensível que proteína C-reativa na monitorização da atividade de doença (CHAMBERS & WHICHER, 1983).

Quando dosada no soro e no líquido sinovial, apresentou níveis significativamente elevados entre pacientes com artrite associada a doença inflamatória em relação àqueles com osteoartrite ou artrite de causa traumática (SUKENIK et al, 1988).

Na esclerose sistêmica níveis elevados de SAA associaram-se a espessamento cutâneo grave e menor sobrevida cumulativa em cinco anos (BRANDWEIN et al, 1984).

Na amiloidose secundária, níveis de SAA não permitiram diferenciar estes pacientes daqueles sem amiloidose (SCHEINBERG & BENSON, 1980). Entretanto, durante período de seguimento de três anos SAA elevada associou-se à progressão de lesão renal (MAURY & WEGELIUS, 1985).

A proteína SAA mostrou-se útil na monitorização da atividade de doença e resposta ao tratamento na doença de Kawasaki (MIWATA et al, 1993).

Em inúmeras condições clínicas a determinação da proteína SAA tem-se revelado de utilidade, principalmente como marcadora de intensidade da resposta orgânica: infarto agudo do miocárdio, trauma (MOZES et al, 1989), gestação associada a infecção intercorrente (ØSTENSEN et al, 1985; VILLIERS et al, 1990), infecções virais agudas em crianças (MIWATA et al, 1993), doenças infecciosas bacterianas intestinais e urinárias (NAKAYAMA et al, 1993), hanseníase na forma lepromatosa (SCHEINBERG et al, 1979; SCHEINBERG & BENSON, 1980), doença inflamatória intestinal (CHAMBERS et al, 1987), rejeição de transplante renal (MAURY & TEPPO, 1984; HOCHE et al, 1989), neoplasias prostática, pulmonar, colorretal, mamária (MOZES et al, 1989).

Os principais métodos utilizados na determinação da proteína SAA são:

1) *Imunodifusão radial* - técnica de simples execução, porém baixa sensibilidade (CHAMBERS & WHICHER, 1983; MAURY & TEPPO, 1984).

2) *Radioimunoensaio* - metodologia de grande sensibilidade, permite detecção de níveis de SAA inferiores a 2µg/ml, entretanto requer maior tempo para execução. Utiliza proteínas AA e SAA marcadas com iodo radioativo (isótopos 125 ou 131) e soros anti AA ou anti SAA humanas produzidos em coelhos (De BEER & PELPYS, 1982; GODENIR et al, 1985).

3) *Enzimaimunoensaio* - método sensível, de alta reprodutibilidade, tem sido utilizado na determinação dos níveis de SAA e de sua faixa de normalidade em indivíduos saudáveis (YAMADA et al, 1989). Permite detecção de níveis de SAA entre 1µg/ml a acima de 1000 µg/ml.

Pode ser realizado em três etapas, em placas de microtitulação (SAA incubado com anti SAA e posteriormente com anti SAA conjugado à peroxidase) (YAMADA et al, 1989), ou em duas etapas (SAA incubado com anti SAA conjugado à peroxidase), seguidas pela reação colorimétrica catalizada pela peroxidase e leitura espectrofotométrica em determinado comprimento de onda (SIPE et al, 1989; OLIVEIRA et al, 1994).

Podem também ser utilizadas técnicas de imunoblot, que imobilizam o antígeno em membranas de nitrocelulose. São adequadas para o processamento de um número grande de amostras usando apenas pequenas quantidades de anti-soro (OBATA, 1989).

4) *Imunoensaio nefelométrico* - método sensível, de fácil execução, utiliza a propriedade de dispersar a luz apresentada pelos complexos SAA - anti SAA, medida em nefelômetro a laser (HOCKE et al, 1989). Modificações desta técnica, utilizando partículas de látex conjugadas

ao soro anti SAA foi descrita posteriormente e mostrou-se de aplicabilidade clínica devido à rapidez e simplicidade de realização (NAKAYAMA et al, 1993; MIWATA et al, 1993).



## Quadro I.1

### Nomenclatura e classificação do amilóide e amiloidose (HUSBY et al, 1993)

Proteína amilóide	Proteína precursora	Classe e Variantes	Diagnóstico clínico
AA	apo SAA		Amiloidose secundária Febre familiar do Mediterrâneo Síndrome de Muckle-Wells
AL	$\kappa, \lambda, \kappa\text{III}$	A $\kappa$ , A $\lambda$ , A $\kappa\text{III}$	Amiloidose idiopática (primária), associada a mieloma ou macroglobulinemia.
AH	IgG1	A $\gamma$ 1	
ATTR	transtirretina	Met 30 Met 111 Ile 122	Polineuropatia amiloidótica familiar, portuguesa cardiomiopatia amiloidótica familiar, dinamarquesa amiloidose senil sistêmica
A apo AI	apo AI	Arg 26	Polineuropatia amiloidótica familiar (Iowa)
A Gel	gelsolina	Asn 187 <sup>d</sup>	Amiloidose familiar finlandesa
A Dys	Cystatina C	Gln68	Hemorragia cerebral hereditária com amiloidose, nórdica

A $\beta$	proteína precursora $\beta$	Gln618	Doença de Alzheimer Síndrome de Down Hemorragia cerebral hereditária com amiloidose, holandesa.
A $\beta$ 2M	$\beta$ 2-microglobulina		Associada a hemodiálise crônica
AScr	proteína "scrapie"	proteína "scrapie" 27-30  Leu 102	Doença de Creutzfeldt-Jakob.  Síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker
A cal	Pro(calcitonina)	Pro(calcitonina)	Carcinoma medular de tireóide
AANF	Fator natriurético atrial		Amiloidose atrial isolada
AIAPP	Polipeptídeo amilóide da ilhota		Nas ilhotas de Langerhans, diabetes tipo II, insulinoma

## Quadro 1.2

### Avaliação da sensibilidade de diferentes locais de biópsia na amiloidose

autores	ano	local da biópsia	n° de pacientes com amiloidose	n° de casos positivos	sensibilidade (%)
GAFNI & SOHAR	1960	RETO	30	26	86,67
WESTERMARK	1972	PELE T.A.S.A.* RETO RIM	9	8	88,89
WESTERMARK & STENKVIST	1973	RETO e T.A.S.A.	9 9	8 9	88,89 100
LIBBEY et al	1983	T.A.S.A.	32	28	87,5
ORFILA et al	1986	T.A.S.A.	12	9	75,0
MARIN L. et al	1987	T.A.S.A.	4	4	100
ARIZA et al	1988	RETO T.A.S.A.	21 21	17 19	80,95 90,48
BREEDVELD et al	1988	RETO T.A.S.A.	26 26	22 14	84,62 53,85
DUSTON et al	1989	T.A.S.A.	7	4	57,14
GERTZ & KYLE	1991	RETO T.A.S.A.	39 12	32 7	82,05 58,33
HACHULLA et al	1992	GLÂNDULA SALIVAR	38	26	68,42

\* tecido adiposo subcutâneo abdominal

### Quadro I.3

#### Artrite reumatóide - causas renais de óbito

#### TRABALHOS PROSPECTIVOS

autores	ano	n° de pacientes	n° de óbitos	tempo de seguimento (anos)	causas renais de óbito
VANDENBROUCKE et al	1984	209	165 (78,95%)	25	UROGENITAL - 5 (3,03%) AMILOIDOSE - 5 (3,03%) UROSSEPSIS - 4 (2,42%)
LAAKSO et al	1986	1000	356 (35,6%)	10	INSUFICIÊNCIA RENAL - 42 (11,79%) AMILOIDOSE - 31 (8,71%)
MITCHELL et al	1987	805	231 (28,70%)	12	DOENÇA RENAL - 7 (3,03%) AMILOIDOSE - 2 (0,87%)
SCOTT et al	1987	112	37 (33,04%)	20	DOENÇA RENAL - 3 (8,11%)
REILLY et al	1990	100	63 (63%)	25	AMILOIDOSE - 4 (6,35%)

#### TRABALHOS POST-MORTEM

autores	ano	n° de necrópsias	Amiloidose
MISSEN & TAYLOR	1956	47	8 (17,02%) 6 - Secundária à AR 2 - AR e tuberculose ou adenocarcinoma
BOERS et al	1987	132	14 (10,61%)

## **Objetivos**

## II - Objetivos

- 1) Pesquisar a ocorrência de amiloidose secundária em 48 pacientes com AR e 39 pacientes com ES através da biópsia de tecido adiposo periumbelical.
- 2) Verificar a importância e utilidade do níveis de proteína SAA em amostras de sangue periférico de pacientes com AR e ES comparados com aqueles obtidos para o grupo controle.
- 3) Relacionar os resultados das biópsias e os níveis da proteína SAA com manifestações clínicas e alterações verificadas nos exames subsidiários em pacientes com AR e ES.

## **Casuística, Material e Métodos**

## **III - Casuística, Material e Métodos**

### **III.1.- CARACTERIZAÇÃO DA CASUÍSTICA**

Foram estudados 48 pacientes com AR e 39 pacientes com ES, preenchendo os critérios diagnósticos propostos pelo ACR (American College of Rheumatology 1980 e 1988) (Quadros III.1 e III.4).

Foram considerados critérios de exclusão para os grupos com AR e ES a presença de patologias infectocontagiosas, neoplásicas, síndrome de superposição com outra doença difusa do tecido conjuntivo, esclerodermia localizada, estados esclerodermóides induzidos por agentes químicos ou físicos.

Todos os pacientes foram atendidos e acompanhados no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas das Faculdades de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUCCAMP) no período de abril de 1990 a agosto de 1992.



Para determinação da dosagem de proteína SAA foram analisados 43 voluntários normais. Destes, 30 eram do sexo feminino (69,77%) e 13 do masculino (30,23%). Quanto à raça, 33 eram caucasóides (76,74%) e dez não caucasóides (23,26%) (tabela 1).

**Tabela 1: Grupo controle para a determinação da proteína SAA**

Caracterização da Casuística: Sexo e raça		
	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
Sexo	Feminino	69,77
	Masculino	30,23
Raça	Caucasóide	76,74
	Não Caucasóide	23,26

A idade variou de 19 a 58 anos, com média de 35,53 ( $\pm$  10,68) anos. A distribuição do grupo em faixas etárias encontra-se descrita na tabela 2.

**Tabela 2: Grupo controle para a determinação da proteína SAA**

<b>Caracterização da Casuística: Idade (anos)</b>		
<b>IDADE</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
< 30	15	34,88
30 - 40	14	32,56
41 - 50	9	20,93
51 - 60	5	11,63
<b>TOTAL</b>	<b>43</b>	<b>100</b>

O grupo controle para pesquisa de amiloidose foi constituído por dez pacientes acometidos por osteoartrite, que voluntariamente foram submetidos à biópsia de tecido adiposo periumbelical.

Para cada paciente acometido por AR foi preenchido um prontuário específico com dados de anamnese, exame físico e exames subsidiários (vide apêndice). Com relação à variável raça, foram classificados como caucasóides os indivíduos brancos e com ascendentes também brancos por no mínimo duas gerações precedentes e não caucasóides os demais, com pelo menos um ascendente não branco em uma das duas últimas gerações que o precederam.

Foram estudados 48 pacientes com AR, sendo 38 do sexo feminino (79,17%) e 10 do masculino (20,83%). Quanto à raça, 37 eram caucasóides (77,08%) e 11 não caucasóides (22,92%) (tabela 3).

**Tabela 3: Artrite reumatóide - 48 pacientes**

<b>Caracterização da Casuística: Sexo e raça</b>		
	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
<b>Sexo</b>	Feminino	38 79,17
	Masculino	10 20,83
<b>Raça</b>	Caucasóide	37 77,08
	Não Caucasóide	11 22,92

A distribuição dos pacientes quanto à faixa etária está descrita na tabela 4.

A idade de início da AR variou de 17 a 73 anos, com média de 41,27 ( $\pm$  14,03) anos.

**Tabela 4: Artrite reumatóide - 48 pacientes**

<b>Caracterização da Casuística: Idade de início (anos)</b>		
<b>IDADE DE INÍCIO (ANOS)</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
< 30	09	18,75
30 - 40	14	29,17
41 - 50	13	27,08
51 - 60	07	14,58
> 60	05	10,42
<b>TOTAL</b>	<b>48</b>	<b>100</b>

O tempo de doença variou de 1 a 39 anos, com média de 11,25 ( $\pm$  7,97) anos.

A distribuição do número de pacientes em relação ao tempo de doença encontra-se na tabela 5.

**Tabela 5: Artrite reumatóide - 48 pacientes**

<b>Caracterização da Casuística: Tempo de doença (anos)</b>		
<b>TEMPO DE DOENÇA (ANOS)</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
< 05	10	20,83
05 - 10	17	35,42
11 - 20	17	35,42
> 20	04	8,33
<b>TOTAL</b>	<b>48</b>	<b>100</b>

Os pacientes com AR foram classificados nos estágios de I a IV de acordo com os critérios de progressão e nas classes funcionais de 1 a 4 segundo STEINBROCKER et al (1949) (Quadros III.2 e III.3).

A classificação dos pacientes segundo o estágio de progressão da AR encontra-se na tabela 6.

**Tabela 6: Artrite reumatóide - 48 pacientes**

Estágios de Progressão da A.R.		
ESTÁGIO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
I	06	12,50
II	14	29,17
III	17	35,41
IV	11	22,92
TOTAL	48	100

A classificação funcional está descrita na tabela 7.

**Tabela 7: Artrite reumatóide - 48 pacientes**

Classificação funcional da A.R.		
CLASSE FUNCIONAL	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
1	08	16,67
2	33	68,75
3	03	6,25
4	04	8,33
TOTAL	48	100

Houve diferença estatística significativa entre estágio de progressão, com mediana igual a três e classe funcional, com mediana igual a dois ( $t = 3,52$ ;  $p < 0,001$ ).

Para cada paciente acometido por ES foi preenchido um prontuário específico que permitiu seu agrupamento por sexo, raça, grupo etário, formas clínicas, exame físico e exames subsidiários (vide apêndice).

Os pacientes com ES foram classificados em forma limitada (ESl) ou difusa (ESd) pelos critérios de LeROY et al (1988) (Quadro III.5).

A extensão do espessamento cutâneo foi estabelecida através do escore cutâneo total proposto originalmente por RODNAN (MEDSGER et al, 1980) que considera 26 sítios anatômicos graduados de 0 a 4 (RODNAN et al, 1979), de acordo com modelo apresentado por STEEN et al (1982) (Quadro III.6). Todos os pacientes foram submetidos à biópsia de pele que foi compatível com o diagnóstico de ES.

Foram estudados 39 pacientes, 26 (66,67%) com a forma limitada (ESl) e 13 (33,33%) com a forma difusa (ESd) (tabela 8).

**Tabela 8: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

<b>Caracterização da Casuística: Formas Clínicas</b>		
<b>FORMA CLÍNICA</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
ESl	26	66,67
ESd	13	33,33
<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	<b>100</b>

Foram estudados 33 pacientes (84,62%) do sexo feminino e seis do sexo masculino (15,38%) (tabela 9)

**Tabela 9: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

Caracterização da Casuística: sexo		
SEXO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
Feminino	33	84,62
Masculino	6	15,38
TOTAL	39	100

Dos 26 pacientes com a forma limitada, 22 eram do sexo feminino (56,41%) e quatro do masculino (10,26%). Dos treze pacientes com a forma difusa, onze eram do sexo feminino (28,2%) e dois do masculino (5,13%) (tabela 10).

**Tabela 10: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

Caracterização da Casuística: forma clínica e sexo			
FORMA CLÍNICA	SEXO		TOTAL
	MASCULINO	FEMININO	
ESl	4 (10,26%)	22 (56,41%)	26 (66,67%)
ESd	2 (5,13%)	11 (28,20%)	13 (33,33%)
TOTAL	6 (15,39%)	33 (84,61%)	39 (100%)

Foram estudados 29 pacientes caucasóides (74,36%) e dez não caucasóides (25,64%). Dos 26 pacientes com a forma limitada, 21 eram caucasóides (53,85%) e cinco não caucasóides (12,82%). Dos 13 pacientes com a forma difusa, oito eram caucasóides (20,51%) e cinco não caucasóides (12,82%) (tabela 11).

**Tabela 11: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

<b>Caracterização da Casuística: forma clínica e raça</b>			
FORMA CLÍNICA	RAÇA		TOTAL
	CAUCASÓIDE	NÃO CAUCASÓIDE	
ESl	21 (53,85%)	5 (12,82%)	26 (66,67%)
ESd	8 (20,51%)	5 (12,82%)	13 (33,33%)
TOTAL	29 (74,36%)	10 (25,64%)	39 (100%)

A idade de início variou de 14 a 69 anos, com média de idade 38,27 ( $\pm$  13,52) anos. A média de idade de início da doença foi 38,46 ( $\pm$  13,85) anos na forma limitada e 37,88 ( $\pm$  13,38) anos na forma difusa (tabela 12).

**Tabela 12: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

<b>Caracterização da Casuística: forma clínica e idade de início</b>	
FORMA CLÍNICA	IDADE DE INÍCIO (anos)
ESl	38,46 $\pm$ 13,85
ESd	37,88 $\pm$ 13,38



O tempo de doença variou de um a 33 anos com média de 10,89 ( $\pm 7,05$ ) anos. A distribuição do número de pacientes em relação ao tempo de doença encontra-se na tabela 13.

**Tabela 13: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

Caracterização da Casuística: Tempo de doença (anos)		
TEMPO DE DOENÇA (ANOS)	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
< 05	07	17,95
05 - 10	16	41,03
11 - 20	13	33,33
> 20	03	7,69
TOTAL	39	100

Na forma limitada o tempo médio de doença foi de 12,73 ( $\pm 6,9$ ) anos. Na forma difusa o tempo médio de doença foi de 7,19 ( $\pm 6,01$ ) anos.

Houve diferença estatística significativa entre os tempos médios de doença para as formas limitadas e difusa (tabela 14).

**Tabela 14: Esclerose sistêmica - 39 pacientes**

Forma clínica e tempo de doença (anos)	
FORMA CLÍNICA	TEMPO DE DOENÇA (anos)
ESl	12,73 $\pm$ 6,9
ESd	7,19 $\pm$ 6,01

$$t = 2,46$$

$$p = 0,019$$

### III.2.- AVALIAÇÃO CLÍNICA E EXAMES SUBSIDIÁRIOS NOS PACIENTES ACOMETIDOS POR ARTRITE REUMATÓIDE E ESCLEROSE SISTÊMICA

A atividade clínica articular nos pacientes com AR e ES foi avaliada através da presença ou não de calor, rubor e edema em uma ou mais articulações periféricas na ocasião da biópsia de tecido subcutâneo periumbelical e da colheita de sangue periférico para as dosagens laboratoriais. As articulações consideradas foram: metatarsfalangeanas, tornozelos, joelhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais, punhos e cotovelos (RAGAN et al, 1965).

Os exames laboratoriais foram realizados de acordo com as técnicas de rotina implantadas nos laboratórios de Patologia Clínica dos Hospitais Universitários das FCM - UNICAMP e FCM - PUCCAMP.

Foram avaliados os níveis séricos de hemoglobina (g/dl), a leucometria ( $n^{\circ}/mm^3$ ), a glicemia (mg/dl), a velocidade de hemossedimentação (Westergren), a prova do látex (aglutinação, positiva para títulos iguais ou superiores a 1:80).

Fator antinuclear (FAN) foi dosado por imunofluorescência, tendo como substratos fígado de rato e células Hep2 e foi considerado positivo em títulos iguais ou acima de 1:40.

A pesquisa do anticorpo anti-Scl-70 foi realizada no Laboratório de Investigação em Imunologia Clínica, Alergia e Reumatologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

Exames radiológicos simples (como de mãos e punhos, de tórax), contrastados (como esôfago, estômago, duodeno contrastados,

trânsito intestinal, enema opaco) eletrocardiograma, ecocardiograma com doppler e função pulmonar foram realizados nas unidades de Radiologia e Procedimentos Especializados dos Hospitais das Clínicas da UNICAMP e PUCAMP.

Avaliação da função renal foi realizada pela determinação da uréia e creatinina séricas (em mg/dl), exame qualitativo de urina (urina tipo I), e proteinúria de 24 horas.

### III.3.- DOSAGEM DA PROTEÍNA SAA

As dosagens da proteína SAA pelo método de enzimaímunoensaio (ELISA) (OLIVEIRA et al 1994) foram realizadas em duplicata, empregando padrões e reagentes HEMAGEN® - HEMAGEN Diagnostics, Inc. Waltham, Massachussets, de acordo com descrição no quadro III.7. A determinação da proteína SAA foi realizada no Laboratório Raul Dias dos Santos.

Todos os pacientes foram voluntariamente submetidos à colheita de sangue por punção venosa para determinação da proteína SAA e em seguida à biópsia de tecido adiposo subcutâneo periumbelical (WESTERMARK et al, 1989).

### III.4.- BIÓPSIA DE TECIDO ADIPOSEO SUBCUTÂNEO PERIUMBELICAL

Cada paciente dos grupos controle, com AR e ES foi submetido à antissepsia da região abdominal com álcool iodado, anestesia local com lidocaina a 2% sem vasoconstritor, 5cm à direita da cicatriz umbelical, incisão cirúrgica nesse local de 2cm de comprimento. Foi obtido fragmento com cerca de 1cm<sup>3</sup> de volume de tecido adiposo subcutâneo, o qual foi imerso em formol a 10%. Em seguida a incisão foi suturada com fio mononylon 4o.(WESTERMARK et al, 1989).

O material obtido foi processado, incluído em parafina, cortes de 4 micras de espessura foram fixados em lâminas e corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (uma lâmina por paciente) e vermelho Congo (duas lâminas por paciente) (BENNHOLD, apud MALLORY, 1961) conforme descrito no quadro III.8.

Cortes de rim, baço e pele obtidos de pacientes portadores de amiloidose associada ao mieloma múltiplo foram empregados como controles positivos para as colorações com hematoxilina-eosina e vermelho Congo. Todas as lâminas foram analisadas pela autora e revisadas por duas patologistas, utilizando-se microscopia simples e com luz polarizada, em microscópio de marca Carlzeiss. Filtro de quartzo foi utilizado para melhor diferenciação entre amiloide e colágeno à luz polarizada.

### III.5.- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados através de técnicas de estatística descritiva para cálculos de média, mediana, desvio padrão, com intervalo de confiança de 95%. Os resultados dos desvios-padrão foram apresentados após as médias, entre parênteses. O número de observações realizadas foi representado pelo conjunto (n). Para estudo da associação entre as variáveis foi utilizado o teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ); para comparar dados quantitativos, foi empregado o teste t de Student e para estudar a associação linear entre duas variáveis foi utilizada análise de regressão ( $y = a + bx$ ). O nível de significância empregado foi de 5% ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Os dados foram analisados através do programa Statgraphics Vs 2.6, em microcomputador AT 386 SX VGA color.

## Quadro III.1

### Critérios da ACR revisados (1987) para a classificação de artrite reumatóide (ARNETT et al, 1988)

CRITÉRIO	DEFINIÇÃO
1. Rigidez matinal	Rigidez matinal com pelo menos 1 hora de duração na articulação e ao redor dela.
2. Artrite de 3 ou mais articulações	No mínimo 3 articulações simultâneas com sinais de flogose observados pelo clínico.
3. Artrite das articulações da mão	Flogose articular em pelo menos uma articulação (punhos, metacarpofalangeanas ou interfalangeanas proximais).
4. Artrite simétrica	Envolvimento simultâneo e simétrico da mesma área articular.
5. Nódulos reumatóides	Nódulos subcutâneos sobre proeminências ósseas, superfícies extensoras ou regiões justarticulares observadas pelo clínico.
6. Fator reumatóide sérico	Presença de fator reumatóide em quantidades anormais por qualquer método que seja positivo em menos de 5% dos controles normais.
7. Alterações radiológicas	Alterações à radiografia de mãos e punhos que incluam erosões ou descalcificações ósseas localizadas.

Para fins de classificação: presença de pelo menos quatro critérios diagnósticos. Os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por 6 semanas ou mais.

## Quadro III.2

---

<p style="text-align: center;"><b>Critérios para determinação da progressão da artrite reumatóide (STEINBROCKER, 1959)</b></p>
--

### Estágio I - Inicial

- \*1. sem alterações radiológicas erosivas.
- 2. osteoporose.

### Estágio II - Moderado

- \*1. Evidência radiológica de osteoporose, leve destruição do osso subcondral ou da cartilagem podem estar presentes.
- \*2. sem deformidade articular. Pode haver limitação articular.
- 3. atrofia muscular adjacente.
- 4. lesões extra-articulares, como nódulos e tenossinovites.

### Estágio III - Grave

- \*1. Evidência radiológica de osteoporose, destruição da cartilagem e do osso subcondral.
- \*2. Deformidade articular, como subluxação, desvio ulnar ou hiperextensão.
- 3. atrofia muscular intensa.
- 4. Lesões extra-articulares podem estar presentes.

### Estágio IV - Terminal

- \*1. Presença de fibrose ou anquilose óssea.
- 2. Critérios do estágio III.

---

\* critérios que devem estar presentes para permitir a classificação do paciente em determinado estágio.



### Quadro III.3

---

<p style="text-align: center;"><b>Classificação da capacidade funcional da artrite reumatóide (STEINBROCKER, 1959)</b></p>
--

**Classe 1** - Completa habilidade para realizar todas as atividades usuais sem dificuldades.

**Classe 2** - Adequada para atividades normais apesar da dificuldade, desconforto ou limitação de uma ou mais articulações.

**Classe 3** - Limitada, atividades usuais ou de cuidado pessoal mínimas ou ausentes.

**Classe 4** - Incapacitada, ampla ou total, confinada ao leito ou a cadeira de rodas, cuidado pessoal mínimo ou ausente.

---

## Quadro III.4

---

<p style="text-align: center;"><b>Critérios diagnósticos da esclerose sistêmica (MASI et al, 1980)</b></p>
--

**Critério maior** - escleroderma proximal afetando extremidades, face, pescoço ou tronco.

**Critérios menores** - esclerodactilia.  
- ulcerações de polpas digitais ou reabsorção de falanges distais.  
- fibrose em bases pulmonares.

---

**Para o diagnóstico de E.S. é necessário apresentar o critério maior ou pelo menos, dois critérios menores.**

## Quadro III.5

---

<b>Cr�terios de classifica�o da esclerose sist�mica (LeROY, 1988)</b>
---

### FORMA DIFUSA (ESd)

Fen meno de Raynaud simultâneo ao acometimento cutâneo.

Espessamento cutâneo do tronco e extremidades de instala o rápida.

Presença de contraturas e crepita o tendínea.

Envolvimento visceral significativo e precoce (pulmões, rins, trato intestinal, cora o).

Presença do anticorpo anti Scl-70 (antitopoisomerase I) (30% dos pacientes).

### FORMA LIMITADA (ESl)

Fen meno de Raynaud precedendo em anos o acometimento cutâneo.

Espessamento cutâneo limitado às mãos, face, p s, antebraços ou ausente, de instala o lenta.

Incidência elevada de calcinose, teleangiectasias, hipertensão pulmonar.

Presença do anticorpo anticentrômero (70 a 80% dos pacientes).

---

### Quadro III.6

#### Escore cutâneo total - método original de RODNAN (MEDSGER Jr. et al, 1980)

<b>DIREITO</b>						<b>ESQUERDO</b>					
0	1	2	3	4		<b>DEDOS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>MÃOS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>ANTEBRAÇOS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>BRAÇOS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>OMBROS</b>	0	1	2	3	4
						<b>FACE</b>	0	1	2	3	4
						<b>PESCOÇO</b>	0	1	2	3	4
						<b>TÓRAX</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>MAMAS</b>	0	1	2	3	4
						<b>ABDOME</b>	0	1	2	3	4
						<b>REGIÃO DORSAL</b>	0	1	2	3	4
						<b>REGIÃO LOMBAR</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>COXAS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>PERNAS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>PÉS</b>	0	1	2	3	4
0	1	2	3	4		<b>ARTELHOS</b>	0	1	2	3	4

Escala do espessamento cutâneo (RODNAN et al, 1979)

0 = normal      1 = espessamento leve      2 = espessamento moderado      3 = espessamento grave  
4 = grau extremo de espessamento

## Quadro III.7

### Determinação da Proteína SAA pelo método ELISA (OLIVEIRA et al, 1994)

- 1.- Adicionar 200 $\mu$ l do padrão de proteína SAA (5 $\mu$ g/ml), 200 $\mu$ l dos soros dos pacientes em estudo (na diluição de 10 $\mu$ l de soro para 40 $\mu$ l do diluente) e 200 $\mu$ l do diluente puro nas cubetas das placas de microtitulação, em duplicata.
- 2.- Incubar por 90 minutos à temperatura ambiente.
- 3.- Descartar o conteúdo das cubetas e lavar cinco vezes com PBS (tampono fosfato 0,2 M).
- 4.- Adicionar em cada cubeta 100 $\mu$ l de anticorpo anti SAA humana marcado com peroxidase.
- 5.- Incubar 60 minutos à temperatura ambiente.
- 6.- Descartar o conteúdo das cubetas e lavar cinco vezes com PBS.
- 7.- Adicionar em cada cubeta 100 $\mu$ l de ABTS (substrato da peroxidase).
- 8.- Incubar dez minutos à temperatura ambiente.
- 9.- Acrescentar 50 $\mu$ l de solução de floureto de sódio 3% a fim de parar a reação.
- 10.- Ler ao espectrofotômetro no comprimento de onda de 450nm.

Faixa de Normalidade para níveis de proteína SAA: até 15 $\mu$ g/ml. Considerar os níveis de SAA para cada paciente a média aritmética entre os dois resultados obtidos.

Caso a concentração da proteína SAA resultar em superior a 100 $\mu$ g/ml, submeter a amostra de soro a duas diluições (1:5 e posteriormente 1:51) e repetir as dosagens.

## Quadro III.8

---

<p>Técnica do Vermelho Congo para coloração do amilóide (BENNHOLD apud MALLORY, 1961)</p>
---

- 01) Hidratar os cortes de tecido em estudo após desparafinados e fixados em lâminas.
- 02) Corar com vermelho Congo durante uma hora.
- 03) Lavar com água destilada.
- 04) Diferenciar com álcool alcalino por 2 segundos.
- 05) Lavar em água corrente por cinco minutos.
- 06) Corar pela hematoxilina de Mayer por cinco minutos.
- 07) Passar em alcóois hidratados até álcool absoluto.
- 08) Montar no xilol.

Resultado: o amilóide cora-se de róseo a vermelho.

### Soluções:

01) vermelho Congo 1%.

02) álcool alcalino:

hidróxido de sódio 1%	-	1 ml
álcool 50%	-	100 ml

## **Resultados**

## **IV - Resultados**

### **IV.1.- GRUPOS-CONTROLE**

#### **IV.1.1.- Proteína SAA**

Todos os 43 voluntários foram submetidos à dosagem de proteína SAA, que apresentou níveis médios de  $(15,46 \pm 14,31)\mu\text{g/ml}$ .



#### IV.1.2.- Proteína SAA, sexo, raça e idade

Não houve diferenças estatísticas significativas entre as médias da proteína SAA quanto aos sexos feminino ou masculino ( $t = -1,24$ ;  $p = 0,22$ ) e raças caucasóide ou não caucasóide ( $t = 0,15$ ;  $p = 0,88$ ) (tabela 15).

**Tabela 15**

		Proteína SAA - Sexo e raça	
		SAA ( $\mu\text{g/ml}$ )	t ; p
<u>Sexo</u>	Feminino	17,23 $\pm$ 16,61	-1,24 ; 0,22
	Masculino	11,37 $\pm$ 4,86	
<u>Raça</u>	Caucasóide	15,64 $\pm$ 14,98	0,15 ; 0,88
	Não Caucasóide	14,86 $\pm$ 12,55	

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre níveis de proteína SAA e idade ( $t = 1,15$ ;  $p = 0,26$ ).

#### IV.1.3.- Pesquisa de amiloidose

A pesquisa de amilóide através da biópsia de tecido adiposo periumbelical resultou negativa no grupo de dez pacientes acometidos por osteoartrite.

## IV.2.- ARTRITE REUMATÓIDE

### IV.2.1.- Manifestações articulares

Dos 48 pacientes, 27 apresentaram-se com artrite periférica (56,25%) na ocasião da dosagem da proteína SAA e 21 sem artrite (43,75%).

### IV.2.2. Manifestações extraarticulares

Dos 48 pacientes, 18 apresentaram manifestações extra-articulares (37,5%) e 30 não apresentaram-nas (62,5%). As principais diagnosticadas foram ceratoconjuntivite sicca em dez pacientes (20,83%), nódulos reumatóides em seis (12,5%), infiltrado pulmonar intersticial em quatro (8,33%) e vasculite de extremidades em um paciente (2,08%).

### IV.2.3.- Características laboratoriais

#### IV.2.3.1.- *Bioquímicas*

O nível de hemoglobina foi determinado nos 48 pacientes e apresentou-se com valor médio de 12,92 ( $\pm$  1,66)g/dl. A contagem de leucócitos foi em média de 8.327 ( $\pm$  2779) por mm<sup>3</sup>.

A glicemia foi dosada em 42 pacientes e apresentou níveis médios de 97,75 ( $\pm$  28,16)mg/dl.

#### IV.2.3.2.- Renais

Os níveis de uréia, creatinina e o sedimento urinário foram determinados nos 48 pacientes.

A uréia sérica apresentou níveis médios de 31,1 ( $\pm 14,14$ )mg/dl e a creatinina níveis médios de 0,75 ( $\pm 0,26$ )mg/dl.

As alterações ao sedimento urinário ficaram assim distribuídas:

Hematúria em 16 (33,33%), leucocitúria em 15 (31,25%) e proteinúria em 12 amostras (25,0%) (tabela 16). Cada paciente pode apresentar uma ou mais alterações ao sedimento urinário.

**Tabela 16**

Sedimento urinário - A.R.		
SEDIMENTO URINÁRIO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
hematúria	16	33,33
leucocitúria	15	31,25
proteinúria	12	25,0
sem alterações	20	41,67

Níveis de proteinúria de 24 horas nos 12 pacientes com proteinúria ao sedimento urinário variaram de zero a 10,5g, com níveis médios de 1,19 ( $\pm 2,95$ )g.

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre os níveis de uréia e creatinina para os grupos com proteinúria ( $t = 1,49$ ;  $p = 0,17$ ) e hematúria ( $t = 2,02$ ;  $p = 0,063$ ).

#### IV.2.3.3. *Imunológicas*

A prova do látex mostrou-se positiva ( $\geq 1:80$ ) em 33 pacientes (68,75%) e negativa ( $< 1:80$ ) em 15 deles (31,25%) (tabela 17). No primeiro grupo os títulos variaram de 1:80 a 1:1280.

**Tabela 17**

Prova do látex - A.R.		
LÁTEX	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
positiva	33	68,75
negativa	15	31,25
TOTAL	48	100

O FAN foi determinado em 25 pacientes e apresentou-se positivo em cinco deles (20,0%) (tabela 18).

**Tabela 18**

FAN - A.R.		
FAN	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
negativo	20	80,0
positivo	05	20,0
TOTAL	25	100

#### IV.2.3.4. Provas de atividade inflamatória

##### IV.2.3.4.1. VHS

A VHS foi determinada em 46 pacientes e apresentou níveis médios de 47,87 ( $\pm$  25,06)mm.

##### IV.2.3.4.2. Proteína SAA

A proteína SAA foi dosada em 46 pacientes, seu nível médio foi 80,71 ( $\pm$  105,11) $\mu$ g/ml.

##### IV.2.3.4.3. Proteína SAA e VHS

Análise de regressão não evidenciou associação linear entre proteína SAA e VHS ( $t = 0,29$ ;  $p = 0,77$ ).

#### IV.2.4.- Manifestações clínico-laboratoriais em relação à VHS e proteína SAA

##### IV.2.4.1. VHS e variáveis epidemiológicas (sexo e idade)

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de VHS para os pacientes do sexo feminino ou masculino ( $t = -0,70$ ;  $p = 0,48$ ).

Análise de regressão não revelou associação significativa entre VHS e idade ( $t = 0,32$ ;  $p = 0,75$ ).

##### IV.2.4.2. VHS e envolvimento articular

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de VHS para os pacientes com artrite periférica ( $49,85 \pm 26,09$  mm) e sem artrite ( $46,34 \pm 24,64$  mm) ( $t = 0,46$ ;  $p = 0,64$ ).



#### IV.2.4.3. VHS e envolvimento renal

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de VHS para os pacientes com ou sem hematuria ao sedimento urinário ( $t = 1,67$ ;  $p = 0,069$ ).

Houve diferença estatística significativa entre as médias de VHS para os pacientes com proteinúria e aqueles sem proteinúria ao sedimento urinário (tabela 19).

**Tabela 19**

		VHS - Sedimento urinário
SEDIMENTO URINÁRIO		VHS
<u>Proteinúria:</u>		
	presente	61,55 ± 26,79
	ausente	43,57 ± 23,25

$$t = -2,16 \quad ; \quad p = 0,036$$

#### IV.2.4.4. Proteína SAA e grupo controle

Houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os grupos controle e com AR (tabela 20).

**Tabela 20**

Proteína SAA - Grupos controle e A.R.	
	PROTEÍNA SAA ( $\mu\text{g/ml}$ )
Grupo controle	15,46 ( $\pm$ 14,31)
A.R.	80,71 ( $\pm$ 105,12)

$$t = -4,03 \quad ; \quad p < 0,001$$

#### IV.2.4.5. Proteína SAA e variáveis epidemiológicas

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre proteína SAA e: sexo ( $t = -0,52$  ;  $p = 0,61$ ); raça ( $t = -0,19$  ;  $p = 0,85$ ); idade de início ( $t = -0,30$ ;  $p = 0,77$ ) e tempo de doença ( $t = 1,30$ ;  $p = 0,20$ ).

#### IV.2.4.6. Proteína SAA e envolvimento articular

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA nos pacientes com AR e artrite periférica e aqueles sem esta manifestação (tabela 21).

**Tabela 21**

Proteína SAA e envolvimento articular	
ARTRITE PERIFÉRICA	PROTEÍNA SAA (µg/ml)
presente	98,96 ± 104,97
ausente	66,68 ± 105,08

$$t = 1,03 \quad ; \quad p = 0,31$$

Não houve associação estatística entre níveis de proteína SAA inferiores ou iguais a 100µg/ml e acima de 100µg/ml e presença ou não de artrite periférica (tabela 22).

**Tabela 22**

Níveis de proteína SAA e envolvimento articular			
ARTRITE PERIFÉRICA	PROTEÍNA SAA (µg/ml)		TOTAL
	≤ 100	>100	
presente	14 (30,43%)	06 (13,04%)	20
ausente	21 (45,65%)	05 (10,87%)	26
TOTAL	35	11	46

$$\chi^2_1 = 0,72 \quad ; \quad p = 0,4$$

No grupo com níveis de SAA iguais ou inferiores a 100µg/ml, comparação entre as médias de proteína SAA, nos pacientes com artrite periférica e sem esta manifestação resultou em diferença estatística significativa (tabela 23).

**Tabela 23**

<b>Proteína SAA ≤ 100µg/ml e envolvimento articular</b>	
<b>ARTRITE PERIFÉRICA</b>	<b>PROTEÍNA SAA (µg/ml)</b>
presente	40,85 ± 30,63
ausente	18,36 ± 14,06

$$t = 2,95 \quad ; \quad p = 0,006$$

No grupo com níveis de SAA superiores a 100µg/ml não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA nos pacientes com artrite periférica e sem esta manifestação (tabela 24).

**Tabela 24**

<b>Proteína SAA &gt; 100µg/ml e envolvimento articular</b>	
<b>ARTRITE PERIFÉRICA</b>	<b>PROTEÍNA SAA (µg/ml)</b>
presente	234,55 ± 88,95
ausente	269,6 ± 65,56

$$t = -0,73 \quad ; \quad p = 0,48$$

#### IV.2.4.7. Proteína SAA e manifestações extra-articulares

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA nos grupos de pacientes com manifestações extra-articulares e sem estas manifestações (tabela 25).

**Tabela 25**

Proteína SAA e manifestações extra-articulares	
MANIFESTAÇÕES EXTRA-ARTICULARES	PROTEÍNA SAA ( $\mu\text{g/ml}$ )
presentes	86,79 $\pm$ 112,98
ausentes	76,80 $\pm$ 101,66

$$t = 0,31 \quad ; \quad p = 0,76$$

#### IV.2.4.8. Proteína SAA e manifestações renais

Análise de regressão linear não evidenciou associação estatística entre proteína SAA e uréia ( $t = -0,40$ ;  $p = 0,69$ ) ou creatinina ( $t = 0,12$ ;  $p = 0,90$ ).

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os grupos de pacientes com níveis de uréia abaixo ou acima de 50mg/dl ( $t = -1,32$ ;  $p = 0,19$ ).

Não houve diferença estatística significativa entre níveis de proteína SAA e presença ou não de proteinúria ou hematúria ao sedimento urinário (tabela 26).

**Tabela 26**

Proteína SAA - Sedimento urinário				
SEDIMENTO URINÁRIO	PROTEÍNA SAA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	t	p	
proteinúria	presente	$80,85 \pm 109,51$	4,73	1,0
	ausente	$80,67 \pm 105,33$		
hematúria	presente	$101,69 \pm 128,31$	-0,77	0,33
	ausente	$69,52 \pm 90,86$		

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA nos grupos com e sem artrite periférica, considerando-se os pacientes com proteinúria ou hematuria (tabela 27).

**Tabela 27**

Proteína SAA - envolvimento articular e renal				
	PROTEÍNA SAA (µg/ml)		t	p
	Presente	Ausente		
Proteinúria	75,25 ± 98,20	84,04 ± 123,01	-0,12	0,91
Hematuria	106,24 ± 109,69	108,81 ± 139,64	-0,04	0,97

#### IV.2.4.9. Proteína SAA e alterações imunológicas

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre proteína SAA e VHS no grupo de pacientes com títulos de látex iguais ou superiores a 1:80 ( $t = 0,065$ ;  $p = 0,95$ ).

#### IV.2.5.- Pesquisa de amiloidose através da biópsia de tecido adiposo subcutâneo periumbelical

A pesquisa de amilóide através da coloração pelo vermelho Congo mostrou-se positiva em dois pacientes (4,17%). Este resultado não permitiu análise estatística (tabela 28).

**Tabela 28**

Biópsia de tecido adiposo		
PESQUISA DE AMILÓIDE	FREQUÊNCIA	(%)
positiva	02	4,17
negativa	46	95,83
TOTAL	48	100



As figuras 1 e 2 ilustram a presença de amilóide nos tecidos empregados como controle positivo, após coloração pelo vermelho Congo e utilizando-se filtros de quartzo.

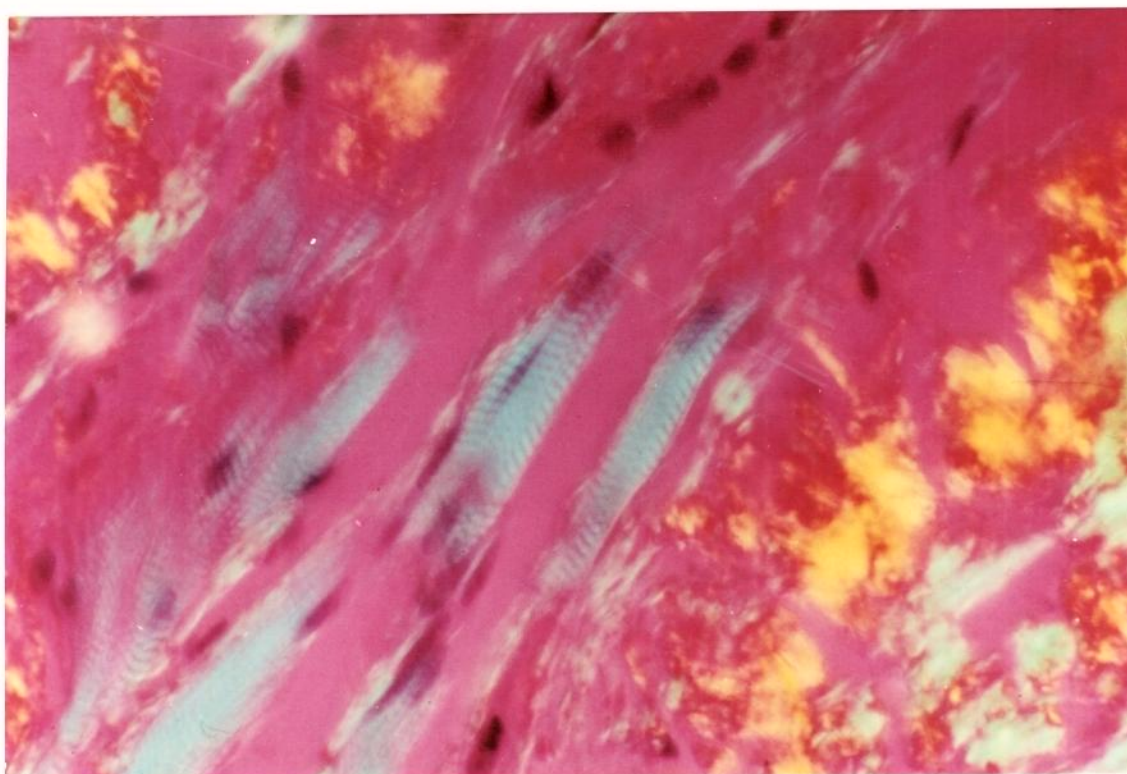


Fig. 1 - Amilóide na pele à luz polarizada, colágeno em azul (920X)

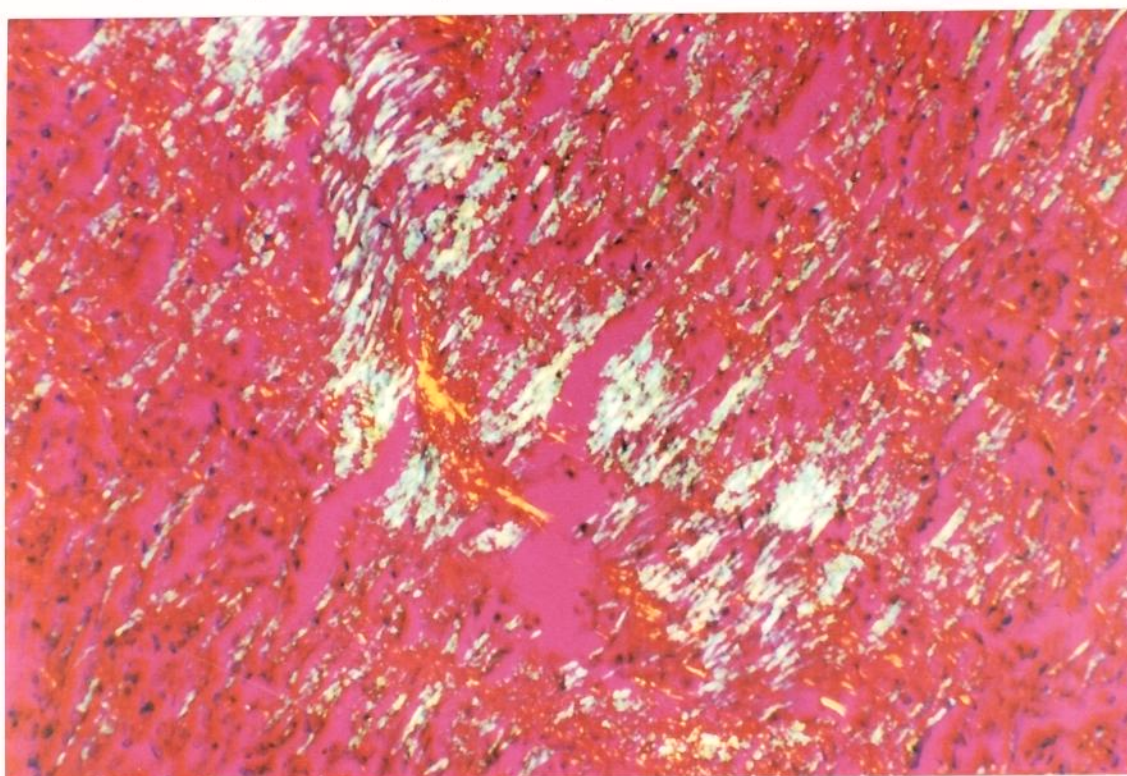


Fig. 2 - Amilóide no baço, à luz polarizada (294X)

As figuras 3 e 4 demonstram a presença de amilóide nos dois pacientes portadores de AR.

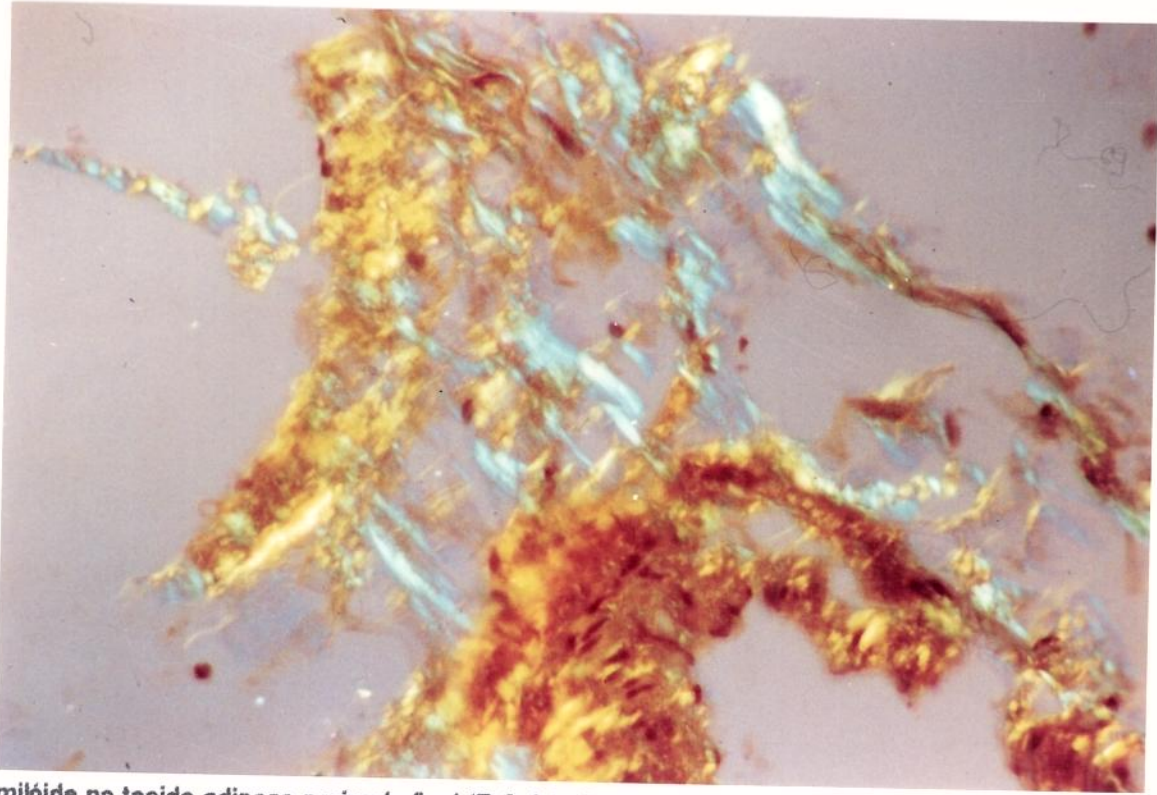


Fig. 3 - Amilóide no tecido adiposo periumbelical (F.C.A.) (575X)

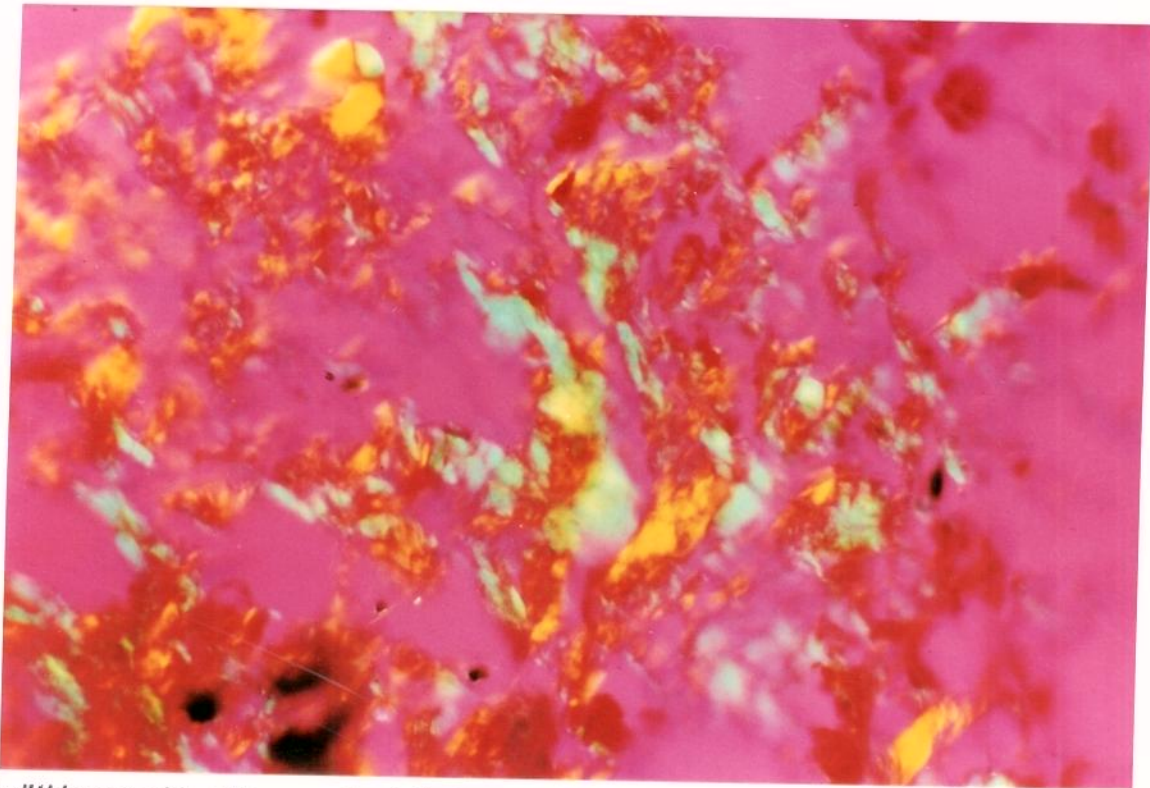


Fig. 4 - Amilóide no tecido adiposo periumbelical (L.M.) (575X)

As características epidemiológicas e clínico-laboratoriais destes pacientes encontram-se descritas na tabela 29.

**Tabela 29**

**Características epidemiológicas e clínico-laboratoriais de dois pacientes com AR e amiloidose à biópsia de tecido adiposo periumbelical**

CARACTERÍSTICAS	PACIENTE L.M.	PACIENTE F.C.A
Sexo	feminino	feminino
Raça	caucasóide	caucasóide
Idade de início (anos)	34	32
Tempo de doença (anos)	30	39
Estágio de progressão	IV	IV
Classe funcional	4	3
Manifestações articulares	artrite	artrite
Hemoglobina (g/dl)	12,4	11,8
leucócitos (por mm <sup>3</sup> )	13700	5300
glicemia (g/dl)	133	120
uréia (mg/dl)	31	47
creatinina (mg/dl)	1,5	0,9
sedimento urinário	proteinúria	proteinúria e hematúria
proteinúria de 24 hs (g)	10,5	0,3
Iátex	1:160	1:640
FAN	negativo	1:500
VHS (mm)	33	95
Proteína SAA (µg/ml)	79,4	388
Tratamento	corticosteróide e antiinflamatórios não hormonais	corticosteróide e antiinflamatórios não hormonais

### IV.3.- ESCLEROSE SISTÊMICA

#### IV.3.1.- Manifestações clínico-laboratoriais

##### IV.3.1.1.- Acometimento cutâneo

##### Escore cutâneo

O escore cutâneo total médio foi de 16,13 ( $\pm$  11,8). Na forma limitada, o escore cutâneo total médio foi de 10,15 ( $\pm$  5,83) e na forma difusa, de 28,08 ( $\pm$  11,74).

Houve diferença estatística significativa entre as médias de escore cutâneo total para as formas limitada e difusa (tabela 30).

**Tabela 30**

<b>Formas clínicas - escore cutâneo total</b>	
<b>FORMA CLÍNICA</b>	<b>ESCORE CUTÂNEO TOTAL</b>
ESl	10.15 $\pm$ 5.83
ESd	28.08 $\pm$ 11.74

$$t = - 6,41$$

$$p < 0,001$$

Leucomelanodermia

Foi observada em 17 pacientes (43,59%), sendo nove com a forma limitada (23,08%) e oito com a forma difusa (20,51%).

Calcinose

Foi diagnosticada em 14 pacientes (35,89%), sendo 12 com a forma limitada (30,77%) e dois com a forma difusa (5,13%).

Teleangiectasias

Foram observadas em 19 pacientes (48,72%), sendo 14 com a forma limitada (35,9%) e cinco com a forma difusa (12,82%).

#### IV.3.1.2.- Acometimento vascular

Todos os 39 pacientes apresentaram fenômeno de Raynaud (100%).

Evidências de envolvimento vascular foram distribuídas conforme a tabela 31. Cada paciente pode apresentar mais de uma manifestação vascular.

**Tabela 31**

<b>Manifestações vasculares - E.S.</b>		
<b>MANIFESTAÇÕES VASCULARES</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
microulcerações de polpas digitais	18	46,15
úlceras de extremidades	11	28,21
áreas isquêmicas extensas	1	2,56
ausentes	14	35,9

#### IV.3.1.3.- Acometimento osteoarticular

Entre os 39 pacientes estudados, 18 apresentaram artralgia (46,15%), seis apresentaram artrite periférica (15,38%), preferencialmente de mãos e punhos e 15 não manifestaram sintomas articulares (38,46%) (tabela 32).

Entre os 39 pacientes, 20 apresentaram mãos em garra esclerodérmica (51,28%)

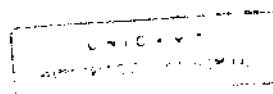
**Tabela 32**

Manifestações articulares - E.S.		
MANIFESTAÇÕES OSTEOARTICULARES	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
artralgia	18	46,15
artrite	6	15,38
sem sintomas articulares	15	38,46
TOTAL	39	100

A radiografia de mãos e punhos foi realizada em 36 pacientes. As principais alterações encontradas estão descritas na tabela 33. Cada paciente pode ter apresentado uma ou mais alterações radiológicas.

**Tabela 33**

Radiografia de mãos e punhos - E.S.		
RADIOGRAFIA DE MÃOS E PUNHOS	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
acrosteólise	21	58,33
calcinose	6	22,22
osteoporose	4	11,11
sem alterações	11	30,56



#### IV.3.1.4.- Acometimento pulmonar

O sintoma mais frequente foi dispnéia, constatado em 60% dos pacientes.

O envolvimento pulmonar foi avaliado através da radiografia de tórax, prova de função pulmonar e ecocardiograma com doppler.

A radiografia de tórax foi realizada em 37 pacientes. Os achados estão descritos na tabela 34. Cada paciente pode ter apresentado uma ou mais alterações radiológicas.

**Tabela 34**

Radiografia de torác - E.S.		
RADIOGRAFIA DE TÓRAX	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
infiltrado intersticial	13	35,14
aumento de área cardíaca	7	18,92
sem alterações	21	56,76



A prova de função pulmonar foi realizada em 36 pacientes. Os principais achados estão descritos na tabela 35

**Tabela 35**

Prova de função pulmonar - E.S.		
FUNÇÃO PULMONAR	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
defeito restritivo	19	52,78
defeito obstrutivo	4	11,11
normal	13	36,11
TOTAL	36	100

O ecocardiograma com doppler foi realizado em 30 pacientes e revelou sinais de hipertensão pulmonar em oito (26,67%) e cor pulmonale em dois deles (6,67%)

#### IV.3.1.5.- Acometimento cardíaco

Foi avaliado através do eletrocardiograma e ecocardiograma.

O eletrocardiograma foi realizado em 34 pacientes. Os principais achados estão descritos na tabela 36.

**Tabela 36**

<b>Eletrocardiograma - E.S.</b>		
<b>ELETROCARDIOGRAMA</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
distúrbio do ritmo	8	23,53
sobrecarga de câmaras	4	11,76
alteração de repolarização	3	8,82
sem alterações	22	64,71

O ecocardiograma foi realizado em 30 pacientes. As principais alterações observadas e atribuídas à ES estão descritas na tabela 37.

**Tabela 37**

<b>Ecocardiograma - E.S.</b>		
<b>ECOCARDIOGRAMA</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
hipertensão pulmonar	8	26,67
sobrecarga de câmaras	6	20,0
distúrbio valvar	5	16,67
derrame pericárdico	3	10,0
sem alterações	15	50,0

#### IV.3.1.6.- Acometimento do aparelho digestivo

A principal queixa clínica foi disfagia, constatada em 70% dos pacientes.

O envolvimento do aparelho digestivo foi investigado através do esofagograma, trânsito intestinal e enema opaco.

O esofagograma foi realizado em 35 pacientes. Os principais achados estão descritos na tabela 38.

**Tabela 38**

<b>Esofagograma - E.S.</b>		
ESOFAGOGRAMA	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
hipomotilidade	9	25,71
hipomotilidade e dilatação	6	17,14
dilatação	5	14,29
normal	15	42,86
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

O exame de trânsito intestinal foi realizado em 25 pacientes. Apenas um paciente (4,0%) apresentou diminuição da motilidade intestinal.

O enema opaco foi realizado em 25 pacientes e foram constatados pseudodivertículos em dois deles (8,0%).

#### IV.3.1.7. Acometimento renal

Foi avaliado através dos níveis de uréia, creatinina, sedimento urinário e proteinúria de 24 horas.

A uréia sérica foi determinada em 39 pacientes e seus níveis foram em média de 27,94 ( $\pm$  10,36)mg/dl.

A creatinina sérica foi dosada em 39 pacientes e seus níveis foram em média de 0,77 ( $\pm$  0,18)mg/dl.

O sedimento urinário foi realizado em 39 pacientes e apresentou-se sem alterações em 22 deles (56,41%). Leucocitúria foi constatada em oito amostras (20,51%), hematúria em cinco (12,82%) e proteinúria em quatro (10,26%) (tabela 39).

**Tabela 39**

<b>Sedimento Urinário - E.S.</b>		
<b>SEDIMENTO URINÁRIO</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>PORCENTAGEM (%)</b>
leucocitúria	8	20,51
hematúria	5	12,82
proteinúria	4	10,26
sem alterações	22	56,41

A proteinúria de 24 horas foi determinada em 32 pacientes. Os valores obtidos encontram-se distribuídos na tabela 40.

**Tabela 40**

Proteinúria de 24 horas - E.S.		
PROTEINÚRIA (g/dia)	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
até 1,0	7	21,88
ausente	25	78,12
TOTAL	32	100

#### IV.3.1.8.- Outras características laboratoriais

##### IV.3.1.8.1.- Características bioquímicas

O nível de hemoglobina foi determinado nos 39 pacientes e apresentou valor médio de 13,0 ( $\pm$  1,66)g/dl.

A contagem de leucócitos, determinada em 39 pacientes, foi em média de 7721 ( $\pm$  2692) por mm<sup>3</sup>.

A glicemia foi dosada em 32 pacientes e apresentou nível médio de 91,75 ( $\pm$  10,0)mg/dl.

##### IV.3.1.8.2.- Características imunológicas

A prova do látex foi realizada em 30 pacientes e mostrou-se negativa em todos.

O FAN foi determinado em 37 pacientes e apresentou-se positivo em 27 deles (72,9%), com títulos entre 1:50 e 1:4000.

A pesquisa do anticorpo anticentrômero foi realizada em 25 pacientes e mostrou-se positiva em sete deles (28,0%), todos com a forma limitada da doença.

A pesquisa do anticorpo anti-Scl-70 foi realizada em 22 pacientes e resultou positiva em seis deles (27,27%), sendo três com a forma limitada e três com a forma difusa.

#### IV.3.1.8.3.- Provas de atividade inflamatória

##### IV.3.1.8.3.1.- VHS

Foi determinada em 39 pacientes e apresentou níveis médios de 35,13 ( $\pm$  24,67)mm.

##### IV.3.1.8.3.2.- Proteína SAA

Foi dosada em 37 pacientes e apresentou níveis médios de 30,92 ( $\pm$  50,99) $\mu$ g/ml.

IV.3.2.- Manifestações clínico-laboratoriais em relação à VHS e proteína SAA.

IV.3.2.1.- VHS

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de VHS para as formas limitada e difusa (tabela 41)

**Tabela 41**

VHS e formas clínicas	
FORMA CLÍNICA	VHS
ESl	30,0 ± 22,1
ESd	45,30 ± 27,12

$$t = -1,9$$

$$p = 0,07$$



Análise estatística não revelou diferença significativa entre as médias de VHS para os sexos masculino ou feminino ( $t = -1,16$ ;  $p = 0,25$ ).

Análise de regressão não evidenciou associação estatística significativa entre VHS e idade de início da doença ( $t = 1,02$ ;  $p = 0,31$ ).

Não houve associação estatística significativa entre VHS e tempo de doença para a forma limitada ( $t = 0,93$ ;  $p = 0,36$ ).

Houve associação estatística significativa entre VHS e tempo de doença para a forma difusa ( $t = 2,27$ ;  $p = 0,044$ ).

Não houve associação estatística significativa entre VHS e escore cutâneo total ( $t = 0,65$ ;  $p = 0,52$ ), entre as médias de VHS e presença ou não de proteinúria ( $t = -1,31$ ;  $p = 0,20$ ) e presença ou não de hematúria ( $t = -1,77$ ;  $p = 0,086$ ).

## IV.3.2.2.- Proteína SAA

## IV.3.2.2.1.- Proteína SAA e formas clínicas

Houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA nas formas limitada e difusa (tabela 42)

**Tabela 42**

Proteína SAA - formas clínicas	
FORMA CLÍNICA	PROTEÍNA SAA (µg/ml)
ESl	11,95 ± 10,89
ESd	65,96 ± 74,3

$$t = - 3,53$$

$$p = 0,0018$$

#### IV.3.2.2.2.- Proteína SAA e grupo controle quanto às formas clínicas

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os pacientes com ES e grupo controle ( $t = -1,91$ ;  $p = 0,060$ ).

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA na forma limitada em relação ao grupo controle (tabela 43).

**Tabela 43**

Proteína SAA - grupo controle e ES1	
	PROTEÍNA SAA ( $\mu\text{g/ml}$ )
grupo controle	15,46 $\pm$ 14,31
ES1	11,95 $\pm$ 10,89

$$t = 1,04$$

$$p = 0,30$$

Houve diferença estatística significativa entre as médias da proteína SAA na forma difusa em relação ao grupo controle (tabela 44).

**Tabela 44**

<b>Proteína SAA - grupo controle e ESd</b>	
	<b>PROTEÍNA SAA (µg/ml)</b>
grupo controle	15,46 ± 14,31
ESd	65,96 ± 74,31

$$t = - 4,29$$

$$p < 0,001$$

#### IV.3.2.2.3.- Proteína SAA e variáveis epidemiológicas

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os sexos masculino e feminino ( $t = 0,94$ ;  $p = 0,35$ ), para as raças caucasóide e não caucasóide ( $t = -1,11$ ;  $p = 0,27$ ) e para o tempo de doença nas formas limitada ( $t = -0,037$ ;  $p = 0,97$ ) e difusa ( $t = 0,86$ ;  $p = 0,41$ )

#### IV.3.2.2.4.- Proteína SAA e acometimento cutâneo

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e escore cutâneo total ( $t = 1,41$ ;  $p = 0,17$ ), leucomelanodermia ( $t = 1,26$ ;  $p = 0,22$ ), calcinose ( $t = 1,15$ ;  $p = 0,26$ ) e teleangiectasias ( $t = -0,41$ ;  $p = 0,69$ ).

#### IV.3.2.2.5.- Proteína SAA e acometimento vascular

Não houve associação estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e envolvimento vascular moderado ou grave (áreas isquêmicas extensas e úlceras de extremidades) (tabela 45).

**Tabela 45**

Proteína SAA e acometimento vascular		
ACOMETIMENTO VASCULAR	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
presente	12	32,43
ausente ou mínimo	25	67,57
TOTAL	37	100

$$t = 0,15$$

$$p = 0,88$$

#### IV.3.2.2.6.- Proteína SAA e acometimento osteoarticular

Não houve diferença estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e presença ou não de artrite periférica ( $t = -0,32$ ;  $p = 0,75$ ); e radiografia de mãos e punhos normal ou com alterações sugestivas de ES ( $t = -1,71$ ;  $p = 0,097$ ).

#### IV.3.2.2.7.- Proteína SAA e acometimento pulmonar

Não houve associação estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e radiografia de tórax com alterações sugestivas de ES ou não ( $t = -0,56$ ;  $p = 0,58$ ) ou presença de infiltrado pulmonar intersticial ( $t = 0,39$ ;  $p = 0,70$ ).

Não houve diferença estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e função pulmonar normal ou com alterações atribuídas à ES ( $t = -0,23$ ;  $p = 0,82$ ) e presença ou não de hipertensão pulmonar ( $t = 0,93$ ;  $p = 0,36$ ).

#### IV.3.2.2.8.- Proteína SAA e acometimento cardíaco

Não houve associação estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e eletrocardiograma normal ou com alterações atribuídas à ES ( $t = -1,70$ ;  $p = 0,099$ ) e ecocardiograma normal ou com alterações sugestivas da ES ( $t = -1,58$ ;  $p = 0,13$ ).

#### IV.3.2.2.9.- Proteína SAA e acometimento do aparelho digestivo

Não houve diferença estatística significativa entre os níveis de proteína SAA e esofagograma normal ou com alterações atribuídas à ES ( $t = -0,97$ ;  $p = 0,34$ ).

#### IV.3.2.2.10.- Proteína SAA e acometimento renal

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre proteína SAA e uréia ( $t = -0,25$ ;  $p = 0,80$ ) ou creatinina ( $t = 0,61$ ;  $p = 0,55$ ).

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os pacientes com ou sem hematuria ( $t = 0,107$ ;  $p = 0,92$ ).

Houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os pacientes com ou sem proteinúria (tabela 46).

**Tabela 46**

Proteína SAA - proteinúria	
PROTEINÚRIA	PROTEÍNA SAA (µg/ml)
presente	148,33 ± 87,03
ausente	16,69 ± 16,82

$t = -0,25$

$p < 0,001$



#### IV.3.2.2.11.- Proteína SAA e VHS quanto às formas clínicas

Análise de regressão não revelou associação estatística significativa entre proteína SAA e VHS para as formas limitada ( $t = 0,16$ ;  $p = 0,87$ ) e difusa da doença ( $t = 1,35$ ;  $p = 0,21$ ).

#### IV.3.2.2.12.- Proteína SAA e alterações imunológicas

Não houve diferença estatística significativa entre as médias de proteína SAA para os pacientes com anticentrômero positivo ou negativo ( $t = -0,78$ ;  $p = 0,44$ ) e para os pacientes com anticorpo anti-Sci-70 positivo ou negativo ( $t = 0,31$ ;  $p = 0,76$ ).

#### IV.3.3.- Pesquisa de amiloidose através da biópsia de tecido adiposo subcutâneo periumbelical

A pesquisa de amilóide através da coloração pelo vermelho Congo mostrou-se negativa em todos os 39 pacientes com ES.

## **Discussão**

## V - Discussão

A distribuição desta casuística de 43 voluntários normais mostrou predomínio do sexo feminino em relação ao masculino na proporção de 2,3:1, da raça caucasóide (76,74%) em relação à não caucasóide (23,26%) e média de idade de 35,53 anos.

Este grupo controle apresenta características semelhantes quanto ao sexo e raça predominantes, bem como faixa etária similar àquelas apresentadas pelos grupos com AR e ES em estudo.

O nível sérico médio da proteína SAA de 15,46 µg/ml representa o valor máximo da normalidade para uma população geral saudável, conforme proposto para a técnica de ELISA utilizada (OLIVEIRA et al, 1994).

Análise estatística não revelou associação significativa entre níveis de proteína SAA quanto ao sexo, raça ou idade.

YAMADA et al (1989) não encontraram diferença significativa nos níveis de proteína SAA entre os sexos. Contudo, observaram

concentrações crescentes desta proteína para cada década da vida, de 20 a 59 anos.

A pesquisa de amilóide através da biópsia de tecido adiposo periumbelical em dez pacientes com osteoartrite resultou negativa, corroborando sua prevalência quase nula em indivíduos não portadores de condições predisponentes à amiloidose (LOPES, 1991; NEDER et al. 1992).

A distribuição dos pacientes com AR nesta casuística quanto ao sexo foi de 4:1 e seguiu aquela descrita na literatura, com predomínio do feminino em relação ao masculino na proporção de 1,8 a 4:1 para faixas etárias inferiores a 60 anos (VANDENBROUCKE et al. 1984; NEDER et al. 1992).

Quanto à raça, observou-se predomínio da caucasóide, representada por 77,08% dos pacientes. Estes valores são próximos àqueles observados por NEDER et al (1992) em casuística nacional recente, com 79,4% de pacientes considerados como pertencentes à raça branca.

A idade de início da doença foi de 41,27 anos, similar àquela descrita na literatura (SAMARA & MARQUES NETO, 1985).

O tempo de doença foi em média de 11,25 anos.

O tempo de doença mencionado na literatura é de no mínimo dois anos (MISSEN & TAYLOR, 1956), podendo em média ser de 11 a 14 anos ao diagnóstico da amiloidose secundária à AR (MISSEN & TAYLOR, 1956; BOERS et al. 1987; LOPES, 1991). Desse modo, neste estudo os pacientes com AR podem representar um grupo de risco para o desenvolvimento de amiloidose.

Quanto aos estágios de progressão e classificação funcional da AR, houve diferença estatística significativa entre eles. A

mediana dos estágios de progressão foi igual a três e a mediana das classes funcionais foi igual a dois.

Sabe-se que a classe funcional pode expressar a resposta a inúmeros fatores, como fisioterapia, medidas ortopédicas, terapêutica adequada. O comprometimento da função não é necessariamente proporcional à lesão das estruturas articulares e musculotendíneas acometidas na AR (STEINBROCKER et al, 1949).

Artrite periférica foi constatada em 56,25% dos pacientes.

Manifestações extraarticulares da AR estiveram presentes em 37,5% dos pacientes, distribuídas entre nódulos reumatóides (12,5%), ceratoconjuntivite sicca (20,83%), infiltrado pulmonar intersticial (8,33%) e vasculite de extremidades (2,08) com frequências em geral inferiores àquelas apresentadas por BOERS et al (1987).

O nível médio de hemoglobina foi de 12,92 g/dl. Apenas seis pacientes apresentaram níveis de hemoglobina entre 9,9 e 10,5 g/dl, sugerindo a baixa frequência de anemia neste grupo.

A contagem de leucócitos foi em média de 8.327 por mm<sup>3</sup> e nenhum paciente apresentou leucopenia.

A glicemia média foi 97,75 mg/dl. Três pacientes apresentaram níveis de glicemia entre 130 e 140 mg/dl. Um deles evoluiu com diabetes tipo II sendo necessárias doses baixas de antidiabético oral em dias alternados para controle da glicemia.

O nível médio da uréia foi 31,1 mg% e o nível de creatinina foi 0,75mg%. Observou-se hematúria em 33,33%, leucocitúria em 31,25% e proteinúria em 25,0% das amostras.

O achado de leucocitúria não foi considerado nas análises estatísticas subsequentes porque relacionou-se mais à contaminação

urinária por secreção vaginal e à infecção urinária constatadas posteriormente.

As frequências de hematúria, em 33,33% das amostras e proteinúria em 25% delas foram superiores àquelas constatadas por LOPES (1991), de 12,96% para hematúria e 9,26% para proteinúria.

A proteinúria de 24 horas apresentou níveis médios de 1,19g. Apenas um paciente tinha síndrome nefrótica, atingindo níveis de 10,5g à proteinúria de 24 horas.

Não houve associação linear estatisticamente significativa entre níveis de uréia e creatinina para os grupos com proteinúria e hematúria.

BOERS et al (1987) constataram alterações ao sedimento urinário associadas ou não à perda de função renal e com menor frequência, sedimento urinário normal e função renal alterada entre pacientes com AR. Assim, em geral, proteinúria e hematúria podem ser indicadores de glomerulopatia ainda que sem comprometimento da função renal.

A prova do látex foi positiva em 68,75% dos pacientes, similar à observada por NEDER et al (1992), com 61,7% em casuística nacional e inferior à demonstrada por BOERS et al (1987), com 69% de positividade para este fator em portadores de AR de origem escandinávica e média de idade de 65 anos.

O FAN apresentou-se positivo em 20% dos pacientes.

Esta positividade foi superior à observada por LOPES (1991), de 5,77% e inferior à demonstrada por BOERS et al (1987), de 61% em portadores de AR.

A VHS apresentou-se com níveis médios de 47,87mm.

Entre as condições reumáticas de origem inflamatória, como AR e ES, de um modo geral a VHS em níveis superiores a 25mm se associa à atividade clínica destas doenças (COSTALLAT & SAMARA, 1985; DAVIDSOHN & NELSON, 1978).

A VHS tem-se apresentado maior entre as mulheres em relação aos homens e aumenta gradualmente com a idade (DAVIDSOHN & NELSON, 1978). Entretanto, neste estudo não se comprovou associação estatística entre VHS, sexo, idade ou soropositividade para o fator reumatóide.

A presença de VHS significativamente elevada entre pacientes com proteinúria requer análise cuidadosa.

Sabe-se que há várias causas de proteinúria na AR, como uso de antiinflamatórios não hormonais (CLIVE & STOFF, 1984), glomerulopatias associadas à AR (HELIN et al, 1986), amiloidose renal (ENNEVAARA & OKA, 1964; GERTZ, 1992), entre outras.

Para interpretação mais adequada destes resultados seria recomendado o seguimento clínico destes pacientes, bem como a monitorização da atividade de doença, função renal e terapêutica.

A proteína SAA mostrou-se significativamente elevada nos pacientes com AR em relação ao grupo controle.

Não foi comprovada associação entre níveis de proteína SAA e sexo, raça, idade ou tempo de doença.

CHAMBERS et al (1983) não constatarem diferenças nos níveis de proteína SAA em relação ao sexo ou tempo de doença, entre pacientes com AR e níveis normais de proteína C-reativa.

A proteína SAA mostrou-se de utilidade como índice de atividade inflamatória na AR, correlacionando-se à presença de artrite periférica quando em níveis inferiores ou iguais a 100 µg/ml.



É provável que estes resultados possam ser atribuídos à faixa de linearidade da curva traçada a partir da concentração de proteína SAA versus absorvância a 450nm, utilizada nas dosagens desta proteína.

Neste estudo não se constatou associação linear entre proteína SAA e VHS ou níveis significativamente elevados de VHS em pacientes com artrite periférica. Estes resultados sugerem que a VHS deve ser interpretada com cautela como indicador de atividade inflamatória na AR.

Titulos elevados de proteína SAA em pacientes com artrite crônica da infância em atividade foram constatados por SCHEINBERG & BENSON (1980) e SCHEINBERG et al (1980). Estes autores sugerem que a VHS e a proteína SAA não devem ser utilizadas isoladamente para detectar atividade de doença.

A proteína SAA tem sido considerada o mais sensível índice para monitorização da atividade inflamatória em inúmeras condições clínicas (CHAMBERS et al, 1983; ØSTENSEN et al, 1985; MOZES et al, 1989).

CHAMBERS et al (1983) estudaram os níveis de proteína SAA em pacientes acometidos por AR. Constataram que ela representa um marcador mais sensível de inflamação em relação à proteína C reativa e pode ser útil na monitorização da atividade da doença.

Não foram constatadas associações estatísticas significativas entre níveis de proteína SAA e manifestações extra-articulares, alterações do sedimento urinário ou soropositividade para o fator reumatóide.

CHAMBERS et al (1983) também não demonstraram associação entre proteína SAA e soropositividade para o látex.

Neste estudo a determinação da proteína SAA mostrou-se de valor, mais sensível que a VHS na caracterização dos pacientes com AR e na comprovação do envolvimento articular nesta condição clínica.

A biópsia de tecido adiposo subcutâneo tem-se destacado por ser de fácil execução e vem sendo aplicada com bons resultados a partir dos estudos iniciais de WESTERMARK & STENKVIST (1973).

Um dos objetivos deste trabalho foi estabelecer a frequência da amiloidose secundária entre pacientes com AR através da biópsia de tecido adiposo periumbelical, coloração pelo vermelho Congo e visualização à luz polarizada.

Foi realizada uma variação da técnica original proposta por WESTERMARK & STENKVIST (1973). Foi colhido um fragmento de tecido adiposo, técnica esta descrita pelo mesmo autor (WESTERMARK et al, 1989). Este material pode ser armazenado em formol e posteriormente processado para obtenção das lâminas, não requerendo fixação imediata, conforme a biópsia por punção aspirativa.

Esta técnica resultou positiva para pesquisa de amilóide em dois pacientes (4,17%), mostrou-se de fácil execução, não requerendo preparo prévio do paciente ou internação hospitalar e não foram constatadas complicações.

De acordo com a literatura a sensibilidade deste método tem variado de 54% (BREEDVELD et al, 1989) a 100% (WESTERMARK & STENKVIST, 1973).

ORFILA et al (1986) e LOPES (1991) comprovaram presença de amilóide no aspirado de tecido adiposo de pacientes cuja biópsia retal havia resultado negativa. Estes achados sugerem a elevada sensibilidade desta técnica para o diagnóstico de amiloidose.

A biópsia de tecido adiposo também tem mostrado alta especificidade. ARIZA et al (1988) constataram 100% de especificidade para este método.

Nenhum paciente do grupo controle apresentou amiloidose através desta técnica.

Foram realizados estudos à microscopia óptica e de luz polarizada. A utilização de filtros de quartzo ressaltou as propriedades anisotrópicas do amilóide, permitindo melhor caracterização destes depósitos, os quais se coram em verde esmeralda. Os feixes de colágeno, que podem apresentar coloração esverdeada à luz polarizada induzindo a resultados falso-positivos, com estes filtros apresentaram coloração azul, permitindo sua diferenciação do amilóide (VIDAL, 1987; BLUMENFELD & HILDEBRANDT, 1993).

Quanto aos resultados falso-negativos, possibilidade existente porém não objetivo deste estudo, a conduta mais adequada seria repetir novamente biópsias de tecido adiposo ou submeter o paciente a métodos mais invasivos, principalmente quando houver forte suspeita clínica de amiloidose (KLEMI et al, 1987).

Os resultados obtidos neste estudo quanto à presença de amiloidose associada à AR se aproximam daqueles observados por ARAPAKIS & TRIBE (1963), NEDER et al (1992) e OZAWA et al (1992), com frequências variáveis entre 5,22 e 6,4%.

Estimativas elevadas de incidência ou prevalência de amiloidose secundária à AR variando de 13% a 92,3%, como aquelas descritas por UNZER (1979), FRANZEN & SUTINEN (1990), FROKAEVA et al (1990) e LOPES (1991) requerem uma análise mais detalhada.

UNZER (1979) utilizou biópsia renal, técnica sensível porém invasiva e de menor utilidade em estudos de triagem. Realizou também microscopia eletrônica, elevando, assim a possibilidade de detecção da substância amilóide, atingindo a frequência de 92,3% entre pacientes com AR.

FRANZEN & SUTINEN (1990) mencionaram presença de AR erosiva no grupo de pacientes com prevalência de amiloidose de 13%.

PROKAEVA et al (1990), constataram prevalência elevada de amiloidose entre homens (80%) e mulheres (68,2%) com AR, idade acima de 50 anos e maior frequência de infecções do trato urinário, as quais podem predispor à amiloidose. A endotoxina da "Escherichia coli" (E. coli) é potente indutor de resposta de fase aguda bem como de amiloidose experimental (HUSBY, 1992).

Diferenças genéticas e ambientais, como alta frequência de infecções do trato urinário por E. coli também parecem explicar prevalências elevadas de amiloidose entre crianças polonesas com artrite crônica de infância em comparação com americanas (FILIPOWICZ-SOSNOWSKA & BAUM, 1980).

O resultado de prevalência da amiloidose de 35,18% obtido por LOPES (1991) entre pacientes com AR, talvez possa ser atribuído a fatores, como maior tempo de doença, formas clínicas mais agressivas, utilização de duas técnicas de biópsia, embora a autora não tenha encontrado associação estatística significativa entre estas variáveis e a presença de amiloidose.

Desse modo, pode-se sugerir que a biópsia de tecido adiposo periumbelical é um método simples, de fácil execução, baixo custo, de aplicabilidade em estudos de triagem e dotado de sensibilidade

próxima à de técnicas consagradas porém mais invasivas, como a biópsia retal.

Entretanto, como o resultado obtido não permitiu análise estatística em relação às variáveis clínico-laboratoriais, as características dos pacientes com biópsia positiva foram comparadas com aquelas descritas na literatura.

Ambos os pacientes eram do sexo feminino e com idade de início da doença na quarta década de vida.

GAFNI & SOHAR (1960) descreveram amiloidose secundária à AR em quatro pacientes pertencentes ao sexo masculino.

LAAKSO et al (1986) observaram a proporção de 1,6:1, MISSEN & TAYLOR (1956) e BOURKE et al (1981) constataram a proporção de 5:1 entre mulheres e homens acometidos por esta complicação.

Quanto à idade, variou nas diversas casuísticas de 45 anos (ENNEVAARA & OKA, 1964) a 62,7 anos (MISSEN & TAYLOR, 1956), considerando-se a idade ao diagnóstico de amiloidose. Levando-se em conta que o tempo de doença nestes estudos foi em torno de 11 a 13 anos, podendo atingir 19 anos (GERTZ, 1992), a idade de início da doença variou de 32 a 50 anos, faixa que inclui a média de idade ao início da doença nos pacientes deste estudo.

As duas pacientes pertenciam às classes funcionais 3 ou 4 e ao estágio IV de progressão, sugerindo doença grave e de evolução prolongada. Estes achados são similares àqueles encontrados por diversos autores (ARAPAKIS & TRIBE, 1963; ENNEVAARA & OKA, 1964; LOPES, 1991; NEDER et al, 1992).

Quanto às manifestações articulares, ambas apresentavam artrite periférica, evidenciando a gravidade da evolução da AR, apesar do longo tempo de doença e da terapêutica utilizada.

Os níveis de hemoglobina e de leucócitos no sangue periférico mostraram-se dentro da normalidade.

ARAPAKIS & TRIBE (1963) não encontraram correlação entre níveis de hemoglobina e ocorrência de amiloidose em pacientes acometidos pela AR. Entretanto, ENNEVAARA & OKA (1964) constataram anemia em 82,35% dos pacientes com esta complicação.

Os níveis de glicemia foram de 120 e 133 mg/dl. Uma delas evoluiu com diabetes tipo II e utilização de baixas doses de hipoglicemiantes orais para controle da doença.

Embora diabetes mellitus tenha sido critério de exclusão deste estudo, a paciente portadora de AR e amiloidose secundária desenvolveu diabetes após o diagnóstico desta complicação, por isso não foi excluída da casuística.

Sabe-se de longa data que a denominada degeneração hialina das ilhotas de Langerhans é decorrente de depósito amilóide no pâncreas de idosos e diabéticos (COHEN, 1967b).

Estudos recentes identificaram a amilina ou polipeptídeo amilóide da ilhota como sendo um produto sintetizado pelas células  $\beta$  em condições normais, fazendo parte dos grânulos secretados com a insulina. Parece ter efeitos modificador das ações da insulina, vasodilatador e hipocalcemiante (MACINTYRE, 1989; AMIEL, 1993).

Embora amilina tenha funções biológicas, há evidências que possa contribuir para a patogênese da diabetes tipo II, aumentando a liberação de glicose pelo fígado, e induzindo resistência periférica à insulina (JOHNSON et al, 1992). O aumento da sua produção parece ser responsável pela deposição de amilóide no pâncreas dos diabéticos (JOHNSON et al, 1992; BRETHERTON-WATT et al, 1993), após sua polimerização (JOHNSON et al, 1989). Cerca de 95% dos pacientes

diabéticos apresentam depósitos amilóides que podem ser escassos, afetando algumas ilhotas ou disseminados atingindo a maioria delas (WESTERMARK, 1992).

Depósitos amilóides constituídos por amilina foram também detectados em inúmeros tumores de origem endócrina, como o carcinoma pulmonar de pequenas células, tumores pancreáticos produtores de insulina, gastrina, glucagon, calcitonina, hormônio de crescimento, peptídeo vasoativo intestinal (WESTERMARK et al, 1977; BRETHERTON-WATT et al, 1993).

Estudos recentes têm revelado níveis plasmáticos de amilina proporcionalmente reduzidos quanto maior o tempo de doença, considerando-se crianças portadoras de diabetes insulino dependente (AKIMOTO et al, 1993).

Dessa forma, a amiloidose associada ao diabetes caracteriza-se por ser localizada, restrita ao pâncreas (JOHNSON et al, 1989; MACINTYRE, 1989; AMIEL, 1993).

Entre nativos americanos têm-se revelado incidência e prevalência de diabetes superiores àquelas obtidas para a população americana não indígena (RITH-NAJARIAN et al, 1993; STAHN et al, 1993). Desse modo, complicações decorrentes do diabetes, como retinopatia, nefropatia, doença arterial periférica têm sido descritas com maior frequência entre estes nativos (FARRELL et al, 1993; FREEMAN & HOSEY, 1993; MUNETA et al, 1993; QUIGGINS & FARRELL, 1993). Entretanto, presença de amiloidose foi questionada em uma ocasião, à biópsia renal de um paciente com insuficiência renal secundária ao diabetes (QUIGGINS & FARRELL, 1993).

NATHAN (1993) em artigo de revisão sobre diabetes e suas complicações tardias não menciona amiloidose entre elas.

Desse modo, amiloidose secundária a diabetes mellitus como doença sistêmica (GAZMURI et al, 1960), podendo ocasionar depósitos em órgãos como os rins (QUIGGINS & FARRELL, 1993) parece ser condição rara ou que requeira maiores estudos quanto à natureza do amiloide depositado, pesquisa esta não realizada por estes autores.

Uma das pacientes deste estudo apresentou amiloidose e posteriormente diabetes tipo II. Era acometida por AR de longa evolução e síndrome nefrótica. Estes achados sugerem amiloidose secundária à doença de base.

Quanto às manifestações renais, ambas as pacientes eram normotensas, apresentavam níveis normais de uréia e uma delas discreto aumento de creatinina ao diagnóstico de amiloidose.

Ao sedimento urinário constatou-se proteinúria ou proteinúria e hematúria.

Uma das pacientes manifestou perda proteica urinária compatível com síndrome nefrótica, atingindo 10,5g de proteína em 24 horas e a outra perda pouco relevante, de 0,3g em 24 horas.

Sabe-se que 70% (ENNEVAARA & OKA, 1964) a 90% dos pacientes com amiloidose secundária à AR apresentam disfunção renal manifesta como proteinúria até níveis nefróticos ou insuficiência renal ao diagnóstico de amiloidose (LERNER, 1984, GERTZ, 1992).

A biópsia renal é, contudo, procedimento invasivo e realizada em ocasiões selecionadas. Deste modo, a avaliação de função renal e a análise do sedimento urinário têm sido utilizadas como indicadores de lesão renal nesta complicação.

Hematúria microscópica, cilindrúria e proteinúria podem frequentemente ser constatadas (ORNELLAS et al, 1982; LERNER, 1984; OBANA et al, 1990).



LOPES (1991) comprovou associação estatística significativa entre hematúria e/ou proteinúria e presença de amiloidose associada à AR.

As duas pacientes com AR e amiloidose, quanto ao envolvimento renal, mostraram-se previamente ao diagnóstico como de maior risco para esta complicação, pela presença de alterações ao sedimento urinário. Uma delas com síndrome nefrótica, necessariamente teve indicação de ser investigada quanto à possibilidade de amiloidose secundária.

Estes achados sugerem que o sedimento urinário mostra-se relevante na suspeita de amiloidose. Entretanto, é preciso ressaltar que há outras causas de lesão renal na AR, como glomerulopatias membranosa e mensangial, associadas à própria AR (HELIN et al, 1986), glomerulonefrite por Ig A (COHEN & BORDER, 1982) ou secundária ao tratamento com sais de ouro, D-penicilamina (HELIN et al, 1986; KORPELA et al, 1990; ONETTI MUDA et al, 1990; CANTAGREL et al, 1991) e antiinflamatórios não hormonais (CLIVE & STOFF, 1984).

Quanto à prova do látex, mostrou-se positiva em ambas as pacientes.

ENNEVAARA & OKA (1964) constataram látex positivo em 64,7% dos pacientes com amiloidose secundária à AR.

GERTZ & KYLE (1991), entretanto, observaram menor prevalência de soro positividade para o fator reumatóide entre portadores de AR e amiloidose secundária, em comparação com aqueles pacientes sem esta complicação.

A avaliação da atividade inflamatória foi obtida através das determinações da VHS e dosagem da proteína SAA.

Uma das pacientes apresentou VHS abaixo da média para o grupo com AR e a outra níveis acima da média.

ARAPAKIS & TRIBE (1963) não observaram associação estatística entre VHS e ocorrência de amiloidose.

ENNEVAARA & OKA (1964) constataram VHS de 85 mm entre pacientes com AR e amiloidose secundária.

GERTZ & KYLE (1991) não comprovaram diferenças estatisticamente significativas entre VHS e taxas de sobrevida de indivíduos com amiloidose secundária.

A proteína SAA é considerada um sensível e específico marcador de lesão tissular ou necrose celular (SIFE et al, 1989).

A técnica de ELISA utilizada neste estudo é considerada de alta sensibilidade, reprodutibilidade e rápida execução (YAMADA et al, 1983; OLIVEIRA et al, 1994).

Uma das pacientes apresentou nível de proteína SAA próximo à média do grupo com AR e a outra nível acima da média.

Um dos objetivos deste estudo foi avaliar uma possível associação entre níveis de proteína SAA e amiloidose secundária. Embora esta análise não pode ser realizada porque o resultado não se mostrou estatisticamente significativo, com dois casos de amiloidose entre 48 pacientes, pode-se sugerir que níveis elevados de proteína SAA associados a doença de longa evolução e maior gravidade representam condições predisponentes ao desenvolvimento desta complicação.

A monitorização dos níveis de proteína SAA em portadores de AR, principalmente se acometidos por doença agressiva e de longa evolução, pode ser útil no acompanhamento clínico dos pacientes de

maior risco para o desenvolvimento de amiloidose secundária (MAURY, 1984).

Entretanto, há controvérsias quanto à importância da proteína SAA na detecção de pacientes com AR e amiloidose.

WEGELIUS et al (1982) e MAURY & WEGELIUS (1985) constataram concentrações elevadas de proteína SAA em pacientes com AR. Entretanto, não comprovaram diferença estatística significativa entre os níveis de SAA em portadores de amiloidose secundária ou não. Resultados semelhantes foram observados em pacientes com artrite crônica da infância e amiloidose (SCHEINBERG & BENSON, 1980; SCHEINBERG et al, 1980).

FALCK et al (1983) enfatizaram o fator tempo, ou seja, níveis persistentemente elevados de proteína SAA poderiam desencadear amiloidose secundária à AR, constituindo, assim, um pré-requisito para esta complicação, entre outros, como metabólicos e genéticos (BUCK et al, 1989). Estes autores destacaram a rápida deterioração da função renal na amiloidose secundária, proporcional a níveis elevados de proteína SAA. Estes achados também foram constatados por MAURY & WEGELIUS (1985).

Entre as proteínas de fase aguda, SAA destaca-se como a mais sensível indicadora de atividade de doença na AR, permitindo melhor orientação terapêutica que leve à redução de seus níveis e conseqüentemente menor formação de amiloide, modificando, assim o prognóstico na amiloidose secundária (MAURY & WEGELIUS, 1985; SKINNER, 1992). Entretanto, fatores adicionais estão envolvidos no desenvolvimento da amiloidose, visto que níveis elevados de proteína SAA representam um pré-requisito, porém somente alguns pacientes vão apresentar esta complicação (MAURY et al, 1985).

Em relação à avaliação dos pacientes acometidos por ES, nesta casuística, 66,67% dos pacientes apresentaram a forma limitada e 33,33% a forma difusa da ES. Estes resultados se aproximam daqueles obtidos por LeRoy (1988) e SAMPAIO-BARROS (1993).

Quanto ao sexo, houve predomínio do feminino em relação ao masculino, na razão de 5,5:1. Esta distribuição foi superior àquela observada por LALLY et al (1988), de 2,8:1 e análoga àquela constatada por SAMPAIO-BARROS (1993), de 5,2:1.

A razão entre os sexos mostrou-se equivalente entre os pacientes com a forma limitada ou difusa. SAMPAIO-BARROS (1993) observou maior frequência do sexo feminino (6,2:1) na forma limitada, em relação à difusa (4:1).

Houve predomínio da raça caucasóide em relação à não caucasóide, independente da forma clínica. Resultados semelhantes foram encontrados por MARGUES-NETO & SAMARA (1985) e SAMPAIO-BARROS (1993).

A média de idade foi 38,27 anos e equivalente nas duas formas clínicas de ES. Estes resultados são próximos àqueles obtidos por SAMPAIO-BARROS (1993), entretanto são inferiores àqueles observados por LALLY et al (1988), que constataram média de 45,6 anos.

O tempo médio de doença foi 10,89 anos. Na forma limitada a média de duração da ES foi 12,73 anos e na forma difusa foi 7,19 anos. A diferença significativa entre estes resultados pode representar melhor prognóstico e maior sobrevida dos pacientes com a forma limitada da ES, observação também constatada por SAMPAIO-BARROS (1993).

Quanto ao escore cutâneo, apresentou-se com diferença significativa para as formas limitada, com média de 10,15, e difusa, com média de 28,08. Estes resultados se aproximam daqueles descritos por SAMPAIO-BARRROS (1993), e reiteram a utilidade deste método para avaliação semiquantitativa do acometimento cutâneo, dotado também, de alta reprodutibilidade entre diferentes observadores (CLEMENTS et al, 1993).

As frequências de leucomelanodermia, calcinose e teleangiectasias foram equivalentes àquelas descritas na literatura (LALLY et al, 1988; LeROY et al, 1988; SAMPAIO-BARRROS, 1993).

O fenômeno de Raynaud esteve presente em 100% dos pacientes. Esta frequência mostrou-se idêntica àquela constatada por SAMPAIO-BARRROS (1993) e superior àquela observada por LALLY et al (1988), que a estimaram em 65%.

Quanto ao acometimento articular, 46,15% dos pacientes apresentaram artralgia e 15,38% manifestaram artrite periférica. Na radiografia de mãos e punhos houve predomínio de acroostedilise em 58,33% dos pacientes e não foram constatadas lesões erosivas.

Estes resultados são superiores àqueles observados por LALLY et al (1988) quanto à artralgia e inferiores àqueles descritos por FERNANDES et al (1988) e SAMPAIO-BARRROS (1993).

A principal queixa clínica relativa ao aparelho respiratório foi dispnéia, observada em 60% dos pacientes. Presença de infiltrado intersticial à radiografia de tórax em 35,14% dos pacientes representa resultado semelhante àquela constatado por SAMPAIO-BARRROS (1993).

Prova de função pulmonar alterada, com presença de defeito ventilatório restritivo ou obstrutivo ocorreu em 63,84% dos pacientes.

Resultados próximos a este foram observados por LALLY et al (1988) e SAMPAIO-BARRROS (1993).

A presença de hipertensão pulmonar foi diagnosticada ao ecocardiograma com doppler em oito pacientes, três com a forma difusa e cinco com a forma limitada da ES, representando 26,67% dos pacientes. Esta frequência foi inferior àquela descrita por SAMPAIO-BARRROS (1993), de 33,92%.

Para STEEN (1990) o diagnóstico de hipertensão pulmonar é o pior fator prognóstico entre pacientes com a forma limitada, determinando o óbito, na maioria deles, em cinco anos.

Quanto ao envolvimento cardíaco, cerca de 35% dos pacientes apresentaram alterações ao eletrocardiograma e 50% ao ecocardiograma. Estes resultados se aproximam daqueles descritos por LALLY et al (1988) e SAMPAIO-BARRROS (1993).

A avaliação do comprometimento do aparelho digestivo revelou disfagia como principal queixa clínica em 70% dos pacientes e alterações ao esofagograma em 57,14% deles. Estes resultados foram inferiores aqueles constatados por LALLY et al (1988) e SAMPAIO-BARRROS (1993).

O envolvimento do trato intestinal mostrou-se raro, ocorrendo em três pacientes. Resultados semelhantes foram observados por SAMPAIO-BARRROS (1993).

A avaliação do comprometimento renal evidenciou níveis de uréia e creatinina dentro da normalidade.

Hematúria ou proteinúria foram constatadas em 23,08% dos pacientes. Os níveis de proteína foram inferiores a um grama em 24 horas. Nos pacientes com leucocitúria posteriormente se confirmou corrimento genital ou infecção urinária.

Em pacientes sem evidência de déficit de função renal a presença de proteinúria é considerada fator de menor sobrevida (STEEN, 1990; STEEN & MEDSGER, 1990).

Nenhum paciente apresentou crise renal ou proteinúria em níveis nefróticos.

Quanto às características laboratoriais, apenas duas pacientes apresentaram anemia leve e duas mostraram leucopenia atribuída ao uso de ciclofosfamida. SAMPAIO-BARRROS (1993) constatou, também, baixa frequência de anemia e leucopenia em sua casuística. Anemia é considerada um fator de pior prognóstico na ES (STEEN, 1990; STEEN & MEDSGER, 1990; ANDRADE & ATRA, 1991).

Neste estudo os pacientes apresentaram níveis normais de glicemia e a prova do látex resultou negativa em todos aqueles em que foi realizada.

A positividade do FAN em 72,97% dos pacientes mostrou-se intermediária entre 82,14%, constatado por SAMPAIO-BARRROS (1993) e 60%, observado por MARQUES NETO & SAMARA (1985).

A pesquisa do anticorpo anticentrômero resultou positiva em 28% dos pacientes, todos com a forma limitada da ES. Resultados similares, confirmando a alta especificidade deste anticorpo na ES foram comprovados também por MARQUES NETO & SAMARA (1985) e SAMPAIO-BARRROS (1993).

O anticorpo anti-Sci-70 esteve presente em 27,27% dos pacientes. SAMPAIO-BARRROS (1993) constatou resultados semelhantes.

Verificou associação entre presença deste anticorpo e envolvimento cutâneo mais intenso e extenso, bem como reabsorção de falanges, e não encontrou associação com envolvimento visceral. Para WEINER et al (1988) anti-Scl-70 associou-se a envolvimento cutâneo, cardíaco e presença de malignidade.

Quanto às provas de atividade inflamatória, a VHS mostrou-se ligeiramente elevada, com níveis médios de 35,13mm.

Não houve diferença estatística entre as médias de VHS para as formas limitada e difusa, bem como com relação ao sexo, raça, idade de início, escore cutâneo, proteinúria ou hematúria.

Houve diferença estatística significativa entre VHS e tempo de doença para a forma difusa. Este resultado pode representar o caráter progressivo e inflamatório desta forma de doença, caracterizando também, seu pior prognóstico evolutivo.

Em pacientes sem envolvimento renal, cardíaco ou pulmonar, VHS elevado representa um dos fatores preditivos de menor sobrevida (STEEN, 1990; STEEN & MEDSGER, 1990).

A proteína SAA apresentou níveis elevados entre os pacientes em ES, corroborando o caráter inflamatório desta condição clínica.

Esta prova de atividade inflamatória foi de utilidade na caracterização das duas formas clínicas da ES.

Os pacientes com a forma limitada apresentaram níveis de proteína SAA semelhantes àqueles do grupo controle.

Entretanto, nos pacientes com a forma difusa estes níveis mostraram-se significativamente elevados em relação ao grupo controle e aos pacientes com a forma limitada. Estes resultados se



apresentaram também, próximos àqueles observados entre os pacientes com AR.

BRANDWEIN et al (1984) determinaram os níveis de proteína SAA em pacientes com ES, AR e amiloidose secundária à AR. Observaram que, em geral, os pacientes com ES apresentaram níveis elevados da proteína SAA e um subgrupo deles, níveis próximos àqueles encontrados entre pacientes com AR em atividade ou com amiloidose. Estes pacientes apresentaram doença mais agressiva, determinada pelo acometimento cutâneo extenso. Estes autores sugerem que os níveis da proteína SAA na ES se associam à atividade da doença. A raridade da amiloidose entre estes pacientes não se relacionaria a um defeito intrínseco na produção da proteína SAA e sim à curta duração da doença nos pacientes com níveis elevados de SAA e formas mais agressivas da ES.

Este trabalho corrobora as afirmações de BRANDWEIN et al (1984). A classificação utilizada, em formas limitada e difusa (LeROY, 1988), cada uma delas com suas características clínicas, laboratoriais e evolutivas, favoreceu para que se ressaltasse a diferença entre os níveis de proteína SAA nestes dois subtipos de pacientes.

Assim, a proteína SAA mostrou-se de valor na ES, quer na caracterização clínica, quer como índice de atividade inflamatória sugerindo evolução potencialmente mais grave dos pacientes que a apresentam em níveis elevados.

Não foram constatadas diferenças significativas nos níveis de proteína SAA em relação ao sexo, raça, tempo de doença, acometimento cutâneo e visceral, com exceção à presença de proteinúria.

Os pacientes com ES e proteinúria pertenciam à forma difusa, apresentaram níveis elevados de proteína SAA, sugerindo maior atividade de doença. Estavam em tratamento com ciclofosfamida intravenosa devido à rápida progressão do envolvimento cutâneo e/ou visceral.

Sabe-se da literatura que evidência de envolvimento renal, como hipertensão, proteinúria e elevação dos níveis de uréia e creatinina é fator de pior prognóstico na ES (STEEN, 1990; STEEN & MEDSGER, 1990).

Neste trabalho não se comprovou associação estatística entre proteína SAA e VHS, anticorpo anticentrômero e anti-Scl-70.

Quanto à pesquisa de amiloidose secundária à ES, resultou negativa nos 39 pacientes submetidos à biópsia de tecido adiposo subcutâneo periumbelical.

A amiloidose associada à ES é condição considerada rara (DHILLON et al, 1989).

Na literatura há relatos de casos com diagnóstico de amiloidose realizado através de necrópsia (HOLZMANN & KORTING, 1969; LOWE, 1969) ou biópsia cutânea (HOLZMANN & KORTING, 1969).

Entretanto, a deposição amilóide pericolágeno (HOLZMANN & KORTING, 1969), a ausência de amilóide na pele (HOLZMANN & KORTING, 1969; LOWE, 1969) e a falta de informações se foram realizados procedimentos que permitissem caracterizar o amilóide AA, como tratamento com permanganato de potássio, pH superior a 11,5 ou anticorpos anti-AA, levam ao questionamento se estes relatos de casos se tratam de amiloidose AA associada à ES.

O padrão peri-reticular de deposição amiloide é mais frequente nas formas secundárias e o pericolágeno, nas formas primárias de amiloidose (HUSBY, 1975).

Embora esta casuística tenha resultado negativa, a amiloidose associada à ES deve continuar sendo investigada, tendo em vista que títulos elevados de proteína SAA nas formas difusas, doença inflamatória de evolução prolongada, entre outras, podem representar condições associadas ao desenvolvimento de amiloidose e que devem ser melhor caracterizadas nesta condição clínica.

## **Conclusões**

## VI - Conclusões

1. A proteína SAA mostrou-se de utilidade na caracterização dos pacientes com AR em relação ao grupo controle, bem como na identificação daqueles acometidos ou não por artrite periférica, para valores inferiores ou iguais a 100µg/ml.

2. Nesta casuística, a ocorrência de amiloidose secundária à AR pesquisada através da biópsia de tecido adiposo periumbelical foi 4,17%.

3. Enfatiza-se, a partir destes resultados, a técnica de biópsia de tecido adiposo periumbelical modificada, utilizando-se fragmentos e não aspirado, o que sensibiliza a sua eficácia.

4. A proteína SAA mostrou-se útil na diferenciação entre as formas clínicas limitada e difusa da ES, desta em relação ao grupo controle e como marcadora de proteinúria.

5. Nesta casuística não se encontrou nenhum paciente acometido por amiloidose secundária à ES, mediante o estudo do tecido adiposo periumbelical.

## **Resumo**

## VII - Resumo

A amiloidose secundária associada às doenças reumáticas caracteriza-se pelo depósito de fibrilas AA, derivadas da proteína sérica amilóide A (SAA), em determinados tecidos e órgãos.

Os objetivos deste estudo consistiram em estabelecer a frequência da amiloidose na artrite reumatóide (AR) e esclerose sistêmica (ES) através da biópsia de tecido adiposo subcutâneo abdominal, determinar os níveis da proteína SAA e sua associação à amiloidose, parâmetros clínicos e atividade de doença em 48 pacientes com AR e 39 em ES.

Todos foram submetidos à biópsia de tecido adiposo. O material resultante foi corado pelo vermelho Congo e analisado à luz polarizada.

A biópsia de tecido adiposo foi positiva em dois pacientes com AR (4,17%), ambos do sexo feminino, com níveis elevados de proteína SAA, proteinúria, doença de longa evolução, soropositiva para o fator reumatóide e resultou negativa em todos os pacientes com ES.

Esta técnica representa um procedimento simples e sensível para o diagnóstico de amiloidose secundária, deve ser recomendada devido ao baixo risco de complicações, como sangramento e ao menor custo em relação a métodos mais invasivos.

A determinação dos níveis de proteína SAA foi realizada através da técnica de enzima-imunossensaio em 43 pacientes voluntários saudáveis, 46 pacientes com AR e 37 com ES.

Os níveis de proteína SAA mostraram-se significativamente elevados nos pacientes com AR em relação ao grupo controle e entre aqueles com artrite periférica quando comparados com aqueles sem esta manifestação, para níveis de proteína SAA inferiores a 100 µg/ml.

Entre os pacientes com ES, 26 apresentaram a forma limitada e 13 a forma difusa.

Houve diferença significativa nos níveis de proteína SAA, tempo de duração da doença, escore cutâneo total e proteinúria em relação às duas formas clínicas.

A proteína SAA é um sensível marcador de fase aguda que reflete o grau de atividade inflamatória nas doenças reumáticas.



## **Summary**

## VIII - Summary

The amyloid protein (AA) deposited in rheumatic diseases is derived from serum amyloid protein A (SAA).

The purposes of the present study were to verify the frequency of amyloidosis in rheumatoid arthritis (RA) and systemic sclerosis (SSc) through the evaluation of subcutaneous abdominal fat biopsy and to determine the SAA response associated with amyloidosis, clinical features and disease activity in 48 patients with RA and 39 with SS.

The fat biopsy specimens were stained with Congo red, examined for green birefringence through a polarizing microscope and showed positive results in two caucasian women with RA (4,17%), high SAA levels, long standing disease proteinuria and positive rheumatoid factor and negative results in SSc patients.

Congo red staining of subcutaneous fat tissue biopsy is a simple and sensitive method for the diagnosis of systemic amyloidosis. It may be recommended because of the low risk of complications from bleeding and lower costs than more invasive biopsy procedures.

SAA levels were determined by solid phase enzyme immunoassay in sera from 43 healthy volunteers, 46 patients with RA and 37 with SSc.

There were significant differences in SAA concentration between RA and control groups and patients with or without arthritis and SAA levels under 100µg/ml.

The patients with SSc were divided in two groups, 26 having limited systemic sclerosis (lSSc) and 13 having diffuse systemic sclerosis (dSSc).

There were significant differences in SAA concentration, mean disease duration, total skin score and proteinuria between lSS and dSSc groups.

SAA is a sensitive acute phase reactant that reflects the inflammatory activity of rheumatic diseases.

## **Apêndice**

## Apêndice

### 1.- CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O AMILÓIDE

#### 1.1.- Características biofísicoquímicas

O amilóide, substância amorfa e eosinofílica, quando submetido à análise química, independente do órgão ou tecido de origem, é composto por duas frações principais:

1) Fração de alto peso molecular - constituída por uma variedade de macromoléculas como fibronectina, reticulina e fragmentos de componentes nucleares e citoplasmáticos.

2) Fração de peso molecular entre 3.000 e 30.000Da-dependente da origem do material amilóide, constituída principalmente pelas subunidades fibrilares amilóides, das quais em várias delas se define a sequência dos aminoácidos componentes (vide quadro I.1).

A amiloidose secundária caracteriza-se pela presença da proteína fibrilar amilóide A (AA), de estrutura molecular conhecida e grande homogeneidade em sua porção N-terminal (MAURY, 1968; PEPYS, 1968; HUSBY, 1972b). Fazem parte também do amilóide, mas não da estrutura fibrilar, o componente P e as proteoglicanas.

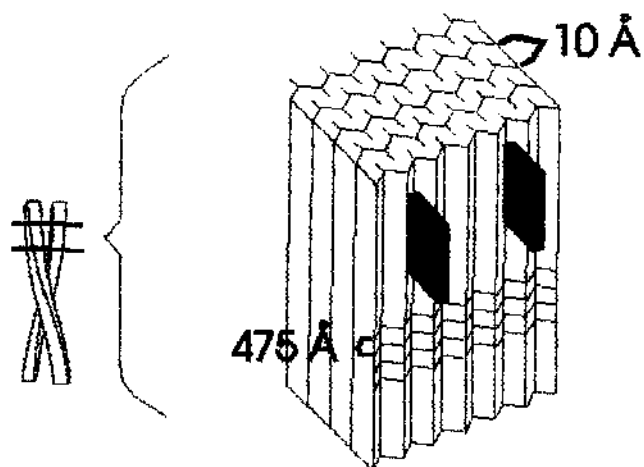
A proteína AA é um polipeptídeo de peso molecular ao redor de 8500Da. Na maioria dos depósitos sua cadeia de 76 aminoácidos tem valina na posição 52, alanina na posição 57 e representa o fragmento N-terminal da proteína SAA, constituída por 104 aminoácidos (SKINNER, 1972). Entretanto, as proteínas AA podem ter peso molecular de 4.500

a 9.200Da, apresentando de 45 a 94 resíduos de aminoácidos, dependendo da técnica de obtenção e do órgão considerado (HUSBY, 1980; WESTERMARCK et al, 1987, 1990).

Estudos à microscopia eletrônica demonstraram que as fibrilas amilóides apresentam comprimento de 7,5 a 10nm, são lineares, não ramificadas e se agregam de maneira organizada, independente do tecido de origem (COHEN & CALKINS, 1959).

A partir do desenvolvimento de técnicas de separação, purificação e concentração das fibrilas amilóides, de estudos utilizando-se cristalografia com raios X e espectroscopia com infravermelho, foi proposto um modelo para sua organização estrutural (COHEN & CALKINS, 1959; EANES & GLENNER, 1968).

Em todos os depósitos amilóides as proteínas fibrilares estão organizadas na forma de lâminas prequeadas empilhadas e com seus eixos perpendiculares ao eixo maior da fibrila. A terminologia "lâminas prequeadas  $\beta$ " define a estrutura secundária das proteínas, na qual segmentos de cadeias polipeptídicas dispõem-se lado a lado até uma certa extensão, em contraste à  $\alpha$ -hélice, na qual a cadeia polipeptídica sofre rotação para a direita (figura 1) (EANES & GLENNER, 1968; GLENNER, 1980a).



**Figura 1 - Fibrilas amilóides pareadas e organizadas em lâminas de pregueado  $\beta$ . Os sítios de ligação das moléculas de vermelho Congo estão representados pelas barras escuras.**

Estudos recentes, entretanto, utilizando difração de raios X, revelaram que nas fibrilas amilóides há um empilhamento de subunidades proteicas globulares com estrutura  $\beta$  em algumas regiões e  $\alpha$ -hélice em outras (PEPYS, 1968).

## 1.2.- Características histopatológicas e tintoriais

As fibrilas amilóides compartilham a propriedade de persistirem nos tecidos onde se depositam e seu acúmulo progressivo pode ser responsável pelos danos estruturais e funcionais dos órgãos lesados. Sua organização molecular lhe confere resistência aos processos de degradação e remodelação existentes nos diversos tecidos. A explicação mais amplamente aceita baseia-se na presença da conformação estrutural laminar pregueada  $\beta$ , que normalmente não ocorre em vertebrados, mas existe nos invertebrados. Tal organização

molecular se relaciona à maior resistência ao catabolismo proteico in vivo (PEPYS, 1988).

O amilóide cora-se em róseo pela hematoxilina-eosina. Reage também com os corantes violeta cristal ou violeta de metila, através de reação metacromática.

A metacromasia é um evento espectral caracterizado pelo abaixamento dos picos de absorção para comprimentos de onda mais curtos, tendo como causa a formação de dímeros, trímeros e tetrameros pelo empilhamento das moléculas do corante, dependente de maior concentração do mesmo (VIDAL, 1987).

O amilóide reage, também, intensamente com o corante fluorescente tioflavina T. Entretanto, esta coloração não apresenta alto grau de especificidade (COHEN, 1967a).

A utilização do corante vermelho Congo, introduzida por Bennhold em 1922 e posterior visualização à luz polarizada tem sido a técnica histológica mais empregada e de maior especificidade para pesquisa do amilóide (COHEN, 1962, 1967a).

O vermelho Congo é um corante pertencente ao grupo benzidina-tetrazóico acoplado a duas moléculas de ácido sulfônico distribuídas simetricamente em ambos os lados da molécula linear.

A ligação das moléculas do vermelho Congo paralelamente às lâminas de pregueado  $\beta$  constituídas pelas fibrilas amilóides (figura 1), através de interação com seus grupos hidroxila, tem sido sugerida para explicar o fenômeno da birrefringência verde esmeralda que o amilóide apresenta ao microscópio de luz polarizada (PUCHTLER et al, 1962, GLENNER, 1980a; PEPYS, 1988).

Sabe-se que a microscopia de polarização contribui com informações valiosas sobre a organização molecular e ultraestrutural

das células e tecidos. Estes microscópios são dotados de dois tipos de filtros (VIDAL, 1967):

1. polarizador - localizado abaixo do condensador, tem como característica a capacidade de absorver todos os vetores elétricos da radiação visível de forma seletiva, deixando passar somente energia radiante em uma única direção, correspondente ao seu plano de polarização.

2. analisador - situado entre as objetivas e as oculares. A luz que atravessou o polarizador é plano-polarizada e será absorvida pelo analisador ao se apresentar perpendicularmente ao seu plano de polarização. Este fenômeno ocorre pela própria natureza dos polarizadores e analisadores, constituídos por placas de plástico laminadas, em geral polímeros de álcool polivinílico coradas por iôdo ou sulfato de iodoquina. Estruturalmente os microcristais de iôdo ou derivados se depositam entre as moléculas do polímero a uma distância de  $3,5 \text{ \AA}$ .

Dessa forma, o analisador é um polarizador com seu plano de polarização perpendicular ao plano do polarizador. Nestas condições, não passa luz alguma pelo analisador, nada sendo visto pelo observador. Haverá passagem de luz pelo analisador toda vez que os planos de polarização deste e do polarizador estiverem inclinados um em relação ao outro. A intensidade da luz que os atravessa será máxima quando colocados paralelos entre si.

Na natureza há corpos isotrópicos, nos quais a luz se propaga com a mesma velocidade em qualquer direção e por isso apresentam um único índice de refração.

Há também corpos anisotrópicos, com propriedades ópticas características, como:



*Dicroísmo* - representa o fenômeno de absorção seletiva de energia radiante característico dos filtros e outras estruturas moleculares.

*Birrefringência* - significa a propriedade de apresentar duas direções de propagação de luz, com um índice de refração para cada uma delas.

Assim, os materiais isotrópicos colocados entre polarizadores não provocam alterações na propagação de luz polarizada, enquanto os birrefringentes alteram esta propagação e provocam um brilho característico.

Nos corpos birrefringentes, com dois índices de refração, um perpendicular ao outro, a luz polarizada se propaga através de dois caminhos ópticos diferentes. Desse modo, o brilho exibido pelo objeto birrefringente se deve à diferença de caminho óptico ou retardo óptico. Assim, a luz polarizada sai do corpo birrefringente em duas frentes de onda e a diferença entre elas representa o retardo óptico. As consequências dessa diferença de fase entre as ondas representam as cores características que o brilho da birrefringência apresentará.

O corpo birrefringente colocado entre o polarizador e o analisador deve exibir um máximo de brilho quando um de seus eixos de propagação da luz polarizada que o atravessa se apresentar a  $45^\circ$  do analisador e polarizador. Chama-se posição de extinção quando este eixo está orientado paralelamente aos eixos do polarizador ou do analisador e a birrefringência desaparece, ficando a imagem escura (VIDAL, 1987).

Além da birrefringência verde esmeralda à luz polarizada, o amilóide AA corado pelo vermelho Congo apresenta a propriedade de perder esta coloração quando em pH inferior ou igual a 11,5 (BENDITT & ERIKSEN, 1971). Também o tratamento do tecido com permanganato de

potássio leva à perda da afinidade da proteína AA e da  $\beta_2$  microglobulina pelo vermelho Congo (ELGHETANY & SALEEN, 1988).

### 1.3.- Componente P

Todas as formas de amiloidose, com exceção dos depósitos em placas intracorticais da doença de Alzheimer e demência senil, contém o componente P associado às fibrilas amiloides, através de ligação dependente de cálcio. O componente P é idêntico à proteína sérica amilóide P (SAP), uma  $\alpha$ -glicoproteína circulante de peso molecular 200.000Da, pertencente à família das pentraxinas e sua precursora.

À microscopia eletrônica o componente P apresenta-se como dímeros de unidades pentagonais, os quais podem agregar-se para formar pequenos bastões (COHEN et al, 1973). Representa apenas de cinco a 15% da massa fibrilar, está intimamente associado às fibrilas mas não é parte de sua estrutura (SKINNER et al, 1974; PEPYS, 1988).

Embora a concentração de proteína SAP não esteja aumentada como proteína de fase aguda ou em pacientes com amiloidose, sua síntese está aumentada nestes indivíduos, indicando ter um papel específico na amiloidogênese. O componente P inibe a atividade proteolítica da elastase in vitro e poderia in vivo atuar como inibidor enzimático, exercendo um papel protetor das fibrilas amilóides contra o processo de degradação e as células fagocitárias (PEPYS, 1988).

Técnicas sensíveis como enzimaímunoensaio ou radioímunoensaio têm sido utilizadas para quantificar a proteína SAP e têm estabelecido níveis séricos médios de 7,47mg/dl para indivíduos normais, acometidos por doenças difusas do tecido conjuntivo ou doenças infectocontagiosas, independente da faixa etária. Níveis médios significativamente mais elevados (10,79 mg/dl) foram constatados em portadores de neoplasias. Embora a proteína SAP, assim

como a proteína C reativa, pertença à classe das pentraxinas, não se comporta como as proteínas de fase aguda na espécie humana (SKINNER et al, 1979; SERBAN & RORDORF-ADAM, 1986), mas comporta-se como tal nos camundongos (BLIVEN et al, 1986).

O componente P faz parte da matriz proteica do tecido conjuntivo, membrana basal glomerular e se associa às fibras elásticas em diversos tecidos e órgãos. Foi detectado em biópsias sinoviais de pacientes com artrite reumatóide ou osteoartrite próximo a regiões onde há sinais de fibrose crônica (BUTLER et al, 1988). Foi encontrado também na pele de indivíduos normais ou associado a depósitos amilóides, na amiloidose sistêmica, líquen plano, amiloidose macular (DAHLBACK & SAKAI, 1990).

#### 1.4.- Glicosaminoglicanas e proteoglicanas

As glicosaminoglicanas (GAGs) são cadeias polissacarídicas compostas por unidades dissacarídicas repetitivas. Em geral a unidade dissacarídica é formada por ácido urônico e hexosamina. Com exceção do ácido hialurônico, todos os GAGs estão covalentemente ligados a uma molécula proteica denominada proteoglicana.

Embora a presença de GAGs tenha sido demonstrada nos depósitos amilóides desde a década de 60, somente nos últimos anos sua participação na amiloidogênese tem sido considerada.

Há evidências que GAGs estão presentes em todos os tipos de amiloidose, podendo estar intimamente associadas às fibrilas amilóides (KISILEVSKY, 1990, 1992; HUSBY, 1992b).

Os órgãos com amiloidose apresentam níveis cinco a dez vezes superiores em glicosaminoglicanas que os normais. Há predomínio da fração heparan-sulfato, sintetizada por células locais ou próximas aos depósitos amilóides (LINKER & CARNEY, 1987; SNOW et al, 1987a, 1987b; PEPYS, 1988).

Na amiloidose AA há acúmulo de heparan-sulfato (HSPG), um tipo de proteoglicana encontrada na membrana basal. Este achado pode representar apenas um epifenômeno ou ter um papel na amiloidogênese (KISILEVSKY, 1990). A presença de HSPG, em geral sintetizada simultaneamente com outras proteínas de membrana, sugere que o processo de amiloidogênese possa estar associado a um distúrbio no metabolismo da membrana basal (KISILEVSKY, 1992).

Outra hipótese sugere a participação do heparan-sulfato na formação das fibrilas amilóides. Por tratar-se de um poliânion

forneceria um microambiente favorável a organização laminar das fibrilas (SNOW et al, 1987b).

### 1.5.- Proteína SAA

Esta proteína é a precursora da fibrila AA dos depósitos amilóides (HUSBY & SLETTEN, 1986; MAURY, 1984, 1988). Ela é constituída por 104 resíduos de aminoácidos, apresentando peso molecular de 12500Da. é idêntica à proteína AA em sua estrutura primária, sendo também uma proteína não glicosilada (SCHULTZ & ARNOLD, 1990; WATSON et al. 1992).

A maioria das proteínas AA humanas é constituída por cadeia polipeptídica contendo 76 aminoácidos provavelmente resultante da clivagem proteolítica da molécula de SAA e remoção de sua porção carboxiterminal com 28 aminoácidos (HUSBY & SLETTEN, 1986).

Inúmeros estímulos incluindo lesão tissular (MOZES et al, 1989), doenças infecciosas (SCHEINBERG et al, 1979; NAKAYAMA et al, 1993; MIWATA et al, 1993), drogas, agentes químicos, neoplasias, doenças inflamatórias (SCHEINBERG et al, 1980; CHAMBERS & WHICHER, 1983; BRANDWEIN et al, 1984; MAURY et al, 1985a; ØSTENSEN et al, 1985; CHAMBERS et al, 1987) podem desencadear a síntese de proteínas de fase aguda, sendo as quatro mais importantes a proteína SAA, a proteína C-reativa, a  $\alpha_1$  glicoproteína ácida e o fibrinogênio. Estes estímulos, através de mediadores da resposta imune, como interleucina 1, interleucina 6, fator de necrose tumoral, liberados por macrófagos ativados vão estimular a produção hepática da proteína SAA (STEIN et al, 1981; McADAM et al, 1982; SHIRAHAMA & COHEN, 1985; SKINNER, 1992; SYVERSEN et al, 1993).

Sintetizada pelos hepatócitos em períodos de 24 a 48 horas, seus níveis sanguíneos passam de traços a centenas de vezes elevados, diante de estímulos adequados (SKINNER, 1992).

No compartimento vascular a SAA associa-se rapidamente às partículas de lipoproteína de alta densidade (fração HDL<sub>3</sub>) (BAUSSERMAN et al, 1988), deslocando as proteínas apo AI, apo AII e apo C das partículas de HDL. Estudos in vitro e in vivo têm demonstrado que altas concentrações destas apoproteínas podem liberar SAA e AA da fração HDL, podendo estas então, ser incorporadas às fibrilas amilóides. Órgãos como o fígado e os intestinos que sintetizam apo AI e apo AII são também sítios de predileção da amiloidose AA (HUSBY et al, 1988).

Filogeneticamente sua estrutura é altamente preservada entre os vertebrados. As posições entre os aminoácidos 34 a 45 mantêm-se inalteradas, fato que deve ser importante para sua função, ainda não completamente esclarecida (HUSBY & SLETTEN, 1986; BENSON, 1988; SCHULTZ & ARNOLD, 1990).

A proteína SAA humana é polimórfica. Há quatro formas conhecidas (SAA<sub>1</sub> a 4), sendo SAA<sub>1</sub> a mais abundante, apresenta duas formas alélicas  $\alpha$  e  $\beta$ , assim como SAA<sub>2</sub>. São encontradas na circulação e apenas SAA<sub>2</sub> é amilodogênica (YAMADA, 1990; SKINNER, 1992).

Os genes que codificam a proteína SAA localizam-se no braço curto do cromossomo 11 e se comõem de quatro loci separados. A proteína SAA<sub>4</sub> parece ter funções biológicas distintas daquelas apresentadas pelas demais proteínas SAA (WESTERMARCK et al, 1990; SKINNER, 1992; WATSON et al, 1992). Embora a exata função da proteína SAA não esteja completamente elucidada, há algumas hipóteses a considerar:

1.- Participação na supressão da resposta imune atuando na interação entre linfócitos T e macrófagos (BENSON, 1988; SKINNER, 1992).



2.- Participação no metabolismo do colesterol, posto que a mortalidade por doenças cardiovasculares está aumentada entre pacientes com doenças inflamatórias crônicas (WATSON et al, 1992).

3.- Participação na síntese de colagenase em coelhos e em cultura de tecidos (BENSON, 1988; SKINNER, 1992).

4.- Inibição in vitro da ativação plaquetária induzida pela trombina, sugerindo, assim, um papel protetor de doença tromboembólica (ZIMLICHMAN et al, 1990).

## 1.6.- Patogênese da amiloidose

Os mecanismos através dos quais várias proteínas precursoras solúveis são transformadas em agregados insolúveis com a morfologia das fibrilas amilóides, depositadas em diferentes tecidos e órgãos, ainda não estão esclarecidos.

Vários fatores têm sido aventados como de importância na patogênese da amiloidose, seja a heredofamiliar, seja a secundária, entre eles:

### 1.- *A proteína precursora*

Sabe-se que o amilóide é formado pelo excesso de uma proteína precursora amiloidogênica, seja por aumento na produção, ou diminuição de seu catabolismo. A proteína SAA está aumentada na circulação de pacientes com doenças inflamatórias crônicas, o que explica sua maior susceptibilidade à amiloidose AA (HUSBY, 1972b).

### 2.- *Propriedades estruturais da proteína precursora*

Fatores patogênicos adicionais devem estar envolvidos, como variantes proteicas estruturais amiloidogênicas, como a proteína SAA<sub>2</sub> em humanos, camundongos, coelhos, ou a proteína de Bence-Jones na amiloidose AL, entre outras (HUSBY, 1972b; SKINNER, 1992).

### 3.- *Degradação inadequada de precursores*

Análises químicas de proteínas amilóides purificadas de diferentes origens têm demonstrado que estas são constituídas muitas vezes, por fragmentos de estruturas precursoras, sugerindo serem resultantes de degradação incompleta. Estudos *in vitro* com a proteína

SAA, que pode ser degradada pela serina protease dos monócitos gerando a proteína AA, têm confirmado esta hipótese. Os fragmentos resultantes podem sofrer polimerização e formar as fibrilas amilóides (SKOGEN et al, 1980; COHEN & CONNORS, 1987; HUSBY et al, 1988).

Os indivíduos propensos a desenvolver amiloidose secundária apresentariam um defeito enzimático caracterizado pela degradação incompleta das proteínas SAA em moléculas AA, que se agregariam formando as fibrilas amilóides. Em condições normais, entretanto, a proteína SAA é degradada em fragmentos menores que são prontamente removidos pelas células do sistema reticuloendotelial, não restando proteína AA para a formação do amilóide (HUSBY, 1980; WEGELIUS et al, 1982).

Assim, proteólise inadequada resultando em degradação incompleta das proteínas precursoras pode estar envolvida na amiloidogênese. Entretanto há proteínas amilóides fibrilares idênticas às suas precursoras (por exemplo a transtirretina,  $\beta_2$ -microglobulina, alguns casos de amiloidose AA), demonstrando que a fragmentação não é um pré-requisito absoluto na gênese das fibrilas (SHIRAHAMA & COHEN, 1975; PEPYS, 1988).

A degradação da proteína SAA também pode ocorrer após a formação das fibrilas (HUSBY, 1980; SKOGEN et al, 1980; COHEN & CONNORS, 1987; PEPYS, 1988; HUSBY, 1992), ou no interior de macrófagos (TAKAHASHI et al, 1989).

#### 4.- Fator estimulador do amilóide (FEA)

Há evidências de que o processo de amiloidogênese ocorra em duas fases: na primeira delas há produção das proteínas precursoras e

na segunda, a deposição do amilóide nos tecidos (GLENNER, 1980a), em um período de duas a quatro semanas (COHEN & SHIRAHAMA, 1972).

Extratos de tecidos ou órgãos amiloidóticos apresentam a propriedade de acelerar a deposição de amilóide, reduzindo este tempo para um ou dois dias (SHIRAHAMA & COHEN, 1975). Esse período pode ser diminuído para 36 horas em células esplênicas intactas ou não provenientes de animais com amiloidose, quando transferidas para receptores isogênicos submetidos a estímulo inflamatório. Estas observações conduziram à suspeita da existência de um componente celular responsável por este efeito acelerador da amiloidogênese (FEA) e atuando provavelmente na segunda fase deste processo (SHIRAHAMA et al, 1990; KISILEVSKY, 1992).

Há evidências que proteínas e carboidratos façam parte da composição bioquímica do FEA ou ele represente um complexo de vários componentes que perdem sua atividade biológica quando dissociados. Provavelmente é sintetizado por células do sistema reticuloendotelial submetidas a estímulo inflamatório persistente, em órgãos como fígado, baço, rins (HUSBY, 1992b; KISILEVSKY, 1992).

FEA extraído de órgãos em várias formas de amiloidose, como AA, AL, TTR, doença de Alzheimer acelerou a amiloidose experimental induzida do tipo AA em camundongos (VARGA et al, 1986).

Macrófagos peritoniais de camundongos com amiloidose AA apresentam elevada atividade de FEA, sendo capazes de degradar a proteína SAA em fibrilas AA em vários órgãos, inclusive nos locais onde ela é raramente descrita, como nos pulmões ou na cavidade peritoneal, onde o fator limitante in vivo parece ser a baixa concentração de SAA no peritônio (SHIRAHAMA et al, 1990; MIURA et al, 1992).

##### 5.- *Histocompatibilidade e Imunogenética*

Há evidências clínicas e laboratoriais da participação de fatores geneticamente determinados na patogênese da amiloidose. Esta complicação é observada em apenas 4% dos pacientes com amiloidose AL associada a gamopatia monoclonal. Diferenças nas sequências de aminoácidos da região variável das cadeias leves de imunoglobulinas podem estar envolvidas na patogênese, quer pelo maior potencial de formar lâminas de prequeado  $\beta$ , que pela menor susceptibilidade à proteólise (OCKHUIZEN et al, 1985).

Estudos populacionais têm revelado que cerca de 0,5% dos portadores de doenças inflamatórias crônicas desenvolvem amiloidose AA. FILIFOWICS-SOSNOWSKA et al (1979, 1980) relataram diferenças nas frequências de amiloidose entre crianças polonesas e americanas com artrite crônica da infância (ACI). Assim, também na Inglaterra a frequência de amiloidose associada a ACI é em torno de 10%, mas nos Estados Unidos esta complicação é rara (HARATS et al, 1989).

Na amiloidose humana há algumas evidências de comprometimento da imunidade celular. Entretanto, na amiloidose experimentalmente induzida pela caseína em linhagens de camundongos CBA/J tem-se observado comprometimento dos linfócitos T supressores e proliferação dos linfócitos B, em comparação com linhagens A/J resistentes à amiloidose. Os autores especulam que um único gen regularia a resposta dos linfócitos B à caseína ou os sistemas enzimáticos responsáveis pela degradação da proteína SAA (SCHEINBERG, 1977, 1980; COHEN et al, 1978; OCKHUIZEN et al, 1985).

Deficiências de imunoglobulinas séricas, particularmente IgG e IgA têm sido demonstradas em portadores de ACI e amiloidose secundária, contribuindo para menor sobrevida deste grupo em relação

àquele com níveis normais de imunoglobulinas (ROSTROPOWICZ-DENISIEWICZ et al, 1988).

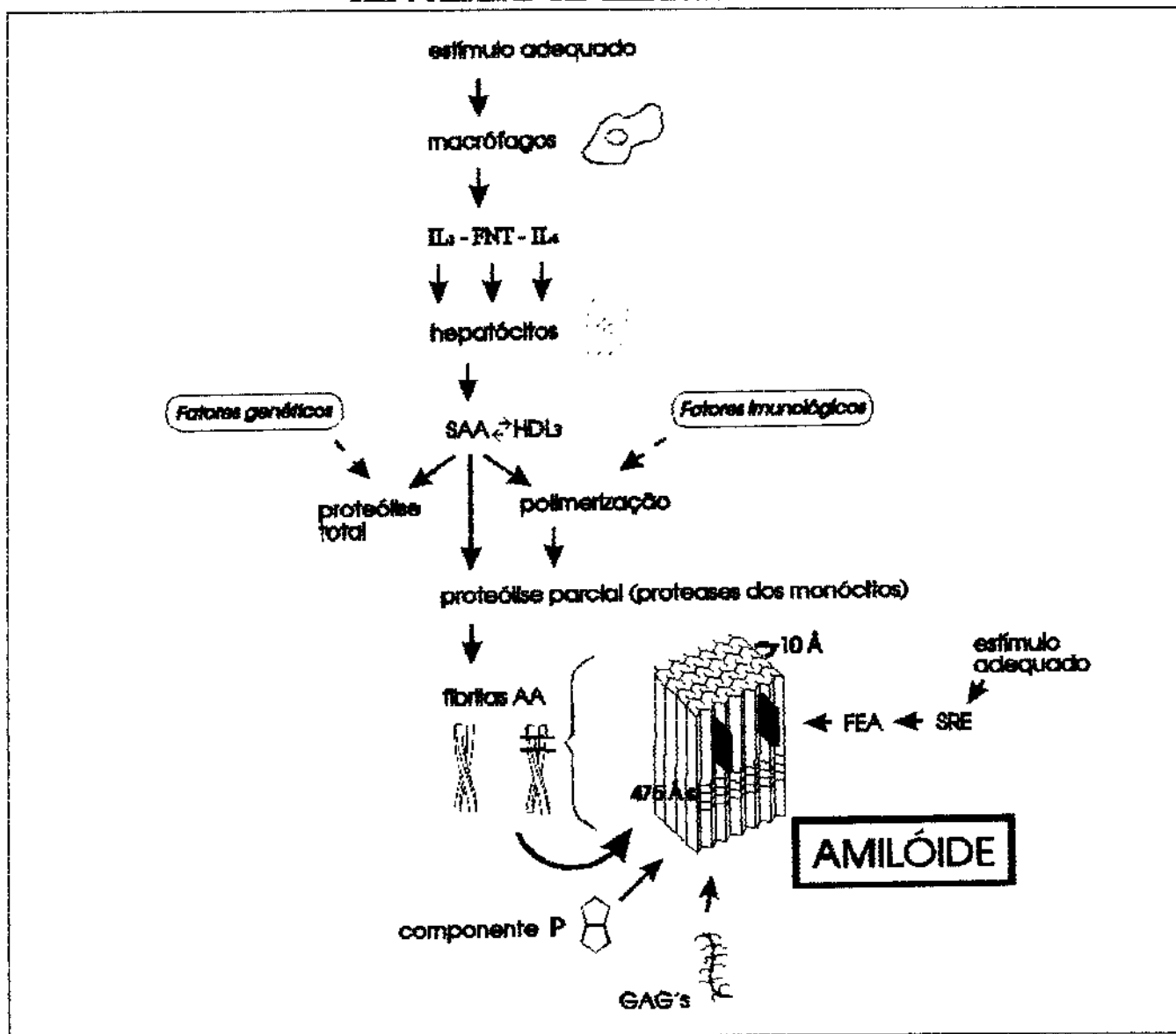
A procura de um marcador genético para a amiloidose AA tem culminado em resultados controversos. WOO et al (1987) encontraram associação significativa entre presença do sítio 5 de DNA polimórfico do gen que codifica o componente P e amiloidose em crianças portadoras de ACI. Estas observações não foram encontradas em crianças norte-americanas, podendo representar que o sítio polimórfico é um marcador genético da amiloidose apenas na população britânica (HARATS et al, 1989).

Estudos de histocompatibilidade têm revelado diferenças não significativas na frequência dos antígenos HLA entre indivíduos portadores ou não de amiloidose AL (RUBINOW & COHEN, 1982).

MAURY et al, (1988) observaram maior prevalência do HLA-DR4 e menor do HLA-DR2 entre pacientes com artrite reumatóide e amiloidose quando comparados com indivíduos saudáveis.

O quadro abaixo apresenta a patogênese da amiloidose atualmente aceita, com base em evidências clínicas, laboratoriais e experimentais.

### PATOGÊNESE DA AMILOIDOSE AA



**IL1** - interleucina 1

**FNT** - fator de necrose tumoral

**IL6** - interleucina 6

**SAA** - proteína sérica amilóide A

**HDL3** - lipoproteína de alta densidade 3

**FEA** - fator estimulador do amilóide

**SRE** - sistema reticuloendotelial

**GAG's** - glicosaminoglicanas

## 2.- TRATAMENTO

Não há tratamento específico para a amiloidose (HUSBY, 1975).

Na amiloidose secundária às doenças infecciosas, a cura ou o controle terapêutico da patologia de base pode retardar sua progressão (COHEN, 1985) ou levar à regressão histológica dos depósitos amilóides (HORNBAKER et al, 1986). A cronificação da doença pode reduzir a sobrevida dos pacientes acometidos (ROJAS et al, 1985).

Pode-se constatar regressão das manifestações clínico-laboratoriais atribuídas à amiloidose após tratamentos poucos convencionais como realimentação (LEJOND et al, 1980), utilização de homogenados hepáticos por via oral (CUSANO et al, 1982) ou terapêutica com citostáticos (MODY & MEYERS, 1988).

O uso da colchicina tem-se mostrado útil na prevenção dos ataques febris agudos e da lesão renal, bem como na redução da proteinúria e melhora da função renal em estágios nefróticos do envolvimento renal na febre familiar do Mediterrâneo (RAVID et al, 1977; ZEMER et al, 1992).

Há trabalhos sugerindo, pelo menos em alguns casos, a utilização da colchicina na prevenção e reversão da nefropatia em pacientes com amiloidose primária (RAVID et al, 1977) ou secundária a



espondilite anquilosante (ESCALANTE et al, 1991) e artrite psoriásica (FAK et al, 1992).

Entretanto, para SCHEINBERG & PERNAMBUCO (1982) a colchicina mostrou-se ineficaz em modificar a função renal de pacientes com amiloidose primária após meses de uso contínuo.

A utilização do dimetil sulfóxido (DMSO), um solvente industrial, primeiramente introduzido para o tratamento da amiloidose experimental em camundongos, tem-se mostrado ineficaz em pacientes com amiloidose primária (MORASSI et al, 1989), idiopática e associada à febre familiar do Mediterrâneo (RAVID et al, 1982).

Na amiloidose secundária o DMSO parece levar à dissolução dos depósitos amilóides, que seriam eliminados através da urina (GLENNER, 1980b). Esta terapêutica tem-se revelado de efeitos colaterais pouco relevantes, exceto o hálito desagradável e capaz de promover melhora da função renal em pacientes portadores de amiloidose secundária à AR (RAVID et al, 1982; MORASSI et al, 1989; OHTOSHI et al, 1989; OKUMA et al, 1989), à lepra lepromatosa (SCHEINBERG & PERNAMBUCO, 1982; SCHEINBERG et al, 1984) e como consequência prolongar a sobrevida dos pacientes tratados (RAVID et al, 1982; MORASSI et al, 1989).

Evidências experimentais sugerem que os corticosteróides aceleram os depósitos amilóides em animais tratados com caseína e o mesmo mecanismo foi sugerido ocorrer na espécie humana (GLENNER, 1980b). Entretanto, não há razão para se acreditar que o uso terapêutico de corticosteróides nas dosagens comumente empregadas possa aumentar a incidência de amiloidose secundária à AR (GARDNER, 1982).

Atualmente os corticosteróides têm sido utilizados em esquemas para tratamento da amiloidose primária (AL) associados a citostáticos, preferencialmente o melphalan, com resultados promissores (BENSON, 1986; GERTZ & KYLE, 1986; MANOHARAN, 1986; LEVIN & CHOKAS, 1987), porém seu uso isolado na amiloidose secundária a doenças reumáticas tem-se mostrado ineficaz (GERTZ & KYLE, 1991).

Os agentes citostáticos são considerados de utilidade no tratamento da amiloidose secundária às doenças difusas do tecido conjuntivo. Os alquilantes, como o clorambucil, no tratamento da amiloidose secundária à AR (BERGLUND et al, 1987; MODY & MEYERS, 1988; MAUGARS et al, 1990) e espondilite anquilosante (ISLAS-ANDRADE et al, 1986; BERGLUND et al, 1987) têm contribuído para a melhora, estabilização ou menor deterioração da função renal, bem como controle da atividade da doença de base (BERGLUND et al, 1987, MODY & MEYERS, 1988; MAUGARS et al, 1990).

Resultados favoráveis sobre a função renal foram observados com citostáticos alquilantes, como a ciclofosfamida (BERGLUND et al, 1987), com methotrexate (TIITINEN & KAARELA, 1990) ou com a associação melphalan e prednisona (ISLAS-ANDRADE et al, 1986) no tratamento da amiloidose secundária às doenças reumáticas. Entretanto, há relatos de casos de progressão da amiloidose com deterioração rápida da função renal, culminando em diálise ou transplante renal, apesar do tratamento com citostáticos e corticosteróides (ISLAS-ANDRADE et al, 1986; BERGLUND et al, 1987).

Medidas de suporte como uso cuidadoso de diuréticos na insuficiência cardíaca, mineralocorticóides na insuficiência supra-renal, traqueostomia na macroglossia com obstrução de vias aéreas superiores, esplenectomia nas diáteses hemorrágicas podem ser

indicadas para atenuar os sintomas decorrentes dos depósitos amilóides em tecidos e órgãos (GLENNER, 1988b).

Quanto ao envolvimento renal, manifesto através de síndrome nefrótica, pode culminar em insuficiência renal terminal apesar do tratamento. Diálise e transplante renal podem melhorar o prognóstico dos pacientes acometidos (JACOB et al, 1979; AZEVEDO & SABBAGA, 1988; CANTALUPPI, 1988; HEERING et al, 1989; SCHWARTZ et al, 1989). A evolução dos pacientes transplantados pode ser melhor que aquela dos pacientes mantidos em diálise crônica (AZEVEDO & SABBAGA, 1988).

---

<b>Prontuário para artrite reumatóide</b>
---

- 1.- Nome
- 2.- Sexo ( masculino / feminino )
- 3.- Raça ( caucasóide / não caucasóide )
- 4.- Idade de início ( anos )
- 5.- Tempo de doença ( anos )\*
- 6.- Anamnese\*
- 7.- Exame físico completo\*
- 8.- Classificação radiológica\*
- 9.- Classificação funcional\*
- 10.- Manifestações articulares ( artrite periférica (1 ou + articulações) / sem artrite )\*
- 11.- Manifestações extraarticulares.
- 12.- Exames laboratoriais\*
  - hemograma completo
  - glicemia
  - uréia sérica
  - creatinina sérica
  - sedimento urinário
  - proteinúria de 24 horas
  - prova do látex
  - FAN
  - velocidade de hemossedimentação (VHS)
  - dosagem de proteína SAA
- 13.- Biópsia de tecido adiposo subcutâneo periumbelical\*

---

\* realizados na mesma ocasião.

---

<b>Prontuário para esclerose sistêmica</b>
--

- 1.- Nome
- 2.- Sexo ( masculino / feminino )
- 3.- Raça ( caucasóide / não caucasóide )
- 4.- Idade de início ( anos )
- 5.- Tempo de doença ( anos )\*
- 6.- Forma clínica ( limitada / difusa )\*
- 7.- Anamnese\*
- 8.- Exame físico completo\*
- 9.- Acometimento cutâneo:
  - escore cutâneo total
  - biópsia de pele
  - leucomelanodermia
  - calcinose
  - teleangiectasias
- 10.- Acometimento vascular:
  - Fenômeno de Raynaud
  - microulcerações de polpas digitais
  - necrose extensa
- 11.- Acometimento osteoarticular:\*
  - artrite periférica
  - artralgia
  - garra esclerodérmica
  - radiografia de mãos e punhos

12.- Acometimento pulmonar:

- radiografia de tórax
- função pulmonar

13.- Acometimento cardíaco:

- eletrocardiograma
- ecocardiograma

14.- Acometimento do trato gastrointestinal:

- esofagograma
- trânsito intestinal
- enema opaco

15.- Acometimento renal:\*

- uréia sérica
- creatinina sérica
- sedimento urinário
- proteinúria de 24 horas

16.- Exames laboratoriais complementares:\*

- hemograma
- glicemia
- prova do látex
- FAN ( com fígado de rato / com células HEp-2 )
- anti-Sc1-70
- VHS
- dosagem da proteína SAA

17.- Biópsia de tecido adiposo subcutâneo periumbelical\*

---

\* realizados na mesma ocasião

## **Referências Bibliográficas**

## Referências Bibliográficas\*

- ACCHIARDO, S.; CHUAQUI, B.; LOSADA, M.; SCHAPIRO, P.; GARCIA, H. -  
Artritis reumatoidea y amilodosis. *Rev. Med Chil*, 89:212-4, 1961.
- ACEBES, J.C. & HERRERO-BEAUMONT, G. - Inmunogenética y enfermedad  
reumática. *Boletim do Comitê Iberoamericano de Reumatologia*, 2:3-  
8, 1992.
- AKIMOTO, K.; NAKAZATO, M.; MATSUKURA, S.; HAYAKAWA, K. - Plasma  
concentration of islet amyloid polypeptide in healthy children and  
patients with insulin - dependent diabetes mellitus. *Acta  
Paediatr.*, 82:310-11, 1993.
- AMIEL, S. - Amylin and diabetes. *Lancet*, 341:1249-50, 1993.
- ANDRADE, L.E.C. & ATRA, E. - Esclerodermia. *J.B.M.*, 60(4):22-44,  
1991.
- ANSELL, I.D. & JOEKES, A.M. - Spicular arrangement of amyloid in  
renal biopsy. *J. Clin. Pathol.*, 25:1056-62, 1972.

---

\* As referências bibliográficas seguiram as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (A.B.N.T.), compiladas por HERANI(1990).



ARAPAKIS, G. & TRIBE, C.R. - Amyloidosis in rheumatoid arthritis investigated by means of rectal biopsy. *Ann. Rheum. Dis.*, 22:256-62, 1963.

ARIZA, C.R.; PRATI, A.C.; HERAS-MARTINI, R.; GARCÍA-TORRES, R.; FULIDO, M.A. - La biopsia com aguja de tru-cut de la grasa subcutanea abdominal para el diagnostico de amiloidosis. *Rev. Invest. Clin.*, 40:347-51, 1988.

ARNETT, F.C. - Revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *EULAR Bull.*, 2:40-4, 1990.

ARNETT, F.C.; EDWORTHY, S.M.; BLOCK, D.A.; McSHANE, D.J.; FRIES, J.F.; COOPER, N.S.; HEALEY, L.A.; KAPLAN, S.R.; LIANG, M.H.; LUTHRA, H.S.; MEDSGER Jr, T.A.; MITCHELL, D.M.; NEUSTADT, D.H.; PINALS, R.S.; SCHALLER, J.G.; SHARP, J.T.; WILDER, R.L.; HUNDER, G.G. - The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 31:315-24, 1988.

ASSIS, R.V.C.; GRINBERG, M.; LOPES, E.A.; DECOURT, L.V.; CORBETT, C.E.P.; PILEGGI, F. JATENE, A.D. - Amiloidose e inflamação em valvas mitrais calcificadas de pacientes reumáticos crônicos. *Arq. Bras. Cardiol.*, 51:433-6, 1988.

ATHANASOU, N.A. & SALLIE, B. - Localized deposition of amyloid in articular cartilage. *Hystopathology*, 20:41-6, 1992.

- AZEVEDO, L.S. & SABBAGA, E. - Nefropatia amilóide e transplante renal. *Rev. Ass. Med. Brasil*, 34:138-44, 1988.
- BAUSSERMAN, L.L.; BERNIER, D.N.; McADAM, K.P.W.J.; HERBERT, P.N. - Serum amyloid A and high density lipoproteins during the acute phase response. *Eur. J. Clin. Invest.*, 18:619-26, 1988.
- Begliomini, H.; FONSECA FILHO, L.L.; SILVA, F.A.O.E.; RECUPERO, V.; MATTOS JUNIOR, D.; GUIDUGLI NETO, J. - Amiloidose vesical primária - relato de um caso. *J. Br. Urol.*, 9:123-5, 1983.
- BENDITT, E.P. & ERIKSEN, N. - Amyloid II. Starch gel electrophoretic analysis of some proteins extracted from amyloid. *Arch. Pathol.*, 78:325-30, 1964.
- BENDITT, E.P. & ERIKSEN, N. - Chemical classes of amyloid substance. *Am. J. Pathol.*, 65:231-49, 1971.
- BENSON, M.D. - Treatment of AL amyloidosis with melphalan, prednisone, and colchicine. *Arthritis Rheum.*, 29:683-7, 1986.
- BENSON, M.D. - Reactive (secondary) amyloid and its protein precursor. *J. Lab. Clin. Med.*, 112:405-6, 1988.
- BERGLUND, K. KELLER, C. THYSELL, H. - Alkylating cytostatic treatment in renal amyloidosis secondary to rheumatic disease. *Ann. Rheum. Dis.*, 46:757-62, 1987.

- BLAVIA, R.; ROCA TODA, M.; VIDAL, F.; BENET, A.; RAZQUIN, S.;  
RICHART, C. - Pulmonary diffuse amyloidosis and ankylosing  
spondylitis. A rare association. *Chest*, **102**:1608-10, 1992.
- BLIVEN, M.L.; WOOLEY, P.H.; PEPYS, M.B.; OTTERNESS, I.G. - Murine  
type II collagen arthritis. Association of an acute-phase response  
with clinical course. *Arthritis Rheum.*, **29**:1131-8, 1986.
- BLUMENFELD, W. & HILDEBRANDT, R.H. - Fine needle aspiration of  
abdominal fat for the diagnosis of amyloidosis. *Acta Cytol.*,  
**37**:170-4, 1993.
- BOERS, M.; CROONEN, A.M.; DIJKMANS, B.A.C.; BREEDVELD, F.C.;  
EULDERINK, F.; CATS, A.; WEENING, J.J. - Renal findings in  
rheumatoid arthritis: clinical aspects of 132 necropsies. *Ann.*  
*Rheum. Dis.*, **46**:658-63, 1987.
- BOURKE, B.E.; WOODROW, D.F.; SCOTT, J.T. - Proteinuria in rheumatoid  
arthritis - drug induced or amyloid?. *Ann. Rheum. Dis.*, **40**:240-4,  
1981.
- BRANDWEIN, S.R.; MEDSGER Jr, T.A.; SKINNER, M.; SIFE, J.D.; RODMAN,  
S.P.; COHEN, A.S. - Serum amyloid A protein concentration in  
progressive systemic sclerosis (scleroderma). *Ann Rheum. Dis.*,  
**43**:586-9, 1984.

BREEDVELD, F.C.; MARKUSSE, H.M.; Mac FARLANE, J.D. - Subcutaneous fat biopsy in the diagnosis of amyloidosis secondary to chronic arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 7:407-10, 1989.

BREHERTON-WATT, D.; GHATEI, M.A.; BLOOM, S.E.; WILLIAMS, S.; BLOOM, S.R. - Islet amyloid polypeptide-like immunoreactivity in human tissue and endocrine tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76:1072-4, 1993.

BUCK, F.S.; KOSS, M.N.; SHERRDD, A.E.; WU, A. TAKAHASHI, M. - Ethnic distribution of amyloidosis: an autopsy study. *Mod. Pathol.*, 2:372-7, 1989.

BUTLER, M.G.; D'ARDENNE, J.D.; SCOTT, D.L. - F component in the synovium in rheumatoid and osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 47:463-7, 1988.

CABANE, J.; MICHON, A.; ZIZA, J.M.; BOURGEOIS, P.; BLÉTRY, O.; GODEAU, P.; KAHN, M.F. - Comparison of long term evolution of adult onset and juvenile onset Still disease. *Ann. Rheum. Dis.*, 49:283-5, 1990.

CANG CASTELLANOS, R.; FOUCELL de WADGYMAR, S.; DIAZ JOUANEN, E. -  
Artritis por amiloide simulando artritis reumatoide en seis  
pacientes con mieloma multiple. *Rev. Invest. Clin.*, **33**:17-23,  
1981.

CANTAGREL, A.; FOURNIE, B.; POURRAT, J.; CONTE, J.J.; FOURNIE, A. -  
Hématurie microscopique d'origine rénale au cours de la  
polyarthrite rhumatöide. *Rev. Med. Interne*, **12**:31-2, 35-6, 1991.

CANTALUPPI, A. - CAPD and systemic diseases. *Clin. Nephrol.*, **30**  
(suppl.1) :S8-S12, 1988.

CASEY, T.T.; STONE, W.J.; DIRAIMONDO, C.R.; BRANTLEY, B.D.  
DIRAIMONDO, C.V.; GOREVIC, P.D.; PAGE, D.L. - Tumoral amyloidosis  
of bone of beta 2 - microglobulin origin in association with long  
- term hemodialysis: a new type of amyloid disease. *Hum.*  
*Pathol.*, **17**:731-8, 1986.

CASPI, D.; ZALZMAN, S.; BARATZ, M.; TEITELBAUM, Z.; YARON, M.; FRAS,  
M.; BALTZ, M.L.; PEPYS, M.K. - Imaging of experimental amyloidosis  
with <sup>131</sup>I-labeled serum amyloid P component. *Arthritis Reum.*,  
**30**:1303-6, 1987.

CHAMBERS, R.E.; MACFARLANE, D.G.; WHICHER, J.T.D.; DIEPPE, P.A. -  
Serum amyloid-A protein concentration in rheumatoid arthritis and  
its role in monitoring disease activity. *Ann Rheum. Dis.*, **42**:665-  
7, 1983.

- CHAMBERS, R.E.; STROSS, P.; BARRY, R.E.; WHICHER, J.T. - Serum amyloid A protein compared with C-reactive protein, alpha 1-antichymotrypsin and alpha 1-acid glycoprotein as a monitor of inflammatory bowel disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 17:460-7, 1987.
- CHAMBERS, R.E. & WHICHER, J.T. - Quantitative radial immunodiffusion assay for serum amyloid A protein. *J. Immunol. Methods*, 59:95-103, 1983.
- CHAPIRA, E.; JACOBELLI, S.; SCHEINBERG, M. - Amiloidose em gota. *Rev. Bras. Reumatol.*, 28:52-4, 1988.
- CHOMETTE, G.; AURIOL, M.; HABIB, K.; BIAGGI, A. - The value of biopsy of the accessory labial salivary glands for the diagnosis of amylosis. *Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.*, 93:54-7, 1992.
- CLEMENTS, P.J.; LACHENBRUCH, P.A.; SEIBOLD, J.R.; ZEE, B.; STEEN, V.D.; BRENNAN, P.; SILMAN, A.J.; ALLEGAR, N.; VARGA, J.; MASSA, M.; WIGLEY, F.M.; IGENITO, F.; WEISMAN, M.; WHITE, B.; MARTIN, R.W.; McCLOSKEY, D.; MORELAND, L.W.; MAYES, M.; LALLY, E.V.; UNANUE, M.; COLLIER, D.H.; WEINER, S.; WEINSTEIN, A.; MEDSGER, Jr, T.A.; ANDREWS, B.; DIXON, M.; FURST, D.E. - Skin thickness score in systemic sclerosis: an assesment of interobserver variability in 3 independent studies. *J. Rheumatol.*, 20:1892-6, 1993.

- CLIVE, D.M. & STOFF, J.S. - Renal syndromes associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs. *New Engl. J. Med.*, 310:563-72, 1984.
- COHEN, A.S. - Amyloidosis. *N. Engl. J. Med.*, 277:522-30, 1967a.
- COHEN, A.S. - Amyloidosis (To be continued). *N. Engl. J. Med.*, 277:574-83, 1967b.
- COHEN, A.S. - Amyloidosis (Concluded). *N. Engl. J. Med.*, 277:628-38, 1967c.
- COHEN, A.S. - Amyloidosis. In: McCARTY, D.J. - *Arthritis and allied conditions*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1985. p.1108-27.
- COHEN, A.S. - History of amyloidosis. *J. Intern. Med.*, 232:509-10, 1992.
- COHEN, A.S. & BORDER, W.A. - Mesangial proliferative glomerulonephritis. *Semin. Nephrol.*, 2:228-40, 1982.
- COHEN, A.S. & CALKINS, E. - Electron microscopic observations on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature*, 183:1201-2, 1959.

- COHEN, A.S.; CALKINS, E.; LEVENE, C.I. - Studies on experimental amyloidosis. I. Analysis of histology and staining reactions of casein-induced amyloidosis in the rabbit. *Am. J. Pathol.*, 35:971-99, 1959.
- COHEN, A.S.; CATHCART, E.S.; SKINNER, M. - Amyloidosis. Current trends in its investigation. *Arthritis Rheum.*, 21:153-60, 1978.
- COHEN, A.S. & CONNORS, L.H. - The pathogenesis and biochemistry of amyloidosis. *J. Pathol.*, 151:1-10, 1987.
- COHEN, A.S.; FRENSDORFF, A.; LAMPRECHT, M.A.; CALKINS, E. - A study of the fine structure of the amyloid associated with familial Mediterranean fever. *Am. J. Pathol.*, 41:567-78, 1962.
- COHEN, A.S. & SHIRAHAMA, T. - Animal model for human disease amyloidosis. *Am. J. Pathol.*, 68:441-4, 1972.
- COHEN, A.S. & WEGELIUS, O. - Classification of amyloid: 1979-1980. *Arthritis Rheum.*, 23:644-5, 1980.
- CORRENT, G. & RENDON, M.I. - Metabolic disease. *Dermatol. Clin.*, 10:717-40, 1992.
- CUSANO, A.; BLAND, J.H.; LAPENAS, D.J.; COHEN, A.S. - Juvenile rheumatoid arthritis with renal amyloidosis: a 23-year survival. *J. Rheumatol.*, 921-925, 1982.



- DAHLBACK, K. & SAKAI, L. - Immunohistochemical studies on fibrillin in amyloidosis, lichen ruber planus and porphyria. **Acta Derm. Venereol. (Stockh)**, **70**:275-80, 1990.
- DAHLIN, D.C. - Classification and general aspects of amyloidosis. **Med. Clin. North. Am.**, **34**:1107-11, 1950.
- DAVIDSOHN, I. & NELSON, D.A. - Metodos empleados en el analisis de sangre. In: DAVIDSOHN, I. & HENRY, J.B. - **Diagnóstico clinico por el laboratorio**. 6ª ed. Barcelona, Salvat Editores, S.A. 1978. p.103-317.
- De BEER, F.C. & PEPYS, M.B. - Solid-phase immunoradiometric assay for C-reactive protein using magnetisable cellulose particles. **J. Immunol. Methods**, **50**:299-308, 1982.
- DIKMAN, S.H.; CHURG, J.; KAHN, T. - Morphologic and clinical correlates in renal amyloidosis. **Hum. Pathol.**, **12**:160-9, 1981.
- DHILLON, V.; WOOD, P.; ISENBERG, D. - Amyloidosis in the rheumatic diseases. **Ann. Rheum. Dis.**, **48**:696-701, 1989.
- DUSTON, M.; SKINNER, M.; MEENAN, R.F.; COHEN, A.S. - Sensitivity, specificity, and predictive value of abdominal fat aspiration for the diagnosis of amyloidosis. **Arthritis Rheum.**, **32**:82-5, 1989.
- EANES, E.D. & GLENNER, G.G. - X-ray diffraction studies on amyloid filaments. **J. Histochem. Cytochem.**, **16**:673-7, 1968.

- ELGHETANY, M.T. & SALEEM, A. - Methods for staining amyloid in tissues: a review. *Stain Technol.*, **63**:201-11, 1988.
- ENNEVAARA, K. & OKA, M. - Rheumatoid arthritis with amyloidosis. *Ann. Rheum. Dis.*, **23**:131-8, 1964.
- ESCALANTE, A.; EHRESMANN, G.R.; QUISMORIO Jr, F.P. - Regression of reactive systemic amyloidosis due to ankylosing spondylitis following the administration of colchicine. *Arthritis Rheum.*, **34**:920-2, 1991.
- FAK, A.S.; OZENER, C.; AKOGLU, E. - Colchicine and secondary amyloidosis. *Ann. Intern. Med.*, **117**:795-6, 1992. [Letter]
- FALCK, H.M.; MAURY, C.P.J.; TEPPÖ, A-M.; WEGELIUS, O. - Correlation of persistently high serum amyloid A protein and C-reactive protein concentrations with rapid progression of secondary amyloidosis. *Br. Med. J.*, **286**:1391-3, 1983.
- FARRELL, M.A.; QUIGGINS, P.A.; ELLER, J.D.; DWLE, P.A.; MINER, K.M.; WALKINGSTICK, E.S. - Prevalence of diabetes and its complications in the eastern band of Cherokee Indians. *Diabetes Care*, **16** (suppl.1) :253-6, 1993.
- FERNANDES, S.R.M.; MARQUES NETO, J.F.; FINETTI, R.M.I.; SAMARA, A.M. - Manifestações osteoarticulares na esclerose sistêmica. *Rev. Bras. Reumatol.*, **28**:65-9, 1988.

FILIPOWICZ-SOSNOWSKA, A.M. & BAUM, J. - The amyloidosis of juvenile rheumatoid arthritis - comparative studies in polish and american children. *J. Rheumatol.*, 6:277-85, 1979.

FILIPOWICZ-SOSNOWSKA, A.M. & BAUM, J. - The amyloidosis of juvenile rheumatoid arthritis - comparative studies in polish and american children. *Scand. J. Rheumatol.*, 9:24-30, 1980.

FRANZEN, P. & SUTINEN, S. - Screening for secondary amyloidosis in rheumatoid arthritis using aspiration biopsy of subcutaneous fat. *Scand. J. Rheumatol.*, (suppl.85) :24, 1990.

FREEMAN, W.L. & HOSEY, G.M. - Diabetic complications among American Indians of Washington, Oregon, and Idaho: prevalence of retinopathy, end-stage renal disease, and amputations. *Diabetes Care*, 16 (suppl.1) :357-60, 1993.

GAFNI, J. & SOHAR, E. - Rectal biopsy for the diagnosis of amyloidosis. *Am. J. Med. Sci.*, 240:332-6, 1960.

GARDNER, D.L. - Amyloidosis in rheumatoid arthritis treated with hormones. *Ann. Rheum. Dis.*, 298-9, 1962.

GAZMURI, O.; UBILLA,.; VERA, M.; ARIS, H. - Amiloidosis. Revisión anatómico clínica de 35 casos. *Rev. Med. Chil.*, 88:44-8, 1960.

- GEFFRIAUD, C.; NOËL, L.H.; BLANCHE, P.; GANEVAL, D.; BARBANEL, C.;  
JUNGERS, P.; GRUNFELD, J.P. - Spondylarthrite ankylosante avec  
amylose de tipe AA. *Presse Med.*, **17**:2344-7, 1988.
- GERTZ, M.A. - Secondary amyloidosis. *J. Intern. Med.*, **232**:517-8,  
1992.
- GERTZ, M.A. & KYLE, R.A. - Response of primary hepatic amyloidosis to  
melphalan and prednisone: a case report and review of the  
literature. *Mayo Clin. Proc.*, **61**:218-23, 1986.
- GERTZ, M.A. & KYLE, R.A. - Secondary sistemic amyloidosis: response  
and survival in 64 patients. *Medicine*, **70**:246-56, 1991.
- GLENNER, G.G. - Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$ -fibrilloses  
(first of two parts). *N. Engl. J. Med.*, **302**:1283-92, 1980a.
- GLENNER, G.G. - Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$ -fibrilloses  
(second of two parts). *N. Engl. J. Med.*, **302**:1333-43, 1980b.
- GODENIR, N.L.; JEENAH, M.S.; COETZEE, G.A.; VAN der WESTHUYZEN, D.R.;  
STRACHAN, A.F.; De BEER, F.C. - Standardisation of the  
quantitation of serum amyloid A protein(SAA) in human serum. *J.  
Immunol. Methods*, **83**:217-25, 1985.
- GÓES, P.M.; LUCON, A.M.; WROCLAWSKI, E.R.; BORRELLI, M.; ARAP, S. -  
Amiloidose primária do ureter. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S.  
Paulo*, **41**:39-42, 1986.

GOFFIN, Y.A.; THOUA, Y.; POTVLIEGE, P.R. - Microdeposition of amyloid in the joints. **Ann. Rheum. Dis.**, **40**:27-33, 1981.

GRANT, G.H.; SILVERMAN, L.M.; CHRISTENSON, R.H. - Amino acids and proteins. In: TIETZ, N.W. - **Fundamentals of Clinical Chemistry**. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1987. p.291-345.

HACHULLA, E.; JANIN, A.; FLIPO, R-M.; SAILE, R.; HATRON, P.; DUQUESNOY, B. - Value of labial salivary gland biopsy for the diagnosis of amyloidosis. In: AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY 56<sup>th</sup> ANNUAL SCIENTIFIC MEETING, 10, Atlanta, 1992. **Poster presentation**. Atlanta, 1992. (Poster, C279)

HALL, S. & LUTHRA, H.S. - Rheumatologic manifestations of amyloid disease. **Minn. Med.**, **66**:631-2, 1983.

HARATS, N.; KLUVE-BECKERMAN, B.; SKINNER, M.; PASSO, M.; QUINN L.; BENSON, M.D. - Lack of association of a restriction fragment length polymorphism for serum amyloid P gene with reactive amyloidosis. **Arthritis Rheum.**, **32**:1325-7, 1989.

HAWKINS, P.N.; LAVENDER, J.P.; MYERS, M.J.; PEPYS, M.B. - Diagnostic redionuclide imaging of amyloid: biological targeting by circulating human serum amyloid P component. **Lancet**, **1**:1413-8, 1988.

- HAWKINS, P.N.; WOOTTON, R.; FEPYS, M.B. - Metabolic studies of radiolabeled serum amyloid P component in normal subjects and patients with systemic amyloidosis. *J. Clin. Invest.*, **86**:1862-9, 1990.
- HEERING, P.; KUTKUN, B.; FRENZEL, H.; LINKE, R.P.; GRABENSEE, B. - Renal transplantation in amyloid nephropathy. *Int. Urol. Nephrol.*, **21**:339-47, 1989.
- HELIN, H.; KORPELA, M.; MUSIONEN, J.; PASTERNAK, A - Mild mesangial glomerulopathy - a frequent finding in rheumatoid arthritis. *Nephron*, **42**:224-30, 1986.
- HERANI, M.L.G. - Normas para a apresentação de dissertações e teses. São Paulo, **BIREME**, 1970. 45p.
- HOCKE, G.; EBEL, H.; BITTNER, K.; MOLLER, T.; KAFFARNIK, H.; STEINMETZ, A. - A rapid laser immunonephelometric assay for serum amyloid A (SAA) and its application to the diagnosis of kidney allograft rejection. *Klin. Wochenschr.*, **67**:447-51, 1989.
- HOLZMANN, H. & KORTING, G.W. - Perikollagene amyloidablagerungen in haut und inneren organen bei sklerodermie. *Klin. Wochenschr.*, **47**:390-1, 1969.

- HORLAIT, S.; BERNARD, J.F.; LIOTÉ, F.; BARDIN, T.; CYWINER-GOLENZER, C.; MEYER, G.; DRYLL, A. - Amylose secondaire ou cours de la maladie de Still de l'adulte. Intérêt de la biopsie de la graisse sous-cutanée abdominale. *Rev. Rhum. Mal. Osteartic.*, 55:630-1, 1988.
- HORNBAKER, S.; BRUNGARDT, G.; DUNN, M. - An apparent cure of secondary amyloidosis due to osteomyelitis. *Arch. Intern. Med.*, 146:191-2, 1986.
- HORWITZ, H.M.; DiBENEDITTO Jr., J.D.; ALLEGRA, S.R.; BAUMANN, H.M. - Scleroderma, amyloidosis, and extensor tendon rupture. *Arthritis Rheum.*, 25:1141-3, 1982.
- HUSBY, G. - Amyloidosis in rheumatoid arthritis. *Ann. Clin. Res.*, 7:154-67, 1975.
- HUSBY, G. - A chemical classification of amyloid. *Scand. J. Rheumatol.*, 9:60-4, 1980.
- HUSBY, G. - Nomenclature and classification of amyloid and amyloidosis. *J. Intern. Med.*, 232:511-2, 1992a.
- HUSBY, G. - Amyloidosis. *Sem. Arthritis Rheum.*, 22:67-82, 1992b.

- HUSBY, G.; ARAKI, S.; BENDITT, E.P.; BENSON, M.D.; COHEN, A.S.; FRAGIONE, B.; GLENNER, G.G.; NATVIG, J.B.; WESTERMARK, P. - Nomenclature of amyloid and amyloidosis. **Bull. World Health Organ.**, 71:105-8, 1993.
- HUSBY, G.; HUSEBEKK, A.; SKOGEN, B.; SLETTEN, K.; MARHAUG, G.; MAGNUS, J.; SYVERSEN, V. - Serum amyloid A(SAA) - The precursor of protein AA in secondary amyloidosis. **Adv. Exper. Med. Biol.**, 243:185-92, 1986.
- HUSBY, G. & SLETTEN, K. - Chemical and clinical classification of amyloidosis 1985. **Scand. J. Immunol.**, 23:253-65, 1986.
- ITO, H.; ASAD, T.; YOSHIZAWA, H. - An autopsied case of PSS associated with Sjögren's syndrome and secondary generalized amyloidosis. **Ryumachi**, 30:198-203, 1990.
- ISLAS-ANDRADE, S.; RIVA, H.; TORRES, R.G.; NEGRETE, A.C.; MUNARI, A.F. - Amiloidosis con espondilitis anquilosante: evolución con dos esquemas terapéuticos. **Rev. Med. IMSS(Méx.)**, 24:23-6, 1986.
- JACOB, E.T.; BAR-NATHAN, N.; SHAPIRA, Z.; GAFNI, J. - Renal transplantation in the amyloidosis of familial Mediterranean fever. Experience in ten cases. **Arch. Intern. Med.**, 139:1135-8, 1979.



- JOHNSON, K.H.; O'BRIEN, T.D.; BETSHOLTZ, C.; WESTERMARK, P. - Islet amyloid, islet-amyloid polypeptide, and diabetes mellitus. **N. Engl. J. Med.**, 321:513-8, 1989.
- JOHNSON, K.H.; O'BRIEN, T.D.; BETSHOLTZ, C.; WESTERMARK, P. - Islet amyloid polypeptide: mechanisms of amyloidogenesis in the pancreatic islets and potential roles in diabetes mellitus. **Lab. Invest.**, 66:522-35, 1992.
- KAPILA, K. & VERMA, K. - Amyloid goiter in fine needle aspirates. **Acta Cytol.**, 37:257-8, 1993.
- KIKUCHI, M.; SATO, T.; NAKANO, M.; OZAWA, T.; YOSHIDA, K.; TAKAHASHI, C.; NAKAZONO, K.; MURASAWA, A.; ARAKAWA, M. - Upper gastrointestinal tract lesions in rheumatoid arthritis. **Ryumachi**, 31:374-80, 1991.
- KISILEVSKY, R. - Heparan sulfate proteoglycans in amyloidogenesis: an epiphenomenon, a unique factor or the tip of a more fundamental process? **Lab. Invest.**, 63:589-91, 1990.
- KISILEVSKY, R. - Proteoglycans, glycosaminoglycans, amyloid-enhancing factor, and amyloid deposition. **J. Intern. Med.**, 232:515-6, 1992.
- KLEMI, P.J.; SORSA, S.; HAPPONEN, R.P. - Fine-needle aspiration biopsy from subcutaneous fat. **Scand. J. Rheumatol.**, 16:429-31, 1987.

KORPELA, M.; MUSTONEN, J.; HELIN, H.; PASTERNAK, A. - Immunological comparison of patients with rheumatoid arthritis, and nephropathy. **Ann. Rheum. Dis.**, 49:214-8, 1990.

KUMAGAI, I.; SASAKI, T.; TAKATORI, K.; SHIKATA, K.; IKEDA, S.; TAKADOKA, M.; MAKINO, H.; OTA, Z. - Secondary amyloidosis associated with overlap syndrome of rheumatoid arthritis, progressive systemic sclerosis and polymyositis. **Nippon Naika Gakkai Zasshi**, 78:1346-7, 1989.

KYLE, R.A. - Amyloidosis. Introduction and overview. **J. Intern. Med.**, 232:507-8, 1992.

KYLE, R.A. & BAYARD, E.D. - Amyloidosis: review of 236 cases. **Medicine**, 51:271-99, 1975.

LAAKSO, M.; MUTRU, O.; ISOMAKI, H.; KOOTTA, K. - Mortality from amyloidosis and renal diseases in patients with rheumatoid arthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, 45:663-7, 1986.

LADEFØGED, C. - Amyloid in osteoarthritic hip joints: deposits in relation to chondromatosis, pyrophosphate, and inflammatory cell infiltrate in the synovial membrane and fibrous capsule. **Ann. Rheum. Dis.**, 42:659-64, 1983.

- LALLY, E.V.; JIMENEZ, S.A.; KAPLAN, S.R. - Progressive systemic sclerosis: mode of presentation, rapidly progressive disease course, and mortality based on an analysis of 91 patients. *Sem. Arthritis Rheum.*, 18:1-13, 1988.
- LEJONC, J.L.; BROCHARD, P.; GEORGE, C.; SCHAEFFER, A.; PORTOS, J.L. - Syndrome néphrotique de l'amylose. Régression spontanée après renutrition. *Nouv. Presse Med.*, 9:1308-14, 1980.
- LENS, X.; ROSELLÓ, R.; MONTOLIU, J.; SOLÉ, M.; DARNELL, A.; ROTÉS, J.; REVERT, L. - Amyloidosis secondary to gout. *J. Rheumatol.*, 12:1024-6, 1985. [Letter]
- LENER, L.; FERVENZA, F.C.; SANDRI, A.M.; CUNHA, M.L.; SANDRI, M.I. - Rim e doenças sistêmicas. *Acta Med. (Porto Alegre)*, 418-38, 1984.
- LEROY, C.; BLACK, C.; FLEISCHMAJER, R.; JABLONSKA, S.; KRIEG, T.; MEDSGER Jr, T.A.; ROWELL, N.; WOLLHEIM, F. - Scleroderma (Systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J. Rheumatol.*, 15:202-5, 1988.
- LEVIN, M. & CHOKAS, W. - Acquired factor X deficiency and amyloidosis treated with melphalan and prednisone. *N. Engl. J. Med.*, 317:1155-6, 1987. [Letter]
- LIBBEY, C.A.; SKINNER, M.; COHEN, A.S. - Use of abdominal fat tissue aspirate in the diagnosis of systemic amyloidosis. *Arch. Intern. Med.*, 143:1549-52, 1983.

- LICHEWITZ, B. & CAVALLO, T. - Amiloidose secundária e esquistossomose mansônica. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S.Paulo*, 19:43-8, 1964.
- LINKER, A. & CARNEY, H.C. - Presence and role of glycosaminoglycans in amyloidosis. *Lab. Invest.*, 57:297-305, 1987.
- LOPES, M.L.L. - **Pesquisa de amiloidose secundária em artrite reumatóide: biópsia aspirativa de tecido celular subcutâneo abdominal.** Porto Alegre, 1991. [Tese-Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul]
- LOWE, W.C. - Scleroderma and amyloidosis. *Mil. Med.*, 134:1430-3, 1969.
- MacINTYRE, I. - Amylinamide, bone conservation, and pancreatic  $\beta$  cells. *Lancet*, 2:1026-7, 1989.
- MALLORY, F.B. - **Pathological Technique.** New York, Hafner Publishing Co, 1961. p.133-4.
- MANDHARAN, A. - Successful treatment of primary amyloidosis. *Mayo Clin. Proc.*, 61:835-7, 1986. [Letter]
- MARCONI, I.A.; NAGAMASSA, Y.; GUIDUGLI, J.; CHAHADE, W.H.; BRITO, M.V.; ELMAN, D. - Amiloidose (biópsia retal) em pacientes com doença reumatóide. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE REUMATOLOGIA, Porto Alegre, 1978. **Anais:** Porto Alegre, 1978. p.83.

- MARIN L., P.P.; FARDELLA B., C.; ROSENBERG G., H. - Nuevo metodo para el diagnostico de amiloidosis: biopsia por puncion del tejido subcutaneo. *Rev. Med. Chil.*, 115:760-2, 1987.
- MARKENSON, J.A. & SHERMAN, R.L. - Renal involvement in progressive systemic sclerosis: prolonged survival with aggressive antihypertensive management. *Arthritis Rheum.*, 22:1132-4, 1979.
- MARQUES NETO, J.F.; BERTOLO, M.B.; SAMARA, A.M. - Causas de morte na esclerose sistêmica. *Rev. Bras. Reumatol.*, 28:81-6, 1986.
- MARQUES NETO, J.F.; GONÇALVES, H.T.; LANGEN, L.F.O.B.; CUNHA, M.F.L.; RADOMINSKI, S.; OLIVEIRA, S.M.; CURY, S.E.; MEDEIROS, F.; SAMPAIO, G.C. - Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. *Rev. Bras. Reumatol.*, 5:169-73, 1993.
- MARQUES NETO, J.F. & SAMARA, A.M. - Esclerodermia. In: SAMARA, A.M. - *Reumatologia*. São Paulo, Savier, 1985. p. 258-96.
- MARTÍN, R.S. & DELBONO, D. - Artritis reumatoidea, amiloidosis y sepsis. *Medicina (B. Aires)*, 46:335-40, 1986.
- MASI, A.T.; RODNAN, G.P.; MEDSGER Jr, T.A.; ALTMAN, R.D.; D'ANGELO, W.A.; FRIES, J.F.; LeROY, C.; KIRSNER, A.B.; MACKENZIE, A.H.; McSHANE, D.J.; MYERS, A.R.; SHARP, G.C. - Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.*, 23: 581-90, 1980.

- MAUGARS, Y.; COUVERCHEL, L.; GUENEL, Y.; BUREAU, L.; BUZELIN, F.;  
FROST, A. - Amylose rénale de polyarthrite rhumatoïde stabilisée  
depuis 13 ans par le chlorambucil. *Rev. Rhum. Mal. Osteartic.*,  
57:41-4, 1990.
- MAURY, C.P.J. - Serum amyloid A protein-current status. *Scand. J.*  
*Rheumatol.*, 13:97-100, 1984.
- MAURY, C.P.J. - Amyloidosis. *Scand. J. Rheumatol.*, (suppl.74):33-9,  
1988.
- MAURY, C.P.J.; EHNHOLM, C.; LUKKA, M. - Serum amyloid A protein (SAA)  
subtypes in acute and chronic inflammatory conditions. *Ann. Rheum.*  
*Dis.*, 44:711-5, 1985a.
- MAURY, C.P.J. & TEPPD, A.M. - Comparative study of serum amyloid -  
related protein SAA, C-reactive protein, and  $\beta_2$ -microglobulin as  
markers of renal allograft rejection. *Clin. Nephrol.*, 22:284-92,  
1984.
- MAURY, C.P.J.; TEPPD, A.M.; WAFIN, F.; WEGELIUS, O.; FRIMAN, C.;  
KOSKIMIES, S. - Class - specific rheumatoid factors, DR antigens,  
and amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum.*  
*Dis.*, 47:546-52, 1988.
- MAURY, C.P.J.; TURNROTH, T.; WEGELIUS, O. - Is amyloid A(AA)  
amyloidosis always secondary? *Ann. Rheum. Dis.*, 44:273-6, 1985b.

MAURY, C.F.J. & WEEGELIUS, O. - Clinical value of serum amyloid A and C-reactive protein measurements in secondary amyloidosis. *Int. J. Tissue React.*, 7:405-8, 1985.

McADAM, K.F.W.J.; LI, J.; KNOWLES, J.; FOSS, N.T.; DINARELLO, C.A.; ROSENWASSER, L.J.; SELINGER, M.J.; KAPLAN, M.M.; GOODMAN, R. - The biology of SAA: identification of the inducer, in vitro synthesis, and heterogeneity demonstrated with monoclonal antibodies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 389:126-36, 1982.

McGILL, N.W.; TUCK, R.; HASSALL, J.E. - Severe autonomic neuropathy in amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Aust. N. Z. J. Med.*, 16:705-7, 1986.

MEDSGER Jr, T.A. - Systemic sclerosis (scleroderma), eosinophilic fasciitis, and calcinosis. In: McCARTY, D.J. - *Arthritis and allied conditions. A textbook of Rheumatology*. 10. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1985. p.994-1036

MEDSGER Jr, T.A.; STEEN, V.D.; ZIEGLER, G.; RODNAN, G.P. - The natural history of skin involvement in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.*, 23:720-1, 1980. (Abstract)

MISSEN, G.A.K. & TAYLOR, J.D. - Amyloidosis in rheumatoid arthritis. *J. Pathol. Bacteriol.*, 71:179-82, 1956.

- MITCHELL, D.M.; SPITZ, P.W.; YOUNG, D.Y.; BLOCH, D.A.; McSHANE, D.J.;  
FRIES, J.F. - Survival, prognosis, and causes of death in  
rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 29:706-14, 1986.
- MIURA, K.; BABA, S.; SHIRASAWA, H.; JU, S.T.; COHEN, A.S.; SHIRAHANA,  
T. - Intraperitoneal amyloid formation by amyloid enhancing factor  
- rich macrophages in ascitic fluid. *Virchows Archiv. B. Cell.  
Pathol.*, 62:245-50, 1992.
- MIWATA, H.; YAMADA, T.; OKADA, M.; KUDO, T.; KIMURA, H.; MORISHIMA,  
T. - Serum amyloid A protein in acute viral infections. *Arch. Dis.  
Child.*, 68:210-4, 1993.
- MODY, G.M. & MEYERS, O.L. - Clinical regression of amyloid  
nephropathy in a patient with rheumatoid arthritis. A case report.  
*S. Afr. Med. J.*, 73:55-6, 1988.
- MONTARD ESPINOZA, S. & R[O]S-DALENZ, J. - La amiloidosis renal.  
Informe de tres casos. *Salud Boliv.*, 1:104-6, 1983.
- MORASSI, F.; MASSA, F.; MESESNEL, E.; MAGRIS, D.; D'AGNOLO, B. -  
Treatment of amyloidosis with dimethylsulfoxide. *Miverna Med.*,  
80:65-70, 1989.
- MOZES, G.; FRIEDMAN, N.; SHAINKIN-KESTENBAUM, R. - Serum amyloid A: an  
extremely sensitive marker for intensity of tissue damage in  
trauma patients and indicator of acute response in various  
diseases. *J. Trauma*, 29:71-4, 1989.



MUNETTA, B.; NEWMAN, J.; STEVENSON, J.; EGGERS, P. - Diabetic end-stage renal disease among native americans. **Diabetes Care**, 16 (suppl.1): 346-8, 1993.

NAKANO, M.; YAMADA, T.; OZAWA, T.; KIKUCHI, M.; SATOH, T.; NAKAZONO, K.; HANYU, T.; MURASAWA, A.; ARAKAWA, M. - A study of rheumatoid arthritis patients associated with biopsy - proven secondary amyloidosis. **Ryumachi**, 29:251-8, 1989.

NAKAYAMA, T.; SONODA, S.; URANO, T.; YAMADA, T.; OKADA, M. - Monitoring both serum amyloid protein A and C - reactive protein as inflammatory markers in infectious diseases. **Clin. Chem.**, 39:293-7, 1993.

NATHAN, D.M. - Long-term complications of diabetes mellitus. **N. Engl. J. Med.**, 328:1676-83, 1993.

NEDER, S.S.; KUHL, V.R.; MATOS, P.S.; BONFIGLIOLI, R.; PROVENZA, J.R.; MARQUES NETO, J.F. - Amiloidose e artrite reumatóide: histopatologia da gordura periumbelical. **Rev. Bras. Reumatol.**, 32:163-6, 1992.

- OBANA, M.; ADASHI, M.; MATSUOKA, Y.; IRIMAJIRI, S.; KISHIMOTO, H.; FUKUDA, J. - Clinical studies on amyloidosis complicated with rheumatoid arthritis with particular reference to nephropathy. **Jpn. J. Med.**, 29:274-82, 1990.
- OCKHUIZEN, T.; WESTRA, H.; BIJZET, J.; POST, P.; VAN LEEUWEN, M.; VAN RIJSWIJK, M. - Immunoglobulin allotypes are not involved in systemic amyloidosis. **J. Rheumatol.**, 12:742-6, 1985.
- OGATA, F. - Quantitative dot-blot enzyme immunoassay for serum amyloid A protein. **J. Immunol. Methods**, 116:131-5, 1989.
- OHTOSHI, K.; MASUI, H.; KAJIWARA, K.; DOYAMA, H.; OHNAKANA, N.; HARA, M.; OHIWA, N.; MORI, T.; NAGAI, K.; YAMAGUCHI, K.; UEMATSU, K. - Protein losing gastroenteropathy and renal failure in secondary amyloidosis: successful treatment with dimethylsulfoxide. **Nippon Naika Gakkai Zasshi**, 78:919-24, 1989.
- OKUMA, Y.; KURODA, M.; HASHIMOTO, C.; NISHIMAKI, T.; MORITO, T.; KASUKAWA, R. - Improvement of severe diarrhea by dimethylsulfoxide in a case of AA type secondary amyloidosis. **Nippon Naika Gakkai Zasshi**, 78:698-9, 1989.
- OLIVEIRA, R.M.; SIFE, J.D.; De BEER, F.C.; LOOSE, L.D.; BARTLE, L.M.; CECIL, D.; FRANZBLAU, C. - Rapid, sensitive enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) for serum amyloid A (apo SAA) in human plasma and tissue culture fluids. **Amyloid: Int. J. Exp. Clin. Invest.**, (1):23-9, 1994.

- ONETTI MUDA, A.; STELLA, F.; FARAGGIANA, T. - Nephropathy in rheumatoid arthritis. *Pathologica*, 82:617-26, 1990.
- ORFILA, C.; GIRAUD, P.; MODESTO, A.; SUC, J.M. - Abdominal fat tissue aspirate in human amyloidosis: light, electron, and immunofluorescence microscopic studies. *Hum. Pathol.*, 17:366-9, 1986.
- ORFILA, C.; GOFFINET, F.; GOUDABLE, C.; ECHE, J.P.; THAT, H.T.; MANUEL, Y.; SUC, J.M. - Unsuitable value of abdominal fat tissue aspirate examination for the diagnosis of amyloidosis in long-term hemodialysis patients. *Am. J. Nephrol.*, 8:454-6, 1988.
- ORNELLAS, J.F.R.; CARDOSO, L.R.; BELLO, V.A.O.; AGUIAR, J.A. - Protótipos de nefropatias em doenças sistêmicas: lúpus eritematoso disseminado, diabetes melito e amiloidoses. *J. Bras. Med.*, 42:95-102, 1982.
- ØSTENSEN, M.; MARHAUG, G.; HUSBY, G. - Amyloid-related serum protein (SAA) during and after pregnancy in healthy women and women with rheumatic disease. *Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. C.*, 93:1-5, 1985.
- OZAWA, T.; KIKUCHI, M.; SATO, T.; NAKANO, M.; TOHYAMA, C.; YAMAKAWA, M.; NAKAZONO, K.; MURASAWA, A.; ARAKAWA, M. - Usefulness of gastric mucosal biopsy for diagnosis of amyloidosis. In: AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY 56<sup>th</sup> ANNUAL SCIENTIFIC MEETING, 10, Atlanta, 1992. **Poster presentation.** Atlanta, 1992. (Poster, B178)

- PEPYS, M.B. - Amyloidosis: some recent developments. *Q.J. Med.*, **67**:283-98, 1988.
- PEPYS, M.B. - Amyloid F component and the diagnosis of amyloidosis. *J. Intern. Med.*, **232**:519-21, 1992.
- PETTERSSON, T.; TÖRNROTH, T.; TÖTTERMAN, K.J.; FORTELIUS, P.; NAURY, P.J. - AA amyloidosis in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, **14**:835-8, 1987.
- PIIRAINEN, H.I.; HELVE, A.T.; TÖRNROTH, T.; PETERSON, T.E. - Amyloidosis in mixed connective tissue disease. *Scand. J. Rheumatol.*, **18**:165-8, 1989.
- PIREROS, J. & D'ACHIARDI, R. - Amiloidoma como tumor primario de costilla. *Acta Medica Colombiana*, **3**:28-30, 1978.
- PROKAEVA, T.B.; ALEKBEROVA, Z.S.; MANUILOVA, L.S.; SIMONOVA, M.V.; ANANIEVA, L.P. - Secondary amyloidosis in elderly patients with rheumatoid arthritis. *Klin. Med. (Mosk)*, **68**:42-4, 1990.
- PUCHTLER, H.; SWEAT, F.; LEVINE, M. - On the binding of Congo red by amyloid. *J. Histochem. Cytochem.*, **10**:355-64, 1962.
- PUDDU, H.S.; IBARRA, R.; BOSIO, L.; ROSA, G. - Amiloidosis renal: correlation clinico-patologica de la afectacion glomerular. *Pren. Méd. Argent.*, **69**:409-11, 1982.

QUIGGINS, P.A. & FARREL, M.A. - Renal disease among the eastern band of Cherokee Indians. *Diabetes Care*, 16 (suppl.1): 342-5, 1993.

QUINTON, R.; SIERSEMA, P.D.; MICHELS, J.J.; ten KATE, F.J.W. - Renal AA amyloidosis in a patient with Bence Jones proteinuria and ankylosing spondylitis. *J. Clin. Pathol.*, 45:934-6, 1992.

RABELLO, F.E. - Amiloidose cutânea genuína. (1955-1980). *An. Bras. Dermatol.*, 56:175-7, 1981.

RAGAN, C.; BAUM, J.; BLACK, R.L.; BROWN, H.E.; BROWN, R.; CHRISTIAN, C.; CLARK, G.M.; COHEN, A.S.; DUFF, I.F.; ENGELMAN, P.; HEALEY, L.A.; JESSAR, R.A.; MAINLAND, D.; MILLS, J.A.; PLOTZ, C.; SHORT, L.; STECK, I.; WALLACE, S.L.; WEINBERGER, H.J. - A seven day variability study of 499 patients with peripheral rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 8:302-35, 1965.

RAVID, M.; ROBSON, M.; KEDAR, I. - Prolonged colchicine treatment in four patients with amyloidosis. *Ann. Intern. Med.*, 87:568-70, 1977.

RAVID, M.; SHAPIRA, J.; LANG, R.; KEDAR, I. - Prolonged dimethylsulphoxide treatment in 13 patients with systemic amyloidosis. *Ann. Rheum. Dis.*, 41:587-92, 1982.

REILLY, P.A.; COSH, J.A.; MADDISON, P.J.; RASKER, J.J.; SILMAN, A.J.

- Mortality and survival in rheumatoid arthritis: a 25 year prospective study of 100 patients. *Ann. Rheum. Dis.*, **49**:363-9, 1990.

RITH-NAJARIAN, S.J.; VALWAY, S.E.; GOHDES, D.M. - Diabetes in a

Northern Minnesota Chippewa tribe: prevalence and incidence of diabetes and incidence of major complications, 1986-1988. *Diabetes Care*, **16** (suppl.1): 266-70, 1993.

RODNAN, G.P.; LIPINSKI, E.; LUKSICK, J. - Skin thickness and collagen

content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma. *Arthritis Rheum.*, **22**:130-40, 1979.

ROJAS, E.; BALOGH, V.T.; BROWN, A. - Síndrome nefrótico secundario a

amiloidosis en un niño de 11 años. *Arch. Venez. Pueric. Pediatr.*, **48**:126-30, 1985.

ROOK, G.A.W. - Is reumatoid arthritis caused by an infection? *Rev.*

*Bras. Reumatol.*, **33**:211-4, 1993.

ROSTROPOWICZ-DENISIEWICZ, K.; ROMICKA, A.M.; BERKAN, E.; LUFT, S. -

The course of amyloidosis in juvenile chronic arthritis with immunoglobulin deficiency. *Scand. J. Rheumatol.*, (suppl.67): 27-9, 1988.

- RUBENS-DUVAL, A. & VILLIAUMEY, J. - Polyarthrite chronique evolutive et amylose. *Rev. Rhum. Mal. Osteartic.*, 26:599-608, 1959.
- RUBINOW, A. & COHEN, A. - HLA antigens in amyloidosis associated with plasma cell dyscrasias (amyloid AL). *J. Rheumatol.*, 9:942-3, 1982.
- SAHARA, A.M. & COSTALLAT, L.T.L. - Laboratório em doenças reumáticas. In: SAHARA, A.M. - *Reumatologia*. São Paulo, Savier, 1985. p.28-52.
- SAHARA, A.M. & MARQUES NETO, J.F. - Artrite reumatóide. In: SAHARA, A.M. - *Reumatologia*. São Paulo, Savier, 1985. p.155-83.
- SAMPAIO-BARRROS, P.D. - *Reavaliação da abordagem clínica e laboratorial da esclerose sistêmica: análise prospectiva de 56 pacientes*. Campinas, 1993. [Tese - Doutorado - Universidade Estadual de Campinas]
- SCHEINBERG, M.A. - Immunology of amyloid disease: a review. *Semin. Arthritis Rheum.*, 7:133-40, 1977.
- SCHEINBERG, M.A. - Aspectos atuais na etiopatogenia e terapêutica da doença amiloide: perspectivas futuras. *Rev. Paul. Med.*, 96:108-11, 1980.
- SCHEINBERG, M.A. & BENSON, H.D. - SAA amyloid protein levels in amyloid-prone chronic inflammatory disorders. Lack of association with amyloid disease. *J. Rheumatol.*, 7:724-6, 1980.

- SCHEINBERG, M.A.; HUBSCHER, D.; GARCIA MORTEO, O.; BENSON, M.D. - Serum amyloid protein levels in south american children with rheumatoid arthritis: a co-operative study. **Ann. Rheum. Dis.**, **39**:228-30, 1980.
- SCHEINBERG, M.A.; MASUDA, A.; BENSON, M.A.; MENDES, N.F. - Serum amyloid protein SAA, C-reactive protein and lysozyme in leprosy. **Int. J. Lepr.**, **47**:133-7, 1979.
- SCHEINBERG, M.A. & FERNAMBUCO, J.C. - O tratamento de amiloidose humana. Efeito do DMSO e da colchicina. **J. Bras. Nefrol.**, **4**:93-4, 1982.
- SCHEINBERG, M.A.; FERNAMBUCO, J.C.; BENSON, M.D. - DMSO and colchicine therapy in amyloid disease. **Ann. Rheum. Dis.**, **43**:421-3, 1984.
- SCHULTZ, D.R. & ARNOLD, P.I. - Properties of four acute phase proteins: C-reactive, serum amyloid A protein,  $\alpha_1$ -acid glycoprotein, and fibrinogen. **Semin. Arthritis Rheum.**, **20**:129-47, 1990.
- SCHUMACHER Jr, H.R.; REGINATO, A.J.; FULLMAN, S. - Synovial fluid oxalate deposition complicating rheumatoid arthritis with amyloidosis and renal failure. Demonstration of intracellular oxalate crystals. **J. Rheumatol.**, **14**:361-6, 1987.



- SCHWARTZ, R.E.; DRALLE, H.; LINKE, R.P.; NATHRATH, W.B.J.; NEUMANN, K.H. - Amyloid goiter and arthritides after kidney transplantation in a patient with systemic amyloidosis and Huckle-Wells syndrome. **Am. J. Clin. Pathol.**, **92**:821-5, 1989.
- SCOTT, D.L.; COULTON, B.L.; SYMONS, D.P.H.; POPERT, A.J. - Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years. **Lancet** **1**:1108-11, 1987.
- SERBAN, D.; RORDORF-ADAM, C. - Quantitation of serum amyloid P component by an enzyme-linked immunoassay. **J. Immunol. Methods**, **90**:159-64, 1986.
- SHIRAHAMA, T. & COHEN, A.S. - Intralysosomal formation of amyloid fibrils. **Am. J. Pathol.**, **81**:101-16, 1975.
- SHIRAHAMA, T. & COHEN, A.S. - Immunocytochemical study of hepatocyte synthesis of amyloid AA. **Am. J. Pathol.**, **118**:108-15, 1985.
- SHIRAHAMA, T.; MIURA, K.; JU, S.T.; KISILEVSKY, R.; GRUYS, E.; COHEN, A.S. - Amyloid enhancing factor-loaded macrophages in amyloid fibril formation. **Lab. Invest.**, **62**:61-8, 1990.
- SIFE, J.D.; GONNERMAN, W.A.; LOOSE, L.D.; KNAPSCHAEFER, G.; XIE, W-J.; FRANZBLAU, C. - Direct binding enzyme-linked immunosorbent assay for serum amyloid A. **J. Immunol. Methods**, **125**:125-35, 1989.
- SKINNER, M. - Protein AA/SAA. **J. Intern. Med.** **232**:513-4, 1992.

SKINNER, M.; COHEN, A.S.; SHIRAHAMA, T.; CATHCART, E.S. - P-component (pentagonal unit) of amyloid: isolation, characterization and sequence analysis. *J. Lab. Clin. Med.*, **84**:604-14, 1974.

SKINNER, M.; VAITUKAITIS, J.L.; COHEN, A.S.; BENSON, M.D. - Serum amyloid P-component levels in amyloidosis, connective tissue diseases, infection, and malignancy as compared to normal serum. *J. Lab. Clin. Med.*, **97**:633-8, 1979.

SKOGEN, B.; THORSTEINSSON, L.; NATVIG, J.B. - Degradation of protein SAA to an AA - like fragment by enzymes of monocytic origin. *Scand. J. Immunol.*, **11**:333-40, 1980.

SNOW, A.D.; WILLMER, J.; KISILEVSKY, R. - Sulfated glycosaminoglycans: a common constituent of all amyloids? *Lab. Invest.*, **56**:120-3, 1987a.

SNOW, A.D.; WILLMER, J.; KISILEVSKY, R. - A close ultrastructural relationship between sulfated proteoglycans and AA amyloid fibrils. *Lab. Invest.*, **57**:687-98, 1987b.

SORSA, S.; HAPPONEN, R.P.; KEHI, P. - Oral biopsy and fine needle aspiration biopsy from subcutaneous fat in diagnosis of secondary amyloidosis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, **17**:14-6, 1988.

SPECTOR, D. - Rheumatoid arthritis. *Rheum. Dis. Clin. N. Am.*, **16**:513-29, 1990.

- STAHN, R.M.; GOHDES, D.; VALWAY, S.E. - Diabetes and its complications among selected tribes in North Dakota, South Dakota, and Nebraska. **Diabetes Care**, 16(suppl.1): 244-7, 1993.
- STEEN, V.D. - Systemic sclerosis. **Rheum. Dis. Clin. N. Am.**, 16:641-53, 1990.
- STEEN, V.D. & MEDSGER Jr, T.A. - Epidemiology and natural history of systemic sclerosis. **Rheum. Dis. Clin. N. Am.**, 16:1-10, 1990.
- STEEN, V.D.; MEDSGER Jr, T.A.; RODMAN, G.P. - D-penicillamine therapy in progressive systemic sclerosis (scleroderma). **Ann. Intern. Med.**, 97:652-9, 1982.
- STEEN, V.D.; POWELL, D.L.; MEDSGER Jr., T.A. - Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. **Arthritis Rheum.**, 31:196-203, 1988.
- STEIN, M.B.; VOGEL, S.N.; SIPE, J.D.; MURPHY, P.A.; HIZEL, S.B.; OFFENHEIM, J.J.; ROSENSTREICH, D.L. - The role of macrophages in the acute-phase response: SAA inducer is closely related to lymphocyte activating factor and endogenous pyrogen. **Cell. Immunol.**, 63:164-76, 1981.
- STEINBROCKER, O.; TRAEGER, C.H.; BATTERMAN, R.C. - Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. **J.A.M.A.(Chicago)**, 140:659-62, 1949.

- SUKENIK, S.; HENKIN, J.; ZIMLICHMAN, S.; SKIBIN, A.; NEUMAN, L.; PRAS, M.; HOROWITZ, J.; SHAIKIN-KESTENBAUM, R. - Serum and synovial fluid levels of serum amyloid A protein and C-reactive protein in inflammatory and noninflammatory arthritis. *J. Rheumatol.*, **15**: 942-55, 1988.
- SYVERSEN, P.V.; JUUL, J.; RYGG, M.; SLETTEN, K.; HUSBY, G.; HARHAUG, G. - The primary structure of rabbit serum amyloid A protein isolated from acute phase serum. *Scand. J. Immunol.*, **37**:447-51, 1993.
- TAKAHASHI, M.; YOKOTA, T.; KAWANO, H.; GONDO, T.; ISHIHARA, T.; UCHINO, F. - Ultrastructural evidence for intracellular formation of amyloid fibrils in macrophages. *Virchows Archiv. A.*, **415**:411-9, 1989.
- TIITINEN, S. & KAARELA, K. - Treatment of amyloidosis with azathioprine or methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.*, (suppl.85):40, 1978.
- TIITINEN, S.; MYLLYKANGAS, R.; HELIN, H.; KAARELA, K. - Modern trends in the diagnosis of secondary amyloidosis. *Scand. J. Rheumatol.*, (suppl.67):30-1, 1988.
- UNZER, M.H.T. - *Avaliação funcional e histoimunopatológica do rim na artrite reumatóide*. São Paulo, 1979. [Tese-Doutorado - Escola Paulista de Medicina].

- VANDENBROUCKE, J.P.; HAZEYDET, H.H.; CATS, A. - Survival and cause of death in rheumatoid arthritis: a 25-year prospective followup. *J. Rheumatol.*, 11:158-61, 1984.
- VARGA, J.; FLINN, M.S.M.; SHIRAHAMA, T.; RODGERS, D.G.; COHEN, A.S. - The induction of accelerated murine amyloid with human splenic extract. *Virchows Arch. B. Cell. Pathol.*, 51:177-85, 1986.
- VIDAL, B.C. - Métodos em biologia celular. In: VIDAL, B.C. & MELLO, M.L.S. - *Biologia molecular*. Rio de Janeiro, Livraria Atheneu, 1987. p.5-39.
- VILLIERS, W.J.; LOUW, J.P.; STRACHAN, A.F.; EISEBEIH, S.M.; SHEPARD, E.G.; De BEER, F.C. - C-reactive protein and serum amyloid A protein in pregnancy and labour. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 97:725-30, 1990.
- VISINONI, R.A.; NATOUR, J.; GOLDFLUS, S.; HEYMAN, R.; MDURA, L.A.; ATRA, E. - Amiloidose renal na pelvispondilite anquilosante. *Rev. Bras. Reumatol.*, 31:144-6, 1991.
- WATSON, G.; COADE, S.; WOOD, P. - Analysis of the genomic and derived protein structure of a novel human serum amyloid A gene, SAA4. *Scand. J. Immunol.*, 36:703-12, 1992.
- WEGELIUS, G.; TEPPU, A.M.; MAURY, C.P.J. - Reduced amyloid A-degrading activity in serum in amyloidosis associated with rheumatoid arthritis. *Br. Med. J.*, 284:617-9, 1982.

- WEINER, E.S.; EARNSHAW, W.C.; SENEAL, J.L.; BORDWELL, B.; JOHNSON, P.; ROTHFIELD, N.F. - Clinical associations of anticentromere antibodies and antibodies to topoisomerase I. *Arthritis Rheum.*, **31**:376-85, 1988.
- WESTERMARK, G.T.; SLETTEN, K.; GRUBB, A.; WESTERMARK, P. - AA-amyloidosis component-specific association of various protein AA subspecies and evidence of a fourth SAA gene product. *Am. J. Pathol.*, **137**:377-83, 1990.
- WESTERMARK, G.T.; WESTERMARK, P.; SLETTEN, K. - Amyloid fibril protein AA. Characterization of uncommon subspecies from a patient with rheumatoid arthritis. *Lab. Invest.*, **57**:57-64, 1987.
- WESTERMARK, P. - Skin involvement in secondary amyloidosis. *Acta Path. Microbiol. Scand. Section A.*, **79**:79-80, 1971.
- WESTERMARK, P. - Occurrence of amyloid deposits in the skin in secondary systemic amyloidosis. *Acta Path. Microbiol. Scand. Section A.*, **80**:718-20, 1972.
- WESTERMARK, P. - Polypeptide hormones and amyloid. *J. Intern. Med.*, **232**:529-30, 1992.

- WESTERMARK, P.; BENSON, L.; JUUL, J.; SLETTEN, K. - Use of subcutaneous abdominal fat biopsy specimen for detailed typing of amyloid fibril protein-AL by amino acid sequence analysis. *J. Clin. Pathol.*, **42**:817-9, 1989.
- WESTERMARK, P.; GRIMELIUS, L.; POLAK, J.M.; LARSSON, L.-I.; NOORDEN, S.V.; WILANDER, E.; PEARSE, A.G.E. - Amyloid in polypeptide hormone-producing tumors. *Lab. Invest.*, **37**:212-5, 1977.
- WESTERMARK, P. & STENKVIST, B. - A new method for the diagnosis of systemic amyloidosis. *Arch. Intern. Med.*, **132**:822-3, 1973.
- WESTERMARK, P.; STENKVIST, B.; NATVIG, J.; SIENKVIST, E.O. - Demonstration of protein AA in subcutaneous fat tissue obtained by fine needle biopsy. *Ann. Rheum. Dis.*, **38**:68-71, 1979.
- WIERNIK, P.H. - Amyloid joint disease. *Medicine (Baltimore)*, **51**:465-79, 1972.
- WILLIAMS, R.C. & McCARTY, D.J. - Clinical picture of rheumatoid arthritis. In: McCARTY, D.J. - *Arthritis and allied conditions. A textbook of Rheumatology*. 10. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1985. p.605-19.
- WOO, P. - Amyloidosis in pediatric rheumatic diseases. *J. Rheumatol.*, **19** (suppl.35): 10-6, 1992.

- WOO, P.; ROBSON, M.; O'BRIEN, J.; ANSELL, B.M. - A genetic marker for systemic amyloidosis in juvenile arthritis. *Lancet*, 2: 767-9, 1987.
- WORTHANN, R.L. - Pathogenesis of rheumatoid arthritis: basis for future therapies. *Sem. Arthritis Rheum.*, 21 (suppl.1): 35-9, 1991.
- YAMADA, T. - Quantitative analysis of serum amyloid A protein isotypes. *Jpn. J. Clin. Pathol.*, 38:183-7, 1990.
- YAMADA, T.; UCHIYAMA, K.; YAKATA, M.; GEJYO, F. - Sandwich enzyme immunoassay for serum amyloid A protein (SAA). *Clin. Chim. Acta*, 179:169-76, 1989.
- YONEDA, K.; WATANABE, H.; YANAGIHARA, M.; MORI, S. - Immunohistochemical staining properties of amyloids with anti-keratin antibodies using formalin-fixed, paraffin-embedded sections. *J. Cutan. Pathol.*, 16:133-6, 1989.
- ZEMER, D.; LIVNEH, A.; LANGEVITZ, P. - Reversal of the nephrotic syndrome by colchicine in amyloidosis of familial Mediterranean fever. *Ann. Intern. Med.*, 116:426, 1992. [Letter]
- ZIMLICHMAN, S.; DANON, A.; NATHAN, I.; MOZES, G.; SHAIKIN-KESTENBAUM, R. - Serum amyloid A, an acute phase protein, inhibits platelet activation. *J. Lab. Clin. Med.*, 116:180-6, 1990.