

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC CẦN THƠ



MÔN HỌC: MIỄN DỊCH – ỨNG DỤNG LÂM SÀNG

**BÀI BÁO CÁO CHUYÊN ĐỀ
TỰ KHÁNG THỂ TRONG BỆNH LÝ TỰ MIỄN**

Học viên: Nguyễn Thành Nam

CẦN THƠ – 2020

1. Tổng quan về bệnh tự miễn.

Bệnh tự miễn chiếm khoảng từ 3-5% dân số. Bệnh tự miễn là do có sự hình thành các kháng thể tự miễn kháng lại các thành phần mô cơ quan bao gồm nhân tế bào, bào tương, màng tế bào...gây tổn thương các cơ quan theo các cơ chế khác nhau. Bệnh tự miễn chia làm 2 nhóm chính: Bệnh tự miễn đặc hiệu cơ quan và bệnh tự miễn hệ thống. Sự lưu hành các kháng thể tự miễn trong các bệnh lý tự miễn là rất đa dạng và phức tạp về cả cấu trúc, nguồn gốc, vai trò trong sinh bệnh học của bệnh tự miễn. Các kháng thể tự miễn hay gặp: ANA, dsDNA, ssDNA, ScL – 70, Ro/SSA, La/SSB, ANCA, kháng thể kháng phospholipid...Việc tìm hiểu về sự lưu hành và vai trò của các kháng thể tự miễn trong cơ chế bệnh sinh của bệnh tự miễn để từ đó tìm hiểu giá trị chẩn đoán và tiên lượng của các kháng thể này là rất quan trọng trong thực hành lâm sàng và nghiên cứu trong chuyên ngành dị ứng và miễn dịch lâm sàng.

Một thành phần nào đó của cơ thể bị thay đổi tính chất, cấu hình do tác dụng của các tác nhân vật lý, hóa học, sinh học, vì vậy bộ phận đó của cơ thể trở thành lạ và lúc này, cơ thể sẽ sinh ra các tự kháng thể chống lại tổ chức đó (tự kháng thể này sinh ra sau khi cơ thể bị nhiễm xạ, bỏng, viêm gan virus, nhiễm độc, sau dùng hóa chất và thuốc).

Kháng nguyên lạ bên ngoài có cấu trúc tương tự một thành phần của cơ thể nên kháng thể chống lại kháng nguyên bên ngoài phản ứng luôn với thành phần cơ thể, như trong các bệnh thấp tim, thấp khớp cấp.

Một số tổ chức, thành phần của cơ thể không được nhận diện trong thời kỳ phôi, ít hoặc chưa được tiếp xúc với miễn dịch của cơ thể (như tiền phòng trong nhãn cầu). Cho tới khi có các chấn thương, các thành phần này lọt vào máu, trở thành yếu tố lạ đối với hệ miễn dịch, lúc này cơ thể sẽ sinh kháng thể chống lại.

Sự rối loạn cân bằng giữa các dòng tế bào lympho T. Trong số các loại tế bào lympho T có hai loại lympho T ức chế (làm nhiệm vụ ức chế phản ứng loại trừ kháng nguyên) và lympho T hỗ trợ (phát động các phản ứng tiêu diệt kháng nguyên). Khi hoạt động của 2 dòng tế bào này bị rối loạn, mất cân bằng giữa quá

trình ức chế miễn dịch và quá trình phát động khởi phát miễn dịch sẽ dẫn tới những rối loạn miễn dịch của cơ thể.

2. Tự kháng thể là gì

Tự kháng thể là các kháng thể (các protein miễn dịch) do nhầm lẫn mục tiêu và tổn thương các mô đặc hiệu hoặc các bộ phận của cơ thể. Một hoặc nhiều tự kháng thể được sản xuất bởi hệ thống miễn dịch của một người khi nó không phân biệt giữa protein "ngoại lai" và "tự thân".

Thông thường, hệ thống miễn dịch có khả năng phân biệt giữa các chất lạ ("ngoại lai") và các tế bào của cơ thể ("tự thân"). Nó chỉ tạo ra các kháng thể khi nó nhận thấy rằng những gì nó đã được tiếp xúc là một mối đe dọa ("ngoại lai"); khi hệ thống miễn dịch không còn nhận ra một hoặc nhiều thành phần bình thường của cơ thể là "tự thân", nó có thể sản xuất tự kháng thể tấn công các tế bào, các mô, và/hoặc các cơ quan tự thân, gây viêm và tổn thương.

Các nguyên nhân tự miễn dịch rất đa dạng và không được hiểu rõ, không có một liên kết trực tiếp, người ta cho rằng nhiều trường hợp sản xuất tự kháng thể là do yếu tố di truyền kết hợp với một kích thích môi trường, chẳng hạn như nhiễm siêu vi hoặc tiếp xúc lâu dài với một số hóa chất độc hại. Một số gia đình có một tỷ lệ cao với các rối loạn tự miễn; tuy nhiên, các thành viên gia đình có thể có các rối loạn tự miễn dịch khác nhau hoặc có thể không bao giờ phát triển.

Các loại rối loạn tự miễn dịch, bệnh xảy ra và số lượng tế bào bị hủy trong cơ thể phụ thuộc vào các hệ thống hoặc các bộ phận là mục tiêu của các tự kháng thể. Rối loạn do tự kháng thể chủ yếu ảnh hưởng đến một cơ quan duy nhất, chẳng hạn như tuyến giáp trong bệnh Graves hay viêm tuyến giáp Hashimoto, thường dễ dàng chẩn đoán hơn vì nó thường có biểu hiện triệu chứng liên quan với cơ quan. Rối loạn do hệ thống tự kháng thể, làm ảnh hưởng đến nhiều bộ phận cơ thể hoặc các hệ thống, có thể làm chẩn đoán khó khăn hơn nhiều. Các dấu hiệu và triệu chứng mà chúng gây ra là tương đối phổ biến và có thể bao gồm: viêm khớp - dạng đau khớp, mệt mỏi, sốt, phát ban, triệu chứng cảm lạnh hoặc dị ứng, giảm cân, và yếu cơ. Biến chứng khác có thể bao gồm viêm mạch máu và thiếu máu. Các dấu hiệu và triệu chứng sẽ khác nhau từ

người này sang người khác và nó có thể thay đổi theo thời gian, giảm dần đi và sau đó bộc phát bất ngờ.

Một số người có thể có nhiều hơn một tự kháng thể hoặc thậm chí nhiều hơn một rối loạn tự miễn; ngoài ra còn có những người có rối loạn tự miễn dịch mà không phát hiện một mức độ của một tự kháng thể nào; những trường hợp này có thể làm cho việc xác định nguyên nhân chính và đưa đến chẩn đoán sẽ khó khăn.

3. Các kỹ thuật xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trong huyết thanh.

Ở các la-bô xét nghiệm thường quy, người ta thường dùng 4 phương pháp sau đây để phát hiện tự kháng thể lưu động: miễn dịch huỳnh quang (immunofluorescence), ngưng kết hồng cầu (hemagglutination), miễn dịch phóng xạ (hay miễn dịch enzym), và điện di ngược dòng (countercurrent electrophoresis). Mỗi phương pháp đều có ưu nhược điểm riêng.

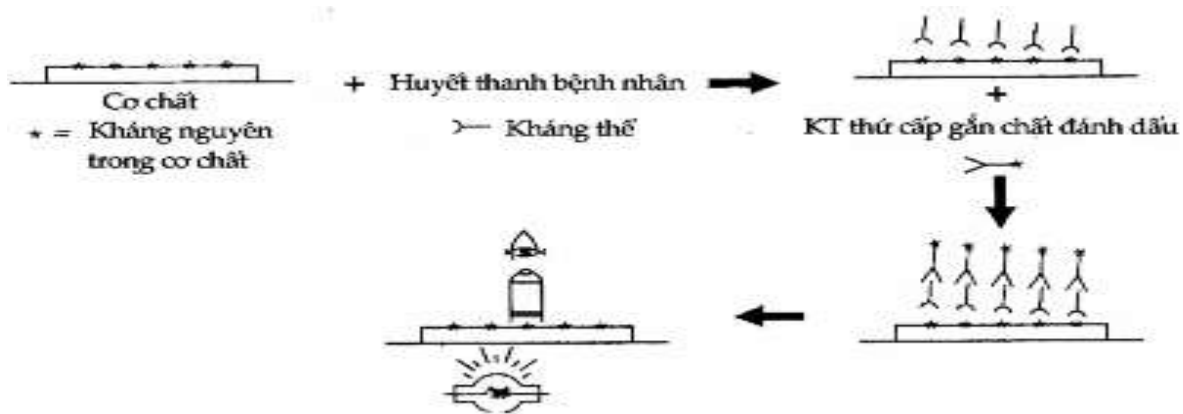
Miễn dịch huỳnh quang là kỹ thuật kém nhạy nhất trong số này, và kết quả phụ thuộc vào khả năng chủ quan của người đọc. Kỹ thuật ngưng kết hồng cầu có độ nhạy cao hơn nhưng lại mất nhiều thời gian. Kỹ thuật miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay, RIA) thì đòi hỏi sinh vật phẩm đắt tiền; cần có máy đo tia gamma hoặc beta và trang bị xử lý chất thải cũng là những thứ rất tốn kém. Kỹ thuật miễn dịch enzym (enzym-linked immunosorbent assay, ELISA) tránh được vấn đề tiếp xúc với tia phóng xạ nhưng lại đòi hỏi những dụng cụ rất chuyên biệt. Điện di miễn dịch ngược dòng thì rẻ và dễ làm nhưng tương đối kém nhạy.

3.1. Miễn dịch huỳnh quang gián tiếp

Đây là kỹ thuật thường được dùng để phát hiện nhiều loại tự kháng thể trong huyết thanh. Người ta thường dùng mô động vật để làm cơ chất nếu kháng nguyên hiện diện chung trên cả mô người lẫn mô động vật. Còn những tự kháng thể chỉ giới hạn ở mô người hoặc thậm chí chỉ ở một dòng tế bào người thì chúng ta sẽ không dùng mô động vật được. Vật phẩm mô dùng cho xét nghiệm này được cho đông lạnh ngay sau khi lấy khỏi cơ thể con vật và khi dùng thì đưa máy cắt lạnh và cắt ở -200C.

Huyết thanh bệnh nhân được ủ với cơ chất (mô) trong 30 phút. Sau đó, những kháng thể không gắn vào mô sẽ được rửa sạch trước khi cho kháng thể cấp 2, có gắn chất đánh dấu (thường là huỳnh quang). Kháng thể đánh dấu sẽ liên kết với immunoglobulin của huyết thanh bệnh nhân đã gắn vào kháng nguyên trên cơ chất. Những vị trí có cố định kháng thể sẽ nhìn thấy được dưới kính hiển vi huỳnh quang.

Mỗi tự kháng thể sẽ được xác định bằng một kiểu bắt màu huỳnh quang đặc biệt trên một cơ chất đặc biệt. Sau khi huyết thanh được xác định là dương tính thì nó sẽ được định hiệu giá để xem kháng thể mạnh đến mức nào. Kết quả định lượng được tính bằng tỉ lệ hiệu giá (ví dụ 1/4, 1/8, 1/32,...) hoặc bằng IU (đơn vị quốc tế). Đa số các phòng thí nghiệm đều dùng kháng thể cấp 2 đặc hiệu IgG, do đó mà chỉ phát hiện được các tự kháng thể lớp IgG (tức kháng thể có ý nghĩa lâm sàng); tự kháng thể lớp IgM không quan trọng lắm. Tuy nhiên, kháng thể kháng nhân là một trường hợp ngoại lệ. Kiểu phát quang của kháng thể kháng nhân cũng có ích cho nghiên cứu lâm sàng, nhưng không có tính chẩn đoán. Hiện nay người ta vẫn không khuyến khích việc làm xét nghiệm “sàng lọc” đối với tự kháng thể. Chỉ những xét nghiệm mang lại lợi ích lâm sàng mới được yêu cầu.



Hình. Miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.

Việc phân tích kết quả của xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp phụ thuộc vào lớp kháng thể, hiệu giá của chúng, tuổi cũng như giới của bệnh nhân. Người già, nhất là phụ nữ thường có sản xuất tự kháng thể mà không có

triệu chứng lâm sàng nào của bệnh tự miễn. Ngược lại, hiệu giá tự kháng thể cao ở người trẻ cho biết rằng một bệnh tiềm ẩn sẽ xuất hiện sau này.

3.2. Ngưng kết hồng cầu

Hồng cầu được dùng như một tế bào chỉ thị (indicator) vì chúng có thể “cụm” lại hoặc ngưng kết khi có kháng thể phản ứng chéo với kháng nguyên trên bề mặt của chúng. Kháng nguyên ở đây có thể là kháng nguyên của chính hồng cầu (như kháng nguyên ABO hoặc nhóm máu khác) hoặc kháng nguyên tinh khiết khác được gắn lên bề mặt hồng cầu. Người ta có dùng thử nghiệm ngưng kết hồng cầu hay không là phụ thuộc vào việc có sẵn kháng nguyên tinh khiết hay không. Phương pháp gắn nhìn chung không quá đơn giản trừ trường hợp của xét nghiệm tìm yếu tố thấp.

Yếu tố thấp (một kháng thể IgM phản ứng với IgG đóng vai trò kháng nguyên) sẽ cho phản ứng với IgG ngưng kết mạnh hơn là với IgG người còn nguyên bản. Do đó mà người ta đã làm cho IgG ngưng kết bằng cách cho chúng phản ứng với một kháng nguyên đã biết của chúng (tức hồng cầu cừu) hoặc bằng nhiệt. Đa số các phòng thí nghiệm dung hạt latex trong xét nghiệm tìm yếu tố thấp thường quy: IgG người được cho ngưng kết bằng nhiệt và gắn lên hạt latex và những hạt này sẽ ngưng kết khi gặp yếu tố thấp. Đây là một xét nghiệm nhanh và rẻ tiền, có thể dùng làm xét nghiệm sàng lọc đối với yếu tố thấp, nhưng nhược điểm của nó là hay cho phản ứng dương tính giả. Huyết thanh dương tính sau đó sẽ cho làm lại với xét nghiệm Waaler-Rose. Trong xét nghiệm này, kháng thể IgG thỏ (có những quyết định kháng nguyên chung với IgG người) được dùng để gắn lên hồng cầu cừu. Một liều dưới ngưng kết của kháng thể này được đem ủ với hồng cầu cừu và những hồng cầu chỉ thị “đã miễn cảm” này sẽ được dùng để phát hiện yếu tố thấp là chất có khả năng làm ngưng kết những hồng cầu cừu đã miễn cảm, chứ không làm ngưng kết hồng cầu nguyên bản. Hồng cầu không miễn cảm được dùng để phát hiện kháng thể tự nhiên đối với hồng cầu cừu. Kết quả của phản ứng Waaler-Rose được tính bằng IU/ml hoặc tính thành tỉ số hiệu giá. Mặc dù có tên là yếu tố thấp nhưng yếu tố này

không có tính chẩn đoán đối với bệnh viêm khớp dạng thấp mà chỉ có ích để theo dõi tiên lượng của bệnh.

3.3. Phương pháp miễn dịch phóng xạ (RIA) và miễn dịch enzym (ELISA)

Đây là những phương pháp rất nhạy dùng để phát hiện tự kháng thể với nồng độ thấp. Nhiều kỹ thuật đã được dùng và mỗi kỹ thuật đều có nhược điểm riêng của nó. Các enzym cũng có thể được dùng như các chất đánh dấu thay cho đồng vị phóng xạ trong RIA, và khi đó kỹ thuật được gọi là miễn dịch enzym (ELISA). Kỹ thuật này có vẻ nhạy hơn RIA.

Một khi chúng ta nghi ngờ bệnh nhân bị mắc SLE thì cần phải tìm kháng thể chống DNA chuỗi kép. Có thể phát hiện kháng thể này bằng nhiều cách; những cách phổ biến nhất là dùng ¹⁴C-DNA, ¹²⁵I-DNA hoặc DNA đánh dấu phóng xạ trước đó bằng cách cho ¹⁴C-thymidine vào môi trường cấy để vi khuẩn tiêu thụ. Phương pháp này nhạy cho đến nỗi nhờ nó mà ta có thể phát hiện được mức liên kết DNA rất thấp trong những bệnh nhân khác ngoài SLE. Dùng ¹²⁵I-DNA có thể thực hiện một thử nghiệm khác ít nhạy hơn, nhưng kết quả dương tính thì thường nói lên khả năng chỉ SLE hoặc viêm gan mạn hoạt động. DNA chuỗi kép dần dần tách ra thành DNA chuỗi đơn, do đó điều quan trọng là phải quan sát trị số liên kết chứng cho mỗi mẻ để biết mức độ tách ra của kháng nguyên là bao nhiêu. Người ta còn dùng một xét nghiệm khác là miễn dịch huỳnh quang trên ký sinh trùng *Crithidia luciliae* để tìm kháng thể kháng DNA chuỗi kép; kỹ thuật này cho độ đặc hiệu rất cao, nhưng lại tương đối kém nhạy vì không phải tất cả huyết thanh SLE đều phản ứng được trong xét nghiệm này. Gần đây, Tổ chức Y tế Thế giới đã cho công bố tiêu chuẩn thế giới về kháng thể kháng DNA chuỗi kép.

Một chất lấy từ nọc rắn có tên là α -bungarotoxin có khả năng cho liên kết rất mạnh với thụ thể của Acetylcholine trong dịch chiết xuất lấy từ cơ vân người. Chất này đã được sử dụng để làm xét nghiệm tìm kháng thể chống thụ thể acetylcholine (AChR). Alpha-bungarotoxin tinh khiết được đánh dấu bằng iod phóng xạ và cho kết hợp với chất chiết xuất từ cơ người. Kháng thể AChR sẽ

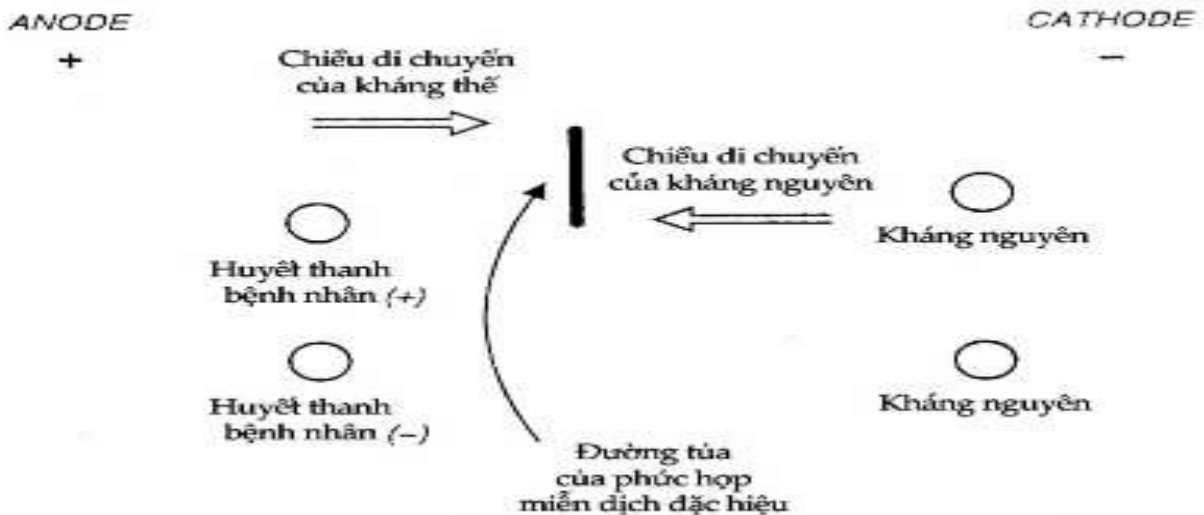
phản ứng với chất này và có thể làm tủa bằng kháng huyết thanh kháng Ig người. Đây là một xét nghiệm rất nhạy; khoảng 90% bệnh nhân nhược cơ nặng cho kết quả dương tính khi làm xét nghiệm, đồng thời có rất ít trường hợp dương tính giả.

3.4. Điện di miễn dịch ngược dòng (countercurrent electro-phoresis)

Phương pháp này có thể được dùng để phát hiện kháng thể đối với nhiều loại kháng nguyên nhân chiết xuất được bằng nước muối và kháng nguyên bào tương mà ta gọi chung là “kháng nguyên nhân chiết xuất (ENA). Tuyến ức của bê hoặc thỏ được dùng làm nguồn cung cấp phần lớn kháng nguyên nhân, còn kháng nguyên Ro/SSA là kháng nguyên bào tương và được tách chiết từ lách người. Huyết thanh của mỗi cá thể thường chứa kháng thể chống lại nhiều kháng nguyên; nhưng mỗi tính đặc hiệu kháng thể thường chỉ thấy trên một nhóm nhỏ bệnh nhân mắc bệnh mô liên kết và vì thế mà kháng thể này có tính chẩn đoán đối với bệnh đó (Bảng 12.2). Tuy nhiên, vì kháng nguyên tinh khiết không phải đủ rẻ để có thể xét nghiệm thường xuyên nên người ta đang cố gắng sử dụng công nghệ DNA tái tổ hợp để sản xuất. Riêng huyết thanh chúng có chứa kháng thể đã biết thì hiện đã có bán sẵn.

RTE = Tinh chất tuyến ức thỏ; HSE = Tinh chất lách người; CTE = Tinh chất tuyến ức bê.

Điện di miễn dịch ngược dòng tức là cho điện di kháng nguyên và kháng thể chạy ngược chiều về phía nhau. Với pH thích hợp, những kháng nguyên hơi có tính axit sẽ di chuyển nhanh chóng về phía anode còn kháng thể thì chạy về phía cathode; trong khi đó, nồng độ của chúng không thay đổi. Nếu huyết thanh bệnh nhân có chứa kháng thể thích hợp một đường tủa sẽ hình thành giữa các lỗ chứa kháng nguyên và kháng thể.



Hình. Điện di miễn dịch ngược dòng.

Điện di miễn dịch ngược dòng thường được dùng tốt nhất là để sàng lọc huyết thanh. Sau đó, tính đặc hiệu kháng nguyên của huyết thanh dương tính được xác định bằng kỹ thuật Ouchterlony (xem Hình 12.10). Chất chiết xuất kháng nguyên được đặt ở lỗ giữa, xung quanh là huyết thanh đã thử thấy dương tính và huyết thanh chứng đã biết tính đặc hiệu. Huyết thanh chứng và huyết thanh thử được đặt cạnh nhau: một đường tủa tương tự sẽ chứng tỏ rằng huyết thanh có tính đặc hiệu kháng nguyên tương tự.

3.5. Các xét nghiệm tự kháng thể thường dùng.

Xét nghiệm tự kháng thể có thể được chỉ định khi một người có biểu hiện mãn tính, các triệu chứng viêm khớp liên tục, sốt, mệt mỏi, yếu cơ, và /hoặc phát ban có thể không dễ dàng được giải thích. Một trong những xét nghiệm phổ biến nhất được chỉ định là xét nghiệm kháng thể kháng nhân (ANA). ANA dương tính với một loạt các bệnh tự miễn dịch, bao gồm cả lupus ban đỏ hệ thống (SLE), hội chứng Sjogren, viêm khớp dạng thấp và viêm gan tự miễn. Ở bệnh nhân có ANA dương tính, một nhóm 4 hoặc 6 xét nghiệm tự kháng thể được gọi là extractable nuclear antigens (ENA) thường được chỉ định. Các mô hình của tự kháng thể giúp bác sĩ xác định xem có khả năng có một rối loạn tự miễn dịch đặc hiệu.

Tự kháng thể đặc hiệu thường hiện diện trong một tỷ lệ phần trăm của những người có rối loạn tự miễn dịch đặc thù. Ví dụ, lên đến 80% những người

có bệnh lupus ban đỏ sẽ có một xét nghiệm anti-dsDNA dương tính, nhưng chỉ có khoảng 25-30% có một Anti Ribonucleoprotein (Anti RNP) dương tính. Một số cá nhân với một rối loạn tự miễn dịch sẽ có kết quả xét nghiệm tự kháng thể âm tính, nhưng vào một ngày sau đó rối loạn tiến triển, tự kháng thể có thể phát triển. Một tỷ lệ nhỏ trong dân số nói chung có thể có một hoặc nhiều tự kháng thể có trong máu của họ nhưng không có triệu chứng liên quan. Xét nghiệm tự kháng thể cũng được sử dụng phổ biến ở người lớn tuổi.

Xét nghiệm tự kháng thể được thực hiện cùng với x-quang, các phương pháp chẩn đoán hình ảnh khác và có thể sinh thiết để chẩn đoán chứng rối loạn tự miễn dịch. Trong một số trường hợp, chúng được sử dụng để giúp đánh giá mức độ nghiêm trọng của tình trạng này, giám sát hoạt động của bệnh, và đánh giá hiệu quả của phương pháp điều trị.

Các kháng thể tự miễn thường có vai trò chủ yếu trong chẩn đoán, ít sử dụng trong theo dõi điều trị. Một bệnh có thể có nhiều tự kháng thể lưu hành và một kháng thể có thể gặp trong nhiều bệnh.

Một số Xét nghiệm tự miễn và chỉ định

TT	Tên xét nghiệm	Một số chỉ định
1	Định lượng Kháng thể kháng nhân (ANA)	<ul style="list-style-type: none"> - Lupus ban đỏ hệ thống - Xơ cứng bì - Viêm da cơ – Viêm đa cơ - Bệnh mô liên kết hỗn hợp - Hội chứng Sjogren - Hội chứng CREST - Viêm khớp - Viêm mạch hệ thống
2	Định lượng Kháng thể kháng chuỗi kép (Ds DNA)	<ul style="list-style-type: none"> - Lupus ban đỏ hệ thống - Xơ cứng bì - Viêm da cơ – Viêm đa cơ - Bệnh mô liên kết hỗn hợp

		<ul style="list-style-type: none"> - Hội chứng Sjogren - Hội chứng CREST - Viêm khớp - Viêm mạch hệ thống
3	Định lượng Kháng thể kháng CARDIOLIPIN	<ul style="list-style-type: none"> - Hội chứng Antiphospholipid - Giảm lượng tiểu cầu - Chứng huyết khối ĐM, TM - Bệnh động kinh - Sảy thai tái phát - Thai lưu
4	Định lượng Kháng thể kháng PHOSPHOLIPID	<ul style="list-style-type: none"> - Hội chứng Antiphospholipid - Huyết khối ĐM, TM... - Sảy thai tái phát - Thai lưu
5	Định lượng kháng thể kháng Sm	<ul style="list-style-type: none"> - Lupus ban đỏ hệ thống
6	Định lượng kháng thể kháng Scl-70	<ul style="list-style-type: none"> - Xơ cứng bì
7	Định lượng kháng thể kháng Jo-1	<ul style="list-style-type: none"> - Viêm da cơ địa
8	Định lượng kháng thể kháng SS-A (Ro)	<ul style="list-style-type: none"> - Hội chứng Sjogren - Lupus ban đỏ hệ thống
9	Định lượng kháng thể kháng SS-B (LA)	<ul style="list-style-type: none"> - Viêm cơ. - Lupus sơ sinh – block nhĩ thất
10	Định lượng kháng thể kháng Histone	<ul style="list-style-type: none"> - Lupus do thuốc
11	Định lượng kháng thể kháng SS- Ap200	<ul style="list-style-type: none"> - Bệnh tim bẩm sinh liên quan đến bệnh tự miễn (SLE)
	Định lượng kháng thể kháng RNP-70	<ul style="list-style-type: none"> - Bệnh mô liên kết hỗn hợp

12		<ul style="list-style-type: none"> - Xơ cứng bì - Viêm da cơ
13	Định lượng Kháng thể kháng β 2 - GLYCOPROTEIN	<ul style="list-style-type: none"> - Hội chứng Antiphospholipd - Chứng múa giật - Thiếu máu não cục bộ - Bệnh huyết khối TM, ĐM...