

ANTI-dsDNA PROTILÁTKY

AUTOPROTILÁTKA

Prottilátky známé jako antinukleární prottilátky (ANA), které jsou zaměřeny proti molekule DNA, naznačují, co může být nejsilnější klinickou asociací se systérovým lupus erythematosus (SLE). Existují dva různé druhy anti-dsDNA prottilátek podle povahy antigenu, s nímž se váží: prottilátky zaměřené na denaturovanou molekulu DNA a prottilátky zaměřené na nativní DNA, buď jedno- (ssDNA) nebo dvouvláknové (dsDNA) formy. Anti-dsDNA prottilátky významně souvisejí s ledvinovými poruchami, které provázejí SLE. Avidita těchto prottilátek může mít rovněž význam pro patogenicitu SLE. Koncentrace anti-dsDNA izotypů vykazuje významnou souvislost s aktivitou choroby: třída IgG s lupus nephritis, IgM s postižením kůže a IgA s vasculitis u SLE (1, 2).

ANTIGENNÍ LÁTKA

Prottilátky, které se váží s dsDNA, jsou nejtypičtější a nejspolehlivější pro diagnózu SLE. Reagují s epitopy na fosfodiesterové vazbě podél molekuly dsDNA (3). Prottilátky od pacientů se SLE potřebují fragmenty DNA s minimální velikostí 20-40 základních párů, aby při vazbě vznikly stabilní interakce (4).

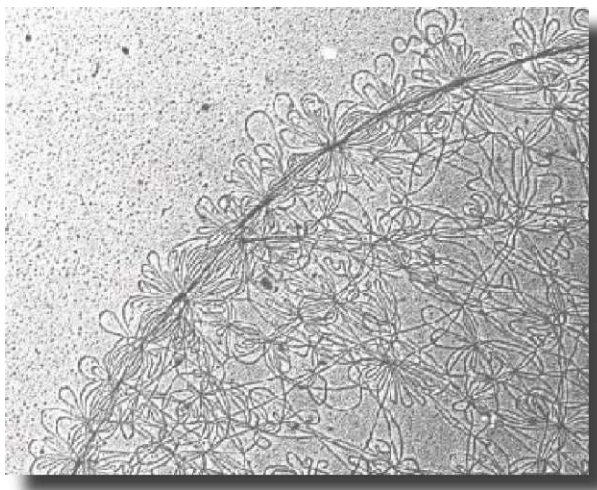
ASOCIACE CHOROBY

Ačkoli přítomnost antinukleárních prottilátek je pouze jedním z 11 diagnostických kritérií Amerického sdružení revmatologů, je zřejmě problematické provést konečnou diagnózu SLE v jejich absenci. Antinukleární prottilátky jsou přítomné u více než 95% pacientů s lupus. Význam anti-dsDNA prottilátek byl prokázán srovnáním aktivity choroby a evoluce titrů nebo izotypů prottilátek. Fluktuace úrovně anti-dsDNA prottilátek u pacienta obecně odpovídá klinickému stavu příslušného pacienta. Anti-dsDNA prottilátky s vysokou aviditou, zejména izotypu IgG, se často používají jako ukazatel aktivity choroby u pacientů s lupus nephritis.

Třída IgM anti-dsDNA prottilátek, ať samotná nebo společně s IgA, vykazuje silné spojení s pacienty s postižením kůže (1, 2, 6).

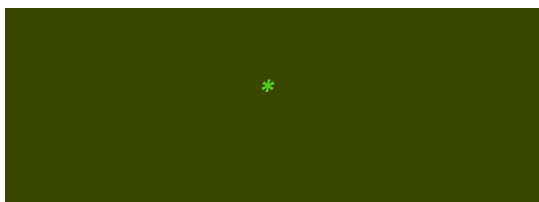
METODY IDENTIFIKACE

Existují čtyři hlavní metody zjišťování anti-dsDNA prottilátek. ELISA: je to nejcitlivější stávající metoda. Může být založena na různém původu prottilátek (cirkulární dvouvláknová plazmidová DNA, DNA z telecího brzlíku ...) i na různých způsobech imunologické analýzy, jako např. klasické absorbanční čtení, chemiluminiscenční nebo fluorescenční imunologické analýzy. Nepřímá imunofluorescenční analýza *Crithidia luciliae* (CLIF): prottilátka, cirkulární dvouvláknová DNA je umístěna v kinetoplastu a je známa jako kDNA. Jádra, bazální tělísko nebo bičík mohou poskytovat fluorescenční zbarvení, ale zaznamenaná musí být pouze fluorescence kinetoplastu.



Obrázek 1. Elektronový mikrosnímek segmentu sítě kDNA. Reprodukce z Klingbeil, M. M., Drew, M. E., Liu, Y., Morris, J. C., Motyka, S. A., Saxowsky, T. T., Wang, Z. & Englund, P. T. (2001) *Protist* 152, 255-262.

Analýzy ELISA a CLIF mohou zjistit vysokou i nízkou aviditu anti-dsDNA protilátek. Analýza Farr je radioimunologická analýza založená na imunoprecipitaci při vysokých koncentracích soli, s použitím síranu amonného, při kterém dochází k oddělení anti-dsDNA protilátek s nízkou aviditou od dsDNA. Tato analýza zjišťuje pouze protilátky s vysokou aviditou, které jsou pro SLE typičtější než protilátky s nízkou aviditou (7). Konečně analýza PEG (polyetylenglykol) zjišťuje anti-dsDNA protilátky s nízkou aviditou.



Obrázek 2. Zbarvení kinetoplastu *Crithidia luciliae* nepřímou imunofluorescencí.

ODKAZY

1. Forger F, Matthias T, Oppermann M, Becker H, Helmke K. Clinical significance of anti-dsDNA antibody isotypes: IgG/IgM ratio of anti-dsDNA antibodies as a prognostic marker for lupus nephritis. *Lupus* 2004; 13 (1): 36-44.
2. Witte T, Hartung K, Matthias T, Sachse C, Fricke M, Deicher H, Kalden JR, Lakomek HJ, Peter HH, Schmidt RE. Association of IgA anti-dsDNA antibodies with vasculitis and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology International* 1998; 18(2): 63-69.
3. Pisetsky DS. Antibody responses to DNA in Normal Immunity and Aberrant Immunity. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1998; 5(1):1-6.
4. Ali R, Dersomonian H, Stollar BD. Binding of monoclonal anti-native DNA autoantibodies to DNA of varying size and conformation. *Mol Immunol* 1985; 22(12):1415-22.
5. Smeenk R, Hylkema M. Detection of antibodies to DNA: a technical assessment. *Mol Biol Rep* 1992;17(1):71-9.
6. Parodi A, Drosera M, Barbien L, Babbini G, Rebora A. Antidouble-stranded DNA isotypes in lupus erythematosus patients with prevalent cutaneous presentation. *British Journal of Dermatology* 2002;174: 754.
7. Derksen RHWM, Bast EJEG, Strooisma T, Jacobs JWG. A comparison between the Farr radioimmunoassay and a new automated fluorescence immunoassay for the detection of antibodies against double stranded DNA in serum. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2002;61:1099-1102.

BioED

BioSystems Educational Department

Vědění je smyslem našeho života



Costa Brava 30, 08030 Barcelona (Španělsko) Tel. +34-93 311 00 00 Fax +34-93 346 77 99
e-mail: biosystems@biosystems.es www.biosystems-sa.com