

АНТИТЕЛА К *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* КАК ПРЕДИКТОР ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА

Сагынбаева В.Э., Лазебник Л.Б.

ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ, Москва

Сагынбаева Венера Эсенбаевна

Тел. 8 (495) 304-30-26

E-mail: venera_32@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

Среди 143 больных ВЗК в фазе обострения ASCA обнаружены у 34 человек, что составило 23,8%, при БК из 60 больных повышение уровня ASCA выявлено у 24 человек (40%), среди 83 больных ЯК увеличение уровня ASCA обнаружено у 9 (10,8%), Появление аутоантител к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке крови у больных БК расценивается как прогностически неблагоприятный признак, свидетельствующий о том, что заболевание может иметь осложненное течение. Также высокие титры ASCA сочетались с осложненным течением БК, требующим хирургического лечения.

Ключевые слова: болезнь Крона; язвенный колит; антитела к *Saccharomyces cerevisiae*.

SUMMARY

Among the 143 patients in the acute phase of IBD the ASCA detected in 34 people, accounting for 23.8%, and in 60 patients with CD the increased level of ASCA was found in 24 people (40%), in 83 patients with UC the increased level of ASCA was found in 9 (10, 8%). The appearance of antibodies to *Saccharomyces cerevisiae* in the blood serum of patients with CD is regarded as a prognostically unfavorable sign, indicating that the disease may have a complicated course. Also, high titers of ASCA combined with complicated CD, requiring surgical treatment.

Keywords: Crohn's disease, ulcerative colitis, antibodies to *Saccharomyces cerevisiae*.

Несмотря на наличие косвенных клинических, морфологических и иммунологических данных в пользу аутоиммунной природы воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), многочисленные исследования аутоантител в крови больных и антигенов толстой кишки не привели до настоящего времени к воспроизводимым результатам по идентификации аутоантигенов, ответственных за развитие иммунного воспаления при ЯК и БК.

В основе патогенеза болезни Крона (БК) лежит утрата толерантности к антигенам пищи, в результате чего развивается иммунный ответ на антигены пищи и антигены содержимого кишки. Для диагностики БК используется выявление антител к пекарским дрожжам *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), которые являются естественным антигеном. Кроме антител к антигенам пекарских дрожжей при БК появляются антитела к другим комменсальным организмам ЖКТ. Так, при этом заболевании появляются антитела к мембранному белку OmpC кишечной палочки и *Pseudomonas fluorescens*. Также

при БК возникают антитела к полисахаридным последовательностям, входящим в состав клеточной стенки многих организмов. Полисахаридные антитела называются ALCA, AMCA и ACCA. Их объединяют термином «антигликановые антитела». Встречаемость каждого из этих маркеров не превышает 20%, поэтому их использование в диагностике БК малоэффективно [1; 2; 4].

Основными иммуногенными эпитопами ASCA являются также компоненты полисахаридов, в том числе маннотетроза и манотриоза [4]. ASCA направлены против олигоманнозных эпитопов на клеточной стенке дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [3]. Появление ASCA может объясняться перекрестной реакцией с распространенным дрожжевым грибом *S. albicans*. Основным методом выявления ASCA является нРИФ на клетках дрожжей, хотя также могут использоваться тест-системы, основанные на методе ИФА. Характерно, что антитела к ASCA чаще отмечаются у родственников больных воспалительными заболеваниями кишечника



(20–25%) по сравнению с частотой показателя в здоровой популяции (0–5%) и больных с ЯК (10–15%). Антитела могут быть представлены IgG или IgA, обладая специфичностью 93%. ASCA класса IgA встречаются в азиатских странах, но чаще всего у европейцев [1; 2; 4].

Дифференцировать два основных воспалительных заболевания кишечника, БК от ЯК, что принципиально для лечения и прогноза, можно с помощью ANCA (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) и ASCA. Специфичность ASCA IgG- и IgA-антитела при БК составляет 95–100%. Исследования выявили 5% положительных результатов IgG- и 7% IgA-класса ASCA при ЯК, тогда как при БК чувствительность для ASCA IgG- и IgA-класса составляет 75 и 60% соответственно.

Определение профиля pANCA и ASCA позволяет классифицировать две трети случаев недифференцированного колита как ЯК или БК [5]. У больных БК с наличием pANCA наблюдается левосторонний колит с эндоскопическими и/или гистопатологическими признаками ЯК (E. Vasiliauskas и соавт., 1996). Таким образом pANCA могут быть критерием принадлежности к отдельной субпопуляции больных ЯК и БК со сходной клинико-морфологической картиной. Наличие ASCA у больных БК характерно для воспалительного процесса другого типа, связанного с проявлением заболевания в раннем возрасте в виде фибростенозирующего и пенетрирующего вариантов течения [6]. Dassopoulos и соавт. (2003) наблюдали эти формы БК у 68% больных с наличием ASCA и у 29% больных — без ASCA. Высокие титры ASCA коррелировали с осложненным течением БК и необходимостью хирургического лечения. У детей с илеитом или илеоколитом обнаружение ASCA также коррелировало с высоким риском оперативного вмешательства: операция была выполнена 53% больных с наличием IgG- и IgA-ASCA и 11% больных, у которых ASCA отсутствовали (A. Zholudev и соавт., 2004). У детей с подозрением на ВЗК большое значение имело сочетанное определение pANCA и ASCA. Чувствительность и специфичность pANCA для ЯК составили соответственно 66 и 100%, а ASCA — для БК — 78 и 96%. Отрицательные результаты обоих тестов указывали на высокую вероятность отсутствия ВЗК и имели значение в отборе больных для эндоскопического обследования (S. Iltnanen и соавт., 2003). pANCA и ASCA в сочетании с другими маркерами являются в настоящее время инструментом изучения клинико-иммунологической гетерогенности ЯК и БК. Кроме указанных маркеров у больных ВЗК идентифицированы антитела к компонентам бактерий: порину внешней мембраны *E. coli* — OmpC (outer membrane porin C) и 12-антигену *Pseudomonas fluorescens*. Исследование этих маркеров в сочетании с ASCA выявило их связь с БК тонкой кишки с осложненным течением. Увеличение уровня антител

к OmpC и 12 ассоциировалось с тяжелым течением ЯК и показаниями к колэктомии [7]. Антитела к 12 также являются прогностическим признаком положительного клинического ответа на илео- и колостомию у больных БК с резистентным проктитом и перианальными осложнениями. Улучшение наблюдалось у 94% больных с наличием антител к 12 против 18% больных, у которых антитела не обнаруживались (J. Spivak и соавт., 2004). Начаты исследования нового класса антител — антител к гликанам бактериальной стенки, включающих три их типа: АККА (ACCA — anti-chitobioside carbohydrate antibodies), АЛКА (ALCA — anti-laminaribioside carbohydrate antibodies) и АМКА (AMCA — anti-mannobioside carbohydrate antibodies). Чувствительность и специфичность этих антител при БК составляет соответственно 77,4 и 90,6%, т.е. значительно выше, чем ASCA. ALCA и ACCA выявляются также у 40% больных, у которых отсутствуют ASCA. Эти антитела в 2 раза чаще по сравнению с ASCA обнаруживаются при БК толстой кишки. Эти данные позволяют заключить, что антитела к гликанам при дальнейшем исследовании могут быть использованы для улучшения диагностики и идентификации определенных подгрупп больных [8].

Комбинация двух серологических тестов — ANCA и ASCA делает возможным быстрый и неинвазивный дифференциальный диагноз между БК и ЯК [3]. При БК у пациентов с ASCA заболевания течет тяжелее, что связано с частыми эпизодами кишечной непроходимости, а также лучше отвечает на терапию блокаторами ФНО- α [4].

Цель исследования — изучить частоту встречаемости антител к *Saccharomyces cerevisiae* и их диагностическое и прогностическое значение при воспалительных заболеваниях кишечника

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 143 больных ВЗК, находившихся на лечении в отделении патологии кишечника ЦНИИГ, из них 83 больных язвенным колитом (ЯК) (47 мужчин, 36 женщин) и 60 — с болезнью Крона (БК) (36 мужчин, 24 женщины). Возраст больных составлял 17–75 лет, средний возраст — $40,2 \pm 1,5$ года ($M \pm \sigma$). Диагноз верифицирован данными клинических, лабораторных, иммунологических, гистологических и инструментальных методов исследования. Для реализации поставленной задачи нами в зависимости от метода проводимой терапии были сформированы три группы больных ВЗК с хроническим непрерывным и хроническим рецидивирующим течением: 1-я группа больных ($n = 48$), которым проводилась индукционная и поддерживающая терапия инфликсимабом в дозе 5 мг/кг массы тела (по схеме); 2-я группа больных ($n = 73$) получала

стандартную противовоспалительную терапию (5-АСК в среднесуточной дозе 3,0–4,0 г/сут и глюкокортикостероиды в дозе 0,5–0,75 мг/сут); 3-й группе ($n = 22$) проводилась комплексная противовоспалительная терапия с введением культуры МСК. Больным данной группы за 2–3 дня до введения МСК отменяли иммуносупрессоры (азатиоприн), снижали дозу кортикостероидов до 15–20 мг/сут, которую постепенно снижали вплоть до полной отмены (при отсутствии рецидива заболевания) в течение 6–8 недель, дозу аminosалицилатов оставляли на уровне 2,0 г/сут. Антитела (IgA и IgG) к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) определяли в сыворотке крови больных иммуноферментным методом с применением тест-систем *Orgentec* (Германия). Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы *Statistica 6.0*, достоверность полученных величин определяли при помощи *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как показали результаты настоящего исследования, среди 143 больных ВЗК в фазе обострения ASCA обнаружены у 34 человека, что составило 23,8%.

Из 34 больных ВЗК антитела класса IgA к ASCA выявлено у 30 человек (21%), антитела класса IgG к ASCA обнаружены у 24 человек (16,8%). Концентрация антител класса IgA и IgG к ASCA в среднем составляла $38,7 \pm 4,4$ и $45,4 \pm 6,7$ Ед/мл соответственно при норме < 10 Ед/мл (рис. 1).

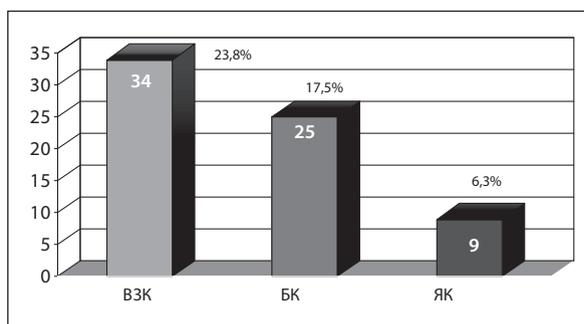


Рис. 1. Частота встречаемости ASCA у больных ВЗК ($n = 143$) в стадии обострения.

У 20 больных (14%) одновременно обнаружен положительный титр антител класса IgA и IgG к *Saccharomyces cerevisiae*. Содержание антител класса IgA и IgG к ASCA в среднем составило $45,6 \pm 5,6$ и $50,3 \pm 7,5$ Ед/мл соответственно.

Как видно на рис. 1, при БК среди 60 больных при обострении заболеваний повышение уровня антител класса IgA к ASCA выявлено у 24 человек (40%), уровень его колебался от 11 до 100 Ед/мл, а концентрация в среднем составляла $41,2 \pm 5,2$ Ед/мл, при норме < 10 Ед/мл. Антитела класса IgG к ASCA обнаружены у 18 человек (30%), его концентрация колебалась от 13 до 100 Ед/мл, при этом средний уровень составил $48,2 \pm 7,7$ Ед/мл

при норме меньше 10 Ед/мл. Концентрация IgA и IgG к ASCA при БК по сравнению с ЯК была достоверно выше ($p < 0,001$). У 17 человек (28,3%) одновременно обнаружены положительный титр антител класса IgA и IgG к *Saccharomyces cerevisiae*. Содержание антител класса IgA к ASCA в среднем составило $49,5 \pm 6,3$ Ед/мл, антител класса IgG к ASCA — $49,1 \pm 8,2$.

Среди 83 больных ЯК в фазе обострения увеличение уровня ASCA обнаружено у 9 (10,8%), из них антитела класса IgA к ASCA выявлены у 6 человек (7,2%), антитела класса IgG к ASCA обнаружено у 6 человек (7,2%). Концентрация уровня антитела класса IgA к ASCA колебалась от 12 до 52,3 и от 12 до 100 Ед/мл соответственно, при этом средний уровень составил $28,6 \pm 5,5$ и $38,8 \pm 13,5$ Ед/мл соответственно (норма < 10 Ед/мл). Отмечались статистически значимые различия между отдельными нозологическими группами ($p < 0,001$) (рис. 1). Среди 83 больных только у 3 человек (3,6%) одновременно обнаружен положительный титр антител класса IgA и IgG к ASCA, при этом содержание антител класса IgA и IgG к ASCA в среднем составило $35,0 \pm 8,9$ и $57,0 \pm 22,9$ Ед/мл соответственно.

По данным табл. 1, при БК выявления ASCA соотносилось с повышением индекса клинической активности заболевания по Best $249,6 \pm 13,5$ балла. При ЯК также отмечается незначительное увеличение концентрации ASCA по мере нарастания степени тяжести клинических и эндоскопических симптомов заболевания $5,5 \pm 0,6$ и $4,4 \pm 0,7$ балла соответственно.

Как видно из табл. 2, в группе получавших ИНФЛ среди 48 больных ASCA выявлена у 12 (25%), в группе получавших СТ из 73 больных — у 11 (15%), а в группе получавших МСК из 22 больных — у 2 (9,1%).

Концентрация IgA ASCA в стадии обострения в группах больных БК, получавших СТ и ИНФЛ, была незначительно выше, чем у больных, получавших МСК. Наибольший его уровень отмечался в группе больных, получавших СТ ($46,4 \pm 9,0$), а наименьший — в группе больных, получавших МСК ($31,9 \pm 16,8$). Достоверное повышение уровня IgA ASCA выявлено у больных с БК, получавших СТ, а также в группе больных, получавших ИНФЛ ($p < 0,03$) (табл. 2). При БК в период обострения заболевания наибольший его уровень IgG ASCA отмечался у больных получавших ИНФЛ и СТ, при этом средняя концентрация IgG ASCA составила $55,2 \pm 12,7$ и $45,7 \pm 11,8$ Ед/мл соответственно (норма < 10 Ед/мл), наименьший уровень отмечался при БК получавших МСК ($31,9 \pm 16,8$). Концентрация IgG к ASCA в группе получавших ИНФЛ были достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с больными, получавшими МСК (табл. 1).

Также выявление ASCA соотносилось с повышением индекса клинической активности заболевания по Best. В группе получавших ИНФЛ и СТ повышение уровня ASCA сопровождалось

Таблица 1

КОНЦЕНТРАЦИЯ ASCA В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БОЛЕЗНИ КРОНА (по Best) И ЯЗВЕННОГО КОЛИТА (по Rachmilevitz)				
№	Критерии	БК (n = 25)	ЯК (n = 9)	p
1	IgA ASCA (Ед/мл)	41,2 ± 5,2	28,6 ± 5,5**	< 0,001
2	IgG ASCA (Ед/мл)	48,2 ± 7,7	38,8 ± 13,5**	< 0,001
3	Индекс Беста (баллы)	249,6 ± 13,5	—	
4	Клинической активности (баллы)	—	5,5 ± 0,6	
6	Эндоскопической активности (баллы)	—	4,4 ± 0,7	

Примечание: ** — $p < 0,001$.

Таблица 2

КОНЦЕНТРАЦИЯ ASCA И КЛИНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ КРОНА (по Best)				
№	Критерии	1-я группа больных, получавших ИНФЛ (n = 12)	2-я группа больных, получавших СТ (n = 10)	3-я группа больных, получавших МСК (n = 2)
1	IgA ASCA (Ед/мл)	39,2 ± 7,3	46,4 ± 9,0	27,1 ± 10,1*
2	IgG ASCA (Ед/мл)	55,2 ± 12,7	45,7 ± 11,8	31,9 ± 16,8**
3	Индекс Беста (баллы)	263,2 ± 19,6	242,3 ± 21,8	208,5 ± 11,5***

Примечание:

* — $p < 0,03$ в сравнении между 2-й и 3-й группами.

** — $p < 0,05$ в сравнении между 1-й и 3-й группами.

*** — $p < 0,001$ в сравнении между 1-й и 3-й группами.

Таблица 3

КОНЦЕНТРАЦИИ ASCA У БОЛЬНЫХ БК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЛОКАЛИЗАЦИИ, ПО ХАРАКТЕРУ ТЕЧЕНИЯ И ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ				
№	Характеристика больных	БК (n = 25)	ASCA	
			IgA	IgG
1	БК тонкой и толстой кишки	7 (28%)	46,9 ± 13,2	44,7 ± 12,4*
2	БК тонкой кишки	12 (48%)	41,0 ± 0,9	60,5 ± 11,5*
3	БК толстой кишки	5 (20%)	33,7 ± 12,9	18,4 ± 4,1*
8	Хронические рецидивирующие течения	8 (32%)	30,2 ± 4,6	36,4 ± 11,7
9	Хронические непрерывно рецидивирующие течения	14 (56%)	46,2 ± 7,6	58,7 ± 10,7*
	Гормонозависимые формы	11(44%)	39,8 ± 7,2	65,1 ± 14,2*

Примечание: * — $p < 0,001$.

ухудшением клинической активности заболевания, при этом индекс клинической активности заболеваний отмечался достоверно выше — 263,2 ± 19,6 и 242,3 ± 21,8 балла соответственно ($p < 0,001$), наименьший индекс клинической активности отмечался в группе получавших МСК — 208,5 ± 11,5 балла.

Как видно из табл. 3, среди 25 больных БК повышенное содержание ASCA отмечалось у 12 (48%) больных БК тонкой кишки, у 7 (28%) больных с БК

тонкой и толстой кишки, у 5 (20%) больных БК толстой кишки.

При БК в период обострения заболевания наибольший уровень ASCA IgA/IgG отмечался у больных БК тонкой кишки, при этом средняя концентрация ASCA IgA/IgG составила 41,0 ± 0,9 и 60,5 ± 11,5 Ед/мл соответственно, на втором месте — БК тонкой и толстой (46,9 ± 13,2 и 44,7 ± 12,4 Ед/мл соответственно), наименьший уровень ASCA отмечался при БК толстой кишки (33,7 ± 12,9 и 18,4 ±

Таблица 4

ЧАСТОТА ОСЛОЖНЕНИЙ И ВНЕКИШЕЧНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ У БОЛЬНЫХ БК И ЯК ASCA-ПОЗИТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ			
№	Осложнения и внекишечные проявления ВЗК	БК (n = 24)	ЯК (n = 7)
1	Свищевая форма	9 (37,3)	—
2	Стеноз подвздошной кишки	7 (29,2%)	—
3	Кишечная непроходимость	6 (25%)	—
4	Правосторонняя гемиколэктомия	5 (20,8%)	—
5	Стеноз сигмовидной кишки	3 (12,5%)	—
6	Кишечное кровотечение.	1 (4,1%)	—
7	Перфорация подвздошной кишки с перитонитом	1 (4,1%)	—
8	Полиартрит	3 (12,5%)	—

4,1 Ед/мл соответственно). Содержание ASCA было достоверно ниже у больных БК толстой кишки: $p < 0,001$. Таким образом, из результатов проведенных исследований у больных БК следует, что в фазе обострения заболевания повышенная концентрация ASCA зависела от локализации поражения.

Следует подчеркнуть, что по характеру течения заболевания (табл. 3) частота ASCA выявлялась преимущественно у больных БК, тяжелым хроническим непрерывно рецидивирующим течением — 14 (56%), хроническим рецидивирующим течением — 8 (32%), а также в гормонозависимой форме — 11 (44%). Среди 25 больных только у 2 (8%) больных БК был уставлен впервые.

Среди 25 больных БК (ASCA-позитивные) у 18 человек (72%) выявлено осложненное течение заболевания (табл. 4), у 3 (12%) больных обнаружены внекишечные проявления — полиартрит. При этом средняя продолжительность заболеваний составила $4,1 \pm 1,2$ года.

Результаты, представленные в табл. 4, еще раз свидетельствуют о том, что при БК у больных с ASCA-позитивной формой заболеваний процесс течет тяжелее, что связано с частыми эпизодами кишечной проходимости (С.В. Лапин, А.А. Тотолян, 2010). Среди больных 25 БК (ASCA-позитивных) у 9 (37,3) выявлена свищевая форма, у 7 (29,2%) — стеноз подвздошной кишки, у 6 (25%) — кишечная непроходимость, у 5 (20,8%) — правосторонняя

гемиколэктомия, у 3 больных (12,5%) — стеноз сигмовидной кишки, у 1 (4,1%) — кишечное кровотечение и перфорация подвздошной кишки с перитонитом, у 3 (12,5%) без осложнений, выявлены внекишечные проявления: полиартрит. Среди 9 больных ЯК (ASCA-позитивных) не было выявлено ни осложнений, ни кишечных проявлений.

Таким образом, появление аутоантител к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке крови у больных БК расценивается как прогностически неблагоприятный признак, свидетельствующий о том, что заболевание может иметь осложненное течение. Также высокие титры ASCA сочетались с осложненным течением БК, требующим хирургического лечения.

ВЫВОДЫ

1. Болезнь Крона нередко сопровождается повышенной циркуляцией аутоантител к *Saccharomyces cerevisiae*. Это имеет важное диагностическое и прогностическое значение, а также позволяет судить об интенсивности и продолжительности аутоиммунных реакций, их активности и эффективности проводимой терапии.

2. Болезнь Крона у больных с ASCA течет тяжелее, что связано с частыми эпизодами кишечной непроходимости, стенозом и кишечным кровотечением, внутренним и наружным свищами, а также лучше отвечает на трансплантацию МСК.

ЛИТЕРАТУРА

- Наглядная иммунология / Г. — Р. Бурместер, А. Пецутто, с участием Т. Улрихса, А. Айхер // Наглядная медицина; пер. с англ. — М., 2009.
- Иммунология и аллергология: учебное пособие для студентов медицинских вузов / А.А. Воробьев, А.С. Быкова, А.В. Караулова. — М.: Практическая медицина. — 2006. — 288 с.
- Имуноферментный анализ в клинико-диагностических лабораториях / В.В. Долгов, В.В. Ракова, В.Е., Колупаев Н.С. Рытикова. — М. — Тверь: Триада, 2007. — 320 с.
- Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний / С.В. Лапин, А.А. Тотолян. — СПб.: Человек, 2010. — С. 272.
- Schwarz, S. Identification of Indeterminate colitis using pANCA and ASCA / S. Schwarz, M. Ammirati et al. // Gastroenterol. — 2000. — Vol. 118, Suppl. 2. — A1891.
- Vasiliauskas, E. A. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics / E. A. Vasiliauskas, L. Y. Kam et al. // Gut. — 2000. — Vol. 47. — P. 487-496.
- Marcelletti, J. Anti-microbial antibody markers as prognostic indicators of Inflammatory bowel disease course / J. Marcelletti, D. Moskowitz, J. Stempak et al. // Gastroenterol. — 2005. — Vol. 128, No. 4. — A305.
- Altstock, R. Improved IBD diagnosis via Elisa detecting novel antibodies: ACCA, ALCA and AMCA / R. Altstock, A. Shtevi, A. Karban et al. // Gastroenterol. — 2005. — Vol. 4. — A303.