



# Современные лабораторные маркеры аутоиммунных заболеваний (геморрагический васкулит, аутоиммунный гепатит, аутоиммунный тиреоидит)

Проверила: Шарипханова Гульжанат Хамитовна

Подготовила :Әбілқасым Жұлдыз ,798 группа

Астана  
2017

# **Антитела к базальной мембране клубочков почек IgG (анти-БМК, Glomerular Basement Membrane IgG antibody, anti-GBM)**

*Тест, использующийся в диагностике синдрома Гудпасчера.*

Болезни, ассоциированные с этим видом антител, являются редко встречающимися аутоиммунными заболеваниями, при которых иммунитет направлен против нормальных компонентов базальной мембраны клубочков почек и альвеолярного эпителия. Основной антигенной мишенью для антител данного типа являются альфа-3 цепи NC1 домена коллагена IV типа, присутствующего в почках, лёгких, хрусталике, мозге и яичках, но, очевидно, более доступного на уровне клубочков почек вследствие уникальных особенностей их строения.

Гистологически заболевание характеризуется линейным отложением циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) на базальной мембране клубочков.

Накопление антител против антигенов базальной мембраны клубочков, реагирующих с эпитопами на молекулах коллагена VI типа, приводит к фиксации и активации комплемента. В тех случаях, когда организм начинает вырабатывать Ig G против мембраны антигенных гликопротеидов базальной мембраны клубочков, возникает противомембранозная болезнь.

Коллаген VI типа, обнаруживаемый только в базальной мембране клубочков, формирует матрикс, в который интегрированы другие молекулы (ламинил, энактин).

Специфичные для синдрома Гудпасчера антитела направлены против NC1 а-3 цепи молекулы коллагена VI типа в базальной мембране клубочков.

Титр антител коррелирует с активностью процесса.

Выявление этих аутоантител приводят к развитию ярко выраженного пролиферативного гломерулонефрита с кровоизлияниями, с быстро нарастающей почечной недостаточностью.

Чувствительность при синдроме Гудпасчера 98-99%.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	Подозрение на синдром Гудпасчера (почечно-лёгочный синдром; симптомы общего недомогания, острые, обычно быстро прогрессирующие гломерулонефриты, лёгочные геморрагии, часто предшествующие нефриту).
<b>Интерпретация результатов</b>	<p><b>Положительно:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• синдром Гудпасчера (почечно-лёгочный синдром);</li><li>• быстро прогрессирующий гломерулонефрит, осложнённый образованием антител к базальной мембране клубочков;</li><li>• anti-GBM болезнь, развивающаяся у части пациентов с синдромом Алпорта (наследственная аномалия коллагена IV типа) после пересадки почки;</li><li>• тубулоинтерстициальная патология почек, связанная с антителами к базальной мембране клубочков.</li></ul> <p><b>Ложноположительные результаты</b> могут быть связаны с выявлением антител, связывающихся с другими цепями коллагена IV.</p> <p><b>Отрицательно:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• отсутствие антител к базальной мембране клубочков;</li><li>• низкие титры антител.</li></ul> <p><b>Нормативные значения: 0-20 МЕ/мл.</b></p> <p><b>Сроки изготовления анализа: 1 рабочий день.</b></p>

# (Антитела к цитоплазме нейтрофилов с указанием типа свечения - цитоплазматический или перинуклеарный, pANCA и cANCA, IgG)

- *Тест, использующийся в диагностике системных васкулитов.*

При исследовании сыворотки методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием фиксированных препаратов нейтрофилов человека наличие антител такого типа проявляется в виде диффузного цитоплазматического (cANCA) или перинуклеарного (pANCA) окрашивания. Они связываются с компонентами цитоплазматических гранул нейтрофилов и моноцитов. Как показано, основной антигенной мишенью для cANCA является лизосомальная протеиназа (PR-3), для pANCA - миелопероксидаза (MPO). По типу свечения pANCA могут интерферировать с антинуклеарными антителами (ANA).

Антитела к цитоплазме нейтрофилов клинически связаны с гранулематозом Вегенера (васкулит мелких сосудов, проявляющийся обычно пневмонией, синуситами и гематурией). Их можно наблюдать при других формах васкулитов – узелковом периартериите, синдроме Чарга–Стросса (Churg-Strauss, эозинофильный гранулематозный ангиит, васкулит средних сосудов), «rachi-immune» некротизирующем быстро прогрессирующем гломерулонефрите (см. также тест – антитела к базальной мембране клеток почек).

- Диагностическая значимость двух указанных видов антител к цитоплазме нейтрофилов (cANCA и pANCA) неравнозначна.

cANCA проявляют более сильную связь с гранулематозом Вегенера, они наблюдаются у 85% пациентов с этим заболеванием, чувствительность теста может быть ниже при локализованном варианте или неактивной стадии болезни. Отрицательный результат не исключает диагноз гранулематоза Вегенера, но ложноположительные результаты редки. У пациентов с установленным диагнозом синдрома Вегенера рост титров cANCA подтверждает рецидив заболевания, снижение титров подтверждает успешное лечение. cANCA выявляются также при узелковом полиартериите. pANCA, обнаруживаются реже при гранулематозе, по сравнению с cANCA, но преобладают у пациентов с микроскопическим полиангиитом, быстро прогрессирующим гломерулонефритом. Они могут быть выявлены также при системной красной волчанке, синдроме Гудпасчера, язвенном колите.

Чувствительность тестирования на наличие cANCA и pANCA (непрямая иммунофлюоресценция) составляет для системных васкулитов: при гранулематозе Вегенера – 85%, микроскопическом полиангиите – 81%, идиопатическом быстро прогрессирующем гломерулонефрите – 81%, классическом узелковом полиартериите – 40%, синдроме Churg-Strauss – 66%. Вероятность ложноположительных результатов для пациентов с другими заболеваниями составляет около 24%, для здоровых людей – 6%.

<b>Подготовка</b>	Минимальные требования: Желательно натощак (4 - 6 часов голодания); сок, чай, кофе (тем более с сахаром) - не допускаются, можно пить воду).
<b>Показания</b>	Диагностика системных васкулитов и идиопатического быстро прогрессирующего гломерулонефрита. Мониторинг состояния пациентов после проведения терапии.
<b>Интерпретация результатов</b>	<b>Положительно:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• васкулиты (как системные, так и локализованные): гранулематоз Вегенера, микроскопический полиангиит, идиопатический быстро прогрессирующий гломерулонефрит, классический узелковый полиартериит, синдром Чарга–Стросса;</li><li>• системная красная волчанка;</li><li>• синдром Гудпасчера;</li><li>• язвенный колит;</li><li>• здоровые люди (до 6 %).</li></ul> <b>Нормативные значения: 0-1 или отрицательно (&lt; 1:40).</b>  Сроки изготовления анализа: 1 рабочий день.

# Антитела к рецептору фосфолипазы А2 (Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody, PLA2R Antibodies), суммарные IgG, IgA, IgM

- Рецептор фосфолипазы А2 (PLA2R) является трансмембранным гликопротеином, экспрессируемым на подоцитах почечного клубочка. Иммуные комплексы, содержащие аутоантитела и антиген, откладываются под базальной мембраной в виде субэпителиальных скоплений антигена. Отложения иммунных комплексов в свою очередь запускают активацию комплемента и гиперпродукцию ряда белков базальной мембраны, включая коллаген IV типа и ламинин. Эти изменения приводят к перестройке базальной мембраны и нарушению ее функций, в результате чего большие количества белка попадают из крови в мочу.
- Серологическое обследование для выявления аутоантител к рецептору фосфолипазы А2 является малоинвазивным и быстрым методом диагностики идиопатического мембранозного гломерулонефрита.

**Подготовка**

Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.

**Показания**

- ❖ дифференциальная диагностика поражения почек;
- ❖ дифференциальная диагностика нефротического синдрома;
- ❖ диагностика мембранозного гломерулонефрита.

**Интерпретация результатов**

**Единицы измерения:** титр.

**Референсные значения:** титр <1:10.

Антитела к конформационным эпитопам рецептора фосфолипазы А<sub>2</sub> являются весьма специфическими диагностическими маркерами идиопатического мембранозного гломерулонефрита. Они выявляются у 50-75% больных с этим заболеванием, но не определяются при других первичных и вторичных гломерулопатиях, аутоиммунных заболеваниях и у здоровых лиц. Содержание антител, выраженное в виде титра, коррелирует с тяжестью течения заболевания и ответом на проводимую терапию.

# Антитела к эндотелию на клетках HUVEC (АЭТА, Anti-endothelial cells Antibody, АЕСА), суммарные IgG, IgA, IgM

- **Антиэндотелиальные антитела (АЭТА)** составляют гетерогенную группу антител, направленных к антигенным детерминантам эндотелиальных клеток. Точная природа антигенов не установлена, кроме того, некоторые антигены аутоантител могут являться компонентами плазмы крови, адсорбированными на поверхности эндотелиоцитов. Антиэндотелиальные антитела перекрестно реагируют с антителами к кардиолипину классов IgG и IgM и антителами к тромбоцитам.
- Антитела к эндотелию были обнаружены при многих первичных васкулитах и васкулопатиях. Сравнительно часто они выявляются при болезни Кавасаки, аортоартерите Такаясу, гранулематозных васкулитах, пурпуре Шенлейн-Геноха и вторичных васкулопатиях, в частности, облитерирующем тромбангиите (болезни Бюргера), гемолитической тромбоцитопенической пурпуре, антифосфолипидном синдроме. Антиэндотелиальные антитела связаны с активностью ряда васкулитов и васкулопатий, в том числе АНЦА-ассоциированных васкулитов, в частности, болезни Кавасаки, облитерирующего тромбангиита. При синдроме Бехчета они встречаются у 50% больных, особенно у больных с выраженным кожным васкулитом. Целесообразность детекции этой разновидности аутоантител в клинике определяется их появлением на фоне высокой клинической активности заболевания, что позволяет ориентироваться на их содержание для определения фазы заболевания. Они могут играть определенную роль в патогенезе васкулитов в связи с тем, что способны влиять на экспрессию эндотелиальных молекул адгезии и факторов воспаления.
- Антиэндотелиальные антитела, обнаруженные в сыворотке больных с системной красной волчанкой, способны усиливать высвобождение IL-6 из эндотелиоцитов, участвуя таким образом в патогенезе системной воспалительной реакции.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>❖ диагностика системных васкулитов крупных сосудов;</li><li>❖ диагностика васкулитов и васкулопатий на фоне системных ревматических заболеваний;</li><li>❖ динамическое наблюдение за васкулитами и васкулопатиями различного генеза.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p>Единицы измерения: титры. Референсные значения: &lt;1:40.</p> <p>Обнаружение высоких титров антител к эндотелию указывает на высокую активность воспалительного процесса при системных васкулитах крупных сосудов, прежде всего болезни Кавасаки, аортоартериите Такаясу и височном артериите. Выявление антител к эндотелию сравнительно неспецифично для определенной формы васкулита и рассматривается в качестве общего диагностического маркера васкулитов крупных сосудов и васкулопатий.</p>

# Панель антител к антигенам антинейтрофильных антител (панель антигенов АНЦА)

*Антитела к цитоплазме нейтрофилов (АНЦА)* были впервые описаны при гранулематозных васкулитах. При системных васкулитах в качестве основных антигенов антинейтрофильных антител выступает ряд ферментов, содержащихся в азурофильных гранулах нейтрофилов. В азурофильных гранулах цитоплазмы нейтрофилов находится ряд белков, которые осуществляют микробицидные и бактерицидные функции этих клеток. К известным антигенным мишеням АНЦА относят протеиназу 3, миелопероксидазу, лактоферрин, эластазу, белок ВР1 и катепсин G. Панель антигенов позволяет в одном тесте выявить антитела к 7 антигенам и исследовать содержание каждого из них. Антинейтрофильные антитела также используются в качестве диагностических маркеров при воспалительных заболеваниях кишечника и нейтропениях, однако при этих заболеваниях основные антигены аутоантител неизвестны. Панель антигенов антинейтрофильных антител целесообразно использовать в случае положительного результата выявления антител к цитоплазме нейтрофилов с помощью иммунофлюоресценции.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ ранняя диагностика и дифференциальная диагностика системных васкулитов;</li><li>▪ диагностика лимитированной и системной форм гранулематоза Вегенера;</li><li>▪ диагностика болезни Чарга-Страусс;</li><li>▪ диагностика микроскопического полиангиита;</li><li>▪ диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и острой почечной недостаточности;</li><li>▪ диагностика и дифференциальная диагностика воспалительных заболеваний кишечника;</li><li>▪ диагностика первичного склерозирующего холангита и аутоиммунных заболеваний печени.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p><b>Единицы измерения:</b> тест качественный, результат представляют в форме «обнаружено» или «не обнаружено» (для каждой разновидности аутоантител).</p> <p><b>Референсные значения:</b> антитела к соответствующим белкам не обнаружены.</p> <p>Антитела к протеиназе 3 и антитела к миелопероксидазе встречаются прежде всего при системных васкулитах. Антитела к эластазе выявляются также при васкулитах, связанных с использованием наркотиков, в то время как антитела к лактоферрину, белку ВР1 и катепсину G выявляются на фоне ревматоидного артрита, СКВ и воспалительных заболеваний кишечника. Высокая встречаемость антител к лактоферрину наблюдается у больных с аутоиммунными заболеваниями печени такими, как аутоиммунных гепатит и первичный билиарный цирроз.</p>

<b>Антиген</b>	<b>Заболевание</b>
<b>Протеиназа 3</b>	Гранулематоз Вегенера
<b>Миелопероксидаза</b>	Микроскопический полиангиит, гломерулонефрит
<b>Катепсин G</b>	Воспалительные заболевания кишечника
<b>Лактоферрин</b>	Склерозирующий холангит, воспалительные заболевания кишечника, аутоиммунный панкреатит
<b>Эластаза</b>	Полиангиит и гранулематоз
<b>Белок ВРІ</b>	Инфекции при муковисцидозе, воспалительные заболевания кишечника
<b>Лизоцим</b>	Ревматоидный артрит и воспалительные заболевания кишечника

## Антитела к протеиназе 3 (Serine Protease 3 Antibody, PR-3)

- Протеиназа 3 является небольшим белком (29 кДа), локализующимся в азурофильных гранулах нейтрофилов, гранулах моноцитов и цитоплазме эндотелиальных клеток. Это один из основных антигенов антител к цитоплазме нейтрофилов который в иммунофлюоресцентном тесте индуцирует цитоплазматический тип свечения (цАНЦА, сANCA). Определение антител к протеиназе 3 является высокоспецифичным лабораторным тестом в диагностике гранулематоза с полиангиитом (ранее называемого «гранулематоз Вегенера»), тяжелого заболевания, проявляющегося триадой - гранулематозным поражением верхних дыхательных путей, легких и почек. Часто это заболевание сопровождается полиневритом.
- Высокие титры антител к протеиназе 3 встречаются у 90-95% больных с развернутой картиной активного гранулематозного процесса. Локализованные формы гранулематоза Вегенера, поражающие верхние дыхательные пути, реже сопровождаются образованием аутоантител (50-60%). Редко антитела к протеиназе 3 могут быть обнаружены при других АНЦА-ассоциированных васкулитах – микроскопическом полиангиите, синдроме Чарга-Страусс и узелковом полиартериите. Содержание антинейтрофильных антител при гранулематозе Вегенера является клинически значимым и коррелирует с активностью заболевания. Высокий их титр служит основанием для патогенетической иммуносупрессивной терапии.
- Для повышения чувствительности серологического обследования пациентов с системными васкулитами действующие международные рекомендации требуют одновременного использования иммунофлюоресцентного теста обнаружения антител к цитоплазме нейтрофилов и выявления антител к основным антигенам АНЦА - протеиназе 3 и антител к миелопероксидазе.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ранняя диагностика и дифференциальная диагностика системных васкулитов;</li><li>• диагностика лимитированной (носоглоточной) и системной формы гранулематоза Вегенера;</li><li>• мониторинг активности гранулематоза Вегенера;</li><li>• диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и острой почечной недостаточности;</li><li>• дифференциальная диагностика полинейропатии.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p>Единицы измерения: относительные единицы (отн.ед/мл).</p> <p>Референсные значения: &lt;20 отн. ед/мл.</p> <p>Выявление антител к протеиназе 3 служит одним из основных методов диагностики АНЦА-ассоциированных васкулитов. Отсутствие диагностических титров антител к протеиназе 3 значительно снижает вероятность гранулематоза Вегенера даже при развернутой клинической картине системного васкулита. При лимитированных формах гранулематоза антитела могут отсутствовать более чем у 50% пациентов. В этом случае может быть рекомендовано использовать определение панели антигенов антинейтрофильных антител.</p>

# Антитела к миелопероксидазе (МПО, Myeloperoxidase Antibody, MPO)

- Антитела к миелопероксидазе представляют разновидность антинейтрофильных цитоплазматических антител (АНЦА, ANCA).
- Миелопероксидаза - один из бактерицидных ферментов азурофильных гранул, генерирующий кислородные радикалы и обладающий выраженным положительным зарядом. В иммунофлюоресцентном тесте антитела к миелопероксидазе индуцируют перинуклеарный тип флюоресценции (пАНЦА, рANCA), обусловленный перераспределением миелопероксидазы внутри клетки при ее фиксации. В отличие от антител к протеиназе 3, антитела к миелопероксидазе не обладают высокой специфичностью для диагностики какого-либо конкретного васкулита, а могут выявляться при всех АНЦА-ассоциированных васкулитах и родственных им заболеваниях. Антитела к миелопероксидазе встречаются у большинства больных идиопатическим некротизирующим васкулитом с полулуниями, микроскопическим полиангиитом, синдромом Чарга-Страусс, а также при гранулематозе Вегенера без антител против протеиназы 3. Антитела к МПО могут выявляться при синдроме Гудпасчера.
- Несмотря на высокую специфичность выявления антинейтрофильных антител по отношению к системным васкулитам, они могут встречаться при инфекционном, паранеопластическом и лекарственном васкулитах. Антитела к миелопероксидазе редко могут встречаться при волчаночном нефрите.

- Преобладающей формой васкулитов у больных с антителами к миелопероксидазе является микроскопический полиангиит, который поражает сосуды мелкого калибра и клинически проявляется сочетанным поражением легких и почек. Кроме того, приблизительно у трети больных с антителами к миелопероксидазе отмечается быстро прогрессирующий гломерулонефрит с полулуниями, который не сопровождается внепочечными проявлениями. Уровни антител к миелопероксидазе максимальны во время активно протекающего гломерулонефрита. Затихание процесса или Показания к назначению теста: ранняя диагностика и дифференциальная диагностика системных васкулитов; диагностика микроскопического полиангиита и синдрома Чарга-Страусс; диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и острой почечной недостаточности; дифференциальная диагностика полинейропатии. подавление активности васкулита при эффективной цитостатической терапии приводит к элиминации антител у 95% больных, причем у 75% больных такая сероконверсия происходит в течение ближайших 6 месяцев после достижения клинической ремиссии процесса.
- Другой частой клинической формой гранулематозных васкулитов, которая сопровождается наличием антител к миелопероксидазе, является синдром Чарга-Страусс. Клиническая симптоматика этого заболевания представлена легочным васкулитом с эозинофильными инфильтратами, астмой и гиперэозинофилией. Антитела к миелопероксидазе при синдроме Чарга-Страусс выявляются у 40-70% больных. Антитела к миелопероксидазе практически не встречаются при васкулитах крупных сосудов (аортоартериите Такаясу, болезни Кавасаки, гигантоклеточном артериите) и крайне редко выявляются при классическом узелковом полиартериите.
- Для повышения чувствительности серологического обследования пациентов с системными васкулитами действующие международные рекомендации требуют одновременного использования иммунофлюоресцентного теста и определения антител к протеиназе 3 и антител к миелопероксидазе.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ранняя диагностика и дифференциальная диагностика системных васкулитов;</li><li>• диагностика микроскопического полиангиита и синдрома Чарга-Страусс;</li><li>• диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и острой почечной недостаточности;</li><li>• дифференциальная диагностика полинейропатии.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p>Единицы измерения: относительные единицы (отн.ед/мл).</p> <p><b>Референсные значения: &lt;20 отн.ед/мл.</b></p> <p>Положительно: выявление диагностических титров антител к миелопероксидазе служит одним из основных методов диагностики АНЦА-ассоциированных васкулитов и подтверждает диагноз васкулита.</p> <p>Отрицательно: отсутствие диагностически значимых титров антител к миелопероксидазе снижает вероятность АНЦА-ассоциированного системного васкулита. В этом случае может быть рекомендовано использование исследования с панелью антинейтрофильных антител.</p> <p>Антитела к миелопероксидазе практически не встречаются при васкулитах крупных сосудов (аортоартериите Такаясу, болезни Кавасаки, гигантоклеточном артериите) и крайне редко выявляются при классическом узелковом полиартериите.</p>

## ASCA ( антитела к *Saccharomyces cerevisiae*)

Антитела направлены против олигоманнозных эпитопов клеточной стенки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Антитела (Ig A, Ig G) используются для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника: язвенного колита (хронического воспалительного заболевания толстой кишки, поражающее, как правило, слизистую оболочку прямой и других отделов толстой кишки, имеющее рецидивирующее или непрерывное хроническое течение, характеризующееся воспалением и язвами в верхних слоях слизистой оболочки ободочной и прямой кишки) и болезни Крона (хроническое воспалительное заболевание кишечника аутоиммунной природы, имеющего трансмуральный характер - затрагивающее все слои кишечника: обширные очаги воспаления кишечника с гранулемами, распространяются в глубь стенки кишки. Участки воспаления при болезни Крона ассиметричны и сегментарны (пятнистая слизистая), могут перемежаться со здоровыми участками, в отличие от язвенного колита, при котором воспаление симметрично и непрерывно, часто с поражением проксимального отдела прямой кишки.).

Дифференцировать болезнь Крона и язвенный колит можно с использованием детекции ANCA и ASCA. Специфичность ASCA Ig G и Ig A - антител для болезни Крона составляет 95-100%. Исследования выявили 5% положительных результатов Ig G , и 47% Ig A - класса ASCA при язвенном колите, тогда как при болезни Крона чувствительность для ASCA Ig G и Ig A – класса составляет 75% и 60% соответственно. Наличие атипичных ANCA (aANCA ) при болезни Крона встречается гораздо реже, чем при язвенном колите. Частота выявляемости ANCA варьируется от 50% до 90% при язвенном колите, и от 10% - 20 % при болезни Крона. Комбинация двух серологических тестов ANCA и ASCA делает возможными быстрый, неинвазивный дифференциальный диагноз между болезнью Крона и язвенным колитом.

**Материал для исследования:** сыворотка крови.

**Подготовка к исследованию:** не требуется.

**Нормативные значения:** 0-10 МЕ/мл.

**Сроки изготовления анализа:** 1 рабочий день.

**Показание к назначению:**

- Язвенный колит
- НЯК (неспецифический язвенный колит)
- Болезнь Крона.

## Антитела к инсулину (ГАА).

- (Определение уровня антител к эндогенному инсулину и препаратам инсулина).

Антитела определяются в сыворотке крови больных СД 1 типа еще до того, как им назначена терапия инсулином, практически у всех больных, получающих инъекции инсулина.

Эта группа антител обычно представлена Ig G, реже встречаются Ig M-варианты, еще реже Ig E - обычно его находят в сыворотке больных, с проявлениями общих и местных аллергических реакций. У больных сахарным диабетом, получающих инсулин, лечебный эффект последнего постепенно снижается в результате образования антиинсулиновых антител, особенно при продолжительной инсулинотерапии или при необходимости употребления массивных суточных доз гормона. Молекулы инсулина не являются носителями индивидуально-специфических структурных конфигураций, поэтому алло- и аутоенсибилизация организма представляет единое понятие.

Антитела к инсулину имеют четкую корреляцию с возрастом. Если СД 1 типа возникает у ребенка в возрасте до 5 лет, в 100% случаев у него обнаруживается антитела. Если же СД 1 возник у взрослого, антитела выявляются примерно у 20% больных.

Примерно у 43-40% больных СД 1 типа сывороточное содержание антител к инсулину повышено.

Существует точка зрения, что у лиц, имеющих в крови все три формы антител, быстрее развивается полный инсулиновый дефицит, отсутствует возможность даже преходящей ремиссии.

Наибольшее клиническое значение данный маркер имеет в детском возрасте: у юных пациентов с впервые установленным СД до начала инсулинотерапии выявление антител к эндогенному инсулину достигает 100%.

Определение антител к инсулину необходимо:

- а) у больных СД I типа для выявления случаев иммунологической инсулинорезистентности, подтверждения случаев выработки антител к применяемому препарату гормона у конкретного пациента;
- б) у пациентов с СД II типа для подтверждения наличия аутоиммунной деструкции островковых клеток поджелудочной железы, что с высокой степенью достоверности предсказывает наступление сульфаниламидорезистентности, служит основанием для назначения препаратов инсулина при СД II типа;
- в) для прогнозирования развития СД I типа: инсулин относится к бета-клеточным антигенам, антитела к которым выявляются в крови подавляющего большинства больных за 5-8 лет до манифестации клинических проявлений нарушения углеводного обмена.

**Материал для исследования:** сыворотка крови.

**Подготовка к исследованию:** Забор крови производится натощак.

**Нормативные значения:**

**Норма:** 0-5 МЕ/мл.

**Пороговые значения:** 5-10 МЕ/мл.

**Повышенное значение:** >10 МЕ/мл.

**Сроки изготовления анализа:** 1 рабочий день.

**Показание к назначению:**

- Выявление предрасположенности к инсулинзависимому диабету (ИЗД).
- Скрининг групп риска инсулинзависимого диабета.
- Контроль за лечением инсулином.

**Повышение значений:**

Антитела к инсулину IgG-титр, может быть повышен у больных с впервые выявленным сахарным диабетом (т.е. нелеченных инсулином). Это связано с гиперинсулинемией в начальной стадии заболевания и реакцией иммунной системы. Поэтому определение антител к инсулину может быть использовано для диагностики начальных стадий диабета, его дебюта, стертых и атипичных форм.

Код	Аутоантитела к антигенам	Антиген	Клиническое применение
<i>Антигены щитовидной железы</i>			
	Тиреоглобулин (полуколич., ИФА)		Б-нь Хосимото, микседема (атрофич. тиреоидит), б-нь Грейвса, первичный гипертиреозидизм, тиреотоксикоз
	Тиреопероксидаза (полуколич., ИФА)		То же
	Циркулирующий рецептор к тиреотропину (R-TSH)	R-TSH	Б-нь Грейвса, неонатальный тиреотоксикоз
	Микросомальный антиген		Б-нь Хосимото, идиопатическая микседема, тиреоидит, б-нь Грейвса

# Антитиреоидные антитела в диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

- При аутоиммунной патологии щитовидной железы собственные лимфоциты продуцируют факторы (лимфокины и иммуноглобулины), которые воздействуют на клетки этой ткани, вызывая в ней морфологические и функциональные изменения. Наиболее распространенными аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы являются диффузный токсический зоб (ДТЗ) и аутоиммунный тиреоидит (АИТ).
- Известно несколько органоспецифических антигенов щитовидной железы, против которых вырабатываются антитела. Наиболее изучены тиреоглобулин (ТГ), тиреоидная пероксидаза (ТПО), являющиеся основным компонентом микросомальной фракции тиреоцитов, и рецепторы к тиреотропному гормону (р-ТТГ).
- Аутоантитела к тиреоглобулину (анти-ТГ) чаще относятся к иммуноглобулинам класса G, реже – к иммуноглобулинам классов M и A. В сыворотке здоровых людей анти-ТГ содержатся в концентрации до 1,5 мкг/л (50 Ед/л). Более высокое содержание анти-ТГ свидетельствует о поступлении тиреоглобулина в кровь, что является результатом деструкции тиреоцитов вследствие как органоспецифического, так и неспецифического процесса в щитовидной железе, в том числе аутоиммунного. Многие авторы рассматривают повышение анти-ТГ как неспецифический показатель патологического процесса в щитовидной железе.
- Высокие концентрации анти-ТГ (а также анти-ТПО) характерны для хронического течения тиреоидита Хасимото. Абсолютным показанием для определения анти-ТГ (в комплексе с определением ТГ) является послеоперационное ведение больных высокодифференцированным раком щитовидной железы.

- Часть **антител к рецептору ТТГ (анти-рТТГ,  $\alpha$ -RTSH)** может оказывать действие, подобное ТТГ, и связываться с рецептором ТТГ, а другая часть связывает свободный ТТГ в сыворотке крови. Продукция антител может индуцироваться при вирусной инфекции или при связывании вируса с рецептором.

$\alpha$ -RTSH делят на три группы:

- 1) антитела, связывающиеся с рецептором и имитирующие функцию ТТГ – тиреоидстимулирующий иммуноглобулин (ТСИ, TSI);
- 2) антитела, которые связываются с рецептором с большим сродством, чем природный лиганд (ТТГ), в результате чего тиреоидные клетки постоянно стимулируются, уровни  $T_4$  и  $T_3$  возрастают – длительно действующий тиреоидный стимулятор (ДДТС, LLATS);
- 3) антитела, которые связываются с ТТГ-рецептором и тем самым блокируют биологическую активность ТТГ по стимуляции щитовидной железы (связывающиеся с рецептором ингибирующие антитела или тиреоид-связывающие ингибирующие антитела – ТБИ, BA<sub>t</sub>). ТБИ и TSI определяют в эксперименте *in vivo* с использованием клеток или ткани щитовидной железы животных.

- Определение  $\alpha$ -RTSH применяют при диагностике диффузного токсического зоба. В начальной стадии гипертиреоза  $\alpha$ -RTSH обнаруживается в 80—85% случаев, на более поздних стадиях заболевания уровень антител снижается на 40—60%, при выздоровлении они исчезают. У пациентов с эутиреоидным зобом, острым, подострым и хроническим тиреоидитом  $\alpha$ -RTSH выявляются не более чем в 10% случаев. Показания к определению аутоантител к рецептору ТТГ: гипертиреоз типа диффузного токсического зоба, эутиреоидный зоб (все стадии гиперплазии щитовидной железы, кроме функционально активной аденомы), врожденный гипотиреоз, дифференциальная диагностика диффузного токсического зоба и аутоиммунного тиреоидита.

- **Аутоантитела к тиреоидным микросомальным антигенам (анти-ТМ)** в основном представлены антителами к ТПО. Исследование анти-ТПО более показательно для диагностики аутоиммунного тиреоидита, чем определение анти-ТМ. Антитела к ТПО присутствуют в крови 5% здоровых мужчин и 10% здоровых женщин в возрасте до 50 лет. Высокая концентрация антител к ТПО наблюдается при тиреоидите Хасимото (чувствительность 90—100%). При ДТЗ уровень антител к ТПО повышается в 40—60% случаев и в меньшем титре, чем при активной стадии тиреоидита Хасимото. Показания к определению анти-ТПО: аутоиммунный тиреоидит, гипертиреоз у новорожденных, врожденный гипотиреоз, эутиреоидный зоб (при компенсированной стадии базедовой болезни одновременно рекомендуется определять  $\alpha$ -RTSH).

# **Панель аутоантител при аутоиммунных заболеваниях печени(иммуноблот) - AMA-M2, M2-3E, SP100, PML, GP210, LKM-1, LC-1, SLA/LP, SSA/RO-52**

- Данный тест представляет одновременное исследование аутоантител к антигенам AMA-M2, M2-3E, Sp100, PML, gp210, LKM-1, LC-1, SLA/LP, SSA/Ro-52, использующихся в лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний печени – аутоиммунного гепатита и первичного билиарного цирроза. (Клинические корреляции аутоантител, которые входят в данную панель, приведены ниже в таблице «Основные заболевания, связанные с выявлением антител панели аутоиммунных заболеваний печени»).

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Ранняя диагностика и дифференциальная диагностика гепатитов.</li><li><input type="checkbox"/> Диагностика аутоиммунного гепатита.</li><li><input type="checkbox"/> Диагностика первичного билиарного цирроза.</li><li><input type="checkbox"/> Мониторинг эффективности терапии.</li><li><input type="checkbox"/> Прогнозирование обострений заболевания.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p><b>Единицы измерения в Независимой лаборатории ИНВИТРО:</b> интенсивность оценивается количеством «плюсов» («в крестах»).</p> <p><b>Референсные значения:</b> антитела к соответствующим белкам не обнаружены.</p> <p><b>Интерпретация:</b> Тест качественный, результат представляют в форме «обнаружено» или «не обнаружено». При обнаружении полосы, характеризующей наличие какого-либо вида антител, интенсивность окраски этой полосы дополнительно описывают количеством плюсов («крестов») для каждого из выявленных видов антител. Увеличение степени позитивности косвенно отражает содержание и аффинность аутоантител. Варианты результата оценки серопозитивности приведены ниже:</p> <p>Антитела не обнаружены;</p> <p>+ - низкое содержание аутоантител к специфическому антигену;</p> <p>++ - среднее содержание аутоантител к специфическому антигену;</p> <p>+++ - высокое содержание аутоантител к специфическому антигену.</p> <p>Нередко в одном биоматериале может быть выявлено несколько специфичностей антител при аутоиммунных заболеваниях печени.</p>

## Основные заболевания, связанные с выявлением антител панели аутоиммунных заболеваний печени

Антиген аутоантител	Значение
<b>AMA-M2</b>	Основные аутоантитела при первичном билиарном циррозе. Являются основой серологической диагностики этого заболевания.
<b>M2-3E</b>	Антитела к основному эпитопу антимитохондриальных антител 2 типа. Встречаются совместно с AMA-M2 у больных первичным билиарным циррозом, их выявление увеличивает чувствительность обследования.
<b>Sp100</b>	Антиген антинуклеарных антител при первичном билиарном циррозе, характерен тип свечения «точки в ядре». Может встречаться в AMA-негативных случаях.
<b>PML</b>	Антиген антинуклеарных антител при первичном билиарном циррозе, характерен тип свечения «точки в ядре». Может встречаться в AMA-негативных случаях.
<b>gp210</b>	Антиген гомогенного типа свечения ядра при билиарном циррозе. Может встречаться в AMA-негативных случаях.
<b>LKM-1</b>	Серологический маркер аутоиммунного гепатита 2 типа, который преимущественно встречается у детей до 14 лет. Редко выявляются при вирусном гепатите С.
<b>LC-1</b>	Обычно аутоантитела к этому антигену встречаются совместно с антителами к LKM-1 при аутоиммунном гепатите 2-го типа.
<b>SLA/LP</b>	Основной серологический маркер аутоиммунного гепатита 3-го типа, который выявляется у взрослых. Данный вид аутоантител не встречается при других заболеваниях и входит в действующие критерии аутоиммунного гепатита 2008 г.
<b>SS-A (Ro52)</b>	Выявляется при различных аутоиммунных заболеваниях, чаще при системной красной волчанке и ее кожных формах, системных ревматических заболеваниях, ревматоидном артрите, аутоиммунных заболеваниях печени, инфекционных заболеваниях и т.д.

# Антитела к асиалогликопротеиновому рецептору, IGG

## *Тест используют в диагностике аутоиммунного гепатита*

- Асиалогликопротеиновый рецептор экспрессируется клетками печени. Основной его функцией является связывание гликопротеинов сыворотки крови с последующим эндоцитозом. Местом его преимущественной экспрессии являются перипортальные гепатоциты.
- Антитела к асиалогликопротеиновому рецептору выявляются у 60-80% больных с аутоиммунным гепатитом 1-го и 2-го типов в дебюте и при обострении заболевания. Частота обнаружения данных аутоантител при ремиссии и эффективной терапии несколько ниже (0-30%). Антитела к асиалогликопротеиновому рецептору, выявляемые с помощью иммуноферментного теста второй генерации, редко выявляются при других аутоиммунных заболеваниях, поэтому их следует рассматривать в качестве специфического маркера аутоиммунного гепатита. Уровень антител к асиалогликопротеиновому рецептору коррелирует с активностью аутоиммунного гепатита, концентрацией трансаминаз и гистологическими отклонениями, оценка их содержания может использоваться для мониторинга эффективности терапии и прогнозирования обострений заболевания.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>□ Ранняя диагностика и дифференциальная диагностика гепатитов.</li><li>□ Диагностика аутоиммунного гепатита.</li><li>□ Мониторинг эффективности терапии.</li><li>□ Прогнозирование обострений заболевания.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p><b>Единицы измерения в Независимой лаборатории ИНВИТРО:</b>коэффициент позитивности.</p> <p><b>Референсные значения:</b> &lt;0,9 - нормальное значение; 0,9-1,1 - пограничное значение; ≥1,1 - повышенное значение.</p> <p><b>Интерпретация</b> Обнаружение антител к асиалогликопротеиновому рецептору указывает на высокую вероятность аутоиммунного гепатита. Снижение титра указывает на успешную терапию и ремиссию заболевания.</p>

# Антитела к гладкой мускулатуре, IgG+A+M (Smooth Muscle Antibodies, SMA, ASMA, IgG+A+M)

- Антитела к гладкой мускулатуре (SMA) направлены против структур цитоскелета (актин, тропонин, виментин, тропомиозин). Высокие титры SMA (> 80) характерны большей частью для хронического активного гепатита, средние титры SMA (40 - 80) могут наблюдаться при остром вирусном гепатите, в случаях первичного билиарного цирроза.

Присутствие SMA и ANA (антиядерные антитела) характерно для аутоиммунного гепатита 1-го типа («классический аутоиммунный гепатит», «аутоиммунный хронический активный гепатит», «люпоидный гепатит»). Серологическое тестирование является одним из важных этапов дифференциальной диагностики аутоиммунного гепатита, которая строится, однако, больше на отсечении других возможных причин заболевания.

- Спектр выявляемых аутоантител лежит в основе классификации аутоиммунных гепатитов (антитела к микросомам печени и почек). Приблизительно у половины пациентов с аутоиммунным гепатитом 1-типа отмечается наличие одновременно SMA и ANA, только SMA – у 35%, только ANA – у 15% пациентов. Показано, что при аутоиммунном гепатите 1-го типа SMA преимущественно направлены против F-актина (в исследовании методом непрямой иммунофлюоресценции они не дифференцируются среди других видов SMA).

В ходе иммуносупрессивной терапии пациентов с аутоиммунным гепатитом 1 в большинстве случаев наблюдается исчезновение SMA и/или ANA. Но титры антител при первоначальной постановке диагноза, а также серологический статус в ходе лечения, не позволяют предсказать исход после прекращения терапии. Полагают, что SMA и ANA не включены непосредственно в патогенез аутоиммунного гепатита 1 типа, и ценность этих тестов скорее диагностическая, чем прогностическая. SMA и/или ANA можно наблюдать в некоторых случаях хронического гепатита В и С, обычно в невысоких титрах.

С точки зрения клинических корреляций, терапия интерфероном-альфа у таких пациентов, сравнительно с пациентами без ANA или SMA антител, иногда может спровоцировать самоограничивающееся аутоиммунное расстройство. Значимость небольших титров SMA (1:20-40) неясна, такие титры иногда могут наблюдаться в популяции здоровых индивидуумов.

<b>Подготовка</b>	Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>□ В комплексе исследований для диагностики аутоиммунных гепатитов.</li><li>□ Скрининговое обследование пациентов с хроническим гепатитом В и С перед началом терапии интерфероном.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p><b>Единицы измерения в Независимой лаборатории ИНВИТРО:титры.</b> <b>Референсные значения: &lt; 1:40 (отрицательно).</b></p> <p><b>Положительно:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. аутоиммунный гепатит 1 типа (70% пациентов, обычно высокие титры);</li><li>2. вирусные гепатиты;</li><li>3. инфекционный мононуклеоз;</li><li>4. онкологические заболевания;</li><li>5. редко – у здоровых людей (низкие титры).</li></ol>

# Антитела к микросомам печени и почек 1 типа (anti-LKM1) (анти-ЛКМ1) (anti liver kidney microsomal type 1 antibody, anti-LKM1)

- *Маркёр аутоиммунного гепатита 2-го типа.*

Аутоантитела к микросомам печени и почек 1 типа (anti-LKM1) являются характерным серологическим признаком аутоиммунного гепатита типа 2. Этот тип антител впервые был описан в исследованиях с использованием метода непрямой иммунофлюоресценции на срезах печени и почек грызунов, где они проявлялись диффузным окрашиванием целиком печёночных долек и исключительно 3-го сегмента проксимальных канальцев почек. Показано, что антигенной мишенью anti-LKM1 антител является цитохром P-450 2D6 (CYP2D6), который имеет не меньше 4 линейных и 1 конформационного эпитопов. Anti-LKM1 антитела могут проявлять неоднородную чувствительность к этим эпитопам.

**Аутоиммунный гепатит** – редко встречающееся хроническое заболевание печени, распознавание этой патологии очень важно для назначения адекватного лечения. Серологическое тестирование является одним из важных этапов дифференциальной диагностики аутоиммунного гепатита, которая строится, однако, больше на отсечении других возможных причин заболевания, поскольку не существует единственного теста, который бы с достаточной точностью и специфичностью (как в случае вирусных гепатитов А-D) позволял подтвердить данный диагноз. Спектр выявляемых аутоантител лежит в основе классификации аутоиммунных гепатитов.

- Помимо случаев аутоиммунного гепатита 2-го типа, anti-LKM1 антитела выявляют у некоторой части пациентов с хроническим гепатитом С (в зависимости от региона, от 0 до 7% пациентов), без зависимости от генотипа вируса. Повышенная частота выявления данного вида антител у пациентов с хроническим гепатитом С, по данным ряда исследований, определяется молекулярной мимикрией некоторых эпитопов цитохрома P-450 2D6 и антигенов вируса гепатита С.

Присутствие anti-LKM1 антител у HCV-положительных пациентов может не являться признаком ведущей роли аутоиммунного компонента, и дифференциация таких вариантов крайне важна для выбора терапии (аутоиммунные гепатиты поддаются лечению иммуносупрессорами, вирусный гепатит С – терапии интерфероном). С клинической точки зрения, скрининг на anti-LKM1 антитела рекомендован до начала лечения у пациентов с гепатитом С, и, если они выявлены, необходим особенно внимательный мониторинг, поскольку в некоторых случаях интерферон-альфа может демаскировать, или провоцировать аутоиммунные процессы в печени.

Дальнейшие исследования роли вирусной экспозиции в запуске аутоиммунного процесса, а также разработка и поиск более специфичных тест-систем для дифференциальной диагностики аутоиммунных гепатитов продолжают. Выработка LKM1 антител может быть индуцирована некоторыми лекарственными препаратами (тиенамом, дигидралазином, галотаном, фенитоином, фенобарбиталом, карбамазепином).

<b>Подготовка</b>	<b>Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.</b>
<b>Показания</b>	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> В комплексном обследовании для диагностики аутоиммунных гепатитов.</li> <li><input type="checkbox"/> Скрининговое обследования пациентов с хроническим гепатитом С перед началом лечения для выбора правильной терапевтической тактики.</li></ul>
<b>Интерпретация результатов</b>	<p><b>Единицы измерения в Независимой лаборатории ИНВИТРО:титр.</b></p> <p><b>Интерпретация результата:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• &lt; 40 - отрицательно.</li></ul> <p><b>Положительно:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• аутоиммунный гепатит (2-го типа) - в большей части случаев;</li> <li>• иногда у пациентов с вирусным гепатитом С, D;</li> <li>• ЛКМ1-антитела, индуцированные приёмом некоторых лекарственных препаратов (тиенам, дигидралазин, галотан, фенитоин, фенобарбитал, карбамазепин).</li></ul>

# Литература:

1. Актуальные проблемы заболеваний щитовидной железы: М-лы тиреологического конгр. – М., 2002.
2. Аппельганс Т.В., Маклакова Т.П., Бойко О.Н. и др. // Клин. лабор. диагностика. – 2005. – N 12. – С. 38—39.
3. Базарный В.В., Амон Е.П., Абрамова Т.С. и др. // Клин. лабор. диагностика. – 2004. – N 4. – С. 41—42.
4. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. // Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний.– М., 2002. – С. 258—270.
5. Ландо Д.Ю., Каля Е.С., Досин Ю.М. и др. // Мед. панорама. – 2003. – N 1. – С. 68.
6. Павлович О.И., Алексейчук Л.И., Василец Л.Л. // Мед. панорама. – 2003. – N 1. – С. 43.
7. Решетняк Т.М., Алекберова З.С. // Терапевт. архив. – 1998. – N 12. – С. 74—78.
8. Савоневич Е.Л., Киселевский Ю.В. // Мед. панорама. – 2003. – N 1. – С. 45.
9. Таранов А.Г. Диагностические тест-системы. – Новосибирск, 2000.
10. Фадеев В.В., Мельниченко Г.А. // Гипотиреоз: Руководство для врачей. – М., 2004.
11. Varca M. F., Knobel M., Tomimori E. et al. // Clin. Endocrinol. – 2000. – V. 53, N 1. – P. 21—31.
12. Isenberg D.A., Malik J. // Brit. J. Rheum. – 1994. – V. 33. – P. 307—308.
13. Kokandi A.A., Parkes L.D., Premawardhana K.E. et al. // Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – V. 88. – P. 1126—1132.
14. McNeil H.P., Chesterman C.N., Kliris S.A. // Advans. Immunol. – 1991. – V. 49. – P. 193—280.