

Autoprotilátky v diagnostice autoimunitních revmatických chorob – praktické využití

Martin Žurek

III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická

Autoimunní revmatická onemocnění jsou rozmanitou skupinou stavů, které se mohou projevovat tvorbou autoprotilátek, funkčními poruchami imunity a systémovými projevy. Diagnostika může být obtížná kvůli mnoha nespecifickým projevům. Klíčovým testem, který v praxi využíváme, je stanovení orgánově nespecifických autoprotilátek. Autoprotilátky vyskytující se u osob se systémovými revmatickými chorobami mohou sloužit nejen jako markery pro klasifikaci, diagnózu a prognózu onemocnění, ale také při hodnocení aktivity onemocnění a při rozhodování o léčebném postupu. Autoprotilátky také často hrají přímou úlohu v patogenezi jednotlivých onemocnění.

Klíčová slova: revmatická autoimunitní onemocnění, orgánově nespecifické autoprotilátky, antinukleární protilátky, revmatoidní faktor, protilátky proti citrulinovaným peptidům, protilátky proti cytoplazmě neutrofilů.

Autoantibodies in the diagnosis of autoimmune rheumatic diseases – practical use

Autoimmune rheumatic diseases represent a diverse group of conditions that may manifest with the production of autoantibodies, immune dysfunction, and systemic symptoms. Diagnosis can be challenging due to many nonspecific manifestations. A key test used in practice is the detection of organ-nonspecific autoantibodies. Autoantibodies present in individuals with systemic rheumatic diseases can serve not only as markers for classification, diagnosis, and prognosis but also in assessing disease activity and guiding treatment decisions. Autoantibodies often also play a direct role in the pathogenesis of individual diseases.

Key words: autoimmune rheumatic diseases, organ-nonspecific autoantibodies, antinuclear antibodies, rheumatoid factor, antibodies against citrullinated peptides, antibodies against neutrophil cytoplasm.

Úvod

Revmatická onemocnění zahrnují široké spektrum poruch, které sahají od lokálních až po komplexní systémová onemocnění postihující klouby, pojivové tkáně, ale i ostatní orgánové systémy. Klasifikace a diagnostika systémových autoimunitních onemocnění je často založena na souboru kritérií složených z klinického obrazu, výsledků laboratorních, zobrazovacích a histopatologických vyšetření, která jsou typická pro příslušná onemocnění. Autoimunita hraje významnou roli v patogenezi mnoha revmatických onemocnění, stanovení autoprotilátek je využíváno v diagnostice, při hodnocení aktivity onemocnění, při stanovení prognózy nebo při rozhodování o strategii vedení terapie. V rámci rozvahy, kdy je indikované jejich vyšetření, je třeba brát do úvahy skutečnost, že autoprotilátky v nízkých titrech mohou být nalezeny

zejména ve vyšším věku u jinak zdravých osob a tyto nálezy při absenci typických klinických příznaků onemocnění nemají klinický význam. Obecně platí, že čím vyšší je titr stanovených protilátek, tím pravděpodobnější je diagnóza asociovaného revmatického onemocnění. Nález samotných autoprotilátek nemusí vždy znamenat diagnózu, proto je potřeba tato vyšetření používat ideálně v případech, kdy existuje klinické podezření na revmatická onemocnění, např. Raynaudův fenomén, kožní projevy vaskulitického typu, sicca syndrom oční a/nebo ústní, uveitida, fotosenzitivita, nevysvětlitelné myalgie, artralgie nebo známky rychle progredující poruchy ledvin, plicní alveolární hemoragie apod.

Interpretace vyšetření autoprotilátek by měla být prováděna s vědomím toho, že negativní výsledky testů nejsou vždy schopny vyloučit onemocnění a falešně pozitivní výsledky jsou spojeny s indikací dalších

zbytečných testů a s rizikem nesprávně indikované léčby. Paušální používání těchto laboratorních vyšetření u osob s nespecifickými příznaky k potvrzení nebo vyloučení revmatického onemocnění není doporučeno. Lékaři by si měli být vědomi těchto úskalí, aby ordinovali vyšetření s rozvahou a správně interpretovali výsledky.

Antinukleární protilátky

Antinukleární protilátky (ANA = antinuclear antibodies) nejsou jedinou protilátkou, ale skupinou autoprotilátek, které jsou namířeny proti součástem buněčného jádra, jako je jedno-nebo dvouřetězcová deoxyribonukleová kyselina (dsDNA), histony, centromery, proteiny v komplexu s ribonukleovou kyselinou (RNA) a enzymy, jako je topoisomerasa.

Vyšetření antinukleárních protilátek je běžně požadováno k vyloučení onemocnění pojivové tkáně, např. systémového lupus erythematoses (SLE). Při interpretaci výsledků těchto vyšetření je potřeba vzít v úvahu následující fakta. Antinukleární protilátky se mohou vyskytnout i u jiných onemocnění než u systémového lupusu, patří mezi ně další autoimunitní onemocnění, revmatoidní artritida, primární Sjögrenův syndrom (SjS), systémová skleróza (SSc), autoimunitní tyreoiditida a myasthenia gravis. Antinukleární protilátky se mohou objevit při infekci organismy, které sdílejí epitop s autoantigeny (molekulární mimikry), při nádorových onemocněních, při užívání léků: hydralazinu, prokainamidu, minocyclinu apod. Antinukleární protilátky může produkovat imunitní systém zdravých jedinců, aby odstranil zbytky jader buněk, kterým podlehl apoptóze. Při rozhodování o testování pacienta na ANA je třeba vzít v úvahu důležitá omezení. Nepřímý imunofluorescenční test ANA je při ředění 1 : 160 pozitivní u 5 % dospělé populace. Test ANA měl mít tento stupeň citlivosti, aby byl užitečný v diagnostice pacientů se SLE. Skutečnost, že prevalence onemocnění spojených s ANA v běžné populaci je přibližně 1%, a test ANA je pozitivní u 5 % dospělé, vede k výsledku, že při screeningovém použití tohoto vyšetření budou mít čtyři z pěti jedinců falešně pozitivní výsledek. Vzhledem k citlivosti testu ANA na detekci autoprotilátek nelze tento test použít ke screeningu ve zdravé populaci se zaměřením na záchyt jedinců s autoimunitním

onemocněním. Prevalence nálezů ANA ve zdravé populaci se také zvyšuje s věkem a u zdravých žen je pravděpodobnost detekce ANA dvakrát vyšší než u mužů. Pozitivní výsledek je také častější u rodinných příslušníků pacientů s autoimunitním onemocněním pojivové tkáně (1).

Vyšetření na přítomnost antinukleárních protilátek je vysoce citlivé pro diagnózu lupus erythematoses. Při současných laboratorních metodách se citlivost vyšetření antinukleárních protilátek blíží 100 %, a negativní výsledek s vysokou pravděpodobností vylučuje diagnózu SLE, což však neplatí pro nemocné léčené imunosupresivou. Při detekci antinukleárních protilátek se běžně používají dvě metody: nepřímá imunofluorescence a enzymatický imunosorbční test (ELISA). Buněčná linie HEp-2 lidského epidermoidního karcinomu hrtnu se používá jako zdroj antigenu při imunofluorescenčním vyšetření, purifikované jaderné antigeny při metodě ELISA. Metoda nepřímé imunofluorescence

Tab. 1. Klinické asociace autoprotilátek u systémového lupus erythematoses

Protílátka	Odhadovaná prevalence	Klinické asociace
Anti-dsDNA	70%	hladina anti-dsDNA koreluje s aktivitou onemocnění, zejména lupus nefritidou
Anti-histony		podtyp protilátek H2A-H2B léky indukovaný LE podtyp protilátek H1 koreluje s aktivitou onemocnění
Anti-Sm	30%	vysoce specifické, nízká senzitivita korelace s CNS projevem a incidencí lupus nefritidy
Anti-RNP	25%	
Anti-ribosomální P protein	15%	vysoce specifické pro SLE navzdory nízké citlivosti.
Anti-Ro/La	20–30%	kožní forma LE, neonatální lupus
Anti-U1RNP	13%	muskuloskeletální a plicní projevy
Anti-fosfolipidy	30%	venózní trombózy a hypertenze
Anti-kardiolipiny	12–30%	trombotické příhody
Anti-β2-glykoprotein	12–30%	trombotické příhody a postižení CNS

Upraveno podle Lou H, Ling GS, Cao X. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: From immunopathology to therapeutic target. *J Autoimmun.* 2022 Oct;132:102861.

Tab. 2. Klinické asociace autoprotilátek u systémové sklerodermie

Protílátka	Odhadovaná prevalence	Klasifikace	Klinické asociace	Poznámky
Anti-centromery (ACA)	20 až 30%	limitovaná forma	CREST, plicní arteriální hypertenze	kožní změny často zpožděné o mnoho let
Anti-Scl-70 (Topoisomerasa)	15 až 20%	difúzní forma	intersticiální plicní postižení	rychlé ztluštění kůže, časné postižení vnitřních orgánů
Anti-RNA Polymeráza III	~ 20%	difúzní forma	plicní arteriální hypertenze kardiopatie, sklerodermická renální krize	zvýšená úmrtnost
Anti-Th/To	2 až 5%	limitovaná forma	plicní arteriální hypertenze, intersticiální plicní postižení	horší prognóza než ACA
Anti-PM-Scl	2 až 3%	překryv s myozitidou	myozitida (svalová)	dobrá prognóza, dobrá odezva na léčbu
Anti-U3-RNP (Fibrillarin)	~ 4%	difúzní	myozitida, plicní arteriální hypertenze, sklerodermická renální krize, kardiopatie	u mladších pacientů s větším postižením vnitřních orgánů
Anti-U1-RNP	~ 8%	překryv s MCTD	myozitida, ILD, klouby	benigní, často citlivá na steroidy
Anti-U11/U12-RNP	~ 3%	difúzní / limitovaná	intersticiální plicní postižení	těžká plicní fibróza

Upraveno podle Di Maggio G, Confalonieri P, Salton F et al. Biomarkers in Systemic Sclerosis: An Overview. *Curr Issues Mol Biol.* 2023 Sep 25;45(10):7775-7802.

má o něco lepší citlivost (protože Hep2 buňky exprimují širokou škálu antigenů) a je stále považována za zlatý standard, ale vyžaduje dobře vyškolené laboratorní pracovníky, imunosorbční metody na pevné fázi obvykle ELISA jsou jednodušší na provedení. Imunofluorescenční test s použitím buněčného substrátu HEp-2 umožňuje detekovat některé autoprotilátky, které dříve nebyly při použití substrátů tkáně hladavců snadno rozpoznány. Buňky HEp-2 jsou větší a umožňují podrobnější vizualizaci intracelulárních buněčných struktur vázajících autoprotilátky, navíc jsou rozpoznány autoprotilátky reagující s cytoplazmou a specifickými cíli objevujícími se v rámci buněčného cyklu včetně mitotického aparátu. Pro zlepšení specifity testování antinukleárních protilátek laboratoře uvádějí titry (nejvyšší ředění testovaného séra, které bylo pozitivní); za významnou se obecně považuje mezní hodnota vyšší než 1 : 80 jako kompromis mezi senzitivitou a specifiitou testu. Tzn. nižší titr má vyšší senzitivitu pro zachyt všech nemocných, ale je zatížen velkým počtem falešně pozitivních výsledků, na druhou stranu vyšší titry jsou pro onemocnění více specifické a mají nízký výskyt falešně pozitivních výsledků, ale zase jsou méně citlivé a nezachytí všechny osoby s onemocněním. Pokud je test na antinukleární protilátky požadován jako screeningová metoda v obecné populaci bez rozdílu, je pozitivní prediktivní hodnota pro diagnózu SLE nízká. Vyšetření antinukleárních protilátek by mělo být provedeno pouze v těch případech, kdy je před vyšetřením vysoká pravděpodobnost diagnózy onemocnění pojivové tkáně. U pacientů s klinickými nebo laboratorními projevy zahrnujícími 2 nebo více orgánových systémů je pozitivní prediktivní hodnota mnohem vyšší. Poté, co byla ANA detekována u pacienta s autoimunitním onemocněním, není nutné test opakovat, protože neexistuje žádný důkaz, že změny v titru ANA vyšetřené metodou imunofluorescence slouží jako marker aktivity onemocnění (2).

Tab. 3. Klinické asociace autoprotilátek u idiopatických zánětlivých myopatií

Protilátky specifické pro myozitidu	Klinické asociace
MI2	DM, mírná myozitida, dobrá odpověď na glukokortikoidy, dobrá prognóza
SRP	PM, nekrotizující myopatie refrakterní k léčbě
TIF1-γ/a (p155/140)	DM spojený s malignitami a rozsáhlým zánětlivým kožním onemocněním
MDA	amyopatická DM (CADM), rychle progredující ILD, těžké kožní projevy: bolestivé papuly na dlaních + kožní ulcerace + alopecie + pneumomediastinum
NXP-2	juvenilní dermatomyozitida, těžké svalové onemocnění a kalcinóza + periferní edém + střevní vaskulopatie
PM-Scl, Ku, U1RNP, U2RNP, U3RNP	syndrom překryvu PM/DM, svalové postižení u SLE a SSC
Ro52	detekována u pacientů s anti-Jo-1, PL-7, PL-12 u pacientů s SLE, SSC, SJS a jinými nemocemi
SAE 1/2	tmavě červená fialová vyrážka + PAH + snížený výskyt ILD
Anti- aminoacyl tRNA syntetázy (Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ)	antisynthetázový syndrom – myozitida, ILD, polyartritida, Raynaudův fenomén, ruce mechanika

Upraveno podle Haililu F, Christofer-Stine L. Myositis-specific antibodies: Overview and clinical utilization. Online. Rheumatology and Immunology Research. 2022;3:1,1-10.

Mezinárodní konsenzus hodnocení ANA (ICAP = International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns) při nepřímém imunofluorescenčním testu na buňkách HEp-2 (HEp-2 IFA) se zabývá nomenklaturou a klasifikací nejrozšířenějších a nejrelevantnějších vzorů HEp-2 IFA. Cílem tohoto konsenzu je harmonizace nomenklatury označení každého vzoru HEp-2 IFA, z tohoto důvodu byl každému vzoru přidělen alfanumerický kód (AC-#). Nález imunofluorescence na buňkách HEp-2 se rozděluje do tří hlavních skupin, jaderné, cytoplazmatické a mitotické. Klasifikační systém ICAP je k dispozici na webových stránkách (www.anapatterns.org). Vzorce barvení ANA zahrnující jádro – mohou být homogenní, jaderně skvrnité, nukleární, nukleární tečkové barvení a vzory jaderného obalu. Vzhledem k tomu, že vzor barvení obvykle neidentifikuje odpovědnou autoprotilátku, je často vyžadováno další testování pomocí testů na pevné fázi obvykle ELISA. Pokud je vyšetření antinukleárních protilátek pozitivní, mělo by následovat vyšetření protilátek proti deoxyribonukleové kyselině (anti-DNA) a vyšetření protilátek zaměřených proti extrahovatelným jaderným antigenům, aby se zjistilo, jaký antigen antinukleární protilátky cílí (3).

Protilátky u systémového lupus erythematoses

Protilátky proti dvouvláknové DNA: anti-DNA protilátky jsou imunoglobuliny namířené proti DNA, čisté nebo v komplexu s proteiny, jako jsou histony. Tyto protilátky jsou heterogenní skupinou imunoglobulinů, které mají různé specifity a jsou klasifikovány jako anti-ssDNA (jednovláknová DNA) a anti-dsDNA (dvouvláknová DNA). Anti-ssDNA protilátky jsou identifikovány častěji, avšak vzhledem ke své nízké specifiitě mají velmi malý klinický význam. Při podezření na SLE s pozitivním

Tab. 4. Onemocnění spojená s nálezem revmatoidního faktoru

Onemocnění spojené s nálezem revmatoidního faktoru	
Stav	Frekvence
Revmatoidní artritida	70%
Jiné autoimunitní revmatické stavy	
Primární Sjögrenův syndrom	75%–95%
Systémový lupus erythematoses	15%–35%
Systémová skleróza	20%–35%
Systémová vaskulitida	5%–20%
Infekce ^a	
Infekční endokarditida	40%
Syfilis	8%–37%
Hepatitida B	25%
Hepatitida C	76%
HIV infekce	10%–20%
Tuberkulóza	15%
Jiné nemoci	
Cirhóza jater	25%
Smíšená kryoglobulinemie	100%
Primární biliární cirhóza	45%–70%
Zdraví lidé ^b	5%–25%

Poznámky: a) Revmatoidní faktor u infekčních nemocí je produkován B buňkami, pravděpodobně k odstranění imunitních komplexů. Obvykle jsou přechodné a neškodné.

b) Frekvence stoupá s věkem (5% ve věku 50 let, stoupající na 10 % až 25 % ve věku 70 let).

Upraveno podle Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R. Rheumatoid factors: clinical applications. Dis Markers 2013; 35(6):727-734.

výsledkem ANA je indikováno doplnění vyšetření protilátek anti-dsDNA, které mohou být přítomny až u dvou třetin pacientů (60–83 %) se SLE (4). Existuje dobře známá souvislost mezi přítomností vysokého titru anti-dsDNA protilátek a aktivní glomerulonefritidou, zejména při současném přítomném snížení složek C3, C4 komplementu. Existují také důkazy o ukládání imunokomplexů obsahujících dsDNA v glomerulech pacientů s aktivní lupusovou nefritidou. Na druhou stranu neexistuje důkaz, že negativní sérologie předpovídá úspěšné ukončení léčby u pacientů se SLE (s nefritidou nebo bez ní) v klinické remisi, stejně tak nejsou k dispozici žádné údaje, které by naznačovaly optimální délku léčby a možnou strategii snižování dávek podávaných medikamentů (5).

Extrahovatelné jaderné antigeny (ENA) se tak nazývají proto, že je původně bylo možné izolovat z rozpustné solné frakce narušených buněk. Jsou to proteinové antigeny v komplexu s RNA a některými enzymy v jádře. Patří mezi ně Ro, La, Sm, Jo-1, RNP a Scl-70 a jsou pojmenovány podle pacienta, u kterého byly poprvé objeveny (Robert, Lavine, Smith a John), antigenu, na který jsou zaměřeny (ribonukleoprotein neboli RNP), a onemocnění, se kterým jsou spojeny (anti-Scl-70 neboli anti-topoizomeráza u difúzní kožní sklerodermie). ENA zahrnují velké množství antigenů, ale v běžné praxi se testují se pouze autoprotilátky proti vybraným antigenům. Hlavní význam těchto protilátek spočívá v tom, že lze využít k rozlišení různých typů systémových autoimunitních onemocnění a v některých případech poskytují informace o prognóze onemocnění. Autoprotilátky anti-Ro nebo SSA (se Sjögrenovým syndromem související antigen A) jsou imunoglobuliny proti proteinům asociovaným s RNA. Protilátky anti-Ro mohou být přítomny u pacientů s řadou autoimunitních onemocnění, včetně Sjögrenova syndromu, systémového lupus erythematodes, zánětlivých myopatií, systémové sklerózy, smíšeného onemocnění pojivové tkáně (MCTD) a revmatoidní artritidy, ale i primární biliární cholangitidy (PBC) a intersticiálních plicních onemocnění (ILD). Pokud jsou přítomny u pacientů se SLE, bývají asociovány s kožními projevy subakutního lupusu, sicca syndromu, nefritidy a cytopenií. Nález těchto protilátek je také spojen s neonatálním lupusem, včetně vrozené atrioventrikulární blokády plodu, proto se doporučuje provádět screeningové vyšetření těhotným pacientkám s autoimunitními chorobami. Anti-La nebo SSB (se Sjögrenovým syndromem související antigen B) protilátka je imunoglobulin proti proteinu La, který je součástí Ro/La antigenního komplexu. Tyto protilátky se zřídka vyskytují samostatně, protože ve většině případů jsou spojeny s pozitivitou protilátek anti-Ro. Na rozdíl od protilátek anti-Ro, které mohou být přítomny u řady autoimunitních onemocnění, jsou protilátky anti-La specifické pro diagnózu Sjögrenova syndromu a SLE (6). Anti-Sm protilátka je imunoglobulin namířený proti malým jaderným ribonukleoproteinům (snRNP), pro diagnózu SLE je vysoce specifická, ale vyskytuje se cca u max. 30 % pacientů s tímto onemocněním, takže jejich nepřítomnost diagnózu nevylučuje. Jejich hladina se v průběhu onemocnění obvykle nemění. Byla také zjištěna souvislost mezi přítomností protilátek anti-Sm a neuropsychiatrickým lupusem či vaskulitidou. Ve většině případů jsou tyto protilátky nalézány spolu s protilátkami proti U1 RNP. Protilátky proti U1 RNP jsou přítomny u všech pacientů s smíšeným onemocněním pojiva (MCTD) a jsou rozhodující součástí diagnózy tohoto onemocnění. Přítomnost antihistonových protilátek podporuje diagnózu léky indukovaného SLE, ale u pacientů

léčených infliximabem, etanerceptem se mohou objevit i protilátky proti ds-DNA (7).

Prediktivní význam ANA byl prokázán u pacientů se SLE, jejichž sérum bylo odebráno mnoho let před stanovením diagnózy. Většina pacientů měla až 9 let před rozvojem klinických projevů a diagnózy SLE, alespoň jednu autoprotilátku, zejména ANA a také anti-Ro a anti-La protilátky a antifosfolipidové protilátky. Průměrná doba do stanovení diagnózy u těchto autoprotilátek byla přibližně 3,4 roku, zatímco u protilátek proti ds-DNA 2,2 roku (8). Pozdějšími prediktory onemocnění byly v jině studii protilátky proti Sm a proti ribonukleoproteinu, jejichž detekce se shodovala s nástupem příznaků a symptomů (9). Dalším zajímavým pozorováním je, že nové typy autoprotilátek se postupně hromadily před stanovením diagnózy a v době diagnózy dosáhly platů. Zatímco ANA, anti-Ro, anti-La protilátky mohou být přítomny i u zdravých osob, protilátky proti dsDNA, anti-Sm a proti jadernému ribonukleoproteinu jsou v běžné populaci velmi vzácné. Pozitivita těchto výše uvedených autoprotilátek by proto měla vést k pečlivému sledování z aspektu možného rozvoje SLE (10). Antifosfolipidové protilátky (aPL) jsou heterogenní skupinou protilátek – imunoglobulinů namířených proti fosfolipidům a proteinům vázajícím fosfolipidy. aPL mohou být přechodné (např. spojené s akutní infekcí) nebo perzistentní (přítomné při dvou nebo více příležitostech s odstupem nejméně 12 týdnů). Mezi běžně testované aPL patří: antikardiolipinové protilátky (ACLA), protilátky proti beta2 glykoproteinu I (anti-beta2GPI), stanovené metodou ELISA, dále lupus antikoagulant (LA), stanovený v testu srážlivosti krve. Diagnóza antifosfolipidového syndromu (APS) je založena na přítomnosti alespoň jednoho klinického projevu (žilní trombóza, arteriální trombóza, komplikace těhotenství jako ztrát plodu v důsledku eklampsie, preeklampsie nebo placentární insuficience) při trvale pozitivních antifosfolipidových protilátkách. Tzn. laboratorní vyšetření musí být pozitivní při dvou různých příležitostech s odstupem nejméně 12 týdnů (11).

Specifické autoprotilátky u systémové sklerodermie (SSc)

Specifické autoprotilátky u systémové sklerodermie (SSc) mají významnou diagnostickou a prognostickou hodnotu. Anticentromerové

Tab. 5. Indikace k vyšetření ANCA protilátek

Klinické indikace pro testování antineutrofilních cytoplazmatických protilátek
Glomerulonefritida
Plicní hemoragie (zejména u plicně-renálního syndromu)
Vícečetné plicní uzlíky
Mononeuritida multiplex nebo nevysvětlená periferní neuropatie
Kožní vaskulitida, zejména se systémovými projevy
Skleritida
Retroorbitální masa
Chronická destruktivní nemoc horních cest dýchacích
Chronická sinusitida nebo otitida
Subglotická tracheální stenóza

Upraveno podle Savage J, Gills D, Benson E, et al. International consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol.* 1999;111(4):507-513.

protilátky (ACA), protilátky proti topoizomeráze I (Scl-70) a protilátky proti RNA polymeráze III (anti-RNAP III) jsou nejčastějšími ANA specifickými pro SSc. Jejich prevalence se liší podle etnických skupin a metod detekce. Přítomnost těchto protilátek u pacientů s Raynaudovým fenoménem naznačuje vysoké riziko budoucího výskytu SSc. Anticentromerové protilátky (ACA) jsou typické pro syndrom CREST (kalcinóza, Raynaudův fenomén, hypomotilita jícnu, sklerodaktylie a teleangiektázie) varianty limitované formy kožní SSc, u které se vyskytují až u 50 % pacientů. Pacienti s ACA pozitivní SSc mají obvykle lepší prognózu díky absenci postižení vnitřních orgánů, jako je intersticiální plicní postižení (ILD), kardiomyopatie nebo sklerodermická renální krize, s výjimkou plicní arteriální hypertenze (PAH), která se může objevit až v průběhu nemoci (12). Protilátky proti topoizomeráze (anti Scl-70) se vyskytují u 20–30 % pacientů se SSc a jsou obvykle spojeny s difuzní kožní formou SSc a postižením vnitřních orgánů. Přibližně u dvou třetin pacientů se SSc s anti Scl-70 protilátkami je diagnostikována difuzní forma onemocnění, postižení plic typu ILD se vyskytuje až u 70 % z nich. Vzhledem k tomu, že hlavní příčinou úmrtí u SSc je ILD a PAH, jsou anti-Scl70 protilátky markerem špatné prognózy. Mezi další významná orgánová postižení spojená s anti-Scl70 protilátkami patří kardiomyopatie a digitální ulcerace (13). Protilátky proti RNA polymeráze III (anti-RNAP III) jsou detekovány u přibližně 10 % pacientů se SSc, s predilekcí pro mužské pohlaví a afroamerické pacienty. Většina pacientů s pozitivitou anti-RNAP III vykazuje difuzní kožní SSc s rychlou progresí následovanou regresí ztlustění kůže. Pozitivita anti-RNAP III je typicky spojena s vyšším rizikem renální krize, žaludeční antrální vaskulární ektázie (GAVE), naopak závažné postižení plicního intersticia je vzácné (14). Protilátky proti komplexu fibrillarinu s RNA (anti-U3 RNP) jsou spojeny s difuzní kožní formou SSc s různorodým orgánovým postižením, včetně srdečního, renálního, muskuloskeletálního, plicního a gastrointestinálního systému, zejména plicní arteriální hypertenze, což je spojeno se špatnou prognózou (15). Protilátky anti-Th/To se vážou na enzymy zpracovávající RNA a vyskytují se u 1–10 % pacientů se SSc. Jsou spojeny s omezeným kožním postižením, ale mají vysokou frekvenci postižení vnitřních orgánů, jako je ILD, PAH, perikarditida a/nebo renální krize, což je spojeno se špatnou prognózou (16). Protilátky anti-U11/U12 RNP se vyskytují přibližně u 3 % pacientů se SSc a jsou spojeny s těžkou ILD s vysokou mortalitou (17).

Specifické autoprotilátky u idiopatických zánětlivých myopatií

Idiopatické zánětlivé myopatie (IZM) jsou systémová autoimunitní onemocnění, která postihují v různém rozsahu příčně pruhované svaly a mohou postihovat i jiné orgány. Existují různé klinické podskupiny myozitid, které se liší jedinečnými klinickými fenotypy a profily autoprotilátek. Heterogenita těchto onemocnění je významná, což ztěžuje jejich diagnostiku a léčbu. Mezi identifikovanými autoprotilátkami u idiopatických myozitid jsou protilátky specifické pro myozitidu (MSA) a protilátky s myozitidami asociované. Z protilátek pro myozitidu specifických je nejčastěji zjišťována podskupina protilátek namířená proti syntetázám aminoacyltransferové RNA (tRNA). Z těchto antisyntetázových protilátek jsou anti-Jo-1 protilátky nejčastější, vyskytují se u 40 % pacientů s progresivní formou myozitidy, s projevy intersticiálního plicního onemocnění

(ILD) - plicní fibrózy, někdy také s Raynaudovým fenoménem, artritidou nebo nálezem tzv. rukou mechanika. Antisyntetázové protilátky jiné než anti-Jo-1 protilátky mohou být spojeny s ILD i bez současných projevů myozitidy (amyopatické formy). ILD spojené s antisyntetázovými protilátkami je často pomalu progredující ve srovnání s rychle progredující ILD spojenou s protilátkami anti-MDA5 (18). Anti-Mi-2 protilátka je cílená proti helikáze, je specifická pro dermatomyozitidu (DM) s typickými kožními projevy (šálový příznak, V-znamení), s relativně akutním nástupem choroby a dobrou odpovědí na léčbu. Plicní postižení je u pacientů s těmito protilátkami méně časté, svalové postižení může být závažnější při srovnání s pacienty bez těchto protilátek nebo s pacienty s antisyntetázovým syndromem, riziko přidružených malignit by mohlo být nižší. Hladiny autoprotilátek anti-Mi2 korelují se závažností onemocnění, v klinické remisi mohou vymizet (19). Anti-SRP (Signal recognition particle) protilátky jsou spojeny s těžkými formami myozitid a často s rychlou progresí svalové slabosti, jsou nalezeny přibližně u 5 % pacientů s IZM. Svalové postižení má histologicky charakter nekrotizující myopatie s minimálním zánětem, s velmi vysokou hladinou kreatinkinázy, extramuskulární projevy jsou vzácné. Onemocnění je často refrakterní k terapii (20). Protilátka proti MDA5 (gen 5 asociovaný s melanomovou diferenciací) je asociována s klinicky amyopatickou formou DM s intersticiálním plicním onemocněním, včetně rychle progredujícího fenotypu s vysokou morbiditou a mortalitou. Často bývá přítomna artritida a charakteristický kožní fenotyp: ulcerace nad Gottronovými papulami, bolestivé palmární papuly a makuly, ulcerace v dutině ústní a alopecie (21). Protilátka proti NXP-2 (protein jaderné matrix 2) asociována s juvenilní formou DM s těžkým průběhem onemocnění s kalcinózou. Nález této protilátky u dospělých, zejména mužů, bývá spojen s výrazným svalovým onemocněním, dysfagií, myalgii a kalcinózou u dospělých (22). Protilátka anti-TIF-1gamma (transkripční intermediární faktor 1gamma) je spojena s charakteristickým kožním fenotypem zahrnujícím palmární hyperkeratotické papuly, léze podobné psoriáze a hypopigmentované a teleangiektatické skvrny „červené na bílém“ a také je silně asociována se zvýšeným rizikem vzniku malignity (23). Protilátky proti SAE jsou zaměřeny proti malému modifikačnímu enzymu podobnému ubikvitinu (SAE), jsou asociovány s dysfagií a kožními projevy, které předcházejí rozvoji myopatie, tyto pacienti mohou mít také zvýšené riziko malignity (24). Protilátka proti 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzym A reduktáze (anti-HMGCR) se vyskytuje u pacientů s imunitně zprostředkovanou nekrotizující myopatií s malým zánětlivým infiltrátem podobně jako u pacientů s protilátkou anti-SRP. Anti-HMGCR protilátka je také spojena s užíváním statinů, ačkoli až 50 % pacientů s touto protilátkou je statinově naivních. Autoprotilátky asociované s myozitidou jsou autoprotilátky, které se vyskytují u pacientů s jinými systémovými revmatickými onemocněními a mohou být přítomny u pacientů s myozitidou (25).

Autoprotilátky u revmatoidní artritidy

Revmatoidní faktor

Revmatoidní faktor (RF) je autoprotilátka namířená proti Fc-oblasti vlastního imunoglobulinu G (IgG). Nejčastěji měřenou autoprotilátkou

je izotyp IgM. Komplexy RF aktivují komplement, podporují zánět, a tím vedou k poškození tkání. V kombinaci s protilátkou proti cyklickým citrulinovaným peptidům (ACPA) jsou důležité při laboratorní diagnostice revmatoidní artritidy (RA). RF však může být přítomen i u jiných revmatických onemocnění a dalších stavů, včetně akutních a chronických infekcí a nádorových onemocnění. Pozitivitu RF mohou vykazovat i zdraví jedinci obvykle se vyskytuje v nízkém až středním titru (např. titry 1 : 40 až 1 : 160), proto je nezbytná interpretace tohoto nálezu v klinickém kontextu (1).

Četné studie, prospektivní i retrospektivní, prokázaly, že revmatoidní faktor i protilátky proti citrulinovaným peptidům mohou být přítomny několik let před klinickou diagnózou revmatoidní artritidy. Riziko vzniku revmatoidní artritidy u asymptomatických osob s pozitivitou revmatoidního faktoru však závisí na jeho titru, pozitivní rodinné anamnéze revmatoidní artritidy u příbuzných prvního stupně a současné přítomnosti ACPA protilátek. Absolutní riziko rozvoje revmatoidní artritidy je nicméně stále velmi malé. V každém případě v současné době není k dispozici žádná strategie, která by prokazatelně zabránila rozvoji revmatoidní artritidy, a v preklinické fázi není role choroby modifikující léčby žádná. Vysoké titry RF u pacientů s revmatoidní artritidou byly spojeny s horší prognózou, agresivnější formou onemocnění kloubů, zvýšenou aktivitou onemocnění, sníženými šancemi na remisi, vyšší prevalencí mimokloubních projevů a zvýšenou morbiditou a mortalitou, zejména v kombinaci s pozitivitou ACPA. RF a ACPA mohou také do jisté míry predikovat odpověď na léčbu. Některé studie ukázaly, že u léčených pacientů s konvenčními chorobu modifikujícími antirevmatickými (DMARDs) nebo biologickými léky, jako je infliximab, etanercept a adalimumab dochází k progresivnímu poklesu titru RF paralelně s poklesem aktivity onemocnění, ale klinická užitečnost RF při monitorování aktivity onemocnění je omezená. Informace týkající se potenciální role RF v predikci odpovědi na inhibitory TNFα je kontroverzní, některé studie naznačují, že přítomnost RF předpovídá sníženou účinnost negativní, dvě další studie ukazují, že pozitivita RF před léčbou je nedostatečná k predikci terapeutické odezvy na podání inhibitorů TNF. Pozitivita RF předpovídá lepší odezvu na podání rituximabu a tocilizumabu, ale ne na podání abataceptu (26).

Protilátky proti cyklickým citrulinovaným peptidům (ACPA)

Protilátky proti citrulinovaným peptidům jsou pro diagnózu revmatoidní artritidy mnohem specifičtější pro revmatoidní artritidu (95 %), protože se u jiných onemocnění vyskytuje jen zřídka, ale jejich senzitivita je podobná jako při vyšetření revmatoidního faktoru (68 %). Pozitivní výsledek by tedy diagnózu revmatoidní artritidy podpořil, ale negativní výsledek ji nevylučuje. ACPA byly zaznamenány i u jiných onemocnění, včetně několika autoimunitních revmatických chorob (např. systémový lupus erythematosus [SLE], psoriatická artritida), tuberkulózy a někdy i chronického plicního onemocnění. Pacienti s časnou RA pozitivní na ACPA mají zvýšené riziko progresivního poškození kloubů, přičemž přítomnost ACPA může předpovídat erozivní onemocnění účinněji než RF. Pozitivní test ACPA predikuje zvýšené riziko radiografické progresy i u pacientů s časnou oligo- nebo polyartritidou, u nichž je vyšetření RF negativní (5). Stran předpovědi léčebné odpovědi pacienti s časnou

revmatoidní artritidou, ACPA pozitivní reagovali lépe na podanou terapii než ACPA negativní, podání rituximabu se zdálo být účinnější u pacientů ACPA pozitivních, velmi vysoké titry ACPA byly spojeny s lepší odpovědí na podání abataceptu. Studie sledující efekt inhibitorů TNF-α podle přítomnosti ACPA nepřinesly jednoznačné výsledky (26).

Protilátky proti cytoplazmě neutrofilních leukocytů

Protilátky proti cytoplazmě neutrofilních leukocytů (ANCA) jsou protilátky namířené proti cytoplazmatickým složkám neutrofilů. Při vyšetření metodou nepřímé imunofluorescence slouží jako substrát etanolem fixované neutrofilie a mohou být pozorovány dva vzory jednak cytoplazmatické (c)-ANCA (difúzní barvení v cytoplazmě) a zadruhé perinukleární (p)-ANCA (periferní barvení kolem jader). Nepřímá imunofluorescence neposkytuje informaci o přesném cílovém antigenu. Tuto informaci lze získat pomocí antigenně specifických imunanalýz. Cílovým antigenem pro c-ANCA je obvykle proteináza-3 (PR3), zatímco cílovým antigenem pro p-ANCA může být proteináza-3 (PR3), myeloperoxidáza (MPO), katepsin, lysozym, laktoferin nebo inhibitor baktericidní propustnosti. Anti-PR3 protilátky jsou vysoce specifické pro granulomatozní polyangiitidu (GPA), zatímco anti-MPO je obvykle spojena s mikroskopickou polyangiitidou (MPA) a granulomatozní polyangiitidou s eosinofily (EGPA). Existuje tedy rostoucí tendence ke klasifikaci vaskulitidy asociované s ANCA na vaskulitidy asociované s PR3 nebo MPO spíše než na GPA, MPA, EGPA nebo ANCA renálně limitované vaskulitidy. Pozitivní p-ANCA a atypické p-ANCA se mohou vyskytnout také u léky indukované vaskulitidy, glomerulonefritidy, ulcerózní kolitidy a autoimunitní hepatitidy. Hladiny ANCA obecně neodrážejí aktivitu onemocnění a mohou kolísat. Atypické vzorce ANCA mohou být pozorovány při imunofluorescenčním vyšetření u pacientů s jinými imunitně zprostředkovanými stavy než systémovou vaskulitidou (např. poruchy pojivové tkáně, zánětlivé onemocnění střev a autoimunitní hepatitida). Tyto atypické vzory ANCA mohou být zaměněny se vzory p-ANCA. Vyšetření ELISA na přítomnost protilátek proti MPO nebo PR3 je však negativní (1).

Vyšetření ANCA protilátek je v klinické praxi obvykle využíváno při diagnostice ANCA asociovaných vaskulitid (AAV). Granulomatóza s polyangiitidou – přibližně 90 % pacientů s aktivní generalizovanou GPA je ANCA pozitivních, většina s nálezem protilátek anti-PR3. Malá podskupina pacientů s aktivní, generalizovanou GPA nebo omezenějšími formami onemocnění však ANCA nemá (např. podskupina pacientů s převážně onemocněním horních cest dýchacích a bez postižení ledvin). Nepřítomnost ANCA diagnózu GPA nevylučuje. Mikroskopická polyangiitida – téměř 90 % pacientů s MPA je ANCA pozitivních, většina s nálezem protilátek anti-MPO. Obě onemocnění mohou po dosažení remise vzplanout, u GPA je podstatně větší pravděpodobnost relapsu. Vaskulitida omezená na ledviny – pauciimunitní vaskulitida omezená na ledviny je charakterizována nekrotizující glomerulonefritidou s malým nebo žádným ukládáním imunoreaktantů (imunoglobulinů a složek komplementu). Většina pacientů s renálně limitovanou vaskulitidou je ANCA pozitivní, přičemž 75 až 80 % má MPO-ANCA. ANCA-pozitivní pauciimunitní nekrotizující glomerulonefritida je považována za součást spektra GPA/MPA, protože histopatologické nálezy v ledvinách jsou

neodlišitelné od nálezů glomerulonefritidy u GPA nebo MPA a protože někteří pacienti, u nichž se onemocnění projevuje pouze v ledvinách, nakonec vykazují extrarenální projevy GPA nebo MPA. Eozinofilní granulomatóza s polyangiitidou (Churg-Strauss) – přibližně 30–50 % pacientů s EGPA je ANCA pozitivních, přičemž procento je poněkud vyšší u pacientů s aktivním, neléčeným onemocněním. Protilátky proti PR3 i MPO, byly u pacientů s EGPA detekovány s různou frekvencí, nicméně se podstatně častěji vyskytují protilátky proti MPO. Existují klinické rozdíly mezi pacienty s EGPA podle toho zda jsou u nich prokázány ANCA protilátky. ANCA pozitivní pacienti mají častěji glomerulonefritidu, alveolární krvácení a neurologické onemocnění, zatímco ANCA negativní pacienti mají častěji postižení srdce a plic (27).

Revidovaný mezinárodní konsenzus z roku 2017 o testování ANCA u granulomatózy s polyangiitidou a mikroskopické polyangiitidy doporučuje dodržovat přísnou strategii indikace k ANCA vyšetření založenou na klinických projevech definovaných v konsenzu z roku 1999 viz. tabulka 5. Tato strategie výrazně snižuje počet žádostí o test ANCA a zlepšuje diagnostickou výkonnost testování ANCA s menším počtem falešně pozitivních výsledků. Nepřímá IF se již nepovažuje za vhodný screeningový test a při diagnostice AAV nepřináší oproti antigenně specifickým testům žádný další přínos, pokud je pravděpodobnost onemocnění před testem vysoká. U pacientů s vysokým stupněm klinického podezření a negativním výsledkem testu ANCA může být užitečné vyšetření jinou metodou, které zvýší senzitivitu. U ANCA negativních pacientů nelze vyloučit diagnózu AAV a u „séronegativních“ pacientů by měla být provedena biopsie postižených orgánů. Ačkoli

ANCA jsou při diagnostice AAV užitečné, diagnóza AAV by měla být založena na klinicko-patologických příznacích (28).

U pacientů s autoimunitními onemocněními jater nebo zánětlivými střevními onemocněními může být testování ANCA opodstatněné u pacientů s podezřením na autoimunitní hepatitidu typu 1, kteří nemají konvenční autoprotilátky, nebo v případě diagnostické nejistoty k rozlišení ulcerózní kolitidy od Crohnovy choroby. V těchto případech by ANCA měly být testovány pomocí nepřímé imunofluorescence, protože cílové antigeny ještě nejsou dobře charakterizovány (29).

Závěr

Přítomnost protilátek specifických pro dané onemocnění nebo protilátek asociovaných s daným onemocněním je charakteristickým znakem autoimunitních revmatických onemocnění. Každé revmatické onemocnění vykazuje jedinečný vzorec protilátkových profilů, který poskytuje užitečné informace pro diagnózu, určení klinického fenotypu a prognózu. Vzhledem k tomu, že titry protilátek často korelují s aktivitou nebo relapsem onemocnění, předpokládá se, že se aktivně podílejí na patogenezi onemocnění. Přestože přesná patofyziologická role protilátek specifických pro onemocnění nebo asociovaných s onemocněním zůstává z velké části neznámá, i když v posledním desetiletí bylo v této otázce dosaženo obrovského pokroku. Moderní klasifikace a léčebné přístupy jsou zaměřeny na identifikaci těchto protilátek a jejich klinických projevů, což by v budoucnu mohlo umožnit individualizovaný přístup, který je předpokladem efektivnější léčby.

PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti: Publikace byla zpracována s využitím uvedené literatury a nebyla publikována ani zaslána k recenznímu řízení do jiného média. **Střet zájmů:** Žádný. **Financování:** Podpořeno z prostředků MH CZ – DRO (FNOL, 00098892) a IGA_LF_2024_004. **Registrace v databázích:** N/A. **Projednání etikou komisí:** N/A.

LITERATURA

- Lee AY, Ang EB. A clinical overview of autoantibodies in general practice rheumatology. *Br J Gen Pract.* 2014;64(626):e599-601.
- Suresh E. Laboratory tests in rheumatology: A rational approach. *Cleve Clin J Med.* 2019;86(3):198-210.
- Andrade LEC, Damoiseaux J, Vergani D et al. Antinuclear antibodies (ANA) as a criterion for classification and diagnosis of systemic autoimmune diseases. *J Transl Autoimmun.* 2022 19;5:100-145.
- Damoiseaux J, van Beers J. Autoantibodies to dsDNA in the diagnosis, classification and follow-up of patients with systemic lupus erythematosus. *J Transl Autoimmun.* 2023; 21;6:100191.
- Giacomelli R, Afeltra A, Alunno A, Bartoloni-Bocci E, et al. Guidelines for biomarkers in autoimmune rheumatic diseases - evidence based analysis. *Autoimmun Rev.* 2019;18(1):93-106.
- Decker P, Moulinet T, Pontille F, Cravat M, De Carvalho Bittencourt M, Jaussaud R. An updated review of anti-Ro52 (TRIM21) antibodies impact in connective tissue diseases clinical management. *Autoimmun Rev.* 2022;21(3):103-113.
- Arroyo-Ávila M, Santiago-Casas Y, McGwin G Jr, et al. Clinical associations of anti-Smith antibodies in PROFILE: a multi-ethnic lupus cohort. *Clin Rheumatol* 2015; 34:1217.
- Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 200316;349(16):1526-33.
- Satoh M, Yamagata H, Watanabe F et al. Development of anti-Sm and anti-DNA antibodies followed by clinical manifestation of systemic lupus erythematosus in an elderly woman with long-standing Sjögren's syndrome. *Lupus.* 1995;4(1):63-5.
- Sirotti S, Generali E, Ceribelli A, Isailovic N, De Santis M, Selmi C. Personalized medicine in rheumatology: the paradigm of serum autoantibodies. *Auto Immun Highlights.* 2017 Dec;8(1):10.
- Barbhaiya M, Zuiily S, Naden R et al. ACR/EULAR APS Classification Criteria Collaborators. The 2023 ACR/EULAR Antiphospholipid Syndrome Classification Criteria. *Arthritis Rheumatol.* 2023 Oct;75(10):1687-1702. doi: 10.1002/art.42624. Epub 2023 Aug 28. PMID: 37635643.
- Coghlan JG, Denton CP, Grünig E et al. DETECT study group. Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(7):1340-9.
- Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005;35(1):35-42.
- Sobanski V, Dauchet L, Lefèvre G et al. Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(2):407-17.
- Tall F, Dechomet M, Riviere S et al. The Clinical Relevance of Antifibrillar (anti-U3-RNP) Autoantibodies in Systemic Sclerosis. *Scand J Immunol.* 2017;85(1):73-79.
- Ceribelli A, Cavazzana I, Franceschini F et al. Anti-Th/To are common antinuclear autoantibodies in Italian patients with scleroderma. *J Rheumatol.* 2010 Oct;37(10):2071-5. doi: 10.3899/jrheum.100316. Epub 2010 Aug 3. PMID: 20682663.
- Fertig N, Domsic RT, Rodriguez-Reyna T et al. Anti-U11/U12 RNP antibodies in systemic sclerosis: a new serologic marker associated with pulmonary fibrosis. *Arthritis Rheum.* 2009;61(7):958-65.
- Hamaguchi Y, Fujimoto M, Matsushita T et al. Common and distinct clinical features in adult patients with anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies: heterogeneity within the syndrome. *PLoS One.* 2013;8(4):e60442.
- Liang L, Zhang YM, Chen H et al. Anti-Mi-2 antibodies characterize a distinct clinical subset of dermatomyositis with favourable prognosis. *Eur J Dermatol.* 2020.
- Pinal-Fernandez I, Parks C, Werner JL et al. Longitudinal Course of Disease in a Large Cohort of Myositis Patients With Autoantibodies Recognizing the Signal Recognition Particle. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017;69(2):263-270.
- Kurtzman DJB, Vleugels RA. Anti-melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) dermatomyositis: A concise review with an emphasis on distinctive clinical features. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(4):776-785.

22. Fiorentino DF, Chung LS, Christopher-Stine L et al. Most patients with cancer-associated dermatomyositis have antibodies to nuclear matrix protein NXP-2 or transcription intermediary factor 1 γ . *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2954-62.
23. Yang H, Peng Q, Yin L et al. Identification of multiple cancer-associated myositis-specific autoantibodies in idiopathic inflammatory myopathies: a large longitudinal cohort study. *Arthritis Res Ther.* 201;19(1):259.
24. Jia E, Wei J, Geng H, Qiu X et al. Diffuse pruritic erythema as a clinical manifestation in anti-SAE antibody-associated dermatomyositis: a case report and literature review. *Clin Rheumatol.* 2019;38(8):2189-93.
25. Mammen AL. Statin-Associated Autoimmune Myopathy. *N Engl J Med.* 2016;374(7):664-9.
26. de Brito Rocha S, Baldo DC, Andrade LEC. Clinical and pathophysiologic relevance of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Adv Rheumatol.* 2019;59(1):2.
27. Hellmich B, Sanchez-Alamo B, Schirmer JH et al. EULAR recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis: 2022 update. *Ann Rheum Dis.* 2024;83(1):30-47.
28. Bossuyt X, Cohen Tervaert JW, Arimura Y, et al. Position paper: Revised 2017 international consensus on testing of ANCAs in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. *Nat Rev Rheumatol.* 2017;13(11):683-692.
29. Moiseev S, Cohen Tervaert JW, Arimura Y et al. 2020 international consensus on ANCA testing beyond systemic vasculitis. *Autoimmun Rev.* 2020;19(9):102618.