

Celowość oznaczania surowiczych autoprzeciwciał niezaliczanych do kryteriów diagnostycznych układowych chorób tkanki łącznej

Purpose of assessment of serum autoantibodies not included in CTD diagnostic criteria

Jakub Ząbek

Zakład Mikrobiologii i Serologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie;
kierownik Zakładu dr hab. n. biol. Jakub Ząbek, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Stawomir Maśliński

Słowa kluczowe: układowe choroby tkanki łącznej, autoprzeciwciała markerowe, autoprzeciwciała pomocnicze, częstość występowania, swoistość, metody oznaczania.

Key words: connective tissue diseases, “marker” autoantibody, “auxiliary” autoantibodies, frequency of appearance, specificity, methods of autoantibody assessment.

Streszczenie

W pracy omówiono autoprzeciwciała *pomocnicze*, tj. niezaliczone do kryteriów diagnostycznych, ale charakteryzujące się stosunkowo wysoką swoistością (choć niekoniecznie wysoką częstością występowania) dla danej jednostki chorobowej, a ponadto korelujące z określonymi objawami klinicznymi czy aktywnością choroby lub mające znaczenie prognostyczne. Uwzględniono tylko te autoprzeciwciała, dla których są już dostępne testy komercyjne, lub te, których technika oznaczania i metody pozyskiwania antygenów są na tyle proste, że mogą być włączone do diagnostyki rutynowej. Ponieważ na ogół obserwujemy bardzo charakterystyczne profile autoprzeciwciał w każdej z układowych chorób tkanki łącznej, oznaczenie swoistości tych autoprzeciwciał może być użyteczne w praktyce (diagnostyce różnicowej) tych chorób w nierzadkich sytuacjach, gdy nieobecne jest podstawowe autoprzeciwciała *markerowe*.

Summary

In the paper the author discusses the importance of the so-called “auxiliary” autoantibodies – not included in the diagnostic criteria, but with a relatively high “specificity” (but not necessarily high sensitivity) for certain diseases and additionally correlated with clinical manifestation, disease activity and treatment and also possessing prognostic value. Because we usually observe very characteristic profiles of these antibodies in certain diseases, assessment of these autoantibodies can be a very useful tool in differential diagnosis of the CTDs, especially in not so rare cases, when basic “marker” autoantibody is absent.

We take into consideration only those above-mentioned autoantibodies when kits for assessment are available as a commercial package and for other autoantibodies when the technology of preparation of antigens and autoantibody assessment is so simple that the whole procedure can be done in a routine way.

Wprowadzenie

Autoimmunizacja *nieswoista narządowo (organ non-specific autoimmunity)* jest zjawiskiem powszechnym i typowym dla układowych chorób tkanki łącznej. Przejawia się obecnością w krążeniu autoprzeciwciał oraz autoreaktywnych limfocytów T skierowanych przeciwko różnym antygenom gospodarza (na ogół takim,

które są typowymi składnikami wszystkich jąder komórkowych), a które należałoby zbiorczo określić jako antygeny jądrowe, stąd zbiorcza nazwa przeciwciała przeciwjądrowe (ANA – *anti-nuclear antibodies*) [1–3]. Poza tą główną grupą autoprzeciwciał jest wiele takich, których swoistość jest skierowana przeciwko składnikom cytoplazmy (a nie jądra komórkowego), ale takim, które biorą udział w realizacji procesów sterowanych

Adres do korespondencji:

dr hab. biol. Jakub Ząbek, Zakład Mikrobiologii i Serologii, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. E. Reicher, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa

i zainicjowanych w jądrze komórkowym (np. w procesie translacji, czyli syntezy białka), a które zwyczajowo są też wliczane do przeciwciał ANA [4]. Należy także dla porządku wspomnieć o dużej grupie autoprzeciwciał skierowanych bezpośrednio przeciwko komponentom antygenowym aparatu ruchu, takim jak przeciwciała dla kolagenów, proteoglikanów oraz białek towarzyszących, a wchodzących jako elementy budulcowe w skład różnych typów tkanki łącznej, chrząstek i stawów [5, 6].

Znaczenie praktyczne tych autoprzeciwciał w diagnostyce różnicowej wynika z faktu, że obecność autoprzeciwciał może być patognomoniczna dla danej choroby, miano niektórych autoprzeciwciał odzwierciedla zaś aktywność procesu chorobowego, a obecność danego autoprzeciwciała koreluje z określonymi objawami klinicznymi [7]. Znaczenie tych autoprzeciwciał podnosi także fakt, że uczestniczą one prawdopodobnie bezpośrednio lub pośrednio w patomechanizmach charakterystycznych dla poszczególnych układowych chorób tkanki łącznej, a dyskusja nad ich udziałem w patomechanizmie nie jest zakończona. Są także autorzy, którzy uważają autoprzeciwciała za wtórny fenomen towarzyszący pojawieniu się antygenów *sekwestrowanych* w krążeniu lub że są one wynikiem mimikry antygenowej antygenów bakteryjnych i gospodarza [8, 9]. Niemniej jednak przynajmniej niektóre z tych autoprzeciwciał mogą bezpośrednio wpływać na ważne procesy

fizjologiczne komórki poprzez zahamowanie (inhibicję) enzymów uczestniczących w realizacji tych procesów [4]. Ze względu na stosunkowo małą częstość występowania i/lub występowanie także w innych jednostkach chorobowych (tab. I), tylko kilkanaście z kilkudziesięciu z nich ma zasadnicze znaczenie w diagnostyce różnicowej chorób przebiegających z autoimmunizacją. Są one zaliczone do kryteriów diagnostycznych danych jednostek jako tzw. przeciwciała *markerowe* [10].

Obok ww. cech autoprzeciwciał szczególnie cenny wydaje się fakt ich wczesnego występowania na etapie, gdy brak jest jeszcze swoistych dla danej jednostki objawów klinicznych – co zwykle określa się jako niezróżnicowaną chorobę tkanki łącznej, a fakt wystąpienia wczesnego określonego przeciwciała *markerowego* uprawdopodobnia kierunek rozwoju niezróżnicowanej układowej choroby tkanki łącznej w określonej jednostkę. Jeśli nawet pojawienie się takiego wczesnego *markera* nie jest jeszcze powodem do zmiany kierunku terapii – co dotyczy autoprzeciwciał, które nie są jeszcze zaliczone do kryteriów diagnostycznych (np. przeciwciała anty-CCP) – to w każdym razie jest powodem do częstszej, dokładniejszej i uważniejszej obserwacji danego pacjenta pod kątem ewentualnego wystąpienia w przyszłości pełnoobjawowej choroby tkanki łącznej.

Spośród metod skryningowych najwyższą wartość diagnostyczną ma metoda immunofluorescencji ANA

Tabela I. Częstość występowania autoprzeciwciał zaliczonych do kryteriów diagnostycznych lub uznanych za markerowe w surowicach chorych na układowe choroby tkanki łącznej

Table I. Frequency of autoantibodies appearance included in the diagnostic criteria or recognized as “markers” in the sera of CTD patients

Przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi	Jednostka chorobowa						
	SLE (%)	toczeń polekowy (%)	MCTD (%)	pierwotny zespół Sjögrena (%)	twardzina układowa (%)	zapalenie wielo- i skórnomięśniowe (PM/DM) (%)	RZS (%)
dsDNA	60–80*	–	–	–	–	–	–
histony	<70	95–100*	–	–	–	–	–
SS-A/Ro/	30–40	–	–	60–80*	–	–	~50
SS-B/La/	15	–	–	40–60*	–	–	<5
Sm	30–40*	–	–	–	–	–	–
U1snRNP	30–50	20	95–100*	30	20	–	–
Jo-1	–	–	–	–	–	25*	–
Scl-70	–	–	–	–	~30*	–	–
centromery	–	–	–	–	~30*	–	–
RF	–	–	–	>90*	–	–	85*

* przeciwciała uznawane za markery danej jednostki chorobowej (dane na temat częstości występowania pochodzą z cytowanych w artykule prac)

(IF), z zastosowaniem jako substratu komórek Hep-2, oraz jej modyfikacja z zastosowaniem koniugatów antyglobulinowych związanych z peroksydazą chrzanową, zwana metodą *Colorzyme*. Obie te metody dają kilka typowych obrazów (*patterns*) świecenia (w metodzie IF) lub wybarwienia (w metodzie *Colorzyme*), którym przyporządkowane są przeciwciała o określonej swoistości – zwykle, niestety, kilka autoprzeciwciał daje ten sam (lub zbliżony) typ świecenia [11, 12]. Ustalenie swoistości następuje zwykle testem ELISA lub Western-blotting (też DOT-blotting) [13, 14]. Zastosowanie testów o wysokiej czułości do ustalenia swoistości przeciwciał ANA zwiększyło częstość wykrywania przeciwciał *markerowych* i w konsekwencji wykrywania określonych jednostek chorobowych.

W prawidłowo prowadzonej strategii oznaczania przeciwciał ANA stosowana jest tzw. kaskadowa (4-etapowa) metoda oznaczania autoprzeciwciał. W pierwszym etapie stosuje się testy skryningowe (IIF-ANA-screen czy ANA-ELISA-screen). Następnie (jeśli test ANA jest dodatni) ustala się swoistość przeciwciał ANA (2. etap), a potem (3. etap) swoistości dla podtypów antygeny ANA (*fine specificities*). Etap 4. jest prowadzony tylko wtedy, gdy nie można wyżej opisanymi metodami opisać żadnej z typowych swoistości autoprzeciwciał i zwykle dokonuje się tego kombinowanymi metodami biochemiczno-immunochemicznymi [15].

Bez względu na to, jaką zastosuje się czułość metody, zawsze można zaobserwować grupę tzw. surowic *seronegatywnych* pod względem obecności danego markera serologicznego, co może mieć kluczowe znaczenie dla procesu stawiania diagnozy [16]. W tej sytuacji nie pozostaje nic innego, jak skorzystać z tej grupy autoprzeciwciał, niewprowadzonych do kryteriów diagnostycznych, gdyż także one mają określoną owymi kryteriami (częstość występowania, swoistość, wartość prognostyczną czy korelację z aktywnością choroby i określonymi objawami klinicznymi) wartość i dlatego powinny być określone jako *markery pomocnicze*. Niektóre zresztą z wyżej opisanych *markerów pomocniczych* z czasem są włączane do kryteriów diagnostycznych danej jednostki, np. w 2005 r. przeciwciała dla β 2-GP-I [17]. Zapewne niedługo stanie się tak z przeciwciałami dla CCP występującymi w RZS [18]. W tab. II przedstawiono listę tych dodatkowych *markerów pomocniczych* występujących w poszczególnych jednostkach chorobowych [4].

Najważniejsze autoprzeciwciała pomocnicze niewłączone do kryteriów diagnostycznych układowych chorób tkanki łącznej

W reumatoidalnym zapaleniu stawów występuje wiele autoprzeciwciał [1, 4, 18], ale tylko jedno o ustalonym

znaczeniu diagnostycznym, czyli wykryty w 1949 r. przez Waalera i Rose czynnik reumatoidalny (RF) klasy IgM (tzw. klasyczny czynnik RF-IgM), pozostający do dziś głównym serologicznym markerem choroby, zaliczonym do kryteriów diagnostycznych. RF-IgM to przeciwciała *markerowe* o niewielkiej dynamice poziomów (brak korelacji z intensywnością choroby), mające pewne znaczenie prognostyczne. Niestety, RF-IgM występuje też w większości jednostek chorobowych o etiologii infekcyjnej, co istotnie zmniejsza jego znaczenie diagnostyczne. Ponadto w 25–30% przypadków ewidentnego RZS brak jest RF-IgM, co zresztą stało się powodem do podziału grupy RZS na tzw. RZS seropoztywne i RZS seronegatywne. Zalicza się tu także czynniki RF klasy IgG i IgA – mające w zasadzie, aczkolwiek niesłusznie, znaczenie tylko pomocnicze.

Inne przeciwciała

Pozostałe autoprzeciwciała, tj. przeciwciała przeciwko kolagenowi II, elastynie, antygenowi RA-33 czy wreszcie z grupy przeciwciał antykeratynowych, a z ostatnio wprowadzonych – przeciwciała anty-CCP (przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi) [1, 4, 18] wg danych z literatury występują aż w ok. 80% (40–60%) przypadków RZS, w tym – co ważne – w 25–30% przypadków RF-IgM seronegatywnych. Ich obecność w surowicach chorych na RZS ma znaczenie patognomiczne dla tej jednostki. Występują one ponadto we wczesnych stadiach RZS, a ich poziomy są wskaźnikiem aktywności i wskaźnikiem prognostycznym ciężkości przebiegu choroby [18].

Z niedawno odkrytych należy wymienić przeciwciała anty-Sa, które po raz pierwszy zostało oznaczone u pacjenta o nazwisku Savoie przez Despresa i wsp. [19].

Antygen wykryto w wyciągach białkowych z ludzkiego łożyska oraz śledziony, a ostatnio wykazano jego obecność w łuszczce reumatoidalnej. Ciężar cząsteczkowy antygeny Sa z łożyska wynosi 55 kD, jest on związany z innym białkiem o ciężarze cząsteczkowym 50 kD, które także występuje w śledzionie.

Przeciwciała anty-Sa są wykrywane w surowicach ponad 40% ogółu chorych na RZS, w tym w ok. 30% przypadków wczesnego RZS i w 47% przypadków zaawansowanego RZS. Przeciwciała anty-Sa korelują z RF-IgM, są charakterystyczne dla przypadków przewlekłego RZS, towarzysząc w ok. 66% zmianom destrukcyjnym [20].

Przeciwciała te występują w surowicach ok. 22% dzieci cierpiących na młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS), a także u 7% osób bez objawów RZS. Swoistość anty-Sa jest wysoka – 92–98% [21]. Do tej pory brak jest testów komercyjnych służących do oznaczania przeciwciał anty-Sa.

Tabela II. Charakterystyka podstawowych parametrów autoprzeciwciał z grupy tzw. „pomocniczych” (nie włączonych do kryteriów diagnostycznych układowych chorób tkanki łącznej)

Table II. Characterisation of basic parameters of autoantibodies from the group of so-called “auxiliary” autoantibodies (not included in the diagnostic criteria of CTDs)

a) toczeń + zespół antyfosfolipidowy						
Jednostka chorobowa	Autoproteiny dla:	ANA	Typ ANA Hep-2	Częstość występowania (w danym schorzeniu)	Swoistość	Znaczenie kliniczne
toczeń rumieniowaty układowy	nukleosomy	+	homogenno-plamisty	~60%	wysoka	spadek po terapii
	rybosomalne białko P	(-)	cytoplazma(+) drobnoplamista	10–20%	wysoka	objawy neurologiczno- psychiatryczne zajęcie nerek
	PCNA	+		3%	wysoka	nieznane
	HMG 17	+	polimorficzne	34–70%	niska	nefropatia, korelacja z aktywnością choroby
	ubikwityna	(-)	nieznany	20–30%	niska	nieznana
	Ku	+	nieznany homogenno-jądrowe i jądrowe	1–19%	umiarkowana	nadciśnienie płucne
zespół antyfosfolipidowy	anty-β ₂ GP-I*	(-)	nieznany	>20%	wysoka	zakrzepice, poronienia, TCP, <i>livedo reticularis</i>
	inne przeciwciała antykoagulatorne	(-)	nieznany	<20%	umiarkowana	zakrzepice, poronienia, TCP, <i>livedo reticularis</i>
b) RZS + zespół Sjögrena						
reumatoidalne zapalenie stawów	anty-CCP	(-)	cytoplazmatyczne	40–80%	wysoka	znaczenie rokownicze, szczególnie wczesne RZS
	RF-IgG	(-)		~40%	umiarkowana	aktywność choroby
	RF-IgA	(-)		<20%	umiarkowana	wczesna nadżerkowość
	Ra-33	±?	plamisty	>30%	średnia/wysoka	niejednoznaczne
zespół Sjögrena	α-fodryna	(-)	nieznane	~60%	wysoka	choroby układowe
c) twardzina układowa + zapalenie wielomięśniowe						
twardzina i zespół nakładania	PM-Scl	+	homogenno- jądrowy	2–5%	umiarkowana	zmiany skórne, zajęcie mięśni i jelit, nadciśnienie płucne
	polimeraza RNA I-IV	+	plamisto-jądrowy	4%	umiarkowana	nieznane
	fibrylaryna/U2RNP	+	plamisto-jądrowy	6–8%	umiarkowana	nieznane
zapalenie wielomięśniowe	PL-7	+	cytoplazmatyczno-plamisty	3–5%	wysoka	zajęcie płuc
	PL-12	(-)	cytoplazmatyczno-plamisty	3–5%	wysoka	zajęcie płuc
	Mi-2	(-)	nieznany	>3%	wysoka	nieznane

* włączone do kryteriów ZAS w 2005 r.

** anty-AT III, antyprotrombina, anty-ANX-V oraz inne

W toczniu rumieniowatym układowym (SLE) pomimo bogactwa autoprzeciwciał, których jest ponad 20, podobnie jak w RZS jest niewiele pewnych autoprzeciwciał *markerowych*. Przeciwciała dla antygenu Sm (włączone, obok przeciwciał dla dsDNA, do kryteriów diagnostycznych) występują np. tylko w ok. 15–30% przypadków, a przeciwciała przeciw dsDNA występują przeciętnie w 60–90% przypadków, korelują z aktywnością choroby i są dobrym wskaźnikiem skuteczności leczenia [22].

Jednakże w ok. 25% przypadków SLE brak jest obu tych parametrów [23]; w tej sytuacji bardzo dobrym prognostykiem dla serodiagnostyki SLE jest pojawienie się wielu prac, a co ważniejsze, prawie jednocześnie testów do wykrywania przeciwciał dla *nukleosomów* (anty-Nucl). Co istotne, jednocześnie pojawiały się odpowiednie komercyjnie dostępne testy ELISA i Western-blot [24].

Przeciwciała anty-Nucl stwierdza się w ok. 60% przypadków, a w twardzinie i PM tylko w 2%. Nie występują one w grupie zdrowych dawców. Ponadto, wg Schumbergera i wsp. [25], przeciwciała anty-Nucl są patognomiczne dla SLE, a ich odsetek występowania (ok. 60%) przekracza częstość występowania innych *markerów* SLE jak anty-Sm (do 30%) i anty-rib RNP (do 15%) i jest porównywalny z przeciwciałami dla dsDNA (60–90%).

Poza przeciwciałami dla nukleosomów pod uwagę należy brać grupę antygenów dających tak częsty w SLE typ homogenno-plamisty ANA, do której zalicza się następujące antygeny: PCNA, Ku, HMG-17 i ubikwitynę. Przeciętne częstości występowania przeciwciał dla tych antygenów wynoszą: 34–70% dla HMG-17, ok. 3% dla PCNA, 1–13% dla antygenu Ku i 20–30% dla ubikwityny. Niestety, poza przeciwciałami dla antygenu PCNA i Ku, które charakteryzują się nieco wyższymi swoistościami dla SLE, przeciwciała te występują także w innych układowych chorobach tkanki łącznej [4, 29]. Z nowych (niepublikowanych) danych wynika, że te autoprzeciwciała są swoistościami, za pomocą których można wyjaśnić znaczną część przypadków SLE *ANA-dodatniego*, w którym nie udaje się oznaczyć swoistości.

Z grupy przeciwciał antykofaktorowych lub związanych z pulą przeciwciał antyfosfolipidowych (aPL) warto zwrócić uwagę na przeciwciała dla aneksyny V i dla oxy-LDL ze względu na fakt, że częstość ich występowania w SLE wynosi: dla anty-ANX-V przeciętnie 30%, a dla oxy-LDL 30–40% [26]. Wartość diagnostyczna tych przeciwciał wynika z faktu, że udowodniono ich bezpośredni związek z patomechanizmami (choć dla obu przeciwciał różnymi) występującymi w SLE, SAPS i PAPS.

W związku z tym, że dotychczas nie udowodniono bezpośredniego udziału przeciwciał aPL w patomechanizmie zespołów neuropsychiatrycznych występujących w toczniu, przedmiotem intensywnych badań jest grupa przeciwciał wprowadzanych do serodiagnostyki SLE. Są

nimi przeciwciała antyneuralne, tj. skierowane przeciwko komponentom komórek nerwowych (mielinie – MAG, dekarboksylazie glutaminianowej – GAD, komórkom Purkiniego – Yo, jądom neuronów – Hu, Ri), ale ich znaczenie dla patomechanizmów występujących w SLE jest jeszcze dalekie od wyjaśnienia [27].

W diagnostyce zespołu Sjögrena wykorzystuje się 2 ważne autoprzeciwciała markerowe: anty-SSA i anty-SS-B, których częstość występowania jest stosunkowo duża (ok. 90% przypadków pierwotnego i ok. 60–70% przypadków wtórnego zespołu Sjögrena). Znacznie gorsza jest sytuacja w dziecięcym zespole Sjögrena: w ponad 30% przypadków nie stwierdza się ani przeciwciała anty-SSA, ani anty-SSB, a na dodatek w ok. 75% przypadków brak jest pełnych objawów klinicznych; dlatego ograniczone tych markerów w diagnostyce dziecięcego zespołu Sjögrena jest znaczenie.

Nadzieją w serodiagnostyce zespołu Sjögrena (szczególnie u dzieci) jest przeciwciała dla α -fodryny, stwierdzone w ok. 60% surowic dorosłych i w zbliżonym odsetku surowic dzieci z tym zespołem [28]. Jest to białko o ciężarze cząsteczkowym 240 kD (podjednostka fodryny), wchodzące w skład cytoszkieletu komórek ślinianek. W pierwszych, nielicznych jeszcze pracach sugeruje się, że przeciwciała dla α -fodryny mają także znaczenie prognostyczne, gdyż wyprzedzają zarówno objawy kliniczne, jak i zmiany patomorfologiczne obserwowane w śliniankach.

Szczególnie trudnymi w diagnostyce serologicznej jednostkami z układowych chorób tkanki łącznej są: twardzina układowa (*scleroderma*), zapalenie wielomięśniowe (*polymyositis* – PM), czy zespoły nakładania twardziny i zapalenia wielomięśniowego, w których jest szczególnie mało autoprzeciwciał markerowych. W ich przypadku właściwie dysponujemy tylko trzema wartościowymi autoprzeciwciałami markerowymi, tj. przeciwciałami dla antygenu Scl-70 (30% w twardzinie, wysoka swoistość), przeciwciałem dla centromerowego białka B (ok. 30% w twardzinie ograniczonej) oraz przeciwciałami dla aminoacylo-tRNA syntetaz [4]. Przykładowo częstość występowania przeciwciał dla antygenu Jo-I (histydyno-tRNA syntetaza) w zapaleniu wielomięśniowym wynosi ok. 25% [4, 29]. W zapaleniu wielomięśniowym wskazane jest, w przypadku braku przeciwciał dla antygenu Jo-I, oznaczanie przeciwciał dla innych aminoacylo/RNA syntetaz (alanylowej anty-PL-7 czy treonylowej PL-12) [4 oraz dane własne niepublikowane], a także przeciwciał dla antygenu Mi-2, który w PM występuje w ok. 10% przypadków i jest to przeciwciała o stosunkowo wysokiej swoistości dla tej jednostki. Już od dłuższego czasu do oznaczania przeciwciała dla antygenu PM-Scl, które jest wysoce swoiste dla zespołu nakładania PM i DM, a częstość jego występowania wynosi średnio 5–10%, można wykorzystać testy ELISA.

Podsumowując, trzeba stwierdzić, że ciągły postęp w serodiagnostyce autoprzeciwciał oraz antygenów, polegający na wprowadzeniu niezwykle czułych i złożonych technicznie metod, zmusza do szczególnego przestrzegania standardowych warunków oznaczeń oraz rozwinięcia szerokiego programu standaryzacji, obejmującego nie tylko standaryzację metodyki, ale także stosowanych reagentów i surowic wzorcowych.

Piśmiennictwo

1. Systemic Autoimmunity. Bigazzi PE, Reichlin M (red.). Mariel Dekler Inc, NewYork, Bask, Honkong 1991.
2. Organ-specific Autoimmunity. Bigazzi PE, Wick G, Wicher K (red.). Mariel Dekler Inc., New York, Basel, Honkong 1991.
3. Wańkiewicz A. Zjawiska autoimmunologiczne. W: Immunologia. Jakóbsiak M (red.). PWN, Warszawa 1995: 499.
4. von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24: 323-58.
5. Smolen JS. Autoantibodies in rheumatoid arthritis. In: Autoantibody, Manual C.I.I., Kluwer Academic Publishers 1996; 1-18.
6. Manual of Biological Markers of Disease. van Venrooij WJ, Maini RN (eds). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London 1994.
7. Puszczewicz M. Przeciwciała przeciwdrowe w diagnostyce różnicowej chorób układowych. *Reumatologia* 1998; 36: 30-41.
8. Horsfall AC. Molecular mimicry and autoantigens in connective tissue diseases. *Mol Biol Rep* 1992; 16: 139-47.
9. Ząbek J. Rola antygenów bakteryjnych w indukcji procesów autoimmunizacyjnych związanych z patogenezą reaktywnego zapalenia stawów. *Alergia Astma Immunologia* 1999; 4: 41.
10. Ząbek J. Metody wykrywania autoprzeciwciał „markerowych” w chorobach z autoimmunizacją. W: Immunologia kliniczna. Kowalski ML (red.). Mediton Oficyna Wydawnicza, Łódź 2000; 787.
11. Fitzler MJ. Immunofluorescent antinuclear antibody tests. Autoimmune Disease. In: Manual of Clinical Laboratory Immunology. Rose NR, Friedman H, Fahey JL (eds). American Society for Microbiology, Washington DC 1986; 733.
12. Reis J. Współczesne metody szybkiej indykacji i immunodiagnostyki rozpuszczalnych antygenów bakteryjnych. *Post Mikrobiol* 1989; 28: 17.
13. Ząbek J. Wykrywanie autoprzeciwciał występujących w surowicach chorych na układowe choroby tkanki łącznej z zastosowaniem techniki „immunoblotting”, czyli efektroforezy białek w żelu poliakrylamidowym połączonej z immunodetekcją. W: Metody diagnostyki serologicznej w reumatologii. Luft S (red.). PWN Warszawa 1996; 101.
14. Metody diagnostyki serologicznej w reumatologii. Luft S (red.). PWN, Warszawa 1996.
15. Ząbek J. Podstawowe zasady racjonalnej serodiagnostyki autoprzeciwciał markerowych w układowych chorobach tkanki łącznej. *Reumatologia* 2005; 43: 335-40.
16. Ząbek J. Przyczyny niepowodzeń w identyfikacji swoistości autoprzeciwciał ANA w surowicach pobranych od pacjentów z układowymi chorobami tkanki łącznej. *Reumatologia* 2004; 42: 416-26.
17. Zimmermann-Górska I. Kryteria klasyfikacyjne dla zespołu antyfosfolipidowego – kolejna modyfikacja. *Pol Arch Med Wewn* 2006; 115: 396-400.
18. Meyer O. Evaluating inflammatory joint disease: how and when can autoantibodies help? *Joint Bone Spine* 2003; 70: 433-47.
19. Despres N, Boire G, Lopez-Longo FJ, et al. The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994; 21: 1027-33.
20. Hayem G, Chazerain P, Combe B, et al. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991; 26: 7-13.
21. Biernacka E, Ząbek J. Celowość oznaczania czynnika reumatoidalnego w zestawieniu z wartością wykrywania innych przeciwciał występujących w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Reumatologia* 2003; 43: 55-68.
22. Pickering MC, Walport MJ. Links between complement abnormalities and systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2000; 39: 133-41.
23. Ząbek J, Palacz A, Musiej-Nowakowska E i wsp. Porównanie wartości diagnostycznej przeciwciał dla nukleosomów z innymi markerami serologicznymi występującymi w toczniu rumieniowatym układowym. *Reumatologia* 2004; 42: 507-14.
24. Cervera R, Vinas O, Ramos-Casals M, et al. Anti-chromation antibodies in systemic lupus erythematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 431-4.
25. Schlumberger W, Daehnricg C, Frahm S, et al. Diagnostic relevance of autoantibodies against nucleosomes, 3rd International Congress on Autoimmunity, Genewa, Szwajcaria 2002.
26. Ząbek J, Wojciechowska B, Alekberova Z i wsp. Przeciwciała dla aneksyny V jako nowy wskaźnik ryzyka zakrzepic i poronień w toczniu rumieniowatym układowym (SLE) oraz w zespole antyfosfolipidowym pierwotnym (PAPS) i wtórnym (SAPS). *Reumatologia* 2003; 41: 12-24.
27. Meyer W, Schneider B, Klotz M, et al. EUROLINE anti-ganglioside profile: a New membrane test for detection of antibodies against gangliosides. 5th Dresden Symposium on Autoantibodies. Dresden, Germany, October 2002.
28. Haneji N, Nakamura T, Takio K, et al. Identification of α -fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjögren's syndrome. *Science* 1997; 276: 604-7.
29. van Venrooij WJ. Autoantigens In connective tissue diseases. Immunology of the connective tissue diseases, ed. GS Panayi. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht, Boston, London 1994; 22: 305-34.