

О.Е. ПОТЕХИН, В.С. МАЛЫШЕВ
 Медицинский центр Управления
 делами Президента РФ,
 Институт аллергологии
 и клинической иммунологии,
 Москва

УДК 612.017.1:616-07

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Системные аутоиммунные болезни или заболевания диффузной соединительной ткани затрагивают многие органы и представляют собой в основном поражение соединительной ткани с фибриноидным некрозом. Образующиеся при этом аутоантитела реагируют с ДНК и другими ядерными компонентами всех клеток организма. Определение аутоантител имеет важное значение при иммунологической диагностике СКВ, синдрома Шегрена, смешанного заболевания соединительной ткани, системной склеродермии. Антитела к гистонам определяются в 52% случаев первичной СКВ и лекарственно-индуцированной СКВ. Кроме того, для диагностики системных аутоиммунных заболеваний используют определение маркеров, которые встречаются и при органоспецифической аутоиммунной патологии. Антитела к скелетной мускулатуре определяются у здоровых лиц в титре ниже 1:30 (чаще у женщин, имеющих силиконовые протезы молочных желез). Пациенты с дерматомиозитом и другими заболеваниями соединительной ткани имеют титр выше 1:60. Определение ряда аутоантител включено в диагностические и классификационные критерии аутоиммунной патологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аутоиммунные заболевания, диагностика.

MODERN STATE OF IMMUNOLOGICAL DIAGNOSTICS OF AUTOIMMUNE DISEASES.

O.E.POTEKHIN, V.S.MALYCHEV

Governmental Medical Center and Institute of allergology and clinical immunology, Moscow

Systemic autoimmune diseases of a diffuse connective tissue affect many organs and represent in a main defeat of a connective tissue with necrosis. Formed autoantibodies react with DNA and other nuclear components of all cells of an organism. The detection of autoantibodies has the important significance for diagnostics and sometimes prognosis of systemic lupus erythematosus (SLE), mixed connective tissue disease and scleroderma. Antibodies to histone occur in 52 % of cases primary SLE and drug-induced LE. Besides for diagnostics of autoimmune diseases use detection of markers, which meet for organospecific autoimmune pathology. Antibodies to skeletal muscle tissue are determined in normal persons in titers below 1:30 (more often at the women have silicone artificial limbs). The patients with dermatomyositis and other diseases of a connective tissue have titers of antibodies to skeletal muscle tissue above 1:60. The detection of some autoantibodies is included in diagnostic and classification criteria of autoimmune pathology.

KEY WORDS: autoimmune diseases, diagnostics.

О существовании антител против собственных тканей известно свыше 30 лет. В настоящий момент окончательно установлено, что они имеются в невысоком титре приблизительно у 10% нормальной популяции

и являются маркерами повреждения тканей в результате химического или иного воздействия, например, ишемического повреждения миокарда [6]. При прекращении такого воздействия и удаления разрушенных

тканей аутоантитела как правило исчезают [1]. Частота выявления неспецифических аутоантител увеличивается с возрастом [9].

Значительно чаще и в более высоком титре аутоантитела встречаются при аутоиммунных заболеваниях. В этом случае причиной их возникновения является нарушение механизмов распознавания собственных неизменных тканей. Эта поломка приводит к возникновению иммунологической реакции, которая вызывает разрушение тканей и длительную чрезмерную продукцию аутоантител.

Аутоиммунные болезни исторически принято подразделять на системные аутоиммунные заболевания и органоспецифические, связанные с образованием органоспецифических аутоантител. Примером последних является аутоиммунный тиреоидит, при котором появляются аутоантитела, имеющие абсолютную специфичность к белкам щитовидной железы. В случае системных аутоиммунных заболеваний аутоантитела вызывают поражение соединительной ткани любой локализации.

Пусковые механизмы возникновения аутоиммунных заболеваний остается еще до конца непонятными. В качестве причин называют иммунологические, генетические, вирусные, лекарственные и гормональные факторы, действующие по одиночке или в комбинации, во времени и пространстве [6,30,37,38]. Поскольку точный патогенез аутоиммунных заболеваний пока неизвестен, определение биологического маркера, непосредственно запускающего образование аутоантител в лабораторной практике затруднено и часто носит запоздалый характер вследствие скрытого течения аутоиммунного заболевания.

В случае возникновения подозрения на аутоиммунное заболевание врач-клиницист сталкивается с необходимостью выбора того или иного исследования на аутоантитела. Осознанный выбор подразумевает то, что наличие определенных аутоантител четко связано с наличием определенного заболевания [10,14,25].

В настоящем обзоре приводится описание аутоантител и аутоантигенов, встречающихся при различных аутоиммунных заболеваниях человека.

Системные аутоиммунные болезни или заболевания диффузной соединительной ткани затрагивают многие органы и представляют собой в основном поражение соединительной ткани с фибриноидным некрозом. Образующиеся при этом аутоантитела реагируют с ДНК и другими ядерными компонентами всех клеток организма. Группа системных аутоиммунных заболеваний включает ревматоидный артрит, системную красную волчанку, синдром Шегрена, прогрессивный системный склероз или склеродермию, смешанное заболевание соединительной ткани. Практически при всех выше перечисленных патологиях определяются аутоантитела к так называемым экстрагируемым ядерным антигенам (extractable nuclear antigen - ENA). ENA – комплекс экстрагируемых ядерных антигенов определяют в общем FANA (florescent antinuclear antibody) тесте и тестах на отдельные компоненты ENA (антиядерные аутоантитела к экстрагируемым ядерным антигенам). Использование более чувствительного FANA или его эквивалента в настоящий момент расценивается как более эффективная замена часто практикуемого определения LE-клеток. В настоящее время наиболее часто используются 4 метода определения антиядерных антител - иммунофлюоресценция, иммуноферментный анализ, методы дот-блота и вестерн-блота [11,12]. Для проведения иммунофлюоресцентного теста используются клетки линии Нер-2. Эти раковые клетки человека, полученные путем культивирования, обладают гигантским ядром и имеют высокую скорость деления. В настоящее время они являются стандартным материалом для скрининга на антитела к ENA (- экстрагируемый ядерный антиген), однако они позволяют выявить и другие важные антитела к компонентам цитоплазмы (к рибосомам, актину и т.д.). По характеру свечения клеток можно заподозрить то или иное аутоиммунное заболевание (см. Табл. №1).

Таблица 1

КАЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ FANA		
Характер свечения	Ассоциация с болезнью	Природа выявляемого антигена
Периферическое	Системная красная волчанка	Нативная 2-х нитчатая ДНК
Диффузное	СКВ, лекарственноиндуцированная лекарственным препаратом, СКВ	Гистоны, дезоксирибопротеины
В виде пятна (speckled)	СКВ, синдром Шегрена, смешанное заболевание соединительной ткани, системная склеродермия	Негистоновые протеины, ядерные рибонуклео-протеины и др.
Ядрышковое	Системная склеродермия, СКВ, дерматомиозит, ревматоидный артрит	Ядерные рибонуклео-протеины

FANA бывает положительным при СКВ, ревматоидном артрите, склеродермии, заболевании смешанной соединительной ткани, гепатите, циррозе, мононуклеозе и других вирусных инфекциях, у 4.3% здоровых лиц (титр 1:20), у 30% женщин с силиконовым протезом молочных желез (титр 1:20 или выше), в результате воздействия ряда химических веществ [4,7,13,35,37]. По данным ряда исследований пациенты с установленным клиническим диагнозом СКВ имели положительный результат FANA в 88-91% случаев [11,12]. При этом параллельное использование иммуноферментных систем для диагностики антинуклеарных антител у одних и тех же больных показало сильную вариабельность чувствительности различных наборов (62-90%) [11,12]. Все FANA-положительные образцы должны быть проверены с помощью тестов, позволяющих выявить антитела к отдельным компонентам ENA (антитела к Sm – soluble macroglobulin - антигену, антитела к ribonucleoprotein – RNP, антитела к нативной 2-х нитчатой ДНК (double stranded DNA antibodies- dsDNA), антитела к денатурированной ДНК (Single stranded DNA- ssDNA), SS-A/Ro антитела, SS-B/La антитела). Для этого используются иммуноферментные, радиоиммуносорбентные и иммунодиффузионные тесты [28]. По наличию аутоантител к тем или иным компонентам данного комплекса антигенов можно говорить о существовании того или иного заболевания.

Антитела к негистоновым белкам (антитела к Sm – soluble macroglobulin) никогда не встречается у здоровых лиц, их обнаруживают у 7-30% больных СКВ и их наличие специфично только для СКВ [11,15,28].

Антитела к ядерным нуклеопротеинам (ribonucleoprotein - RNP) обнаруживают при СКВ [28], ревматоидном артрите, склеродермии, это диагностический критерий заболевания смешанной соединительной ткани при отсутствии других антинуклеарных антител.

Антитела к U1-ядерному нуклеопротеину обнаружены при СКВ и в 90% случаев смешанного заболевания соединительной ткани [17,18].

Антитела к нативной 2-х нитчатой ДНК (double stranded DNA antibodies- dsDNA) обнаруживают при СКВ; титр 1:10 и положительный FANA-тест свидетельствуют о неактивной СКВ; титр 1:160 - об острой СКВ [11]. Кроме того, их обнаруживают при синдроме Шегрена, склеродермии и смешанном заболевании соединительной ткани .

Антитела к денатурированной ДНК (single stranded DNA- ssDNA) выявляют в 90% случаев СКВ, но этот показатель менее специфичен чем антитела к

dsDNA, их обнаруживают в ряде случаев склеродермии, ревматоидного артрита, дерматомиозита, хронического активного гепатита, онкологических заболеваний, при определенной медикаментозной терапии [25].

Антитела к негистоновому белку SCL-70 (scleroderma antibody) не встречаются у здоровых лиц, но обнаружены по разным данным у 34% (разброс - от 3% до 75%) больных системной склеродермией [32]. В 2% случаев эти антитела выявляются при других аутоиммунных патологиях [32].

SS-A/Ro антитела встречаются в 1% нормальных сывороток, в 60% сывороток больных синдромом Шегрена и 27-30% СКВ [11,19] , а также у женщин, имеющих детей с врожденной атриовентрикулярной блокадой сердца [31].

SS-B/La антитела обнаружены у больных первичным синдромом Шегрена, всегда в комплексе с SS-A/Ro антителами [5,19].

Антитела к Jo-1 (histidyl-tRNA synthetase) определяются в сыворотках 30-45% больных полимиозитом и дерматомиозитом [36].

Антитела к гистонам определяются в 52% случаев первичной СКВ и лекарственно-индуцированной СКВ [24] .

Кроме того, для диагностики системных аутоиммунных заболеваний используют определение маркеров, которые встречаются и при органоспецифической аутоиммунной патологии.

Антимитохондриальные антитела, в том числе к пуриватдегидрогеназе отсутствуют у здоровых лиц. Их обнаружение считается диагностическим признаком первичного билиарного цирроза – в титре > 1:40. Антимитохондриальные антитела, обнаруживаемые при первичном билиарном циррозе, направлены на E2-компонент пуриватдегидрогеназного комплекса и встречаются в 89,4% случаев болезни [27]. Этот комплекс располагается на внутренней митохондриальной мембране и носит название M2. Другие антимитохондриальные антитела, не реагирующие M2 и взаимодействующие с кардиолипинами (M1-антитела) обнаружены при большом количестве других патологий.

Антитела IgG/IgM к отрицательно заряженным фосфолипидам (кардиолипину) встречаются в сыворотке здоровых лиц. В повышенном титре определяют при СКВ (>20%) [22,33], ревматоидном артрите (40-50%), при ВИЧ-инфекции [2], ЦМВ-инфекции [21], инфекции вирусом Rubella [3] и мононуклеозе [23]. В случае с СКВ наличие антител к кардиолипину может говорить о риске тромбозов, но их определение диагностического значения не имеет, так как они встречаются также у 10-22 % здоровых беременных и в высоких титрах у 11-50% женщин с повторными выкидышами [8].

Антитела к гладкой мускулатуре сосудов встречаются у 14.3% здоровых людей в титре 1:20. Их обнаруживают в более высоком титре при вирусном гепатите С (в 65% случаев) [4], при ряде опухолей, а также у лиц, имевших контакт с некоторыми химическими веществами. Кроме того, они выявляются в титре 1:600 и выше при хроническом активном аутоиммунном гепатите (63%), но не при аутоиммунном поражении печени при СКВ.

Ревматоидный фактор (IgA, IgM, IgG антитела к IgG) бывает положительным у 4-20 % здоровых лиц, при острых воспалительных заболеваниях, вирусных инфекциях, туберкулезе, подостром бактериальном эндокардите, заболеваниях печени (вирусных гепатитах), саркоидозе, макроглобулинемии, при СКВ. В случае ревматоидного артрита титр выше 1:80 считается диагностическим]. Для диагностики ревматоидного фактора используют латекс-агглютинацию, нефелометрию и иммуноферментные тест-системы [34].

Антитела к скелетной мускулатуре определяют у здоровых лиц в титре ниже 1:30 (чаще у женщин, имеющих силиконовые протезы молочных желез). Пациенты с дерматомиозитом и другими заболеваниями соединительной ткани имеют титр выше 1:60.

Антитела к тиреоглобулину выявляются у большинства больных аутоиммунным тиреоидитом, первичном гипертиреозе (болезнь Грейвса), в ряде случаев ревматоидного артрита, при раке щитовидной железы [29], у 24% женщин с силиконовым протезом молочных желез [7]. Антитела к тиреопероксидазе выявляются во всех случаях аутоиммунного тиреоидита [10]. Кроме того, антитела к тиреопероксидазе и тиреоглобулину обнаружены при саркоидозе [26].

IgA-антитела к ретикулину не встречаются у здоровых лиц. Их можно обнаружить у 60% больных целиакией, а также в ряде случаев болезни Крона и синдрома Шегрена .

В целом диагностика аутоиммунных заболеваний достаточно неоднозначна. Аутоиммунные заболевания имеют огромное разнообразие клинических проявлений, которое само по себе порождает проблемы для врачей-клиницистов. В таких случаях может помочь только правильная трактовка клинической картины и получаемых результатов лабораторных исследований.

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что идентификация циркулирующих аутоантител имеет большое значение в постановке правильного диагноза, оценке прогноза и выборе тактики лечения. Каждое системное аутоиммунное заболевание имеет свой спектр аутоантител. Определение некоторых аутоантител официально включено в диагностические и классификационные критерии аутоиммунной патологии. Ключевым звеном в иммунологической диагностике системной красной волчанки по-прежнему остается определение антител к нативной ДНК (чувствительность при диагностике СКВ – до 90%), а в диагностике синдрома Шегрена – определение антител к SS-A/Ro и SS-B/La. Обязательно следует проводить тесты и на ревматоидный фактор, поскольку они являются единственным тестом, специфичным для ревматоидного артрита. Однако, использование ряда специфических маркеров тоже несет определенные проблемы. Так, например, важным диагностическим маркером волчанки являются аутоантитела к Sm - антигену, т.е. если они у больного обнаружены, то с вероятностью 99.9% можно быть уверенным в том, что у него - волчанка. Однако, эти антитела обнаруживаются лишь у 30% больных СКВ. Тем не менее, даже при столь низкой чувствительности специфичность данного метода так высока, что его обязательно следует включить в диагностику СКВ.

Успехи иммунологической диагностики аутоиммунных заболеваний в будущем связывают с созданием диагностических тест-систем на основе рекомбинантных белков[16].

Литература:

1. Ройт А. Основы иммунологии. Пер. с англ.- М., Мир, 1991.
2. Abuaf N, Laperche S, Rajoely B at al. Autoantibodies to phospholipids and to the coagulation proteins in AIDS. //Thrombosis and Haemostasis – 1997 – 77 – 5 - p.856-861.
3. Barfield W, Gardner R, Lett S, Johnsen C. Congenital rubella reinfection in mother with anti-cardiolipin and anti-platelet antibodies. //Pediatr. Infect. Dis. J. – 1997 – Feb - 16 (2) - p249-251.
4. Bayraktar Y, Bayraktar M, Gurakar A at al. A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis, The role of interferon in the development of autoimmune diseases. //Hepato – Gastroenterology – 1997 – 44 – 14 - p.417-425.
5. Benchetrit E. Anti Ro/La antibodies and their clinical association. //Israel Journal of Medical Sciences – 1997 – 33 – 4 –p.251-253.
6. Bigazzi PE. Autoimmunity caused by xenobiotics.//Toxicology – 1997 – 119 – 1 – p.1-21.
7. Blackburn WD, Everson MP. Silicone-associated rheumatic disease, an unsupported myth. Plastic and Reconstructive //Surgery 99. - 1997 – 5 – p.1362-1367.

8. Branch DW, Silver R, Pierangeli S et al. Antiphospholipid antibodies other than lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in women with recurrent pregnancy loss, fertile controls, and antiphospholipid syndrome. // *Obstetrics and Gynecology* – 1997 – 89 – 4 – p.549-555.
9. Candore G, Dilorenzo G, Mansueto P et al. Prevalence of organ-specific and non organ-specific autoantibodies in healthy centenarians. // *Mechanisms of Ageing and Development* – 1997 – 94 – 1-3 – p.183-190.
10. Casiano CA, Tan EM. Recent developments in the understanding of antinuclear autoantibodies. // *International Archives of Allergy and Immunology* – 1996 – 111 – 4 – p.308-313.
11. Duzgun N, Hoiermadsen M, Wiik A, Tokgoz G. The frequency of autoantibodies in Turkish patients with lupus nephritis. // *Rheumatology International* – 1997 – 17 – 1 – p.1-4.
12. Emlen W, Oneill L. Clinical significance of antinuclear antibodies, Comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. // *Arthritis and Rheumatism* – 1997 – 40 – 9 – p.1612-1618.
13. Forster J, Maier O, Lobbert J et al. Prevalence of antibodies against HEp-2 cell antigen in infants and children hospitalized with respiratory syncytial virus infection. // *Infection* – 1996 – 24 – 6 – p.407-411.
14. Fritzler MJ. Clinical relevance of autoantibodies in systemic rheumatic diseases. // *Molecular Biology Reports* – 1996 – 23 – 3-4 – p.133-145.
15. Fritzler MJ. Autoantibodies, Diagnostic fingerprints and etiologic perplexities // *Clinical and Investigative Medicine - Medecine Clinique et Experimentale* – 1997 – 20 – 1 – p.50-66.
16. Galperin C, Coppel RL, Gershwin ME. Use of recombinant proteins in the diagnosis of autoimmune connective tissue diseases. // *International Archives of Allergy and Immunology* – 1996 – 111 – 4 – p.337-347.
17. Ghirardello A, Doria A, Vesco P et al. Blotting patterns of IgG anti-(U1)RNP antibodies in mixed connective tissue disease. // *Rheumatology International*. – 1996 – 16 – 4 – p.145-150
18. Gunnewiek JMTK, Vandeputte LBA, Vanvenrooij WJ. The U1 snRNP complex, an autoantigen in connective tissue diseases. An update. // *Clinical and Experimental Rheumatology* – 1997 – 15 – 5 – p.549-560
19. Harmon, C.E., J.S. Deng, C.L. Peebles, E.M. Tan. The importance of tissue substrate in the SS-A/Ro antigen antibody system. // *Arthritis Rheum* – 1984 – 27 – p.166-173.
20. Harvey G, Black C, Maddison P, Mchugh N. Characterization of antinucleolar antibody reactivity in patients with systemic sclerosis and their relatives. // *Journal of Rheumatology* – 1997 – 24 – 3 – p.477-484.
21. Labarca JA, Rabagliati RM, Radrigan FJ et al. Antiphospholipid syndrome associated with cytomegalovirus infection, Case report and review. // *Clinical Infectious Diseases* – 1997 – 24 – 2 – p.197-200.
22. Love P.E., Santoro S.A. Antiphospholipid antibodies, anticardiolipin and lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. Prevalence and clinical significance. // *Ann. Intern. Med.* – 1990 – 112 – p.682-698.
23. Misra R., Venables P.J.W., Plater-Zyberk C., Watkins P.F., Maini R.N. Anti-cardiolipin antibodies in infectious mononucleosis react with the membrane of activated lymphocytes. // *Clin. Exp. Immunol* – 1989 – 75 – p.35-40.
24. Monestier M. Autoantibodies to nucleosomes and histone - DNA complexes. // *Methods - A Companion to Methods in Enzymology* – 1997 – 11 – 1 (JAN 1997) – p.36-43
25. Nakamura RM, C.L. Peebles, D.P. Molden, and E.M. Tan. Advances in laboratory tests for autoantibodies to nuclear antigens in systemic rheumatic diseases, // *Laboratory Med.* – 1984 – 15 – p.190-198.
26. Nakamura H, Genma R, Mikami T et al. High incidence of positive autoantibodies against thyroid peroxidase and thyroglobulin in patients with sarcoidosis. // *Clinical Endocrinology* – 1997 – 46 – 4 – p.467-472.
27. Nishio A, Vandewater J, Leung PSC et al. Comparative studies of antimitochondrial autoantibodies in sera and bile in primary biliary cirrhosis. // *Hepatology* – 1997 – 25 – 5 – p.1085-1089.
28. Olhoffer IH, Peng SL, Craft J. Revisiting autoantibody profiles in systemic lupus erythematosus. // *Journal of Rheumatology* – 1997 – 24 – 2 – p.297-302.
29. Pacini F, Vorontsova T, Demidchik EP, E Molinaro et al. Post-Chernobyl thyroid carcinoma in Belarus children and adolescents, Comparison with naturally occurring thyroid carcinoma in Italy and France. // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* – 1997 – 82 – 11 – p.3563-3569.
30. Shoenfeld Y, Schwartz RS. Immunologic and genetic factors in autoimmune diseases. // *N. Engl. J. Med.* – 1984 – 311 – p.1019-1029.
31. Smeenk RJT. Immunological aspects of congenital atrioventricular block. // *Pace-Pacing and Clinical Electrophysiology* – 1997 – 20 – 8 - Part 2 – p.2093-2097.
32. Spencergreen G, Alter D, Welch HG. Test performance in systemic sclerosis: Anti-centromere and anti-Scl-70 antibodies. // *American Journal of Medicine* – 1997 – 103 – 3 – p.242-248

33. Swadzba J, Declerck LS, Stevens WJ et al. Anticardiolipin, anti-beta(2)-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and lupus anticoagulant in patients with systemic lupus erythematosus with a history of thrombosis. //Journal of Rheumatology – 1997 – 24 – 9 – p.1710-1715
34. Swedler W, Wallman J, Froelich CJ, Teodorescu M. Routine measurement of IgM, IgG, and IgA rheumatoid factors: High sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. //Journal of Rheumatology – 1997 – 24 – 6 – p.1037-1044.
35. Talarmin A, Nizou JY, Kazanji M. Antinuclear autoantibodies in human T-cell leukemia/lymphoma virus type I carriers in French Guiana. //Archives of Virology – 1997 – 142 – 8 – p.1713-1718
36. Venables PJW. Antibodies to Jo-1 and Ro-52: Why do they go together? //Clinical and Experimental Immunology – 1997 – 109 – 3 – p.403-405.
37. Verdier F, Patriarca C, Descotes J. Autoantibodies in conventional toxicity testing. //Toxicology - 1997 – 119 – 1 – p.51-58.
38. Vonherrath MG, Oldstone MBA. Virus-induced autoimmune disease. //Current Opinion in Immunology – 1996 – 8 – 6 – p.878-885.