

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 luciliae 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. *Hepatology Res* 2004;28:137-139.