A close-up photograph of a person wearing a white lab coat and blue nitrile gloves. They are using a glass pipette to transfer a red liquid into a clear glass conical flask. The flask already contains some of the red liquid. The background is a blurred laboratory setting. The image is framed by a red and white border.

Петелицька Л.  
Б.  
Лабораторні  
методи  
діагностики в  
ревматології



# Основні лабораторні показники в ревматології

- ШОЕ
- АНФ
- СРБ
- dsDNA
- RNP
- Smith
- SS-A/SS-B
- Кардіоліпіни
- Jo-1
- p-ANCA/ c-ANCA
- РФ
- Анти-ЦЦП
- С3/С4
- Гістон
- Центромера
- Scl-70
- В-2 глікопротеїн-1
- КФК



# Історія відкриття

- Anti-CCP - 1998
- ANCA - 1982
- CRP - 1970s
- anti-Smith - 1966
- ANA - 1958
- dsDNA - 1950s
- RF - 1948



# Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ)

## Підвищення ШОЕ

- Анемія
- Гіперхолестеринемія
- Вагітність
- Вік
- Інфекції
- Злоякісні новоутворення
- Ревматологічні захворювання
- Термінальні стадії ниркової недостатності

## Зниження ШОЕ

- Серповидно-клітинна анемія
- Сфероцитоз
- Акантоцитоз
- Поліцетимія
- Мікроцитоз
- Гіпофібриногенемія
- Застійна серцева недостатність
- Кахексія
- Гіпербілірубінемія
- Виражений лейкоцитоз



# ШОЕ

- Неспецифічний маркер запалення
- Використовується як діагностичний критерій для гігантклітинного артеріїту (ГКА) та ревматичної поліміалгії (РПМ) (підвищення ШОЕ > 50 мм/год)
- Корисний для моніторингу перебігу захворювання та відповіді на лікування (особливо ГКА, РПМ, РА)
- Нормальні значення: чол-  $\text{вік}/2$ ; жінки-  $(\text{вік}+10)/2$



# СРБ

- Класичний гострофазовий білок плазми крові
- Синтезується в гепатоцитах під дією прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-1 та ФНП-альфа)
- Підвищення рівня СРБ відбувається через декілька годин після дії стимулу
- Пік протягом 2-3 днів
- Період напіврозпаду 8 годин
- При ефективному лікуванні основної причини, рівень СРБ може нормалізуватися протягом 24-48 годин



# СРБ

- Значне підвищення СРБ виникає при бактеріальних інфекціях, важкому РА, системних васкулітах, РПМ.
- Незначне підвищення СРБ виявляють при СЧВ, ССД, хворобі Шегрена. Значне підвищення СРБ у даної категорії хворих вимагає виключення наявності вторинних інфекційних ускладнень.
- Визначення базального рівня високочутливого СРБ має важливе значення для стратифікації хворих на РЗ за ступенем кардіоваскулярного ризику.



# Анемія

- **Анемія хронічного захворювання** – нормохромна нормоцитарна або гіпохромна нормоцитарна, для якої характерно незначне зниження гематокриту (найбільш виражена у хворих на РА і асоціюється зі ступенем важкості захворювання)
- **Залізодефіцитна анемія** – ШКК на фоні прийому НПЗП
- **Гемолітична анемія** – СЧВ, антифосфоліпідний синдром
- **Апластична анемія** – на фоні прийому цитостатиків





## Лейкоцитоз

- ВП
- Синдром Стілла
- Хвороба Кавасаки
- Прийом ГК
- Бактеріальна інфекція

## Лейкопенія

- СЧВ
- Хвороба Шегрена
- Синдром Фелті
- ЗЗСТ
- Прийом цитостатиків

## Еозинофілія

- Дифузний еозинофільний фасциїт
- Еозинофільний гранулематоз з поліангіїтом



## Тромбоцитоз

- РА (корелює з активністю захворювання)
- Хвороба Кавасакі

## Тромбоцитопенія

- СЧВ
- Синдром Фелті
- Антифосфоліпідний синдром
- Дерматоміозит
- ССД
- Синдром Шегрена
- Прийом цитостатичних препаратів



# Імунологічні дослідження

- Виявлення АТ до позаклітинних АГ і патологічних титрів субкласів імуноглобулінів (Ig). – РФ, анти-ЦЦП, IgG4.
- Визначення АТ до клітинних АГ - АНФ, АТ до гістону, до центромери, до двохспіральної ДНК, до рибонуклеопротеїду, АНЦА.
- Виявлення імуногенетичних маркерів – HLA B27, HLA DR4 чи HLA DR1.

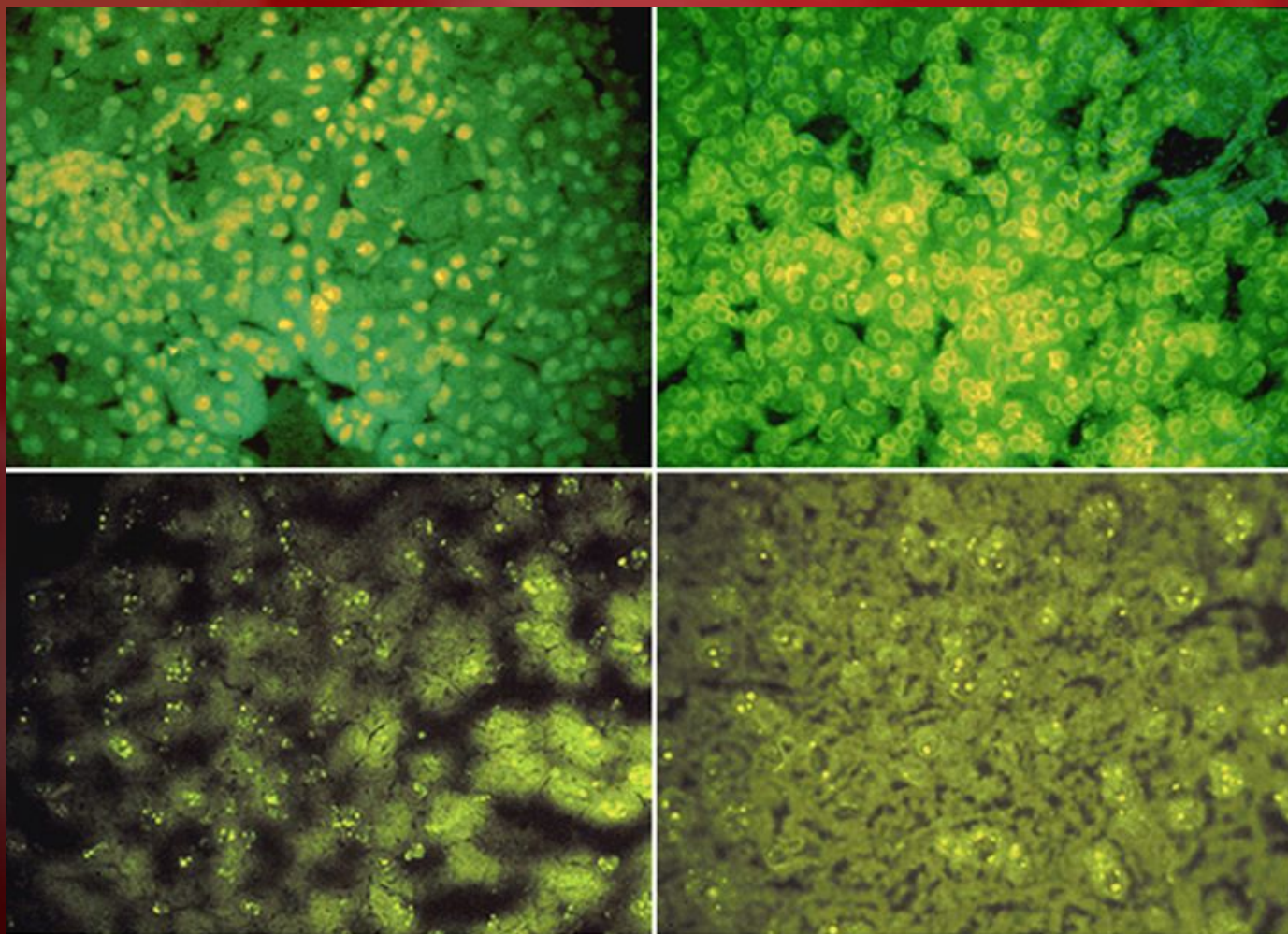


**Таблица 1. Локализация основных клеточных антигенов, определение АТ к которым используется в диагностике СБРЗ**

Ядро клетки		Цитоплазма клетки	Мембрана клетки
Нуклеопротеин (DNP)	ds-RNA (синтетич.)	Jo-1	Кардиолипин, другие фосфолипиды
ds-DNA	ss-RNA (натур.)	Ro(SS-A)	
ss-DNA	nRNP (U1 RNP)	Сериновая протеиназа-3 (в нейтрофилах)	Фосфолипиды ПТАК
Гистоны	rRNP		
Центромера	Sm	Миелопероксидаза (эластаза, лактоферрин) (в нейтрофилах)	
Ядерный матрикс	Ro(SS-A)		
Ядрышка	La(SS-B)	Митохондрии	
Scl-70	RANA, Mi, MA, Su, PCNA, Ki, Ku, HMG-17		
PM-1			
АНА (АНФ)			

Примечание. Полужирным шрифтом выделены антигены, выявление АТ к которым имеет наибольшее диагностическое значение. ds-DNA – двухспиральная (нативная) ДНК, ss-DNA – односпиральная (денатурированная) ДНК, Scl-70 – склеродерма-70 (топоизомераза-1), RNP – рибонуклеопротеин, Sm – антиген Смита (Smith), Ro(SS-A) – антиген Рональда (Ronald), La(SS-B) – антиген Лейн (Lane), АНА – антинуклеарные антитела (антинуклеарный фактор – АНФ), Jo-1 – синтетаза тРНК, ПТАК – протромбинактивирующий комплекс.

# Типи флуоресцентного свічення





**Таблица 2. Типы флюоресценции и их значение при определении АНФ иммунофлюоресцентным методом**

Тип свечения	Антигены	Заболевание
Периферический (краевой)	dsDNA, ламинин	СКВ, ХАГ
Гомогенный (диффузный)	DNP, гистон	СКВ, лекарственная красная волчанка, дерматозы, опухоли
Крапчатый (пятнистый)	Sm, RNP, Scl-70, Ro(SS-A), La(SS-B)	СКВ, СЗСТ, ССД, синдром Шегрена
Нуклеолярный (ядрышковый)	7S-RNA	ССД
Центромерный	Центромера	CREST-синдром

Примечание. ХАГ – хронический активный гепатит.

**Таблица 3. Частота обнаружения АНФ при ревматических, неревматических заболеваниях и у здоровых людей**

<b>Ревматические заболевания, %</b>	
<b>СКВ</b>	<b>95-99</b>
<b>СЗСТ</b>	<b>95-100</b>
<b>Болезнь Шегрена</b>	<b>75-90</b>
<b>ССД</b>	<b>50-90</b>
<b>Дермато/полимиозит</b>	<b>25-50</b>
<b>РА</b>	<b>30</b>
<b>Системные васкулиты (УП, МПА, ЭГПА, ГПА)</b>	<b>15</b>
<b>Неревматические заболевания, %</b>	
<b>Хронический аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз</b>	<b>25-60</b>
<b>Цирроз печени (непервичный билиарный)</b>	<b>15</b>
<b>Дискоидная красная волчанка</b>	<b>25</b>
<b>Опухоли</b>	<b>15-25</b>
<b>Лимфопролиферативные заболевания</b>	<b>15</b>
<b>Здоровые люди, %</b>	
<b>До 70 лет</b>	<b>3-5</b>
<b>Старше 70 лет</b>	<b>5-20</b>
<b>Родственники больных СКВ</b>	<b>15-25</b>

Примечание. УП – узелковый полиартериит, МПА – микроскопический полиангиит, ЭГПА – эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (синдром Чарджа-Стросса), ГПА – гранулематоз с полиангиитом (гранулематоз Вегенера).



# АНФ при СЧВ

- Скринінговий діагностичний тест
- Чутливість 93-99% при СЧВ
- Чутливість 95-100% - при медикаментозно індукованому СЧВ
- Специфічність низька
- Чим вище титр, тим вища специфічність

1: 40 – У 30% здорового населення

1:160 - у 5% здорового населення

1:320 – діагностичний титр при СЧВ

Негативний АНФ - робить діагноз СЧВ малоімовірним

Титри АНФ погано корелюють з активністю захворювання, тому визначення даного показника в динаміці не рекомендують





## АНФ при ЮРА

- Визначення АНФ у хворих на ЮРА необхідно для оцінки ризику виникнення увеїту



## АТ до dsDNA

- Специфічність для СЧВ - 97%
- Присутній у близько 70% хворих на СЧВ
- Титри корелює з активністю захворювання і вовчаковим нефритом



## АТ до ssDNA

- Низька специфічність для СЧВ
- Присутні у близько 90% хворих на СЧВ
- Титри корелює з активністю захворювання і вовчаковим нефритом



## АТ до Sm

- Дуже специфічні для СЧВ > 95%
- Виявляються тільки у 20-30% хворих
- Є предикторами важкого перебігу захворювання, уражень нирок і ЦНС
- Можуть бути позитивними у хворих з негативними АТ до ds DNA



## АТ до RNP

- Діагностичний критерій для ЗЗСТ (хвороби Шарпа)
- Дуже чутливі до ЗЗСТ, але не специфічні
- Також виявляються у 30-40% хворих на СЧВ



## АТ до гістонів

- Виявляються при медикаментозно індукованому вовчаку (95%), рідше при СЧВ (30-40%)
- Лікарські засоби, які викликають появу медикаментозно індукованого вовчака: гідралазин, прокаїнамід, хінідин пеніциламін.



## АТ до SS-A/Ro

- У > 60% випадків виявляються при негативних АНА
- Асоціюється з підгострим шкірним вовчаком, дефіцитом С3 і С4, дебютом захворювання у віці > 60 років, фотосенсибілізацією, інтерстиційним ураженням легень, нефритом, гіперпродукцією РФ
- Вроджена АВБ, неонатальний вовчак
- Є критерієм активності
- Виявляються у 40-90% хворих на синдром Шегрена і 30-50% хворих на СЧВ



## АТ до SS-B/La

- Виявляються у 40-50% хворих на хворобу Шегрена і 15-20% хворих на СЧВ
- У хворих на СЧВ наявність АТ до SS-B/La асоціюється з низькою частотою ураження нирок і сприятливим перебігом
- У хворих на хворобу Шегрена – виражена лімфоцитарна інфільтрація слюнних залоз і розвиток екстрагландулярних проявів (васкуліт).





## АТ до SS-B/La

- Виявляються у 40-50% хворих на хворобу Шегрена і 15-20% хворих на СЧВ
- У хворих на СЧВ наявність АТ до SS-B/La асоціюється з низькою частотою ураження нирок і сприятливим перебігом
- У хворих на хворобу Шегрена – виражена лімфоцитарна інфільтрація слюнних залоз і розвиток екстрагландулярних проявів (васкуліт).



**Таблица 5. Частота выявления аутоАТ к Ro(SS-A) и La(SS-B) при различных СРПЗ**

<b>Заболевание/синдром</b>	<b>АТ к Ro(SS-A), %</b>	<b>АТ к La(SS-B), %</b>
<b>Болезнь Шегрена</b>	<b>50-96</b>	<b>54-87</b>
<b>Синдром Шегрена</b>	<b>44</b>	<b>16</b>
<b>РА с синдромом Шегрена</b>	<b>38</b>	<b>6</b>
<b>СКВ с синдромом Шегрена</b>	<b>58</b>	<b>73-85</b>
<b>ССД с синдромом Шегрена</b>	<b>20</b>	<b>0,2</b>
<b>СКВ без синдрома Шегрена</b>	<b>24-38</b>	<b>3-8</b>



## Антицентромерні АТ

- Виявляються при склеродермії (ССД), зокрема, CREST синдромі
- Чутливість при ССД коливається від 30-60%
- Специфічність при ССД висока, більш ніж 95%
- Асоціюється з розвитком вогнищового ураження шкіри у хворих на ССД і низьким ризиком розвитку легеневого фіброзу
- Рідко виявляються при СЧВ



## АТ до Scl-70 (anti-topoisomerase 1)

- Виявляються при склеродермії (ССД),
- Чутливість при ССД коливається від 20-40%
- Специфічність при ССД - 90-95%
- Асоціюється з розвитком дифузного ураження шкіри у хворих на ССД, титр корелює з активністю захворювання, високим ризиком розвитку легеневого фіброзу



## АТ до Scl-70 (anti-topoisomerase 1)

- Виявляються при склеродермії (ССД),
- Чутливість при ССД коливається від 20-40%
- Специфічність при ССД - 90-95%
- Асоціюється з розвитком дифузного ураження шкіри у хворих на ССД, титр корелює з активністю захворювання, високим ризиком розвитку легеневого фіброзу



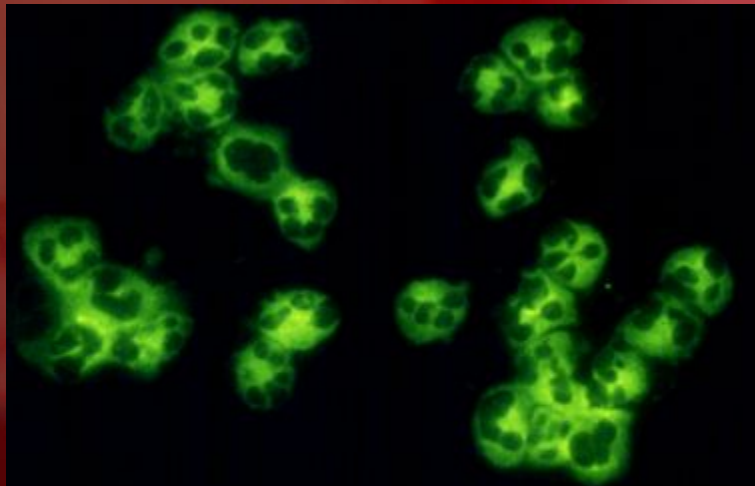
## Міозит специфічні АТ (Jo-1, Mi-2, PM-Scl, KJ)

- Мають високу специфічність та низьку чутливість
- Виявлення АТ до Jo-1 свідчить про наявність антисинтезного синдрому
- Виявлення АТ до Mi-2 асоціюється з сприятливим перебігом
- АТ до PM-Scl – СЗСТ з ознаками ССД, поліміозиту і ураженням нирок
- АТ до KJ – при міозиті, синдромі Рейно та інтерстиціальному ураженню легень

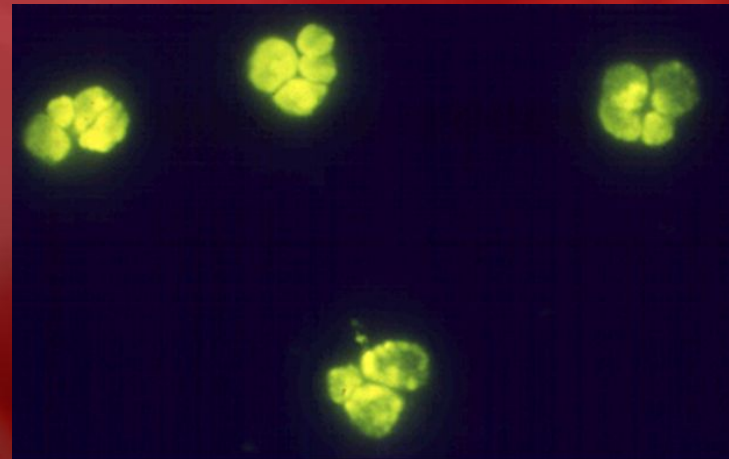


**Таблица 6. Частота обнаружения ANCA при системных васкулитах**

Заболевание	Тип АТ	
	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе), %	c-ANCA (АТ к протеиназе-3), %
Узелковый полиартериит	20	10
МПА	50-70	50
ЭГПА (синдром Чарджа-Стросса)	60	10
ГПА (гранулематоз Вегенера)	20	80
Другие васкулиты	<20	<10



**C-ANCA pattern** Demonstration of **cytoplasmic** antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) by indirect immunofluorescence with normal neutrophils. There is heavy staining in the cytoplasm while the multilobulated nuclei (clear zones) are nonreactive. These antibodies are usually directed against proteinase 3 and most patients have Wegener's granulomatosis. Courtesy of Helmut Rennke, MD.



**P-ANCA pattern** Demonstration of **perinuclear** antineutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA) by indirect immunofluorescence with normal neutrophils. Staining is limited to the perinuclear region and the cytoplasm is nonreactive. Among patients with vasculitis, the antibodies are usually directed against myeloperoxidase. However, a P-ANCA pattern can also be seen with autoantibodies against a number of other antigens including lactoferrin and elastase. Non-MPO P-ANCA can be seen in a variety of nonvasculitic disorders. Courtesy of Helmut Rennke, MD.





**Таблица 7. Ассоциация ANCA с формой и активностью ГПА (гранулематоза Вегенера)**

Категория заболевания	Частота обнаружения	
	c-ANCA, %	p-ANCA
Генерализованный, активный	76-100	0-25%
Генерализованный, ремиссия	26-50	Негативные
Ограниченный, активный	51-75	Негативные
Ограниченный, ремиссия	26-50	Негативные



# Антифосфоліпідні АТ

- представляють собою гетерогенну групу АТ до негативно заряджених фосфоліпідів, включаючи кардіоліпін, фосфатидилсерин, фосфатидилхолін, фосфатидилінозитол,
- фосфатидилетаноламін, фосфатидилгліцерин, а також до  $\beta 2$  глікопротеїну-1 - кофактору, що взаємодіє з фосфоліпідами і що є природнім плазмовим антикоагулянтом та інгібітором агрегації тромбоцитів.
- Серологічний маркер і фактор ризику розвитку тромботичних ускладнень у хворих з АФС.



# Антифосфоліпідні АТ

- Обов'язкові методи лабораторної діагностики АФС включають:
  1. Визначення Ig M та G до кардіоліпіну (не менше ніж 2 рази з інтервалом 12 тиж.)
  2. Виявлення вовчакового антикоагулянта в фосфоліпідзалежних коагуляційних тестах (подовження АЧТЧ і при змішуванні з нативною плазмою в концентрації 1:1 подовження АЧТЧ залишається)
  3. Визначення Ig M та G до  $\beta 2$  глікопротеїну-1 (не менше ніж 2 рази з інтервалом 12 тиж.).




# Комплемент

1. Загальна гемолітична активність комплекменту класичного шляху (CH50) – зниження спостерігається при СЗСТ та імунокомплексних васкулітах.
2. Зниження С3, С4 - корелює з активністю СЧВ, особливо нефритом



# Ревматоїдний фактор

- аутоантитіла IgG, IgM або IgA, що реагують з Fc-фрагментом IgG
- є діагностичним критерієм РА (чутливість – 50-90%, специфічність – 80-93%)
- виявляється також у хворих на СЧВ, синдром Шегрена, ССД, кріоглобулінемію, СЗСТ, хронічні інфекції, захворюваннями легень, первинний біліарний цироз, злоякісні
- позитивний РФ у 5% здорових людей у віці до 70 років, та у 25% - після 70 років.
- 40% хворих на ранній РА негативні за РФ



# Анти-ЦЦП (антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду)

- Гетерогенна група АТ, які розпізнають антигенні детермінанти філагрину та інших білків, що містять атипову амінокислоту цитрулін.
- Цитруліновані білки утворюються в результаті посттрансляційної модифікації залишків аргініну під дією фермента пептидиларгінін деімінази.
- Використовується для діагностики раннього РА, особливо при негативному РФ та диференційному діагнозі з іншими ревматичними захворюваннями
- Специфічність для РА – 93-99%, чутливість – 41-80%
- Є також маркером прогнозування важкого ерозивного ураження суглобів

Таблица 9. Целесообразность определения аутоАТ к различным антигенам при клиническом подозрении на ревматическое заболевание и некоторые неревматические заболевания

РА	РФ (IgM-РФ), АТ к ЦЦП, МЦВ
Системное заболевание соединительной ткани	АНА (АНФ)
СКВ	1-й этап: АНА (АНФ), АТ к dsDNA, Ro(SS-A)
	2-й этап: АТ к Sm, La(SS-B), гистону, ssDNA
СЗСТ (болезнь Шарпа)	АНА (АНФ), АТ к RNP
ССД	АНА (АНФ), АТ к Scl-70
CREST-синдром	АНА (АНФ), АТ к центромере
Полимиозит/дерматомиозит	АТ к Jo-1
Болезнь Шегрена	АНА (АНФ), АТ к Ro(SS-A), La(SS-B), РФ
Синдром Фелти	АТ к ssDNA, РФ
IgG4-зависимое заболевание	IgG4
Системный васкулит	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе), c-ANCA (АТ к протеиназе-3)
МПА	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе), c-ANCA (АТ к протеиназе-3)
ЭГПА (синдром Чарджа-Стросса)	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе)
ЭГПА (гранулематоз Вегенера)	c-ANCA (АТ к протеиназе-3)
Эссенциальный криоглобулинемический васкулит	Криоглобулины
Синдром Гудпасчера	АТ к базальным мембранам клубочковых капилляров почек
АФЛС	IgG- и IgM-АТ к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт (удлинение АЧТВ), RW