

Katarzyna Sznurkowska<sup>1</sup>,  
Katarzyna Turczyńska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Pediatrii, Gastroenterologii Hepatologii  
i Żywienia Dzieci Gdańskiego Uniwersytetu  
Medycznego

<sup>2</sup>Katedra Medycyny Rodzinnej  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

## Rola autoprzeciwciał w diagnostyce przewlekłych chorób zapalnych u dzieci

### Role of autoantibodies in diagnosis of chronic inflammatory disorders in children

#### STRESZCZENIE

Autoprzeciwciała skierowane przeciw własnym antygenom organizmu są istotnym narzędziem w rozpoznawaniu chorób autoimmunizacyjnych. Mogą one występować także w innych zapaleniach (infekcje) oraz u ludzi zdrowych. Do najważniejszych metod wykrywania autoprzeciwciał należą metoda immunofluorescencji i metoda ELISA. Najstarszymi i najlepiej poznanymi autoprzeciwciałami są przeciwciała przeciwjądrowe (ANA). Mają one największe znaczenie w diagnostyce chorób zapalnych tkanki łącznej u dorosłych. Znaczenie obecności autoprzeciwciał w diagnostyce chorób autoimmunizacyjnych wieku dziecięcego jest bardzo zróżnicowane.

W młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów (MIZS), najczęstszej chorobie zapalnej tkanki łącznej u dzieci, występowanie autoprzeciwciał jest stosunkowo rzadkie. ANA stwierdza się w 25% przypadków, głównie w postaci z zajęciem niewielu stawów i zapaleniem błony naczyniowej oka, a przeciwciała przeciwko cytrulinowanym peptydom osocza (anty-CCP) występują w 2–30% przypadków, najczęściej w postaci wielostawowej. Przeciwciała anty-CCP stwierdza się także w reumatoidalnym zapaleniu stawów, w którym występuje ze znacznie większą częstością. Bardzo rzadko wykrywa się je w innych jednostkach chorobowych oraz u osób zdrowych. Przykładem chorób, w których wykrywanie autoprzeciwciał odgrywa znamioną rolę, są cukrzyca i celiakia. Stwierdzenie przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej (TGA) stanowi kryterium diagnostyczne choroby trzewnej. Obecność co najmniej jednego typowego dla cukrzycy autoprzeciwciała stwierdza się w 90% na początku choroby, a ich pojawienie może wyprzedzać wystąpienie klinicznych objawów. W pracy dokonano przeglądu najważniejszych autoprzeciwciał wykorzystywanych w diagnostyce autoimmunizacyjnych chorób zapalnych u dzieci w reumatologii, gastroenterologii, endokrynologii dziecięcej, przydatnych w praktyce pediatrycznej.

Forum Medycyny Rodzinnej 2015, tom 9, nr 1, 20–29

słowa kluczowe: choroby autoimmunizacyjne, autoprzeciwciała, dzieci

Adres do korespondencji:  
dr n. med. Katarzyna Sznurkowska  
Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Hepatologii  
i Żywienia Dzieci Gdańskiego Uniwersytetu  
Medycznego w Gdańsku  
ul. Nowe Ogrody 1–6, 80–803 Gdańsk  
tel./faks (058) 302 30 31  
e-mail: k.sznurkowska@gumed.edu.pl

Copyright © 2015 Via Medica  
ISSN 1897–3590

## ABSTRACT

Autoantibodies directed against own's body antigens are an essential tool to diagnose autoimmune diseases. They may also be found in other inflammations like infections and in healthy individuals. Direct immunofluorescence and ELISA are the most important methods of their detection. Antinuclear antibodies (ANA) are the oldest and the best known autoantibodies. Their diagnostic utility is the most important for connective tissue disorders in adults. The significance of presence of autoantibodies in childrens' autoimmune diseases is varied. They are relatively rare in juvenile chronic arthritis, ANA are present in 25% cases of this disease, mainly in oligoarthritis, while anticyclic citrullinated peptides antibodies (anti-CCP) are detected in 2–30% cases — most frequently in polyarthritis. Anti-CCP are also found in rheumatoid arthritis with higher rate, whereas they are rarely detected in other disorders and in healthy individuals. Coeliac disease and type 1 diabetes are an example of the diseases, for which detection of autoantibodies plays an important role. Presence of antibodies against tissue transglutaminase is one of diagnostic criteria of this entity. In 90% of diabetes cases at least one diabetes-related autoantibody is detected at the onset of the disease. The presence of the autoantibodies may precede its clinical manifestations. In this paper we have reviewed basic autoantibodies in pediatric rheumatology, gastroenterology and endocrinology, useful in pediatric practice.

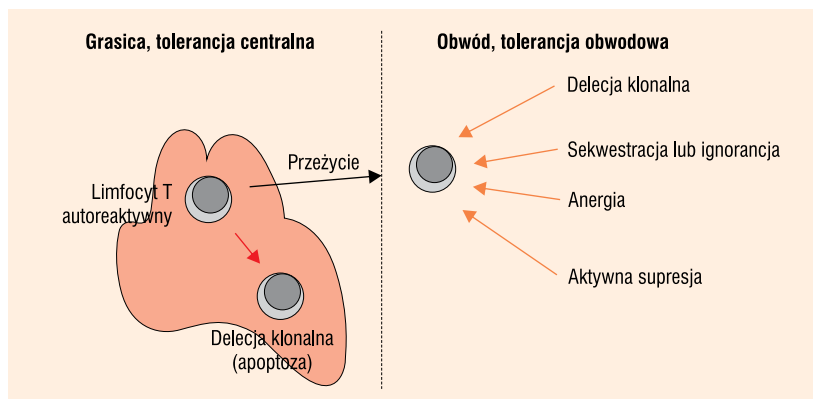
Forum Medycyny Rodzinnej 2015, vol 9, no 1, 20–29

**key words:** autoimmune disorders, autoantibodies, children

**D**efinicja autoprzeciwciał zawarta jest w ich nazwie. Są to przeciwciała skierowane przeciw antygenom organizmu. Większości lekarzy słusznie kojarzą się z chorobami autoimmunizacyjnymi, jednak pogląd taki jest dużym uproszczeniem. Obecnie, dzięki rozwojowi wiedzy na temat funkcjonowania układu immunologicznego, wiemy, iż tworzenie autoprzeciwciał związane jest z każdym procesem, w którym dochodzi do uszkodzenia tkanek, niezależnie od jego etiologii. **Powstawanie autoprzeciwciał ma więc również miejsce w niezwiązanych z autoimmunizacją procesach zapalnych, a także na pewnym niskim poziomie w stanie fizjologii [1].** W czasie obumierania i wymiany komórek dochodzi bowiem do odkrywania autoantygenów i indukcji autoreaktywnych limfocytów. Powstałe kompleksy antygen-przeciwciała są sprawnie usuwane przy udziale dopełniacza, a autoreaktywne limfocyty eliminowane po-

przez mechanizmy tolerancji centralnej i obwodowej (ryc. 1) [2].

Tolerancja w stosunku do własnych antygenów, obok eliminacji patogenów oraz komórek nowotworowych, jest jedną z istotnych funkcji układu immunologicznego. Bardzo dużym źródłem wiedzy na temat mechanizmów tolerancji immunologicznej są wrodzone niedobory immunologiczne, dzięki którym możemy przekonać się o klinicznym znaczeniu poszczególnych białek czy komórek. Przykładem zaburzeń autotolerancji centralnej jest zespół APECED, w którym na skutek mutacji genu *AIRE*, odpowiadającego za selekcję limfocytów autoreaktywnych w grasicy, dochodzi do rozwoju chorób autoimmunizacyjnych [3, 4]. Z kolei sprzężony z płcią zespół IPEX jest wyrazem genetycznie uwarunkowanej dysfunkcji komórek regulatorowych, stanowiących jeden z ważniejszych elementów tolerancji obwodowej [5].



**Rycina 1.** Mechanizmy tolerancji immunologicznej (zmodyfikowano na podstawie: Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T. Immunologia, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2012)

**Tabela 1**

**Podział chorób autoimmunizacyjnych ze względu na lokalizację**

Narządowo swoiste	Narządowo nieswoiste
Cukrzyca	Toczeń
Autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy (choroba Hashimoto, choroba Gravesa-Basedowa)	Twardzina układowa
Inne endokrynopatie, choroba Addisona, niedoczynność przytarczyc, poliendokrynopatie (APS1, APS2), cytopenie autoimmunizacyjne (ITP, AIHA)	RZS, MIZS
Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby	Zapalenia naczyń
<i>Miastenia gravis</i>	
Niedokrwistość Addisona-Biermera	

ITP (*immune thrombocytopenia*) — małopłytkowość samoistna; AIHA (*autoimmune hemolytic anemia*) — autoimmunizacyjna niedokrwistość hemolityczna; APS autoimmunizacyjna poliendokrynopatia; RZS — reumatoidalne zapalenie stawów; MIZS — młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów

**Tabela 2**

**Podział chorób autoimmunizacyjnych ze względu na mechanizm odpowiedzi immunologicznej**

Z przewagą odpowiedzi komórkowej	Z przewagą odpowiedzi humoralnej
Cukrzyca	Toczeń rumieniowaty trzewny
Choroba Hashimoto	Twardzina układowa pęcherzyca
Stwardnienie rozsiane	ITP, AIHA
Bielactwo	Choroba Gravesa-Basedowa,
IV typ nadwrażliwości	<i>Miastenia gravis</i>
	II i III typ nadwrażliwości

ITP (*immune thrombocytopenia*) — małopłytkowość samoistna; AIHA (*autoimmune hemolytic anemia*) — autoimmunizacyjna niedokrwistość hemolityczna

Najczęściej jednak do przełamania tolerancji dochodzi w chorobach nabytych, pod wpływem nie do końca poznanych czynników zewnętrznych, przy udziale predyspozycji genetycznych [2]. Za uszkodzenie tkanek odpowiedzialne są autoreaktywne limfocyty T i B,

obecność autoprzeciwciał jest więc humoralnym przejawem autoimmunizacji.

Mimo że obecność autoprzeciwciał towarzyszy wielu chorobom autoimmunizacyjnym, ich rola w patogenezie tych schorzeń jest niejasna. Nie wiadomo, czy są one przyczyną, czy skutkiem procesu zapalnego. Najważniejszy z praktycznego punktu widzenia jest fakt, że obecność autoprzeciwciał jest pomocna w diagnostyce wielu chorób. I choć przedmiotem niniejszego opracowania jest zastosowanie autoprzeciwciał w diagnostyce chorób zapalnych u dzieci, to należy podkreślić, że większość omawianych schorzeń występuje przede wszystkim u ludzi dorosłych.

Coraz liczniej wykrywane autoprzeciwciała wskazują, że ich potencjalnym celem mogą być niemal wszystkie białka organizmu. Należą do nich

- białka strukturalne organelli komórkowych (jądro, jąderko, aparat podziałowy, mitochondria, mikrosomy, białka cytoszkieletu);
- enzymy (GAD — dekarboksylaza kwasu glutaminowego, MPO — mieloperozydaza);
- hormony (hormony: tarczycy, proinsulina);
- receptory komórkowe [receptory dla TSH (*thyroid-stimulating hormone*), dla acetylcholin];
- białka substancji międzykomórkowej i wiele innych (białko błony podstawnej kłębków nerkowych).

Ze względu na lokalizację procesu zapalnego podzielono choroby autoimmunizacyjne na narządowo swoiste i nieswoiste [2] (tab. 1).

Inny podział oparty jest na przeważającym mechanizmie odpowiedzi immunologicznej: komórkowym lub humoralnym [2] (tab. 2).

Należy podkreślić, że nawet w zapaleniach, w których dominuje typ komórkowy odpowiedzi, stwierdza się obecność autoprzeciwciał (cukrzyca).

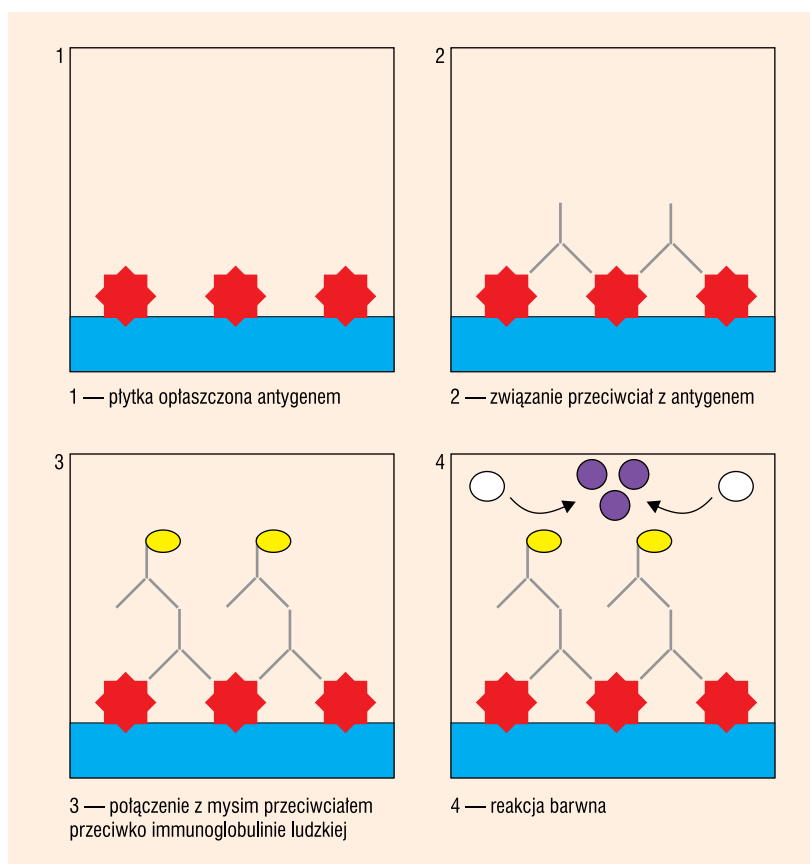
Zlecając badanie, lekarz powinien mieć niezbędną wiedzę na temat sposobów wykrywania autoprzeciwciał, a także umieć właściwie interpretować wynik badania. Istnieje

kilka metod wykrywania autoprzeciwciał. Wszystkie opierają się na zasadzie stanowiącej jedno z ważniejszych pryncypiów immunologii, iż antygen łączy się swoiście z odpowiadającym mu przeciwciałem. Jeżeli zatem chcemy wykryć w surowicy chorego przeciwciało, musimy doprowadzić do połączenia ze swoistym dla niego antygenem. I tak, w metodzie immunofluorescencji, będącej najstarszą metodą wykrywania autoprzeciwciał, źródłem antygenów są skrawki tkanek zwierzęcych lub linie komórek ludzkich zawierające dany antygen, na przykład tkanka przełyku małpy dla wykrywania przeciwciał przeciw *endomyzium* mięśni gładkich, czy ludzkie komórki nabłonkowe linii HEP-2 dla wykrycia przeciwciał przeciwjądrowych, tak zwanych ANA HEP-2 [6, 7]. Kompleks antygen-przeciwciało nie jest oczywiście widoczny dla badacza. Dla jego uwidocznienia potrzebny jest odpowiedni system detekcji, który w przypadku metody immunofluorescencji stanowi przeciwciało mysie reagujące z każdą, niezależnie od swoistości immunoglobuliną ludzką połączoną z barwnikiem fluorescencyjnym, powodującym wyraźne świecenie w mikroskopie. Metoda immunofluorescencji (IF) należy do metod półilościowych, a wynik wyrażany jest poprzez największe rozcieńczenie surowicy powodujące dodatnią reakcję, to jest widoczne świecenie pod mikroskopem. I tak, miano ANA 1:40 oznacza, że więcej niż 40-krotne rozcieńczenie surowicy nie powodowało świecenia, zatem liczba poszukiwanych przeciwciał nie była wysoka. Należy podkreślić, że odczyn immunofluorescencji, którym posługujemy się w przypadku diagnostyki procesów autoimmunizacyjnych, nosi nazwę immunofluorescencji pośredniej, ponieważ najpierw należy doprowadzić do połączenia antygen z przeciwciałem, a następnie wykryć ten kompleks. W odróżnieniu od immunofluorescencji bezpośredniej, która wykrywa istniejące już kompleksy immunologiczne, na przykład w tkance nerkowej w przebiegu tocznia rumieniowatego.

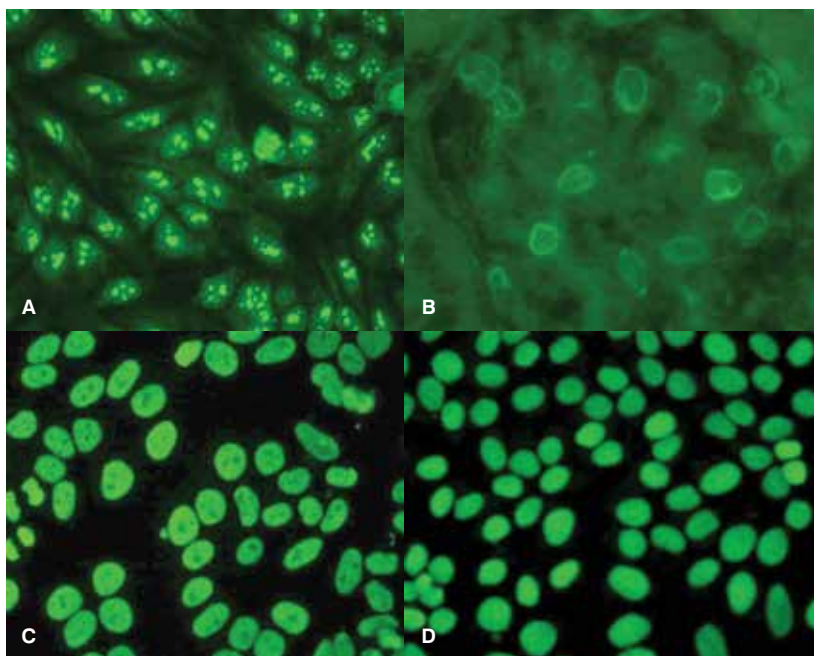
Najszerzej stosowana w medycynie metoda ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) oparta jest na tej samej zasadzie. W odróżnieniu od IF surowica pacjenta reaguje nie z antygenem obecnym w tkance, lecz z izolowanym antygenem umieszczonym w dołku, na płycie, a do detekcji używa się reakcji barwnej. Zachodzi ona po połączeniu z mysim przeciwciałem przeciwko immunoglobulinie ludzkiej sprzężonym z substratem dla reakcji barwnej, po dodaniu enzymu. Intensywność zabarwienia mierzona jest kolorymetrycznie, a wynik wyrażany ilościowo [6, 7]. Poszczególne etapy reakcji ELISA przedstawiono na rycinie 2.

Porównując obie powyższe metody należy podkreślić, że immunofluorescencja pośrednia jest mniej dokładna, a otrzymując wynik nie wiadomo, z jakim konkretnie antygenem reaguje surowica, nie można też dokładnie określić

**”  
Badanie przy użyciu  
immunofluorescencji  
powinno być więc  
traktowane jako wstępne,  
przesiewowe**



**Rycina 2.** Etapy reakcji typu ELISA (zmodyfikowano na podstawie: Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T. Immunologia, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2012)



**Rycina 3.** Typy fluorescencji jądra komórkowego: **A.** jąderkowy; **B.** obwodowy; **C.** plamisty; **D.** homogenny

liczby obecnych autoprzeciwciał. Badanie przy użyciu immunofluorescencji powinno być więc traktowane jako wstępne, przesiewowe [6, 8]. Obecnie wiadomo, że wykrywane od wielu lat w IF przeciwciała przeciw *endomysium* reagują z obecną w nim, wykrywaną za pomocą ELISA, transglutaminazą tkankową [9]. Otrzymując dodatni wynik ANA Hep-2, nie wiadomo, z jakim antygenem jądra komórkowego połączyły się autoprzeciwciała obecne w surowicy pacjenta. Dla ustalenia rozpoznania konieczne jest wykonanie dalszych dokładniejszych badań (ELISA, RIA, immunoblot).

Należy podkreślić, że metoda ELISA znalazła zastosowanie w wielu innych dziedzinach medycyny, takich jak diagnostyka infekcji czy onkologia.

W metodzie radioimmunologicznej (RIA, *radioimmunoassay*) do detekcji powstałego połączenia antygen-przeciwciała wykorzystuje się mysie przeciwciało sprzężone z izotopem, a metoda ta cechuje się bardzo dużą czułością. Służy do wykrywania przeciwciał, które znajdują się w surowicy pacjenta w niewielkich ilościach, na przykład przeciwciał przeciw dwuniciowemu DNA (dsDNA) [8, 10].

Coraz częściej w diagnostyce schorzeń autoimmunizacyjnych stosuje się technikę immunoblot, w której posłużono się wysoko oczyszczonymi, elektroforetycznie rozdzielonymi, unieruchomionymi na pasku membrany autoantygenami, z którymi może reagować badana surowica, a powstałe połączenia wykryte są przy udziale izotopu czy reakcji barwnej [8].

W dalszej części artykułu zostaną omówione autoimmunizacyjne choroby u dzieci, w których wykrywanie autoprzeciwciał znalazło zastosowanie.

### **AUTOPRZECIWCIAŁA W REUMATOLOGII DZIECIĘCEJ**

Wykrywanie autoprzeciwciał w reumatologii dziecięcej ma znacznie mniejsze zastosowanie, niż u ludzi dorosłych. Dzieje się tak dlatego, że najczęstszą zapalną chorobę tkanki łącznej u dzieci, jaką jest młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS), cechuje stosunkowo rzadkie występowanie autoprzeciwciał, a zachorowalność na inne choroby reumatologiczne, takie jak toczeń czy twardzina, jest dużo niższa, w porównaniu do populacji dorosłych [11, 12].

**Do najstarszych, najlepiej poznanych i najbardziej dostępnych diagnostycznie autoprzeciwciał należą przeciwciała przeciwjądrowe (ANA, *anti-nuclear antibodies*). Reagują one ze stałymi i rozpuszczalnymi składnikami jądra komórkowego. Do ich oznaczania stosuje się najczęściej metodę immunofluorescencji pośredniej.** Wykorzystując linię komórkową HEp-2, można wyodrębnić pięć podstawowych typów fluorescencji jądra komórkowego: typ homogenny, obwodowy, jąderkowy, plamisty oraz centromerowy [6, 8] (ryc. 3).

Najczęściej stwierdzanym typem fluorescencji jest plamiste „świecenie” jąder komórkowych. Nie jest ono swoiste dla żadnej z układowych zapalnych chorób tkanki łącznej i właśnie ten typ ANA występuje w 25% przypadków MIZS, stanowiąc marker wczesnej postaci skąpostawowej, z towarzyszącym zapaleniem błony naczyniowej oka. W pozosta-

łych postaciach MIZS występowanie ANA jest rzadkie [8, 13].

Czynnik reumatoidalny klasy IgM, czyli tak zwany klasyczny czynnik reumatoidalny (RF-IgM), wykryty ponad pół wieku temu przez Waalera i Rosego, jest autoopreciwciałem skierowanym przeciwko domenom CH2 CH3 ludzkiej immunoglobuliny klasy G [2]. Pozostając do dziś głównym serologicznym markerem RZS (reumatoidalne zapalenie stawów), zaliczanym do kryteriów rozpoznania tej choroby, ma również stosunkowo niewielkie znaczenie w MIZS. Stwierdza się go jedynie w 4–14% przypadków w początkowej fazie choroby [14]. Stosunkowo niedawno wykryte przeciwciała przeciw cytrulinowym peptydom osocza (anty-CCP) obecne są u 40–80% chorych z RZS i w 2–40% przypadków MIZS, najczęściej w wielostawowej postaci tej choroby [15–17]. Należy podkreślić, że obecność tych autoopreciwciał, mimo niewielkiej — zwłaszcza dla MIZS — czułości, charakteryzuje się dość dużą swoistością. **Anty-CCP występują bardzo rzadko w innych, niż RZS i MIZS, chorobach tkanki łącznej, a praktycznie niespotykane są u ludzi zdrowych [16]. Z tego względu warto je wykonywać u pacjentów z podejrzeniem młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów, zwłaszcza, że ich stężenie koreluje z ciężkością choroby [18].** Powyższe fakty wskazują, że rozpoznanie najczęściej występującej u dzieci choroby zapalnej tkanki łącznej opiera się nadal na obrazie klinicznym oraz bardzo szczegółowej i żmudnej diagnostyce różnicowej, ponieważ jak dotąd nie udało się ustalić żadnego czułego i swoistego serologicznego lub biochemicznego markera tego schorzenia. Pozostałe, rzadziej występujące u dzieci schorzenia reumatologiczne charakteryzują się częstszym występowaniem ANA i RF-IgM [6, 8, 14, 19] (tab. 3).

Wykrywane w IF przeciwciała przeciwjądrowe wykazują fluorescencję homogenną lub obwodową u chorych na toczeń rumieniowaty układowy, jąderkową w twardzinie układowej,

centromerową zaś w zespole CREST [6, 8]. W pozostałych przypadkach stwierdza się niespecyficzny, plamisty typ fluorescencji. **W przypadku dodatniego wyniku ANA HEp-2, należy następnie wykonać badania w kierunku obecności autoopreciwciał przeciw rozpuszczalnym antygenom jądra (ENA, extractable nuclear antigens), które są charakterystyczne dla poszczególnych zapalnych chorób tkanki łącznej (tab. 4).** Ich oznaczenie należy także rozważyć w przypadku wyniku ujemnego, gdy objawy kliniczne przemawiają za rozpoznaniem schorzenia reumatologicznego. Przeciwciałami o największym znaczeniu klinicznym reagującymi z ENA są przeciwciała przeciw Sm, przeciw RNP, przeciw SS-A/Ro, przeciw SS-B/La, przeciw Scl-70 oraz przeciw Jo-1.

Kolejną grupę schorzeń reumatologicznych stanowią zapalenia naczyń. W najczęściej stwierdzanej u dzieci chorobie Schoenleina-Henocha i chorobie Kawasaki autoopreciwciała stwierdza się rzadko, a rozpoznanie opiera się na charakterystycznym obrazie klinicznym [12].

Odrębną, bardzo rzadką w wieku rozwojowym grupę, stanowią zapalenia naczyń z obecnością ANCA (przeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów; *anti-neutrophil cytoplasm antibodies*). Reagują one z enzymami cytoplazmy: mieloperoksydazą obecną w okołojądrowej części cytoplazmy (pANCA, *perinuclear ANCA*) i rozmieszczoną równomiernie w cytoplazmie proteinazą 3 (cANCA,



**Obecnie obowiązującym standardem diagnostycznym jest oznaczenie autoopreciwciała przeciw enzymowi obecnemu w *endomysium* mięśni gładkich — transglutaminazie tkankowej (anty-TGA) — metodą ELISA**

**Tabela 3**

**Częstość występowania wybranych autoopreciwciał w chorobach tkanki łącznej**

Jednostka chorobowa	Częstość występowania	
	ANA	RF
Toczeń rumieniowaty układowy	95–100%	15–35%
Twardzina układowa	94%	20–30%
Zapalenie wielomięśniowe/skórno-mięśniowe	20–80%	5–10%
Zespół Sjögrena	48–96%	70–95%
MIZS	25%	15–30%

MIZS — młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów; ANA (*anti-nuclear antibodies*) — przeciwciała przeciwjądrowe; RF — czynnik reumatoidalny

**Tabela 4**

**Przeciwciała przeciw rozpuszczalnym antygenom jądra komórkowego**

Nazwa	Antygen	Jednostka chorobowa
Sm (Smith)	Kompleks rybonukleoproteinowy	Toczeń rumieniowaty układowy
SS-A (Ro)	Kompleks małocząsteczkowego RNA i dwóch białek o ciężarze cząsteczkowym 52 i 60 kDa	Zespół suchości Toczeń rumieniowaty układowy Toczeń noworodków
SS-B (La)	Fosfoproteina o ciężarze cząsteczkowym 48 kDa wspomagająca RNA-polimerazę III	Zespół suchości Toczeń rumieniowaty układowy
Scl-70	DNA-topoizomeraza I	Twardzina układowa
Jo-1	Syntetaza histydylo-tRNA	Zapalenie wielomięśniowe

**Tabela 5**

**Znaczenie diagnostyczne przeciwciał przeciwko cytoplazmie neutrofilów (ANCA, anti-neutrophil cytoplasmic antibodies)**

Typ przeciwciał	Znaczenie diagnostyczne	Występowanie
pANCA	Mikroskopowe zapalenie naczyń	40–70%
	Zespół Churge-Straussa	40–70%
	Guzkowe zapalenie tętnic	60–70%
	PSC ( <i>primary sclerosing cholangitis</i> )	5–25%
	<i>Colitis ulcerosa</i>	60%
cANCA	Ziarniniak Wegenera	80–90%
	Zespół Churge-Straussa	10–20%
	Guzkowe zapalenie tętnic	10–15%

pANCA (*perinuclear antineutrophil antibodies*) — typ okołojądrowy ANCA; cANCA (*antineutrophil antibodies*) — typ cytoplazmatyczny ANCA



**Kolejnym schorzeniem, w którym obecność autoprzeciwciał stanowi kryterium diagnostyczne, jest autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (AIH)**

*cytoplasmic ANCA*). Wykrywane są one metodą immunofluorescencji pośredniej i ELISA, i towarzyszą niezwykle rzadkim u dzieci chorobom, takim jak mikroskopowe zapalenie naczyń czy ziarniniak Wegenera oraz niektórym schorzeniom przewodu pokarmowego (tab. 5) [12].

**AUTOPRZECIWCIAŁA  
W GASTROENTEROLOGII DZIECIĘCEJ**

Celiakia jest klasycznym przykładem choroby autoimmunizacyjnej przewodu pokarmowego, w której diagnostyka serologiczna oparta na stwierdzeniu obecności autoprzeciwciał jest istotnym elementem rozpoznania. Obecnie obowiązującym standardem diagnostycznym jest oznaczanie autoprzeciwciała przeciw enzymowi obecnemu w *endomysium* mięśni gładkich — transglutaminazie tkankowej (anty-TGA) — metodą ELISA. Te same prze-

ciwciała można uwidocznic w immunofluorescencji pośredniej z użyciem mięśniówki gładkiej przełyku małpy-przeciwciała przeciw *endomysium* (EmA), wykonywanej od wielu lat. Oba badania cechują się bardzo wysoką, wynoszącą niemal 100% czułością oraz swoistością [20].

W surowicy osób z chorobą trzewną mogą być także obecne przeciwciała przeciw gliadynie (nie jest to autoprzeciwciało!), ale czułość tego testu jest znacząco mniejsza, w porównaniu do wymienionych wcześniej oznaczeń (80%). Pewną odmianę poprzedniego badania stanowi wykrywanie przeciwciał przeciw deaminowanemu peptydom gliadyny. W przeciwieństwie do metody opartej na wykorzystaniu natywnego antygenu cechuje się ono czułością i swoistością porównywalną z TGA i EmA, i coraz częściej zastępuje klasyczne przeciwciała przeciw gliadynie [20].

Kolejnym schorzeniem, w którym obecność autoprzeciwciał stanowi kryterium diagnostyczne, jest autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (AIH) [21]. To właśnie obecność różnych rodzajów autoprzeciwciał stanowi podstawę do wyróżnienia trzech podtypów AIH, jednak u dzieci typ III AIH praktycznie nie występuje [21, 22] (tab. 6).

Na uwagę zasługuje fakt, że autoimmunizacyjne zapalenie wątroby, mimo iż jest chorobą jednego narządu, charakteryzuje się występowaniem zarówno przeciwciał narządowo swoistych (LKM, SLA) oraz nieswoistych (ANA, SMA).

**Tabela 6**

**Klasyfikacja autoimmunologicznego zapalenia wątroby**

Typ AIH	Przeciwciała	Antygen
Typ I	ANA ( <i>anti-nuclear antibodies</i> ) i/lub SMA ( <i>smooth muscle antibodies</i> )	Aktyna
Typ II	anty LKM ( <i>liver/kidneys microsomes</i> ) anty LC-1 ( <i>liver cytosol</i> )	Cytochrom p450 Bliżej nieokreślone antygeny cytoplazmy hepatocytów
Typ III	Anty SLA ( <i>soluble liver antigen</i> ) Anty LP ( <i>liver, pancreas</i> )	Bliżej nieokreślone antygeny hepatocytów i komórek trzustki

ANA — przeciwciała przeciwjądrowe; SMA — przeciwciała przeciw mięśniom gładkim; anty-LKM — przeciwciała przeciw frakcji mikrosomalnej komórek wątrobowych i nerkowych; anty-LC1 — przeciwciała przeciwcytosolowe; anty-SLA — przeciwciała przeciw rozpuszczalnemu antygenom komórek wątrobowych

Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ), do których zalicza się chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego (CU, *colitis ulcerosa*) stanowią najczęstszą grupę autoimmunizacyjnych chorób zapalnych przewodu pokarmowego. Ich rozpoznanie w praktyce opiera się na objawach klinicznych oraz obrazie endoskopowym i patomorfologicznym, a badania serologiczne nie zostały uznane za kryterium diagnostyczne w NZJ [23]. Podkreśla się jednak fakt, że autoprzeciwciała oraz przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) występują często w NZJ. Ponadto w obu jednostkach chorobowych stwierdza się odmienne typy przeciwciał. Diagnostyka serologiczna może być zatem pomocna w różnicowaniu między obiema chorobami [24].

**W chorobie Leśniowskiego-Crohna największe znaczenie ma obecność ASCA (które nie jest autoprzeciwciałem) wykrywanego za pomocą IF w 60–70% przypadków tej choroby. Dla wrzodziejącego zapalenia jelit charakterystyczne jest występowanie wspomnianych wcześniej pANCA (60–80%) [23].**

Na zakończenie należy wspomnieć o rzadkim w wieku rozwojowym pierwotnym stwardniającym zapaleniu dróg żółciowych (PSC, *primary sclerosing cholangitis*). W chorobie tej, podobnie jak w *colitis ulcerosa*, w surowicy obecne są pANCA, a częstość ich występowania wynosi 88%. Znany jest też fakt jednoczesnego występowania obu tych scho-

zeń, u 20–80% pacjentów z PSC stwierdza się wrzodziejące zapalenie jelita grubego [25].

**AUTOPRZECIWCIAŁA  
W ENDOKRYNOLOGII DZIECIĘCEJ**

Wykrywanie autoprzeciwciał stanowi ważną rolę w diagnostyce niektórych chorób endokrynologicznych wieku dziecięcego. Do chorób tych należą cukrzyca typu 1 i autoimmunizacyjne zapalenia tarczycy.

Spośród pediatrycznych endokrynopatii najczęstszą i najcięższą jest cukrzyca. Jest ona typowym narządowo swoistym schorzeniem, w którym dochodzi do ataku autoreaktywnych limfocytów (przede wszystkim T) na wyspy trzustki. Mimo przewagi odpowiedzi typu komórkowego w procesie zapalnym, w surowicy chorych stwierdza się autoprzeciwciała.

Należą do nich:

- ICA — przeciwciała przeciw komórkom wysp trzustki (przeciwwyspowe, *islet cell antibodies*), wykrywane za pomocą IF u 85% chorych;
- Anty GAD (przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego), u 50% chorych, metoda ELISA;
- IAA — przeciwciała przeciwiinsulinowe (*insulin autoantibodies*), u 50% chorych, wykrywalne za pomocą RIA;
- IA-2 — przeciw fosfatazom tyrozynowym wysp trzustki, 50–85%, metoda ELISA.

Już w momencie rozpoznania u 90% pacjentów stwierdza się co najmniej jedno



**Już w momencie rozpoznania u 90% pacjentów stwierdza się co najmniej jedno z wymienionych przeciwciał**





**Obecność autoprzeciwciał stanowi niezbędne kryterium diagnostyczne limfocytarnego zapalenia tarczycy (choroba Hashimoto)**

z wymienionych przeciwciał [26]. Wiadomo także, że powstanie autoprzeciwciał może wyprzedzać pojawienie się klinicznie jawnej choroby [27]. Póki jednak leczenie cukrzycy jest wyłącznie substytucyjne i nie ma żadnego sposobu, aby zapobiegać jej rozwojowi, trudno zalecać przesiewowe badanie w zdrowej populacji lub nawet u krewnych chorych z cukrzycą typu 1, zwłaszcza, że przeciwciała te mogą pojawiać się także u osobników, u których mimo ich obecności, cukrzyca nie rozwinie się [27].

Przeciwciała przeciw różnym elementom komórek tarczycy stosowane są od wielu lat w diagnostyce zapaleń autoimmunizacyjnych tarczycy, których częstość stale rośnie, również w wieku rozwojowym. Obecność autoprzeciwciał stanowi niezbędne kryterium diagnostyczne limfocytarnego zapalenia tarczycy (choroba Hashimoto). **Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej TPO stwierdza się na początku choroby u 75% pacjentów, a w miarę jej trwania u niemal wszystkich chorych.** Mniejszą czułością charakteryzują się przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie, które stwierdza się w 20% przypadków na początku choroby, a w miarę jej rozwoju u 50% [28]. Znacznie rzadszym u dzieci zapaleniem tarczycy jest choroba Gravesa-Basedowa, w której aż w 96% przypadków obecne są przeciwciała przeciwko receptorowi dla TSH. Należy podkreślić, że w schorzeniu tym stwierdza się także wymieniane wcześniej autoprzeciwciała przeciw TPO oraz tyreoglobulinie [29].

Omówienie występowania autoprzeciwciał w pozostałych specjalnościach medycyny, takich jak nefrologia, hematologia czy neurologia dziecięca, przekracza założenia niniejszego opracowania, choć w każdej z tych dziedzin istnieją schorzenia autoimmunizacyjne, w których diagnostyka immunologiczna odgrywa istotną rolę.

**WNIOSKI**

1. Znaczenie wykrywania autoprzeciwciał w chorobach autoimmunizacyjnych u dzieci jest bardzo zróżnicowane — od chorób, w których obecność autoprzeciwciał w surowicy jest niezbędna dla rozpoznania lub stanowi kryterium diagnostyczne, po choroby, w których występują one rzadko lub ich stwierdzenie nie ma znaczenia, ze względu na małą swoistość.
2. W chorobach autoimmunizacyjnych, w których nie znaleziono dotychczas markerów immunologicznych (na przykład MIZS) należy poszukiwać czułych i swoistych serologicznych wskaźników procesu autoimmunizacji (nowe autoprzeciwciała).
3. Biorąc pod uwagę fakt, że wiele autoprzeciwciał występuje u ludzi zdrowych lub towarzyszy nieautoimmunizacyjnym zapaleniom, należy wnikliwie rozważyć wskazania do ich wykonania i nie zlecać ich w przypadku, gdy objawy są skąpe lub zupełnie niecharakterystyczne.

**PIŚMIENNICTWO**

1. Sheldon J. Laboratory testing in autoimmune rheumatic diseases. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2004; 18: 249–269.
2. Wańkiewicz-Kalińska A. Zjawiska autoimmunizacyjne. W: Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T. *Immunologia*, PWN, Warszawa 2012: 360–362.
3. De Martino L., Capalbo D., Improda N. i wsp. APECED: A Paradigm of Complex Interactions between Genetic Background and Susceptibility Factors. *Front Immunol.* 2013; 4: 331.
4. Jääskeläinen J., Perheentupa J. Autoimmune polyendocrinopathy-candidosis-ectodermal dystrophy (APECED) — a diagnostic and therapeutic challenge. *Pediatr. Endocrinol. Rev.* 2009; 7: 15–28.
5. Verbsky J.W., Chatila T.A. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (IPEX) and IPEX-related disorders: an evolving web of heritable autoimmune diseases. *Curr. Opin. Pediatr.* 2013; 25: 708–714.
6. Satoh M., Del Mercado M.V., Chan E.K. Clinical interpretation of antinuclear antibody tests in systemic

- rheumatic diseases. *Mod. Rheumatol.* 2009; 19: 219–228.
7. Kern P., Kron M., Hiesche K. Measurement of Antinuclear Antibodies: Assessment of Different Test Systems. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2000; 7: 72–78.
  8. Kumar Y., Bhatia A., Minz R.W. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn. Pathol.* 2009; 4: 1.
  9. Dieterich W., Ehnis T., Bauer M., i wsp. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat. Med.* 1997; 7: 797–801.
  10. Derksen R.H., Bast E.J., Jacobs J.W. A comparison between Farr radioimmunoassay and a new automated fluorescence immunoassay for the detection of antibodies against double stranded DNA in serum. *Ann. Rheum. Dis.* 2002; 61: 1099–1102.
  11. McGhee J.L., Kickingbird L.M., Jarvis J.N. Clinical utility of antinuclear antibody tests in children. *BMC Pediatrics* 2004; 4: 13.
  12. Laxer R.M., Bensler S.M. Pediatric systemic lupus erythematosus, dermatomyositis, scleroderma and vasculitis. W: Firestein G.S., Budd R.C., Sherine E.G., Mc Innes L.B., O'Dell J. *Kelly's Textbook of Rheumatology* Stanford 2012: 1771–1800.
  13. Ravelli A., Felici E., Magni-Manzoni S. i wsp. Patients with antinuclear antibody — positive juvenile idiopathic arthritis constitute a homogeneous subgroup irrespective of the course of joint disease. *Arthritis Rheum.* 2005; 52: 826–832.
  14. Ingegnoli F., Castelli R., Gualtierotti R. Rheumatoid Factors: Clinical Applications. *Dis. Markers* 2013; 35: 727–734.
  15. Avouac J., Gossec L., Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann. Rheum. Dis.* 2006; 65: 845–851.
  16. Lipińska J., Somolewska E., Brózik H. i wsp. Anti-CCP antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis- diagnostic and clinical significance. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2008; 33: 19–23.
  17. Tebo A.E., Jaskowski T., Davis K.W., Whiting A. i wsp. Profiling anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Rheumatology* 2012; 10: 29.
  18. Gilliam B.E., Chauhan A.K., Low J.M. i wsp. Measurement of biomarkers in juvenile idiopathic arthritis patients and their significant association with disease severity: a comparative study. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2008; 26: 492–497.
  19. Cimaz R., Casade A., Rose C. i wsp. Primary Sjögren syndrome in the paediatric age: a multicentre survey. *Eur. J. Ped.* 2003; 162: 661–665.
  20. Wolf J., Hasenclever D., Petroff D. i wsp. Antibody assays in the diagnosis of coeliac disease. *PLOS* 2014; 9: e97853.
  21. Zachou K., Rigopoulou E., Dalekos G.N. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. *J. Autoimmune Dis.* 2004; 1: 2.
  22. Della Corte C., Sartorelli M.R., Sindoni C.D. i wsp. Autoimmune hepatitis in children: an overview of the disease focusing on current therapies. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 24: 739–746.
  23. Bossuyt X. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Clin. Chem.* 2006; 52: 171–181.
  24. Kovács M., Müller K.E., Papp M. i wsp. New serological markers in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20: 4873–4882.
  25. Tsaitas C., Semertzidou A., Sinakos E. Update on inflammatory bowel disease in patients with primary sclerosing cholangitis. *World J. Hepatol.* 2014; 6: 178–87.
  26. Taplin C.E., Barker J.M. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity* 2008; 41: 11–18.
  27. Ziegler A.G., Hummel M., Schenker M. i wsp. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes* 1999; 48: 460–468.
  28. Cappa M., Bizzarri M., Crea F. Autoimmune thyroid disorders in children. *J. Thyroid Res.* 2011; 675–703.
  29. Kamath C., Adlan M.A., Premawardhana L.D. The role of thyrotrophin receptor antibody assays in graves' disease. *J. Thyroid Res.* 2012; 2012: 525–936.