

C. Modesto Caballero

An Esp Pediatr 1996;44:305-309.

La artritis reumatoide juvenil (ARJ) es la forma de artritis crónica más frecuente en la infancia. Descrita en 1894 por Still, comprende tres formas clínicas, y probablemente fisiopatológicamente diferentes: la forma oligo o pauciarticular que afecta a menos de cinco articulaciones; forma poliarticular con 5 o más articulaciones afectas y la forma sistémica caracterizada por la presencia de fiebre en picos y, en el 90% de los casos de exantema, síntomas que acompañan a los síntomas articulares.

Las primeras descripciones de la asociación de esta entidad con la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) se remontan a los años 60⁽¹⁻³⁾. Sin embargo, fueron las publicaciones de Petty⁽⁴⁾ y Schaller⁽⁵⁾ años más tarde las que comenzaron a establecer la asociación entre la presencia de los ANA con determinadas características clínicas.

Petty y Cassidy (1973), utilizando una técnica de inmunofluorescencia indirecta sobre células de hígado de ratón (ver más abajo) en una población de 200 niños con ARJ, encontraron que el 38,5% de ellos eran positivos para ANA. Entre los pacientes ANA positivos, había más formas poliarticulares que sistémicas, más niños que padecían iridociclitis, niños más pequeños en los que la enfermedad había debutado antes de los cuatro años y en los que prácticamente nunca había erosiones articulares. Schaller (1974), determinando ANA por inmunofluorescencia (IMF) indirecta sobre hígado de rata en 58 niños con ARJ e iridociclitis, encontró que el 88% eran positivos para la presencia de los auto-anticuerpos; sus resultados le llevaron a concluir que la presencia de ANA debe ser considerada como un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones oculares.

Los ANA no están presentes en la misma proporción en las tres formas clínicas de ARJ. Si bien en la forma oligoarticular del 75 al 85% de los pacientes son ANA positivos, sólo el 50% de las formas poliarticulares lo son, y tan sólo el 10% de las sistémicas. Es decir, lo habitual en una forma sistémica (en contraposición de lo que a veces se piensa) es que el paciente sea ANA negativo⁽⁶⁾. Por otra parte, los ANA son positivos en otras enfermedades inflamatorias que pueden iniciarse con la aparición de artritis: lupus eritematoso sistémi-

Anticuerpos antinucleares y artritis reumatoide crónica juvenil

co, artritis psoriásica. Es decir, los ANA son un marcador útil siempre y cuando no basemos el diagnóstico en su presencia o ausencia, sino que utilicemos ese dato dentro del contexto clínico. El estudio de Cabral y col.⁽⁷⁾ resalta este hecho. De 108 niños ANA positivos con molestias músculo-esqueléticas no encuadrables en una enfermedad inflamatoria o autoinmune que fueron seguidos durante un tiempo medio de 61 meses (13 a 138 meses), ninguno desarrolló una enfermedad reumatológica. Debemos utilizar los ANA, por tanto, como una ayuda al diagnóstico, pero nunca diagnosticar sólo en base a su positividad.

Desde las descripciones de Petty y Schaller hasta hoy se ha avanzado en el conocimiento de los antígenos específicos que causan la positividad de los ANA en la ARJ, aunque queda todavía mucho por hacer. Podemos encontrar buenas revisiones del tema en la literatura inglesa^(8,9,10), pero nos pareció que sería útil para el pediatra una puesta al día en este tema, acercándolo así no sólo a los aspectos clínicos de la ARJ, sino también a puntos esenciales de su fisiopatología.

ANA. Aspectos básicos

Los métodos de detección de los ANA se resumen en la **tabla I**, y los sustratos celulares utilizados en la **tabla II**. La mayor parte de los laboratorios basan hoy su método de screening en la realización de inmunofluorescencia indirecta, utilizando como sustrato líneas celulares humanas (habitualmente Hep-2). Estas células tienen la particularidad de crecer y dividirse rápidamente y de poseer una alta concentración y un amplio espectro de antígenos nucleares. De esta forma, el test gana en sensibilidad con respecto a otros sustratos.

Hasta un 5% de sueros provenientes de sujetos normales pueden ser positivos a diluciones del suero de 1/10 a 1/40 utilizando esta técnica. De ahí que, con fines diagnósticos, consideremos positivos sólo los pacientes que continúan siéndolo a diluciones iguales o superiores a 1/80⁽¹¹⁾.

Las células recubiertas de auto-anticuerpos dan lugar a diferentes imágenes o patrones al microscopio de inmunofluorescencia, dependiendo, teóricamente, de la especificidad del autoanticuerpo (**Tabla III**). Los patrones habitualmente encontrados en la ARJ son el homogéneo⁽²⁾ y menos frecuentemente el moteado fino; de ahí que se pensara que los anticuerpos dirigidos frente a histonas deberían constituir una parte importante de los ANA en esta enfermedad. Como veremos

Departamento de Pediatría. Unidad de Reumatología Infantil. Clínica Universitaria de Navarra.

Correspondencia: Dra. C. Modesto Caballero.

Departamento de Pediatría. Unidad de Reumatología Infantil. Clínica Universitaria de Navarra. Aptdo. 4209. Pamplona. Navarra.

Tabla I Métodos de detección de ANA

Inmunofluorescencia indirecta Método inmunoenzimático Doble difusión de Ouchterlony Contraelectroforesis Inmunoblotting ELISA
--

Tabla III Patrones de ANA y autoanticuerpos específicos

Patrones	Autoanticuerpos
Homogéneo	Anti-histona
Circular	Anti-DNA
Moteado fino	Anti-U ₁ RNP, anti-Sm Anti-Ro, anti-La Anti-ku, antitopoisomerasa 1
Moteado grueso	Anti-centrómero
Nucleolar	Anti-U ₃ RNP Anti-PM1, anti-Scl70

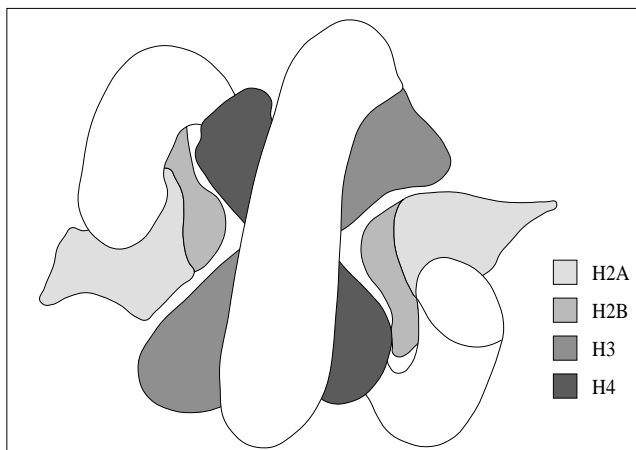


Figura 1. Estructura del nucleosoma: la doble hélice de DNA envuelve al núcleo central formado por histonas (modificado de ref. 10).

existen varios estudios que tratan de confirmar esta hipótesis. En busca del antígeno específico

Tras la descripción de la asociación ANA-ARJ, los esfuerzos de los investigadores han ido dirigidos a conocer cuál es el antígeno que da lugar a la producción de autoanticuerpos en la ARJ. Si bien existen más de treinta moléculas diferentes que pueden dar lugar a la positividad de los ANA, no todas han sido estudiadas como posible fuente de antígenos en la ARJ (Tabla IV).

El componente principal del núcleo tanto en las células procarionotas como eucariotas es la doble hélice de DNA. El DNA contenido en una célula humana está constituido aproximada-

Tabla II Sustratos celulares

1. Riñón/ hígado de ratón 2. Riñón/ hígado/ estómago de rata 3. Timo de conejo 4. Timo de cabra 5. Bazo de buey 6. Eritrocitos de pollo (nucleados) 7. Líneas celulares humanas: Hep-2, HeLa, KB 8. Líneas linfocíticas: K562, WIL2 9. Leucocitos

Tabla IV Antígenos específicos estudiados en la ARJ

<i>dS-DNA</i> (DNA nativo)	
<i>ENAs</i> (extractable nuclear antigens)	Sm, RNP U ₁ SS-A (Ro), SS-B (La) PM-1, Scl-70
<i>Histonas</i>	H1, dímero H2A-H2B tetrámero (H3-H4) ₂
<i>No Histonas</i> (HMG = high motility group)	HMG-1, HMG-2 HMG-14, HMG 17
<i>RA-33</i>	
<i>NOR-90</i>	

mente por 3×10^9 pares de bases; si pudiéramos en fila esos millones de pares de bases la longitud final del DNA sería de casi un metro. Las proteínas existentes en el núcleo asociadas al DNA, establecen un empaquetamiento del mismo, de manera que pueda ser contenido en el pequeño volumen nuclear.

El primer paso de dicho empaquetamiento lo realizan las histonas: aproximadamente 140 pares de bases de DNA se enrollan en torno a un complejo central formado por ocho moléculas de histonas (dos moléculas del dímero H2A-H2B y el tetrámero (H3-H4)₂). Esta asociación de histona+DNA se denomina nucleosoma. La histona H1 sirve de nexo de unión entre los distintos nucleosomas. El segundo paso del empaquetamiento, por el cual el DNA (nucleosomas) se enrolla en espiral, se mantiene gracias a las proteínas no-histonas (HMG)^(12,13) (Fig 1).

En los siguientes apartados resumimos la información disponible sobre la presencia en pacientes con ARJ de autoanticuerpos dirigidos frente a: DNA nativo, ENAs (extractable nuclear antigens), histonas, proteínas no-histonas y antígenos recientemente descritos como las proteínas RA-33 y NOR-90.

DNA nativo

Los estudios más recientes⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ corroboran los hallazgos de los trabajos iniciales⁽¹⁷⁻¹⁹⁾: sólo excepcionalmente anticuerpos anti-DNA están presentes en pacientes con ARJ.

Malleson y col.⁽¹⁴⁾ estudiaron 48 niños con ARJ, mediante

Tabla V Anticuerpos anti-histona en la ARJ

Autor	Técnica utilizada	% positividad anticuerpos anti-histona	Comentario
1. Østensen y cols. ⁽¹⁵⁾ 1989	ELISA	48%	98% de los pacientes con uveítis presentaron AHA, 93% frente a H3.
2. Malleson y cols. ⁽¹⁴⁾ 1989	Inmunoblotting	42%	Más frecuente anti-H1. Anti- H3 sólo en el 17%, no asociado a uveítis.
3. Pauls y cols. ⁽²²⁾ 1989	Inmunoblotting	50%	Predominan los anticuerpos frente a H1-H5. Ninguno de los pacientes presentó reactividad frente a H3.
4. Monestier y cols. ⁽²³⁾ 1990	ELISA	75%	Preferentemente del tipo IgM. En los pacientes con uveítis son más frecuentes todos los anticuerpos IgM anti-histona, pero no específicamente anti-H3.
5. Wittemann y cols. ⁽²⁴⁾ 1990	Inmunoblotting	67%	Más frecuente en la forma pauciarticular: 71% vs 47%.
6. Leak y cols. ⁽¹⁰⁾ 1991	ELISA	75%	Todos los pacientes pertenecían a la forma pauciarticular. Anti-H3 se asoció a la presencia de uveítis.
7. Wouters y cols. ⁽²⁵⁾ 1993	ELISA	?	Anticuerpos frente a las secuencias H2B 90-125; H2A 90-129 y H3 53-130 se asociaron a la forma oligoarticular.
8. Burlingame y cols. ⁽¹⁶⁾ 1993	ELISA	14-44%	Más frecuentemente en la forma oligoarticular y poliarticular FR (+). Mayor reactividad de estos grupos con H4 y (H3-H4) ₂ . No diferencias en los pacientes con uveítis.

inmunofluorescencia sobre *Crithidia Luciliae*: sólo uno mostró positividad para este anticuerpo. De forma semejante, de los 121 pacientes estudiados por Østensen⁽¹⁵⁾ todos fueron negativos para anti-DNA, y sólo dos de los 50 pacientes del grupo de Burlingame⁽¹⁶⁾ mostraron positividad para este auto-anticuerpo.

Este hecho marca una clara diferencia entre los pacientes con ARJ y los pacientes pediátricos con lupus eritematoso sistémico, de los que el 80% poseen anticuerpos anti-DNA⁽²⁰⁾.

ENAs (extractable nuclear antigens)

Este grupo de antígenos está constituido por proteínas asociadas al DNA, que pueden ser separadas de éste cuando se incuba el núcleo en un buffer salino. Tras la ruptura nuclear por sonido, la fase soluble posee numerosas proteínas conocidas como ENAs (antígenos nucleares extraíbles). Entre ellos se encuentran las ribonucleoproteínas (RNP), proteína Sm (Smith), SS-A (Ro), SS-B (La), Scl-70 y PM-1.

Anticuerpos frente a estos antígenos tampoco están presentes en la ARJ. Osborn y col⁽²¹⁾ estudiaron específicamente estos anticuerpos en 20 pacientes con ARJ ANA positivos, con patrón moteado. La técnica utilizada fue inmunodifusión. Ninguno de ellos mostró positividad para RNP, Sm, Scl-70, SS-A, SS-B o PM-1. La búsqueda se abandonó para otros antígenos menos frecuentemente encontrados en el grupo ENA.

Aunque los trabajos de Malleson y cols.⁽¹⁴⁾ y Burlingame y cols.⁽¹⁶⁾, no iban dirigidos especialmente a la determinación de anticuerpos anti-ENA, ambos grupos buscaron anticuerpos frente a las principales proteínas antigénicas de este grupo. Malleson⁽¹⁴⁾ determinó mediante contrainmunolectroforesis la presencia de anticuerpos anti-Sm, anti-RNP y anti-La en 50 sueros procedentes de pacientes con ARJ: ninguno de ellos mos-

tró ser positivo para ningún anticuerpo. Burlingame⁽¹⁶⁾ estudió 50 pacientes de los cuales todos fueron negativos para Sm, Ro y La, y tan sólo uno fue positivo para RNP.

Es decir, los pacientes con ARJ no presentan anticuerpos frente al grupo ENA. Por tanto, ni los anticuerpos anti-DNA ni los anti-ENA son los responsables de la positividad de los ANA en la ARJ.

Histonas

Como anteriormente se dijo, las histonas son proteínas con carga negativa que ayudan a mantener el empaquetamiento del DNA. Existen cinco moléculas diferentes: H1, H2A, H2B (dímero H2A-H2B), H3 y H4 (tetrámero (H3-H4)₂).

Las investigaciones más recientes sobre la presencia de anticuerpos anti-histona en la ARJ se resumen en la **tabla V**. El tanto por ciento de pacientes que se muestran positivos para los AHA (anticuerpos anti-histona) varía según los estudios de un 14% a un 75%. Además, los datos para histonas específicas (por ejemplo H3) difieren de unos trabajos a otros. Las razones para estas divergencias, según Burlingame⁽¹⁶⁾, serían: 1) las bajas concentraciones de anticuerpos anti-histona en pacientes con ARJ, lo cual hace difícil su detección y 2) la no estandarización de la técnica utilizada (inmunoblotting vs ELISA).

De los estudios resumidos en la tabla V, merece la pena comentar dos de ellos: la publicación de Østensen en 1989, y el trabajo de Burlingame en 1993. Østensen⁽¹⁵⁾ estudió 121 pacientes consecutivos con diagnóstico de ARJ según los criterios de la ARA (American Rheumatism Association). De ellos, el 48% poseían anticuerpos anti-histona, siendo el más frecuente el anticuerpo anti-H3 presente en el 33% de los pacientes. Dividiendo el total de pacientes en dos grupos: a) con uveítis y b) sin uveí-

tis, el 98% de los pacientes con uveítis poseían anticuerpos anti-histona frente a un 33% en el grupo sin uveítis. Además, los anticuerpos fueron anti-H3 en el 93% de los pacientes con uveítis. Esta asociación de anticuerpos anti-H3 con la presencia de afectación ocular ha sido corroborada solamente por otro estudio⁽¹⁰⁾ que utilizó también la técnica de ELISA. Es interesante resaltar cómo los trabajos con inmunoblotting no han podido encontrar anticuerpos específicos anti-H3 en la ARJ^(22,24). La cuestión de si anti-H3 es sólo un marcador serológico de la presencia de uveítis o si bien juega un papel importante en la etiología de la enfermedad no ha sido todavía resuelta.

El estudio de Burlingame⁽¹⁶⁾ es especialmente atractivo porque da un paso más en la investigación de los anticuerpos anti-histona. Utilizando ELISA, los autores determinaron la reactividad del suero de 50 pacientes con ARJ, no sólo frente a las moléculas de histonas aisladas, sino también frente al complejo histona-DNA. Mientras el tanto por ciento de sueros positivos ante histonas individuales es comparable a lo encontrado por otros autores, cuando la histona va unida al DNA el % de sueros positivos es mucho menor (por ej: 26% anti-H1 (+) frente a 8% anti-H1-DNA; 44% anti-H4 (+) frente a 4% anti-H4-DNA). Es decir, la mayor parte de los anticuerpos anti-histona reaccionan con regiones de la molécula que están ocultas cuando la histona se une al DNA, y por tanto los anticuerpos no tendrían capacidad para reaccionar con las histonas en el núcleo íntegro. Por tanto, según estos autores, la actividad ANA en la mayor parte de los pacientes con ARJ no puede explicarse por la presencia de anticuerpos anti-histona.

Proteínas no-histonas

Las primeras publicaciones sobre la presencia de auto-anticuerpos frente a proteínas nucleares diferentes a las histonas, se dieron al final de los 80^(26,14). Malleon⁽¹⁴⁾, describió la presencia de anticuerpos frente a una proteína de 45 kDa (no-La) en 10 pacientes afectados de ARJ sin uveítis. En 6 de ellos, esta era la única proteína reconocida por el suero utilizando inmunoblotting.

Posteriormente Wittemann⁽²⁴⁾, estudió la presencia de anticuerpos frente a dos proteínas no-histonas específicas: HMG-1 y HMG-2. HMG-1 y HMG-2 fueron reconocidas por un número similar de pacientes con la forma pauciarticular y poliarticular; sin embargo, de nuevo, el porcentaje de pacientes sin uveítis que mostraron positividad (47%) fue mayor que entre los que tenían afectación ocular (25%).

Otra proteína, la HMG-17, ha sido también estudiada en los pacientes con ARJ⁽²⁷⁾. Anticuerpos frente a HMG-17 están especialmente presentes en los pacientes con la forma pauciarticular (47%), sin que haya diferencias entre los que padecen o no uveítis. El 26% de los pacientes de Burlingame⁽¹⁶⁾ poseían anticuerpos frente al grupo de proteínas HMG.

Debido a que nuestro conocimiento sobre la función de estas proteínas es todavía muy limitado, la exacta significación de la presencia de anticuerpos anti-HMG en los pacientes con ARJ nos es, hoy por hoy, desconocida.

RA-33

RA-33 es una proteína cuyo peso molecular es de 33 kDa, que parece idéntica a la proteína A2 de la ribonucleoproteína nuclear heterogénea (hn RNP), frente a la cual existen anticuerpos en aproximadamente la tercera parte de los pacientes con artritis reumatoide del adulto⁽²⁸⁾. Anti-RA33 parece ser altamente específico ya que sólo se encontró en uno de los 170 sujetos utilizados como grupo control.

Los resultados se muestran divergentes en la ARJ. Wilson y cols.^(29,30) encontraron anticuerpos anti-RA33 en aproximadamente el 10% de las formas poliarticulares, pero en el 67% de las oligoarticulares. Sin embargo, Gabay y cols.⁽³¹⁾, encontraron sólo un 2% de pacientes con forma oligoarticular positivos para anti-RA33. Su proporción de pacientes poliarticulares positivos para este anticuerpo fue similar al estudio de Wilson. Como los mismos autores intentan explicar⁽³⁰⁾, tales diferencias pueden ser debidas a la distinta sensibilidad de los ensayos, diferencias en la población y, sobre todo, diferencias en los criterios diagnósticos (escuela americana vs escuela europea).

Aunque anti-RA33 se mostró altamente específico, no apareciendo en ninguno de los 21 pacientes utilizados como grupo control⁽³¹⁾, parece que es posible encontrarlo en otras enfermedades reumatológicas, como el LES o la enfermedad mixta del tejido conectivo.

NOR-90

Anticuerpos frente a una proteína con peso molecular 90 kDa, identificada en el nucléolo y en los cromosomas en metafase, fueron descritos por primera vez en 1987⁽³²⁾. Dicha proteína se une al gen promotor del RNA ribosomal y aumenta la actividad transcripcional de la RNA-polimerasa I. Los anticuerpos anti-NOR90 se encontraron en 6 pacientes, de los cuáles 4 habían sido diagnosticados de escleroderma.

Recientemente⁽³³⁾, se ha llevado a cabo la determinación de anti-NOR90 en el suero procedente de 238 pacientes pediátricos, de los cuales 67 sufrían una ARJ. Sólo 2 de los 238 fueron positivos para anti-NOR90; los dos padecían fenómeno de Raynaud y tenían diagnósticos distintos a la ARJ. Por tanto, anti-NOR90 es poco común en las enfermedades reumatológicas de la infancia, y no se ha encontrado en ningún paciente con ARJ.

ANA y ARJ

El conocimiento de los posibles antígenos que dan lugar a los ANA, ha llevado al establecimiento de algunas hipótesis patogénicas. Por ejemplo, parte de la secuencia de la histona H3 del moho del pan tiene una gran similitud con el antígeno S de la retina frente al cual existen anticuerpos en la uveítis autoinmune experimental. La existencia de esta similitud, y la presencia de anticuerpos anti-H3 en los pacientes con la forma oligoarticular y uveítis ha llevado a establecer la hipótesis de que las histonas procedentes del moho del pan puedan servir como posibles iniciadoras de la respuesta autoinmune inflamatoria⁽¹⁰⁾.

Sin embargo, otros autores miran con escepticismo los hallazgos de la investigación en ANA. Burlingame⁽¹⁶⁾ concluye que

los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que, ni los anticuerpos anti-histona, ni probablemente los anticuerpos anti-HMG explican la positividad de los ANA, y que debe existir otro auto-anticuerpo cuya especificidad se desconoce, que sea realmente el responsable de la mayor parte de la actividad ANA en los pacientes con ARJ.

Es posible que los ANA no sean más que un epifenómeno irrelevante que pueda darse al azar en el contexto de una respuesta inmune anómala, pero esto parece poco probable. Se están introduciendo nuevas técnicas en la investigación de los ANA, además del inmunoblotting. Se espera que tanto los ensayos funcionales (como la proliferación linfocitaria ante antígeno-específico), como las técnicas de biología molecular lleven a los investigadores a poder definir tanto la estructura del/los antígeno/s específicos como su función. Queda por tanto un largo camino por recorrer.

En la actualidad los tests utilizados en clínica son útiles para perfilar el diagnóstico y seleccionar los pacientes con riesgo de desarrollar una uveítis crónica anterior. Pero los futuros avances permitirán, conociendo el antígeno, entender mejor las bases del proceso inmune y quizá poder prevenirlo mediante inmunización que bloquee la producción de los auto-anticuerpos patogénicos⁽⁹⁾.

Bibliografía

- Miller JJ, Henrich VL, Brandstrup NE: Sex difference in incidence of antinuclear factors in juvenile rheumatoid arthritis. *Pediatrics* 1966;**38**: 916-918.
- Kornreich HK, Drexler E, Hanson V: Antinuclear factors in childhood rheumatic diseases. *J Pediatr* 1966;**69**:1039-1045.
- Bluestone R, Goldberg LS, Katz RM, Marchasano JM, Calabro JJ: Juvenile rheumatoid arthritis: A serologic survey of 200 consecutive patients. *J pediatr* 1970;**77**:98-102.
- Petty RE, Cassidy JT, Sullivan DB: Clinical correlates of antinuclear antibodies in juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr* 1973;**83**:386-389.
- Schaller JG, Johnson GD, Holborow EJ, Ansell BM, Smiley WK: The association of antinuclear antibodies with the chronic iridocyclitis of juvenile rheumatoid arthritis (Still's disease). *Arthritis Rheum* 1974;**17**:409-416.
- Cassidy JT, Petty RE: Textbook of Pediatric Rheumatology, 3th ed. Filadelfia/Londres/Toronto: WB Saunders Co 1995: págs. 133-223.
- Cabral DA, Petty RE, Fung M, Malleson PN: Persistent antinuclear antibodies in children without identifiable inflammatory rheumatic or autoimmune disease. *Pediatrics* 1992;**89**:441-444.
- Lawrence III JM, Moore TL, Osborn TG, Nesher G, Madson KL, Kinsella MB: Autoantibody studies in juvenile rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1993;**22**:265-274.
- Southwood TR, Malleson PN: Antinuclear antibodies and juvenile chronic arthritis (JCA): search for a specific autoantibody associated with JCA. *Ann Rheum Dis* 1991;**50**:595-598.
- Leak AM, Woo P: Juvenile chronic arthritis, chronic iridocyclitis and reactivity to histones. *Ann Rheum Dis* 1991;**50**:653-657.
- Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB: Textbook of Rheumatology, 4th ed. Filadelfia/Londres/Toronto: WB Saunders Co 1993: págs: 164-187.
- Solomon EP, Berg LR, Martin DW, Villee C: Biology, Saunders College Publishing. Fort Worth 1993: págs. 256-275.
- Burlingame RW, Love WE, Wang BC, Hamlin R, Nguyen HX, Moudrianakis EN: Crystallographic structure of the octameric histone cores of the nucleosome at a resolution of 3.3Å. *Science* 1985;**228**:546-553.
- Malleson P, Petty RE, Fung M., Candido EPM: Reactivity of antinuclear antibodies with histones and other antigens in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1989;**32**:919-923.
- Østensen M, Frederiksen K, Kåss E, Reknig O-P: Identification of anti-histone antibodies in subsets of juvenile chronic arthritis. *Ann Rheum Dis* 1989;**48**:114-117.
- Burlingame RW, Rubin RL, Rosenberg AM: Autoantibodies to chromatin components in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;**36**:836-841.
- Alspaugh MA, Miller JJ: A study of specificities of antinuclear antibodies in juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr* 1977;**90**:391-395.
- Cassidy JT, Walker SE, Soderstrom SJ, Petty RE, Sullivan DB: Diagnostic significance of antibody to native DNA in children with juvenile chronic arthritis. *J Pediatr* 1978;**93**:416-420.
- Rosenberg AM, Cordeiro DM, Knause RP: Studies on the specificity of antinuclear antibodies (ANA) in juvenile rheumatoid arthritis (abstract). *Arthritis Rheum* 1983;**26**:S57.
- Cassidy JT, Petty RE: Textbook of Pediatric Rheumatology, 2nd ed. Nueva York/Edimburgo/Londres: Churchill Livingstone 1990:págs. 261-329.
- Osborn TG, Patel NJ, Moore TL, Zuckner J: Use of the Hep-2 cell substrate in the detection of antinuclear antibodies in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1984;**27**:1286-1289.
- Pauls JD, Silverman ED, Laxer RM, Fritzler MJ: Antibodies to histones H1 and H5 in sera of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1989;**32**:877-883.
- Monestier M, Losman JA, Fasy TM, Debbas ME, Massa M, Albani S, Bohm L, Martini A: Anti-histone antibodies in antinuclear antibody-positive juvenile arthritis. *Arthritis Rheum* 1990;**33**:1836-1841.
- Wittebmann B, Neuer G, Michels H, Truckenbrodt H, Bautz FA: Autoantibodies to nonhistone chromosomal proteins HMG-1 and HMG-2 in sera of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1990;**33**:1378-1383.
- Wouters K, Stemmer C, Muller S, Prieur A-M: Antibodies to histone synthetic peptides in juvenile chronic arthritis (JCA). *Arthritis Rheum* 1993;**36**:S209.
- Haber PL, Osborn TG, Moore TL: Antinuclear antibody in juvenile rheumatoid arthritis sera reacts with 50-40 kDa antigen(s) found in HeLa nuclear extracts. *J Rheumatol* 1989;**16**:949-954.
- Neuer G, Bustin M, Michels H, Truckenbrodt H, Bautz FA: Autoantibodies to the chromosomal protein HMG-17 in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1992;**35**:472-475.
- Hassfeld W, Steiner G, Hartmuth K, Kolarz G, Scherck O, Graninger W, Thumb N, Smolen JS: Demonstration of a new antinuclear antibody (anti-RA33) that is highly specific for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1989;**32**:1515-1520.
- Wilson VK, Osborn TG, Hanna VE, Moore TL: Presence of RA33 in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;**36**:S209.
- Nesher G, Wilson VK, Moore TL, Osborn TG, Hanna VE: Antiperinuclear and anti-RA33 antibodies in juvenile chronic arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994;**53**:282-283.
- Gabay C, Prieur A-M, Meyer O: Occurrence of anti-perinuclear, anti-keratin and anti-RA33 antibodies in juvenile chronic arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993;**52**:785-789.
- Rodríguez-Sánchez JL, Gelpi C, Juárez C, Hardin JA: A new antibody in scleroderma that recognizes a 90-kDa component of the nucleolus-organizing region of chromatin. *J Immunol* 1987;**8**:2579-2584.
- Fritzler MJ, Muhlen CA, Toffoli SM, Staub HL, Laxer RM: Autoantibodies to the nucleolar organizer antigen NOR-90 in children with systemic rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1995;**22**:251-254.