

Značaj određivanja antinuklearnih antitijela

Ana Kozmar^{1,2}

Antinuklearna antitijela su velika skupina autoantitijela koja prepoznaju raznovrsne unutarstanične autoantigene i prvenstveno su karakteristična za sistemske autoimune bolesti koje odlikuje karakterističan profil autoantitijela. Antinuklearna antitijela su također važan čimbenik dijagnostike juvenilnog idiopatskog artritisa, autoimunog hepatitisa 1 i primarnog bilijarnog kolangitisa. Testiranje na prisutnost antinuklearnih antitijela u serumu ima ponajprije ključnu ulogu u dijagnostici sistemskih autoimunih bolesti, a može biti značajno i u procjeni aktivnosti bolesti, u prognozi i diferencijalnoj dijagnozi. Zlatni standard i prva linija testova za određivanje antinuklearnih antitijela je indirektna imunofluorescencija na supstratu stanične linije humanog epidermoidnog karcinoma larinksa tip 2 (HEp-2 stanice), na koju se nastavlja dokazivanje specifičnih autoantitijela potvrdnim metodama.

Ključne riječi: ANTITIJELA, ANTINUKLEARNA; KLINIČKO-LABORATORIJSKE TEHNIKE; BOLESTI VEZIVNOG TKIVA; ARTRITIS, JUVENILNI

Autoantitijela su serološki biljezi korisni u svrhu dijagnoze, klasifikacije i fenotipizacije sistemskih i organ-specifičnih autoimunih bolesti, od kojih antinuklearna antitijela (ANA) imaju središnju ulogu (1, 2). ANA su velika skupina autoantitijela koja prepoznaju raznovrsne unutarstanične antigene u raznim staničnim odjeljcima, uključujući sastavnice jezgre, jezgrine ovojnice, citoplazmatskih organela, mitotskog aparata i citosola. Osim što ANA uključuju antitijela na ekstraktibilne nuklearne antigene (ENA) kao što su SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP, Scl-70 i Jo-1, ona obuhvaćaju i cijeli spektar klinički relevantnih autoantitijela (3). Sam naziv antinuklearna antitijela nije u potpunosti točan jer osim jezgrinih ovaj pojam se odnosi i na citoplazmatske proteine, ali je iz povijesnih razloga ostao u uporabi (2).

Od kada su prvi puta opisana 1958. godine, ANA imaju središnju ulogu u imunodijagnostici podsku-

pine sistemskih upalnih autoimunih bolesti pod nazivom bolesti vezivnog tkiva (BVT) kao što su: sistemski eritemski lupus (SLE), primarni Sjögrenov sindrom (SjS), idiopatske upalne mioopatije (IIM), sistemska skleroza (SSc), miješana bolest vezivnog tkiva (MBVT) i sindrom preklapanja, a ujedno su dio klasifikacijskih kriterija većine BVT. ANA su također i jedan od temeljnih seroloških biljega za dijagnozu organ-specifičnih autoimunih bolesti kao što su autoimuni hepatitis tipa I (AIH tip 1), primarni bilijarni kolangitis (PBC) i potvrđeni faktor rizika za razvoj uveitisa u bolesnika s juvenilnim idiopatskim artritisom (JIA) (4 - 6).

ANA METODE PROBIRA

Metodologija testiranja na prisutnost ANA se mijenjala tijekom godina, od 1948. godine kada je Hargreaves opisao fenomen LE stanica, do indirektno imunofluorescencije (IIF) na prikladnim

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

²Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb

kriostatnim preparatima tkiva (miš, štakor, majmun) i staničnim linijama, do imunotestova na čvrstoj podlozi kao što su ELISA metoda (engl. *Enzyme linked immunosorbent assay*), fluorescentni enzimoimunotestovi (FEIA, engl. *Fluorescence enzyme immunoassay*), kemiluminescentni imunotestovi (CLIA, engl. *Chemiluminescent immunoassay*) i Luminex multiplex metoda s mikrokućicama (2, 4).

Zlatni standard za određivanje ANA je metoda indirektno imunofluorescencije na supstratu stanične linije humanog epidermoidnog karcinoma larinksa tipa 2 (HEp-2 stanice) (2, 7). Metoda IIF na HEp-2 stanicama je u uporabi preko 60 godina i zbog svoje visoke osjetljivosti predstavlja referentnu metodu za ANA probir.

Uporabom znatno većih HEp-2 stanica u odnosu na stanice tkivnih supstrata, omogućena je detaljnija vizualizaciju autoantitijela vezanih za unutarstanične strukture, kao što je prepoznavanje autoantitijela koja reagiraju s citoplazmatskim antigenima i antigenima koji su izraženi tijekom stanične diobe (7).

Prednost IIF na HEp-2 stanicama je mogućnost detekcije više od 100 različitih autoantitijela što je više od bilo kojeg drugog testa na čvrstoj podlozi. Princip metode je da se autoantitijelo vezano za ciljni antigen u HEp-2 stanici obilježi anti-humanim konjugatom označenim fluorokromom čime kompleks daje karakterističan obrazac fluorescencije pod fluorescentnim mikroskopom. (3, 8).

Obrazac fluorescencije na Hep-2 stanicama odražava lokalizaciju (topografsku distribuciju) ciljnih autoantigena lokaliziranih u različitim organelama i staničnim odjeljcima u različitim fazama staničnog ciklusa, pružajući neizravne dokaze koji upućuju na moguće molekularne ciljeve i povezane specifičnosti autoantitijela u uzorku. Ova značajka HEp-2 IIF metode bila je ključna u karakterizaciji niza staničnih autoantitijela, uključujući ona koja reagiraju s centromerama, jezgrinim antigenom proliferirajućih stanica (PCNA), fibrilarinom, CENP-F, mitotskim aparatom i brojnim drugim autoantigenima (9).

Postoji korelacija između ANA obrasca fluorescencije, prisutnosti određenih autoantitijela i sistemskih autoimunih bolesti. Korektna definicija obrasca je vrlo korisna zbog daljnjeg usmjerenja

testiranja potvrdnim testom. Na primjer u slučaju nukleolarne fluorescencije koja je povezana sa sistemskom sklerozom daljnje testiranje se može provoditi imunoblot metodom koja uključuje karakteristična autoantitijela za sklerodermu.

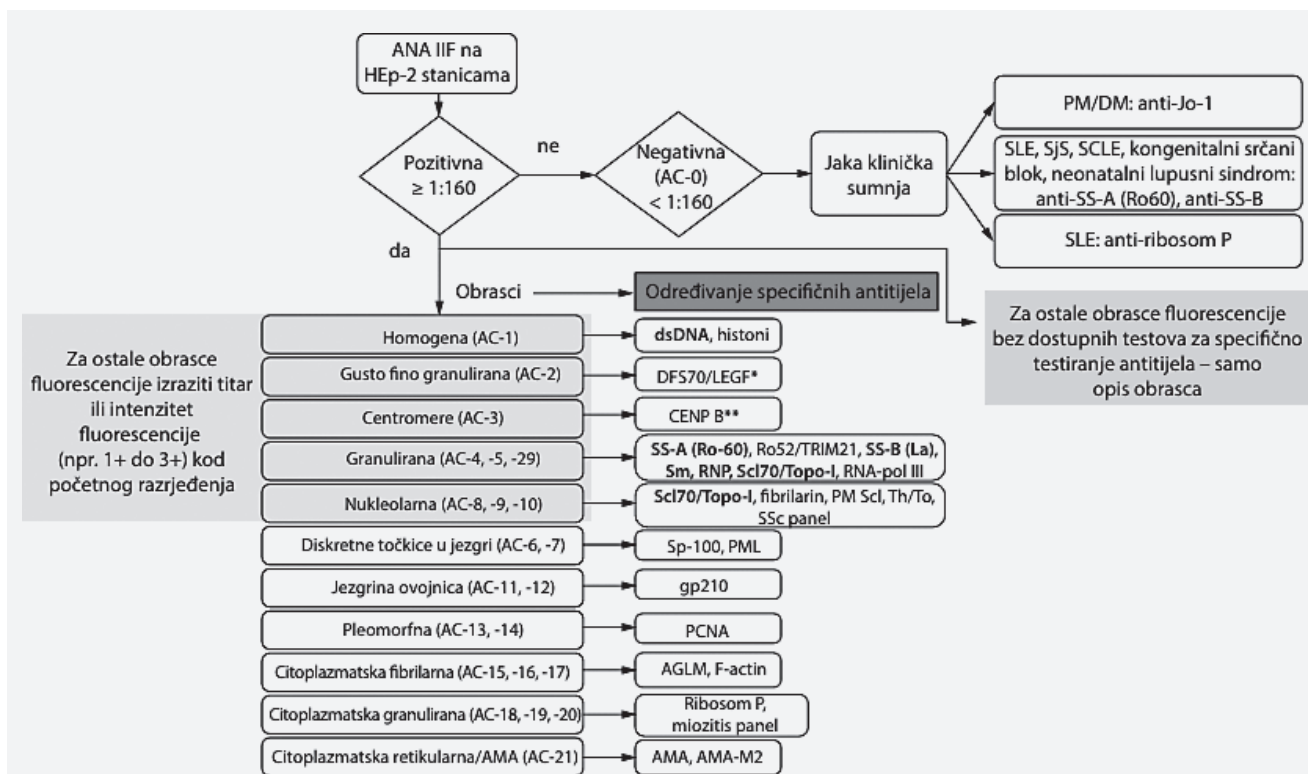
IIF na Hep-2 stanicama je metoda podložna subjektivnoj interpretaciji te se ukazala potreba za preporukama koje bi omogućile harmonizaciju izvođenja IIF i izvještavanja ANA rezultata.

Međunarodna grupa stručnjaka okupljena oko Odbora za standardizaciju autoantitijela (engl. *Autoantibody Standardization Committee*) pridružena Međunarodnim udruženjima imunoloških društava (engl. *International Union of Immunology Societies*) ustanovila je međunarodni konsenzus o obrascima fluorescencije antinuklearnih antitijela na HEp-2 stanicama (ICAP, engl. *The International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns*) 2015. godine u Brazilu (3). S ciljem postizanja harmonizacije nomenklature opisano je trideset najrelevantnijih i najzastupljenijih HEp-2 obrazaca fluorescencije, svrstanih u tri glavne skupine: fluorescencija jezgre, citoplazme i mitotskog aparata (3, 10).

Svaki obrazac fluorescencije označen je odgovarajućom AC oznakom (engl. *Anti-Cell pattern code*). Obrasci unutar svake skupine detaljno su opisani na službenoj mrežnoj stranici <https://www.anapatterns.org/>, gdje se uz sliku svakog obrasca fluorescencije navodi opis obrasca, informacija o ciljnim autoantigenima i klinički značaj. Prema ICAP preporuci fluorescencije jezgre, kao i jasni citoplazmatski i mitotski obrasci izvještavaju se kao pozitivna ANA (3, 10).

Pojedine bolesti vezivnog tkiva karakterizira određeni profil autoantitijela odnosno autoantigena, tako da se na primjer jezgrini obrasci fluorescencije poput homogene (AC-1), grubo granulirane (AC-5) ili centromera (AC-3) mogu naći isključivo u uzorcima bolesnika s BVT ili s visokim rizikom za razvoj BVT-a. Za razliku od karakterističnih BVT obrazaca, gusto fino granulirani obrazac fluorescencije (AC-2) gotovo se isključivo opaža kod zdravih osoba i pacijenata s različitim ne-BVT stanjima (11).

Sva izdanja kriterija za klasifikaciju SLE od 1997. godine su uključili prisutnost ANA i SLE specifičnih autoantitijela čime je naglašen značaj određivanja



Slika preuzeta iz: Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, Kozmar A, Gugo K. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. Biochem Med (Zagreb). 2021;31:020502 (15).

Slika 1. Algoritam ispitivanja specifičnih antitijela za pozitivne ANA IIF uzorke ovisno o obrascu fluorescencije. Svaki obrazac označen je s odgovarajućom AC oznakom. PM/DM - Polimiozitis / dermatomiozitis. AGLM - antitijela na glatku muskulaturu. AMA - antimitohondrijska antitijela.

ANA. Pozitivna ANA IIF na HEp-2 stanicama se mogu naći u 92–99 % bolesnika sa SLE, najčešće s homogenim (AC-1), fino granuliranim (AC-4) i grubo granuliranim (AC-5) obrascima fluorescencije. Obrasci fluorescencije AMA-tip (AC-21), mnogostruke nuklearne točkice (AC-6), točkaste jezgrine ovojnice (AC-12) i centromere (AC-3) odražavaju autoantitijela povezana s PBC-om. U bolesnika s autoimunim hepatitisom tipa I nađu se uzorci fluorescencije AC-1, AC-4 i povezani s F-aktin antitijelima (AC-15) (12).

Preporučena vrsta uzorka za pretraživanje na prisutnost ANA je serum, a najčešće početno razrjeđenje u probirnom ANA IIF testu na HEp-2 stanicama je 1:80 ili 1:100. Uobičajeno se početno razrjeđenje interpretira i kao granični titar (engl. *cut-off*) ili se kao granični titar koristi 1:160, najčešće preporučen u literaturi. Za granični titar kod ANA probira u dječjoj populaciji (<16 godina) nema preporuka, osim za klasifikaciju ranog razvoja ANA-pozitivnog JIA, gdje granični titar $\geq 1:160$ predstavlja pozitivna ANA (6, 13, 14).

Uzorak pozitivan na probiru ANA IIF metodom dodatno se razrjeđuje do najvišeg titra kod kojeg je još vidljiva fluorescencija ili barem do klinički značajnog titra od 1:640.

ALGORITAM TESTIRANJA

Positivan nalaz ANA probirnog testa trebao bi biti praćen analizom antigen specifičnih antitijela, ovisno o obrascu fluorescencije. Algoritam ispitivanja specifičnih antitijela u slučaju pozitivnih ANA IIF na HEp-2 stanicama prikazan je na slici 1. Refleksno testiranje gdje se na prvu liniju testova (ANA IIF) automatski nastavlja testiranje na specifična antitijela omogućuje unaprjeđenje efikasnosti laboratorijske dijagnostike BVT uz istovremeno skraćivanje vremena do postavljanja dijagnoze. Za bolesti vezivnog tkiva testiranje se provodi na specifična autoantitijela koja su relevantna u smislu kliničke dijagnoze, kategorizacije podsindroma, prognoze, terapijskog praćenja ili razvoja preklapajućih sindroma kao što su anti-

Tablica 1. Klinički najrelevantnija autoantitijela u bolestima vezivnog tkiva

Autoantitijelo	Učestalost u različitim bolestima vezivnog tkiva	Klinički značaj
anti-dsDNA	>95% u aktivnom SLE sa zahvaćenosti bubrega 50 – 70% u aktivnom SLE bez zahvaćenosti bubrega	ACR i SLICC klasifikacijski kriterij za SLE Prognostički biljeg za SLE (biljeg zahvaćenosti bubrega, aktivnosti bolesti, primjena u praćenju terapije)
anti-SS-A (Ro60)	60 – 96% u primarnom SjS 40 – 60% u sekundarnom SjS 25 – 60% SLE 60 – 100% SCLE 90% NLE	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za primarni SjS Povezana s izvanžljezdanim manifestacijama, Nalaze se u majki djece s NLE
anti-Ro52/TRIM21	17 – 63% SjS 23% SLE 20% SSc 30% bolesnika s antisintetaza sindromom (u do 72% bolesnika s pozitivnim anti-Jo-1) Kod ne-BVT bolesti (28% PBC, 17% AIH)	Nalazi se u raznim autoimunim bolestima
anti-SS-B (La)	40 – 70% u primarnom SjS 5 – 50% u sekundarnom SjS 19 – 30% u SLE 25 – 80% u SCLE 70% NLE	Obično su prisutna uz SS-A antitijela Usporedna pojavnost sa SS-A antitijelima obično korelira s rjeđim bubrežnim manifestacijama
anti-Sm	5 – 10% SLE	ACR i SLICC klasifikacijski kriterij za SLE Visoka specifičnost za SLE
anti-RNP	100% MBVT 13 – 32% SLE	Serološki biljeg MBVT (kad su prisutna u visokom titru)
anti-Topo I/Scl70	65% u difuznoj SSc	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za SSc Povezana s brže progredirajućim sistemskim oblikom SSc
anti-CENP B	57 – 82% bolesnika s CREST sindromom 3 – 12% bolesnika s difuznim kožnim oblikom SSc	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za SSc Povezana sa sporo razvijajućim ograničenim kožnim oblikom SSc (CREST sindrom)
anti-RNA-pol III	3 – 19% SSc	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za SSc Povezana s difuznim kožnim manifestacijama i bubrežnom krizom
anti-Jo-1	24 – 30% IIM	ACR/EULAR klasifikacijski kriterij za odrasle i juvenilne IIM Povezana s intersticijskom plućnom fibrozom
anti-PM/Scl	24 – 55% poliomiozitis/skleroderma preklapajući sindrom 8 – 12% IIM 1 – 16% SSc	Dijagnostički biljeg za poliomiozitis/skleroderma preklapajući sindrom
anti-PCNA	3% SLE	Donedavno su se smatrala vrlo specifičnim za SLE
anti-ribosom P	10 – 35% SLE	Visoka specifičnost za SLE
anti-histoni	92 – 95% lupusa uzrokovanog lijekovima 50 – 80% SLE	Visoka specifičnost za lupus uzrokovan lijekovima
anti-nukleosomi	56 – 90% SLE	Visoka specifičnost za SLE

ACR – American College of Rheumatology. SLICC – Systemic Lupus International Collaborating Clinics. EULAR – European League Against Rheumatism. SCLE – Subakutni kožni eritemski lupus. NLE – Neonatalni eritemski lupus. CHB – Kongenitalni srčani blok. Tablica preuzeta iz: Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, Kozmar A, Gugo K. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31:020502 (15).

tijela na klasične ENA antigene, dsDNA i centromere (Tablica 1) (15).

Određivanje ANA specifičnih antitijela provodi se metodama na čvrstoj podlozi koje odlikuje visoka analitička specifičnost i osjetljivost poput CLIA, ELISA, FEIA, LIA i ALBIA. Potvrdnim metodama moguće je odrediti pojedinačna autoantitijela ili

istodobnu detekciju svih dijagnostički važnih autoantigena za pojedinu skupinu autoimunih bolesti (LIA, Luminex).

U slučaju negativnog ANA IIF nalaza (AC-0) nije potrebno određivanje specifičnih antitijela. Međutim zbog niske osjetljivosti ANA IIF za neka specifična autoantitijela (anti-SSA, anti-Ro52,

anti-Jo-1, anti-ribosom P protein), kod negativnog ANA IIF nalaza, specifično testiranje treba provesti u slučaju jake kliničke sumnje na pojedine dijagnoze (anti-Jo-1 u slučaju PM/DM; anti SS-A (Ro60, Ro52) u slučaju SjS, kongenitalnog srčanog bloka ili neonatalnog lupusa; antitijela na ribosom P protein u slučaju SLE) (15, 16).

Laboratorijski nalaz za ANA sadrži opis obrasca IIF prema ICAP nomenklaturi, titar autoantitijela, i specifikaciju ciljnih autoantigena uz navedene korištene metode.

INDIKACIJE ZA ANA TESTIRANJE

Testiranje na ANA preporučuje se samo u bolesnika sa simptomima vezanim uz autoimune reumatske bolesti, autoimune bolesti jetre (AIH, PBC) i u praćenju bolesnika s JIA. Razlog tome je što slaba ANA reaktivnost može biti prisutna u mnogim bolestima koje nemaju autoimunu podlogu (virusne infekcije, bolesti jetre, sindrom kroničnog umora, razni karcinomi) kao i u zdravih osoba (osobito trudnica i starijih osoba) (17). ANA se mogu naći u niskom titru od 1:40 u 20-30 % zdravih ispitanika i u 5 % u titru 1:160, bez ikakvog kliničkog značaja (18). Prisutnost ANA u visokom titru i postojanost tijekom vremena je karakteristično za većinu BVT. Stoga je predodabir bolesnika vrlo važan za smanjenje broja lažno pozitivnih rezultata i otkrivanje autoantitijela iz logičnog kliničkog konteksta (15).

ANA probirni test se koristi primarno u dijagnostičke svrhe. S obzirom na to da promjena ANA titra ne prati aktivnost bolesti ili odgovor na terapiju serijsko praćenje titra nije opravdano (2, 19). Iznimka je određivanje koncentracije ds-DNA antitijela koja korelira s aktivnošću bolesti i prediktor je aktivacije SLE (20). U slučaju negativnog ili slabo pozitivnog nalaza ponavljanje ANA je korisno samo u bolesnika s perzistirajućim i pogoršanim kliničkim simptomima BVT. Ponavljanje testiranja pozitivnog nalaza ANA testa u bolesnika s klinički definiranim BVT je nepotrebno, osim u slučaju sumnje u promjenu fenotipa bolesti ili preklapanja autoimunih bolesti (18, 21).

ZAKLJUČAK

Određivanje antinuklearnih antitijela je ključna dijagnostička metoda u prepoznavanju autoimunih

bolesti. Iako ANA testiranje ne može samo po sebi potvrditi dijagnozu, ono je od velike važnosti u usmjeravanju dijagnoze, praćenju aktivnosti bolesti i prepoznavanju specifičnih oblika autoimunih bolesti. Pravilna interpretacija rezultata ANA testiranja, u kontekstu kliničke slike pacijenta, neophodna je za precizno postavljanje dijagnoze i učinkovito liječenje.

Dijagnostika autoimunih bolesti je vrlo kompleksna, dijagnoza je uvijek rezultat sinergije između klinike i laboratorija. Pretraživanje na prisutnost ANA treba provoditi selektivno, samo kada postoji jaka sumnja na prisutnost sistemske autoimune bolesti. Kada je mala vjerojatnost autoimune bolesti, većina pozitivnih rezultata niskog titra predstavlja lažno pozitivne rezultate ili su povezani sa starijom dobi pacijenata. Racionalni pristup laboratorijskoj dijagnostici doprinosi boljem iskorištenju sredstava, bržoj dijagnozi, pravovremenom uvođenju terapije i preciznijoj procjeni aktivnosti bolesti.

Kratice:

AC	- Anti-Cell
ACR	- American College of Rheumatology.
AGLM	- antitijela na glatku muskulaturu.
AIH tip 1	- autoimuni hepatitis tipa I
AMA	- antimitohondrijska antitijela
ANA	- antinuklearna antitijela
BVT	- bolesti vezivnog tkiva
CHB	- kongenitalni srčani blok
CLIA	- kemiluminescentni imunotest
ELISA	- enzimimunotest
ENA	- ekstraktibilni nuklearni antigeni
EULAR	- European League Against Rheumatism
FEIA	- fluorescentni enzimoimunotest
HEp-2	- stanična linija humanog epidermoidnog karcinoma larinksa tipa 2
ICAP	- International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns
IIF	- indirektna imunofluorescencija
IIM	- idiopatske upalne mioopatije
JIA	- juvenilnim idiopatski artritis
MBVT	- miješana bolest vezivnog tkiva
NLE	- neonatalni eritemski lupus
PBC	- primarni bilijarni kolangitis
PCNA	- jezgrin antigen proliferirajućih stanica
PM/DM	- polimiozitis / dermatomiozitis
SCLE	- subakutni kožni eritemski lupus

- SjS - primarni Sjögrenov sindrom
 SLE - sistemski eritemski lupus
 SLICC - Systemic Lupus International Collaborating Clinics
 SSc - sistemska skleroza

LITERATURA

- Sciascia S, Bizzaro N, Meroni PL, et al. Autoantibodies testing in autoimmunity: Diagnostic, prognostic and classification value. *Autoimmun Rev.* 2023;22:103356. doi: 10.1016/j.autrev.2023.103356.
- Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:17-23. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203863.
- Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015. *Front Immunol.* 2015;6:412. doi: 10.3389/fimmu.2015.00412.
- Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16:715-726. doi:10.1038/s41584-020-00523-z.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J Hepatol.* 2017;67:145-172. doi:10.1016/j.jhep.2017.03.022.
- Martini A, Ravelli A, Avcin T, et al. Toward new classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: First steps, Pediatric Rheumatology International Trials Organization international consensus. *J Rheumatol.* 2019;46:190-197. doi:10.3899/jrheum.180168.
- Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1420-1422. doi:10.1136/ard.2009.127100.
- Mahler M, Meroni PL, Bossuyt X, Fritzler MJ. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J Immunol Res.* 2014;2014:315179. doi: 10.1155/2014/315179.
- Andrade LEC, Klotz W, Herold M, et al. Reflecting on a decade of the international consensus on ANA patterns (ICAP): Accomplishments and challenges from the perspective of the 7th ICAP workshop. *Autoimmun Rev.* 2024;23:103608. doi:10.1016/j.autrev.2024.103608.
- International consensus on ANA patterns (ICAP). 2021 [accessed 2025 January 10]. Available from: <https://www.anapatterns.org/trees-2021.php>
- Bonroy C, Vercammen M, Fierz W, et al. Detection of anti-nuclear antibodies: Recommendations from EFLM, EASI and ICAP. *Clin Chem Lab Med.* 2023;61:1167-1198. doi: 10.1515/cclm-2023-0456.
- Andrade LEC, Damoiseaux J, Vergani D, Fritzler MJ. Antinuclear antibodies (ANA) as a criterion for classification and diagnosis of systemic autoimmune diseases. *J Transl Autoimmun.* 2022;5:100145. doi:10.1016/j.jtauto.2022.100145.
- Storwick JA, Brett AC, Buhler K, et al. Prevalence and titres of antinuclear antibodies in juvenile idiopathic arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2022;21:103086. doi:10.1016/j.autrev.2022.103086.
- Aksu G, Gulez N, Azarsiz E, et al. Determination of cut-off titers and agreement between immunofluorescence and immunoblotting methods for detecting antinuclear antibodies in children. *J Clin Lab Anal.* 2010;24:230-236. doi:10.1002/jcla.20390.
- Tešija Kuna A, Đerek L, Drvar V, et al. Assessment of antinuclear antibodies (ANA): National recommendations on behalf of the Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine. *Biochem Med (Zagreb).* 2021;31:020502. doi:10.11613/BM.2021.020502.
- Hoffman IEA, Peene I, Veys EM, De Keyser F. Detection of specific antinuclear reactivities in patients with negative anti-nuclear antibody immunofluorescence screening tests. *Clin Chem.* 2002;48:2171-6. doi:10.1093/clinchem/48.12.2171
- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725-34. doi:10.1002/art.1780400928
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:316-24. doi:10.1309/5N1M-595L-8X9Y-3X9F
- Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:71-81. doi: 10.5858/2000-124-0071-GFCUOT
- Pisetsky DS. Anti-DNA antibodies – quintessential biomarkers of SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12:102-10. doi:10.1038/nrrheum.2015.151
- Tonutti E, Bizzaro N, Morozzi G, et al. The ANA-reflex test as a model for improving clinical appropriateness in autoimmune diagnostics. *Auto Immun Highlights.* 2016;7:9. doi:10.1007/s13317-016-0080-0

Adresa za dopisivanje:

Doc. dr. sc. **Ana Kozmar**, mag. med. biochem.
 Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku,
 KBC Zagreb
 Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb
 e-mail: akozmar@kbc-zagreb.hr

S U M M A R Y

The importance of determining antinuclear antibodies

Ana Kozmar

Antinuclear antibodies are a large group of autoantibodies directed against various intracellular autoantigens and are primarily associated with systemic autoimmune diseases characterized by a specific autoantibody profile. Antinuclear antibodies are also an important factor in the diagnosis of juvenile idiopathic arthritis, autoimmune hepatitis 1, and primary biliary cholangitis.

Detection of antinuclear antibodies in serum facilitates the diagnosis of systemic autoimmune diseases and may be important in assessing disease activity, prognosis, and differential diagnosis.

The gold standard and the first-line test for the detection of antinuclear antibodies is indirect immunofluorescence using HEp-2 cells (human laryngeal epidermoid carcinoma cell line type 2) substrate, followed by detection of specific autoantibodies by confirmatory methods.

Key words: ANTIBODIES, ANTINUCLEAR; CLINICAL LABORATORY TECHNIQUES;
CONNECTIVE TISSUE DISEASES; ARTHRITIS, JUVENILE