

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ АУТОАНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ И ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Райхельсон К.Л.¹, Мительглик У.А.¹, Зубарева А.С.², Дунаева Н.В.³,
Булгакова Т.В.⁴, Лапин С.В.⁴, Барановский А.Ю.¹, Тотолян Арег А.⁵

¹ ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Выявление аутоантител является одним из основных критериев диагностики аутоиммунного гепатита (АИГ) и первичного билиарного цирроза (ПБЦ). Проведено определение основных аутоантител АНА, АГМА, АМА, а также АНЦА с помощью реакции непрямой иммунофлуоресценции (ИРИФ) у 191 больного, в том числе с АИГ 1 типа – 42, с ПБЦ – 39, с перекрестным синдромом АИГ/ПБЦ – 20, а также 90 больных с хроническим гепатитом С (ХГС). Выявление аутоантител против антигенов АМА-М2 (PDC), АМА-М2-3Е, PML, Sp100, gp210, SSA-Ro52, SLA/LP, LC-1 методом иммуноблота выполнялось 53 больным (с АИГ – 19, с ПБЦ – 23, с АИГ/ПБЦ – 11). АНА были обнаружены у 88,1% больных с АИГ-1, 89,7% – с ПБЦ, 100% – с АИГ/ПБЦ, при последнем наблюдались наиболее высокие титры АНА. При ХГС АНА обнаружены у 23% обследованных, АГМА у 2%.

АГМА и АНЦА встречались только при моноварианте АИГ (61,9% ($p < 0,001$) и 35,7% [$p < 0,01$]). Антитела к SLA/LP выявлялись у 15% больных с АИГ, преимущественно при отрицательных АНА и АГМА. PDC/АМА-М2 выявлялись у всех больных с ПБЦ и АИГ/ПБЦ, в то время как АМА только у 84,6% больных ПБЦ. Антитела к антигену М2-3Е обнаруживались только при ПБЦ, в том числе при его перекресте с АИГ. Частота выявления антител к gp210, SSA-Ro52 и PML была сопоставимой во всех группах. В нашем исследовании не подтвердилось мнение о анти-gp210 и анти-Sp100 как высокоспецифичных маркерах для ПБЦ.

Ключевые слова: лабораторная диагностика, аутоантитела, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, хронический гепатит С

Адрес для переписки:

Райхельсон Карина Леонидовна
к.м.н., доцент, доцент кафедры
гастроэнтерологии и диетологии
ГБОУ ВПО «Северо-Западный
государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова»
191015, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Кирочная, 41.
Тел./факс: 8 (812) 235-10-93.
E-mail: kraikhelson@mail.ru

Авторы:

Райхельсон К.Л. – к.м.н., доцент кафедры гастроэнтерологии
и диетологии ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный
медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург

Мительглик У.А. – ассистент кафедры гастроэнтерологии
и диетологии ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный
медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург

Зубарева А.С. – врач, СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница
№ 31», Санкт-Петербург

Дунаева Н.В. – к.м.н., старший научный сотрудник, ФГБУ «НИИ
гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург

Булгакова Т.В. – к.м.н., старший научный сотрудник, ГБОУ ВПО
«Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Лапин С.В. – к.м.н., старший научный сотрудник, ГБОУ ВПО «Санкт-
Петербургский государственный медицинский университет им.
академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Барановский А.Ю. – д.м.н., профессор, ГБОУ ВПО «Северо-Западный
государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Минздрава России, Санкт-Петербург

Тотолян Арег А. – д.м.н., профессор, член-корреспондент
РАМН, ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»,
Санкт-Петербург

Поступила 26.02.2013

Отправлена на доработку 20.04.2013

Принята к печати 27.04.2013

INCIDENCE OF AUTOANTIBODIES IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE LIVER DISEASES AND CHRONIC HEPATITIS C

Raikhelson K.L.^a, Mitelglik U.A.^a, Zubareva A.S.^b, Dunaeva N.V.^c,
Bulgakova T.V.^d, Lapin S.V.^d, Baranovsky A.Yu.^a, Totolian Areg A.^e

^a North-Western I. Mechnikov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg Municipal Clinical Hospital No. 31, St. Petersburg, Russian Federation

^c Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

^d St. Petersburg I.P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^e L. Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Detection of circulating autoantibodies provides valuable diagnostic criteria for autoimmune hepatitis (AIH) and primary biliary cirrhosis (PBC). In this study, a panel of autoantibodies (ANA, ASMA, AMA) and ANCA was determined by indirect immunofluorescence assay in 191 patients, including those with AIH type 1 (n = 42), with PBC (n = 39), with overlapping AIH-1/PBC syndrome (n = 20), and 100 patients with viral hepatitis C (HCV). Autoantibodies against PDC/AMA-M2, M2-3E, PML, Sp100, gp210, SSA-Ro52, SLA/LP, LC-1 were detected by means of immune blotting in 53 patients with autoimmune liver diseases (AIH, 19; PBC, 23; AIH/PBC, 11). ANA were detected in 88.1% of AIH-1 patients, 89.7% of PBC cases, and 100% of combined AIH-1/PBC syndrome, with highest ANA titers observed in the latter group. In patients with HCV, ANA were detected in 20%, and ASMA in 2% of the cases.

ASMA and ANCA were found in monovariant AIH only (61.9% for ASMA, $p < 0.001$), and 35.7% for ANCA ($p < 0.01$). Anti-SLA/LP were detected in 15% of AIH patients, mostly with negative ANA and ASMA. PDC/AMA-M2 were identified in all patients with PBC and AIH-1/PBC, whereas AMA was detectable in 84.6% of PBC patients. Anti-M2-3E antibodies were found only in patients with PBC including those with an overlap syndrome. Occurrence of detectable antibodies to gp210, Sp100, PML and SSA-Ro52 was similar in all groups. In our study, we have not confirmed a view that anti-gp210 and anti-Sp100 antibodies are highly specific for primary biliary cirrhosis. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 4, pp 351-360)

Keywords: laboratory diagnostics, autoantibodies, autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, chronic hepatitis C

Address for correspondence:

Raikhelson Karina L.
MD, PhD, Associated Professor, Department of
Gastroenterology and Dietology, North-Western
I. Mechnikov State Medical University
191015, Russian Federation, St. Petersburg,
Kirochnaya str., 41.
Phone/fax: 7 (812) 235-10-93.
E-mail: kraikhelson@mail.ru

Authors:

Raikhelson K.L., MD, PhD (Medicine), Associated Professor,
Department of Gastroenterology and Dietology, North-Western
I. Mechnikov State Medical University, St. Petersburg
Mitelglik U.A., MD, Assistant Professor, Department of
Gastroenterology and Dietology, North-Western I. Mechnikov State
Medical University, St. Petersburg
Zubareva A.S., MD, Physician, St. Petersburg Municipal Clinical
Hospital No. 31, St. Petersburg
Dunaeva N.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research
Institute of Influenza, St. Petersburg
Bulgakova T.V., PhD (Medicine), St. Petersburg I.P. Pavlov State
Medical University, St. Petersburg
Lapin S.V., MD, PhD (Medicine), St. Petersburg I.P. Pavlov State
Medical University, St. Petersburg
Baranovsky A.Yu., MD, PhD (Medicine), Professor, North-Western
I. Mechnikov State Medical University St. Petersburg
Totolian Areg A., MD, PhD (Medicine), Professor, Corresponding
Member, Russian Academy of Medical Sciences, L. Pasteur Institute
of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg

Received 26.02.2013

Revision received 20.04.2013

Accepted 27.04.2013

Введение

Аутоиммунные заболевания печени (АИЗП) – гетерогенная группа, включающая в себя аутоиммунный гепатит (АИГ), первичный билиарный цирроз (ПБЦ), первичный склерозирующий холангит (ПСХ) и ПСХ, поражающий мелкие протоки, а также ряд неклассифицируемых состояний [11].

Критерии диагностики основных видов АИЗП хорошо разработаны [8, 11, 18, 26]. Но в ряде случаев наблюдаются проявления сразу двух нозологических форм из этой группы. Для описания таких состояний используют термин «перекрестный синдром» [1, 5, 18]. Чаще всего выявляется перекрестный синдром АИГ/ПБЦ (2,1-19% случаев ПБЦ) [11]. Отношение к термину «перекрестный синдром» неоднозначно. Он вошел в рекомендации ведущих гепатологических ассоциаций [18], в то же время Международная группа по изучению аутоиммунного гепатита (International Autoimmune hepatitis group, IAIGH) требует разделять больных с АИЗП по основным диагнозам, а в спорных случаях говорить о холестатическом заболевании с чертами АИГ [11].

Спектр аутоантител, выявляемых при АИГ, широк: антинуклеарные антитела (АНА), антигладкомышечные антитела (АГМА), антитела к фибриллярному актину (F-актину), антитела к микросомам печени и почек типа 1 (анти-LKM-1), антитела к печеночному цитозольному антигену типа 1 (анти-LC-1), антитела к растворимому антигену печени / поджелудочной железы (анти-SLA/LP) и антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) [11]. АНА, АГМА, анти-SLA/LP и анти-LKM-1 – важнейшие составляющие диагноза АИГ [8, 11]. Основная мишень АНА – нуклеиновые кислоты, белки хроматина ядра, ядрышка, рибонуклеопротеины цитоплазмы клетки, специфичных для АИГ аутоантигенов не выявлено [15, 34]. АНА, выявляемые путем непрямой реакции иммунофлуоресценции (ИРИФ), в отечественной литературе традиционно называют антинуклеарным фактором (АНФ) [3, 4].

АНФ в сочетании с АГМА или изолированно присутствуют у 70-80% больных с АИГ. АГМА направлены против фибриллярного актина и неактивных компонентов цитоскелета [36]. Анти-LKM-1 обнаруживаются преимущественно у детей в 3-4% случаев АИГ, чаще совместно с антителами против LC-1, но в отсутствие АНА и АГМА, а антигеном для них является субъединица 2D6 (CYP2D6) цитохрома P450 [11, 15, 27]. Различия в серологическом профиле обусловили выделение двух типов АИГ: АИГ 1 типа, ха-

рактеризующегося АНА/АГМА-позитивностью, и АИГ 2 типа с наличием анти-LKM-1 [11, 27].

Антитела к SLA/LP – наиболее специфичный маркер АИГ, но выявляются только в 5-10% случаев [9, 10, 11, 23]. Антитела к LC-1 антигену выявляются у 30-50% больных АИГ 2 типа, в половине случаев вместе с анти-LKM-1 [28]. Антитела к асиалогликопротеиновому рецептору (ASGPR), обнаруживаются до 80-90% всех больных АИГ (обоих типов) и могут выявляться вместе с АНА, АГМА и анти-LKM-1 [36, 40].

Приблизительно у 10% больных АИГ не выявляются аутоантитела, но их отсутствие не исключает данный диагноз [11, 24]. Хотя наличие аутоантител является отличительной чертой АИЗП, они могут обнаруживаться при других заболеваниях печени, в том числе при вирусном гепатите [2, 16].

АМА, присутствующие у 95% больных ПБЦ, направлены против антигенов внутренней мембраны митохондрий, преимущественно к E2 субъединице пируватдегидрогеназного комплекса (PDC-E2) [26]. Около 5-10% больных оказываются АМА-негативными [1, 26, 38]. Для повышения чувствительности методик определения АМА-M2 создан антиген M2-3E. АНА, направленные против рибонуклеопротеинов ядра, находят по меньшей мере в трети случаев ПБЦ [18, 22]. Их основными мишенями являются белки порового комплекса ядерной мембраны – gp210 и p62. Антитела против gp210 и ядерного белка Sp100 (анти-Sp100) являются высокоспецифичными для ПБЦ [29]. При ПБЦ определяются и другие маркеры: антитела к ламину В, белкам ядерных гранул Sp100 и белку PML, антицентромерные антитела [32, 37, 43].

Целью исследования явилось определение встречаемости ряда аутоантител при АИГ, ПБЦ, перекрестном синдроме АИГ/ПБЦ и ХГС (хронический гепатит С).

Материалы и методы

Нами был обследован 101 больной с верифицированными диагнозами АИЗП, в том числе с АИГ 1 типа – 42, с ПБЦ – 39, с перекрестным синдромом АИГ/ПБЦ – 20 больных. Больные с АИЗП были преимущественно женщины. Так, доля мужчин при АИГ составила 11,9%, при ПБЦ 2,5%, а при перекрестном синдроме АИГ/ПБЦ мужчин не было. Средний возраст обследуемых составил $40,90 \pm 1,52$ года. Поскольку данное исследование было направлено на дифференциальную диагностику с ПБЦ, в него не включались больные с АИГ 2 типа, более характерным для детей.

В группу сравнения вошло 90 человек с впервые выявленным ХГС, в том числе 41 женщина и 49 мужчин. Больные не имели биохимических и гистологических признаков перекрестного синдрома ХГС/АИГ. До проведения серологического обследования больные не получали противовирусной терапии. Не включались в исследование пациенты с инфекцией, вызванной вирусом иммунодефицита человека, микст-гепатитом С и В.

Диагноз АИГ устанавливался на основании клинических, лабораторных и гистологических данных с помощью упрощенной диагностической системы, рекомендуемой IAHG [21]. Первичный билиарный цирроз диагностировался на основании рекомендаций Американской Ассоциации по Изучению Болезней Печени (AASLD, 2009) [26]. Наличие перекрестного синдрома АИГ/ПБЦ определялось согласно критериям, предложенным O. Chazouilleres и соавт. в 1998 г. [12] и рекомендуемым EASL [18].

Определение патогномоничных аутоантител осуществлялось до начала патогенетической терапии. Определение основных семейств аутоантител (АНА, АГМА, АМА, антитела к LKM-1) – проводилось у всех больных с АИЗП и ХГС. Выявление аутоантител, характерных для аутоиммунных заболеваний печени, направленных против антигенов PDC/AMA-M2, M2-3E, PML, Sp100, gp210, SSA-Ro52, SLA/LP, LC-1, было проведено у 53 больных с АИЗП, в том числе с АИГ – 19, с ПБЦ – 23, с АИГ/ПБЦ – 11.

Для выявления АНФ использовался метод нРИФ с использованием в качестве субстрата клетки перевиваемой клеточной линии аденокарциномы гортани человека HEp-2 (Euroimmun AG, Германия). Для выявления АНЦА использовалась нРИФ на препаратах нейтрофилов человека (Euroimmun AG, Германия). Результат реакции оценивался с помощью флюоресцентного микроскопа (EUROStar, Германия). При обнаружении у больного АНФ описывался тип свечения и проводилось определение конечного титра АНА. Для стандартизации данного метода была использована референтная сыворотка ВОЗ AF/CDC1 с гомогенным типом свечения ядра, которая содержит 100 МЕ/мл, что соответствует разведению сыворотки 1/160. При выявлении АНЦА определялся титр содержания аутоантител, а также тип свечения цитоплазмы клетки: перинуклеарный или цитоплазматический. Положительным считался титр 1:40.

Для выявления АГМА, АМА, LKM использовался метод нРИФ на криосрезах комбинации тканей крысы – желудка, почки и печени (Euroimmun AG, Германия). Результат реакции описывался в виде конечного титра. Выявление АГМА подтверждалось реакцией против гладко-

мышечных компонентов слизистой желудка крысы, стенки сосудов почки и печени. Обнаружение АМА характеризовалось свечением богатых митохондриями структур, таких как слизистая желудка, эпителий проксимальных канальцев почки и центрлобулярных клеток печени. В отличие от АМА при выявлении LKM-антител свечение слизистой желудка не отмечалось. Антитела к антигенам печени, направленные против антигенов PDC/AMA-M2, M2-3E, PML, Sp100, gp210, SSA-Ro52, SLA/LP, LC-1, выявляли с помощью коммерческой тест-системы (производства EUROIMMUN, Германия).

При статистическом анализе использовали лицензионный пакет стандартных статистических программ Prizm 5.0. Для проведения множественных сравнений использовались статистические тесты χ^2 , тест Краскала–Воллиса и тест Дуна. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

Результаты

Частота выявления основных классов антител при АИЗП и ХГС приведена в таблице 1.

В группе вирусного гепатита не было отмечено зависимости между частотой выявления аутоантител, полом больного и генотипом вируса гепатита С. У одной больной с ХГС были обнаружены антитела к LKM-1.

Несмотря на то, что АНА выявлялись у подавляющего большинства больных, типы свечения АНФ значительно отличались в зависимости от заболевания (табл. 2).

Обращает на себя внимание преобладание наиболее неспецифического мелкогранулярного типа свечения АНФ при вирусных гепатитах, в то время как при ПБЦ преобладал цитоплазматический тип. Важно также отметить, что при аутоиммунных заболеваниях печени в одной сыворотке могут отмечаться разные типы свечения. При оценке титров АНФ наиболее высокие показатели отмечались при перекрестном синдроме АИГ/ПБЦ – от 1:640 до 1:20480, в среднем 1:5120. Несколько меньшие титры отмечались при изолированных АИГ и ПБЦ – соответственно, 1:160-1:5120 (в среднем 1:1280) и 1:320-1:20480 (в среднем 1:2560). При вирусных гепатитах титры АНФ не превышали 1:320. Разброс титров АНФ в исследуемых группах приведен на рисунке 1.

Определение антител к другим аутоантигенам печени (PDC/AMA-M2, M2-3E, PML, Sp100, gp210, SSA-Ro52, SLA/LP, LC-1) выполнялось с помощью метода иммуноблота у 53 больных с АИЗП (табл. 3).

ТАБЛИЦА 1. ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ОСНОВНЫХ РАЗНОВИДНОСТЕЙ АУТОАНТИТЕЛ

Вид антител	Характер патологии					Р критерия χ^2
	АИГ N (%)	ПБЦ n (%)	АИГ/ПБЦ n (%)	АИЗП в целом n (%)	ХГС n (%)	
АНФ	37/42 (88,1)	35/39 (89,7)	20/20 (100,0)	92/101 (91,1)	21/90* (23,3)	< 0,05
АГМА	26/42** (61,9)	0/39 (0)	0/20 (0,0)	26/101 (25,7)	2/90 (2,2)	< 0,001
LKM-1	0/42 (0)	0/39 (0)	0/20 (0)	0 (0)	1 (1,1)	р. н.
АМА	0/42** (0,0)	33/39 (84,6)	20/20 (100,0)	53/101 (52,5)	0 (0)	< 0,001
АНЦА	6/24 (35,7)	0/11 (0,0)	0/24 (0,0)	6/59 (10,2)	н. д.	р. н.

Примечание. * – достоверное различие ХГС с группами АИГ, ПБЦ, АИГ/ПБЦ, ** – достоверное различие между группами АИГ, ПБЦ, АИГ/ПБЦ, ХГС; *** – достоверное различие между группами АИГ, ХГС и ПБЦ и АИГ/ПБЦ; р. н. – различие недостоверно; н. д. – нет данных.

Сокращения: АИГ – аутоиммунный гепатит; ПБЦ – первичный билиарный цирроз; АИГ/ПБЦ – перекрестный синдром первичного билиарного цирроза и аутоиммунного гепатита; АИЗП – все аутоиммунные заболевания печени; ХГС – хронический гепатит С; АНФ – антиядерный фактор; АГМА – антитела к гладким мышцам, LKM-1 – антитела к почечно-печеночным микросомам 1 типа; АМА – антимитохондриальные антитела; АНЦА – антинейтрофильные цитоплазматические антитела.

ТАБЛИЦА 2. ТИПЫ СВЕЧЕНИЯ ЯДРА ПРИ ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ АНФ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

Тип свечения АНФ	Характер патологии					Р критерия χ^2
	АИГ n (%)	ПБЦ n (%)	АИГ/ПБЦ n (%)	АИЗП в целом n (%)	ХГС n (%)	
Гранулярный (мелкогранулярный)	13/37 (35,1)	1/35 (2,9)*	6/20 (30,0)	20/92 (21,7)	16/21 (76,2)	< 0,01
Цитоплазматический/митохондриальный	10/37 (27,0)	31/35 (88,5)*	16/20 (80,0)*	57/92 (62,0)	4/21 (19,0)	< 0,001
Множественные точки в ядре (MND)	3/37 (8,1)	8/35 (22,9)	2/20 (10,0)	13/92 (14,1)	0/21 (0,0)	р. н.
Ядрышковый	3/37 (8,1)	0/35 (0)	0/20 (0)	3/92 (3,3)	1/21 (4,7)	р. н.
Гомогенный/периферический	9/37 (24,3)	3/35 (8,5)	1/20 (5,0)	13/92 (14,1)	0/21 (0,0)	р. н.
Центромерный	1/37 (2,7)	1/35 (2,9)	0/20 (0,0)	2/92 (2,2)	0/21 (0,0)	р. н.
Сочетание двух типов	8/37 (21,6)	9/35 (25,7)	5/20 (25,0)	22 (23,9)	0/21 (0,0)	р. н.

Примечание. * – достоверные различия с группами АИГ и ХГС; MND – multiple nuclear dots (англ.), р. н. – различие недостоверно.

Сокращения: АИГ – аутоиммунный гепатит; АНФ – антиядерный фактор; ПБЦ – первичный билиарный цирроз; АИГ/ПБЦ – перекрестный синдром первичного билиарного цирроза и аутоиммунного гепатита; АИЗП – все аутоиммунные заболевания печени; ХГС – хронический гепатит С.

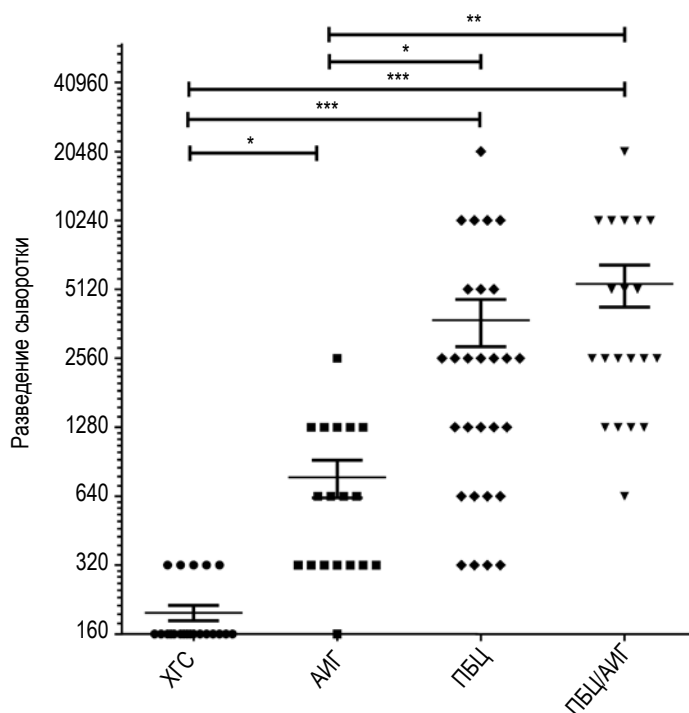


Рисунок 1. Сравнение титров АНФ при аутоиммунных заболеваниях печени

Примечание. АИГ – аутоиммунный гепатит; ПБЦ – первичный билиарный цирроз; АИГ/ПБЦ – перекрестный синдром: аутоиммунный гепатит / первичный билиарный цирроз; ХГС – хронический гепатит С; АНФ – антиядерный фактор.

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,005$.

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СПЕЦИФИЧНОСТИ АНТИТЕЛ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ИММУНОБЛОТ

Антиген	Характер патологии				Р критерия χ^2
	АИГ n (%)	ПБЦ n (%)	АИГ/ПБЦ n (%)	АИЗП n (%)	
SLA/LP	3/19 (15,8)	0/23 (0,0)	0/11 (0,0)	3/53 (5,3)	р. н.
LC-1	2/19 (10,5)	3/23 (13,0)	0/11 (0,0)	5/53 (9,4)	р. н.
AMA-M2	0/19 (0,0)	23/23 (100,0)*	11/11 (100,0)*	34/53 (66,0)	< 0,001
AMA-M2-3E	0/19 (0,0)	15/23 (65,2)*	5/11 (45,5)*	20/53 (37,7)	< 0,001
PML	3/19 (15,8)	5/23 (21,7)	4/11 (36,4)	12/53 (22,6)	р. н.
Sp100	2/19 (10,5)	6/23 (26,1)	3/11 (27,3)	11/53 (20,8)	р. н.
gp210	2/19 (10,5)	4/23 (17,4)	2/11 (18,2)	8/53 (15,1)	р. н.
SSA-52 (Ro)	5/19 (26,3)	7/23 (30,4)	2/11 (18,2)	14/53 (26,4)	р. н.

Примечание. * – достоверные различия с группой АИГ.

Сокращения: АИГ – аутоиммунный гепатит; АНФ – антиядерный фактор; ПБЦ – первичный билиарный цирроз; АИГ/ПБЦ – перекрестный синдром первичного билиарного цирроза и аутоиммунного гепатита; АИЗП – все аутоиммунные заболевания печени.

Обсуждение

Выявление аутоантител остается одним из основных критериев при постановке диагноза аутоиммунных заболеваний печени.

Антиядерные антитела выявлялись почти у 90% больных АИГ и ПБЦ, подтверждая представление об этой разновидности аутоантител, как об основном диагностическом маркере аутоиммунных заболеваний [3, 4]. При этом при перекрестном синдроме наблюдались наиболее высокие титры АНФ.

Считается, что при АИГ выявление АНФ сопровождается гомогенным (34-58%) или гранулярным (21-34%) типами свечения ядра клетки [17, 15, 36]. При изолированном АИГ нами отмечалось несколько типов свечения АНФ. По сравнению с ПБЦ при АИГ чаще выявлялся мелкогранулярный тип ($p < 0,01$). Ядрышковый тип свечения наблюдался только у больных с АИГ. Для больных с ПБЦ как в моноварианте, так и с перекрестным синдромом с проявлениями АИГ, напротив, был характерен цитоплазматический (митохондриальный) тип свечения АНФ ($p < 0,001$), а другие типы практически не встречались. Следует отметить, что свечение по типу точек в ядре (MND) выявлялось не только при ПБЦ, но и при АИГ.

Вирусный гепатит С является индуктором ряда аутоиммунных заболеваний. Благодаря способности вируса индуцировать поликлональную активацию В-лимфоцитов, на фоне хронической инфекции нередко отмечается появление аутоантител, моноклональных парапротеинов и криопреципитируемых иммунных комплексов (криоглобулинов). Литературные данные о встречаемости изученных нами аутоантител при ХГС значительно варьируют (0-50%), их выявляемость зависит от используемых методов и установленных референтных границ, а также от предварительного применения препаратов интерферона [7, 13, 25, 31]. Лечение интерфероном больных без исходного аутоиммунного компонента может приводить к появлению разнообразных аутоиммунных синдромов. Их выраженность варьирует от бессимптомного образования аутоантител до развернутой клинической картины аутоиммунного заболевания. В то же время, при исходном выявлении аутоантител (в низких титрах), на фоне комбинированной противовирусной терапии интерфероном и рибавирином нередко происходит снижение титра ниже диагностического. В связи с чем в наше исследование не включались больные, получавшие ранее противовирусную терапию. В обследованной выборке аутоантитела выявля-

лись в низких титрах, что совпадает с результатами других исследований [42].

В группе аутоиммунных заболеваний печени АГМА и АНЦА отмечались только у больных с АИГ. Считается, что при АИГ АНЦА выявляются у 40-95% больных [35, 36, 39]. У наших больных они наблюдались только в трети случаев. Ряд авторов считает, что выявление этих антител может быть полезно для дифференциальной диагностики АИГ и криптогенного гепатита [24, 35]. Согласно нашим данным, их выявление действительно может оказать помощь в дифференциальной диагностике с перекрестным синдромом с ПБЦ, так как заставляет предполагать моновариант АИГ. При этом надо учитывать, что АНЦА встречается и при других воспалительных заболеваниях неизвестной этиологии, таких как воспалительные заболевания кишечника, ПСХ, которые также могут быть ассоциированы с АИГ [19]. АГМА не выявлялись при перекресте АИГ/ПБЦ, хотя и считаются одним из предлагаемых критериев постановки диагноза перекрестный синдром [12].

Антитела к SLA/LP выявлялись только у небольшого числа больных АИГ (в двух случаях из трех они определялись при отрицательных АНА и АГМА), что совпадает с данными других исследований, предполагающих их важную диагностическую роль при вариантных формах АИГ [11, 16]. Редкость их выявления определяет отсутствие достоверных различий с другими группами. Антитела к LC-1 также выявлялись редко, и это обуславливалось тем, что в данное исследование, направленное на дифференциальную диагностику с ПБЦ и, соответственно, включавшее взрослых больных, не входили больные с АИГ 2 типа, характерным больше для детей. Антитела к LKM характерны для АИГ 2 (педиатрического) типа, также они отмечаются у 1-2% больных с ХГС [30]. Нами были обнаружены антитела к LKM-1 у больной с длительно текущим ХГС в стадии цирроза.

Антимитохондриальные антитела обнаруживались только у больных с ПБЦ как в моноварианте, так и в составе перекрестного синдрома, что свидетельствует об их специфичности для данной патологии. Сочетание АНА и АМА выявлялось у 100% больных с АИГ/ПБЦ. PDC/AMA-M2 и антитела к антигену M2-3E, как специфичные маркеры ПБЦ, встречались только у больных с данной патологией, в том числе при ее сочетании с АИГ ($p < 0,001$), причем первые – в 100% случаев. Определение дополнительных классов аутоантител методом иммуноблота позволило поставить диагноз ПБЦ у АМА-негативных больных.

Частота выявления антител к gp210, Sp100, PML и SSA-Ro52 была сопоставимой во всех исследуемых группах. Считается, что эти виды АНА обладают низкой чувствительностью и высокой специфичностью и являются полезными диагностическими маркерами ПБЦ, особенно при отсутствии АМА [20, 32]. Таким образом, в нашем исследовании не подтвердилось мнение о анти-gp210 и анти-Sp100, как высокоспецифичных маркерах ПБЦ [29]. В то же время можно предположить, что наличие свечения

по типу «точек в ядре» и определяющих его антител при АИГ, возможно, отражает ранние стадии развития перекрестного синдрома и требует динамического наблюдения за данными больными.

Таким образом, определение не только основных, но и дополнительных классов аутоантител, с учетом их встречаемости, является полезным для диагностики АИГ и ПБЦ, а также выявления перекрестного синдрома между этими заболеваниями.

Список литературы

1. Барановский А.Ю., Райхельсон К.Л., Мительглик У.А. Поздняя диагностика аутоиммунных заболеваний печени: причины и последствия // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2007. — № 8. — С. 36-42.
2. Дунаева Н.В., Неустроева Ю.А., Тихомирова Т.А., Сысоев К.А., Алексеева Н.П., Лапин С.В., Эсауленко Е.В., Добронравов В.А., Чухловин А.Б., Тотолян А.А. Распространенность и факторы риска развития криоглобулинемии, ассоциированной с хроническим гепатитом // Медицинская иммунология. — 2007. — Т. 9, № 6. — С. 575-580.
3. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. — СПб.: Человек, 2010. — 272 с.
4. Лапин С.В., Тотолян А.А. Антинуклеарные антитела: лабораторные тесты и диагностическое значение // Медицинская иммунология. — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 35-50.
5. Широкова Е.Н., Ивашкин К.В., Григович М.А., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Клиническая характеристика перекрестного синдрома аутоиммунный гепатит / первичный билиарный цирроз // Российские медицинские вести — 2011. — Т. 16, № 4. — С. 40-47.

Ссылки 6-43 см. в References (стр. 358-360). See References for numbers 6-43 at pp. 358-360.

References

1. Baranovskiy A.Yu., Raykhel'son K.L., Mitel'glik U.A. Pozdnyaya diagnostika autoimmunnykh zabolevaniy pecheni: prichiny i posledstviya [Late diagnosis of autoimmune liver diseases: causes and consequences]. *Ekspериментальная i klinicheskaya gastroenterologiya — Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2007, no. 8, pp. 36-42.
2. Dunaeva N.V., Neustroeva Yu.A., Tikhomirova T.A., Sysoev K.A., Alekseeva N.P., Lapin S.V., Esaulenko E.V., Dobronravov V.A., Chukhlovina A.B., Totolian A.A. Rasprostranennost' i faktory riska razvitiya krioglobulinemii, assotsiirovannoy s khronicheskim gepatitom [Prevalence and risk factors in development of chronic hepatitis C-associated cryoglobulinemia]. *Meditsinskaya immunologiya — Medical Immunology*, 2007, vol. 9, no. 6, pp. 575-580.
3. Lapin S.V., Totolian A.A. Immunologicheskaya laboratornaya diagnostika autoimmunnykh zabolevaniy [Immunological laboratory diagnostics of autoimmune diseases]. *St. Petersburg, Human*, 2010. 272 p.
4. Lapin S.V., Totolian A.A. Antinuklearnye antitela: laboratornye testy i diagnosticheskoe znachenie [Antinuclear Antibodies: Laboratory Tests and Diagnostic Significance]. *Meditsinskaya immunologiya — Medical Immunology*, 2001, vol. 3, no. 1, pp. 35-50.
5. Shirokova E.N., Ivashkin K.V., Grigovich M.A., Maevskaya M.V., Ivashkin V.T. Klinicheskaya kharakteristika perekrestnogo sindroma autoimmunnyy gepatit/pervichnyy biliarnyy tsirroz [The clinical characteristic of overlap syndrome autoimmune hepatitis / primary biliary cirrhosis]. *Rossiyskie meditsinskie vesti — Russian Medical News*, 2011, vol. 16, no. 4, pp. 40-47.
6. Abuaf N., Johanet C., Chretien P., Martini E., Soulier E., Laperche S., Homberg J.C. Characterization of liver cytosol antigen type 1 reacting with autoantibodies in chronic active hepatitis. *J. Hepatol.*, 1992, vol. 16, pp. 892-898.
7. Agarwal N., Handa R., Acharya S.K., Wali J.P., Dinda A.K., Aggarwal P. A study of autoimmune markers in hepatitis C infection. *J. Indian. Med. Res.* 2001, vol. 113, pp. 170-174.

8. Alvarez F, Berg P.A., Bianchi F.B., Bianchi L., Burroughs A.K., Cancado E.L. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J. Hepatol.*, 1999, vol. 31, pp. 929-938.
9. Baeres M., Herkel J., Czaja A.J., Wies I., Kanzler S., Cancado E.L., Porta G., Nishioka M., Simon T., Daehnrich C., Schlumberger W., Galle P.R., Lohse A.W. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics. *Gut.*, 2002, vol. 51, pp. 259-264.
10. Ballot E., Homberg J.C., Johanet C. Antibodies to soluble liver antigen: an additional marker in type 1 autoimmune hepatitis. *J. Hepatol.*, 2000, vol. 33, pp. 208-215.
11. Boberg K.M., Chapman R.W., Hirschfield G.M., Lohse A.W., Manns M.P., Schrupf E. on behalf of the International Autoimmune Hepatitis Group. Overlap syndromes: The International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue. *J. Hepatol.*, 2011, vol. 54, no. 2, pp. 374-385.
12. Chazouilleres O., Wendum D., Serfaty L., Montembault S., Rosmorduc O., Poupon R. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *J. Hepatol.*, 1998, vol. 28, pp. 296-301.
13. Clifford B.D., Donahue D., Smith L., Cable E., Luttig B., Manns M., Bonkovsky H.L. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *J. Hepatol.*, 1995, vol. 21, pp. 613-619.
14. Czaja A.J. Autoimmune liver disease. *J. Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2002, vol. 18, pp. 334-344.
15. Czaja A.J., Cassani F., Cataleta M. Antinuclear antibodies and patterns of nuclear immunofluorescence in type 1 autoimmune hepatitis. *J. Dig. Dis. Sci.*, 1997, vol. 42, pp. 1688-1696.
16. Czaja A.J., Shums Z., Norman G.L. Frequency and significance of antibodies to soluble liver antigen/liver pancreas in variant autoimmune hepatitis. *J. Autoimmunity.*, 2002, vol. 35, no. 18, pp. 475-483.
17. Dalekos G.N., Zachou K., Liaskos C., Gatselis N. Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis: an overview. *J. Intern. Med.*, 2002, vol. 13, pp. 293-303.
18. EASL Clinical Practice Guidelines. Management of cholestatic liver diseases. *J. Hepatol.*, 2009, Vol. 51, pp. 237-267.
19. Gleeson D., Heneghan M.A. British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for management of autoimmune hepatitis. *J. Gut*, 2011, vol. 60, pp. 1611-1629.
20. Granito A., Muratori P., Muratori L., Pappas G., Cassani F., Worthington J., Guidi M., Ferri S., De Molo C., Lenzi M., Chapman R.W., Bianchi F.B. Antinuclear antibodies giving the 'multiple nuclear dots' or the 'rim-like/membranous' patterns: diagnostic accuracy for primary biliary cirrhosis. *J. Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2006, vol. 24, pp. 1575-1583.
21. Hennes E.M., Zeniya M., Czaja A.J., Hennes E.M., Zeniya M., Czaja A.J., Parés A., Dalekos G.N., Krawitt E.L., Bittencourt P.L., Porta G., Boberg K.M., Hofer H., Bianchi F.B., Shibata M., Schramm C., Eisenmann de Torres B., Galle P.R., McFarlane I., Dienes H.P., Lohse A.W. International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *J. Hepatol.*, 2008, vol. 48, pp. 169-176.
22. Invernizzi P., Selmi C., Ranftler C., Podda M., Wesiarska-Gadek J. Anti nuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *J. Semin. Liver Dis.*, 2005, vol. 25, pp. 298-310.
23. Kanzler S., Weidemann C., Gerken G., Lohr H.F., Galle P.R., Meyer zum Buschenfelde K.H., Lohse A.W. Clinical significance of autoantibodies to soluble liver antigen in autoimmune hepatitis. *J. Hepatol.*, 1999, vol. 31, pp. 635-640.
24. Krawitt E.L. Autoimmune hepatitis. *J. Med. N. Engl.*, 2006, vol. 354, pp. 54-66.
25. Lenzi M., Bellentani S., Saccoccio G., Muratori P., Masutti F., Muratori L., Cassani F., Bianchi F.B., Tiribelli C. Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: a nested case-control study of the Dionysos cohort. *J. Gut*, 1999, vol. 45, pp. 435-441.
26. Lindor K.D., Gershwin M.E., Poupon R., Kaplan M., Bergasa N.V., Heathcote E.J. Primary biliary cirrhosis. AASLD practice guidelines. *J. Hepatol.*, 2009, vol. 50, pp. 291-308.
27. Manns M.P., Czaja A.J., Gorham J.D., Manns M.P., Czaja A.J., Gorham J.D., Krawitt E.L., Mieli-Vergani G., Vergani D., Vierling J.M. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis. *J. Hepatol.*, 2010, vol. 51, pp. 2193-2213.
28. Martini E., Abuaf N., Cavalli F., Durand V., Johanet C., Homberg J.C. Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with autoimmune hepatitis type 2. *J. Hepatol.*, 1988., vol. 8., pp. 1662-1666.
29. Milkiewicz P., Buwaneswaran H., Coltescu C., Shums Z., Norman G.L., Heathcote E.J. Value of autoantibody analysis in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease. *J. Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009, vol. 7, pp. 1355-1360.
30. Monti V., Aghemo A., Rumi M.G., Donato M.F., Del Ninno E., Colombo M. The prevalence, clinical features and response to antiviral therapy of patients with chronic hepatitis C who are seropositive for liver-kidney microsome type 1 antibodies. *J. Antivir. Ther.*, 2005, vol. 10, pp. 715-720.

31. Muratori P., Muratori L., Guidi M., Granito A., Susca M., Lenzi M., Bianchi F.B. Clinical impact of non-organ-specific autoantibodies on the response to combined antiviral treatment in patients with hepatitis C. *J. Clin. Infect. Dis.*, 2005, vol. 40, pp. 501-507.
32. Muratori L., Granito A., Muratori P., Pappas G., Bianchi F.B. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. *J. Clin. Liver. Dis.*, 2008, vol. 12, pp. 261-276.
33. Muratori P., Granito A., Pappas G., Muratori L., Lenzi M., Bianchi F.B. Autoimmune liver disease 2007. *J. Mol. Aspects Med.*, 2008, vol. 29, pp. 96-102.
34. Parveen S., Morshed S.A., Arima K., Parveen S., Morshed S.A., Arima K., Nishioka M., Czaja A.J., Chow W.C., Ng H.S. Antibodies to Ro/La, Cent-B, and snRNPs antigens in autoimmune hepatitis of North America versus Asia: patterns of immunofluorescence, ELISA reactivities, and HLA association. *J. Dig. Dis. Sci.*, 1998, vol. 43, pp. 1322-1331.
35. Roozendaal C., de Jong M.A., van den Berg A.P., van Wijk R.T., Limburg P.C., Kallenberg C.G.M. Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases. *J. Hepatol.*, 2000, vol. 32, pp. 734-741.
36. Strassburg C.P., Manns M.P. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *J. Semin. Liver Dis.*, 2002, vol. 22, pp. 339-352.
37. Szosteck C., Krippner H., Penner E., Szosteck C., Krippner H., Penner E., Bautz F.A. Autoimmune sera recognize a 100-kD nuclear protein antigen (sp-100). *J. Clin. Exp. Immunol.*, 1987, vol. 68, pp. 108-116.
38. Talwalkar J.A., Lindor K.D. Primary biliary cirrhosis. *J. Lancet.*, 2003, vol. 5, pp. 53-61.
39. Targan S.R., Landers C., Vidrich A., Czaja A.J. High titer antineutrophil cytoplasmic antibodies in type-1 autoimmune hepatitis. *J. Gastroenterol.*, 1995, vol. 108, pp. 1159-1166.
40. Treichel U., McFarlane B.M., Seki T., Krawitt E.L., Alessi N., Stickel F., McFarlane I.G., Kiyosawa K., Furuta S., Freni M.A. Demographics of anti-asialoglycoprotein receptor autoantibodies in autoimmune hepatitis. *J. Gastroenterol.*, 1994, vol. 107, pp. 799-804.
41. Worman H.J., Courvalin J.C. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. *J. Autoimmun Rev.*, 2003, vol. 2, pp. 211-217.
42. Yee L.J., Kelleher P., Goldin R.D., Marshall S., Thomas H.C., Alberti A., Chiamonte M., Braconier J.H., Hall A.J., Thursz M.R. Antinuclear antibodies (ANA) in chronic hepatitis C virus infection: correlates of positivity and clinical relevance. *J. Viral. Hepat.*, 2004, vol. 11, pp. 459-464.
43. Zuchner D., Sternsdorf T., Szosteck C., Zuchner D., Sternsdorf T., Szosteck C., Heathcote E.J., Cauch-Dudek K., Will H. Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis. *J. Hepatol.*, 1997, vol. 26, pp. 1123-1130.