

Jak pomáhá vyšetřování autoprotilátek v diagnostice a hodnocení autoimunitních revmatických chorob?

J. Vencovský

Revmatologický ústav, Praha, ředitel prof. MUDr. Karel Pavelka, DrSc.

Souhrn: Autoprotilátky jsou imunoglobuliny, které jsou namířeny vůči vlastním tkáním. Cílem jsou pro ně různé strukturální součásti buněk nebo jejich produkty. Tvorba řady autoprotilátek je fyziologickým jevem, který nemusí vést ke vzniku onemocnění. Autoprotilátky, které jsou asociovány s patologickými stavy, jsou vytvářeny ve vyšších množstvích, mají většinou vysokou afinitu a jsou nejčastěji tvořeny izotypem IgG. Různé orgánově nespecifické autoprotilátky nacházíme často zejména u systémových revmatických onemocnění. Některé vlastnosti předurčují autoprotilátky k tomu, že jejich stanovení můžeme využít v klinické medicíně. Přítomnost autoprotilátek může pomoci přímo diagnostikovat systémovou revmatickou chorobu nebo podpořit tuto diagnózu. Některé autoprotilátky se asociují s určitými klinickými projevy, někdy tvořícími příznakový soubor, a umožňují tak definovat podskupiny onemocnění s různou prognózou. Menší význam mají hodnoty autoprotilátek ve sledování aktivity a jako součást léčebného rozhodnutí. Je nutné znát některá technická omezení, která jsou součástí laboratorního stanovení autoprotilátek.

Klíčová slova: autoprotilátky – choroby pojiva – systémová onemocnění – antinukleární protilátky

How can the autoantibody detection help in the diagnostics and evaluation of connective tissue diseases?

Summary: Autoantibodies are immunoglobulins that are directed against self tissues. Variable structural components of the cells or their products may be the targets. Production of a majority of autoantibodies is a physiological phenomenon, which does not have to lead to the disease. Autoantibodies that are associated with connective tissue diseases are produced in high levels, they are usually of high affinity and IgG isotype. Connective tissue diseases are characterized by a frequent presence of organ non-specific autoantibodies. Some of their properties can be used for clinical evaluation. The presence of the autoantibody may directly diagnose a specific connective tissue disease or support such a diagnosis. Some autoantibodies associate with typical clinical signs and symptoms, which sometimes form a specific subgroup with a different prognosis. Follow-up of the levels of autoantibodies is less significant, although they may occasionally help to assess the activity and contribute to a therapeutic decision. It is important to be aware of some technical limits that may affect the detection and interpretation of autoantibodies in the laboratory.

Key words: autoantibodies – connective tissue diseases – antinuclear antibodies

Autoprotilátky jsou imunoglobuliny, které jsou namířeny vůči vlastním tkáním. Cílem pro ně jsou různé strukturální součásti buněk nebo jejich produkty. Tvorba řady autoprotilátek je fyziologickým jevem, který nemusí vést ke vzniku onemocnění. Autoprotilátky, které jsou asociovány s patologickými stavy, jsou vytvářeny ve vyšších množstvích, mají většinou vysokou afinitu a jsou nejčastěji tvořeny izotypem IgG. Ztráta tolerance, tvorba vysokých hladin autoprotilá-

tek a jejich případné patogenní působení jsou předmětem rozsáhlého výzkumu [1].

U systémových revmatických onemocnění najdeme velice často různé orgánově nespecifické autoprotilátky [2,3]. Některé vlastnosti je předurčují k tomu, že jejich stanovení můžeme využít v klinické medicíně (tab. 1).

Autoprotilátky jako součást diagnózy

Jen malý podíl autoprotilátek je součástí diagnostických kritérií nebo

jsou vysloveně specifické pro určitá onemocnění. Jejich přítomnost v séru nebo jiných tělních tekutinách je v takovém případě velmi silnou indikací určitého onemocnění (tab. 2). Musíme si však být vědomi některých technických omezení a vlastností metod, kterými jsou takové autoprotilátky stanoveny [4]. Přestože by mělo jít již o celkem dobře zavedenou laboratorní detekci, stále je nutné mít na paměti, že z řady důvodů (např. autoprotilátky rozeznávají

Tab. 1. Klinický význam autoprotilátek.

- součást diagnózy
- podpora diagnózy
- asociace s klinickými příznaky
- odhad prognózy
- podskupiny onemocnění
- klinické sledování a odhad aktivity
- součást léčebného rozhodnutí
- známka latentní/časné choroby

různé lineární epitopy na příslušném antigenu; může se lišit jejich afinita mezi pacienty; mohou reagovat pouze s konformačními epitopy, což některé metody nedokážou zachytit; mohou se nespecificky vázat na použitý nosič atd.) dochází občas k nedokonalému určení autoprotilátky. Je tedy nutné často kombinovat metody a potvrdit autoprotilátku dalším stanovením [5]. Vždy je také nutné interpretovat nález autoprotilátky v kontextu s klinickým obrazem.

Součástí diagnostických kritérií u systémového lupus erythematoses je přítomnost antinukleárních protilátek a specificky pak protilátek proti dvojvláknové deoxyribonukleové kyselině (anti-dsDNA), proti ribonukleoproteinu Sm (anti-Sm) nebo proti negativně nabitým fosfolipidům (antifosfolipidové protilátky) [6,7].

Anti-dsDNA a anti-Sm jsou specifické pro toto onemocnění, ovšem jen tehdy, pokud jsou detekovány spolehlivými metodami. Častou chybou je interpretace positivity anti-dsDNA protilátek jen při stanovení pomocí ELISA. Zde může poměrně často dojít k nespecifické vazbě imunoglobulinu a falešně pozitivnímu výsledku. ELISA na anti-dsDNA není tedy diagnostickým testem a používáme ji jen ke sledování fluktuace hladin v longitudinálním průběhu onemocnění. Další, méně častou chybou stanovení, je falešná pozitivita anti-Scl-70 autoprotilátek v sérech, která obsahují anti-dsDNA protilátky. V takovém séru kolují totiž často imunitní komplexy DNA-anti-dsDNA a protože Scl-70 je topoizomeraza I, která se váže na DNA, může v takovém případě vazba komplexu způsobit pozitivitu v anti-Scl-70 testu, aniž by tato protilátka byla přítomna.

Autoprotilátky se u daného onemocnění vyskytují ve variabilních frekvencích. Některé autoprotilátky jsou specifické pro dané onemocnění, ale vyskytují se málo často, takže jejich diagnostická hodnota je tímto faktem omezená, např. protilátky proti jadernému antigenu proliferujících buněk (anti-PCNA, proliferating cell nuclear antigen), které jsou vysoce

specifické pro SLE, ale jejich frekvence u této nemoci je jen kolem 5 %.

Autoprotilátky jako podpora diagnózy

Přítomnost autoprotilátek v séru nemocného s klinickými projevy onemocnění pojava může podpořit tuto diagnózu, aniž by však autoprotilátky určily definované onemocnění, tedy byly vysloveně specifické. Řada autoprotilátek se totiž může najít u různých nemocí v rámci celé této skupiny. Nejčastější jsou např. anti-SSA/Ro nebo anti-SSB/La protilátky, které mají typicky nemocní se Sjögrenovým syndromem, ale i pacienti s SLE, polymyozitidou (PM) a dermatomyozitidou (DM) či nemocní se systémovou sklerodermií (SSc) (tab. 3). Anti-nRNP protilátky jsou ve vysoké hladině nejtypičtější pro smíšené onemocnění pojava (Sharpův syndrom, MCTD – mixed connective tissue disease) [8], nicméně najdeme je i u izolovaných onemocnění, např. u SLE, myozitid či SSc.

Autoprotilátky a asociace s klinickými příznaky

Systémová revmatická onemocnění mohou mít poměrně heterogenní obraz a variabilní prezentaci. Přítomnost některých autoprotilátek úzce souvisí s klinickými příznaky a ně-

Tab. 2. Autoprotilátky, které jsou specifické pro určitá onemocnění.

Autoprotilátka	Rozeznávaný antigen	Specifická pro
anti-dsDNA	dvojvláknová DNA	SLE
antinukleozomální	komplex DNA + histony	SLE
anti-Sm	U1,U2,U4-6 RNA + proteiny BB', D, E, F, G	SLE
anti-P protein	cytoplazmat. ribozomální fosfoproteiny	SLE
anti-PCNA	přidružený protein DNA-polymerázy δ	SLE
anti-Scl-70	DNA topoizomeraza I	SSc
anticentromerové	CENP A, B, C	CREST syndrom
anti-U3 RNP	fibrilarin	SSc
anti-Mi-2	jaderný komplex 7 proteinů	DM
anti-Jo-1	histidyl-tRNA-syntetáza	PM, DM
anti-SRP	signal recognition particle	PM

SLE – systémový lupus erythematoses, PM/DM – polymyositis/dermatomyositis, CREST – akronym pro calcinosis, Raynaudův fenomén, ezofageální dysfunkce, sklerodaktylie, teleangiektasie, SSc – systémová skleróza, RNP – ribonukleoprotein, PCNA – proliferating cell nuclear antigen

Tab. 3. Orgánově-nespecifické autoprotilátky asociované se systémovými revmatickými chorobami.

Autoprotilátka	Rozeznávaný antigen	Klinická asociace s nemocí
antihistonové	histony 1 až 4, dimer H2A-H2B	SLE, léky indukovaný SLE, SSc, RA
anti-nRNP	U1-RNA + proteiny p70, A, C	MCTD, SLE, SSc, PM/DM
anti-SSA/Ro	malé cytoplazmatické RNA + proteiny Ro60 a Ro52	primární SS, SLE, neonatální SLE
anti-SSB/La	fosfoprotein vázající transkripty RNA pol III	primární SS, SLE
anti-Ku	heterodimer p70, 80, součást DNA dependentní proteinkinázy	SLE, PM
anti-hnRNP	heterogenní nukleární RNA + proteiny A1, A2, C, D, I	SLE, RA, SSc, MCTD
anti-RNA pol	RNA polymeráza I, II, III	SSc, SLE
anti-PM-Scl	11 jaderných polypeptidů neznámé funkce	PM/DM, SSc
revmatoidní faktory	Fc IgG	RA, SS, SLE, MCTD, SSc
antifosfolipidové	negativně nabitě fosfolipidy	APS, SLE
anti-β ₂ GPI I	β ₂ -glykoprotein I	APS, SLE
c-ANCA	proteináza 3	WG, méně jiné vaskulitidy
p-ANCA	myeloperoxidáza a další (elastáza, katepsin G, lysozym a α-enoláza)	mikroskopická polyangitida, méně IBD a další
anti-CCP	citruinované proteiny	RA, málo PsA
AMA	E2 podjednotka pyruvátdehydrogenázy a komplex kyselých dehydrogenáz	PBC, SSc

SLE – systémový lupus erythematoses, SS – Sjögrenův syndrom, PM/DM – polymyositis/dermatomyositis, MCTD – smíšené onemocnění pojiva (mixed connective tissue disease), SSc – systémová skleróza, RA – revmatoidní artritida, APS – antifosfolipidový syndrom, PBC – primární biliární cirhóza, WG – Wegenerova granulomatóza, PsA – psoriatická artritida, ANCA – anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, AMA – antimitochondriální protilátky, RNP – ribonukleoprotein

kdy i závažností onemocnění. Mezi nejznámější asociace patří přítomnost anti-P protilátek a CNS postižení u SLE [9]. Onemocnění ledvin u SLE je častější, pokud jsou přítomny anti-dsDNA-protilátky, ale také protilátky proti nukleozomům, antihistonové či anti-C1q protilátky [10]. Častější je v takových případech především proliferativní glomerulonefritida. Neonatální SLE je způsobený transplacentárním přenosem autoprotilátek do oběhu plodu. V období intrauterinního vývoje jsou důležité anti-SSA/Ro protilátky (méně i anti-SSB/La), které mohou svou vazbou na vodivý srdeční systém vést k jeho poškození a ke vzniku závažné atrioventrikulární blokády [11].

Autoprotilátky a podskupiny onemocnění

Autoprotilátky umožňují někdy uvnitř příslušné diagnostické jednotky vydělit podskupinu nemocných s určitou společnou klinickou symptoma-

tologií a případně odhadovat prognózu choroby. Nemocní s SLE, kteří mají v séru protilátky proti nRNP, a především proti jeho subjednotce p70 (anti-70), mají velmi častou přítomnost společného výskytu myozitidy, Raynaudova fenoménu, artritidy, sklerodaktylie a alveolitidy [12]. Pro pacienty s anti-Jo-1 protilátkami a dalšími protilátkami proti tzv. syntetázám (např. anti-PL-7 – anti-threonyl-tRNA-syntetáza, anti-PL-12 – anti-alanyl tRNA-syntetáza a další) je společný antisyntetázový syndrom, který zahrnuje vedle přítomnosti myozitidy ještě skoro vždy intersticiální plicní fibrózu, artritidu, Raynaudův fenomén, horečky a přítomnost tzv. rukou mechanika [13]. Pacienti, kteří mají v séru anti-PM-Scl-protilátky, velmi často mívají překryvný syndrom, který zahrnuje klinické projevy systémové sklerodermie a polymyozitidy. Antifosfolipidové autoprotilátky, nejčastěji detekované jako antikar-

diolopinové protilátky (aCL) nebo jako anti-β₂ glykoprotein I protilátky (anti-β₂GPI) doprovázejí antifosfolipidový syndrom [14]. Ten je buď sekundární, nejčastěji při SLE, nebo se může vyskytnout jako samostatná jednotka. Klinicky jsou přítomny trombotické stavy v žilním či tepenném řečišti, opakované potraty, trombocytopenie a celá řada dalších klinických stavů, které lze většinou vysvětlit postižením orgánu či oblasti trombózou či vaskulopatií.

Prognostický význam autoprotilátek

Prognostický význam mají jen některé autoprotilátky. Ve skupině myozitid nejkratší dobu přežití mají nemocní s anti-SRP-protilátkami, následovaní těmi s anti-Jo-1 aktivitou, zatímco pacienti, kteří mají např. anti-Mi-2 autoprotilátky, jsou z hlediska mortality na přibližně stejné úrovni jako ti bez protilátek [13]. Určitě horší prognózu mají nemocní s anti-dsDNA

protilátkami u SLE nebo pacienti s anti-Scl-70 nebo anti-RNA pol protilátkami u systémové sklerodermie. Naopak nemocní s anticentromerovými protilátkami vymezují spíše limitovanou formu sklerodermie s CREST syndromem, většinou bez významnějšího orgánového postižení [15].

V posledních asi 5 letech se ukazuje, jak významnou diagnostickou a prognostickou hodnotu mají nově popsané autoprotilátky proti citrulinovaným peptidům u nemocných s revmatoidní artritidou [16]. Tyto autoprotilátky se stanovují pomocí ELISA metody jako protilátky proti cyklickému citrulinovanému peptidu (anti-CCP2). Ukázalo se totiž, že tyto autoprotilátky jsou vysoce specifické pro RA (specifická 98 %) při senzitivitě kolem 60–82 %. Anti-CCP protilátky jsou přítomny v časných fázích onemocnění, případně i nějakou dobu před vznikem RA, a slouží jako významný diagnostický test k odlišení RA od jiných typů artritid na počátku nemoci. Anti-CCP byly opakovaně asociovány se závažnějším průběhem choroby a rychlejším vznikem kostních erozí a slouží tak jako cenný prognostický ukazatel [17]. Na rozdíl od revmatoidních faktorů, anti-CCP se neobjevují během stárnutí a mohou tak i ve vyšším věku být diagnostickou pomocí pro RA.

Autoprotilátky v klinickém sledování a odhadu aktivity

Často se setkáváme s představou, že čím více autoprotilátky v séru nemocný má, tím je onemocnění aktivnější, závažnější a má horší prognózu. Ukazuje se, že tento fakt platí jen někdy a pouze zřídka se daří zhodnocení absolutní hladiny nebo změny množství autoprotilátky v čase využít k nějakému závěru a případnému rozhodnutí. Určitě je to pravda pro již zmíněné anti-CCP protilátky, které souvisí se závažností RA, ale už ne s aktivitou choroby. Jejich pokles spojený s terapií je stále ještě spornou otázkou a rozhodně není jedno-

značný. Samotná absolutní hladina anti-dsDNA protilátek nesouvisí s aktivitou SLE, ale ukázalo se, že pokud se monitoruje v relativně krátkých úsecích, ohlašuje zdvojnásobení hladiny během 6 týdnů relaps onemocnění [18]. Antifosfolipidový syndrom je častější a většinou se závažnějšími příznaky, pokud jsou hladiny autoprotilátek vyšší. U většiny „klasických“ antinukleárních a anticypoplazmatických protilátek však výška hladiny autoprotilátky s klinickým obrazem nekoreluje. Známe nemocné s přetrvávajícími zvýšenými hladinami autoprotilátek, kteří jsou řadu let v plné remisi choroby, ale i opačně jsou nemocní, kde protilátky rychle vymizí pod detekovatelnou hladinu po iniciační léčbě, nicméně choroba pokračuje dále bez výrazné klinické odezvy na terapii.

Autoprotilátky jako součást léčebného rozhodnutí

Prospektivní hodnocení léčebného zásahu podle přítomnosti autoprotilátek v podstatě chybí u většiny onemocnění. Nicméně, z výše uvedených korelací mezi přítomností autoprotilátek a formami choroby lze zvážit agresivnější léčbu v případech, kdy jsou autoprotilátky asociovány se závažnějšími stavy nebo ohlašují horší prognózu.

Autoprotilátky jako známka latentní/časné choroby

Klinicky nejvyužitelnější jsou anti-CCP protilátky, protože v raných fázích artritidy je důležité rozhodnout, kam se bude nemoc vyvíjet. Nemocný s časnou artritidou, který má anti-CCP protilátky, má 38krát větší riziko vývoje do RA než pacient, který je nemá [19]. Ví se, že téměř polovina pacientů, kteří onemocní revmatoidní artritidou, má anti-CCP a/nebo revmatoidní faktory v séru ještě před klinickou manifestací nemoci. Využít tuto znalost v klinice je zatím prakticky nemožné. Příbuzní nemocných se systémovými chorobami

mají častěji pozitivní autoprotilátky v séru. Odráží to společnou genetickou náchylnost k tvorbě autoprotilátek. Většina z nich však systémovou revmatickou chorobu nikdy nevyvine.

Literatura

1. Vencovský J. Autoprotilátky. In: Tlaskalová-Hogenová H, Holáň V, Bilej M (eds). Buněčné a molekulární základy imunologie 2003. Praha: Česká imunologická společnost 2003: 141–149.
2. Vencovský J. Autoimunitní systémová onemocnění – minimum pro praxi. Praha: Triton 1998.
3. Vencovský J. Laboratorní diagnostika u systémových revmatických onemocnění. In: Zima T (ed). Laboratorní diagnostika. Praha: Galén 2002: 248–258.
4. Dostál C, Vencovský J et al. Systémový lupus erythematosus. Praha: Medprint 1997.
5. Vencovský J, Kafková J, Štork J et al. Antinukleární a anticypoplazmatické autoprotilátky u systémových revmatických onemocnění – vyšetření imunoblottingem. Čes Revmatol 1997; 5: 71–81.
6. Tan EM, Cohen AS, Fries JS et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1982; 25: 1271–1277.
7. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1997; 40: 1725.
8. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM et al. Mixed connective tissue disease – an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). Am J Med 1972; 52: 148–159.
9. Isshi K, Hirohata S. Differential roles of the anti-ribosomal P antibody and antineuronal antibody in the pathogenesis of central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1998; 41: 1819–1827.
10. Cortes-Hernandez J, Ordi-Ros J, Labrador M et al. Antihistone and anti-double-stranded deoxyribonucleic acid antibodies are associated with renal disease in systemic lupus erythematosus. Am J Med 2004; 116: 165–173.
11. Salomonsson S, Sonesson SE, Ottosson L et al. Ro/SSA autoantibodies directly bind cardiomyocytes, disturb calcium homeostasis, and mediate congeni-

tal heart block. J Exp Med 2005; 201: 11–17.

12. Vencovský J, Williams DG, Field M et al. Clinical associations of IgG antibodies to the RNP p-67 polypeptide in patients with systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 1992; 51: 1313–1317.

13. Love LA, Leff RL, Fraser DD et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: Myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patients groups. Medicine 1991; 70: 360–373.

14. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome

(APS). J Thromb Haemost 2006; 4: 295–306.

15. Moroi Y, Peebles C, Fritzler MJ et al. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. Proc Natl Acad Sci USA 1980; 77: 1627–1631.

16. Vencovský J, Šedová L, Růžičková Š. Protilátky proti citrulinovaným proteinům u revmatoidní artritidy. Čes Revmatol 2005; 13: 164–175.

17. Vencovský J, Šedová L, Macháček S et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2003; 62: 427–430.

18. Smeenk R, Brinkman K, Van den Brink H et al. Antibodies to DNA in patients with systemic lupus erythemato-

sus. Their role in the diagnosis, the follow-up and the pathogenesis of the disease. Clin Rheumatol 1990 (Suppl 1); 9: 100–110.

19. van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. Arthritis Rheum 2004; 50: 709–715.

prof. MUDr. Jiří Vencovský, DrSc.

www.revma.cz

e-mail: venc@revma.cz

Doručeno do redakce: 9. 5. 2006

www.kardiologickarevue.cz