

Využitie nepriamej imunofluorescencie pri detekcii autoprotílátok asociovaných so systémovou sklerózou

Mgr. Simona Duranková

Medirex, a. s., Bratislava

Systémová skleróza je autoimunitné ochorenie charakteristické prítomnosťou antinukleárných protílátok proti rôznym extrahovateľným antigénom. V sérach pacientov možno detegovať autoprotílátky špecifické pre systémovú sklerózu (autoprotílátky proti topoizomerase I, centromére-A, centromére-B, RNA polymeráze III -RP11, -RP155) a autoprotílátky asociované so systémovou sklerózou (autoprotílátky proti fibrilarínu, NOR90, Th/To, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, PDGFR, Ro-52). Jednotlivé typy autoprotílátok môžu byť asociované s rôznymi klinickými prejavmi pacienta a ich správna detekcia môže napomôcť pri diagnostike, prognóze a v manažmente ochorenia.

Kľúčové slová: autoprotílátky, autoantigén, systémová skleróza

Use of indirect immunofluorescence in the detection of autoantibodies associated with systemic sclerosis

Systemic sclerosis is an autoimmune disease characterised by the presence of antinuclear antibodies against various extractable antigens. In patient's sera, we can detect autoantibodies specific for systemic sclerosis (autoantibodies against topoisomerase I, centromere-A, centromere-B, RNA polymerase III -RP11, RP155) and autoantibodies associated with systemic sclerosis (autoantibodies against fibrillarín, NOR90, Th/To, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, PDGFR, Ro-52). Individual types of autoantibodies may be associated with various clinical manifestations of the patient, which may help in the diagnosis and management of the disease.

Keywords: autoantibodies, autoantigen, systemic sclerosis

NewsLab, 2017; roč. 8(2): 94 – 98

Systémová skleróza (SSc) je zriedkavé, chronické autoimunitné ochorenie spojivového tkaniva s neznámou príčinou vzniku. Charakterizuje ho výrazná fibróza kože, degeneratívne zmeny a vaskulárne abnormality, ktoré postihujú kožu, kĺby a vnútorné orgány (najmä pažerák, gastrointestinálny trakt, pľúca, srdce a obličky)⁽¹⁾. Na celom svete trpí týmto ochorením približne 2 – 50 zo 100 000 ľudí, pričom postihuje 3-4x častejšie ženy ako mužov (obvykle medzi 44. až 55. rokom života).

Vzhľadom na to, že SSc sa prejavuje rôznymi formami a na rôznych častiach tela, pričom sa dokonca môže dostať aj do pokojovej fázy, klinická diagnóza je pomerne náročná⁽²⁾.

Formy SSc:

- 1. Difúzna sklerodermia (dcSSc)** – zhrubnutie kože na tvári, trupe a na horných i dolných končatinách.
- 2. Limitovaná sklerodermia (lcSSc)** – zhrubnutie kože na obmedzených miestach distálne od lakťov a kolien, ale postihuje tiež tvár a krk. Synonymom je CREST syndróm (C – podkožná kalcifikácia, R – Raynaudov fenomén, E – porucha motility pažeráka, S – sklerodaktília, T – teleangiektázia).
- 3. Bez kožnej sklerodermie** – bez zjavných klinických kožných prejavov (s výnimkou tváre), ale s charakteristickými zmenami na vnútorných orgánoch, cievnyimi prejavmi a so sérologickými nálezmi.
- 4. Prekrývajúci sa syndróm** – SSc spĺňajúca zároveň aj kritériá systémového lupus erythematosus (SLE), reumatoidnej artritídy (RA) alebo polymyozitídy (PM).

5. Nediferencované ochorenie spojivového tkaniva/OVER-LAP syndróm – Raynaudov fenomén s klinickými a/alebo laboratórnymi prejavmi SSc (anticentromérové protílátky, zmeny mikrovaskulatury, ischemické defekty, edém a ulcerácie prstov), ale bez nálezu zhrubnutia kože a orgánových prejavov systémovej sklerodermie^(6,7).

Prítomnosť autoprotílátok je charakteristickou črtou SSc, ale aj iných autoimunitných ochorení. Stanovenie autoprotílátok v sérach pacientov s SSc je zvlášť dôležité – napomáha pri sledovaní priebehu ochorenia, prognóze a diferenciálnej diagnostike (najmä odlišenie od iných kolagenóz – napr. SLE, PM, Sharpov syndróm, Sjögrenov syndróm)^(2,3,4).

Približne v 95 % SSc prípadov možno nájsť v sére pacientov antinukleárne protílátky (ANA). ANA sú detegované metódou nepriamej imunofluorescencie (NIF) na kultivovaných Hep-2 bunkách v kombinácii so substrátom opičej pečene. Táto metóda slúži ako skriningový test na detekciu autoprotílátok, pretože je vysokosenzitívna a poskytuje základné informácie o detegovanej štruktúre. Na Hep-2 bunkách možno vo všeobecnosti popísať fluorescenčné obrazy, napr. homogénne jadro, jemne zrnité/zrnité/hrubo zrnité jadro, jadierka a iné štruktúry, ktorých prítomnosť je spôsobená rôznymi antigénmi. Na potvrdenie konkrétneho antigénu je indikovaný imunošpecifický test (ELISA, imunoblot a pod.). Imunoblot je metóda detekcie, pri ktorej sú na stripoch fixované všetky v súčasnosti známe autoantigény charakteristické pre SSc, ktoré sa rozdeľujú do dvoch skupín: SSc špecifické (topoizomerase I, centroméra-A, centroméra-B, RNA polymeráza III

-RP11, -RP155) a SSc asociované (fibrilarín, NOR90, Th/To, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, PDGFR, Ro-52). Prevalencia auto-proti látok proti SSc antigénom je uvedená v **tabuľke 1**^(2,3,4,5).

Autoproti látky proti centroméram (anti-CENP)

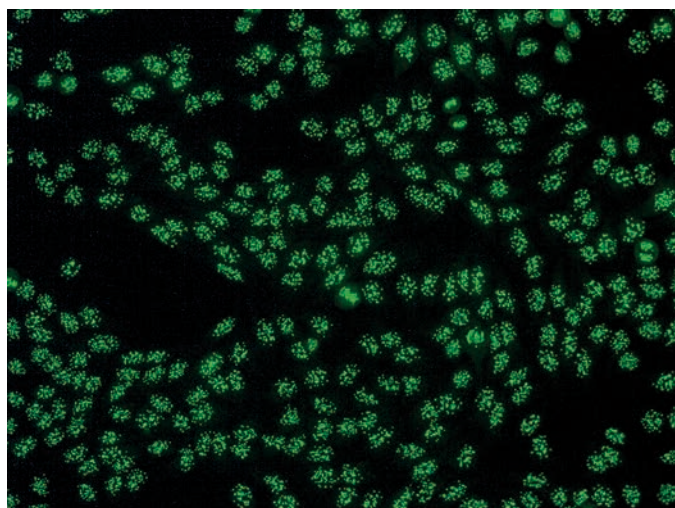
Anti-CENP rozoznávajú 4 proteíny, najčastejšie CENP-A, -B, -C, -D. Centromérové proteíny umožňujú väzbu kinetochórov na centromérovú oblasť chromozómov a interakciu s vretienkom mitotického aparátu počas mitózy^(5,8).

Anti-CENP sa častejšie vyskytujú pri lcSSc alebo pri CREST syndróme. Prítomnosť týchto autoproti látok je asociovaná s lepšou prognózou a oneskoreným nástupom postihnutia vnútorných orgánov. Takíto pacienti majú limitované kožné ochorenie bez postihnutia srdca či obličiek a zriedkavo závažnú intersticiálnu fibrózu pľúc (IF). Napriek tomu u viac ako polovice pacientov, ktorí zomierajú v súvislosti s SSc, je príčinou úmrtia pokročilá pľúcna hypertenzia (PHT). U pacientov s anti-CENP proti látkami sa nevyvinie dcSSc a v takom prípade nemusia byť monitorovaní pre prípadnú renálnu krízu a intersticiálnu fibrózu^(2,3,4). Anti-CENP proti látky boli nájdené aj v sérach pacientov s SLE, primárnou biliárnou cirhózou (PBC), RA a so Sjögrenovým syndrómom (SS)⁽⁴⁾.

Tabuľka 1. Prehľad SSc špecifických a SSc asociovaných autoproti látok^(2,4,14)

Autoproti látka	Hlavný autoantigén	Forma SSc
Anti-centroméra	CENP-A, CENP-B	80 – 95 % limitovaná
Anti-Scl70	DNA topoizomeráza I	25 – 75 % difúzna
Anti-RNA polymeráza III	RNA polymeráza	4 % difúzna
Anti-Th/To	H1/8-2 a Th/7-2 RNA, komponenty RN-ázy	< 5 % vzácna
Anti-fibrilarín	U3-RNP	5 – 10 % difúzna
Anti-NOR90	jadierkový organizátor	< 5 % vzácna
Anti-PM-Scl	antigénový komplex 11-16 polypeptidov, hlavné antigény PM-Scl100, PM-Scl75	13 % difúzna
anti-Ku	80 a 70kDa DNA viažuci dimérický proteín	< 5 % vzácna
anti-PDGFR	PDGFR	

Obrázok 1. Anti-CENP⁽²¹⁾



Mikroskopický obraz NIF ANA: 40 – 60 bodiek v interfázovom jadre, bodkovaná fluorescencia chromatinovej platničky počas mitózy (**obrázok 1**)⁽⁸⁾. Vzhľadom na to, že anti-CENP vykazuje charakteristický fluorescenčný obraz, nie je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoproti látky proti topoizomeráze I (anti-Scl70)

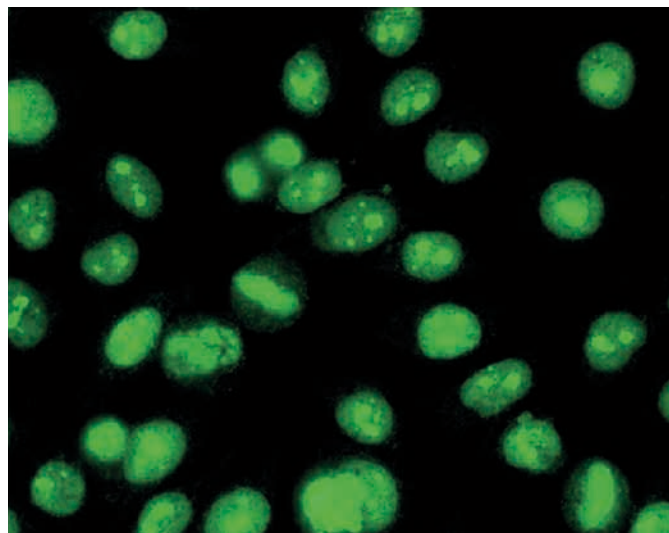
Scl70 (70kDa) je degradačným produktom topoizomerázy-I (topo I). Topo I je enzým lokalizovaný v nukleoplazme, jadričkách a v oblasti organizátora jadierka. Jeho funkciou je katalyzovať odvíjanie dsDNA pred syntézou dcérskych vláken DNA počas replikácie⁽⁸⁾.

Henault a kol. odhalili priame patogénne účinky autoproti látok nájdených v SSc. Vo svojej štúdii uviedli, že autoantigén topo I uvoľnený z apoptotických endotelálnych buniek sa špecificky viaže na fibroblasty, kde ho u pacientov s SSc rozpozná proti látka anti-Scl70. Táto väzba následne indukuje adhéziu a aktiváciu monocytov, ktorá vedie k vývoju SSc⁽¹⁰⁾.

Proti látky anti-Scl70 sú u pacientov s SSc považované za marker zlej prognózy. Ich prítomnosť je asociovaná s dcSSc a so skorým nástupom postihnutia vnútorných orgánov. U pacientov s týmto typom autoproti látok je vyššia pravdepodobnosť výskytu IF v skorých štádiách, periférnej vaskulárnej choroby, postihnutia srdca, renálnej krízy a malignít. Rôzne štúdie opisujú asociáciu proti látok anti-Scl70 s vysokou úmrtnosťou, pričom pacienti s IF zomierajú na komplikácie priemerne do 10 rokov po diagnostikovaní SSc^(4,5). Anti-Scl70 sa zvyčajne nevyskytuje u zdravých jedincov, ani u pacientov s Raynaudovým syndrómom alebo s inými ochoreniami spojivového tkaniva. Pravdepodobnosť výskytu anti-Scl70 a anti-CENP súčasne je veľmi nízka a vyskytuje sa len u 0,5 % pacientov⁽³⁾.

Mikroskopický obraz NIF ANA: Jemne zrnitá až homogénna fluorescencia jadra v interfáze, pozitívna fluorescencia chromatinovej platničky počas mitózy, často s pozitívnymi jadričkami (**obrázok 2**)⁽⁸⁾. Vzhľadom na to, že fluorescenčný obraz anti-Scl70 nie je vždy jednoznačný, je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Obrázok 2. Anti-Scl70⁽²²⁾



Autoprotilátky proti RNA polymeráze III (anti-RNAP III)

RNA polymeráza III je enzým, ktorý katalyzuje prepis tRNA, časť rRNA a niektorých malých RNA. Ide o komplex proteínov pozostávajúci z > 12 podjednotiek, napr. RP11 a RP155, ktoré sú asociované s SSc⁽¹¹⁾.

Anti-RNAP III sa vyskytujú u pacientov s SSc v 5 – 20 % a sú asociované s dcSSc a progresívnym zhrubnutím kože, vysokým rizikom pre vývoj renálnej krízy, progresívnejším priebehom ochorenia, malignitami, bez prítomnosti IF. Prežívanie pacientov s anti-RNAP III je v porovnaní s anti-Sc170 lepšie, pretože renálna kríza je v súčasnosti ľahšie liečiteľná ako IF. Prítomnosť protilátok anti-RNAP III u pacientov s SSc môže byť považovaná za marker rozvoja renálnej krízy^(4,5,9,11).

Mikroskopický obraz NIF ANA: Jemne zrnitá fluorescencia jadra v interfáze bunky, chromozomálna oblasť počas mitózy je negatívna (**obrázok 2**)^(5,12). Fluorescenčný obraz pri anti-RNAP III nie je jednoznačne odlišiteľný od iných autoprotilátok s podobnou fluorescenciou, preto je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoprotilátky proti Th/To

Protilátky anti-Th/To rozoznávajú 40kDa proteín spoločný pre dva malé ribonukleoproteíny obsahujúce 7-2 RNA (RNáza MRP – RNA zložka mitochondriálnej RNA endoribonukleázy) a 8-2 RNA (RNAáza P – ribonukleáza P)⁽⁸⁾.

Anti-Th/To protilátky sú asociované prevažne s lcSSc formou, hoci celková frekvencia u pacientov s SSc je iba 2 – 5 %. Pacienti s protilátkou anti-Th/To majú sklon ku kratšiemu trvaniu Raynaudového syndrómu pred nástupom iných symptómov, ako je napr. opuch rúk. Závažné ischemické komplikácie sú zriedkavé, avšak prítomnosť tejto protilátky sa spája s IF a PHT, ktoré sa často vyskytujú už v skorom štádiu ochorenia. Táto zvýšená frekvencia a závažnosť pľúcnych komplikácií vedú k horšiemu prežívaniu v porovnaní s pacientmi s lcSSc bez prítomnosti tejto protilátky^(3,4,5).

Mikroskopický obraz NIF ANA: Bodkovaná fluorescencia jadriek v interfáze bunky, chromozomálna oblasť počas mitózy je negatívna⁽³⁾. Fluorescenčný obraz pri anti-Th/To nie je jednoznačne odlišiteľný od iných autoprotilátok s podobnou fluorescenciou, preto je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoprotilátky proti fibrilarínu/U3RNP

Hlavným autoantigénom anti-U3RNP je fibrilarín, 34kDa proteín, zložka U3-ribonukleoproteínového komplexu^(3,8).

Prevalencia antifibrilarínu je u pacientov s SSc 4 – 10 %⁽⁵⁾. Anti-U3RNP protilátky sú všeobecne považované za protilátky špecifické pre SSc a vzájomne sa vylučujú s protilátkami anti-CENP, anti-Sc170 a anti-RNAP, boli však opísané aj u pacientov s SLE, nediferencovaným ochorením spojivového tkaniva (UCTD) a Raynaudovým syndrómom. Niektoré klinické príznaky sú ovplyvnené etnicitou. Belosi, Afroameričania a Japonci s anti-U3RNP trpia prevažne dcSSc, periférnou vaskulopatiou, vredmi a gangrénou. U belochov a Afroameričanov je v porovnaní s Japoncami opísané častejšie postihnutie orgánov, IF, PHT či renálna kríza a s nimi súvisiaca horšia prognóza. Prítomnosť anti-U3RNP u pacientov s lcSSc vylučuje rozvoj PHT^(3,13).

Mikroskopický obraz NIF ANA: Chuchvalcovitá fluorescencia jadriek v interfáze, bunky v mitóze vykazujú

perichromozomálnu fluorescenciu⁽¹⁴⁾. Fluorescenčný obraz pri anti-U3RNP nie je jednoznačne odlišiteľný od iných autoprotilátok s podobnou fluorescenciou, preto je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoprotilátky proti NOR90

Protilátky anti-NOR90 sú namierené proti oblasti organizácie jadierka (NOR), kde sa po mitóze formujú jadierka. Štúdie preukázali, že autoantigénom pre protilátku anti-NOR90 je transkripčný faktor RNA polymerázy I viažuci sa proti smeru transkripcie (hUBF)^(5,8).

Anti-NOR90 nepatria medzi SSc špecifické protilátky, avšak boli detegované u pacientov s ochoreniami spojivového tkaniva ako Raynaudov syndróm, RA, SLE, SS a u pacientov s malignitami. Čoraz častejšie sa spomína asociácia medzi protilátkami anti-NOR90 a lcSSc, miernou formou postihnutej kože a priaznivou prognózou^(3,4).

Mikroskopický obraz NIF ANA: Zrnitá fluorescencia jadriek počas interfázy. V chromatinovej oblasti mitotickej bunky pozorované bodky, ktoré sú považované za oblasť organizácie jadierka⁽⁸⁾. Fluorescenčný obraz pri anti-NOR90 nie je jednoznačne odlišiteľný od iných autoprotilátok s podobnou fluorescenciou, preto je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoprotilátky proti PM-Sc175, PM-Sc100

Autoantigén PM-Scl je makromolekulový komplex 11 – 16 polypeptidov, z ktorých najdôležitejšie majú molekulovú hmotnosť 75kDa a 100kDa: anti-PM-Sc175, anti-PM-Sc100. V bunkovom jadre sa zúčastňuje na štiepení prekursorovej rRNA a v cytoplazme napomáha degradovať zrelú mRNA⁽¹⁵⁾.

Zatiaľ čo autoprotilátky proti CENP a Sc170 sú typické pre SSc, o autoprotilátkach proti PM-Sc175 a PM-Sc100 sa uvažuje ako o sérologických markeroch pre overlap syndróm, pričom PM-Sc175 by mohol pôsobiť ako hlavný cieľový antigén pri dcSSc. Anti-PM-Scl protilátky sa najčastejšie vyskytujú u pacientov s prekrývajúcim sa syndrómom PM a SSc (31 %), vzácnejšie pri samotnej myozitíde (8 – 11 %) alebo SSc (2 %)^(15,19). Pacienti s týmto typom autoprotilátok často trpia subakútnou myozitídou, Raynaudovým fenoménom a sklerodermiou kože⁽⁵⁾. Dôkaz týchto autoprotilátok je spojený s lepšou prognózou ochorenia⁽¹⁵⁾.

Mikroskopický obraz NIF ANA: Homogénna fluorescencia jadriek a súčasne slabšia, jemne zrnitá fluorescencia nukleoplazmy v interfáze, negatívna fluorescencia chromatinovej platničky počas mitózy⁽¹⁴⁾. Fluorescenčný obraz pri anti-PM-Sc175, -100 nie je jednoznačne odlišiteľný od iných autoprotilátok s podobnou fluorescenciou, preto je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoprotilátky proti Ku

Anti-Ku protilátky boli opísané ako marker overlap syndrómu sklerodermie/PM, avšak zaznamenaný bol aj ich výskyt pri iných autoimunitných ochoreniach. Autoantigénom pre anti-Ku je proteín Ku s dvoma podjednotkami, viažuci DNA, zúčastňujúci sa na oprave dsDNA. Prevalencia anti-Ku protilátok u SSc pacientov je 1,5 – 16 %^(3,16,17).

Anti-Ku je primárne detegované u SSc pacientov s overlap syndrómom. Väčšina pacientov má typické príznaky ako Raynaudov fenomén, sklerodermia kože a obvykle aj lcSSc⁽⁵⁾.

Anti-Ku sa zriedkavo vyskytuje aj u pacientov s SLE bez znakov SSc, pričom ďalšie autoprotilátky asociované s SLE, napr. anti-dsDNA, sú vždy pozitívne. Menej často sa vyskytuje postihnutie vnútorných orgánov, ktoré je však mierne, zatiaľ čo artritída je bežná. Anti-Ku protilátka je taktiež asociovaná s menším počtom vaskulárnych prejavov, ako je napr. teleangiectázia⁽¹⁸⁾.

Mikroskopický obraz NIF ANA: Jemne zrnitá až škvrnitá fluorescencia jadra v interfáze, chromozomálna oblasť počas mitózy je negatívna. Anti-Ku možno odlišiť od iných autoprotilátok na základe substrátu opičej pečene, na ktorom vykazuje perinukleárnu až chumáčkovitú fluorescenciu⁽⁸⁾. Vzhľadom na to, že fluorescenčný obraz anti-Ku nie je vždy jednoznačný, je potrebné potvrdenie imunošpecifickým testom.

Autoprotilátky proti PDGFR (platelet derived growth factor – rastový faktor odvodený od trombocytov)

Anti-PDGFR patria medzi protilátky asociované s SSc a boli detegované aj pri iných ochoreniach: SLE, SS, RA a IF⁽⁴⁾. Jedným z prvých prejavov v patogenéze SSc je mikrovaskulárne poškodenie a akumulácia buniek exprimujúcich receptor PDGFR. Autoprotilátky anti-PDGFR hrajú úlohu v patogenéze

SSc, pretože konvertujú normálne fibroblasty *in vitro* na bunky podobné SSc, ktoré sú schopné indukovať fibrózu *in vivo*. Ďalšie štúdie týchto protilátok môžu pomôcť v prevencii závažných komplikácií, ako sú ulcerácie, PHT a renálna kríza, ktoré sú zodpovedné za podstatné skrátenie času prežívania a zhoršenie kvality života⁽²⁰⁾.

Mikroskopický obraz NIF ANA: Nie je opísaný špecifický fluorescenčný obraz, preto jediná možnosť dôkazu anti-PDGFR je imunošpecifický test.

Záver

Autoprotilátky detegované pri SSc sú veľmi špecifické a asociované s rôznymi klinickými prejavmi pacienta. Ich prítomnosť by mala byť zvážená pri monitorovaní pacienta, stanovení liečby a ďalšej prognóze. Objasnenie špecificity SSc protilátok a s nimi súvisiacich odlišných klinických prejavov by mohlo napomôcť lepšie pochopiť patogenézu SSc. Význam autoprotilátok pri SSc ochorení je stále pomerne nejasný, aj keď čoraz viac štúdií nasvedčuje tomu, že tieto protilátky nie sú len diagnostickými markermi ochorenia, ale taktiež vedia predpovedať vývoj ochorenia či prípadné postihnutie orgánov.



NOVÁ GENERÁCIA PORTFÓLIA Z OBLASTI GENOMIKY

Stačí si iba vybrať...



LITERATÚRA

1. Rovenský J, Vašáková M. Sine syndróm pri systémovej skleróze. *Via practica*. 2010; 7(6): 262-265.
2. EUROIMMUN: Protilátky proti špecifickým antigénom systémovej sklerózy. Návod na provedení testu Systemic Sclerosis (Nucleoli) Profile EUROLINE (IgG).
3. Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis. *Journal of Dermatology* 2010; 37: 42-53.
4. Wielosz E, Dryglewska M, Majdan M. Serological profile of patients with systemic sclerosis. *Postepy Hig Med Dosw (online)* 2014; 68: 987-991. e-ISSN 1732-2693.
5. Kuwana M. Circulating anti-nuclear antibodies in Systemic sclerosis: utility in diagnosis and disease subsetting. *J Nippon Med Sch* 2017; 84(2): 56-63.
6. Bečvář R. Současný pohled na diagnostiku a léčbu systémovej sklerodermie a Sjögrenova syndromu. *Med Pro Praxi* 2008; 5(3): 109-112.
7. Shoenfeld Y, Meroni PL. *The General Practice Guide to Autoimmune Diseases*. Pabst Science Publishers 2012: ISBN 978-3-89967-770-6
8. Bradwell AR, Hughes RG. *Atlas of HEp-2 patterns*. The Binding Site Ltd. 2007: ISBN 0704425955.
9. Steen VD. Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 35-42.
10. Henault J, Robitaille G, Senecal JL, a spol. DNA topoisomerase I binding to fibroblasts induces monocyte adhesion and activation in the presence of anti-topoisomerase I autoantibodies from systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 963-973.
11. Kuwana M, Kimura K, Kawakami Y. Identification of an Immunodominant Epitope on RNA Polymerase III Recognized by Systemic Sclerosis Sera: Application to Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Arthritis & Rheumatism* 2002; 46: 2742-2747.
12. Parker JC, Burlingame RW, Webb TT, a spol. Anti-RNA polymerase III antibodies in patients with systemic sclerosis detected by indirect immunofluorescence and ELISA. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47(7): 976-979.
13. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Research & therapy* 2003; 5(2): 80-93.
14. https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Autoimmunity/Rheumatology/ANA/FA_1510_I_UK_B.pdf
15. Pleštilová L, Vencovský J. Anti-PM-Scl protilátky u myositid. *Čes Revmatol* 2009; 17(4): 200-204.
16. Hoa S, Hudson M, Troyanov Y, a spol. Single-specificity anti-Ku antibodies in an international cohort of 2140 systemic sclerosis subjects: clinical associations. *Medicine* 2016; 95: 35.
17. Mimori T, Akizuki M, Yamagata H, a spol. Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest*. 1981; 68: 611-620.
18. Rozman B, Cucnik S, Sodin-Semrl S, a spol. Prevalence and clinical associations of anti-Ku antibodies in patients with systemic sclerosis: a European EUSTAR-initiated multi-centre case-control study. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1282-1286.
19. <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar2614>
20. Svegliati S, Amico D, Spadoni T, a spol. Agonistic Anti-PDGFR receptor autoantibodies from patients with systemic sclerosis impact human pulmonary artery smooth muscle cells function *in vitro*. *Frontiers in Immunology* 2017; 8: 75.
21. *Archív Imunológia, Medirex.*
22. https://www.researchgate.net/figure/45281682_fig7_Fig-8-Fine-grainy-nucleoplasmic-staining-Scl-70-like



Mgr. Simona Duranková

Medirex, a. s.

Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava

e-mail: simona.durankova@medirex.sk