

Lėtinė autoimuninė dilgėlinė: mechanizmai ir nustatymo metodai

Anželika Chomičienė, doc. dr. Audra Blažienė

VU Medicinos fakulteto Krūtinės ligų, alergologijos ir radiologijos klinika

Reikšminiai žodžiai: dilgėlinė, receptoriai, autoantikūnai, imunoglobulinas E, bazofilai.

Santrauka. Didelė dalis lėtinės dilgėlinės atvejų siejami su autoimunitine kilme, nes randama funkcinų antikūnų prieš didelio giminingumo (afiniteto) imunoglobulino E receptorių arba prieš patį imunoglobuliną E. Šie antikūnai sukelia histamino atsipalaidavimą iš bazofilų ir odos putliųjų ląstelių. Autoantikūnai pacientų kraujyje nustatomi įodiniu odos mėginiu su autologiniu serumu ir jų buvimas patvirtinamas *in vitro* laboratoriniu histamino atsipalaidavimo iš donoro bazofilų mėginiu. Pastaruoju metu pradėti taikyti bazofilų aktyvacijos tyrimai.

Pastaraisiais metais 30–50 proc. lėtinės dilgėlinės (LD) atvejų laikomi autoimunitinės kilmės [1], netgi atsirado atskiras terminas – autoimunitinė dilgėlinė [2]. Lėtinė autoimunitinė dilgėlinė (LAD) ir lėtinė idiopatinė dilgėlinė neturi aiškių skiriamųjų klinikinių požymių [3], bet pastebima, kad jai būdinga sunkesnė eiga [4, 5]. LAD gydymas įprastiniais antihistamininiais preparatais dažnai būna neveiksmingas [6].

LĖTINĖS AUTOIMUNITINĖS DILGĖLINĖS PATOGENEZĖ

LAD ligonių kraujyje randama dviejų tipų antikūnų: prieš epitopus, ekspresuojamus didelio giminingumo (afiniteto) IgE receptoriaus (FcεRI) α grandinėje (anti-FcεRIα), ir prieš patį IgE (anti-IgE). LAD sukiantys antikūnai prisijungia prie FcεRI arba paties IgE putliųjų ląstelių ir bazofilų paviršiuje ir sukelia jų degranuliaciją.

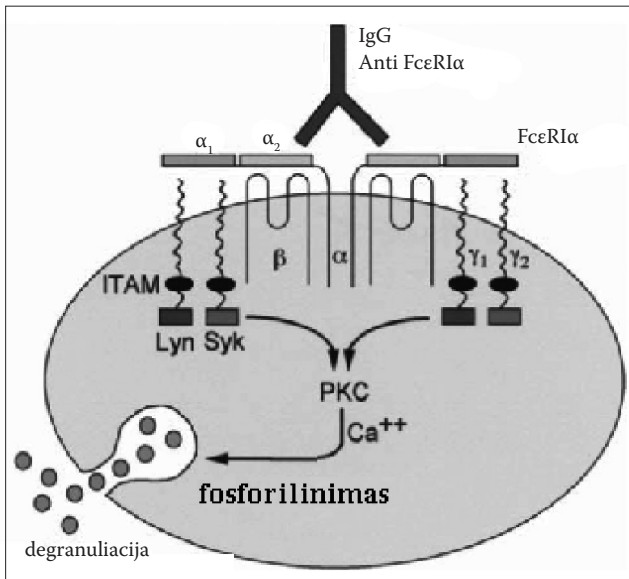
FcεRI – tai molekulinis kompleksas, susidedantis iš keturių subvienetų: α grandinės, β grandinės ir γ grandinių dimero. α grandinė prijungia IgE, o β ir γ grandinės dalyvauja perduodant viduląstelinį signalą. Citoplazminis FcεRI dalis susideda iš tirozino ir leucino liekanų, kurios sudaro imuninio atpažinimo receptorių ITAM (angl. *immunoreceptor tyrosine – based activation motif*). FcεRI susijęs su tirozinkinazėmis (*lyn, syk*), dalyvaujančiomis jo fosforilinimo procese. Suaktyvėjus šiam receptoriui išsiskiria antriniai imuninio signalo

perdavikliai, kurie skatina toliau aktyvėti ląsteles ir jų degranuliaciją [7] (1 pav.). FcεRI tetrameras (αβγ₂) esti žmogaus bazofilų ir putliųjų ląstelių paviršiuje, o trimerinis kompleksas (αγ₂) – ir kitų ląstelių (monocitų, Langerhanso, dentritinių ląstelių) paviršiuje [8].

Dabar žinoma, kad IgG klasės antikūnų prieš FcεRI α grandinės epitopus randama 35–40 proc. LD sergančių asmenų [9–12], o prieš patį IgE – 5–10 proc. [13–15]. Įrodyta, kad yra keletas antikūnų prisijungimo prie receptorių vietų, nes tik apie 30 proc. autoantikūnų susijungia su epitopais, esančiais IgE prisijungimo vietoje. Likusieji autoantikūnai reaguoja su kitais α grandinės epitopais ir skatina bazofilų aktyvėjimą nepriklausomai nuo IgE [10, 16]. Autoantikūnai, kurie susijungia su IgE prisijungimo vietoje esančiais epitopais, vadinami konkuruojančiais su IgE antikūnais.

Funkciškai aktyvūs antikūnai dažniausiai priklauso IgG 1 ir IgG 3, rečiau – IgG 4 klasėms, funkciškai neaktyvūs – IgG 2 klasei [17, 15, 1, 18].

Kai autoantikūnai prisijungia prie ląstelių receptorių, komplemento sistema aktyvinama klasikiniu būdu. Jos produktas C5a komponentas prisijungia prie putliųjų ląstelių receptorių ir padidina histamino sekreciją [15]. Įvairių organizmo organų putliosios ląstelės skiriasi komplemento sistemos receptorių raiška, pvz., odos putliosios ląstelės turi C5a receptorių, o plaučių putliosios ląstelės – ne. Šie duomenys paaiškina, kodėl komplemento sistemos dalyvavimas skatina būtent



1 pav. IgG KLASĖS AUTOANTIKŪNO PRISIJUNGIMAS PRIE FcεRIα (pagal [3])
PKC – proteinkinazė C

odos putliųjų ląstelių aktyvėjimą [19]. Komplemento sistemos suaktyvėjimas klasikiniu būdu ir C5a komponento susidarymas yra svarbūs ne tik odos putliųjų ląstelių aktyvacijos, bet ir pritraukiant bei kaupiant kitas ląsteles pažeistoje odos srityje, kadangi C5a yra neutrofilų ir eozinofilų chemoatraktantas [20].

Anti FcεRIα ir anti IgE antikūnai yra patogeniniai sergant LD. Tai patvirtina šie duomenys:

- autoantikūnai skatina atsipalaiduoti histaminą iš odos putliųjų ląstelių ir bazofilų;
- šių histaminą atpalaiduojančių antikūnų nerandama sveikų žmonių serume;
- sergant LD bazofilų kiekis ir histamino atsipalaidavimas per IgE mechanizmą esti sumažėjęs;
- LAD ligoniams taikant imuninį gydymą (plazmaferezę ir IVIG) pasiekiamas geras klinikinis efektas bei sumažėja autoantikūnų [3].

LĖTINĖS AUTOIMUNINĖS DILGĖLINĖS DIAGNOSTIKA

LAD diagnozuoti taikomas odos mėginys su autologiniu serumu (angl. *autologous skin serum test*, ASST) ir laboratoriniai autoantikūnų nustatymo metodai [3].

Odos mėginys su autologiniu serumu

ASST padeda įtarti LAD, bet diagnozės nepatvirtina. Jis yra nespecifinis ir rodo, kad kraujo serume yra tam tikrų histaminą atpalaiduojančių veiksnių, bet nebūtinai autoantikūnų prieš IgE ar jo receptorius [21]. Teigiamas ASST rezultatas susijęs su ligos sunkumu, jos trukme ir priepuolių intensyvumu [22–25]. ASST šiuo metu yra vienintelis atrankinei pacientų patikrai siūlomas naudoti mėginys [26]. Teigiamas testo rezultatas pavaizduotas 2 paveiksle.

Laboratoriniai autoantikūnų nustatymo būdai

Laboratoriniai *Western blot* analizės [27, 16, 11] ir imunofermentinis (angl. *enzyme linked immunosorbent assay*, ELISA) [17, 28] metodai padeda aptikti antikūnus prieš IgE receptorius ar patį IgE, bet neatskiriami funkciškai aktyvūs antikūnai nuo funkciškai neaktyvių (nesukeliančių bazofilų degranuliacijos). Šiais metodais negalima nustatyti, ar antikūnai dalyvauja LD patogenezėje. Jie gali būti naudingi autoantikūnų specifiškumui nustatyti.

LD sergančio paciento kraujo serume funkciškai aktyvių antikūnų buvimą galima patvirtinti histamino atsipalaidavimo mėginiu [29–31] ar bazofilų aktyvacijos žymenų tyrimu tėkmės citometrijos būdu [32–37]. Šiuo metu histamino atsipalaidavimo iš donoro bazofilų mėginys tebėra auksinis standartas diagnozuojant LAD, tačiau jis sudėtingas ir užtrunka daug laiko. Įvairūs praktiniai ir techniniai mėginio trūkumai riboja jo taikymą klinikinėje praktikoje [6].

Bazofilų aktyvacijos tyrimai

Pastaruoju metu LAD diagnozei patvirtinti bandoma atrasti alternatyvių mėginių, kurie galėtų būti taikomi LD sergančių pacientų atrankinei patikrai. Daug vilčių teikia bazofilų aktyvacijos taikant tėkmės citometriją tyrimai. Tėkmės citometrijos metodas, padedantis įvertinti periferinio kraujo bazofilų aktyvacijos *in vitro*, pagrįstas bazofilų aktyvacijos žymenų raiškos pokyčiais paveikus juos specifiniu alergenu. 3 paveiksle pavaizduota CD63 ir CD203c žymenų raiška bazofilų paviršiuje jiems esant ramybės būklės ir po stimuliacijos alergenu.

Apie bazofilų aktyvacijos tyrimų nustatant CD63 ir CD203c (angl. *cluster of differentiation*, CD, t. y. *leukocitų diferenciacijos antigenai*) žymenų raišką donoro bazofilų paviršiuje pritaikymą LAD diagnozuoti pirmą kartą paskelbta 2000 metais. Šiuo metu publikuoti 6 moksliniai darbai, kuriuose nagrinėjamas bazofilų žymenų raiškos tyrimų taikymas diagnozuojant lėtinę autoimuninę dilgėlinę. Dauguma tyrėjų rėmėsi CD63 žymens raiška ir tik viena tyrėjų grupė – CD203c žymens raiška donoro bazofilų paviršiuje [32–37].

Ląstelių paviršiaus žymuo CD63 (glikoproteinas 53 arba su lizosomomis susijęs membranos baltymas (LAMP)-3) priklauso tetraspanų superšeimai. Jo funkcija nėra visiškai aiški. Kai šis žymuo yra ramybės būklės, jo raiška bazofilų membranos paviršiuje silpna (didesnė jo dalis prisitvirtinusi prie citoplazmoje esančių granulių). Po stimuliacijos per IgE mechanizmą CD63 bazofilų paviršiuje atsiranda per 10 min., susiliejus granulėms su išorine membrana. Jo raiška būna ryškiausia po 20–40 min. CD63 raiška nustatoma ne tik bazofilų, bet ir kitų ląstelių (audinių putliųjų ląstelių, makrofağų ir trombocitų) paviršiuje [38, 33–37].

CD203c (neuralinių ląstelių paviršiaus diferenciacijos antigenas E-NPP3 arba PD-Iβ, B10, gp130RB13-6) priklauso II transmembraninių baltymų, daugiafunkčių ektoenzimų, vadinamųjų ektonukleotidų, pirofosfatazės/fosfodiesterazės (E-NPP) multigenų, kurie katalizuoja kai kurių molekulių skilimą, šeimai. CD203c randamas išskirtinai tik bazofilų/putliųjų ląstelių paviršiuje. Jis nu-

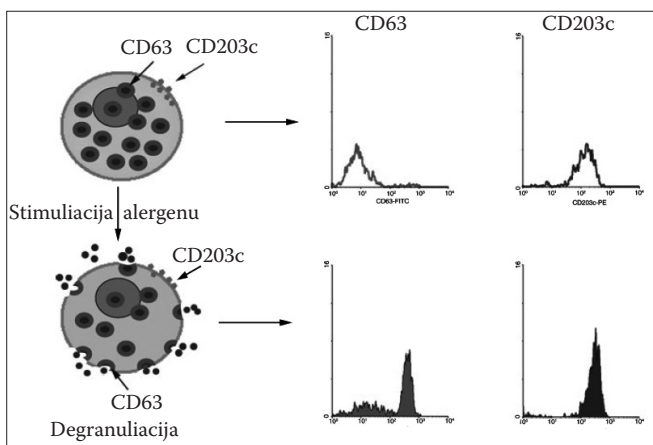


2 pav. TEIGIAMAS ASST (serumo suleidimo vietoje pūkslė didesne nei neigiamos kontrolės vietoje)

statomas ne tik tada, kai ląstelės suaktyvėjusios, bet ir joms esant ramybės būklės. Šis žymuo labai greitai (per 5 min.) atsiranda kaip atsakas į alergeną – anti IgE ir anti FcεRI – stimuliaciją. Aktyviausias jis būna po 5–15 min. CD203c tankis bazofilų paviršiuje esti gerokai mažesnis, palyginti su CD63 [38, 39, 37].

Taikant bazofilų aktyvacijos mėginius LAD diagnozuoti, naudojami ne paties paciento, bet donoro (atopinio arba neatopinio) bazofilai, kurie yra stimuliuojami paciento, sergančio LD, serumu. Dauguma tyrėjų, taikusių bazofilų aktyvacijos mėginius LAD diagnozuoti, nustatė, kad atopinio donoro bazofilai lemia geresnę CD63 ar CD203c žymens raišką [33–35]. Visi tyrėjai nustatė reikšmingą sąsają tarp teigiamo ASST mėginio ir padidėjusios bazofilų aktyvacijos žymenų (CD63 ir CD203c) raiškos.

Bazofilų aktyvacijos ir histamino atsipalaidavimo mėginius sunku standartizuoti, jų rezultatai labai priklauso nuo individualaus donoro bazofilų savybių. Ateityje LAD diagnostikai taikant tėkmės citometrijos metodą numatoma panaudoti chimerinių ląstelių linijas, ekspresuojančias FcεRIα [2, 40].



3 pav. CD63 IR CD203c RAIŠKA, KAI BAZOFILAI YRA RAMYBĖS BŪKLĖS IR JUOS SUAKTYVINUS ALERGENU (pagal [38])

REKOMENDACIJOS

Pacientams, sergantiems lėtine dilgėline, rekomenduojama tirti autoreaktyvacijos rodiklius, nes lėtine dilgėlinė dažnai esti susijusi su autoimuniniu ligos išsivystymo mechanizmu. Tai svarbu ligos prognozei įvertinti ir gydymui parinkti.

CHRONIC AUTOIMMUNE URTICARIA: MECHANISMS AND DIAGNOSTIC TESTS

ANŽELIKA CHOMIČIENĖ, AUDRA BLAŽIENĖ
CLINIC OF CHEST DISEASES, ALLERGOLOGY AND RADIOLOGY
VILNIUS UNIVERSITY

Keywords: urticaria, receptors, autoantibodies, immunoglobulin E, basophils.
Summary. A lot of patients with chronic urticaria have functional autoantibodies against high-affinity immunoglobulin E receptor or against immunoglobulin E, which induce histamine release from basophils and cutaneous mast cells. At present, intracutaneous autologous serum skin test, followed by in vitro basophil histamine-release assay, remains the „gold standart“ for diagnosis. More recently basophil activation tests have been proposed as a new diagnostic tool for chronic autoimmune urticaria.

LITERATŪRA

1. Sheikh J. Autoantibodies to the high-affinity IgE receptor in chronic urticaria: how important are they? *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2005 Oct;5(5):403-7.
2. Grattan CE. Autoimmune urticaria. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2004 May;24(2):163-81.
3. Greaves M. Autoimmune urticaria. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2002 Oct;23(2):171-83.
4. Irinyi B, Szeles G, Gyimesi E, Tumpek J, Heredi E, Dimitrios G, et al. Clinical and laboratory examinations in the subgroups of chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;144(3):217-25.
5. Sabroe RA, Seed PT, Francis DM, Barr RM, Black AK, Greaves MW. Chronic idiopathic urticaria: comparison of the clinical features of patients with and without anti-FcεRI or anti-IgE autoantibodies. *J Am Acad Dermatol.* 1999 Mar;40(3):443-50.
6. Greaves M. Chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2000 Apr;105(4):664-72.
7. Hennino A, Berard F, Guillot I, Saad N, Rozieres A, Nicolas JF. Pathophysiology of urticaria. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2006 Feb;30(1):3-11.
8. Marone G, Spadaro G, Palumbo C, Condorelli G. The anti-IgE/anti-FcεRIα autoantibody network in allergic and autoimmune diseases. *Clin Exp Allergy.* 1999 Jan;29(1):17-27.
9. Fiebiger E, Maurer D, Holub H, Reininger B, Hartmann G, Woisetschlager M, et al. Serum IgG autoantibodies directed against the alpha chain of FcεRI: a selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? *J Clin Invest.* 1995 Dec;96(6):2606-12.
10. Hide M, Francis DM, Grattan CE, Hakimi J, Kochan JP, Greaves MW. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N Engl J Med.* 1993 Jun 3;328(22):1599-604.
11. Tong LJ, Balakrishnan G, Kochan JP, Kinet JP, Kaplan AP. Assessment of autoimmunity in patients with chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 1997 Apr;99(4):461-5.
12. Zweiman B, Valenzano M, Atkins PC, Tanus T, Getsy JA. Characteristics of histamine-releasing activity in the sera of patients with chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 1996 Jul;98(1):89-98.
13. Grattan CE, Francis DM, Hide M, Greaves MW. Detection of circulating histamine releasing autoantibodies with functional properties of anti-IgE in chronic urticaria. *Clin Exp Allergy.* 1991 Nov;21(6):695-704.
14. Gruber BL, Baeza ML, Marchese MJ, Agnello V, Kaplan AP. Prevalence and functional role of anti-IgE autoantibodies in urticarial syndromes. *J Invest Dermatol.* 1988 Feb;90(2):213-7.
15. Kaplan AP. Chronic urticaria: Pathogenesis and treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:465-74.
16. Sabroe RA, Fiebiger E, Francis DM, Maurer D, Seed PT, Grattan CE, et al. Classification of anti-FcεRI and anti-IgE autoantibodies in chronic idiopathic urticaria and correlation with disease severity. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Sep;110(3):492-9.
17. Fiebiger E, Hammerschmid F, Stingl G, Maurer D. Anti-FcεRIα autoantibodies in autoimmune-mediated disorders. Identification of a structure-function relationship. *J Clin Invest.* 1998 Jan 1;101(1):243-51.

Kiti literatūros šaltiniai redakcijoje (iš viso 40).