

DERMATOLOGICKÉ ASPEKTY SÉROLOGICKÉHO STANOVENÍ ANTINUKLEÁRNÍCH PROTILÁTEK

RNDr. Miloslav Hlubinka

Dermatovenerologická klinika FN Brno

Rozvoj moderní imunologie významným způsobem napomohl odhalení autoimunitního podtextu etiopatogeneze mnohých dermatóz. Stanovení autoprotilátek se stalo nepostradatelným pomocníkem při diferenciální diagnostice některých kožních onemocnění. V diagnostice autoimunitních dermatóz hraje klíčovou úlohu stanovení antinukleárních protilátek. Proto je zde prezentován alespoň základní přehled o této poměrně heterogenní (alespoň co se týče antigenních epitopů, proti kterým jsou zaměřeny) skupině autoprotilátek. V současné době je znám značný počet antigenních epitopů v buněčném jádru, proti kterým mohou autoprotilátky vznikat. Nepřehlédnutelná část z nich má význam i pro dermatologii.

Klíčová slova: antinukleární protilátky, autoimunita, nepřímá imunofluorescence, ELISA, imunoblotting.

DERMATOLOGICAL ASPECTS OF SEROLOGIC ASSAY OF ANTINUCLEAR ANTIBODIES

Advances in contemporary immunology have contributed a great deal in disclosure of an autoimmune nature in pathogenesis of many dermatosis. Determination of antibody levels represents an indispensable help in differential diagnosis of some skin diseases. The antinuclear antibodies assay is crucial in diagnosis of autoimmune dermatosis. Therefore an essential survey of this heterogenous group of antibodies (referring to the antigenic epitopes against which they are directed) is presented. According to current knowledge, a large number of the antigenic epitopes are differentiated in cell core, against which the antibodies might be originated. The vast amount of them is of a great significance in dermatology.

Key words: antinuclear antibodies, autoimmunity, indirect immunofluorescence, ELISA, immunoblotting.

V roce 1957 bylo poprvé popsáno sumární stanovení antinukleárních protilátek pomocí nepřímé imunofluorescence. Byly popsány čtyři typy jaderné fluorescence s diagnostickým významem (homogenní, periferní, granulární a nukleolární) (6). Tato klasifikace se při základním screeningovém vyšetření antinukleárních protilátek (ANA – antinuclear antibodies) používá v rozšířené podobě dodnes a je součástí základních učebnic oboru. Výsledné základní typy fluorescence ve vztahu k přítomnosti různých typů antinukleárních protilátek byly dále rozšířeny a upřesněny používáním vhodných buněčných substrátů (zejména HEP₂) (14).

Antinukleární protilátky můžeme charakterizovat jako skupinu protilátek proti komponentám buněčného jádra. V praxi je tato poměrně jednoznačná definice občas porušována a mezi antinukleární protilátky jsou občas řazeny (z praktického hlediska) i protilátky proti některým cytoplazmatickým komponentám. Typickým případem jsou níže zmíněné protilátky proti některým aminoacyl-tRNA syntetázám (např. anti-Jo-1).

Zvýšené titry ANA se nejčastěji objevují u systémových chorob pojiva. Lze je zaznamenat hlavně u aktivního i inaktivního systémového lupus erythematosus, spíše nižší titry i u dalších revmatických chorob (Sjögrenův syndrom, systémová sklerodermie, juvenilní artritida, smíšená choroba pojivové tkáně (MCTD-Sharpův syndrom), chronický diskoidní erythematosus, CREST syndrom, lékově indukovaný lupus erythematosus). Pozitivní ANA se mohou objevit i u dalších autoimunitních chorob – primární biliární cirhózy, autoimunitní hepatitidy (CAH), ulcerózní kolitidy, myasthenie gravis apod. Nižší titry antinukleárních protilátek nacházíme také u starších osob a u žen po porodu (9).

Základní vyšetření ANA pomocí metody nepřímé imunofluorescence je pouze screeningové – při pozitivním vý-

sledku je nutné provést titraci a další typizaci antinukleárních protilátek (vyšetření protilátek proti dsDNA, proti DNP (deoxyribonukleoproteinu – nukleohistonu), dále protilátek proti histonům a proti extrahovatelným jaderným antigenům (ENA – zde je při pozitivitě nutná ještě další typizace – stanovení anti-Ro, La, Sm, U1-snRNP, Scl-70, Jo-1)).

Při vizuálním hodnocení v mikroskopu lze u pozitivních sér na substrátu HEP-2 rozlišit několik základních typů jaderné fluorescence s diagnostickým významem (tabulka 1).

Při pozitivním nálezu ANA je vhodné a důležité provést další typizaci antinukleárních protilátek. Avšak ani negativní

Tabulka 1.

typ fluorescence	způsob. protilátkami
homogenní	anti-DNP anti-ssDNA a anti-dsDNA anti-histon (H1, H2A, H2B, H2A-H2B, H3, H4)
periferní	spíše vzácný typ – u kvalitně fixovaného substrátu by se neměl vyskytovat (někdy se u nekvalitního substrátu objevuje místo homogenního typu) (4), někteří autoři však udávají asociaci tohoto typu s přítomností protilátek anti-dsDNA (2, 11)
granulární	anti-ENA (velmi vysoké titry bývají nejčastěji u MCTD (Sharpův syndrom))
nukleolární	anti-RNP, anti-4-6S-RNA, antifibrillarin, anti-lamin apod.
centromerální	anti-kinetochorové proteiny (proti centromerálnímu proteinům), asociují nejčastěji s CREST syndromem (asi v 50 %), dále též s lokalizovaným typem sklerodermie (asi ve 20 %).
velké množství dalších typů (few nuclear dots, multiple nuclear dots, centrosomální typ, nuclear matrix atd.)	proti dalším komponentám buněčného jádra

nález při základním screeningu ANA pomocí nepřímé imunofluorescence neznamena, že bychom se při stanovení jednotlivých typů ANA nemohli dobrat k pozitivnímu výsledku. Jeden z nejfrekventovanějších a nej kvalitnějších antigenních substrátů, používaných při základním screeningu ANA (buňky HEP-2), například při přítomnosti anti-Ro protilátek v séru, dává negativní nebo velmi slabě pozitivní výsledek (3). Řešení spočívá v používání substrátu s větším množstvím antigenních struktur, proti kterým jsou anti-Ro protilátky zaměřeny. Tyto upravené HEP-2 kultury jsou již komerčně dosažitelné, avšak poměrně drahé.

Další typizaci ANA rozumíme vyšetření séra na přítomnost protilátek proti jedno- a dvoušroubovicové DNA, proti histonům, proti deoxyribonukleoproteinu (nukleohistonu) a proti tzv. extrahovatelným nukleárním antigenům. Tato typizace se provádí v rutinní praxi převážně EIA metodami (detekce pomocí enzymoimunoanalýzy na mikrotitračních destičkách). Jako konfirmační vyšetření při pozitivitě anti-dsDNA protilátek, získané méně specifickou metodou (EIA), lze použít nepřímou imunofluorescenci (jako substrát slouží nejčastěji prvok *Crithidia luciliae*). Konfirmaci positivity protilátek např. proti některým ENA antigenům lze provádět pomocí imunoblotingu.

Protilátky proti ssDNA (anti-ssDNA)

U protilátek proti „jednovláknové DNA“ (ssDNA) je antigenem denaturovaná DNA (ssDNA – single stranded – jednořetězcová DNA). Není to tak úplně přesné, při detekci jde spíše o směs jednovláknové DNA s různými kratšími úseky, které částečně renaturovaly, čili kde se utvořila různým způsobem deformovaná dvoušroubovice. Protilátky anti-ssDNA jsou klinicky spíše méně významné – vyskytují se ve vyšších titrech u SLE (podstatně nižší specifita než u dsDNA) i u dalších revmatických (např. sklerodermie) i non-revmatických chorob.

Protilátky proti dsDNA (anti-dsDNA)

Protilátky proti dvouvláknové (nativní) DNA (anti-dsDNA – z anglického double stranded) jsou asociovány zejména s aktivním neléčeným systémovým lupus erythematosus (SLE), nízké titry se mohou objevit i u dalších kolagenóz (chronického diskoidního erytematodu – CDE, Sjögrenova syndromu, sklerodermie). Antigenem je tu DNA v nativní dvoušroubovicové konformaci popsané Watsonem a Crickem v roce 1953.

Specifičnost této protilátky pro SLE asi nejlépe vystihuje fakt, že přítomnost anti-dsDNA v séru pacienta je jedním z kritérií American College of Rheumatology (ACR, dříve the American Rheumatism Association – ARA) pro SLE (13). V této souvislosti je zajímavá i skutečnost, že převážná většina imunokomplexových depozit u SLE jsou právě komplexy dsDNA/anti-dsDNA.

Protilátky proti histonům (anti-histon, AHA)

Cílovou strukturu těchto protilátek tvoří histony – relativně malé jaderné proteiny bazického charakteru. Jak

je uvedeno u anti-DNP, jsou součástí nukleozomů (tvořících jaderný chromatin). Rozlišujeme několik typů histonů (H1, H2A, H2B, H3, H4), často se vyskytujících ve formě homo- i heterodimerů.

Poměrně často lze jejich výskyt zaznamenat u systémového lupus erythematosus (SLE), bývají převládajícími protilátkami (až 95 %) u lékově indukovaného lupusu (prokainamid, hydralazin), zvýšený výskyt zaznamenáváme i u pacientů se sklerodermií systémového i cirkumskriptního typu (morfeje), protilátky proti histonu H3 se objevují i u jiných kolagenóz. V nižších titrech můžeme antihistonové protilátky detekovat i u dalších onemocnění (např. revmatoidní artritidy, endometriózy).

Protilátky proti deoxyribonukleoproteinu (nukleohistonu) (anti-DNP)

Antigeny jsou v tomto případě sférické komplexy DNA a histonů (bazických jaderných proteinů) – tzv. nukleozomy. Prostorově je nukleozom složen z několika dimerů histonů (H3-H3, H4-H4, H2A-H2B), obtočených 146 páry bází DNA. V počátečním a koncovém bodě DNA je lokalizován poslední histon H1.

Z uvedeného vyplývá, že významná část anti-DNP protilátek bude patřit do skupin anti-dsDNA a anti-histonových protilátek. Proto se také mohou vyskytovat u většiny kolagenóz a zejména u SLE. Toto vyšetření vysoce koreluje s dříve prováděným LE testem.

Protilátky proti extrahovatelným jaderným antigenům (anti-ENA)

Původ tohoto názvu je zřejmý: z homogenátů vhodných buněčných kultur je totiž možné extrahovat pufovaným fyziologickým roztokem poměrně vysoké množství antigenních struktur. V současné době je známo již přes sto antigenů (převážně jaderných, ale i cytoplazmatických), které se tímto způsobem dají extrahovat. Tak vznikl tento ne zcela vhodný pojem „extrahovatelné jaderné antigeny“ (extractable nuclear antigens – ENA) a také protilátky anti-ENA.

Sumární detekce protilátek proti antigenům ENA slouží jako screeningové vyšetření. Následně je nutné provést typizaci ENA – stanovení protilátek proti konkrétnějším antigenním strukturám (nejběžněji proti antigenům Ro (SS-A), La (SS-B), Sm, U1-snRNP, Scl-70 a Jo-1).

Výskyt anti-ENA protilátek je asociován s řadou chorob (zde uvedeny sumárně – příslušnost k protilátkám proti jednotlivým ENA antigenům je blíže probrána v příslušné podkapitole. Mezi nejvýznamnější patří:

- systémový lupus erythematosus (SLE)
- smíšená choroba pojivové tkáně (MCTD-Sharpův syndrom)
- Sjögrenův syndrom
- systémová sklerodermie
- polymyositida/dermatomyositida
- revmatoidní artritida
- CREST syndrom
- některé „overlap“ syndromy (např. SLE/sicca).

Protilátky proti La (SS-B) antigenu (anti-La (SS-B))

Název antigenu je odvozen od prvních dvou písmen jména pacienta, u kterého byl poprvé popsán.

Antigenem je protein o mol. hmotnosti asi 48 kDa (47-50), lokalizovaný v jádře i cytoplasmě. In vivo bývá nejčastěji v komplexech s různými RNA – jde tedy o ribonukleoprotein. Vyplývá to již z funkce, kterou SS-B protein v organismu má – váže se totiž na různé transkripční produkty RNA polymerázy III (5S a 7S RNA, pre-tRNA, U1 a U6 RNA, malé cytoplazmatické scRNA (hyl-hy5 RNA) event. na některé RNA kódované viry – např. EBV) – tím způsobuje terminaci transkripce a odpojení vzniklé RNA. Výskyt anti-La bude mít tedy z biochemického hlediska vliv na dynamiku proteosyntézy.

Výskyt anti-La je nejčastěji asociován s primárním Sjögrenovým syndromem (keratokonjunktivitis sicca, SS v názvu znamená právě Sjögrenův syndrom) – výskyt anti-La je však o něco nižší než anti-Ro. Vyskytují se i při sekundárním Sjögrenově syndromu (sicca + revmatoidní artritida, SLE nebo lymfom) – většinou však v o něco nižší frekvenci.

U systémového lupus erythematosus se anti-La vyskytují pouze u přibližně 15 % pacientů (což je podstatně méně než anti-Ro). Stejně jako protilátky proti Ro antigenu mohou anti-La napomoci vymezení jednotlivých subsetů SLE (u subakutního kožního lupus erythematosus se nevyskytují, kdežto u neonatálního lupusu doprovázejí protilátky anti-Ro) (5). Současná přítomnost vysokých titrů anti-Ro a anti-La v těhotenství znamená zvýšené riziko kongenitálního srdečního bloku (12).

Obecně platí, že protilátky anti-La často doprovázejí výskyt anti-Ro. Samostatně se objevují jen výjimečně.

Protilátky proti Ro (SS-A) antigenu (anti-Ro (SS-A))

Název tohoto antigenu je stejně jako u La odvozen od prvních dvou písmen jména pacienta, u kterého byl poprvé popsán.

Skupina Ro antigenů je zřejmě komplexnější než antigen La. Jde opět o RNP komplex. Převládajícími antigenními komponentami jsou dva proteiny o mol. hmotnosti 52 a 60 kDa (Ro52 resp. Ro60). Celý komplex ribonukleoproteinu pak tvoří oba proteiny současně s tzv. hy-RNA (hyl-RNA až hy5-RNA), což jsou lidské cytoplazmatické RNA.

Funkce tohoto antigenu je zatím nejasná. Pravděpodobně se nějakým způsobem účastní maturace pre-mRNA (maturace – po transkripci jsou eliminovány úseky pre-mRNA, přepsané z intronových sekvencí DNA, ty nekódují protein – proto musí být odstraněny) event. může hrát i roli v eliminaci defektní ribozomální 5S rRNA. Ať už půjde o kteroukoli možnost, každopádně bude mít výskyt anti-SSA protilátek vliv opět na proteosyntézu.

Protilátky anti-SSA lze detekovat klasicky imunodifuzí, částečně lze použít i imunobloting. V případě imunoblotingu je problematické stanovení protilátek anti-Ro 52 kDa, poněvadž při separaci antigenů z buněčných extraktů se velmi těžko oddělují proteiny Ro-52 kDa a La, který má cca 47-50 kDa. Vůbec nejvhodnější se jeví metoda ELISA, která je také nejčastěji používána.

Nomenklaturní název antigenu (SS-A) stejně jako u SS-B opět připomíná nejčastější chorobu, s níž je výskyt protilátek anti-SS-A asociován – Sjögrenův syndrom (zkratka SS znamená právě tuto chorobu). Vůbec nejvyšší výskyt protilátek anti-Ro je u primárního Sjögrenova syndromu (keratokonjunktivitis sicca) – literatura uvádí asi 70 až 95 %. U sekundárního Sjögrenova syndromu (sicca + revmatoidní artritida event. SLE nebo lymfom) zastoupení anti-Ro klesá (stejně jako u anti-La).

Anti-Ro protilátky se vyskytují často při SLE, kde mohou napomoci vymezení jednotlivých subsetů – u subakutního kožního lupus erythematosus jsou anti-Ro přítomny asi v 65 %, u neonatálního lupusu jsou relativně vyšší titry anti-Ro doprovázeny i protilátkami anti-La (SS-B). Při vysokých titrech anti-Ro v těhotenství mohou dokonce zánětlivé reakce po přenesení protilátek anti-Ro do plodu vést až ke kongenitálnímu srdečnímu bloku (riziko se ještě zvyšuje při současném nálezů anti-La v séru (12) – viz výše (protilátky proti La antigenu)). Výskyt anti-Ro při SLE může též asociovat s fotosenzitivním exantémem a renálními změnami (7) (zde je zajímavý fakt, že při současném výskytu anti-Ro a anti-La riziko nefritidy klesá). Obecně platí, že výskyt anti-Ro není dobrým prognostickým znakem.

U Sjögrenova syndromu i u SLE se mohou vyskytovat Ro60 i Ro52, lze však říci, že výskyt pouze Ro60 ukazuje na SLE, zatímco výskyt pouze Ro52 asociovuje se Sjögrenovým syndromem.

Pro vztah anti-La a anti-Ro lze trochu zjednodušeně uvést, že anti-La jsou téměř vždy doprovázeny protilátkami anti-Ro, čili samostatně se vyskytnou jen výjimečně – na rozdíl od anti-Ro, které se samostatně vyskytují často.

V menší míře (kolem 10 % případů) se mohou anti-Ro vyskytnout i u dalších systémových revmatických chorob, dále i u primární biliární cirhózy event. chronické aktivní hepatitidy. Někteří autoři také udávají až 15 % výskyt u zdravých osob s HLA-DR3.

Protilátky proti Sm a U1-snRNP antigenům (anti-Sm, anti-U1-snRNP)

Jako u obou předchozích zástupců anti-ENA i zde mají antigeny povahu ribonukleoproteinů.

Antigen Sm (zkratka pochází od jména Smith – tak se jmenoval pacient, u kterého byly protilátky anti-Sm poprvé diagnostikovány) tvoří několik polypeptidických podjednotek. Bývá asociován s tzv. krátkými ribonukleovými kyselinami třídy U (bohatých na uridin – U2, U5, U4-6 RNA) (8) – v tomto případě hovoříme o samostatném Sm antigenu. Aby to nebylo jednoduché – v těchto komplexech jsou přítomny i některé další proteiny, jak je zřejmé z tabulky 2.

Sm může být také součástí ribonukleoproteinu U1-snRNP (sn znamená small nuclear – malý jaderný). Antigen U1-snRNP je tvořen ribonukleovou kyselinou třídy U1, která je asociována s několika polypeptidy. Část z těchto polypeptidů je identická s antigenem Sm. V podstatě se jedná o podobný komplex jako u antigenu Sm.

Tabulka 2.

protein		RNA				
název	m. h. (kDa)	U1	U2	U4	U5	U6
pre-A	68	1				
A	33	1				
A'	31		2			
B	28	0	0	0	0	0
B'	29	0	0	0	0	0
B''	28,5		2			
C	22	1				
D (D1-D3)	16-18	0	0	0	0	0
E	11	0	0	0	0	0
F	11	0	0	0	0	0
G	10	0	0	0	0	0
IBP	-				5	
p25	25			4	5	
p31	31					6

vysvětlivky: 0 – Sm; 1 – U1-snRNP; 2 – U2-snRNP; 4 – U4-snRNP; 5 – U5-snRNP; 6 – U6-snRNP

Z výše uvedeného vyplývá, že antigen Sm se může vyskytovat buď vázaný na U2, U4-6, U5 RNA nebo jako součást komplexu U1-snRNP. Z tohoto důvodu se pro komplex U1-snRNP často užívá spíše triviálnější schématický název Sm/RNP nebo dokonce jen RNP. Tyto názvy jsou ovšem méně přesné.

Biologická funkce těchto ribonukleoproteinů je známa. Všechny uvedené ribonukleoproteiny se účastní tzv. maturace neboli sestřihu (angl. splicing) pre-mRNA. Biochemicky se jedná o odstranění intronových sekvencí nukleotidů (nekódujících protein) přepsaných z DNA při transkripci. Děje se tak v částicích, pojmenovaných příhodně spliceozomy. Všechny uvedené RNP komplexy jsou jejich součástí. Tímto procesem vznikne nakonec už plnohodnotná mRNA, která se může účastnit translace (vlastního přepisu polynukleotidových sekvencí do sekvencí polypeptidických). Výskyt anti-Sm a anti-U1-snRNP bude rezultovat v poruchy maturace pre-mRNA a tím opět ovlivňovat proteosyntézu.

Vhodným způsobem detekce je opět ELISA. Pokud bychom chtěli detekovat exaktně pouze anti-U1-snRNP aktivitu (eliminujíc Sm proteiny), je vhodné použít po subtraktivní ELISA analýze (výsledek U1-snRNP – Sm) imunobloting pro konfirmaci positivity anti-preA protilátek (10).

Protilátky anti-Sm se objevují asi u 20–30 % pacientů se systémovým lupus erythematosus (SLE). Pro tuto chorobu jsou však velmi specifické (specifita až 99 %) – proto můžeme říci, že se jedná o patognomický marker SLE.

Protilátky anti-U1-snRNP lze detekovat až u 40 % pacientů s SLE (ovšem s menší specifitou). Nejčastěji se však vyskytují u pacientů se Sharpovým syndromem (MCTD – smíšená choroba pojivové tkáně) – až v 95 %.

Pokud se objeví vysoké titry anti-U1-snRNP a současně žádné jiné antinukleární protilátky (ani anti-Sm), lze s vysokou pravděpodobností usuzovat na MCTD. Z toho můžeme vyvodit, že protilátky anti-U1-snRNP vyskytující se při MCTD budou zaměřeny pouze proti epitopům na proteinech preA (p70), A a C a ne na Sm proteinech. Anti-U1-snRNP se

dále mohou objevit i v sérech pacientů s chronickým diskoidním erytematodem, revmatoidní artritidou event. Sjögrenovým syndromem.

Obecně platí – protilátky anti-Sm jsou prakticky vždy doprovázeny anti-U1-snRNP aktivitou, avšak anti-U1-snRNP se objevují i samostatně.

Protilátky proti Scl-70 antigenu (anti-Scl-70)

Antigen Scl-70 je vcelku dobře charakterizován. Jde o enzym topoisomerázu I, jejíž mol. hmotnost je v nativním stavu asi 100 kDa – postupně je degradována až na protein 70 kDa. Biologická funkce tohoto enzymu je známa – reguluje tzv. superhelicitu DNA. Superhelicitu je pojem užívaný nejčastěji u kruhových DNA – znamená skutečnost, že DNA v nativní dvoušroubovicové formě (klasického typu B – tedy Watson-Crickova modelu) může být stočena ještě do další šroubovice (tzv. superšroubovice čili superhelix). Zmíněná topoisomeráza I může měnit topologickou formu superšroubovice tím způsobem, že rozvolní jeden závit DNA. Provádí to jednoduše tak, že dočasně přeruší jedno vlákno dvoušroubovice, provlékne ho přes druhé a znovu spojí. Tím dojde k částečnému rozvolnění dvoušroubovice. U eukaryontních buněk hraje topoisomeráza I významnou roli např. při syntéze nukleozomů, které jsou základními stavebními jednotkami jaderného chromatinu. Napomáhá totiž dosažení správné topologické formy DNA, která je ovinutá kolem histonového oktameru (1).

Výskyt protilátek anti-topo I (tedy anti-Scl-70) může mít u člověka obecně vliv na syntézu jaderných nukleozomů. Snížená aktivita topoisomerázy I by měla vést ke snížení tvorby nukleozomů – inaktivní enzym způsobí, že při ovijení histonového oktameru 146 páry nukleotidů nemůže být dosaženo vhodné topologické formy DNA a syntéza se neuskuteční.

Nejčastější metodou používanou k rutinní detekci anti-Scl-70 je ELISA. Citlivost i specifita stanovení anti-topoisomerázových protilátek je dostatečná. Používá se i imunobloting (zde detekujeme výše uvedený degradační produkt – 70 kDa). Klasickou technikou detekce je imunodifuze.

Protilátky proti topoisomeráze I se vyskytují nejčastěji u těžších forem systémové sklerodermie (difúzní forma). U limitované formy systémové sklerodermie se nevyskytují vůbec – zde se naopak objevují anti-centromerové protilátky, které se nevyskytují zase při difúzní formě. Proto mají anti-Scl-70 z diferenciálně diagnostického hlediska nesporný význam.

Protilátky proti Jo-1 antigenu (anti-Jo-1)

Antigen je velmi dobře charakterizován – jde o enzym ze skupiny aminoacyl-tRNA syntetáz, konkrétně o histidyl-tRNA syntetázu. Tento enzym se účastní proteosyntézy, které kompartmentace biochemických procesů přisoudila lokalizaci v drsném endoplazmatickém retikulu – jde tedy o antigen cytoplazmatický. Přesto je však do anti-ENA protilátek z praktických důvodů často zařazován.

Obecnou funkcí aminoacyl-tRNA syntetáz je navázání aktivované aminokyseliny (aminoacyladenylátu – čili aminoacyl-AMP) esterickou vazbou na 2-hydroxylovou skupinu terminálního adeninu na přenosové RNA (tRNA) za vzniku aminoacyl-tRNA (v našem případě tedy vznikne histidyl-tRNA).

Je zřejmé, že výskyt protilátek proti Jo-1 (histidyl-tRNA syntetáze) může z biochemického hlediska ovlivnit dynamiku syntézy některých proteinů (zvláště s vyšším obsahem histidinu).

Další aminoacyl-tRNA syntetázy (výskyt též při polymyositis/dermatomyositis – ovšem vzácnější):

- PL-7 – threonyl-tRNA syntetáza
- PL-12 – alanyl-tRNA syntetáza
- EJ – glycyl-tRNA syntetáza.
- OJ – isoleucyl-tRNA syntetáza

Protilátky anti-Jo-1 jsou diagnostickým markerem (specifita 95 %) pro polymyositis (vyskytuje se zhruba u 1/3 pacientů).

Literatura

1. Alilat M, Sivolob A, Revet B, Prunell A. Nucleosome dynamics. Protein and DNA contributions in the chiral transition of the tetrasome, the histone (H3-H4)2 tetramer-DNA particle. *J Mol Biol* 1999; 291(4): 815–841.
2. Bardana EJ Jr, Malinow MR, Houghton DC, McNulty WP, Wuepper KD, Parker F, Pirofsky B. Diet-induced systemic lupus erythematosus (SLE) in primates. *Am J Kidney Dis* 1982; 1(6): 345–352.
3. Blomberg S, Ronnblom L, Wallgren AC, Nilsson B, Karlsson-Parra A. Anti-SSA/Ro antibody determination by enzyme-linked immunosorbent assay as a supplement to standard immunofluorescence in antinuclear antibody screening. *Scand J Immunol* 2000; 51(6): 612–617.
4. Bradwell AR, Stokes RP, Johnson GD. Atlas of HEp-2 patterns. ISBN 0704416220, KNP Group Ltd, Redditch, UK 1995; 118.
5. Burch JM, Lee LA, Weston WL. Neonatal lupus erythematosus. *Dermatol Nurs* 2002; 14(3): 157–160.
6. Friou GJ. Setting the scene: a historical and personal view of immunologic diseases, autoimmunity and ANA. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12(Suppl 11): 23–25.
7. Hang LM, Nakamura RM. Current concepts and advances in clinical laboratory testing for autoimmune diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1997; 34(3): 275–311.

Kromě zmíněných protilátek patří do skupiny anti-ENA i další známé občas i rutinně detekované protilátky, např. anti-Ku a anti-PCNA. Ty mají ovšem poněkud menší diagnostický význam a nebývají do komerčních screeningových setů zahrnovány.

Perspektivy

Vzhledem k tomu, že lze do budoucna předpokládat další upřesňování biochemických a imunologických charakteristik jednotlivých jaderných autoantigenů, a tím samozřejmě i protilátek proti nim, jeví se jako nejperspektivnější využití moderních detekčních metod. Vedle stávajících a běžně užívaných metod jako nepřímá imunofluorescence a ELISA (event. i jiné enzymoimunoanalytické metody) se do popředí postupně dostávají další, jako např. jedno- event. dvojdimenzionální polyakrylamidová gelová elektroforéza s následným imunoblottingem, metody s luminometrickou detekcí (luminometrická detekce se může uplatnit např. i u imunoblotingu) a další. Tim se dermatologii (a nejen ji) otevrou nové diagnostické i monitorovací možnosti.

8. Konarska MM, Sharp PA. Interactions between small nuclear ribonucleoprotein particles in formation of spliceosomes. *Cell* 1987 Jun 19; 49(6): 763–774.
9. Malleson PN, Sailer M, Mackinnon MJ. Usefulness of antinuclear antibody testing to screen for rheumatic diseases. *Arch Dis Child* 1997; 4: 299–304.
10. Margaux J, Hayem G, Palazzo E, Chazeraín P, De Bandt M, Haim T, Kahn MF, Meyer O. Clinical usefulness of antibodies to U1snRNP proteins in mixed connective tissue disease and systemic lupus erythematosus. *Rev Rhum Engl Ed* 1998; 6: 378–386.
11. Mitchell AJ, Rusin LJ, Diaz LA. Circumscribed scleroderma with immunologic evidence of systemic lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 1980 Jan; 116(1):69–73.
12. Salomonsson S, Dorner T, Theander E, Bremme K, Larsson P, Wahren-Herlenius M. A serologic marker for fetal risk of congenital heart block. *Arthritis Rheum* 2002; 5: 1233–1241.
13. Swaak T, Smeenk R. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 1985; 4: 245–251.
14. Vencovský J. Autoimunitní systémová onemocnění. Triton, Praha 1998: 20–21.