

Przeciwciała przeciwjądrowe – cóż z nimi począć?

Antinuclear antibodies – what to do with them?



Mariusz Puszczewicz

Katedra i Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Chair and Department of Rheumatology and Internal Diseases of the Karol Marcinkowski Poznan University of Medical Sciences

Słowa kluczowe: metoda immunofluorescencji pośredniej, przeciwciała przeciwjądrowe, fluorescencja typu „rings and rods”.

Key words: indirect immunofluorescence method, antinuclear antibodies, “rings and rods” pattern.

Streszczenie

Rozpoznanie niemal wszystkich układowych zapalnych chorób tkanki łącznej wymaga wykazania obecności autoprzeciwciał. W praktyce klinicznej zwykle do tego celu wykorzystuje się ocenę obecności przeciwciał przeciwjądrowych (ANA).

W pracy przedstawiono znaczenie diagnostyczne i rokownicze przeciwciał przeciwjądrowych, aktualną propozycję nomenklatury ANA oraz ich znaczenia klinicznego, a także rzadkie typy fluorescencji jądra i cytoplazmy komórek HEp-2, których znaczenie diagnostyczne i kliniczne nie było dotychczas omawiane.

Summary

Diagnosis of nearly all systemic inflammatory connective tissue diseases requires confirmation of the presence of autoantibodies. In clinical practice, usually for this purpose antinuclear antibodies (ANA) are used.

The paper presents the diagnostic and prognostic significance of antinuclear antibodies. The author presents the current proposals for the nomenclature of ANA and their clinical significance. Additionally he discusses rare types of fluorescence of nuclei and cytoplasm of HEp-2 cells of which the diagnostic and clinical significance has not been discussed yet.

Wstęp

Rozpoznanie większości układowych chorób tkanki łącznej wymaga, poza objawami klinicznymi, stwierdzenia obecności autoprzeciwciał w surowicy lub w płynach ustrojowych. Ich obecność ma znaczenie diagnostyczne i rokownicze oraz służy do oceny aktywności choroby. Ich występowanie w niskim mianie można jednak stwierdzić w innych niż reumatyczne chorobach, a także wśród zdrowej populacji [1].

W diagnostyce serologicznej istotne znaczenie, np. dla rozpoznania reumatoidalnego zapalenia stawów, ma obecność czynnika reumatoidalnego oraz przeciwciał przeciw cyklicznie cytrulinowanemu peptydowi (*anti-cyclic citrullinated peptide antibodies* – aCCP) lub cytrulinowanej wimentynie. Aby natomiast rozpoznać pozostałe układowe choroby tkanki łącznej, wymagane jest stwierdzenie przeciwciał przeciwjądrowych. Podobnie, do rozpoznania poszczególnych postaci zapalenia naczyń, konieczne jest stwierdzenie prze-

Introduction

With most systemic connective tissue disorders, a diagnosis can only be established if, aside from clinical manifestations, it is possible to demonstrate the presence of autoantibodies in blood serum or in body fluids. Their presence has diagnostic and prognostic significance and is used to assess disease activity. However, low titers of autoantibodies may also be observed in diseases other than rheumatic diseases as well as in the healthy population [1].

In serological diagnostics, the presence of the rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (aCCP) or antibodies to citrullinated vimentin is significant for diagnosing, for example, rheumatoid arthritis. On the other hand, a diagnosis of other systemic connective tissue disorders requires establishing the presence of antinuclear antibodies. Likewise, establishing a diagnosis of the respective forms of vasculitis requires con-

Adres do korespondencji:

dr hab. med. Mariusz Puszczewicz, Katedra i Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. 28 Czerwca 1956 r. 135/137, 61-545 Poznań, tel. +48 61 831 03 17, e-mail: mariuszpuszczewicz@gmail.com

Praca wpłynęła: 13.05.2013 r.

ciwiał przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (*anti-neutrophil cytoplasmic antibodies* – ANCA) [2].

Zwyczajowo przyjmuje się przeciwciała przeciwjądrowe za wykładnik serologiczny układowych chorób tkanki łącznej. Każdy lekarz, który w badaniu laboratoryjnym stwierdzi obecność ANA, uważa, że obserwowane objawy kliniczne są wynikiem układowej choroby tkanki łącznej, zwykle toczenia rumieniowatego układowego. Jest to jednak niejednokrotnie złudne mniemanie, gdyż ANA stwierdza się u osób z chorobami rozrostowymi, szczególnie układu krwiotwórczego, oraz pospolitymi infekcjami wirusowymi czy bakteryjnymi [2, 3].

Nomenklatura

Przeciwciała przeciwjądrowe są autoprzeciwciałami reagującymi ze stałymi i rozpuszczalnymi antygenami jądra komórkowego. Zwyczajowo uważa się, że fluorescencja komórek HEp-2 to przeciwciała przeciwjądrowe – *sensu stricto* powinny one reagować z antygenami jądra komórek HEp-2. Niekiedy wzór fluorescencji dotyczy cytoplazmy (np. przeciwciała Jo-1 i przeciwmitochondrialne), mimo tego w niektórych jednostkach diagnostycznych uważa się je za ANA, co jest kwestionowane. Często otrzymujemy zatem wynik „przeciwciała przeciwjądrowe – dodatni”, mimo że nie występuje świecenie jąder, a jedynie cytoplazmy komórek. Niektórzy autorzy uważają, że wszelka fluorescencja komórek HEp-2 powinna być wyrażana jako wynik: „ANA – dodatnie”. Jednak bardziej rozsądna w przypadkach, gdy nie stwierdza się fluorescencji jądra komórkowego, a jedynie cytoplazmy linii komórkowej HEp-2, wydaje się opisowa ocena wyników.

Dla przykładu – gdy stwierdzamy jedynie fluorescencję o typie aparatu Golgiego, wynik powinien być następujący: „Nie stwierdza się obecności przeciwciał przeciwjądrowych, w cytoplazmie komórek HEp-2 widoczna jest fluorescencja o typie aparatu Golgiego”.

Metody diagnostyczne ANA

Metodą najczęściej wykorzystywaną do oceny ANA jest immunofluorescencja pośrednia (*indirect immunofluorescence* – IIF). Postępując się tą metodą, można wykazać liczne przeciwciała przeciwjądrowe reagujące z różnymi autoantygenami [4]. Z tego powodu immunofluorescencja pośrednia jest wykorzystywana jako badanie wstępne, stwierdzające jedynie obecność autoprzeciwciał.

Jako źródła antygenów obecnie używana jest linia komórkowa HEp-2, dawniej były to skrawki wątroby szczura, wiciowiec – *Crithidium luciliae* oraz granulocyty obojętnochłonne. Komórki HEp-2 wywodzą się z ludzkiego nowotworu nabłonkowego krtani. Charakteryzują się one dużym jądrem komórkowym i stosunkowo niewielką cytoplazmą. Dzięki intensywnej proliferacji linii komórko-

firmation of the presence of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) [2].

Customarily, the presence of antinuclear antibodies is interpreted as serological proof of a systemic connective tissue disorder. Thus, every physician presented with a laboratory report that confirms the presence of ANA will presume that clinical symptoms observed in the patient are caused by a systemic connective tissue disease, generally systemic lupus erythematosus. However, this is often a mistaken assumption, since ANA may also be present in individuals with proliferative diseases, particularly of the hematopoietic system, and with common viral or bacterial infections [2, 3].

Nomenclature

Antinuclear antibodies are autoantibodies that react with insoluble and soluble antigens of the cell nucleus. The common belief is that HEp-2 cell fluorescence is produced by antinuclear antibodies – *sensu stricto*, they should react with HEp-2 cell nuclear antigens. Occasionally, the pattern of fluorescence is cytoplasmic (e.g. Jo-1 and anti-mitochondrial antibodies); despite this, some diagnostic centers interpret them as being ANA, which is a subject of contestation. Thus, we often receive a report stating “positive for antinuclear antibodies” despite an absence of nuclear fluorescence, with only cytoplasmic fluorescence having been detected. According to some authors, any HEp-2 cell fluorescence should be interpreted as “ANA – positive”. However, in cases where fluorescence of the cell nucleus is not detected, only that of the cytoplasm of HEp-2 cells, a descriptive report would appear to be the more judicious option.

For example, upon determining the presence of solely a Golgi apparatus pattern of fluorescence, such a report should be worded as follows: “Negative for antinuclear antibodies; Golgi apparatus pattern of fluorescence present in HEp-2 cell cytoplasm”.

ANA diagnostic assays

The most popular technique used to assess ANA is indirect immunofluorescence (IIF). Using this technique, it is possible to identify a large number of antinuclear antibodies that react with various autoantigens [4]. Therefore, indirect immunofluorescence is used as a screening test, simply to establish the presence of autoantibodies.

At present, the HEp-2 cell line is used as the source of antigens; earlier sources include rat liver sections, the flagellate *Crithidia luciliae* and neutrophils. HEp-2 cells were derived from human laryngeal carcinoma. The characteristic traits of these cells are a large nucleus and a relatively small cytoplasm. In addition, the intense proliferation displayed by the HEp-2 cell line gives rise to a large number of autoantibodies that only react with antigens, particu-

wej HEp-2 stwierdza się dodatkowo wiele autoprzeciwciał reagujących tylko z antygenami, szczególnie tymi, które pojawiają się w czasie podziału komórki. Immunofluorescencja pośrednia z użyciem komórek HEp-2 jest metodą czułą i pozwala wykazać obecność większej liczby swoistych autoprzeciwciał niż metoda z wykorzystaniem skrawków wątroby małpy lub szczura. Z tego też powodu metoda IIF z wykorzystaniem komórek HEp-2 stanowi „złoty standard” w diagnostyce ANA. W mikroskopie fluorescencyjnym obserwuje się świecenie jądra, jąderka, wrzeciona podziałowego i cytoplazmy komórek HEp-2 [5].

Wykorzystując komórki HEp-2, można stwierdzić w metodzie IIF pięć podstawowych typów świecenia jądra komórkowego (wzorów fluorescencji), tj. typ homogenny, błonowy (dawniej obwodowy), plamisty, jąderkowy oraz centromerowy. Homogenny typ fluorescencji obserwuje się najczęściej u chorych na toczeń rumieniowaty układowy, a jąderkowy u chorych na twardzinę układową. Natomiast plamisty typ „świecenia” nie jest charakterystyczny dla żadnej z układowych chorób tkanki łącznej.

Dodatkowo przy użyciu metody immunofluorescencji pośredniej można wykazać przeciwciała przeciw histonom. Obserwuje się je u chorych na toczeń indukowany lekami oraz u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów i inne układowe choroby tkanki łącznej.

Miano ANA

Przeciwciała przeciwjądrowe w niskim mianie występują u osób zdrowych oraz u chorych na infekcję wirusową lub bakteryjną i u osób z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego (chłoniaki) [1, 3–5]. W przypadku gdy miano ANA jest wyższe niż 1/160, należy rozważyć obecność układowej choroby tkanki łącznej. Miano powyżej 1/5120 stwierdza się zwykle u pacjentów z mieszaną chorobą tkanki łącznej. Należy jednak pamiętać, że miano przeciwciał przeciwjądrowych nie koreluje z aktywnością choroby. Jedynym wyjątkiem od tej reguły jest miano przeciwciał reagujących z dsDNA.

Interpretacja wyniku badania metodą IIF

Zgodnie z obowiązującą zasadą oceny przeciwciał przeciwjądrowych metodą immunofluorescencji pośredniej zawsze należy ocenić fluorescencję jądra komórkowego, jąderka, cytoplazmy, aparatu podziałowego oraz chromosomów w metafazie [6]. W tabeli I przedstawiono niektóre typy fluorescencji jąder komórkowych oraz odpowiadające im autoprzeciwciała.

Nowe typy fluorescencji jądra komórkowego

Typ fluorescencji „nuclear dots”

Ten typ jest określany jako fluorescencja od 4 do 12 kropek (*dots*) na jądro komórkowe. Nie obserwuje się flu-

larly with those that appear during cell division. Indirect immunofluorescence using HEp-2 cells is a sensitive method and enables determination of the presence of a larger number of specific autoantibodies than assays using ape or rat liver sections. Therefore, the IIF technique using HEp-2 cells is considered to be the “gold standard” in ANA diagnostics. A fluorescence microscope enables visualization of fluorescence within the HEp-2 cell nucleus, nucleoli, mitotic spindle and cytoplasm [5].

With indirect immunofluorescence using HEp-2 cells, it is possible to discern five basic types of nuclear fluorescence (fluorescence patterns): the homogeneous, rim-like (previously known as peripheral), speckled, nucleolar and centromere patterns. The homogeneous pattern of fluorescence is most commonly observed in patients with systemic lupus erythematosus and the nucleolar pattern is seen in patients with systemic sclerosis. The speckled pattern of fluorescence, however, is not specific for any of the systemic connective tissue disorders.

Furthermore, the indirect immunofluorescence technique enables the detection of antibodies directed against histones. These are observed in patients with drug-induced lupus and in rheumatoid arthritis as well as other systemic connective tissue disorders.

ANA titer

Low titers of antinuclear antibodies may be present in healthy individuals as well as in patients suffering from a viral or bacterial infection and in patients with proliferative diseases of the hematopoietic system (lymphomas) [1, 3–5]. In cases where the ANA titer exceeds 1/160, the presence of a systemic connective tissue disease should be considered. Titers in excess of 1/5120 are generally seen in patients with mixed connective tissue disease. It should, however, be kept in mind that antinuclear antibody titer does not correlate with disease activity. The only exception to this rule is the titer of antibodies that react with dsDNA.

Interpretation of IIF assay results

In accordance with current principles of antinuclear antibody assessment using indirect immunofluorescence assays, an evaluation should always be made of the fluorescence of the cell nucleus, nucleoli, cytoplasm, mitotic spindle and chromosomes in metaphase [6]. Table I presents several patterns of nuclear fluorescence and associated autoantibodies.

New patterns of nuclear fluorescence

The “nuclear dots” fluorescence pattern

This pattern is described as fluorescence in the form of 4 to 12 dots per cell nucleus. The cell nucleus, nucleoli,

Tabela I. Niektóre autoprzeciwciała reagujące z antygenami linii komórkowej HEp-2 – jądrowy typ fluorescencji – własna modyfikacja [6]**Table I.** Some of the autoantibodies that react with HEp-2 cell line antigens – nuclear fluorescence pattern – own modification [6]

Obraz IFF/IIF image	Opis obrazu/Description	Obecność autoprzeciwciał i ich znaczenie kliniczne/Autoantibodies and their clinical significance
homogeny typ fluorescencji jądra komórkowego (ryc. 1)/homogeneous pattern of nuclear fluorescence (Fig. 1)	jądra komórek HEp-2 wykazują homogeną fluorescencję; chromosomy komórek w metafazie, anafazie i telofazie wykazują intensywną fluorescencję; w cytoplazmie nie stwierdza się żadnych typów fluorescencji/HEp-2 cell nuclei display homogeneous fluorescence; chromosomes of cells in metaphase, anaphase and telophase demonstrate intense fluorescence; absence of any type of fluorescence in the cytoplasm	<ul style="list-style-type: none"> – przeciwciała przeciw dsDNA – toczень rumieniowaty układowy (TRU)/anti-dsDNA antibodies – systemic lupus erythematosus (SLE) – przeciwciała przeciwhistonowe – TRU indukowany lekami, reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS), zespół Felty'ego i autoimmunologiczne zapalenie wątroby/ anti-histone antibodies – drug-induced SLE, rheumatoid arthritis (RA), juvenile idiopathic arthritis (JIA), Felty's syndrome and autoimmune hepatitis – przeciwciała przeciw chromatynie (DNA/histony, nukleosomy) – TRU/anti-chromatin antibodies (DNA/histones, nucleosomes) – SLE
błonowy typ fluorescencji jądra komórkowego/Rim-like pattern of nuclear fluorescence	fluorescencja błony jądrowej; nie stwierdza się fluorescencji jądra i cytoplazmy komórek HEp-2/fluorescence of the nuclear membrane; absence of HEp-2 cell nuclear or cytoplasmic fluorescence	– przeciwciała przeciw błonie jądrowej występują u chorych na pierwotną żółciową marskość wątroby; niekiedy stwierdza się je u chorych na TRU, twardzinę miejscową oraz zespół antyfosfolipidowy/anti-nuclear membrane antibodies are present in patients with primary biliary hepatic cirrhosis; they are occasionally seen in patients with SLE, localised sclerosis and antiphospholipid syndrome
„gruboziarnisty” typ fluorescencji jądra komórkowego/“coarse granular” pattern of nuclear fluorescence	jądra komórkowe wykazują heterogeną, gruboziarnistą fluorescencję; jąderko, cytoplazma ani wrzeciono podziałowe nie wykazują fluorescencji/cell nuclei display heterogeneous, coarse granular fluorescence; there is no nucleolar, cytoplasmic or mitotic spindle fluorescence	<ul style="list-style-type: none"> – przeciwciała anty-Sm – typowe dla tocznia rumieniowatego układowego/anti-Sm antibodies – typical for systemic lupus erythematosus – przeciwciała anty-RNP – typowe dla mieszanej choroby tkanki łącznej, mogą być obecne także u chorych na toczень rumieniowaty układowy/anti-RNP antibodies – typical for mixed connective tissue disease; may also be present in patients with systemic lupus erythematosus
„drobnoziarnisty” typ fluorescencji jądra komórkowego/“fine granular” pattern of nuclear fluorescence	jądra komórek HEp-2 wykazują drobnoziarnistą fluorescencję; nie stwierdza się fluorescencji jąderka, cytoplazmy/HEp-2 cell nuclei display fine granular fluorescence; absence of nucleolar, cytoplasmic fluorescence	<ul style="list-style-type: none"> – przeciwciała przeciw SS-A/Ro – występują u chorych na zespół suchości, TRU, toczень noworodków, pierwotną żółciową marskość wątroby/anti-SS-A/Ro antibodies – found in patients with dryness syndrome, SLE, neonatal lupus, primary biliary hepatic cirrhosis – przeciwciała przeciw SS-B/La – stwierdza się je u chorych na zespół suchości, toczень noworodków/anti-SS-B/La antibodies – found in patients with dryness syndrome, neonatal lupus

orescencji jądra, jąderka, chromosomów w metafazie oraz cytoplazmy. Ich obecność można stwierdzić u chorych na toczeń rumieniowaty układowy, przewlekłe zapalne choroby wątroby [7].

Typy fluorescencji cytoplazmy linii komórkowej HEp-2

Typ cytoplazmatyczny „Milky Way”

Typ określany jako fluorescencja drobnodziarnista obejmująca równomiernie całą cytoplazmę, jądra i chromosomy w metafazie są niewidoczne. Zwykle przeciwciała te swoiście reagują z antygenem Jo-1. Służą do rozpoznania zapalenia wielomięśniowego, rzadko zapalenia skórno-mięśniowego.

Typ cytoplazmatyczny gruboziarnisty (przypominający lizosomalny)

Ten typ fluorescencji cytoplazmy jest bardzo rzadki. Określany jest jako fluorescencja okrągłych, średnich lub dużych organelli komórkowych rozproszonych w całej cytoplazmie, nie stwierdza się fluorescencji jądra i jąderka. Fluorescencja może być wynikiem obecności przeciwciał reagujących z lizosomami lub peroksisomami.

Typ cytoplazmatyczny drobnodziarnisty (przypominający mitochondrialny)

Ten typ jest określany jako ziarnistości rozproszone równomiernie od jądra poprzez cytoplazmę po brzegi komórki, czasami tworzące skupiska ziarnistości. Taka fluorescencja wymaga potwierdzenia na innych źródłach antygeny (wątroba, nerka) inną metodą diagnostyczną, np. *immunodot*. Obecność przeciwciał w mianie powyżej 1/40 stanowi jedno z kryteriów rozpoznania pierwotnej marskości wątroby.

Typ włóknisty przypominający tropomiozynę

Typ określany jako fluorescencja włókien nierównomiernie rozłożonych w cytoplazmie, głównie przy jądrze komórkowym. Jądro, jąderka oraz chromosomy w metafazie nie wykazują fluorescencji. Jest to stosunkowo rzadki typ fluorescencji cytoplazmy, stwierdzany zwykle w chorobie Leśniowskiego-Crohna i w *myasthenia gravis*. W przypadku gdy przeciwciała występują w niskim mianie, nie mają znaczenia klinicznego.

Typ włóknisty przypominający wimentynę

Typ określany jako fluorescencja włókien rozproszonych w cytoplazmie komórki, które często skupiają się wokół jądra komórkowego. Nie stwierdza się fluorescencji jądra,

metaphase chromosomes and the cytoplasm are free of fluorescence. This pattern may be found in patients with systemic lupus erythematosus, or chronic hepatitis [7].

Hep-2 cell line cytoplasmic fluorescence patterns

The cytoplasmic “Milky Way” pattern

This is described as fine granular fluorescence distributed uniformly throughout the whole cytoplasm; the nucleus and metaphase chromosomes are not visible. Generally, these antibodies react specifically with the Jo-1 antigen. They are used to diagnose polymyositis and, rarely, dermatomyositis.

The cytoplasmic coarse granular (lysosome-like) pattern

This is a very rare type of cytoplasmic fluorescence. It is described as fluorescence of round, medium or large cell organelles dispersed throughout the cytoplasm; there is no nuclear or nucleolar fluorescence. This fluorescence may be caused by the presence of antibodies that react with lysosomes or peroxisomes.

The cytoplasmic fine granular (mitochondria-like) pattern

This pattern is described as granules distributed uniformly from the nucleus, throughout the cytoplasm, up to the edges of the cell, occasionally forming granular aggregates. This pattern of fluorescence requires corroboration using other antigen sources (liver, kidney) and an alternative diagnostic technique, e.g. immunodot. The presence of antibodies in titers exceeding 1/40 is one of the criteria for diagnosing primary hepatic cirrhosis.

The fibrinoid tropomyosin-like pattern

This pattern is described as fluorescence of fibrils distributed irregularly in the cytoplasm, mainly in the vicinity of the nucleus. The nucleus, nucleoli and metaphase chromosomes do not exhibit any fluorescence. This is a relatively rare type of cytoplasmic fluorescence, usually observed in Crohn's disease and in myasthenia gravis. In cases where antibodies occur in low titers, they do not have clinical significance.

The fibrinoid vimentin-like pattern

This pattern is described as fluorescence of fibrils distributed throughout the cytoplasm, often aggregating around the nucleus. The nucleus, nucleoli and metaphase chromosomes do not display any fluorescence. Antibodies responsible for this pattern of cytoplasmic fluorescence

jąderka oraz chromosomów w metafazie. Przeciwciała odpowiedzialne za ten typ fluorescencji cytoplazmy nie mają znaczenia klinicznego w diagnostyce chorób tkanki łącznej. Ich obecność obserwuje się u chorych na choroby wątroby, szczególnie w oalkoholowej marskości wątroby, oraz w niskim mianie w przebiegu różnych przewlekłych chorób zapalnych i zakaźnych.

Nowe typy fluorescencji cytoplazmy komórek HEp-2

W 2009 r. na III Brazylijskim Spotkaniu dotyczącym rekomendacji w standaryzacji ANA ogłoszono występowanie nowego typu cytoplazmatycznej fluorescencji linii komórkowej HEp-2 [6]. Nazwano go typem „rings and rods”. Przy użyciu metody immunofluorescencji pośredniej obserwuje się w cytoplazmie komórek jednocześnie wzór obrączkowy i pałeczkowy, czasami podobny do przecinka (ryc. 1a, b). Ten wzór fluorescencji występuje u chorych z zakażeniem HCV. Wykazano, że autoprzeciwciała tego typu swoiście reagują z dehydrogenazą inozyno-5'-monofosforanu (IMPDH2) [8].

Ocena swoistości autoprzeciwciał

W przypadku stwierdzenia obecności ANA konieczne jest określenie ich swoistości. Obecnie dokonuje się tego z wykorzystaniem metody ELISA lub immunoblot. Dostępne są liczne komercyjne zestawy do szczegółowej oceny swoistości autoprzeciwciał, np. ANA-profil. Ponadto wykorzystuje się profile oceniające swoistość ANA w poszczególnych chorobach reumatycznych, tj. *sclerosis profil* (profil twardziny), *myositis profil* (profil zapalenia mięśni). Dla przykładu w skład *sclerosis profil* wchodzi anty-

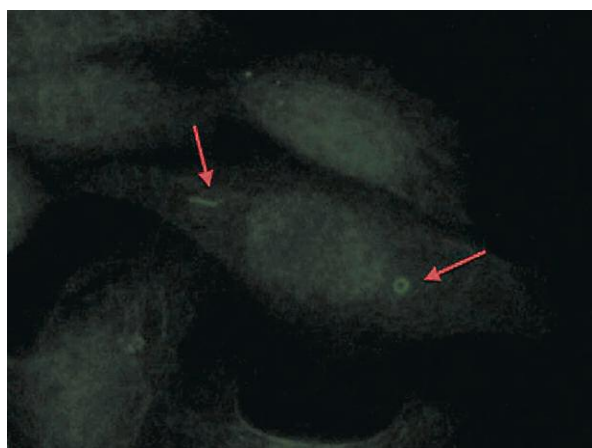
do not possess any clinical significance in diagnosing connective tissue disorders. They may be observed in patients with liver disease, particularly in post-alcoholic cirrhosis of the liver and, in low titers, in the course of various chronic inflammatory and infectious diseases.

New patterns of HEp-2 cell cytoplasmic fluorescence

In 2009, during the Third Brazilian Consensus organized to discuss recommendations for ANA standardization, an announcement was made regarding a new pattern of HEp-2 cell line cytoplasmic fluorescence [6]. This was described as the “rings and rods” pattern. The indirect immunofluorescence technique reveals the presence of both ring and rod patterns within the cell cytoplasm; sometimes they are comma-like in appearance (Figs. 1a, b). This pattern of fluorescence is observed in patients with HCV infection. It has been demonstrated that such autoantibodies react specifically with inosine-5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH2) [8].

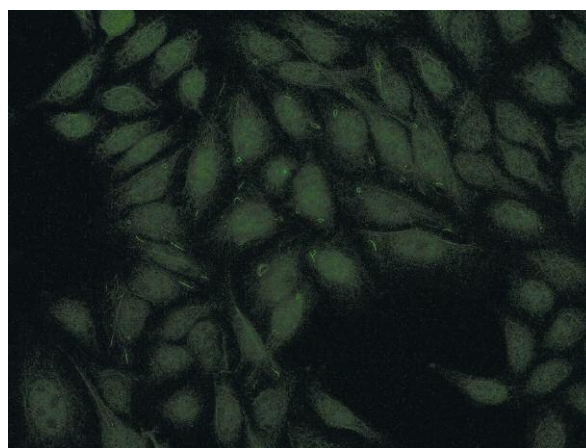
Assessment of autoantibody specificity

If ANA are detected, it becomes necessary to evaluate their specificity. At present, this is done using ELISA or immunoblot assays. Numerous commercial kits are available to conduct a detailed evaluation of autoantibody specificity, for example the ANA profile. Furthermore, there are profiles that assess ANA specificity in particular rheumatic diseases, i.e. the sclerosis profile and the myositis profile. The sclerosis profile, for example, is comprised of antigens that react with antibodies directed against: Scl-70, centromere A, centromere B, RNA polymerase III (11 kDa), RNA



Ryc. 1a. Przeciwciała typu „rings and rods” (metoda immunofluorescencji pośredniej, powiększenie 500 ×).

Fig. 1a. Rings and rods pattern of antibodies (indirect immunofluorescence, magnification 500 ×).



Ryc. 1b. Przeciwciała typu „rings and rods” (metoda immunofluorescencji pośredniej, powiększenie 250 ×).

Fig. 1b. Rings and rods pattern of antibodies (indirect immunofluorescence, magnification 250 ×).

geny reagujące z przeciwciałami skierowanymi przeciwko: Scl-70, centromery A, centromery B, RNA polimeraza III (11 kDa), RNA polimeraza III (155 kDa), fibrylarynie, NOR-90, Th/To, PM-Scl-100, PM-Scl-75, Ku, PDGFR, Ro-52 [9].

Serdeczne podziękowania dla prof. Stefana Mackiewicza i prof. Ireny Zimmermann-Górskiej za inspirację do podjęcia badań i stworzenie warunków do rozwoju naukowego i klinicznego, dla żony – mgr analityki medycznej Grażyny Białkowskiej-Puszczewicz, z którą wspólnie rozwiązywaliśmy „zagadki” diagnostyki serologicznej i nadal to czynimy, oraz dla pani Anny Bakalarczyk, będącej „techniczną” opoką Pracowni Diagnostyki Reumatologicznej przy Katedrze i Klinice Reumatologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Autor deklaruje brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo

References

1. Satoh M, Chan EKL, Ho LA, et al. Prevalence and sociodemographic correlates of antinuclear antibodies in the united states. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 2319-2327.
2. Puszczewicz M. Badania serologiczne w chorobach reumatycznych. W: *Reumatologia*. Medical Tribune, Warszawa 2010.
3. Cabiedes J, Nunez-Alvarez CA. Antinuclear antibodies. *Rheumatol Clin* 2010; 6: 224-30
4. Humber RL. Detection of antinuclear antibodies by immunofluorescence, part I. In: *Manual of biologic markers of disease*, Maini RN, van Venrooij WJ (eds). Kluwer, Dordrecht 1993.
5. Wiik AS, Hoier-Madsen M, Forslid J, et al. Antinuclear antibodies: A contemporary nomenclature using HEp-2 cells. *J Autoimmunol* 2010; 35: 276-290.
6. Dellavance A, Junior AG, Nuccitelli B, et al. Third Brazilian Consensus for autoantibodies screening in HEp-2 cells (ANA). *Rev Bras Reumatol* 2009; 49: 89-109.
7. Vermeersch P, Bossuyt X. Prevalence and clinical significance of rare antinuclear antibody patterns. *Autoimmun Rev* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2013.03.014>
8. Stinton LM, Myers RP, Coffin CS, Fritzler MJ. Clinical associations and potential novel antigenic targets of autoantibodies directed against rods and rings in chronic hepatitis C infection. *BMC Gastroenterology* 2013; 13: 50.
9. Mehra S, Walker J, Patterson K, Fitzler MJ. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Autoimmunity Rev* 2013; 12: 340-354.

polymerase III (155 kDa), fibrillarin, NOR-90, Th/To, PM-Scl-100, PM-Scl-75, Ku, PDGFR and Ro-52 [9].

I wish to express my sincere gratitude to Professor Stefan Mackiewicz and Professor Irena Zimmermann-Górska for the inspiration to undertake research and for creating the conditions for scientific and clinical development; to my wife – Grażyna Białkowska-Puszczewicz, Master in Medical Analytics – together we solved diagnostic serology “rid-dles” and continue to do so – and also to Ms. Anna Bakalarczyk, the “technical bedrock” of the Rheumatology Diagnostics Laboratory attached to the Chair and Department of Rheumatology and Internal Diseases of the Karol Marcinkowski Medical University in Poznan.

Author declares no conflict of interests.