

**THESIS TITLE** . Detection of Anti-Phospholipid Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**AUTHOR** Miss Nicha Charoensri

**M.Sc.** in Microbiology

**EXAMINING COMMITTEE :**

Assist. Prof. Dr.Vicharn	Vithayasai	Chairman
Assist. Prof. Dr.Prakong	Vithayasai	Member
Assoc. Prof. Dr.Sanit	Makonkawkeyoon	Member
	Chatchawann Apichartpiyakul	Member

#### ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease with numerous immunologic aberrations including B-cell hyperactivity and impairment of T-cell mediated immunity. B-cell hyperactivity is marked by increased autoantibodies production, including anti-phospholipid antibodies. These antibodies are associated with several clinical and laboratory manifestations such as thrombosis, recurrent fetal loss, thrombocytopenia, autoimmune hemolytic anemia, central nervous system (CNS) involvement, Raynaud's phenomenon, biological false positive serologic test for syphitis (BFP-STs), pyoderma gangreosum, pulmonary hypertension. These clinical and laboratory manifestations have been termed antiphospholipid syndrome (APS). A lot of SLE patients at Maharaaj Nakorn Chiang Mai Hospital had

APS. Underlining mechanisms for APS in these patients are not known. Since, anti-phospholipid antibodies may be a pathogenic factor for APS in these SLE patients. In this study six types of anti-phospholipid antibodies anti-VDRL, anti-crude phospholipid, anti-cardiolipin, anti-phosphatidylserine, anti-phosphatidylethanolamine and anti-phosphatidylcholine antibodies have been determined by ELISA in 58 healthy control subjects, 50 syphilitic patients, 95 SLE patients with APS and 91 SLE patients without APS. The prevalence of anti-VDRL antibody in syphilitic patients was 88.0%, in SLE with APS was 12.6% and without APS was 5.5%. The anti-VDRL antibody levels were significantly elevated only in syphilitic patients ( $P < 0.001$ ). Significantly elevated levels of anti-crude phospholipid, anti-cardiolipin and anti-phosphatidylserine antibodies were found in all three groups of patients ( $p < 0.001$ ) when compared to healthy control group. In syphilitic patients, only anti-cardiolipin antibody levels were significantly higher than those in SLE with APS and SLE without APS ( $p < 0.001$ ). In this study, the anti-phosphatidylethanolamine and anti-phosphatidylcholine antibodies levels were not elevated in any studied group. To elucidate the clinical significance of various types of anti-phospholipid antibodies, we analysed the association between the presence of various types of anti-phospholipid antibodies and the occurrence of APS in our SLE patients. The clinical features of APS which presented in our SLE patients were Raynaud's phenomenon, autoimmune hemolytic anemia, thrombocytopenia, pyoderma gangreosum, CNS-involvement and pulmonary hypertension. 50-60% of SLE patients with

APS had several types of anti-phospholipid antibodies. This may indicate that 40-50% of APS in SLE could not be explained by anti-phospholipid antibodies. It need to be explained by other mechanism. In addition, at least 37.4% of SLE without APS and all syphilis had anti-phospholipid antibodies. This suggested that different isotypes or different affinity of anti-phospholipid antibodies may be necessary for the occurrence of APS in these patients. Future study may give this specific answer.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรวจหาแอนติบอดีต่อฟอสโฟลิปิด ในผู้ป่วยโรคซิสเต็มิก ลูปัส อีริธีม่าโตซัส โดยวิธี เอนไซม์ลิงค์ อิมมิวโนซอร์เบนท์ แอสเซ

ชื่อผู้เขียน นางสาวนิชา เจริญศรี

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ :

ผศ. นพ. วิชาญ วิทยาศาสตร์	ประธานกรรมการ
ผศ. พญ. ประคอง วิทยาศาสตร์	กรรมการ
รศ. ดร. สนิท มกรแก้ว เกษุร	กรรมการ
อ. ชัชวาลย์ อภิชาติปิยกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

โรค systemic lupus erythematosus (SLE) เป็น autoimmune disease ที่มีความผิดปกติหลายอย่างของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น มีการสร้าง antibody ต่อ antigen ของเนื้อเยื่อตนเอง มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ การมี antibody ต่อ antigen ของเนื้อเยื่อตนเองนี้เชื่อว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ anti-phospholipid antibody เป็น antibody ต่อ antigen ของเนื้อเยื่อตนเองชนิดหนึ่งที่พบในผู้ป่วย SLE และมักพบร่วมกับการเกิดความผิดปกติหลายอย่าง เช่น thrombosis, recurrent fetal loss, thrombocytopenia, autoimmune hemolytic anemia, central nervous system (CNS) involvement, biological false positive serologic test for syphilis (BFP-STs), Raynaud's phenomenon, pyoderma-gangreosum, pulmonary hypertension กลุ่มอาการเหล่านี้จึงได้ชื่อว่า antiphospholipid syndrome (APS) ในผู้ป่วย SLE ที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ พบ APS มากและยังไม่สามารถอธิบายกลไกการเกิดได้แน่ชัด เป็นไปได้ว่า anti-phospholipid

antibody มีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติต่างๆ ที่พบ จึงได้ศึกษาโดยการตรวจหา anti-phospholipid antibody 6 ชนิด คือ anti-VDRL antibody, anti-crude phospholipid antibody, anti-cardiolipin antibody, anti-phosphatidylserine antibody, anti-phosphatidylethanolamine antibody และ anti-phosphatidylcholine antibody โดยใช้เทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย SLE 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มี APS จำนวน 95 คน และกลุ่มที่ไม่มี APS จำนวน 91 คน พร้อมทั้งศึกษาในผู้ป่วยซิฟิลิส ซึ่งเป็นโรคที่มี anti-phospholipid antibody แต่ไม่พบว่ามี APS จำนวน 50 คน และกลุ่มควบคุม 58 คน จากผลการตรวจหา anti-phospholipid antibody ชนิดต่างๆ นั้น พบว่าผู้ป่วยซิฟิลิสที่ให้ผลบวกต่อ anti-VDRL antibody มีถึง 88.0% แต่ผู้ป่วย SLE ที่มี APS และผู้ป่วย SLE ที่ไม่มี APS พบว่าให้ผลบวกต่อ anti-VDRL antibody เพียง 12.6% และ 5.5% เท่านั้น และระดับ anti-VDRL antibody ในผู้ป่วยซิฟิลิสมีระดับสูงกว่ากลุ่มอื่นมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) สำหรับ anti-phospholipid antibody ตัวอื่นก็มีเฉพาะ anti-crude phospholipid antibody, anti-cardiolipin antibody, และ anti-phosphatidylserine antibody ในผู้ป่วยซิฟิลิส ผู้ป่วย SLE ที่มี APS และไม่มี APS ต่างก็มีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) และผู้ป่วยซิฟิลิสมีเฉพาะ anti-cardiolipin antibody ตัวเดียวที่สูงกว่า SLE ทั้ง 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ส่วนระดับ anti-phosphatidylethanolamine antibody และ anti-phosphatidylcholine antibody นั้น ในผู้ป่วยทุกกลุ่มมีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างไร้ความสำคัญทางสถิติ ความผิดปกติที่จัดอยู่ใน APS ที่พบในผู้ป่วย SLE ของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้แก่ Raynaud's phenomenon, thrombocytopenia, autoimmune hemolytic anemia, CNS-involvement, BFP-STG, pulmonary hypertension และ pyoderma gangreosum พบว่าผู้ป่วย SLE ที่มี APS พบ anti-phospholipid antibody เพียง 50-60% แสดงว่า APS ที่เกิดขึ้นในผู้ป่วย SLE 40 - 50% ไม่สามารถจะอธิบายว่าเกิดจาก APA ได้ ซึ่งจะต้องมีการวิจัยต่อไป สำหรับ SLE ที่ไม่มี APS นั้นพบ anti-phospholipid

antibody ถึง 37.4% การพบ anti-phospholipid antibody ในผู้ป่วยที่ไม่มีอาการทางคลินิกของ APS ก็อาจจะอธิบายว่าอาจจะเป็นคุณสมบัติของ anti-phospholipid antibody ในผู้ป่วยกลุ่มนี้แตกต่างจาก anti-phospholipid antibody ในผู้ป่วยกลุ่มที่มี APS เช่น affinity หรือ isotype มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจจะเหมือนกับผู้ป่วยชนิดที่มี anti-phospholipid antibody แต่ไม่มี APS น่าจะได้มีการศึกษาเกี่ยวกับคนไข้ 2 กลุ่มนี้ในแง่ดังกล่าวในอนาคตต่อไป



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved