

## LAVORO ORIGINALE

# Il blocco cardiaco congenito nella connettivite indifferenziata e nella sindrome di Sjögren primitiva. Studio di 81 gravidanze in 41 pazienti\*

## *Isolated congenital heart block in undifferentiated connective tissue disease and in primary Sjögren's syndrome: a clinical study of 81 pregnancies in 41 patients*

C. Grava, A. Ruffatti, O. Milanese<sup>1</sup>, M. Favaro, M. Tonello, A. Calligaro, T. Del Ross, S. Todesco

Cattedra e Unità Operativa di Reumatologia; <sup>1</sup>Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Padova

### SUMMARY

**Objective:** To study the incidence and the features of congenital heart block (CHB) in patients with undifferentiated connective tissue disease (UCTD) and primary Sjögren's syndrome (pSS).

**Methods:** We studied 81 pregnancies of 41 women attending the Outpatients' Clinic of the Rheumatology Unit of University Hospital of Padova from July 1989 to March 2004. Twenty five of these (61%) were affected with UCTD and 16 (39%) with pSS. Serologic inclusion criteria was anti-Ro/La positivity, assessed by counterimmunoelectrophoresis and ELISA.

**Results:** CHB was found in 2 out of the 46 (4,3%) pregnancies followed by our Staff and in 2 out of the 35 (5,7%) included in the retrospective part of the study. In 3 cases CHB was a 3rd degree block, causing pregnancy termination in 2. The only 2<sup>nd</sup> degree block was identified in one patient at the 22<sup>nd</sup> week of gestation and treated with dexamethasone and plasma-exchange. All of the women were positive to 52 kd and 60 kd Ro autoantibodies. CHB mothers had higher titer antibodies to 52 kd Ro protein than did the mothers with healthy infants ( $P = 0,026$ ). Electrocardiographic abnormalities at birth were found in 3 out of 29 asymptomatic infants. One presented sinus bradycardia, the second abnormalities of ventricular repolarization, both regressed spontaneously, while the third ventricular extrasystoles which continue even now at 5 months.

**Conclusion:** These results showed that in UCTD and pSS there is a higher incidence of CHB than that reported in Systemic Lupus Erythematosus. Electrocardiographic screening in all infants born to mothers with anti-Ro/La antibodies would seem an important measure to identify those with irreversible heart conduction abnormalities.

Reumatismo, 2005; 57(3):180-186

### INTRODUZIONE

Il blocco cardiaco congenito (BCC), diagnosticato in utero o in età perinatale e non associato a malformazioni cardiache, è una rara patologia au-

toimmune correlata alla trasmissione placentare al feto di anticorpi materni anti-SSA/Ro e/o anti-SSB/La. Attualmente in letteratura vi sono pochi dati riguardanti l'incidenza del BCC nelle connettiviti. Secondo un recente studio prospettico la frequenza di BCC nelle gravidanze di donne positive per anti-Ro/La è del 2% (1). È stato ipotizzato che il rischio di BCC possa essere maggiore nelle donne positive per anti-SSA/Ro e asintomatiche o affette da Connettivite Indifferenziata (CI) o da sindrome di Sjögren primitiva (SSp) rispetto a quelle affette da Lupus Eritematoso Sistemico (LES) (1). In uno studio prospettico precedente,

\*Lavoro premiato al XLI Congresso SIR, Stresa 2004

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott.ssa Chiara Grava  
Cattedra e UOC di Reumatologia  
Università di Padova  
Via Giustiniani, 2 - 35128 Padova  
E-mail: chiara.grava@unipd.it

che comprendeva 91 neonati di pazienti affette da LES o da sindromi simil-lupiche, non è stato riscontrato alcun caso di BCC (2) mentre secondo un'analisi retrospettiva di 96 gravidanze in 47 donne positive per anti-SSA/Ro e affette da LES probabile o definito, il BCC è stato descritto in 6 casi (6,2%) (3). Il rischio di ricorrenza familiare in fratelli di bambini affetti è del 15-20% (4).

In questo studio abbiamo valutato retrospettivamente la prevalenza e le caratteristiche del BCC in un gruppo di pazienti affette da CI o da SSp. Abbiamo inoltre osservato l'incidenza di nuovi casi nelle stesse pazienti seguite prospetticamente in corso di gravidanza.

## PAZIENTI E METODI

Da Luglio 1989 a Marzo 2004 sono state seguite prospetticamente presso il nostro ambulatorio 46 gravidanze consecutive in 41 pazienti, 25 (61%) affette da CI e 16 (39%) da SSp, con età media all'ingresso  $30 \pm 4,13$  anni (range: 19-38 anni). Nessuna paziente asintomatica si è presentata alla nostra osservazione. Trentacinque gravidanze si erano concluse precedentemente all'ingresso nello studio prospettico e sono state incluse nello studio retrospettivo.

La diagnosi di SSp è stata posta secondo i Criteri Europei (5); la diagnosi di CI è stata formulata in base al riscontro di segni clinici e bioumorali di malattia sistemica autoimmune che non soddisfacevano i criteri di classificazione di connettivite definita (6). Sono state escluse dallo studio pazienti affette da LES, diagnosticato secondo i criteri ACR (7). Il criterio sierologico di inclusione era costituito dalla positività per anti-SSA/Ro e/o anti-SSB/La.

Per il monitoraggio materno-fetale di 24 gravidanze intercorse dal 1989 al 2001 sono stati eseguiti, a cadenza mensile, ecografia ostetrica, controllo clinico completo, esami bioumorali e, mediamente, 2 ecocardiografie fetali; nelle 22 gravidanze seguite dal 2002 sono stati eseguiti, a cadenza mensile, ecografia ostetrica, controllo clinico completo ed esami bioumorali; le ecocardiografie fetali venivano eseguite dalla 17<sup>a</sup> settimana di gestazione (SG) e successivamente ogni 2 mesi.

Il BCC è stato diagnosticato in base al criterio di blocco atrio-ventricolare isolato, non associato a malformazioni anatomiche responsabili di disturbi di conduzione, mediante ecocardiogramma fetale. In 29 neonati delle 46 gravidanze prospetti-

che è stato eseguito tracciato ECG entro i primi 7 mesi di vita.

Gli anticorpi anti-SSA/Ro e anti-SSB/La sono stati determinati mediante controimmuno-elettroforesi (CIE) "home made" secondo Kurata e Tan (8), modificata da Bernstein et al. (9), utilizzando antigeni estrattivi ottenuti rispettivamente da milza di mammifero e da timo di coniglio. Le specificità anticorpali per gli antigeni ricombinanti Ro di 52 kd e 60 kd e per l'antigene La nativo sono state testate con ELISA su kits commerciali (Diamedix, Delta Biologicals, Italia). La quantità di anticorpo è stata espressa in unità arbitrarie ottenute da una curva di calibrazione e, secondo le indicazioni del fornitore, è stato considerato cut off il valore di 10 unità arbitrarie per gli anti-SSA di 52 e 60 kd ed il valore di 20 unità arbitrarie per gli anti-SSB. Le determinazioni sono state eseguite all'ingresso delle pazienti nello studio e sono state confermate nel corso delle gravidanze.

Gli anticorpi anti-nucleo (ANA) e l'anticentromero sono stati determinati con immunofluorescenza indiretta (IFI) su cellule HEP-2, gli anti-DNA nativo (DNAn) con IFI su *Crithidia luciliae* e gli anti-ENA di tipo Sm, U1-RNP, topoisomerasi I, Jo-1, PM-Scl, Ku, PCNA, S1 mediante CIE. Gli anticorpi anti-cardiolipina (aCL) di classe IgG e IgM e gli anti- $\beta_2$  glicoproteina I ( $\beta_2$ -GPI) IgG e IgM sono stati determinati con tecniche ELISA "home made" (10, 11); il lupus anticoagulants (LA) è stato valutato con una serie di esami emocoagulativi in accordo con le linee guida della Società Internazionale di Trombosi ed Emostasi (12).

Per l'analisi statistica sono stati utilizzati il test del Chi quadro e il test U di Mann-Whitney. Sono stati considerati significativi valori di  $P < 0,05$ .

## RISULTATI

Le 41 donne, affette da SSp o CI, presentavano in associazione le seguenti malattie autoimmuni: tiroidite in 9 casi, sindrome da anticorpi antifosfolipidi in 3, psoriasi e/o artropatia in 3 e miastenia gravis in 1. In 40 pazienti la CIE ha rilevato la positività per anti-SSA/Ro (97,6%) che in 11 casi (26,8%) era associata alla positività per anti-SSB/La. In un caso è stata trovata positività isolata per anti-SSB/La (2,4%). Con la tecnica ELISA sono state individuate le specificità per anti-SSA/Ro di 52 kd in 27 sieri (65,8%), per anti-SSA/Ro di 60 kd in 39 (95,1%) e per anti-SSB/La in 23 (56,1%).

Gli ANA erano positivi in tutti i casi con quadro fluoroscopico di tipo nucleolare in 32, punteggiato a grossi grani in 5, omogeneo in 2, punteggiato a fini grani in 1 e centromerico in 1. Gli anticorpi anti-DNA sono stati rilevati in una paziente e gli anticorpi anti-ENA diversi dagli anti-SSA/SSB in nessun caso. Sono stati evidenziati gli aCL IgG in 2 casi, gli aCL IgG associati agli aCL IgM e agli anti- $\beta$ 2-GPI IgG in 1.

Le 46 gravidanze seguite prospetticamente si sono concluse con esito favorevole in 44 casi (95,6%). In 2 donne (4,4%) si sono verificati rispettivamente un aborto spontaneo in 12<sup>a</sup> SG e un'interruzione volontaria di gravidanza in 23 SG, in seguito alla diagnosi fetale di BCC alla 20<sup>a</sup> SG.

Delle 35 gravidanze retrospettive, 10 si sono concluse favorevolmente (28,6%), 10 (28,6%) sono esitate con perdita fetale in età gestazionale < 10<sup>a</sup> SG, 10 (28,6%) sono esitate con perdita fetale in età gestazionale  $\geq$ 10<sup>a</sup> SG.

L'interruzione volontaria di gravidanza è stata condotta in 5 casi (14,2%), in uno dei quali in 21 SG, in seguito alla diagnosi fetale di BCC alla 19<sup>a</sup> SG. Globalmente il BCC è stato riscontrato in 4 su 81 gravidanze totali, con una prevalenza del 4,9%. L'incidenza dei nuovi casi nelle gravidanze seguite presso il nostro ambulatorio è pari a 2 su 46

(4,3%) mentre, nelle gravidanze concluse precedentemente, il BCC si era verificato in 2 su 35 (5,7%). In tutti i casi il BCC era l'unica manifestazione clinica di lupus neonatale.

Le caratteristiche cliniche e autoanticorpali delle pazienti con BCC fetale, l'età gestazionale di insorgenza, il grado del BCC, l'esito fetale e i trattamenti seguiti in corso di gravidanza sono illustrati in tabella I. In particolare, tutte le pazienti presentavano l'anticorpo anti-SSA/Ro in entrambe le sue componenti, di 52 e 60 kd, 2 erano affette da CI e 2 da SSp, nessuna era affetta da altre malattie autoimmuni associate, né presentava altre positività autoanticorpali.

Il riscontro del BCC è avvenuto tra la 19<sup>a</sup> e la 23<sup>a</sup> SG. Il BCC era di 3° grado in tutti i casi, ad eccezione della paziente B.L., trattata con desametasone e plasmateresi, il cui feto è nato con un blocco atrio-ventricolare di 2° grado. Questa donna presentava una peculiare storia familiare caratterizzata dal rilievo di BCC di 3° grado nella sorella a 8 mesi di età e dalla presenza di anti-SSA/Ro di 52 e 60 kd nella madre (12). La paziente A.D. è stata trattata con desametasone sino al parto; la figlia, nata in 35 SG, è stata sottoposta ad impianto di pace-maker all'età di 21 giorni per BCC di 3° grado con bassa frequenza ventricolare ed è successiva-

**Tabella I** - Caratteristiche cliniche e anticorpali delle madri con BCC fetale.

Madre	Patologia*	Anticorpi	Riscontro BCC (sett. gestazione)	Grado BCC	Terapia	Figlio
B.L. prospettica	SSp	SSA52 e 60 kd+SSB	22	2°	desametasone e plasmateresi	vivo
B.B. prospettica	CI	SSA52 e 60 kd	20	3°	prednisone	IVG <sup>^</sup>
A.D. retrospettiva	CI	SSA52 e 60 kd	23	3°	desametasone	deceduto (21 m)
M.E. retrospettiva	SSp	SSA52 e 60 kd+SSB	19	3°	nessuna	IVG <sup>^</sup>

\*Patologia: SSp sindrome di Sjögren primitiva; CI connettivite indifferenziata. <sup>^</sup>IVG interruzione volontaria di gravidanza.

**Tabella II** - Caratteristiche cliniche e anticorpali delle madri con neonati affetti da alterazioni minori della conduzione cardiaca.

Madre	Patologia*	Anticorpi	Disturbo di conduzione del figlio	Esito
D.C.C.	CI	SSA52 e 60 kd	Bradycardia sinusale	risoluzione spontanea
D.N.	CI	SSA52 e 60 kd	Extrasistoli ventricolari	persistenti a 5 mesi
V.N.	SSp	SSA52 e 60 kd+SSB	Alterazioni della ripolarizzazione ventricolare	risoluzione spontanea

\*Patologia: CI connettivite indifferenziata; SSp sindrome di Sjögren primitiva.

**Tabella III** - Frequenze anticorpali nelle donne con BCC fetale e in quelle con figli sani.

Anticorpo	Metodo*	Donne con BCC fetale (n. 4)	Donne con figli sani (n. 37)	Significatività (Chi quadro)
SSA	CIE	4 (100%)	36 (97,3%)	P = n.s.
SSB	CIE	0 (0%)	12 (32,4%)	P = n.s.
SSA 52 kd	ELISA	4 (100%)	24 (64,8%)	P = n.s.
SSA 60 kd	ELISA	4 (100%)	35 (94,6%)	P = n.s.
SSB	ELISA	2 (50%)	21 (56,7%)	P = n.s.

\* Metodo: CIE controimmunolettroforesi; ELISA tecnica immunoenzimatica.

**Tabella IV** - Confronto dei livelli anticorpali nelle donne con BCC fetale e in quelle con figli sani.

Anticorpo	Donne con BCC fetale	Donne con figli sani	Significatività (U Mann-Whitney)
SSA 52 kd	96,32±48,14*	45,31±32,47*	P = 0,026
SSA 60 kd	242,46±99,27*	162,31±69,68*	P = n.s.
SSB	18,12±13,75*	45,30±55,57*	P = n.s.

\*Valori ottenuti con tecnica ELISA ed espressi in unità arbitrarie

mente deceduta all'età di 21 mesi per morte improvvisa, non causata da scorretto funzionamento del pace-maker.

Due delle 4 donne con feto affetto da BCC hanno avuto nello studio prospettico una successiva gravidanza, senza ricorrenza del blocco. Nessuna delle due pazienti è stata sottoposta a trattamento profilattico del BCC durante la gravidanza, decorsa regolarmente.

Nei 29 bambini che hanno eseguito l'ECG nei primi mesi di vita sono state rilevate alla nascita in tre casi (10,3%) alterazioni minori della conduzione cardiaca da causa sconosciuta. Le relative caratteristiche sono illustrate in tabella II, dove si può osservare che in due neonati vi è stata risoluzione spontanea, registrata rispettivamente nell'arco di 1 e di 15 giorni, mentre nel terzo le extrasistoli ventricolari permanevano (ultima registrazione all'età di 5 mesi). Confrontando i risultati autoanticorpali delle donne con BCC rispetto a quelli delle donne senza BCC (Tab. III e IV) abbiamo osservato che i livelli dell'anti-SSA/Ro 52 kd erano significativamente più elevato nel primo gruppo (P = 0,026). Non è stata rilevata nei due gruppi di donne nessun'altra differenza autoanticorpale significativa ed, in particolare, le frequenze degli anti-Ro/SSA 52 kd e degli anti-La/SSB erano sovrapponibili.

## DISCUSSIONE

Il lavoro è stato suddiviso in due parti, una retrospettiva con gravidanze già concluse al momento della prima osservazione, l'altra, prospettica, riguardante il follow up di nuove gravidanze.

La casistica comprende un gruppo selezionato di pazienti positive per anti-Ro/La e affette da SSp o da CI; queste ultime nel corso dello studio non hanno presentato segni o sintomi di viraggio verso una connettivite definita anche se erano affette da altre patologie autoimmuni, come la tiroidite, la sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi e la miastenia. Questi aspetti aggiuntivi di autoimmunità riguardano esclusivamente le donne con figli sani e potrebbero spiegare l'elevato numero di perdite fetali verificatesi nelle gravidanze retrospettive.

Nella parte prospettica abbiamo osservato un numero minore di perdite fetali che potrebbe essere, almeno in parte, dovuto ai trattamenti preventivi messi in atto nel corso del follow up, in particolare a quello con eparina nelle donne con sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi.

La frequenza del BCC nell'analisi retrospettiva della nostra casistica (5,7%) risulta molto simile a quella rilevata da Ramsey-Goldman et al. (3) i

quali, in uno studio retrospettivo, riportano il BCC nel 6,2% delle donne con diagnosi probabile o definita di LES.

L'incidenza di nuovi casi di BCC nella parte prospettica dello studio (4,3%) è superiore a quella riportata da studi analoghi in letteratura (1, 2). In particolare Brucato et al. (1), in una casistica composta da donne con LES, SSp e CI, riportano un'incidenza del 2% e Lockshin et al. (2), in pazienti affette quasi esclusivamente da LES, non rilevano alcun caso di BCC. La diversa incidenza potrebbe essere dovuta alla disomogeneità clinica delle pazienti reclutate in questi studi. È interessante infatti osservare che l'assenza di BCC è stata riscontrata in pazienti affette quasi esclusivamente da LES (23/25), l'incidenza del 2% in donne affette anche da SSp o CI e l'incidenza del 4,3% nel nostro gruppo di donne affette esclusivamente da SSp o CI.

È prematuro trarre conclusioni definitive sulla base di questi dati, vista la scarsa numerosità delle casistiche e la rarità del BCC. Tuttavia il nostro studio si pone come contributo alla definizione dell'incidenza del BCC nella CI e nella SSp e concorda con l'ipotesi, già formulata in letteratura (1), di una maggiore frequenza del blocco in queste connettività rispetto al LES. Un altro elemento che vale la pena di sottolineare è l'assenza di altre manifestazioni di lupus neonatale nei nati vivi delle nostre pazienti affette da SSp e CI. Dall'esame delle caratteristiche dei BCC fetali della nostra casistica emergono alcuni dati degni di attenzione. I 4 casi sono associati clinicamente sia alla CI (50%) sia alla SSp (50%) e alla presenza nel sangue materno di anti-SSA/Ro, con specificità per entrambe le componenti di 52 e 60 kd. Due dei 4 si associano alla positività anche per l'anti-SSB/La, determinato con la tecnica ELISA con antigene nativo altamente purificato. Quest'ultimo profilo autoanticorpale corrisponde a quello recentemente segnalato da Gordon et al. (14) e correlato al rischio più elevato di BCC.

A differenza di altri autori (15, 16), nel nostro gruppo di pazienti le frequenze anticorpali, compresa quella per anti-SSA/Ro di 52 kd, non sono significativamente differenti tra le madri con BCC e le madri con figli sani; mentre i livelli anticorpali medi dell'anti-SSA/Ro da 52 kd sono statisticamente più elevati nelle madri con BCC, come già riportato in letteratura (16-18).

È interessante osservare che l'unico blocco atrio-ventricolare di 2° grado è stato riscontrato nel neonato della paziente trattata durante la gravidanza con plasmateresi in associazione al desametasone. Risulta difficile sostenere l'efficacia della plasmateresi come prevenzione della progressione del BCC in utero basandosi su questo caso (13) e su segnalazioni aneddotiche (19, 20). Tuttavia auspichiamo che ulteriori studi di confronto tra il trattamento con solo desametasone e quello con desametasone associato a plasmateresi possano essere intrapresi al fine di verificare l'utilità di quest'ultima. Come recentemente segnalato (13), il rilievo del BCC in due membri della stessa famiglia, ma appartenenti a differenti generazioni (zia e nipote), ci induce a ipotizzare che il blocco possa essere geneticamente trasmesso.

Alterazioni minori della conduzione cardiaca, da cause non note, sono state evidenziate in 3 neonati asintomatici della nostra casistica e, rispettivamente, bradicardia sinusale, extrasistoli ventricolari ed alterazioni della ripolarizzazione ventricolare.

In letteratura è stata segnalata l'induzione di bradicardia sinusale nel cuore di piccoli conigli in seguito all'iniezione di immunoglobuline di classe G di madri con BCC (21) ed è stata osservata bradicardia sinusale, significativa e reversibile, in 3 su 21 neonati di madri con anti-SSA/Ro (22). Questi dati non permettono di concludere una sicura relazione causa-effetto tra bradicardia e anti-SSA/SSB. In letteratura non sono state descritte alterazioni della conduzione ventricolare, fatta eccezione per l'allungamento asintomatico del QT, rilevato da alcuni autori (23, 24) durante il primo anno di età e non confermato da altri (25). Noi ci limitiamo pertanto alla sola segnalazione di extrasistolia ventricolare e di alterazioni della ripolarizzazione ventricolare senza attribuire loro una relazione con gli anticorpi materni. Peraltro non è ancora noto il meccanismo molecolare con cui gli anti-Ro/La inducono il blocco atrio-ventricolare in utero.

L'allungamento del QT corretto nei neonati, descritto in letteratura (23, 24), e il caso da noi evidenziato di extrasistolia ventricolare persistente, ci suggeriscono di eseguire nei figli di madri con anti-Ro/La, nei primi mesi di vita, ECG di screening al fine di riconoscere le eventuali aritmie asintomatiche che necessitano di monitoraggio e di trattamento.

**RIASSUNTO**

Abbiamo valutato la prevalenza, l'incidenza e le caratteristiche del blocco cardiaco congenito (BCC) in donne positive per anti-SSA/Ro e/o anti-SSB/La e affette da connettivite indifferenziata (CI) o da sindrome di Sjögren primitiva (SSp). Sono state seguite prospetticamente 46 gravidanze in 41 pazienti, 25 (61%) con CI e 16 (39%) con SSp. Trentacinque gravidanze si erano concluse precedentemente. L'incidenza del BCC era pari al 4,34%, mentre la prevalenza era 4,94%. In 3 su 29 neonati (10,3%) sono state rilevate alterazioni minori della conduzione cardiaca. Il nostro studio concorda con l'ipotesi di una maggiore incidenza del BCC nella CI e nella SSp rispetto a quella segnalata nel Lupus Eritematoso Sistemico e con l'utilità di eseguire un ECG ai figli di donne con anti-Ro/La, nei primi mesi di vita.

**Parole chiave** - Blocco cardiaco congenito, anticorpi anti-SSA/Ro e anti-SSB/La, sindrome di Sjögren primitiva, connettivite indifferenziata.

**Key words** - *Congenital heart block, anti SSA/Ro and SSB/La antibodies, primary Sjögren's syndrome, undifferentiated connective tissue disease.*

**BIBLIOGRAFIA**

1. Brucato A, Frassi M, Franceschini F, Cimaz R, Faden D, Pisoni MP, et al. Risk of congenital heart block in newborns of mothers with anti-Ro/SSA antibodies detected by counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1832-5.
2. Lockshin MD, Bonfa E, Elkom K, Druzin ML. Neonatal lupus risk to newborns of mothers with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 31: 697-701.
3. Ramsey-Goldman R, Hom D, Deng JS, Ziegler GC, Kahl LE, Steen VD, et al. Anti-SSA antibodies and fetal outcome in maternal systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 1269-73.
4. Solomon DG, Rupel A, Buyon JP. Birth order, gender and recurrence rate in autoantibody-associated congenital heart block: implications for pathogenesis and family counselling. *Lupus* 2003; 12: 646-7.
5. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome: results of the prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 340-7.
6. Mosca M, Neri R, Bombardieri S. Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD): a review of the literature and a proposal for preliminary classification criteria. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17: 615-20.
7. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, Mc Shane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-7.
8. Kurata N, Tan EM. Identification of antibodies to nuclear acidic antigens by counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum* 1976; 19: 574-80.
9. Bernstein RM, Bunn CC, Hughes GR. Identification of antibodies to acidic antigens by counterimmunoelectrophoresis. *Ann Rheum Dis* 1982; 41: 554-5.
10. Tincani A, Balestrieri G, Allegri F, Cinquini M, Vianelli M, Taglietti M, et al. Overview on anticardiolipin ELISA standardization. *J Autoimmun* 2000; 15: 195-7.
11. Arvieux J, Roussel B, Jacob MC, Colomb MG. Measurement of anti-phospholipid antibodies by ELISA using, 2-glycoprotein I as an antigen. *J Immunol Methods* 1991; 143: 223-9.
12. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1185-90.
13. Ruffatti A, Favaro M, Cozzi F, Tonello M, Grava C, Lazzarin P, et al. Anti-SSA/Ro related congenital heart block in two family members of different generations. Comment on the article by Clancy et al. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1623-5.
14. Gordon P, Khamashta MA, Rosental E, Simpson JM, Sharland G, Brucato A, et al. Anti-52 kDa, anti-60 kDa Ro and anti-La antibody profiles in neonatal lupus. *J Rheumatol* 2004; 31: 2480-7.
15. Buyon JP, Winchester RJ, Slade SG, Arnett F, Copel J, Friedman D, et al. Identification of mothers at risk for congenital heart block and other neonatal lupus syndromes in their children. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1263-73.
16. Julkunen H, Kaaja R, Siren MK, Mack C, Mc Cready S, Holthöfer H, et al. Immune-mediated congenital heart block (CHB): identifying and counselling patients at risk for having children with CHB. *Semin Arthritis Rheum* 1998; 28: 97-106.
17. Dörner T, Chaoui R, Feist E, Göldner B, Yamamoto K, Hiepe F. Significantly increased maternal and fetal IgG autoantibody levels to 52 kD Ro (SS-A) and La (SS-B) in complete congenital heart block. *J Autoimmunity* 1995; 8: 675-84.
18. Salomonsson S, Dörner T, Theander E, Bremme K, Larsson P, Wahren-Herlenius M. A serologic marker for fetal risk of congenital heart block. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1233-41.
19. Buyon JP, Swersky S, Fox H, Bierman F, Winchester RJ. Intrauterine therapy for presumptive fetal myocarditis with acquired heart block due to systemic lupus erythematosus: experience in a mother with a predominance of La antibodies. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 44-9.
20. Barclay CS, French MAH, Ross LD, Sokol RJ. Suc-

- cessful pregnancy following steroid therapy and plasma exchange in a woman with anti-Ro (SS-A) antibodies: case report. *Br J Obstet Gynecol* 1987; 94: 369-71.
21. Hu K, Qu Y, Yue Y, Boutjdir M. Functional basis of sinus bradycardia in congenital heart block. *Circ Res* 2004; 94: e32-e38.
  22. Brucato A, Cimaz R, Catelli L, Meroni P. Anti-Ro-associated sinus bradycardia in newborns. *Circulation* 2000; 102: E88-9.
  23. Cimaz R, Stramba-Badiale M, Brucato A, Catelli L, Panzeri P, Meroni PL. QT interval prolongation in asymptomatic anti-SSA/Ro-positive infants without congenital heart block. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1049-53.
  24. Cimaz R, Meroni PL, Brucato A, Fesstovà V, Panzeri P, Goulene K, et al. Concomitant disappearance of electrocardiographic abnormalities and of acquired maternal autoantibodies during the first year of life in infants who had QT interval prolongation and anti-SSA/Ro positivity without congenital heart block at birth. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 266-8.
  25. Costedoat-Chalumeau N, Amoura Z, Lupoglazoff JM, Huong DLT, Denjoy I, Vauthier D, et al. Outcome of pregnancies in patients with anti-SSA/Ro antibodies. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3187-94.