

КОФАКТОР АНТИФОСФОЛИПДИНЫХ АНТИТЕЛ ПРИ СИФИЛИСЕ, БОРРЕЛИОЗЕ ЛАЙМА И АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Б.Войцеховская, Я. Забек.

Лаборатория микробиологии и серологии Института ревматологии, Варшава. Польша

Резюме

Цель. Изучить вклад ?2 - гликопротеина 1 в выявляемость аКЛ у больных с аутоиммунными и некоторыми инфекционными заболеваниями.

Материал и методы. Иммуноферментным методом (ИФМ) были исследованы антитела к различным видам фосфолипидов в сыворотках 92 больных: 20 - с системной красной волчанкой (СКВ), 15 - с болезнью Шегрена (БШ), 20 - с ревматоидным артритом (РА), 20 - с сифилисом и 17 - с болезнью Лайма (БЛ). У больных с сифилисом и БЛ клинические признаки аутоиммунного заболевания отсутствовали. Стимулирование теста аКЛ в ИФМ проводилось после предварительной инкубации кардиолипина на микротитрованных пластинках с использованием электрофоретически чистого ?2 - гликопротеина 1.

Результаты. Наиболее часто аФЛ выявлялись в сыворотках больных СКВ и сифилисом, реже при БШ. В аКЛ-положительных сыворотках обнаруживались антитела к некоторым другим фосфолипидам. Средние значения стимулированного теста аКЛ в ИФМ после предварительной инкубации с чистым ?2 - гликопротеином 1 были выше при аутоиммунных заболеваниях, чем при инфекционных.

Заключение. Разделение аКЛ на кофактор "зависимый" и "независимый" или аутоиммунный и инфекционный тип не представляется окончательным.

Ключевые слова. Кофактор антилипидных антител, Лайм боррелиоз, сифилис, аутоиммунные заболевания.

Введение

Антифосфолипидные антитела (аФЛ) - включают обширную гетерогенную группу аутоантител, направленных в основном против отрицательных или нейтральных фосфолипидов, фосфолипидсвязывающих плазменных белков крови, в первую очередь, ?2-гликопротеина I (2-ГПИ) [1,3,4]. Наиболее важными, с точки зрения диагностики, являются антитела к кардиолипину (аКЛ), первоначально обнаруживаемые тестом на потребление комплемента (тип антител "реагины" в реакции Вассермана), тестами на флоккуляцию (ложно-положительные реакции на сифилис) и в последнее время - иммуноферментным методом (ИФМ) [4,5,8,9]. аКЛ, выявляемые при сифилисе, определяются также при аутоиммунных заболеваниях [8,14,15,16].

Диагностическое значение антител типа аКЛ и волчаночного антикоагулянта (ВА) основывается на четкой ассоциации этих антител с определенными клиническими проявлениями, такими как рецидивирующие тромбозы (артериальные и/ или венозные), синдром потери плода, тромбоцитопения, т.е. симптомокомплексом, называемым, антифосфолипидным синдромом (АФС) [1,8,11]. В тоже время эти антитела выявляются и при ряде инфекционных заболеваний, когда клинические признаки АФС отсутствуют. В настоящее время известны два пула аКЛ: пул, называемый "аутоиммунным", 2-ГПИ-зависимый (кофактор-зависимый) и пул, 2-ГПИ-независимый или "инфекционный" [6,7,8,16], который отличается от первого отсутствием корреляции с окклюзивными осложнениями. По нашим данным (неопубликованные данные) во многих сыворотках крови больных, вне зависимости от характера заболевания, определялась смесь обоих видов аКЛ.

Целью настоящего исследования было установить, является ли стимулирование теста аКЛ в ИФМ с помощью

2-ГПИ характерным только для аутоиммунных аКЛ, или оно происходит и в сыворотках крови больных с инфекционными заболеваниями (сифилисом и боррелиозом Лайма).

Материалы и методы

Были исследованы ИФМ сыворотки 92 больных, из них 20 с системной красной волчанкой (СКВ), 15 - с болезнью Шегрена (БШ), 20 - с ревматоидным артритом (РА), 20 - с сифилисом и 17 пациентов с боррелиозом Лайма (БЛ). Больные с сифилисом и БЛ не имели клинических признаков аутоиммунного заболевания, в том числе АФС.

Антитела к пяти другим фосфолипидам, помимо аКЛ: фосфатидилсерину (аФЛ), фосфатидной кислоте (аФК), фосфатидилглицеролу (аФГ), фосфатидилинозитолу (аФИ), фосфатидилхолину (аФХ), - определялись ИФМ в модификации, разработанной в лаборатории микробиологии и серологии Института ревматологии в Варшаве [18]. Стимулирование теста аКЛ в ИФМ проводилось после предварительной инкубации кардиолипина на микротитрованных пластинках с использованием электрофоретически чистого 2-ГПИ, очищенного модифицированным методом E.Poltz с соавт. [13]. Результат стимулирования теста аКЛ в ИФМ считался положительным, когда разница между нестимулированным и стимулированным 2-ГПИ тестом аКЛ для тестируемой сыворотки была больше одного стандартного отклонения.

Результаты

Частота выявления антител к различным фосфолипидам в исследованных группах больных представлена в таблице.

Как видно из таблицы, высокая частота выявления аФЛ в сыворотках крови была характерна для сифилиса и СКВ,

Частота выявления различных видов антифосфолипидных антител в исследованных сыворотках

Диагноз (n)	аКЛ		аФС		аФГ		аФК		аФИ		аФХ	
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
СКВ-20	12	60	18	90	8	40	6	30	18	90	3	15
БШ-15	5	33	3	20	7	47	5	33	8	53	2	13
РА -20	3	15	2	10	10	50	16	80	20	100	8	40
БЛ-17	7	41	1	6	1	6	0		0		2	12
Сифилис-20	17	85	12	60	16	80	20	100	19	95	16	80

Примечание: СКВ - системная красная волчанка, БШ - болезнь Шегрена, РА - ревматоидный артрит, БЛ - боррелиоз Лайма.

аКЛ - антикардиолипиновые антитела, аФС - антитела к фосфатидилсерину, аФГ - антитела к фосфатидилглицеролу, аФК - антитела к фосфатидной кислоте, аФИ - антитела к фосфатидилинозитолу, аФХ - антитела к фосфатидилхолину.

несколько меньшая - для БШ. В сыворотках, позитивных по аКЛ, определялись антитела и к ряду других фосфолипидов.

Примечательно, профили специфичности антител к фосфолипидам при сифилисе и СКВ существенно различались. При БЛ доминировал аКЛ - в 41% случаев, а из других фосфолипидов только аФХ определялись у 12% этих больных.

При изучении влияния преинкубации сывороток больных с β -2 гликопротеином I на результаты определения Ig A, Ig M и Ig G - аКЛ ИФМ обнаруживались заметные индивидуальные колебания как среди сывороток больных СКВ, так и ЛБ и сифилисом. Во всех трех группах больных имелись сыворотки как с высокими, так и низкими исходными значениями аКЛ разных классов. Столь же различной была их реакция на преинкубацию с данным кофактором: в части сывороток выявлялась стимуляция, в части - ингибция выработки Ig A, Ig M или Ig G - аКЛ.

При этом средняя величина стимулированного или ингибированного в результате преинкубации сывороток с чистым β 2-гликопротеином I ИФМ - аКЛ теста, выраженные в % стимуляции, в группе больных аутоиммунными заболеваниями достигла 103; в группе БЛ составляла 14, а при сифилисе имела отрицательные значения (-9).

Обсуждение

Известно, что пул аФЛ - многокомпонентный и его свойством является перекрестная реактивность с различными плазменными белками, которая, возможно отражена в основных механизмах развития тяжелых клинических осложнений: тромбозов, синдрома потери плода, тромбоцитопении, неврологических нарушений [8,9,14]. Разделение аФЛ на два пула: "аутоиммунный" и "инфекционный", - в свете полученных нами результатов может оказаться не совсем верным. Эта проблема изучалась в течение последних лет [14, 15,17]. Интерес к ней вплотную связан с очевидной ассоциацией определенных антител с клиническими проявлениями. Вместе с тем остаются нерешенными вопросы - чем определяется специфичность аФЛ, ответственных за феномен волчаночного антикоагулянта [8,15].

Представленные результаты по частоте выявления аКЛ при СКВ, БШ, РА и инфекционных заболеваниях находят в соответствии с данными других авторов [8,14,15,16].

Например, С.Е.Weidman с соавт. [17] обнаружили, что в сыворотках больных СКВ частота встречаемости аКЛ составляла 58%, аФК - 80%, аФС - 56%, аФХ - 65%; только антитела к фосфатидилэтаноламину выявлялись реже - 23% случаев. Подобные данные по частоте встречаемости различных видов аФЛ при СКВ были представлены нами ранее [14,15].

Более низкий процент наличия аКЛ при СКВ обнаружили А.Lopez-Soto с соавт.[10]. Различия в частоте выявления аКЛ при СКВ, которая колеблется от 5 до 60%, зависят, вероятно, от клинических особенностей групп больных, изучаемых разными исследователями [8,14]. Неудивительно, что при сифилисе и системных заболеваниях соединительной ткани обнаруживаются сходные профили аКЛ. Это связано с тем, что при сифилисе интенсивность аутоиммунизации сравнима с той, которая характеризует эти болезни [18]. Данные об аутоиммунизации при БЛ почти отсутствуют, за исключением отдельных случаев выявления аКЛ и ревматоидного фактора у больных боррелиозом [8,16]. Вызывают интерес результаты стимуляции аКЛ в ИФМ очищенным β 2-ГПП, так как при стимуляции в вышеупомянутом тесте связывание определялось в 30 - 65% тестируемых сывороток, независимо от диагноза и изотипа аКЛ. Укажем, что применявшаяся доза очищенного β 2-ГПП составляла 40 г/мл и была оптимальной по данным А.Е.Gharavi с соавт. и нашему мнению [5,20].

Возможно, результаты полученные нами представляются недостаточно убедительными из-за малого количества изученных сывороток и противоречат широко распространенному мнению, что аКЛ, выделенные из сывороток больных с аутоиммунными заболеваниями и инфекционными заболеваниями, различаются [4,5,8,16].

Наше предварительное заключение таково, что в сыворотках больных, независимо от диагноза, возможно присутствие обоих пулов аКЛ: и "аутоиммунных", и "инфекционных". Определение преобладания тех или иных решается при проведении стимулирования или ингибирования аКЛ в ИФМ. Возможно и другое объяснение наших необычных результатов, которое состоит в том, что в различных сыворотках имеются аФЛ, требующие других кофакторов (плазменных белков), а не β 2-ГПП. Необходимо продолжение дальнейших исследований полученного феномена, так как их результаты могут стать решающими в определении клинического прогноза заболевания у больных с аФЛ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alarcon-Segivia D. Clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome. *J. Rheumatol.* 1992, 19, 1778-1781
2. Asherson R.A., Cervera R. "Primary", secondary and other variants of the antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 1994, 3, 293-298.
3. Costello PB, Green F.A. Reactivity patterns of human anticardiolipin and other antiphospholipid antibodies in syphilitic sera. *Infect. Immun.* 1986, 51, 771-775.
4. Gharavi A.E., Harris E.N., Asherson R.A., Hughes GRV. Antiphospholipid antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Ann. Rheum. Dis.* 1987, 46, 1-6.
5. Gharavi A.E., Pierangeli SS. Origin of antiphospholipid antibodies: induction of aPL by viral peptides. *Lupus*, 1998, 7, S211
6. Harris E.N., Gharavi A.E., Wasley G.D., Hughes G.R.V. Use of enzyme-linked assay and of inhibition studies to distinguish between antibodies to cardiolipin from patients with syphilis or autoimmune disorders. *J. Infect. Dis.* 1988, 157, 23-31.
7. Hunt J., Krilis S. A phospholipid- β 2-glycoprotein I complex is an antigen for anticardiolipin antibodies occurring in autoimmune disease but not with infection. *Lupus*, 1992, 1, 75-81.
8. Kandiah D.A., Krilis S.A. Immunology and methods of detection of antiphospholipid antibodies. In: Asherson R.A., Cervera R., Piette J.C., Shoenfeld Y. (eds) *The antiphospholipid syndrome*. CRC Press, USA, 1996, 29
9. Lopez-Soto A., Cervera R., Font J. Isotype distribution and clinical significance of antibodies to cardiolipin, phosphatidic acid, phosphatidylinositol and phosphatidylserine in systemic lupus erythematosus: prospective analysis of a series of 92 patients. *Clin. Experimental.* 1997, 15, 143-149.
10. Luft S. *Metody diagnostyki serologicznej w reumatologii*. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa. 1996, 101-102.
11. McNeil H.P., Chesterman C.N., Krilis S.A. Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Adv. Immunol.* 1991, 49, 193-280.
12. McNeil H.P., Chesterman C.N., Krilis S.A. Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant separate antibody subgroups with different phospholipid binding characteristics. *Br.J. Haematol.* 1989, 73,506.
13. Poltz E, Kostner G.M. *FEBS Letters.* 1979, 102, 183.
14. Решетняк ТМ., Б.Войцеховская, З.С.Алекберова, и др. Антитела к различным фосфолипидам у больных системной красной волчанкой и первичным антифосфолипидным синдромом. *Клинич. Мед.* 1999, 5, 32-37.
15. Reshetniak ТМ, В.Вojciechowska, Z.Alekberova, et al. Korelacja wystepowania surowicznych przeciwcial antyfosfolipidowych oraz anticoagulantu toczenia z wybranymi objawami klinicznymi u chorych z toczeniem rumieniowatym ukadowym oraz pierwotnym i wtornym zespolem antyfosfolipidowym. *Reumatologia* 1999, 37, (2) 145-147
16. Loizou S.A., Walport M.A., Davies K.A. The antiphospholipid syndrome and infectious diseases. In Asherson R.A., Cervera R., Piette J.C., Shoenfeld Y. (eds) *The antiphospholipid syndrome*. CRC Press, USA, 1996, 267-287.
17. Weidmann C.E., Wallanca D.J., Peter J.B., et al. Studies of IgG, IgM, and IgA antiphospholipid antibody isotypes in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1993, 20, 1598-1600.
18. Shelley W.B., Shelley E.D. Syphilis. In : *Advanced Dermatologic Diagnoses*. WB Saunders: Philadelphia, RA, 1992, 1183-1187.
19. Zabek J., Luft S., Woiciechowska B., Biernacka E. et al. Badania nad krzywa reakty wiscoscia przeciwiab antyfosfolipidowych w ukadowych chorobach tkanki laczejnej. *Reumatologia*, 1995, 33 (2), 112
20. Zabek J., Woiciechowska B., Luft S. The study on the significance of the apolipoprotein H as an autoantigen and a cofactor or the specific antiphospholipids antibodies reactions. *Reumatologia*, 1998, 36, 55, 147.

Поступила 10.11.2001 г.

Abstract

Cofactor antiphospholipide antibodies in syphilis, Lyme borreliosis and autoimmune diseases

B. Voicehovskaya, J. Zabek

Objective. To study β 2 glycoprotein 1 contribution to frequency of aCL in pts with autoimmune and some infectious diseases.

Methods. Antibodies to different phospholipids were tested by immune-enzyme method (IEM) in serum of 92 pts: 20 of them had systemic lupus erythematosus (SLE), 15 Sjogren's disease (SD), 20 rheumatoid arthritis (RA), 20 syphilis and 17 Lyme disease (LD). Pts with syphilis and LD did not have clinical signs of autoimmune disease. Stimulation of aCL test in IEM was performed after previous cardiolipin incubation on microtitrated plates with electrophoretic pure β 2 glycoprotein 1.

Results. aCL were mostly revealed in serum of patients with SLE and syphilis, less often in SD. In aCL-positive serums antibodies to some other phospholipids were found. Mean values of stimulating aCL test in IEM after previous incubation with pure β 2-glycoprotein 1 in autoimmune diseases were higher than in infection. aCL division into cofactor «dependent» and «independent» or autoimmune and infectious types seems to be not final.