

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СПЕКТР АУТОАНТИТЕЛ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФЕНОТИПАХ АКАНТОЛИТИЧЕСКОЙ ПУЗЫРЧАТКИ

Колос Ю.В., Лукьянов А.М.

*Белорусский государственный медицинский университет
Г.Минск, Республика Беларусь*

Введение. Акантолитическая пузырчатка является наиболее тяжелой формой аутоиммунных буллезных дерматозов. До начала эры глюкокортикостероидов данная нозология в большинстве случаев имела неуклонно прогрессирующее течение и заканчивалась летально вследствие генерализации процесса, массивной потери жидкости и белка, электролитных нарушений, присоединения вторичной инфекции [1-3].

Выделяют 5 основных форм акантолитической пузырчатки: вульгарную (и ее вариант - вегетирующую), листовидную (и ее варианты – бразильскую и эритематозную), паранеопластическую, лекарственно-индуцированную и IgA-ассоциированную. Каждая из них имеет свои особенности клинических и иммунологических проявлений [1, 2].

В настоящее время общепризнанной является аутоиммунная теория патогенеза акантолитической пузырчатки, объясняющая развитие заболевания выработкой аутоантител к определенным антигенным структурам кожи и слизистых оболочек. В последние десятилетия описан ряд аутоантигенов и аутоантител при пузырчатке, однако ключевую роль в развитии данной нозологии занимает выработка аутоантител (IgG) против компонентов десмосом - десмоглеина 1 и 3 (ДСГ1 и 3) [1-7].

Десмоглеины 1 и 3 относятся к семейству кадгеринов - трансмембранных кальцийзависимых гликопротеинов, каждый из которых имеет экстрацеллюлярный, трансмембранный и цитоплазматический домен, связанный с цитоскелетом клетки. Данные белки являются одними из основных компонентов десмосом – особых межклеточных контактов, обеспечивающих целостность кожи и слизистых оболочек [1, 2].

Аутоантитела к ДСГ 1 и ДСГ 3 вызывают разрушение межклеточных контактов -акантолиз, что клинически проявляется пузырьным синдромом на слизистых и/или коже [1-4].

Различия в локализации пузырей при различных формах акантолитической пузырчатки объясняется десмоглеиновой компенсаторной теорией, в соответствии с которой ДСГ1 и ДСГ3 компенсируют функцию друг друга, когда оба экспрессированы в одних и тех же клетках. Вот почему, когда в сыворотке присутствуют только анти-ДСГ1-аутоантитела, как в случае листовидной пузырчатки, возникают поверхностные пузыри на коже, так как в глубоких слоях эпидермиса и на слизистых, где экспрессирован преимущественно ДСГ3, потеря функции ДСГ1 компенсируется ДСГ3 [1,7].

Когда в сыворотке присутствуют только анти-ДСГ3-аутоантитела, как в случае вульгарной пузырчатки с преимущественным поражением слизистой полости рта, пузырьный синдром проявляется в основном на слизистых, где вы-

сокая экспрессия ДСГ3 и низкая ДСГ1, в то время как кожа с высокой экспрессией ДСГ1 компенсирует потерю ДСГ3 и остается в большинстве случаев интактной [1,7].

При слизисто-кожном типе вульгарной пузырчатки, аутоантитела вырабатываются как против ДСГ1, так и ДСГ 3, что приводит к потере функции обоих белков, и пузырьный синдром наблюдается как на слизистых, так и на коже [1,7].

Цель работы: оценить ассоциацию клинического фенотипа с молекулярным спектром аутоантител у пациентов с акантолитической пузырчаткой.

Материалы и методы.

В исследование включали 30 пациентов с диагнозом акантолитической пузырчатки:

- 23 пациента с L10.0 Вульгарная пузырчатка;
- 3 пациента с L10.1 Вегетирующая пузырчатка;
- 4 пациента с L10.2 Листовидная пузырчатка.

Подтверждение диагноза осуществляли с помощью иммуноферментного анализа с сывороткой крови. Иммуноферментный анализ проводили с использованием тест-систем EuroimmunAnti-Desmoglein 1 ELISA (Ig G), EuroimmunAnti-Desmoglein 3 ELISA (Ig G), содержащих рекомбинантные антигены десмоглеин 1 и 3 соответственно.

С помощью планшетного спектрофотометра BioTek ELx800 измеряли интенсивность окрашивания (оптическую плотность) в лунках при длине волны 450 нм.

Концентрации аутоантител в сыворотках пациентов (в ОЕд/мл) определяли путем построения калибровочных графиков с использованием полученных значений оптической плотности калибраторов, входящих в состав тест-систем

Результат теста считали положительным при концентрации аутоантител выше или равно пороговому значению (cut-off) – 20 ОЕд/мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0. Нормальность распределения количественных данных оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка.

Для сравнения различий концентрации аутоантител в группах вульгарной (вегетирующей) и листовидной пузырчатки использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Для анализа ассоциации молекулярного спектра аутоантител с нозологической формой, а также с клиническим фенотипом акантолитической пузырчатки использовали критерий χ^2 . Статистически значимыми результаты считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Аутоантитела (IgG) к десмоглеину 3 (ДСГ3) были обнаружены в сыворотках всех пациентов с вульгарной и вегетирующей пузырчаткой. Концентрации антител характеризовались нормальным распределением ($p > 0,05$), минимальное значение – 22,6 ОЕд/мл, максимальное значение – 506,6 ОЕд/мл, M(s) – 242,67 (151,21) ОЕд/мл (таблица 1).

В случае листовидной пузырчатки концентрации аутоантител (IgG) к ДСГ 3 были ниже порогового значения (20 ОЕд/мл). Концентрации антител ха-

рактизовались нормальным распределением ($p > 0,05$), минимальное значение – 2,87ОЕд/мл, максимальное значение – 18,76 ОЕд/мл, M(s) – 6,24 (9,38) ОЕд/мл (таблица 1).

Таблица 1 – Концентрация аутоантител к десмоглеину 3 в сыворотках крови пациентов с акантолитической пузырчаткой

Концентрация аутоантител к ДСГ 3	Вульгарная (вегетирующая)пузырчатка, ОЕд/мл	Листовиднаяпузырчатка, ОЕд/мл
Min-Max	22,6 – 506,6	-2,87 – 18,76
M (s)	242,67 (151,21)	6,24 (9,38)
p= 0,001678		

Аутоантитела (IgG) к десмоглеину 1 (ДСГ 1) в диагностически значимых концентрациях были обнаружены в 16 из 26 случаев вульгарной и вегетирующей пузырчатки. Концентрации антител характеризовались ненормальным распределением ($p < 0,05$), минимальное значение – -0,93ОЕд/мл, максимальное значение – 353,64ОЕд/мл, Me (25%-75%) – 52,15 (9,10-168,40) (таблица 2).

Во всех случаях пациентов с листовидной пузырчаткой в сыворотках крови были выявлены аутоантитела (IgG) к ДСГ 1. Концентрации антител характеризовались нормальным распределением ($p > 0,05$), минимальное значение – 78,7ОЕд/мл, максимальное – 400,7ОЕд/мл, M(s) -222,28 (163,31)ОЕд/мл (таблица 2).

Таблица 2 – Концентрация аутоантител к десмоглеину 1 в сыворотках крови пациентов с акантолитической пузырчаткой

Концентрация аутоантител к ДСГ 1	Вульгарная (вегетирующая)пузырчатка, ОЕд/мл	Листовидная пузырчатка, ОЕд/мл
Min-Max	- 0,93 – 353,64	78,7 – 400,7
M (s)		222,28 (163,31)
Me (25%-75%)	52,15 (9,10-168,40)	
p= 0,071899		

Различия в концентрации аутоантител (IgG) к ДСГ 3 у пациентов с вульгарной (вегетирующей) и листовидной пузырчаткой были статистически значимыми ($U = 0,00$, $p = 0,001678$), к ДСГ 1 – статистически незначимые ($U = 22,00$, $p = 0,071899$).

Таким образом, листовидная пузырчатка была ассоциирована с выработкой аутоантител к ДСГ1 (в 100% случаев), в то время как в случае вульгарной и вегетирующей пузырчатки обнаруживались аутоантитела либо к ДСГ3 (в 38,5% случаев), либо к ДСГ 3 и 1 (в61,5% случаев) (таблица 3). Различия в молекулярном спектре аутоантител при вульгарной (и ее варианте вегетирующей) пузырчатке и листовидной пузырчатке были статистически значимыми ($p = 0,00001$).

Таблица 3 – Ассоциация нозологической формы акантолитической пузырьчатки и молекулярного спектра аутоантител

Нозологическая форма акантолитической пузырьчатки (по МКБ-10)	Молекулярный спектр аутоантител			
	ДСГ 1, абс., (%) случаев	ДСГ 3, абс., % случаев	ДСГ 1 + ДСГ 3, абс., % случаев	
L 10.0 Вульгарная (и ее вариант L 10.1 Вегетирующая) пузырьчатка, n=26	0	10 (38,5%)	16 (61,5%)	$\chi^2 = 23,56$ $p = 0,00001$
L 10.2 Листовидная пузырьчатка, n=4	4 (100%)	0	0	

Клинический фенотип пациентов с акантолитической пузырьчаткой также был ассоциирован с молекулярным спектром аутоантител (таблица 4). Так, в случае изолированного поражения кожи были обнаружены аутоантитела к ДСГ 1 (57,1 % случаев пациентов с указанным фенотипом, все пациенты с листовидной пузырьчаткой), либо к ДСГ 1 и ДСГ 3 (42,9 % случаев соответственно, все пациенты с вульгарной (вегетирующей) пузырьчаткой). При изолированном поражении слизистых выработка аутоантител наблюдалась исключительно к ДСГ 3 (100% случаев, все пациенты с вульгарной пузырьчаткой). При сочетанном поражении слизистых оболочек и кожи в большинстве случаев обнаруживались аутоантитела как к ДСГ 1, так и к ДСГ 3 (87,5% случаев пациентов с указанным фенотипом, все пациенты с вульгарной (вегетирующей) пузырьчаткой). Различия в молекулярном спектре аутоантител при указанных клинических фенотипах акантолитической пузырьчатки были статистически значимыми ($p = 0,000001$).

Таблица 4 – Ассоциация молекулярного спектра аутоантител и клинического фенотипа акантолитической пузырьчатки

Клинический фенотип пациентов с акантолитической пузырьчаткой	Молекулярный спектр аутоантител			
	ДСГ 1, абс., (%) случаев	ДСГ 3, абс., % случаев	ДСГ 1 + ДСГ 3, абс., % случаев	
с изолированным поражением слизистых, n=7	0	7 (100%)	0	$\chi^2 = 35,19$ $p = 0,000001$
с изолированным поражением кожи, n=7	4 (57,1%)	0	3 (42,9%)	
с сочетанным поражением слизистых и кожи, n=16	0	2 (12,5%)	14 (87,5%)	

Выводы.

1. Различия клинических фенотипов акантолитической пузырчатки ассоциированы с особенностями молекулярного спектра аутоантител у пациентов.

2. Листовидная пузырчатка ассоциирована с выработкой аутоантител к десмоглеину 1.

3. Вульгарная пузырчатка с изолированным поражением слизистой полости рта ассоциирована с выработкой аутоантител к десмоглеину 3.

4. Вульгарная (вегетирующая) пузырчатка с изолированным поражением кожи характеризуется выработкой аутоантител как к десмоглеину 1, так и 3.

5. В случае сочетанного поражения слизистых и кожи при вульгарной (вегетирующей) пузырчатке в большинстве случаев наблюдается выработка аутоантител как к десмоглеину 1, так и к десмоглеину 3.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bologna J. L. Bologna Dermatology 2 volume set / J. L. Bologna[et al.]-2nd ed. - Elsevier Limited, 2008. – 2500p.
2. Burns T. Rook's Textbook of Dermatology / T. Burns [et al.]. –8nd ed. - UK: WILEY-BLACKWELL, 2010. – 4362p.
3. Kneisei A. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations / A. Kneisei [et al.] // JDDG. – 2011. –№ 9. –P. 844-857.
4. Kneisei A. Autoimmune bullous skin diseases. Part 2: diagnosis and therapy / A. Kneisei [et al.] // JDDG. –2011. –№ 9. –P. 927-947.
5. Sidonia Mihai. Immunopatology and molecular diagnosis of autoimmune bullous diseases / Mihai Sidonia, Sitaru Cassian // J. Cell. Mol. Med. –2007. – № 3. – Vol. 11.– P. 462-481.
6. Schmidt E. Modern diagnosis of autoimmune blistering skin diseases / E. Schmidt [et. al.] // Autoimmun. Rev. –2010.– №10.–P. 84-89.
7. Tsuruta D. Molecular diagnosis of autoimmune blistering diseases / D.Tsuruta [et. al.] // Methods Mol Biol. – 2013. – № 961.–P. 17-32.