По следам X Всероссийского Конгресса Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России (АДАИР)

Following the X All-Russian Congress of the Association of Pediatric Allergologists and Immunologists of Russia (APAIR)

Диагностическая значимость определения антинуклеарных антител у детей с аутоиммунным гепатитом

SCO — краткое сообщение

https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-36-40

Жужула А. А.[1], Курбатова О. В.[1], Петричук С. В.[1], Парахина Д. В.[1], Сновская М. А.[1], Мовсисян Г. Б.[1], Семикина Е. Л.[1,2], Потапов А. С.[1,2], Фисенко А. П.[1]

[1] *Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, г. Москва, Ломоносовский пр., д. 2, стр. 1, Россия*

[2] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Россия*

Ключевые слова: дети, аутоиммунный гепатит, фиброз печени, антинуклеарные антитела, HEp-2, аутоиммунитет, иммунофлюоресценция.

Для цитирования: Жужула АА, Курбатова ОВ, Петричук СВ, Парахина ДВ, Сновская МА, Мовсисян ГБ, Семикина ЕЛ, Потапов АС, Фисенко АП. Диагностическая значимость определенияантинуклеарных антител у детей саутоиммунным гепатитом. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2021; 1: 36-40. https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-36-40

Diagnostic significance of the determination of antinuclear antibodies in children with autoimmune hepatitis

https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-36-40

A. A. Zhuzhula[1], O. V. Kurbatova[1], S. V. Petrichuk[1], D. V. Parakhina[1], M. A. Snovskaya[1], G. B. Movsisyan[1], E. L. Semikina[1,2], A. S. Potapov[1,2], A. P. Fisenko[1]

[1] *Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center for Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Lomonosovsky prospect, 2, building 1, Russia*

[2] *The State Education Institution of Higher Professional Training The First Sechenov Moscow State Medical University under Ministry of Health of the Russian Federation,119991, Moscow, st. Trubetskaya, d. 8, building 2, Russia*

Keywords: children, autoimmune hepatitis, liver fibrosis, antinuclear antibodies, HEp-2, autoimmunity, immunofluorescence.

For citation: Zhuzhula AA, Kurbatova OV, Petrichuk SV, Parakhina DV, Snovskaya MA, Movsisyan GB, Semikina EL, Potapov AS, Fisenko AP. Diagnostic significance of the determination of antinuclear antibodies in children with autoimmune hepatitis *Allergology and immunology in pediatrics*. 2024; 1: 36-40. https://doi.org/10.53529/2500-1175-2024-1-36-40

ВВЕДЕНИЕ

Аутоиммунный гепатит (АИГ) — аутоиммунное воспалительное заболевание печени, приводящее к образованию аутоагрессивных антител к собственным гепатоцитам [1]. АИГ считается редким заболеванием, его распространенность составляет 3–17 случаев на 100000 населения в Европе и США [2, 3, 4]. В России в структуре хронических гепатитов у детей доля АИГ составляет 1,5–7 % [2, 4, 5]. Это заболевание возникает у детей старше 2 лет, чаще в возрасте 6–10 лет, причем болеют преимущественно лица женского пола [4, 5].

Этиология АИГ до конца не изучена [4]. В качестве одной из основных причин развития АИГ считается нарушение иммунореактивности организма у генетически предрасположенных лиц [2]. В развитии АИГ триггерами могут выступать вирусы Эпштейна — Барр, вирусы гепатитов (A, B, C, D, G), вирус простого герпеса, бактерии, ле-

карственные средства (препараты интерферона, нестероидных противовоспалительных средств, нитрофуранов и т. д.), факторы окружающей среды [2, 4]. При наличии генетической предрасположенности возникает нарушение иммунной регуляции, которая проявляется дефектом функции регуляторных Т-клеток [4]. При АИГ усиливается синтез В-клетками антител класса IgG, которые могут приводить к разрушению мембран нормальных гепатоцитов [4].

Одним из критериев постановки диагноза АИГ является наличие антинуклеарных антител (АНА) в сыворотке крови, которые выявляются у 65–78%больных с АИГ [5, 6]. Примерно у 10% больных с АИГ АНА не определяются, но их отсутствие не исключает диагноз [6]. «Золотым стандартом» и главным скрининговым методом лабораторной диагностики для выявления АНА в сыворотке крови является реакция непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) на клеточной линии HEp-2 [3, 7]. Результат исследования представляет собой информацию о конечном титре АНА и типе свечения ядра и цитоплазмы клеток HEp-2 [7].

Выявление АНА у взрослых с АИГ сопровождается гомогенным (34–58%), гранулярным (21–34%), цитоплазматическим (27%) типами свечения или комбинацией нескольких типов [6]. Показано, что наиболее высокие титры АНА у взрослых с АИГ отмечаются при перекрестном синдроме с первичным билиарным циррозом [6]. Исследований АНА при АИГ на фоне патогенетического лечения в детском возрасте не проводилось.

Таким образом, целью нашего исследования было определить диагностическую значимость титра и типа свечения АНА у детей с АИГ на фоне лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 77 детей с АИГ (42 девочки и 35 мальчиков), которые проходили обследование и лечение в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Из них у 65 пациентов диагностирован АИГ 1-го типа, у 8 детей — АИГ 2-го типа, у 4 — АИГ серонегативный. У пациентов с АИГ 1-го типа встречались коморбидные заболевания: АИГ + первичный склерозирующий холангит (ПСХ) в 20% случаев, АИГ + аутоиммунный холангит (АИХ) — в 12%, АИГ + множественные аутоиммунные патологии — в 15%. В динамике лечения через 6 месяцев — 1 год стандартной терапии было обследовано 16 детей. Возраст пациентов изменялся от 1,91 до 17,97 года. Все дети, находившиеся на лечении, были обследованы по стандартному протоколу, включая общий анализ крови (гематологический автоматический анализатор Sysmex XN 550, Япония), биохимический анализ крови (AU680, США), АНА на клеточной линии HEp-2 с помощью РНИФ (Immco Diagnostics, Inc., США).

Метод РНИФ основан на инкубации сыворотки крови пациентов в серийных разведениях с эпителиальными клетками аденокарциномы гортани человека (HEp-2) в лунках предметного стекла. После удаления не связавшихся компонентов промывочным буфером в лунки предметного стекла вносили FITC конъюгат, который окрашивал связанные антитела. Результат реакции оценивали с помощью флюоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ni (Япония) при ×40 увеличении. Анализировали максимальный титр обнаружения АНА и тип свечения клеток. Нормальными значениями считали титры АНА < 1/160, при титре 1/160 ответ считали низко-позитивным, 1/320–1/640 — умеренно-позитивным, 1/1280 и выше — высоко-позитивным. Любой из выявленных типов свечений АНА мы принимали за положительный результат.

Для диагностики стадии фиброза печени использовали метод транзиентной эластографии печени на аппарате FibroScan F502 (EchoSence, Франция). Для оценки выраженности степени фиброза печени использовали шкалу METAVIR: стадия F0 — плотность в интервале 1,5–5,8 кПа; F1 — 5,9–7,2 кПа; F2 — 7,3–9,5 кПа; F3 — 9,6–12,5 кПа; стадия F4 (цирроз печени) — плотность 12,6 кПа и более [8, 9]. Распределение по стадиям фиброза печени было: F0 — 11 пациентов (14%), F1 — 14 (18%), F2 — 13 (17%), F3 — 9 (12%), F4 — 30 детей (39%).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Statistica 10.0 (StatSoft, США), Excel (Microsoft, США), IBM SPSS Statistics 25 (США). Описательная статистика количественных признаков представлена в формате: медиана [нижний и верхний квартили] — Me [$Q_{0,25}$–$Q_{0,75}$].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенный анализ результатов исследования АНА у детей с АИГ выявил, что у 8 де-

тей (10%) титр составил 1/160, у 14 (18%) — 1/320, у 9 (12%) — 1/640, у 19 (25%) — 1/1280, у 15 (20%) — > 1/2560, а у 12 пациентов из 77 (15%) антитела не обнаружены.

При анализе типов свечения АНА у детей с АИГ чаще встречались: цитоплазматический (74%), гранулярный (63%) и гомогенный (57%). Смешанный, точки в ядре и ядрышковый тип свечения составляли соответственно 32%, 9% и 8% встречаемости. При высоко-позитивном титре АНА (> 1/1280) чаще встречались цитоплазматический (63%), гомогенный (57%) и гранулярный (54%) типы свечения, чем при умеренно-позитивном титре (1/320–1/640). Ядрышковый тип свечения (5 детей — 8%) выявлялся только при умеренно-позитивном титре. Точки в ядре встречались реже, но при любом титре свечения (6 детей — 9%). Высокие титры свечения АНА у детей выявлялись в 69% при изолированном варианте АИГ 1-го типа, в то время как при сочетании АИГ с ПСХ, АИХ, множественными аутоиммунными патологиями высокие титры выявлялись у 34% детей.

Анализ титров и типов свечения от тяжести состояния по степени фиброза печени выявил фазную зависимость: от стадии фиброза F0 к F2 снижается доля детей с высоко-позитивным титром АНА ($p < 0,001$), а от стадии фиброза F2 к F4 увеличивается доля пациентов с высоко-позитивным титром АНА ($p < 0,05$). Мы не выявили зависимости типа свечения от стадии фиброза печени на данной выборке пациентов.

Анализ содержания АНА у 16 детей на фоне лечения показал, что у 10 пациентов титр свечения АНА снизился: у 5 из них — стал отрицательный (< 1/160), у 4 — снизился титр свечения до минимального, у 1 — был отрицательный в начале лечения и остался на таком же уровне; у 6 детей титр АНА не изменился или стал выше.

Снижение титра антител у детей (10 человек — 63%) было достоверно ($p < 0,05$) ассоциировано со снижением показателей активности заболевания: АЛТ — с 43 [20; 156,7] до 19 [12; 50,3]; АСТ — с 35,7 [27,1; 75,8] до 25,7 [20; 33] и в относительном (с 0,45 [0,2; 0,6] до 0,1 [0,09; 0,11]) и абсолютном количестве незрелых гранулоцитов (с 0,03 [0,01; 0,03] до 0,005 [0; 0,01]). При этом отмечалась тенденция к снижению CRP, ГГТ, ЩФ, WBC, нейтрофилов, СОЭ, а также тенденция к повышению альбумина, МСНС, RDW-CV.

У 6 (37%) детей на фоне терапии существенной динамики в титре свечения АНА не выявлялось, в процессе лечения также было достоверное снижение: АЛТ — с 129,5 [92,3; 333,4] до 30,5 [16,5; 48]; АСТ — с 148 [74,4; 192,9] до 41,5 [24,4; 55,0], снижением абсолютного числа незрелых гранулоцитов, повышением альбумина — с 38,1 [36,8; 40,3] до 41 [40,8; 46]. Отмечалась тенденция к снижению ГГТ, ЩФ, WBC, нейтрофилов, % незрелых гранулоцитов, СОЭ, повышению МСНС, RDW-CV. Однако биохимические показатели в этой группе были достоверно выше, чем у детей со снижением титра АНА.

У всех детей, у которых титр не снизился в процессе лечения, по шкале METAVIR определялся цирроз печени (F4), течение заболевания сопровождалось наличием других заболеваний ЖКТ: эрозивного бульбита, гастродуоденита, эрозивного гастрита, рефлюкс-эзофагита, язвенного колита. При сохранении титра АНА сохранялся и тип свечения, новых типов не появлялось.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, анализ результатов исследования показал, что АНА выявлялись у 85% детей с АИГ, что превышает выявляемость АНА у взрослых (78%) с АИГ [10]. В отличие от взрослых, у которых были выявлены более высокие титры АНА при комбинации АИГ с ПБЦ, подобной закономерности у детей с перекрестным синдромом выявлено не было [6].

Обнаружено, что у детей с АИГ чаще встречались следующие типы свечения АНА: цитоплазматический, гранулярный и гомогенный. Сопоставление полученных данных о преобладающих типах свечения у детей с АИГ согласуется с данными Райхельсон К.Л. о выявляемых патогномоничных типах свечения АНА при АИГ у взрослых [6]. Наиболее часто выявляемые типы свечения при АИГ ассоциированы, согласно данным сайта https://www.anapatterns.org/, с появлением антител к цитоплазме, к нуклеопротеинам и хроматину [11].

Интересно отметить, что от стадии фиброза F0 к F2 снижается доля детей с высоко-позитивным титром АНА ($p < 0,001$), а от стадии фиброза F2 к F4 повышается ($p < 0,05$). Начало заболевания, по-видимому, связано с более интенсивным образованием АНА, что подтверждается нашими данными о выявлении более высоких титров АНА

у детей с АИГ при отсутствии фиброза печени (F0). При циррозе печени (F4) доля детей с высоко-позитивными титрами АНА так же выше, чем при F1 — F3, возможно обусловлено наличием генетической предрасположенности к заболеванию и требует дальнейшего изучения [12].

При динамическом наблюдении за пациентами на фоне терапии титр АНА у большинства детей снизился через год от начала лечения, что было ассоциировано с клинической эффективностью терапии. Данный факт согласуется с данными Ананьевой Л.П. о снижении титров АНА на фоне патогенетического лечения у взрослых с аутоиммунными заболеваниями [13].

ВЫВОДЫ

Определение АНА у детей с АИГ имеет важное клинико-диагностическое значение. Титр АНА соотносится с тяжестью течения заболевания. Определение титра АНА можно использовать как дополнительный критерий оценки эффективности проводимой терапии АИГ у детей.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Klotz W, Herold M. How to test antinuclear antibodies to diagnose autoimmune hepatitis. J Hepatol. 2023 Nov; 79 (5): e206–e207. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.07.006.
2. Гуменюк ОИ, Голобоков ДО, Малахов ГА, Черненков ЮВ, Сулейманова РР, Волкова ОВ. Аутоиммунный гепатит с исходом в цирроз печени в педиатрической практике. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020; (1): 126–129. [Gumeniuk OI, Golobokov DO, Malahov GA, Chernenkov YuV, Sulejmanova RR, Volkova OV. A clinical case of autoimmune hepatitis with outcome in cirrhosis of the liver in pediatric practice. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2020; (1): 126–129. (In Russ.)] https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-173-1-126-129.
3. Рекомендации EASL по лечению аутоиммунного гепатита. J of Hepatol. Русское издание. 2015; 63 (5): 111–150. [EASL recommendations for the treatment of autoimmune hepatitis. J of Hepatol. Russian edition. 2015; 63 (5): 111–150. (In Russ.)]
4. Месова АМ, Сексенбаева РЕ. Аутоиммунный гепатит у детей. Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2016; 3: 16–19. [Medova AM, Seksenbayeva RE. Autoimmune hepatitis in children. Bulletin of the Kazakhstan National University. 2016; 3: 16–19. (In Russ.)] https://cyberleninka.ru/article/n/autoimmunnyy-gepatit-u-detey-1/viewer.
5. Григорьев КИ, Выхристюк ОФ. Аутоиммунный гепатит у детей. Лечебное дело. 2022; (3–4): 4–13. [Grigoriev KI, Vykhristyuk OF (2022). Autoimmune hepatitis in children. Lechebnoe delo. The Journal of General Medicine. 2022; (3–4): 4–13. (In Russ.)] https://doi.org/10.24412/2071-5315-2022-12913.
6. Райхельсон КЛ, Мительглик УА, Зубарева АС, Дунаева НВ, Булгакова ТВ, Лапин СВ, Барановский АЮ, Тотолян АА. Встречаемость аутоантител у больных с аутоиммунными заболеваниями печени и хроническим гепатитом С. Медицинская иммунология. 2013; 15 (4): 351–360. [Raikhelson KL, Mitelglik UA, Zubareva AS, Dunaeva NV, Bulgakova TV, Lapin SV, Baranovsky AYu, Totolian AA. Incidence of autoantibodies in patients with autoimmune liver diseases and chronic hepatitis C. Medical Immunology. 2013; 15 (4): 351–360. (In Russ.)] https://doi.org/10.15789/1563-0625-2013-4-351-360.
7. Жужула АА, Курбатова ОВ, Сновская МА, и др. Информативность определения антинуклеарных антител при системных поражениях соединительной ткани у детей. Российский иммунологический журнал. 2023; 26 (3): 251–258. [Zhuzhula AA, Kurbatova OV, Snovskaya MA, et al. Significane of determining antinuclear antibodies in systemic connective tissue disorders in children. Russian Journal of Immunology. 2023; 26 (3): 251–258.] https://doi.org/10.46235/1028-7221-9961-SOD.
8. Хроленко ПВ, Дьяконова ЕЮ, Фисенко АП, Сурков АН, Дворяковский ИВ, Яцык СП (2019). Эхографическая характеристика поверхностных структур печени при хронических формах патологии органа у детей. Российский педиатрический журнал. 2019; 22 (6), 338–343. [Khrolenko PV, Dyakonova EYu, Fisenko AP, Surkov AN, Dvoryakovsky IV, Yatsyk SP. Echographic characteristics of the surface structures of the liver in chronic forms of organ pathology in children. Rossiiskiy Pediatricheskiy Zhurnal (Russian Pediatric Journal). 2019; 22 (6): 338–343. (In Russ.).] https://doi.org/10.18821/1560-9561-2019-22-6-338-343.
9. Курбатова ОВ, Мовсисян ГБ, Петричук СВ, Парахина ДВ, Демьянов ДС, Купцова ДГ, Радыгина ТВ, Семикина ЕЛ, Потапов АС, Фрейдлин ЕВ. Информативность лабораторных маркеров в оценке стадии фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом первого типа. Аллергология и иммунология в педиатрии. 2023; 1: 53–55. [Kurbatova OV, Movsisyan GB, Petrichuk SV, Parakhina DV, Demyanov DS, Kuptsova DG, Radygina TV, Semikina EL, Potapov AS, Freidlin EV. Informative value of laboratory markers in assessing the stage of liver fibrosis in children with type 1 autoimmune hepatitis. Allergology and Immunology in Paediatrics. 2023; (1): 53–55. (In Russ.)] https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-1-53-55.

10. Flikshteyn B, Amer K, Tafesh Z, Pyrsopoulos NT. Diagnosis of Autoimmune Hepatitis. Clin Liver Dis. 2024 Feb; 28 (1): 37–50. https://doi.org/10.1016/j.cld.2023.06.004.
11. https://www.anapatterns.org/
12. Patel D, Salem A, Kania B, Lewis W, Mahmoud A, Alkomos M. Autoimmune hepatitis presenting with concomitant chronic pancreatitis. Radiol Case Rep. 2023 Jun 15; 18 (9): 2871–2875. https://doi.org/10.1016/j.radcr.2023.05.040. PMID: 37359250; PMCID: PMC10285037.
13. Ананьева ЛП, Гарзанова ЛА, Конева ОА, Старовойтова МН, Десинова ОВ, Овсянникова ОБ, Шаяхметова РУ, Черкасова МВ, Алексанкин АП, Насонов ЕЛ. Динамика аутоантител к топоизомеразе I на фоне лечения ритуксимабом у больных системной склеродермией. Научно-практическая ревматология. 2022; 60 (1): 57–63. [Ananyeva LP, Garzanova LA, Koneva OA, Starovoytova MN, Desinova OV, Ovsyannikova OB, Shayakhmetova RU, Cherkasova MV, Aleksankin AP, Nasonov EL. Anti-topoisomerase 1 antibody level changes after B cell depletion therapy in systemic sclerosis. Rheumatology Science and Practice. 2022; 60 (1): 57–63. (In Russ.)] https://doi.org/10.47360/1995-4484-2022-57-63.