

PŮVODNÁ PRÁCA

ORIGINAL PAPER

ANALÝZA AUTOPROTILÁTEK PROTI 52 kDa A 60 kDa Ro/SSA U PACIENTEK SE SJÖGRENOVÝM SYNDROMEM A SYSTÉMOVÝM LUPUS ERYTHEMATODES IMUNOBLOTEM

M. DRAHOŠOVÁ, Z. HRNČÍŘ¹, C. ANDRÝS, R. SLEZÁK², J. HAVLASOVÁ, O. KOPECKÝ

IMMUNOBLOT ANALYSIS OF AUTOANTIBODIES AGAINST 52 kDa AND 60 kDa Ro/SSA IN PATIENTS WITH SJÖGREN'S SYNDROME AND SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Ústav klinické imunologie a alergologie FN, Hradec Králové

Přednosta: MUDr. O. Kopecký, CSc.

¹2.interní klinika FN, Hradec Králové

Přednosta: prof. MUDr. Zb. Hrnčář, DrSc.

²Stomatologická klinika FN, Hradec Králové

Přednosta: doc. MUDr. V. Hubková, CSc.

Souhrn

Cíl: Autoprotilátky proti složkám 52 kDa a 60 kDa Ro/SSA jsou důležitým laboratorním ukazatelem zvláště pro diagnostiku primárního Sjögrenova syndromu (SS) a systémového lupus erythematos (SLE). Děti matek s těmito autoprotilátkami se nacházejí v riziku závažných komplikací (neonatální lupus, kongenitální srdeční blokáda).

Metody: V této studii jsme testovali přítomnost autoprotilátek proti 52 kDa a 60 kDa Ro/SSA antigenům v české populaci u 31 žen trpících SLE a 20 pacientek s primárním SS. Pro srovnání byla použita skupina zdravých žen – dobrovolnic. Analýza autoprotilátek byla provedena imunoblotovou technikou s použitím setů ANA/AMA – Immunoblot (DPC, Německo). Rozdíly v obsahu autoprotilátek mezi jednotlivými skupinami byly vyjádřeny pomocí relativních četností.

Výsledky: Četnost nálezů anti-52 kDa Ro/SSA byla významně vyšší u pacientů se SS (95 %, $p<0,001$) i u SLE pacientů (52 %, $p<0,001$) než v kontrolní skupině (8 %). Skupina pacientů se SS vykazala signifikantně vyšší incidenci anti 52 kDa Ro/SSA autoprotilátek než skupina SLE ($p<0,001$). Autoprotilátky proti 60 kDa Ro/SSA byly rovněž častější u pacientů se SS (40 %, $p<0,001$) i SLE (23 %, $p<0,001$) než u kontrolních žen (0 %). Obě skupiny pacientů (SS a SLE) se nelišily v četnosti výskytu anti 60 kDa Ro/SSA autoprotilátek.

Summary

Objective: Autoantibodies against the 52 kDa SSA-Ro and the 60 kDa SSA-Ro are important laboratory variables in autoimmune, immunopathological diseases, most notably in the diagnosis of primary Sjögren's syndrome (SS), and certain variants of systemic lupus erythematosus (SLE). Pregnant women who have anti-SSA and/or anti-SSB autoantibodies, regardless of their clinical status are at risk for having infants with manifestation of neonatal lupus, including the development of congenital heart block.

Methods: We conducted the study in which the presence of antibodies against the 52 kDa SSA-Ro and the 60 kDa SSA-Ro in Czech population was determined in 31 women suffered from SLE, 20 women with primary SS and 12 healthy blood donors by immunoblotting analysis using ANA/AMA-IMMUNOBLOT (DPC Biermann GmbH, Germany) diagnostic kit. The differences in the positive results among different groups were calculated by the comparison of relative frequencies of incidence.

Results: The presence of anti 52 kDa SSA-Ro antibodies was significantly higher both in SS patients (95 %, $p<0,001$) and SLE patients (52 %, $p<0,01$) than in control (8 %). Comparing the positivity for anti 52 kDa SSA-Ro between SS and SLE patients the presence of antibodies is significantly higher in former group ($p<0,001$). The

Závěr: Nález autoprotilátek proti 52 kDa a 60 kDa Ro/SSA antigenům byly ve shodě s literárními údaji a jejich detekce může obohatit péči o matku a plod.

Klíčová slova: Sjögrenův syndrom, 52 kDa SSA-Ro autoprotilátky, 60 kDa SSA-Ro autoprotilátky, systémový lupus erythematosus.

ÚVOD

Přítomnost autoprotilátek proti antigenům Ro/SSA a/ nebo La/SSB v séru těhotných žen je rizikovým faktorem pro rozvoj neonatálního lupusu u jejich dětí. Patří sem především pacientky se Sjögrenovým syndromem (SS) a systémovým lupus erythematosus (SLE). Neonatální lupus je pravděpodobně vyvolán autoprotilátkami matky proniknuvšími přes placentu do krevního oběhu plodu. Projevy neonatálního lupusu mohou být srdeční, kožní, jaterní nebo hematologické. Kromě srdečního poškození, jehož nejzávažnějším projevem je kongenitální srdeční blokáda (CHB), jsou ostatní projevy zpravidla transientního charakteru a mizí s postupnou eliminací matčiných autoprotilátek z oběhu dítěte. CHB je nejčastěji diagnostikován už intrafetálně mezi 16. a 24. týdnem gravidity a může být spojen s myokarditidou (2, 3).

Mechanismy, kterými mohou matčiny autoprotilátky zaměřené proti intracelulárním antigenům způsobovat tyto závažné poruchy srdeční funkce, nejsou dosud do detailů objasněny. Je známo to, že srdeční sval dospělého člověka obsahuje Ro/SSA antigen. Zvláště vysoká hladina tohoto antigenu však byla nalezena ve fetálním srdečním svalu. Tímto si lze vysvětlit vyšší citlivost fetálního srdečního svalu k IgG protilátkám proti Ro/SSA antigenu. Pasívně získané anti-Ro/SSA autoprotilátky se váží na antigen fetálního srdce a mohou způsobit zánět a fibrózu (3). V jedné studii byla dokumentována přítomnost matčiných IgG autoprotilátek proti La/SSA na povrchu fetálních myokardiálních fibril (7). Jiní autoři eluovali anti Ro/SSA autoprotilátky z postiženého fetálního srdce (15). Depozita IgG byla nalezena v několika srdečních strukturách, tj. v atrioventrikulárním uzlu, v Purkyňových vláknech, na povrchu srdečního svalu a v převodním systému (10). Obohacená frakce sér matek s dětmi postiženými CHB a obsahující anti-52 kDa Ro/SSA autoprotilátky indukuje v experimentu kompletní atrioventrikulární blokádu na fetálním srdci mechanismem ovlivněné ICa-L inhibicí kalciového kanálu L-typu (1).

Kongenitální srdeční blokáda je diagnostikována přibližně u 5 % novorozenců matek s anti-Ro autoprotilátkami trpících SLE. Všechna séra matek plodů s prenatalně zjištěným CHB obsahovala autoprotilátky proti Ro/SSA (5). Informace o přítomnosti autoprotilátek proti Ro/SSA komplexu může být velmi přínosná pro depistáž rizikových matek.

V naší studii jsme sledovali výskyt autoprotilátek proti 52 kDa a 60 kDa u skupiny pacientek s diagnózou SS a SLE a porovnali tento nález se skupinou zdravých žen-dobrovolnic.

presence of anti 60 kDa SSA-Ro antibodies were significantly higher both in SS patients (40 %, $p < 0.001$) and SLE patients (23 %, $p < 0.01$) than in control (0 %). Comparison the positivity for anti 60 kDa SSA-Ro between SS and SLE patients reveals no statistically significant differences between these groups.

Conclusion: The information about the presence of autoantibodies against components of SSA-Ro complex is in agreement with literary statements and could be very relevant for the management of pregnancies that could be supposed.

Key words: Sjögren's syndrome, 52 kDa SSA-Ro autoantibodies, 60 kDa SSA-Ro autoantibodies, systemic lupus erythematosus.

INTRODUCTION

The presence of autoantibodies against Ro/SSA and/ or La/SSB molecules in blood of pregnant women suffered from Sjögren's syndrome (SS) and systemic lupus erythematosus (SLE) is the substantial risk factor for development of neonatal lupus in their offsprings. Neonatal lupus is very likely caused by the maternal autoantibodies passively transferred across placenta into vascular system of fetus. Heart, skin, liver and hematopoiesis could be affected by neonatal lupus. With the exception of congenital heart block (CHB) which is the most severe manifestation of neonatal lupus, other manifestations are usually transient and resolve with gradual elimination of maternal autoantibodies from circulation of newborn. CHB is usually diagnosed in utero between 16 and 24 weeks of gravidity and could be associated with myocarditis (2, 3).

It is not known what are mechanisms by which maternal autoantibodies directed against intracellular targets could perturb the fetal heart functions. It is recognized that adult myocardium include Ro/SSA molecules. Even more, enormously high level of this antigen was found in fetal heart muscle. It is possible to explain higher susceptibility of fetal heart muscle to IgG autoantibodies against Ro/SSA antigen in this way. Passively transferred anti-Ro/SSA antibodies are bound to Ro/SSA antigens of fetal heart and could induce the inflammation and fibrosis in this way (3). The deposits of maternal IgG autoantibodies against Ro/SSA were documented on the surface of fetal myocardial fibrils by Horsfall and coworkers (7). Other authors were able to eluate anti-Ro/SSA autoantibodies from affected fetal heart (15). Deposits of anti-Ro/SSA were found in several cardiac structures e.g. atrioventricular node, Purkyňe's filaments, on the surface of myocard and in conduction system (10). Enriched serum fractions of mothers who delivered CHB affected newborns induce complete atrioventricular block on fetal heart by interference with ICa-L by inhibition of calcium channel L-type (1).

CHB is diagnosed in approximately 5 % newborns of mothers suffered from SLE with the presence of anti-Ro/

SOUBOR NEMOCNÝCH A METODY

Předmětem studie je 20 žen (průměrný věk 58 let, rozsah 41–79 let), které splňovaly mezinárodně používaná kritéria pro Sjögrenův syndrom podle Vitaliho (20) a 31 žen průměrného věku 28 let, rozsah 19–41 let, které splnily klasifikační kritéria pro SLE podle ACR/1982 (American College for Rheumatology – revidováno 1997) (6, 17). Výsledky vyšetření autoprotilátek proti Ro52 a Ro60 u těchto nemocných byly porovnány s kontrolní skupinou 12 zdravých žen–dobrovolnic o průměrném věku 43 let, rozsah 23–65 let.

Sérové hodnoty autoprotilátek proti složkám 52 kD a 60 kD Ro/SSA jsme vyšetřili pomocí imunoblotové techniky s použitím komerčních setů ANA/AMA Immunoblot firmy DPC Germany) a pozitivní výsledky vyjádřili pomocí semikvantitativní stupnice (slabě pozitivní, pozitivní, silně pozitivní a velmi silně pozitivní). Výsledky stanovení autoprotilátek (pozitivní – negativní) byly porovnány mezi skupinami pacientů a kontrol pomocí srovnání relativních četností.

VÝSLEDKY

Souhrnný přehled četností výskytu hladin vyšetřovaných autoprotilátek proti složkám 52 kD a 60 kD Ro/SSA je podán v tabulce 1.

A) Autoprotilátky proti složce 52 kD Ro/SSA

Tyto autoprotilátky byly nalezeny ve skupině pacientů se SS statisticky významně častěji než v kontrolní skupině ($p < 0,001$) a podobný trend byl zjištěn i v případě pacientů se SLE versus kontrola ($p < 0,01$).

Dále byl testován rozdíl v četnosti výskytu pozitivních nálezů mezi skupinou pacientů se SS a SLE. Bylo zjištěno, že autoprotilátky anti-52 kD Ro/SSA se vyskytovaly statisticky významně častěji u SS pacientů ($p < 0,001$).

B) Autoprotilátky proti složce 60 kD Ro/SSA

Ve srovnání s kontrolní skupinou se autoprotilátky proti složce 60 kD Ro/SSA vyskytují statisticky významně častěji u obou sledovaných nemocí SLE ($p < 0,01$) a SS ($p < 0,001$). Četnost výskytu pozitivních nálezů u obou chorob byla obdobná a nebyla mezi nimi nalezena statistická odlišnost ($p > 0,05$).

Tab. 1. Přehled výskytu pozitivit autoprotilátek proti antigenu 52 kDa a 60 kD Ro (SSA) u pacientů s diagnózou Sjögrenův syndrom, SLE a v kontrolní skupině.

Tab. 1. Overall incidence of the positivity of autoantibodies against 52 kD and 60 kD Ro(SSA) in Sjgren's syndrome and SLE patients and in control group.

Skupina	Počet Total	Pozitivita Ro 52 kD		Pozitivita Ro 60 kD	
		n	%	n	%
Sjögrenův syndrom	20	19	95	8	40
Systémový lupus erythematoses	31	16	52	7	23
Kontrolní skupina	12	1	8	0	0

SSA autoantibodies. All sera of mothers of fetuses with prenatally diagnosed CHB contain autoantibodies against Ro/SSA (5). Knowledge about the presence of autoantibodies against Ro/SSA complex could be very useful for identification of mothers in risk.

In this study the presence of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa Ro/SSA molecules were followed in groups of patients with SS and SLE in comparison with healthy volunteers.

PATIENTS AND METHODS

The group of 20 female (average age 58 years, range 41–79 years) who fulfill internationally recognized criteria for SS according to Vitali (20) and group of 31 female (average age 28 years, range 19–41 years) who fulfill the classification criteria of ACR/1982 (American College for Rheumatology – revised 1997) for SLE (6, 17) were studied. The positivity of anti-Ro52 and Ro60 autoantibodies were compared with the control group of 12 healthy female volunteers (average age 43 years, range 23–65 years).

The presence of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa subunits of Ro/SSA complex in serum samples were evaluated by immunoblot using commercially available sets ANA/AMA IMMUNOBLOT manufactured by DPC, Germany. The positive results were expressed semiquantitatively in scale weak positivity, positivity, strong positivity, very strong positivity. The results of such estimation (positivity, negativity) were statistically compared between patient's groups and healthy controls with the help of relative frequencies of positivity.

RESULTS

Overall incidence of the positivity of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa Ro/SSA is shown in tab. 1.

1. Autoantibodies against 52 kDa Ro/SSA subunit

These autoantibodies were found statistically significantly more frequently in both patients with SS ($p < 0,001$) and patients with SLE ($p < 0,01$) in comparison with healthy controls. The autoantibodies against 52 kDa Ro/SSA molecule were significantly more frequent in patients with SS ($p < 0,001$) in comparison with SLE patients.

2. Autoantibodies against 60 kDa Ro/SSA

These autoantibodies were found statistically significantly more frequently in both patients with SS ($p < 0,001$) and patients with SLE ($p < 0,01$) in comparison with healthy controls. No significant differences in the frequencies of positivity of anti 60 kDa Ro/SSA antigen autoantibodies were found between SS and SLE groups ($p < 0,05$).

DISKUSE

Komplexy Ro/SSA a La/SSB mají významnou roli v imunopatogenezi řady onemocnění. Pochopení a poznání jejich struktury otevřelo možnosti objasnění řady otázek a přispělo k rozvoji poznání v oblasti imunobiologie a molekulární genetiky. Cytobiologické funkce Ro/SSA antigenů jsou dosud předmětem zkoumání. Obě složky SSA i SSB jsou schopny vazby k řetězci nukleové kyseliny a mají zásadní význam při replikaci a transkripci, kdy zabezpečují dočasné udržení vlákna nukleové kyseliny v jednořetězcovém a napnutém stavu pro usnadnění přístupu DNA nebo RNA polymeráz. Komplex Ro/SSA se skládá ze dvou hlavních komponentů: RNA-vázající protein o molekulové hmotnosti 60 kDa, který má funkci transkripčního regulátoru a protein o molekulové hmotnosti 52 kDa, vystupující jako T-buněčný regulátor.

Nejčastější metodou analýzy těchto autoprotilátek je imunoblotová technika, která umožňuje analyzovat najednou celý jejich repertoár současně s určením molekulové hmotnosti cílových antigenů (16, 18). Jinou možností je technika imunodifuze nebo ELISA s purifikovanými, případně rekombinantními antigeny (13).

Souvislost mezi přítomností IgG autoprotilátek proti Ro/SSA a La/SSB v matčině cirkulaci, jejich přenosem na plod a možným rozvojem závažné kardiologické komplikace – kongenitální srdeční blokády (CHB), je často diskutována (3, 5, 11, 14).

Ben-Chetrit a spol. (1) sledovali výskyt anti-52 kDa a anti-60kDa autoprotilátek ve skupině pacientů se SLE a primárním SS. Ve shodě s našimi výsledky zjistili přítomnost anti-52 kDa i anti-60 kDa autoprotilátek u obou testovaných diagnóz na rozdíl od zdravých žen. Dále ve shodě s naším pozorováním zjistili vyšší incidenci protilátek anti-52 kDa a nikoli anti-60 kDa u SS pacientů a naopak vyšší výskyt anti-60 kDa a nikoli anti-52 kDa u pacientů se SLE.

Obdobných výsledků dosáhl Tsay se spolupracovníky (18), kteří analyzovali séra 53 pacientů se SLE a 23 pacientů se SS v čínské populaci na přítomnost autoprotilátek proti 52-kDa a 60-kDa Ro/SSA antigenům současně dvěma metodami (imunoblot a ELISA techniku). 14 ze 16-ti SLE pacientů reagovalo v imunoblotu s antigenem 60 kDa a 15 z těchto pacientů rozpoznávalo současně 52 kDa. Nebylo nalezeno žádné sérum, které by obsahovalo pouze anti-60 kDa autoprotilátky. Všech 17 pacientů s diagnózou SS bylo pozitivních na přítomnost anti-52 kDa, zatímco pouze 2 séra těchto pacientů reagovala s 60 kDa antigenem. Výsledky dosažené pomocí ELISA techniky byly s tímto zjištěním ve shodě. Vyšší incidence autoprotilátek proti 60 kDa se vyskytovala u pacientů se SLE a naproti tomu anti-52 kDa autoprotilátky byly častější u pacientů se SS.

Tato zjištění podporují i nálezy St Claira a spol. (16), kteří porovnávali reaktivitu autoprotilátek proti 52 kDa a 60

DISCUSSION

The Ro/SSA and La/SSB complex plays an important role in the pathogenesis of several immunopathological disorders. The molecular structure of this complex has been revealed recently. The elucidation of its structure enhanced the progress in the field of immunobiology. The study of cytobiological functions of Ro/SSA and La/SSB complex is now under progress. Both subunits SSA and SSB are capable to bind to nucleic acid chain and possess fundamental function in replication and transcription of DNA. They transiently maintain single-stranded DNA to enable access of DNA and RNA polymerases. Complex Ro/SSA consists of two principal components: RNA-binding protein, molecular mass 60 kDa which serves as a transcription regulator and 52 kDa protein with T cell regulatory functions.

The most useful technique to determine the presence of autoantibodies against SSA/SSB complex is immunoblot which allowed us to analyse their whole repertoire together with the estimation of their molecular targets (16, 18). Another methods which are used is immunodiffusion or ELISA with purified or recombinant antigens (13).

Association between the presence of IgG autoantibodies against Ro/SSA and La/SSB in maternal blood, their transfer to fetus and development of severe congenital heart block is frequently reported (3, 5, 11, 14).

Ben-Chetrit and coworkers (1) followed the incidence of anti 52 kDa and 60 kDa autoantibodies in patients with SLE and primary SS. They found that the positivity of anti 52 kDa and anti 60 kDa autoantibodies in affected groups was higher in comparison with healthy women. Furthermore, they found higher incidence of autoantibodies against 52 kDa antigen but not anti 62 kDa antigen in patients with SS in contrast with patients suffered from SLE in whom majority of patients reveal autoantibodies directed against 60 kDa but not 52 kDa antigen. Their results are in concordance with the results of our study.

Analogous results were obtained by Tsay et al (18) who analyzed the positivity of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa Ro/SSA in serum samples of 53 patients with SLE and 23 patients with SS in Chinese population simultaneously by immunoblot and ELISA technique. Fourteen patients from 16 patients with SLE were positive in autoantibodies reacting with 60 kDa antigen and 15 SLE patients were positive in both autoantibodies against 60 kDa and 52 kDa. No patient with single positivity of autoantibodies only against anti 60 kDa antigen was found. All 17 patients with SS were positive in the presence of autoantibodies against 52 kDa subunit whereas only 2 patients were positive in autoantibodies against 60 kDa subunit. The results obtained by immunoblot were further supported by ELISA. There was higher incidence of autoantibodies against 60 kDa molecule in SLE patients and autoantibodies against 52 kDa antigen were more frequently found in patients with SS.

kDa antigenům u primárního SS a SLE. Ve shodě s předchozími autory i s naším pozorováním rovněž našli vyšší výskyt autoprotilátek proti 60 kDa SSA u pacientů s SLE než u pacientů se SS.

Příčiny difference v distribuci protilátkové odpovědi proti 52 kDa a 60 kDa Ro/SSA antigenům mezi SS a SLE nejsou jasné. Někteří autoři se přiklánějí k domněnce, že existují konformační odlišnosti antigenních epitopů Ro/SSA komplexu mezi oběma zmíněnými imunopatologickými stavy, jiní tvrdí, že složky Ro/SSA komplexu hrají u obou diagnóz odlišnou imunopatologickou roli.

Repertoár protilátek proti komplexu Ro/SSA byl rovněž podroben zkoumání. Keech a spol. sledovali tvorbu protilátek proti 52 kDa a 60 kDa Ro/SSA u myši po imunizaci rekombinantními antigeny 52 a 60 kDa. Protilátky proti jednomu rekombinantnímu antigenu jsou po určité době následovány tvorbou protilátek proti druhému antigenu, kterým nebylo testované zvíře imunizováno. Zkřížená reaktivita těchto autoprotilátek však nebyla potvrzena. Toto autoři vysvětlují možností rozšířené tvorby autoprotilátek i proti dalším blízkým epitopům na stejné nebo na jiných molekulách funkčního molekulárního komplexu (tzv. „epitope spreading“) (9). Obdobná pozorování zveřejnili i jiní autoři (4, 8, 19).

ZÁVĚR

Analýza autoprotilátek proti 52 kDa a 60 kDa Ro/SSA významně obohacuje možnosti laboratorní diagnostiky autoimunitních imunopatologických onemocnění. Obzvláštním přínosem jejich stanovení pro klinickou praxi je identifikace postižených žen, u kterých přítomnost těchto autoprotilátek představuje riziko poškození plodu v průběhu možného těhotenství.

REFERENCES

- Ben-Chetrit, E.:** Anti Ro/La antibodies and their clinical association. *Isr J Med Sci*, 33, 1997, č. 4, s. 251–253.
- Borrego, L., Rodriguez, J., Soler, E., Jimenez, A., Hernandez, B.:** Neonatal lupus erythematosus related to maternal leukocytoclastic vasculitis. *Pediatr Dermatol*, 14, 1997, č. 3, s. 221–225.
- Buyon, J.P.:** Neonatal lupus and autoantibodies reactive with SSA/Ro-SSB/La. *Scand J Rheumatol*, 27, 1998, Suppl. 107, s. 23–30.
- Dorner, T., Feist, E., Held, C., Conrad, C. et al.:** Differential Recognition of the 52-kD Ro(SS-A) antigen by sera from patients with primary biliary cirrhosis and primary Sjögren's syndrome. *Hepatology*, 24, 1996, č. 6, s. 1404–1407.
- Finkelstein, Y., Adler, Y., Harel, L., Nussinovitch, M., Youinou, P.:** Anti-Ro (SSA) and anti-La (SSB) antibodies and complete congenital heart block. *Ann Med Interne*, 148, 1997, č. 3, s. 205–208.
- Hochberg, M.C.:** Updating the American College of Rheumatology Revised Criteria for the Classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Arthr Rheum*, 40, 1997, č. 9, s. 1725.
- Horsfall, A.C., Venables, P.J.W., Taylor, P.V., Maini, R.N.:** Ro and La antigens and maternal autoantibody idiotype on the surface of myocardial fibers in congenital heart block. *J Autoimmunity*, 4, 1991, č. 1, s. 165–176.
- Kato, T., Sasakawa, H., Suzuki, S., Shirako, M., Tashiro, F., Nishio, K., Yamamoto, K.:** Autoepitopes of the 52-kD SS-A/Ro molecule. *Arthr Rheum*, 38, 1995, č. 7, s. 990–998.

These findings are in agreement with results published by St. Clair et al. (16). They compared the reactivity of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa antigens in patients with primary SS and SLE. They found overall higher incidence of autoantibodies against 60 kDa SSA molecule in patients with SLE in comparison SS patients. Their results are in a good concordance with previous authors and with the results of our own study.

The reasons for differences in the distribution of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa Ro/SSA molecules between SS and SLE patients are not clear. Some authors declare that there are conformation dissimilarities of antigenic epitopes of Ro/SSA complex between above mentioned immunopathological diseases. Others claim that there are different pathophysiological roles of Ro/SSA complex in SLE and SS.

The repertoire of antibodies against Ro/SSA complex has already been studied in a deep detail. Keech and coworkers (9) followed the production of antibodies against 52 kDa and 60 kDa Ro/SSA subunits in mice immunized by recombinant either 52 kDa or 60 kDa antigens. The presence of antibodies against the single antigen by which was animal immunized was followed by the occurrence of antibodies against another antigen which was not used for immunization. The cross reactivity of antibodies against 52 kDa and 60 kDa molecules was excluded. The results of this study are interpreted as the formation of antibodies against further near epitopes on the same molecule or on different molecules of the same molecular complex. This process is called “epitope spreading” (9). Similar results were reported by other authors (4, 8, 19).

CONCLUSION

Analysis of autoantibodies against 52 kDa and 60 kDa Ro/SSA significantly improves the laboratory procedures used for diagnosis of autoimmune immunopathological diseases. Their estimation is particularly useful for clinical practice in females in whom their positivity could anticipate the risk of development of neonatal lupus erythematosus and congenital heart block.

9. Keech, C.L., Gordon, T.P., McCluskey, J.: The immune response to 52-kD Ro and 60-kD Ro is linked in experimental autoimmunity. *J Immunol*, 157, 1996, č. 6, s. 3694–3699.
10. Lee, L.A., Coulter, S., Erner, S., Chu, H.: Cardiac immunoglobulin deposition in congenital heart block associated with maternal anti-Ro autoantibodies. *Amer J Med*, 83, 1987, č. 4, s. 793–796.
11. Lee, L.A., Pickrell, M.B., Reichlin, M.: Development of complete heart block in an adult patient with Sjögren's syndrome and anti-Ro/SS-A autoantibodies. *Arthr Rheum*, 39, 1996, č. 8, s. 1427–1429.
12. Lopez-Longo, F.J., Monteagudo, I., Gonzales, C.M., Grau, R., Carreno, L.: Systemic lupus erythematosus: clinical expression and anti-Ro/SS-A response in patients with and without lesions of subacute cutaneous lupus erythematosus. *Lupus*, 6, 1997, č. 1, s. 32–39.
13. McCauliffe, D.P., Wang, L., Satoh, M., Reeves, W.H., Small, D.: Recombinant 52 kD Ro(SSA) ELISA detects autoantibodies in Sjögren's syndrome sera that go undetected by conventional serologic assays. *J Rheumatol*, 24, 1997, č. 5, s. 860–866.
14. Mevorach, D., Raz, E., Shalev, O., Steiner, I., Ben-Chetrit, E.: Complete heart block and seizures in an adult with systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum*, 36, 1993, č. 2, s. 259–262.
15. Reichlin, M., Brucato, A., Frank, M.B. et al.: Concentration of autoantibodies to native 60-kDa Ro/SSA and denatured 52-kDa Ro/SSA in eluates from the heart of a child who died with congenital complete heart block. *Arthr Rheum*, 37, 1994, č. 11, s. 1698–1703.
16. St Clair, E.W., Burch, J.A., Saitta, M.: Specificity of autoantibodies for recombinant 60-kD and 52 kD Ro autoantigens. *Arthr Rheum*, 37, 1994, č. 9, s. 1373–1379.
17. Tan, E.M., Cohen, A.S., Fries, J.F., Masi, A.T. et al.: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum*, 25, 1982, č. 11, s. 1271–1277.
18. Tsay, G.J., Wang, C.L., Chen, T.Y., Huang, C.N., Hsu, T.C.: SS-A/Ro antibodies in Chinese patients with systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. *J Formos Med Ass*, 95, 1996, č. 12, s. 905–910.
19. Tseng, C.H.E., Chan, E.K.L., Miranda, E., Gross, M., DiDonato, F., Buyon, J.P.: The 52-kD protein as a target of intermolecular spreading of the immune response to components of the SS-A/Ro-SS-B/La complex. *Arthr Rheum*, 40, 1997, č. 5, s. 936–944.
20. Vitali, C., Bombardieri, S., Haralampos, M. et al.: Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthr Rheum*, 36, 1993, č. 3, s. 340–347.

Do redakcie došlo 28.5.1999.

Adresa autora: RNDr. M. Drahošová, Ústav klinické imunologie a alergologie FN, 500 36 Hradec Králové, Česká republika.

SLOVENSKÁ LEKÁRSKA SPOLOČNOSŤ

SPOLOK SLOVENSKÝCH LEKÁROV V BRATISLAVE

Schôdza zo dňa 15.3.1999

EPIDEMIOLOGIA OSTEOPORÓZY

MASARYK P.

Osteoporóza sa stala v posledných rokoch celosvetovým medicínskym a spoločenským problémom pre jej výrazný – až epidemický – nárast a pre obrovské náklady na diagnostiku a liečbu.

Celoživotné riziko zlomeniny krčka femuru je u 50-ročnej ženy 15,6 %, zlomeniny predlaktia 15 % a aspoň jednej atraumatickej zlomeniny stavca 32 %. Toto riziko je síce nižšie ako pri KVCH (30–40 %), ale je porovnateľné s rizikom rakoviny (9–12 %). Riziko úmrtia v dôsledku zlomeniny krčka femuru je u tej istej ženy 2,8 %, zhodné s rizikom úmrtia na rakovinu prsníka a 4-krát vyššie ako pri rakovine endometria (0,7 %).

METODOLOGICKÉ PROBLÉMY EPIDEMIOLOGIE OSTEOPORÓZY

Štúdium epidemiológie osteoporózy nie je jednoduché. Na výskyt osteoporózy sa usudzuje nepriamo — pomocou výskytu jej komplikácií — zlomenín. Všeobecne sú miestami porotických fraktúr stavce, kosti predlaktia a krčiek bedrovej kosti. Fraktúry stavcov a predlaktia sú síce spojené s vysokou morbiditou, ale najzávažnejšie dôsledky majú práve fraktúry krčka stehrovej kosti pre vysokú mortalitu. Zistiť výskyt osteoporózy v populácii je veľmi ťažké, ba priam ne-

(pokračovanie na s. 23)