

Odjel za reumatologiju i kliničku imunologiju ♦ Klinika za internu medicinu
Klinički bolnički centar Rijeka ♦ Krešimirova 42 ♦ 51000 Rijeka

KLINIČKO ZNAČENJE ANTINUKLEARNIH PROTUTIJELA I DRUGIH SEROLOŠKIH ABNORMALNOSTI U SISTEMSKOM ERITEMSKOM LUPUSU

CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANTINUCLEAR ANTIBODIES AND OTHER SEROLOGICAL ABNORMALITIES IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

Srđan Novak

Sažetak

Protutijela na dijelove jezgre su glavno serološko obilježje SLE. Neka od njih smatraju se patognomoničnima dok su druga epifenomen. Kliničko značenje nekih

od protutijela važno je u postavljanju dijagnoze, dok su druga bitna u monitoriranju bolesti. Pojedina protutijela povezuju se s određenim kliničkim obilježjima bolesti.

Ključne riječi

antinuklearna protutijela, kliničko značenje, sistemski eritemski lupus

Summary

Antinuclear antibodies are main serologic hallmark of SLE. Some of them are pathogenic. Others are epiphenomenon. Clinical significance of some antibodies are im-

portant in making diagnosis of the disease, others are more important in monitoring the disease. Some antibodies are in correlation with particular clinical signs of the diseases.

Keywords

antinuclear antibodies, clinical significance, systemic lupus erythematosus

Uvod

Sistemski eritemski lupus (SLE, od eng. systemic lupus erythematosus) je multisistemska autoimuna bolest karakterizirana produkcijom protutijela na dijelove jezgre.

Etiologija ove kompleksne bolesti djelomično je poznata: vanjski faktori i genetika imaju značajnu ulogu. Obzirom da je karakteristično obilježje SLE produkcija protutijela, bilo da su ona patogenetska ili epifenomen, čini se logično da različiti genetski i vanjski faktori koji uzrokuju bolest utječu i na njihovu produkciju (1).

Osim prisustva antinuklearnih protutijela, u SLE postoji širok spektar seroloških abnormalnosti uključujući različita druga organ specifična i organ nespecifična protutijela, poliklonalnu hipergamglobulinemiju, prisustvo cirkulirajućih imunokomplekasa te promjene serumskog komplementa. Prisustvo nekih od navedenih abnormalnosti važno je u postavljanju dijagnoze same bolesti dok su druge bitnije u monitoriranju aktivnosti bolesti.

U narednom tekstu dat je pregled najvažnijih seroloških obilježja SLE i njihovog kliničkog značenja.

Antinuklearna protutijela

Antinuklearna protutijela (ANA, od eng. antinuclear antibodies) prisutna su približno u 98% bolesnika sa SLE. Obzirom na to ANA test se smatra najsenzitivnijim testom sa SLE. Međutim, obzirom da su ANA prisutna u raznim drugim autoimunim, reumatskim i infektološkim bolestima, a mogu biti prisutna i u zdravih pojedinaca, naročito starijih, njihova specifičnost je znatno manja. Iako sam po sebi pozitivan, ANA test ima malu dijagnostičku specifičnost, u kombinaciji s drugim kliničkim kriterijima za SLE njegova specifičnost raste (2).

ANA najčešće određujemo upotrebom indirektno imunofluorescencije na kulturi tkivnih stanica. U tu svrhu danas se najčešće koriste HEP-2 stanične linije (HEP - od eng. human esophageal tumor cells) koje imaju velike jezgre i prominentne nukleole. Te linije su znatno senzitivnije za ANA nego ranije upotrebljavano tkivo mišijih bubrega ili jetre štakora pa je stoga danas i broj ANA-negativnih SLE znatno manji (3). Međutim još uvijek ima SLE bolesnika koji su anti-Ro pozitivni a ANA negativni zbog malog broja anti Ro antigena i

gubitka njegove antigeničnosti fiksacijom. ANA se interpretira na temelju izgleda imunofluorescence i titra. Razrjeđenje 1:160 se smatra značajnim. U velikim multicentričnim studijama 5% normalnih pojedinaca je imalo pozitivna ANA 1:160 dok je u razrjeđenju 1:40 pozitivnih ANA imalo čak 31,7% pojedinaca (4). Različiti antigeni vezani za protutijela daju različit izgled imunofluorescence ovisno o lokalizaciji i promjenama koje se dešavaju nakon fiksacije. Anti-histonska protutijela tipično daju homogeni oblik dok anti Smith, anti-RNP te anti-Ro (SS-A) i anti-La (SS-B) daju najčešće mrvičast iako SS-A i SS-B mogu dati i citoplazmatski ili nukleolarni oblik. Rubni ili periferni prikaz antinuklerane fluorescence mogu dati protutijela na dsDNA ali mogu

Protutijelo na dsDNA

Protutijela na dvostruko uzvojitu DNA (anti-dsDNA) spadaju u specifična protutijela koja se mogu naći u bolesnika SLE. U velikoj prospektivnoj studiji Weinstein i suradnici pokazali su da su visok titar anti-dsDNA i niska razina serumskog C3 visoko prediktivni za dijagnozu SLE (6). Njihova senzitivnost je znatno manja obzirom da su povremeno prisutna u samo 50-60% bolesnika sa SLE tijekom njihove bolesti. Anti-ds DNA mogu biti prisutna i kod autoimunih hepatitisisa te nekih infekcija uključujući bakterijski endokarditis i infekcije parazitima.

Obzirom da za dokazivanje anti-ds DNA postoje različite tehnike postoje velike razlike u njihovoj specifičnosti i senzitivnosti (7). Izotipovi dsDNA također se razlikuju po svojim patogenetskim osobinama, a time i kliničkoj relevantnosti. Imunofluorescentni test s *Criethidia luciliae* supstratom smatra se najspecifičnijim testom zbog toga što u toj strukturi nema histona ili jedno-uzvojitu DNA. Testovi imunoprecipitacije kao npr. Farr esej imaju također dobru specifičnost i dobru senzitivnost u dokazivanju pojedinih izotipova ds DNA (8). IgA anti-dsDNA protutijela se povezuju s aktivnošću bolesti te pojavom kožnog vaskulitisa, akralne nekroze prstiju i eritemom, za razliku od IgM anti ds DNA koji nisu povezani s aktivnošću bolesti niti određenim kliničkim obilježjima (9). Porast IgG anti ds DNA titra može za

Anti-Ro i anti-La protutijela

Protutijela na Ro (SS-A) antigen prisutna su u 25% do 40% dok su protutijela na La (SS-B) prisutna u 10-15% bolesnika sa SLE (1). I jedna i druga protutijela su značajno češća u Sjogrenovom sindromu. Anti-Ro protutijela u malom titru mogu se naći u do 15% zdravih pojedinaca, naročito onih koji su HLA DR-3 pozitivni (14). Svi anti-Ro pozitivni serumi vežu Ro-60 kDa protein koji predstavlja RNA kompleks. Neki bolesnici s anti Ro-60 kDa vežu i Ro-52 kDa autoantigen. Funkcija Ro partikla za sada nije dovoljno jasna. Recentna istraživanja upućuju da je on uključen u zaštitu staničnih oštećenja od ultra-

biti i artefakt. Nukleolarni oblik ANA najčešće se vidi u drugim autoimunim bolestima kao što je npr. sistemska skleroza, iako ih može imati i mali broj (<5%) bolesnika sa SLE. U prisustvu različitih tipova ANA-e izgled fluorescence može se mijenjati ovisno o razrjeđenju.

Zadnjih godina radovi su pokazali da pozitivna ANA mogu prethoditi pojavi kliničke slike bolesti nekoliko godina (5). Međutim, još uvijek je rizik za razvoj SLE u ANA pozitivnih zdravih individua manji od 5%. Zaključno, može se reći da su ANA vrlo važan test probira onda kad klinički sumnjamo na SLE ili drugu autoimunu reumatsku bolest, dok u kliničkom praćenju bolesnika s etabliranom bolesti nemaju veću ulogu te ih ne bi trebalo rutinski ponavljati.

razliku od IgM anti-dsDNA predskazati klinički relaps bolesti (10). U svakaodnevnoj upotrebi najrašireniji su ELISA testovi koji imaju veliku senzitivnost ali znatno manju specifičnost. Tim testovima može se naći pozitivan anti-ds DNA u čak 30% bolesnika koji su ANA pozitivni a nemaju SLE (11). U ELISA pozitivnih anti-dsDNA pojedinaca idealno bi bilo provjeriti rezultat jednim od specifičnijih testova.

Anti-dsDNA se povezuje s pojavom lupusnog nefritisa i smatra se odgovornim za oštećenje bubrega u mnogih bolesnika s lupus nefritisom. Neki radovi pokazali su da je profilaktičko liječenje porasta titra anti-dsDNA pokazalo smanjenje broja relapsa bolesti (12). S druge strane Arbuckle i suradnici (5) su pokazali da su bolesnici koji su se inicijalno prezentirali s pozitivnim anti-dsDNA imali pozitivan anti-dsDNA dvije asimptomatske godine prije pojave bolesti. U kliničkom praćenju bolesnika sa SLE praćenje razine anti-dsDNA i C3 ima značajnu ulogu. Porast anti-dsDNA i smanjenje razine C3 komponente komplementa najčešće odražavaju pogoršanje kliničkog stanja iako njihova korelacija s aktivnosti bolesti nije apsolutna. Nekad bolesnici sa SLE mogu imati perzistentno povišen titar anti-dsDNA bez pogoršanja kliničke slike bolesti čak ako se prate tijekom nekoliko mjeseci pa i godina (13).

violetnih zraka (15). Mišji modeli s defektom Ro-60 kDa ukazuju na njegovu ulogu u autoimunosti. Za dokazivanje tih protutijela mogu se koristiti različite metode kao što su ELISA testovi, imunodifuzija, RNK precipitacija ili indirektna imunofluorescenca. Prisustvo anti-Ro (SS-A) protutijela je povezano s kliničkom slikom subakutnog kožnog eritemskog lupusa (SCLE), s fotosenzitivnošću u SLE bolesnika, intersticijskim pneumonitisom kao i s neonatalnim lupusom. U ANA negativnih SLE bolesnika redovito su prisutna protutijela na Ro (SS-A) antigen (3). Opisani su i slučajevi homozigotne C2 deficijencije

koja ima kliničku sliku poput SLE u kojoj dominiraju fotosenzitivne kožne lezije i artarlagije a rijetko su zahvaćeni CNS i bubreg. Anti-Ro/SS-a su prisutni u do 75% tih bolesnika (16). SCLE označava oblik bolesti u kojem dominiraju rekurentne eritematozno-skvamatozne kožne promjene prisutne na licu, ekstremitetima, trupu i leđima, a najčešće se javlja u mladih žena. Sistemske manifestacije bolesti obično nisu jako izražene. U tih bolesnica anti SS-A se nađe u do 90% bolesnika (17). Neonatalni lupus predstavlja vjerojatno najizraženiji klinički dokaz patogenetske uloge anti-Ro protutijela. Anti-Ro protuti-

jelo prelazi s majke na čedo, a kliničku sliku obilježavaju za SLE karakteristični osipi koji se javljaju po porodu ili unutar 2 mjeseca nakon rođenja, citopenije, kolestaza i kongenitalni srčani blok. Prospektivna studija u kojoj je bilo uključeno 100 žena s anti-Ro protutijelima pokazala je rizik za kongenitalni srčani blok od 2%. Kongenitalni srčani blok povezan je s protutijelima koja vežu Ro-52 kDA protein (18).

Prisustvo SS-A i SS-B je povezano sa *sika* simptomima u bolesnika sa SLE (19). Bolesnici sa SLE u kojih su prisutna SS-B imaju obično i SS-A protutijela.

Anti-Sm i anti-U1RNP protutijela

Oba ova protutijela se sastoje od RNA proteinskog kompleksa poznatog kao snRNP (od eng. small nuclear ribonuclear protein)(1). Anti-Sm protutijelo je prisutno u oko 30% bolesnika sa SLE. U afro-američkoj populaciji učestalost je nešto veća (14). Ono ima značajnu dijagnostičku ulogu obzirom da je vrlo rijetko prisutno u drugim reumatskim bolestima. Za dokazivanje anti-Sm protutijela koriste se metode imunodifuzije, hemaglutinacije i ELISA. ELISA testovi koji koriste visoko pročišćene proteine su najsenzitivniji ali i najmanje specifični. Iako je anti Sm protutijelo gotovo patognomonično za SLE nema jasne određene kliničke povezanosti s bolesti ili njenim oblicima. Postoje radovi u kojima se prisustvo Sm protutijela povezuje s Raynaudovim fenomenom (20) ili perifernom neuropatijom (21) ali re-

zultati nisu potvrđeni u velikim serijama bolesnika. Japanski su autori pak, našli pozitivnu korelaciju IgG anti-Sm protutijela sa serozitisom i intersticijskom pulmonalnom fibrozom (22).

Protutijelo na U1RNP povezano je s kliničkom slikom miješane bolesti vezivnog tkiva (MCTD) a ti bolesnici obično nemaju druga protutijela. Ponekad se ono može naći u serumu bolesnika sa SLE. Bolesnici sa SLE kod kojih se anti-U1RNP pojavljuje u kombinaciji s anti Sm imaju češće simptome karakteristične za sklerodermiju poput sklerodaktilije, Raynaudova fenomena ili promjene intencija pluća (23). Neki autori našli su povezanost tog protutijela s Jacoudovom artropatijom - nereozivnim deformirajućim artritisom karakterističnim za SLE (24).

Anti-ribosomalno P protutijelo

Anti-ribosomalno P protutijelo spada u SLE specifično protutijelo. Njegova upotreba u svakodnevnom kliničkom radu nije jako raširena iako ga se povezuje s pojedinim kliničkim obilježjima SLE. Nekoliko radova potvrdilo je korelaciju tog protutijela s CNS lupusom, poglavito psihozom i

depresijom (25). Također, to protutijelo može se naći u bolesnika s aktivnim lupus nefritisom (26) i lupusnim hepatitisom. Obzirom da se ne nalazi u bolesnika s drugim autoimunim hepatitisima ima značajan dijagnostičku ulogu u postavljanju dijagnoze lupusnog hepatitisa (27).

Literatura

1. Sawalha AH, Harley JB. Antinuclear autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 16:434-540.
2. Wallace DJ, Hanh BH. *Dubois lupus erythematosus*. 7. izdanje. Lippincott Williams & Wilkins. 2007.
3. Forslid J, Heigl Z, Jonsson J i sur. The prevalence of antinuclear antibodies in healthy young persons and adults, comparing rat liver tissue sections with HEp-2 cells as antigen substrate. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12:137-141.
4. Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS i sur. Range of antinuclear antibodies in healthy individuals. *Arthritis Rheum* 1997;40:1601-1611.
5. Abruclle MR, McClain MT, Ruberone V. i sur. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 3439:1526-1533.

6. Weinstein A, Bordwell B, Stone B. i sur. Antibodies to native DNA and serum complement (C3) levels. Application to diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1983;74:206-216.
7. Smeenk RJT, Van den Brink HG, Brinkman K i sur. Anti-dsDNA: choice of assay in relation in clinical value. *Rheumatol Int* 1991;11:101-107.
8. Werle E, Blazek M, Fiehn W. The clinical significance of measuring different anti-dsDNA antibodies by Farr assay, an enzyme immunoassay and a Crithidia lucilie immunofluorescence test. *Lupus* 1992;1:369-377.
9. Witte T, Hartung K, Matthias T. i sur. Association of IgA anti-ds DNA antibodies with vasculitis and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 1998;18:63-69.
10. Bootsma H, Spronk PE, Ter Brog EJ. i sur. The predictive value of fluctuations of IgM and IgG

class anti-ds DNA antibodies for relapses in systemic lupus erythematosus. A prospective long term observation. *Ann Rheum Dis* 1997;56:661-666.

11. Haugbro K, Nossent JC, Wrinkler T. i sur. Anti-ds-DNA antibodies and disease clasification in antinuclear antibody positive patients. *Ann Rheum Dis* 2004;63:386-394.

12. Bootsma H, Spronk PE, Derksen R. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1995;345:1595-1599.

13. Walz-LeBlanc BA, Gladman DD, Urowitz EM. Serologically active clinically quiescent systemic lupus erythematosus. Predictors of clinical flares. *J Rheumatol* 1994;21:2239-2241.

14. Maddison PJ, Skinner RP, Vlahoyeannopoulos P i sur. Antibodies to nRNP, Sm, Ro (SSA), and La (SSB) detected by ELISA: their specificity and interrelationship in connective tissue disease sera. *Clin Exp Immunol* 1995;62:337-345.

15. Chen X, Smith JD, Shi H i sur. The Ro autoantigen binds misfolded U2 small nuclear RNAs and assists mamalian cell survival after UV irradiation. *Curr Biol* 2003;13:2206-2211.

16. Lipsker DM, SchreckenberG-Gilliot C, Uring-Lambert B. i sur. Lupus erythematosus associated with genetically determined deficiency of the second component of the complement. *Arch Dermatol* 2000;136:1508-1514.

17. Sontheimer RD, Maddison PJ, Reichlin M. i sur. Serologic and HLA associations in subacute cutaneous lupus erythematosus: a clinical subset of lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 1992;97:664-671.

18. Brucato A, Doria A, Frass M. i sur. Pregnancy outcome in 100 women with autoimmune diseases and

anti-Ro/SS-A antibodies:prospective controlled study. *Lupus* 2002;11:716-721.

19. Hoffman IE, Peene I, Meheus L. i sur. Specific antinuclear antibodies are associated with clinical features in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1155-1158.

20. Gripenberg M, Teppo AM, Friman C. Antibodies to Sm and SS-A demonstrated by enzyme immunoassay. *Rheumatol Int* 1991;11:209-213.

21. Huynh C, Ho SL, Ka-Yeung RTF. i sur. Peripheral neuropathy in systemic lupus erythematosus. *J Clin Neurophysiol* 1999;16:164-168.

22. Yasuda M, Takasaki Y, Matsumoto K. i sur. Clinical significance of IgG anti-IgG antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1990;17:469-475.

23. ter Borg EJ, Groen H, Horst G. i sur. Clinical associations of antiribonucleo-protein antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 1990;20:164-173.

24. Reilly PA, Evison G, McHugh NJ. i sur. Arthropathy of hands and feet in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1990;17:777-784.

25. Schneebaum AB, Singelton JD, West SG. i sur. Association of psyhiatric manifestation with antibodies to ribosomal P protein in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1991;90:54-62.

26. Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Correlations af anti-ds DNA and anti-ribosomal P autantibodies with lupus nephritis. *Clin Immunol* 2003;108:69-72.

27. Ohira T, Takigucuchi J, Rai T. i sur. High frequency of anti-ribosomal P antibody in patients with systemic lupus erythematosus-associated hepatitis. *Hepatol Res* 2004;28:137-139.