

АНТИКЕРАТИНОВЫЕ АНТИТЕЛА И АНТИПЕРИНУКЛЕАРНЫЙ ФАКТОР ЯВЛЯЮТСЯ МАРКЕРОМ АГРЕССИВНОГО ТЕЧЕНИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Маслянский А.Л.* , Лапин С.В., Иливанова Е.П.** ,
Мазуров В.И.* , Тотолян А.А.

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова;

** Медицинская академия постдипломного образования, г. Санкт-Петербург;*

*** Ленинградская областная больница, Россия*

Резюме. Антикератиновые антитела (АКА) и антиперинуклеарный фактор (АПФ) являются маркерами ревматоидного артрита (РА). Среди других антител, в частности РФ, встречающихся при РА, они занимают особое место в связи с их высокой специфичностью при РА, составляющей более 90%.

Для установления диагностического значения АКА и АПФ был обследован 121 больной РА, подтвержденным критериями АРА (1988). Группу контроля составили 21 больной остеоартритом, 14 пациентов с реактивным артритом и 11 больных серонегативными спондилоартропатиями. В сыворотке больных исследовались концентрации АКА, АПФ, РФ, АНФ с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции. Субстратом для реакции непрямой иммунофлюоресценции служили серийные криосрезы средней трети пищевода крысы толщиной 4 мкм и клетки буккального эпителия щеки здорового донора.

Чувствительность АКА составила 43,6%, специфичность 100%; чувствительность АПФ составила 52,9%, специфичность 93,5%. Чувствительность РФ составила 67,8% при специфичности 86%. АКА и АПФ встречались достоверно чаще РФ в дебюте РА, отмечались у 38% больных с серонегативным РА.

АКА и АПФ встречались у больных с большей активностью заболевания и выраженным суставным синдромом. У больных с АКА и АПФ были достоверно выше параметры функциональной недостаточности, оцененные по индексам HAQ и Ли, чаще отмечается резистентность к базисной терапии.

Таким образом, АКА определяют популяцию больных РА у которых заболевание начинается раньше и протекает более агрессивно. Выявление этих антител в клинике может служить основанием для более активной терапии таких больных для предупреждения развития суставных эрозий и системных проявлений.

Ключевые слова: антикератиновые антитела, антиперинуклеарный фактор, ревматоидный артрит, антифилаггриновые антитела.

Maslyanski A.L., Lapin S.V., Ilivanova E.P., Mazurov V.I., Totolian A.A.

ANTIKERATIN ANTIBODIES AND ANTIPERINUCLEAR FACTOR ARE MARKERS OF AGGRESSIVE RHEUMATOID ARTHRITIS

Abstract. Antikeratin antibodies (AKA) and antiperinuclear factor (APF) are markers of rheumatoid arthritis (RA). They are remarkable because of almost 100% specificity in this condition which significantly exceeded specificity of RF.

The clinical utility of serological markers of RA was studied in 121 patients with RA verified according ARA criteria. The disease control group consists of 21 persons with osteoarthritis, 14 patients with reactive arthritis and 11 patients with seronegative spondyloarthropathy. AKA and APF were measured by indirect immunofluorescence on serial cryosections of rat esophagus and buccal epithelial cells.

The sensitivity of AKA was 43.6% and specificity was 100%; the sensitivity of APF was 52.9% and specificity 93.5% in comparison with RF which sensitivity was 67.8% and specificity was 86%. AKA and APF were detected in early RA independently from RF and were found in 38% of patients with seronegative RA. Both

Адрес для переписки:

197083, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д.6/8,

Лапину Сергею Владимировичу.

Тел/факс: 238-71-94.

E-mail: solapin@mail.ru

autoantibodies were predominantly found in patients with high disease activity and with higher number of diseased joints and extraarticular manifestations. Also in patients with autoantibodies the indices of functional disability (Lee, HAQ) were significantly higher than in patients without autoantibodies.

In conclusion the presence of AKA and APF determine the disease subset with more aggressive course of RA. These serological markers are independent from RF and can be found significantly earlier than RF and can be also detected in seronegative RA. Positive result of autoantibody test can be a reason for more active therapy of an RA patient for the effective prevention of articular erosions and extraarticular manifestations. (*Med.Immunol.*, 2003, vol.5, № 5-6, pp 599-608)

Антикератиновые антитела (АКА) и антиперинуклеарный фактор (АПФ) являются серологическими маркерами ревматоидного артрита (РА). Среди других антител, встречающихся при РА, они занимают особое место в связи с их высокой специфичностью при РА, достигающей 90% [3].

Совместно АКА и АПФ входят в семейство антифилаггриновых аутоантител. Антигеном этих антител является белок филаггрин, точнее его предшественник про-филаггрин массой 40 кДа, представляющий собой один из белков цитоскелета эпителиоцитов. Про-филаггрин локализуется в кератогиалиновых гранулах гранулярного слоя многослойного плоского эпителия. После протеолиза предшественника, положительно заряженные полипептиды филаггина участвуют в сборке цитокератиновых филаггентов [31]. Присутствие про-филаггина в ороговевающем эпителии пищевода млекопитающих позволяет использовать ткань лабораторных животных в качестве субстрата для выявления АКА. Для обнаружения АПФ используются клетки букального эпителия щеки здорового донора. Основным методом идентификации АКА и АПФ является метод непрямой иммунофлюоресценции, также может быть использован иммуноблоттинг.

АКА и АПФ обнаруживаются в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных РА и составляют значительную часть синовиального IgG [8, 15, 19]. Местный синтез антифилаггриновых аутоантител и ревматоидного фактора (РФ) приводит к образованию в полости сустава иммунных комплексов стимулирующих синтез хемокинов и привлечение иммуновоспалительных клеток [14]. Встречаемость АКА и АПФ при ревматоидном артрите по данным разных исследователей колеблется от 30 до 80% [7,9,18-20,26,27]. Доказано, что АКА появляются до начала клинических проявлений заболевания [5,17]. Антифилаггриновые антитела являются независимым серологическим маркером заболевания, так как их содержание у больных РА не коррелирует с титрами РФ и других аутоантител.

Роль АКА и АПФ в клинике ревматоидного артрита окончательно не установлена. В первых исследованиях, посвященных анализу клинической значимости АКА и АПФ, не было обнаружено связи между выявлением АКА и симптоматикой РА [25]. Даже при анализе значительных групп пациентов с дебютом РА однозначных корреляций, касающихся АКА и АПФ, установлено не было [10]. С другой

стороны, ряд авторов указывают на большую частоту деформаций [18, 21] и экстраартикулярных проявлений заболевания [27] у АКА позитивных больных РА.

Данная работа была проведена для уточнения клинической значимости АКА и АПФ у больных РА и их сравнения с традиционными маркерами этого заболевания, такими как РФ и антинуклеарный фактор (АНФ). Группу обследованных составили больные с критерияльно подтвержденным РА. Сопоставление клинических и анамнестических параметров РА с наличием АКА и АПФ позволяет утверждать, что их присутствие указывает на группу больных с агрессивным течением заболевания.

Материалы и методы

В анализируемую группу вошел 121 больной РА, подтвержденным по критериям Американской Ассоциации Ревматологов 1988 года. Среди них 12 (10%) составили мужчины и 109 (90%) женщины, средний возраст обследованных больных был $50,4 \pm 12,2$ лет (от 19 до 77 лет). Основные клинические характеристики исследуемой группы больных представлены в таблице 1. Длительность заболевания до момента включения в исследование составила в среднем $8,2 \pm 8,0$ лет (от 0,25 до 32,0 лет). В группе обследованных больных серопозитивные больные составили 67,8%.

Проводилось комплексное обследование больных, включающее общеклинические, инструментальные и лабораторные методы. Были зафиксированы анамнестические и объективные данные относительно длительности и истории заболевания, стадии и выраженности суставной деструкции, клинических параметров активности и внесуставных проявлений заболевания, а также зарегистрированы основные лабораторные показатели и проводимая терапия.

Для объективизации суставного синдрома подсчитывалось количество припухших суставов, осуществлялась комплексная оценка с помощью суставного индекса Ричи (Ritchie) [24].

Для уточнения степени инвалидизации пациентов оценивались параметры функциональной недостаточности суставов (ФНС) и качества жизни. Для этого использовались стандартные опросники для расчета функционального индекса Ли (Lee) и функционального индекса Health Assessment Questionnaire (HAQ) [23].

Контрольную группу составили 46 пациентов. Из них 21 человек страдала первичным распространенным остеоартрозом (ОА), проявления вторичного синовита отмечались у 3-х больных, и не служили критериями для исключения из исследования. Женщины составили 90% больных ОА, средний возраст $55,3 \pm 7,5$ лет. У 24 пациентов были диагностированы заболевания из группы серонегативных спондилоартропатий, включающие 14 больных реактивным артритом (РеА), 6 больных анкилозирующим спондилоартритом и 5 больных псориатическим артритом. В группе больных серонегативными спондилоартропатиями преобладали мужчины, составившие 87,5%. Средний возраст в этой группе составил $42 \pm 6,3$ года.

В сыворотке больных определяли уровни АКА, АПФ и АНФ с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции. Субстратом для определения АКА служили серийные криосрезы средней трети пищевода крысы толщиной 4 мкм, изготовленные по стандартной методике [13]. Для прикрепления срезов к предметным стеклам использовали метод силановой адгезии [11], срезы фиксировали высушиванием. Для улучшения детекции антигена перед нанесением разведений сыворотки ткань в течение 10 минут инкубировалась с 0,5% раствором Tween-100 (ICN Pharm, Inc., США) в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (0,01M, pH 7,2). Лунки

вокруг срезов ткани формировались с помощью карандаша-реппелента (DakoPen, Dako, Дания). В лунки вносилось по 50 мкл стандартных разведений сыворотки с последующей 30 минутной инкубацией во влажной камере. Отмывка в ФСБ длительностью 10 минут позволяла удалить несвязавшиеся сывороточные белки, после чего срезы инкубировались с 30 мкл козьей сывороткой против IgG человека, меченной ФИТЦ. (НИИ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва), разведенной в ФСБ 1:10. После 30 минутной инкубации и отмывки срезы монтировались в глицерин, забуференный ФСБ (10:1, pH 8,2), и результат метода визуализировался под люминесцентным микроскопом (Axioscop-40, Carl Zeiss, Германия) и регистрировалось с помощью CCD видеокамеры и программного обеспечения ВидеоТест Морфология версия 4.0 и ВидеоТест Альбом версия 3.0.

При микроскопии эпителия пищевода при высоком увеличении (x400) отмечается 4 основных типа свечения эпителия: диффузная флюоресценция неороговевающих слоев эпителия, окрашивающие только *stratum basale*, линейная флюоресценция *stratum corneum*, гранулярная флюоресценция *stratum corneum*. Линейная флюоресценция *stratum corneum* многослойного плоского эпителия при разведении сыворотки 1:10 указывала на присутствие в исследуемой сыворотке АКА и учиты-

Табл.1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ РА

Показатели	Количество больных (n=121)	В % к общему количеству
Клинико-анатомическая характеристика:		
– суставная форма	36	29,7
– суставно-висцеральная форма	85	70,3
Клинико-иммунологический вариант РА:		
– серопозитивный	82	67,8
– серонегативный	39	32,2
Степень активности РА:		
I – низкая	20	16,5
II – средняя	54	44,6
III – высокая	47	38,8
Рентгенологическая стадия:		
- I	22	18,0
- II	34	28,5
- III	37	30,0
- IV	28	23,5
Функциональная недостаточность суставов, степень:		
- I	36	30,0
- II	69	56,8
- III	16	13,2

валась в качестве положительного результата (рис. 1 на 2-ой стр. обложки).

Для выявления АПФ использовались клетки буккального эпителия здорового донора [22], полученные с помощью соскоба эпителия стерильным шпателем со внутренней поверхности щеки. Клетки дважды отмывали в 10 мл ФСБ, осаждали центрифугированием 800g, однократно отмывали в 0,5% раствором Tween-100, вносили в лунки предварительно силанизированного предметного стекла и фиксировали высушиванием. По 20 мкл стандартных разведений сыворотки в ФСБ, начиная от 1:5, инкубировали в течении 1 часа в лунка предметного стекла после чего стекла отмывали в ФСБ 5 мин. Клетки инкубировались с антисывороткой против IgG человека, отмывались в ФСБ и монтировались в забуференный глицерин (рН=8,3) для последующей микроскопии. Для фонового окрашивания цитоплазмы использовался альбумин, меченный родамином (НИИ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва), для окрашивания ядра использовался иодид пропидия (Sigma Chem., США). Флюоресценция крупных округлых гранул, локализованных вокруг ядра клетки рассматривалась как свидетельство наличия специфических аутоантител (рис. 2 на 2-ой стр. обложки).

Для выявления антинуклеарного фактора (АНФ), а также других разновидностей аутоантител (антимитохондриальных, антигладкомышечных) использовалась стандартная методика непрямой иммунофлюоресценции с использованием почки крысы в качестве субстрата [1]. Титр АНФ, равный или превышающий 1:20 признавался положительным. Для определения титра РФ использовался ме-

тод латекс-агглютинации с помощью наборов фирмы Сурпресс (Бельгия).

При проведении лабораторного обследования опытные и контрольные сыворотки предварительно шифровались и в момент оценки результатов врач-лаборант не имел данных о принадлежности сыворотки к той или иной группе. Шифры вскрывались непосредственно перед обработкой данных. В каждую постановку включались положительные и отрицательные контроли.

Чувствительность и специфичность исследуемых показателей рассчитывалась по стандартным формулам. Для математической обработки использовалась программа MS Excel и пакет статистических программ Statistica. Для статистического анализа использовался непараметрический критерий Манна-Уитни, дисперсионный анализ осуществлялся с помощью метода MANOVA.

Результаты

Для оценки частоты обнаружения аутоантител в исследуемых группах нами было проведено серологическое обследование больных. Данные о встречаемости аутоантител в исследуемых группах больных приведены в таблице 2, а соответствующие им параметры чувствительности и специфичности антифилаггриновых антител и РФ приведены в таблице 3.

Для проверки предположения о большей диагностической значимости антифилаггриновых антител на ранних этапах заболевания нами было сформировано 2 группы больных РА. В первую группу были включены больные, страдавшие этим заболеванием

Табл. 2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ВСТРЕЧАЕМОСТЬ АУТОАНТИТЕЛ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ РЕВМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Ноз. форма	n	РФ	АКА	АПФ	АКА+АПФ	АНФ
РА	121	67,8%	43,6%	52,9%	60,0%	21,2%
ОА	21	23,8%	0%	9,5%	9,5%	23,8%
АСА	6	0%	0%	0%	0%	0%
ПсА	5	0%	0%	0%	0%	20%
РеА	14	7,1%	0%	7,1%	7,1%	28,5%

Примечания: РА – ревматоидный артрит; ОА – остеоартрит; АСА – анкилозирующий спондилоартрит; ПсА – псориатический артрит; РеА- реактивный артрит

Табл. 3. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ АНТИФИЛАГГРИНОВЫХ АНТИТЕЛ ПРИ РА

Аутоантитела	РФ	АКА	АПФ	АКА+АПФ
Чувствительность	67,8%	43,6%	52,9%	58,9%
Специфичность	86,9%	100%	93,5%	93,5%

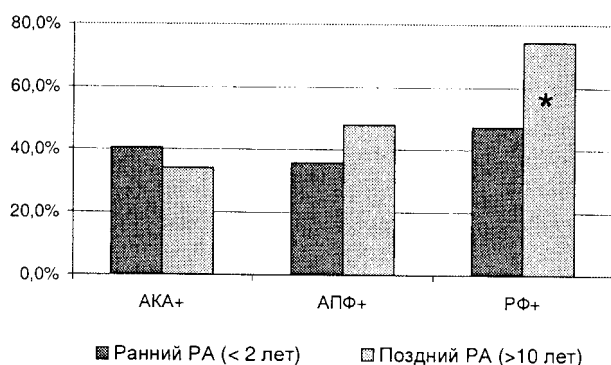


Диаграмма 1. Встречаемость аутоантител в зависимости от длительности заболевания РА. * $p < 0,05$ по сравнению с ранним РА

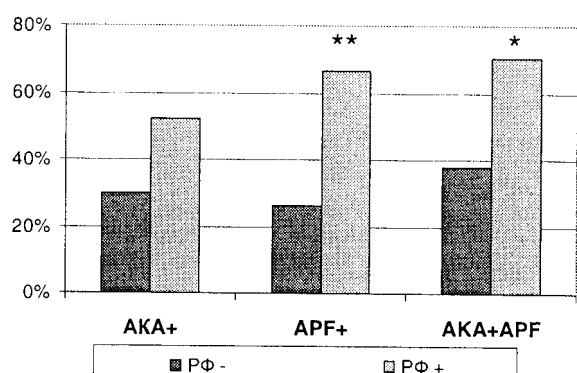


Диаграмма 2. Встречаемость антифилаггриновых антител у больных РА в зависимости от серопозитивности по РФ.

* $p < 0,05$ по сравнению с серонегативными по соответствующему маркеру; ** $p < 0,01$ по сравнению с серонегативными по соответствующему маркеру

в течение не более 2-х лет. Именно этот временной интервал в настоящее время трактуется большинством авторов как "ранний" ревматоидный артрит. Вторую группу составили больные РА, продолжительность которого на момент исследования составила не менее 10 лет. Помимо длительности заболевания, критерием включения в каждую из групп был достоверный диагноз РА, установленный в соответствии с классификационными критериями Американской Ассоциации Ревматологов 1988 года. Численность больных первой группы составила 42, второй группы – 48 пациентов. В каждой группе оценивалась частота встречаемости диагностических титров РФ, АКА и АПФ. Полученные результаты отражены на диаграмме 1.

Особый интерес представляет поиск специфических лабораторных маркеров серонегативного клинико-иммунологического варианта РА. Нами проведен анализ частоты встречаемости АКА и АПФ при данной форме заболевания. Результаты представлены на диаграмме 2.

Для уточнения клинической значимости аутоантител нами было проведено сопоставление клинических и лабораторных параметров, характеризующих активность заболевания, и серологический статус пациентов. Результаты суммированы в таблице 4. Кроме приведенных статистических закономерностей, в зависимости от серопозитивности больных наблюдалась зависимость между количественными характеристиками суставного синдрома и титрами

Табл. 4. КЛИНИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ АКТИВНОСТИ РА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ АКА, АПФ И РФ (M±SD)

	АКА		АПФ		РФ	
	+	-	+	-	+	-
Индекс Ritchie, баллы	50,1±28,6*	36,6±28,5	45,4±29,0	38,6±28,9	44,2±29,1	43,7±31,8
Кол-во припухших суставов	13±6**	7±5	11±6*	8±7	10±6	9±6
Длительность утренней скованности (часы)	2,57±1,7*	1,8±1,5	2,34±1,8	1,9±1,5	2,32±1,7	2,07±1,5
Наличие лихорадки	43,5%	32,2%	36,8%	39,6%	38,8%	43,5%
Похудание	52,1%*	32,2%	43,8%	37,7%	46,3%	38,4%
Периферическая лимфоаденопатия	52,2%*	29,0%	42,1%	35,8%	40,3%	41,0%
СОЭ, мм/ч	39,3±12,9*	34,4±15,5	37,7±14,3	35,4±15,1	39,6±13,2	35±15,4
ЦИК, усл. ед	147,8±62,4**	121,3±79,9	147,9±71,6**	116,7±72,5	156,3±78,5***	95±38,5
СН ₅₀ усл. ед	212,9±85,4	234,8±87,3	204,9±81,8*	243,6±86,1	208,4±91,6*	252,5±70,6

Примечания: * $p < 0,05$ в сравнении с серонегативными по соответствующему антителу; ** $p < 0,01$ в сравнении с серонегативными по соответствующему антителу

АКА. Так, коэффициент корреляции между титром АКА и суставным индексом Ritchie составил 0,22 ($p < 0,05$), титром АКА и количеством припухших суставов 0,46 ($p < 0,001$), а между титром АКА и про-

должительностью утренней скованности 0,28 ($p < 0,01$). Коэффициент корреляции между титром АКА и уровнем ЦИК составил 0,26 ($p < 0,01$), титром РФ и уровнем ЦИК 0,49 ($p < 0,01$).

Табл. 5. ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ВЛИЯНИЯ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ НА ФНС (HAQ) С ПОМОЩЬЮ ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА (MANOVA)

Эффект	Kj, %	P
АПФ	1,842756476	0,124489
АКА	8,489691425	0,001274
РФ	12,11587065	0,000143
АПФ+АКА	2,751808612	0,061329
АПФ+РФ	3,505462468	0,035188
АКА+РФ	3,22482834	0,043162
АПФ+АКА+РФ	0,659888175	0,355872
Контролируемые факторы	32,59030615	-
Неконтролируемые факторы и ошибки	67,40969385	-
Все факторы	100	-

Примечания: Kj, % - удельный вклад фактора в определение исхода заболевания; p - статистическая достоверность

Табл. 6. ВСТРЕЧАЕМОСТЬ АУТОАНТИТЕЛ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К БАЗИСНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Показатель	Больные, не получавшие лечения (n=44)	Базисная терапия с эффектом (n=19)	Базисная терапия без эффекта (n=29)
Встречаемость РФ (% пациентов)	25/44 (56,8 %)	6/12 (50 %)	20/29 (69%)
Встречаемость АКА (%)	16/43 * (37,2%)	6/19 ** (31,6%)	17/27 *** (63%)
Встречаемость АПФ (%)	17/44 (38,6%)	12/19 (63,2%)	19/23 (67,8%)
Встречаемость АНФ (%)	11/43 (25,6%)	3/19 (15,89%)	7/28 (25%)

Примечания: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

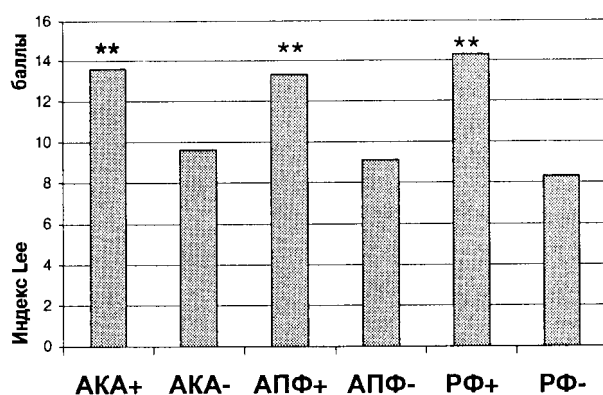


Диаграмма 3. Индекс функциональной недостаточности Ли (Lee) в зависимости от серопозитивности по исследуемым антителам. ** $p < 0,01$ по сравнению с серонегативной группой.

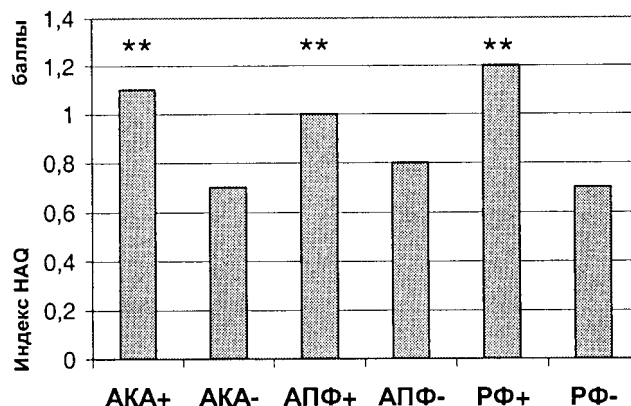


Диаграмма 4. Индекс ФНС HAQ в зависимости от серопозитивности по исследуемым антителам. ** $p < 0,01$ по сравнению с серонегативной группой.

Для оценки прогноза РФ в зависимости от серопозитивности по антифилаггриновым антителам и РФ нами была исследована степень ФНС. Этот показатель комплексно оценивает различные составляющие физического состояния, и позволяет судить о степени утраты пациентом трудоспособности и возможности самообслуживания, таким образом представляя суррогатный маркер исхода РА. Функциональная недостаточность суставов была исследована с помощью интегральных индексов Ли и НАQ. Данные о связи антительного статуса и индексов ФНС представлены на диаграммах 3 и 4.

Обнаруживалась прямая коррелятивная взаимосвязь между степенью ФНС и титрами аутоантител. Так, титр АКА значимо ($p < 0,05$) положительно коррелировал с функциональными индексами Lee ($r = 0,21$) и НАQ ($r = 0,26$). Коэффициенты корреляции между титрами РФ и индексами Lee и НАQ составили соответственно 0,35 и 0,37 при статистической значимости результата $p < 0,001$. Титр АПФ достоверно коррелировал только со значением индекса функциональной недостаточности Lee, коэффициент корреляции составил 0,23 при $p < 0,05$.

Функциональная недостаточность суставов является интегральным показателем, на величину которого влияют длительность заболевания, эффективность проводимой терапии, характеристики активности заболевания, параметры суставного синдрома, и другие факторы. Поэтому особый интерес представляла оценка влияния РА-специфических аутоантител на выраженность ФНС, поскольку эти факторы относительно стабильны, количественно измеряемы, могут быть определены на ранних этапах заболевания. Все это может позволить использовать профиль РА-специфических аутоантител для прогнозирования неблагоприятного исхода заболевания.

В связи с этим нами проведена статистическая оценка линейных эффектов и эффектов взаимодействия серопозитивности по АКА, АПФ и РФ на степень ФНС. Для решения указанной задачи был проведен дисперсионный анализ (MANOVA). Результаты представлены в таблице 5. Данные дисперсионного анализа указывают, что РФ и АКА являются основными факторами плохого прогноза и определяют развитие деструкций у больных РА.

У определенной части больных РА, составляющей 10-20% пациентов [30], несмотря на использование современных режимов базисной терапии, сохраняется высокая клиническая и лабораторная активность заболевания, прогрессирует деструкция суставов. У этих пациентов отмечается так называемая резистентность к базисной терапии, которая требует раннего назначения более агрессивных режимов лечения. Прогнозирование терапевтической резистентности с помощью серологических маркеров может стать важным методом ведения пациентов и предотвращения их ранней инва-

лидации.

Для оценки резистентности к проводимой терапии в зависимости от серологического статуса РА была отобрана группа больных РА ($n = 29$), характеризующаяся множественной лекарственной устойчивостью. Критериями включения в группу резистентных больных служили:

1) отсутствие эффекта от последовательного применения 3-х и более длительно действующих антиревматических препаратов, одним из которых является метотрексат;

2) сохранение клинико-лабораторной активности в течение последних 6 месяцев.

Группу контроля составили 28 пациентов с удовлетворительным эффектом от проводимой базовой терапии и больные не получавшие лечения ($n = 44$). Данные по обнаружению аутоантител в зависимости от резистентности к базисным препаратам представлены в таблице 6.

Обсуждение

Агрессивность и скорость протекания РА широко варьирует. Общеизвестно, что это заболевание весьма гетерогенно – оно может протекать очень медленно, даже за десятилетия не приводя к значимым деструкциям у одних больных, в то время как анкилоз суставов и инвалидизирующие деструкции развиваются у других за несколько первых лет заболевания. Развитие того или иного варианта протекания РА связано с генетической предрасположенностью [30], отражающейся на гистологических и иммунопатогенетических особенностях заболевания [16]. Таким образом, серологический статус больного может определять активность заболевания и указывать на его прогноз [27]. С другой стороны, агрессивные формы заболевания требуют ранней активной терапии, для назначения которой, в свою очередь, необходимо максимально быстро установить правильный диагноз. В этом отношении, использование дополнительных серологических маркеров, способных восполнить недостатки РФ, является одной из принципиальных задач.

Со времени первого описания АКА [32] при ревматоидном артрите, их диагностическое значение неоднократно подтверждалось. Встречаемость АКА у больных РА по данным разных авторов составляет 16% [7], 20% [18], 29% [9], 44% [27], 58% при серопозитивном и 41% при серонегативном [20], при специфичности близкой к 100%. АПФ обнаруживается несколько чаще, и его встречаемость составляет 45-61% [26, 29]. У обследованных нами пациентов, встречаемость АКА и АПФ при РА колеблется около 50%, причем антитела в большом проценте случаев выявляются совместно. Так как данные антитела относятся к одному семейству антифилаггриновых антител, объективным показателем частоты их обнаружения является общая частота встречаемости АКА и АПФ,

составляющая 60%. Совместная встречаемость АКА и АПФ приближается к встречаемости РФ в исследуемой группе больных РА, составляющей 67,8%. Специфичность, АКА и АПФ как по отдельности так и совместно, превосходит таковую для РФ. Этот факт указывает на необходимость совместного определения АКА и АПФ, что позволяет повысить диагностическую чувствительность метода, не теряя его специфичности. Хотя АПФ был обнаружен у пациентов группы контроля среди больных с ОА и РеА, однако у них отмечались низкие титры аутоантител. В нашей группе у одного из больных с высоким титром АПФ, который был первоначально включен в группу РеА, в процессе наблюдения произошла трансформация клинической картины заболевания с развитием типичного РА. Таким образом, выявление АПФ за 0,5 года до постановки окончательного диагноза способствовало диагностике РА, что еще раз подчеркивает высокую значимость антифилаггриновых аутоантител в диагностике раннего РА [4]. Этот факт заслуживает особого внимания, так как РФ достоверно реже отмечается в дебюте заболевания, в то время как антифилаггриновые антитела с одинаковой частотой отмечаются как в начале, так и на поздних стадиях РА (см. диаграмму 1).

Встречаемость АНФ у больных РА и групп контроля колеблется в пределах 20%, что соответствует его встречаемости при аутоиммунных заболеваниях [2]. По-видимому, образование антинуклеарных антител у данных пациентов является вторичным феноменом по отношению к иммуновоспалительному процессу в суставах. Известно, что в условиях воспаления происходит высвобождение поврежденными клетками скрытых аутоантигенов, могущих запускать аутоантителообразование. В отличие от специфических для РА аутоантител АНФ не имеет самостоятельного клинического значения и не коррелирует с клинико-лабораторными параметрами РА (данные не приведены).

В литературе указывается на независимость АКА от других серологических маркеров. Так АКА могут встречаться как при серопозитивном, так и серонегативном РА, и не коррелируют с содержанием РФ [5,10], хотя при серопозитивном РА антифилаггриновые антитела встречаются несколько чаще [20]. В нашей работе мы приходим к схожим выводам, так как в группе серонегативных больных антитела отмечаются в 38% случаев. Это позволяет использовать АКА и АПФ для диагностики серонегативных форм заболевания.

Вопрос о прогностической роли антифилаггриновых антител в литературе окончательно не решен. Хотя существует значительное количество литературных данных об отсутствии значимых корреляций между АКА, АПФ и другими представителями семейства и степенью суставной деструкции, однако данные ряда проспективных исследований, опубликованные сравнительно недавно, указывают на вы-

сокую частоту суставных деструкций у больных с диагностическими титрами аутоантител [6, 28].

Мы установили, что, в целом, у больных с АКА и АПФ заболевание протекает с большей активностью. Группа больных РА с АКА характеризовалась достоверно более высокими значениями всех исследованных показателей, характеризующих тяжесть суставного синдрома, ряда внесуставных проявлений заболевания, а также такого важного лабораторного показателя активности заболевания как СОЭ. Больные с АПФ имели большее число припухших суставов по сравнению с больными без аутоантител. Данные закономерности сохраняются при анализе титров аутоантител, которые положительно коррелируют с параметрами активности заболевания. Надо отметить, что АКА даже превосходят РФ по выраженности клинико-лабораторных корреляций, и, таким образом, представляют важный параметр активности заболевания.

При оценке влияния серологического статуса на исходы РА нами было показано, что присутствие в сыворотке больных РА диагностических титров аутоантител сопровождалось достоверно более высокими значениями функциональных индексов Ли и НАQ. Титры аутоантител прямо коррелировали с тяжестью инвалидизации больных. Эти данные позволяют учитывать профиль РА-специфических аутоантител для прогнозирования неблагоприятного исхода заболевания. Эти закономерности были подтверждены проведенным дисперсионным анализом. Наибольшее влияние на степень дисперсии индекса НАQ среди специфических аутоантител оказывают РФ и АКА. Степень их влияния значима и сопоставима. Таким образом, оба этих параметра наиболее важны при прогнозировании заболевания и назначения адекватной терапии, способной приостановить развитие суставных деструкций.

Ответ на базисную терапию РА несомненно является важным фактором, определяющим прогноз больных. Нами было показано, что в группе больных, резистентных к 3 и более базисным препаратам, с длительно сохраняющейся активностью, процент больных с АКА практически в два раза превосходит частоту выявления АКА как у больных с положительным эффектом от базисных препаратов, так и у пациентов, не получающих базисной терапии. Это требует учитывать серологический статус пациента при назначении лечения.

Таким образом, АКА и АПФ являются чувствительным и специфичным маркером РА. Их совместное определение предпочтительно, поскольку позволяет повысить диагностическую чувствительность. Наиболее целесообразным представляется использование антифилаггриновых антител в комплексе диагностических мероприятий при "раннем" РА для дифференциальной диагностики суставного синдрома неясного генеза, поскольку в дебюте заболевания их чувствительность приближается к таковой РФ. Антифилаггриновые антитела также

могут быть использованы как вспомогательный диагностический маркер серонегативного РА. Кроме того, АКА и АПФ отмечаются у пациентов РА с высокой активностью заболевания, резистентностью к базисным препаратам и худшим прогнозом. Выявление этих антител в клинике может служить основанием для более активной терапии таких больных для предупреждения развития суставных эрозий и системных проявлений.

Благодарности

Авторы выражают благодарность ООО Карл Цейсс (Carl Zeiss) за любезно предоставленный люминесцентный микроскоп Аxiоссop-40, что сделало возможным проведение данной работы, и, персонально, представителя отд. МИКРО в Санкт-Петербурге к.т.н. Егорову О.В. и Ковалеву Е.С. за консультации и личную поддержку.

Также благодарим руководство ООО ВидеоТест, Системы Анализа Изображений (Санкт-Петербург) за предоставленное программное обеспечение и техническую поддержку.

Список литературы

1. Лапин С.В., Тотолян А.А. Антиядерные антитела: Лабораторные тесты и диагностическое значение // Медицинская иммунология – 2001. – Т.3 – №1. – С.35-50.
2. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологические тесты в нефрологии // Нефрология – 2002. – Т.6. – №. 3. – С.79-86.
3. Маслянский А.Л., Лапин С.В., Иливанова Е.П., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Антифилаггриновые антитела – новый иммунологический маркер ревматоидного артрита. // Сборник “Актуальные проблемы ревматологии” Материалы 2ой Северо-Западной научно-практической конференции по ревматологии. 26-28 сентября 2002. – Петрозаводск., 2002. – С. 98.
4. Aho K, Palosuo T, Lukka M, Kurki P, Isomaki H, Kautiainen H, von Essen R. Antifilaggrin antibodies in recent-onset arthritis // Scand J Rheumatol – 1999. – Vol.28. – P.113-116.
5. Aho K, von Essen R, Kurki P, Palosuo T, Heliovaara M. Antikeratin antibody and antiperinuclear factor as markers for subclinical rheumatoid disease process // J Rheumatol – 1993. – Vol.20. – P.1278-1281.
6. Bas S, Genevay S, Meyer O, Gabay C. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis // Rheumatology – 2003. – Vol. 42. – P. 677-80.
7. Boki KA, Kurki P, Holthofer H, Tzioufas AG, Drosos AA, Moutsopoulos HM. Prevalence of antikeratin antibodies in Greek patients with rheumatoid arthritis. A clinical, serologic, and immunogenetic study // J Rheumatol – 1995. – Vol.22. – P.2046-2048.
8. Egeskjold EM, Hoyeraal HM, Permin H, Wiik A. Immunoglobulins, anti-IgG antibodies and antinuclear antibodies in paired serum and synovial fluid samples. A comparison between juvenile and adult rheumatoid arthritis // Scand J Rheumatol – 1985. – Vol.14. – P.51-57.
9. Forslin K, Vincent C, Serre G, Svensson B. Antifilaggrin autoantibodies in early rheumatoid arthritis // Scand J Rheumatol – 2000. – Vol.29. – P.320-322.
10. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, Hoxworth J, Yarboro C, Smolen JS, Steiner G, Rosen A, Zhang C, Menard HA, Zhou ZJ, Palosuo T, Van Venrooij WJ, Wilder RL, Klippel JH, Schumacher HR Jr, EI-Gabalawy HS. Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset // Arthritis Res – 2000. – Vol.2. – P.236-243.
11. Henderson C. Aminoalkylsilane: An Inexpensive simple preparation for slide adhesion // Jour Histo-pathol – 1989. – Vol.12. – P.123-124.
12. Jarvis JN, Wang W, Moore HT, Zhao L, Xu C. In vitro induction of proinflammatory cytokine secretion by juvenile rheumatoid arthritis synovial fluid immune complexes // Arthritis Rheum – 1997. – Vol.40. – P.2039-2046.
13. Jounson GD, Carvalho A, Holoborow EJ, Goddard DH, Russel G. Antiperinuclear factor and antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis // Ann Rheum Dis – 1981. – V.40. – PP. 263-266.
14. Khalkhali-Ellis Z, Bulla GA, Schlesinger LS, Kirschmann DA, Moore TL, Hendrix MJ. C1q-containing immune complexes purified from sera of juvenile rheumatoid arthritis patients mediate IL-8 production by human synoviocytes: role of C1q receptors // J Immunol – 1999. – Vol.163. – P.4612-4620.
15. Kirstein H, Hjarvard K, Hansen TM. Antikeratin antibodies in synovial fluid in rheumatoid arthritis // APMIS – 1989. – Vol.97. – P.185-189.
16. Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R, Cylwik B, Skowronski J, Chwiecko J. Serum cytokines in different histological variants of rheumatoid arthritis // J Rheumatol – 2001. – Vol.28. – P.1211-1217.
17. Kurki P, Aho K, Palosuo T, Heliovaara M. Immunopathology of rheumatoid arthritis. Antikeratin antibodies precede the clinical disease // Arthritis Rheum – 1992. – Vol.35. – P.914-917.
18. Kurki P, von Essen R, Kaarela K, Isomaki H, Palosuo T, Aho K. Antibody to stratum corneum (antikeratin antibody) and antiperinuclear factor: markers for progressive rheumatoid arthritis // Scand J Rheumatol – 1997. – Vol.26. – P.346-349.
19. Masson-Bessiere C, Sebbag M, Durieux JJ, Nogueira L, Vincent C, Girbal-Neuhauser E, Durroux R, Cantagrel A, Serre G. In the rheumatoid pannus, antifilaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and constitute a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum // Clin Exp Immunol – 2000. – Vol.119. – P.544-552.
20. Meyer O, Combe B, Elias A, Benali K, Clot J, Sany J, Eliaou JF. Autoantibodies predicting the out-

come of rheumatoid arthritis: evaluation in two subsets of patients according to severity of radiographic damage // *Ann Rheum Dis* – 1997. – Vol.56. – P.682-685.

21. Meyer O, Fabregas D, Cyna L, Ryckewaert A. Anti-keratin antibodies. A marker of progressive rheumatoid arthritis // *Rev Rhum Mal Osteoartic* – 1986. – Vol.53. – P.601-605.

22. Nienhuis RLF, Mandema E (1964) A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis. The anti-perinuclear factor // *Ann Rheum Dis* – 1964. – Vol. 23. – P. 302-305.

23. Pincus T. Toward a multidimensional Health Assessment Questionnaire (MDHAQ): assessment of advanced activities of daily living and psychological status in the patient-friendly health assessment questionnaire format // *Arthritis Rheum.* - 1999. – Vol.42. – P.2220-2230.

24. Ritchie D.M., J.A. Boyle, J.M. McInnes Clinical studies with an articular index for the assessment of joint tenderness in patients with rheumatoid arthritis // *QJM.* - 1968. – Vol.37. – P.393-406.

25. Saraux A, Allain J, Guedes C, Valls I, Baron D, Youinou P, Le Goff P. Clinical, laboratory, and radiographic features of rheumatoid arthritis with and without nodules // *Rev Rhum Engl Ed* – 1997. – Vol.64. – P.11-17.

26. Tishler M, Maran R, Langevitz P, Livneh A, Gazit E, Gilburd B, Youinou P, Shoenfeld Y. Antiperinuclear factor—clinical, serological and genetic correlates in Is-

raeli patients with rheumatoid arthritis // *Rheumatol Int.* – 1997. – Vol. 17 – P. 141-143.

27. Vasiliauskiene L, Wiik A, Hoier-Madsen M. Prevalence and clinical significance of antikeratin antibodies and other serological markers in Lithuanian patients with rheumatoid arthritis // *Ann Rheum Dis* – 2001. – Vol.60. – P.459-466.

28. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, Ruzickova S. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis // *Ann Rheum Dis* – 2003. – Vol. 62. – P. 427-430.

29. Vittecoq O, Pouplin S, Krzanowska K, Jouen-Beades F, Menard JF, Gayet A, Daragon A, Tron F, Le Loet X. Rheumatoid factor is the strongest predictor of radiological progression of rheumatoid arthritis in a three-year prospective study in community-recruited patients // *Rheumatology* – 2003. – Vol.42 – P. 939-946.

30. Weyand CM, Klimiuk PA, Goronzy JJ. Heterogeneity of rheumatoid arthritis: from phenotypes to genotypes // *Springer Semin Immunopathol* – 1998. – Vol.20. – P. 5-22.

31. Youinou P, Serre G. The antiperinuclear factor and antikeratin antibody system // *Int Arch Allergy Immunol* -1995. – Vol.107. – P.508-518.

32. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis // *Br Med J* – 1979. – Vol.2. – P.97-99.

поступила в редакцию 20.07.2003

принята к печати 16.09.2003