

Лабораторная диагностика в ревматологии.



Возможности лабораторной диагностики

- Иммунологическая лабораторная диагностика ревматических заболеваний включает определение
 - аутоантител,
 - иммуноглобулинов,
 - циркулирующих иммунных
 - комплексов, криоглобулинов,
 - компонентов системы комплемента,
 - белков острой фазы воспаления, маркеров активации клеточного иммунитета,
 - показателей повреждения эндотелия
 - генетических маркеров, субпопуляций лимфоцитов, маркеров метаболизма костной ткани, показателей апоптоза и ряда других

- Центральное место в лабораторной диагностике системных ревматических заболеваний занимают серологические тесты, связанные с обнаружением циркулирующих аутоантител
- Определение аутоантител особенно важно *для ранней диагностики* аутоиммунных ревматических заболеваний и характеристики клинико-лабораторных *вариантов их течения*
- При аутоиммунных ревматических заболеваниях тестирование аутоантител в первую очередь проводится с целью подтверждения диагноза у пациентов с недостаточным числом клинических проявлений.

- Перечень *первичных (скрининговых), вторичных (подтверждающих)* и

дополнительных серологических тестов, рекомендованных международным комитетом по стандартизации методов определения аутоантител для диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний, представлен в табл.

- Аутоантитела также могут служить предикторами развития аутоиммунных ревматических заболеваний у бессимптомных пациентов

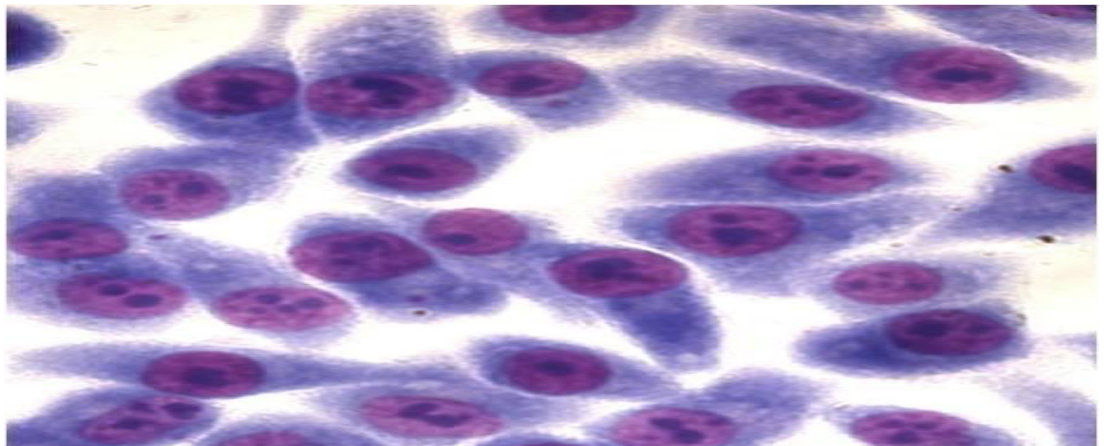
Алгоритм лабораторной диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний

ДИАГНОЗ	АНА-НИФ	анДНК	aSm	aU ₁ RNP	aSSA/SSB	aScl-70	aJo-1	ariboRNP	АНЦА-НИФ	МРО-АНЦА	PR3-АНЦА	акЛ	aβ ₂ -ГПИ	IgM RF	АЦЦП
СИСТЕМНАЯ КРАСНАЯ ВОЛЧАНКА	1	2	2	3	2			2				2	3	3	
СИНДРОМ ШЕГРЕНА	1	3	3		2			3				3		3	
СИСТЕМНАЯ СКЛЕРОДЕРМИЯ	1			2		2						3			
СМЕШАННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	1	2	2	2				2				3		3	
ПОЛИМИОЗИТ/ ДЕРМАТОМИОЗИТ	1			2			2								
АНТИФОСФОЛИПИДНЫЙ СИНДРОМ	1											1	2		
РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ														1	1
ВАСКУЛИТЫ С ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ СОСУДОВ МЕЛКОГО КАЛИБРА									1	2	2				
ЗАБОЛЕВАНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	1	3	3	3	2	3	2		1	3		1	2	1	

Примечания: 1 - первичные скрининговые, 2 – подтверждающие тесты, 3 –дополнительные тесты.

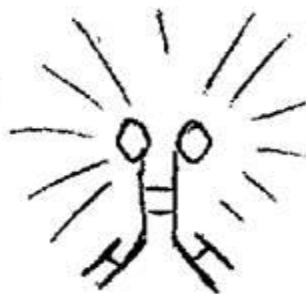
Антинуклеарные антитела (АНА)- гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра.

- Методы определения - стандартный скрининговый метод определения АНА непрямая иммунофлюоресценция(НИФ) с использованием в качестве субстрата криостатных срезов мышиной и крысиной печени(почек).



Непрямая /прямая иммунофлюоресценция (ИРИФ)

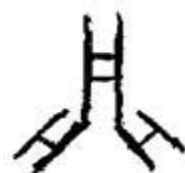
2-й этап



**Античеловеческая
сыворотка, меченная
флюоресцеином**

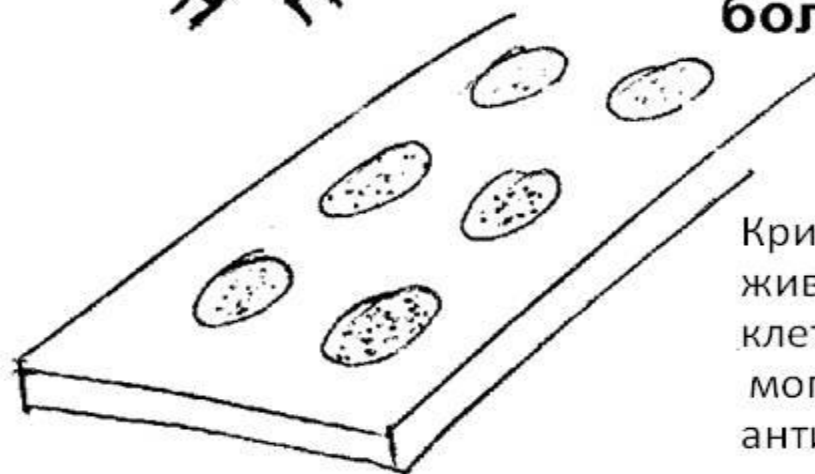
Монтирование в щелочном
глицерине (pH=8,3) и
флюоресцентная
микроскопия

1-й этап



**Аутоантитела
в сыворотке
больного**

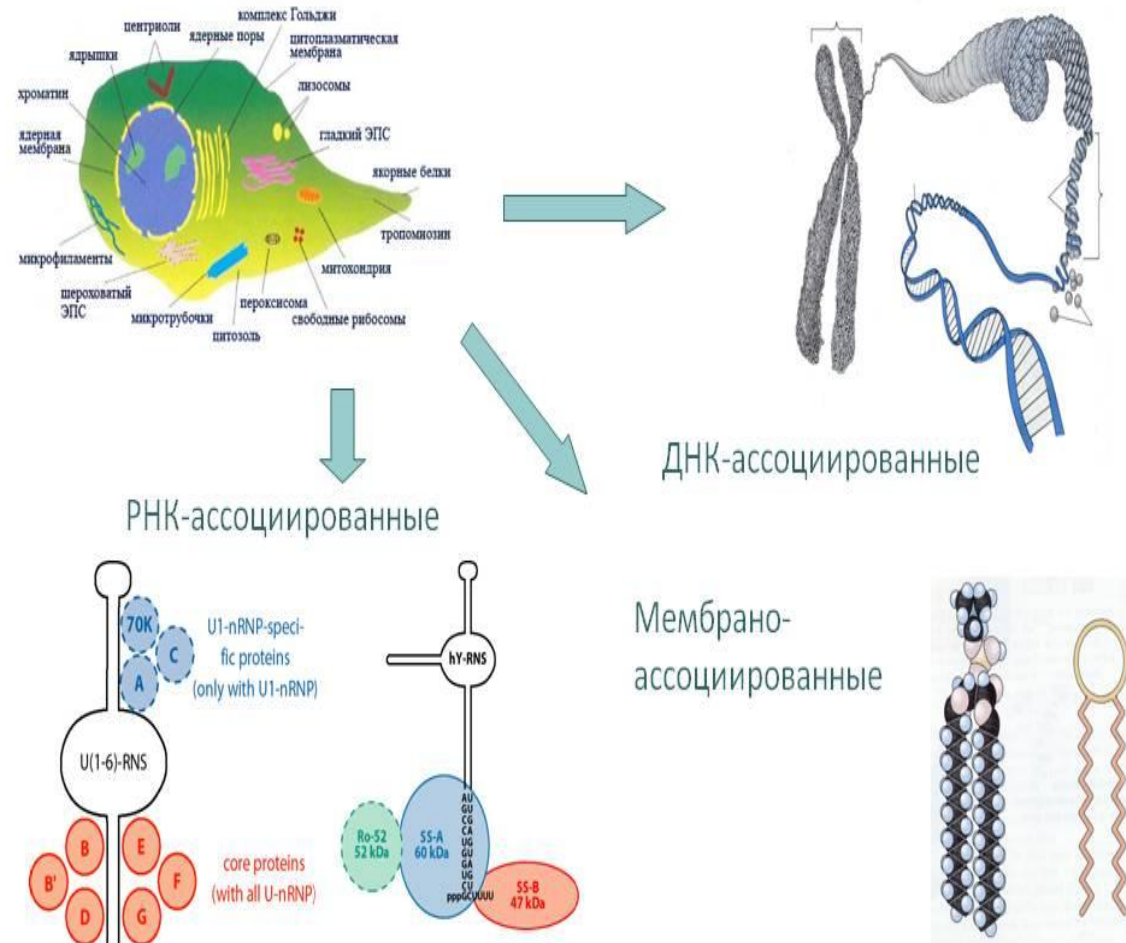
Серийные разведения
сыворотки больного в
буфере близком сыворотке
крови



Криосрезы ткани лабораторных
животных, клеточные линии, выделенные
клеточные популяции,
могут быть нанесены очищенные
антигены (spot-IFF)

Основные антигены антинуклеарных антител

- Для пациентов с положительными результатами определения АНА рекомендовано проведение подтверждающих тестов на специфические АНА к отдельным ядерным и цитоплазматическим антигенам.
(ds ДНК, Sm, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, РНП)



- **Норма.** Нормальные титры АНФ в сыворотке крови составляют менее 1:40, при использовании криостатных срезов печени или почек лабораторных животных и менее 1:160 при использовании клеток Нер-2(человеческая опухолевая линия). Частота АНФ повышается с возрастом , особенно у женщин

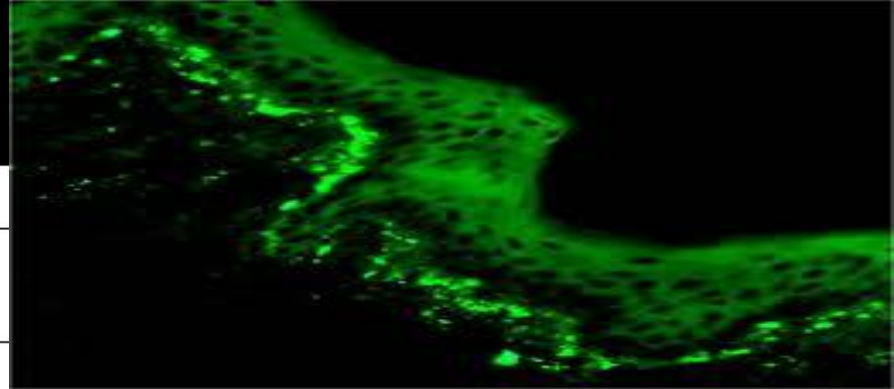
Клиническое значение

- Определение титра АНФ служит одним из основных скрининговых лабораторных тестов применяемых для диагностики СИСТЕМНЫХ ревматических заболеваний. Диагностическая точность определения АНФ при системной красной волчанке (СКВ), системной склеродермии (ССД), синдроме Шегрена (СШ), полимиозите/дерматомиозите (ПМ/ДМ) и др. ревматических заболеваниях. Тестирование АНФ очень полезно для диагностики СКВ и ССД, полезно для диагностики СШ и ПМ/ДМ, очень полезно для оценки прогноза и мониторинга течения ювенильного хронического артрита и феномена Рейно.

Характеристика АНФ

Тип свечения	Тип аутоантител	Связь с заболеваниями
Гомогенное	Антитела к ДНК (двух и односпиральной), ДНП, гистонам (H1, H2A, H2B, H3, H4)	СКВ, лекарственная волчанка, любые аутоиммунные ревматические заболевания и неревматические болезни
Периферическое (краевое)	Антитела к двухспиральной ДНК	СКВ
Крапчатое	Антитела Sm, РНП, SS-A/Ro, SS-B/La, Jo-1	СКВ, СЗСТ, синдром Шегрена, ПМ/ДМ
Сетчатое крапчатое	Антитела к Scl-70	ССД (диффузная форма)
Дискретное крапчатое	Антитела к центромере	CREST синдром, синдром Рейно
Нуклеолярное	Антитела к РНК-полимеразе 1, PM/Scl, U3РНП	ССД (диффузная форма)

ТИП СВЕЧЕНИЯ	ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
Гомогенный (Диффузный)	СКВ, нефрит, лекарственная волчанка склеродермия
периферический	Аутоиммунные заболевания печени
Мелкогранулярный	Неспецифичен, ревматические заболевания, ревматоидный артрит, инфекции и онкология, норма
Крупногранулярный	Смешанное заболевание соединительной ткани
Ядрышковый	Склеродермия/Полимиозит
Центромерный	Склеродермия
Цитоплазматический	Неспецифичен, за исключением митохондриальных антител
рибосомальный/синтетазный	СКВ, полимиозит
митохондриальный	Билиарный цирроз
цитофиламенты	Аутоиммунные заболевания печени
Точки в ядре (MND/FND)	Аутоиммунные заболевания печени
PCNA	СКВ, нефрит
Веретено деления/центриоли	Неспецифичены



Уточнение этого феномена привел к описанию так называемых «типов свечения» ядра в иммунофлюоресцентном тесте. Это связано с тем, что каждая разновидность АНА имеет конкретные клеточные мишени, вследствие чего тип свечения ядра, ядрышка и цитоплазмы клетки отражает взаимодействие АНА сыворотки больного с антиген-содержащими структурами внутри клетки. Тип свечения зависит от присутствия конкретных аутоантител в сыворотке крови больного, на основе чего, можно сделать предварительное заключение относительно тех разновидностей АНА

Антитела к цитруллинсодержащим белкам (АЦЦП)- аутоантитела к аминокислотам, формирующимся в процессе посттрансляционной модификации аргинина.

- **Методы определения.** Стандартным методом определения АЦЦП служит ИФА с использованием в качестве антигена синтетических циклических цитруллинированных пептидов второго и третьего поколения, имеющих высокую связывающую активность в отношении широкого спектра антител, ассоциирующихся с РА (АЦЦП2 и АЦЦП3)

Норма.

Нормальный уровень АЦЦП при тестировании сыворотки с помощью ИФА составляет 5-25 ЕД /мл.

■ Клиническое значение:

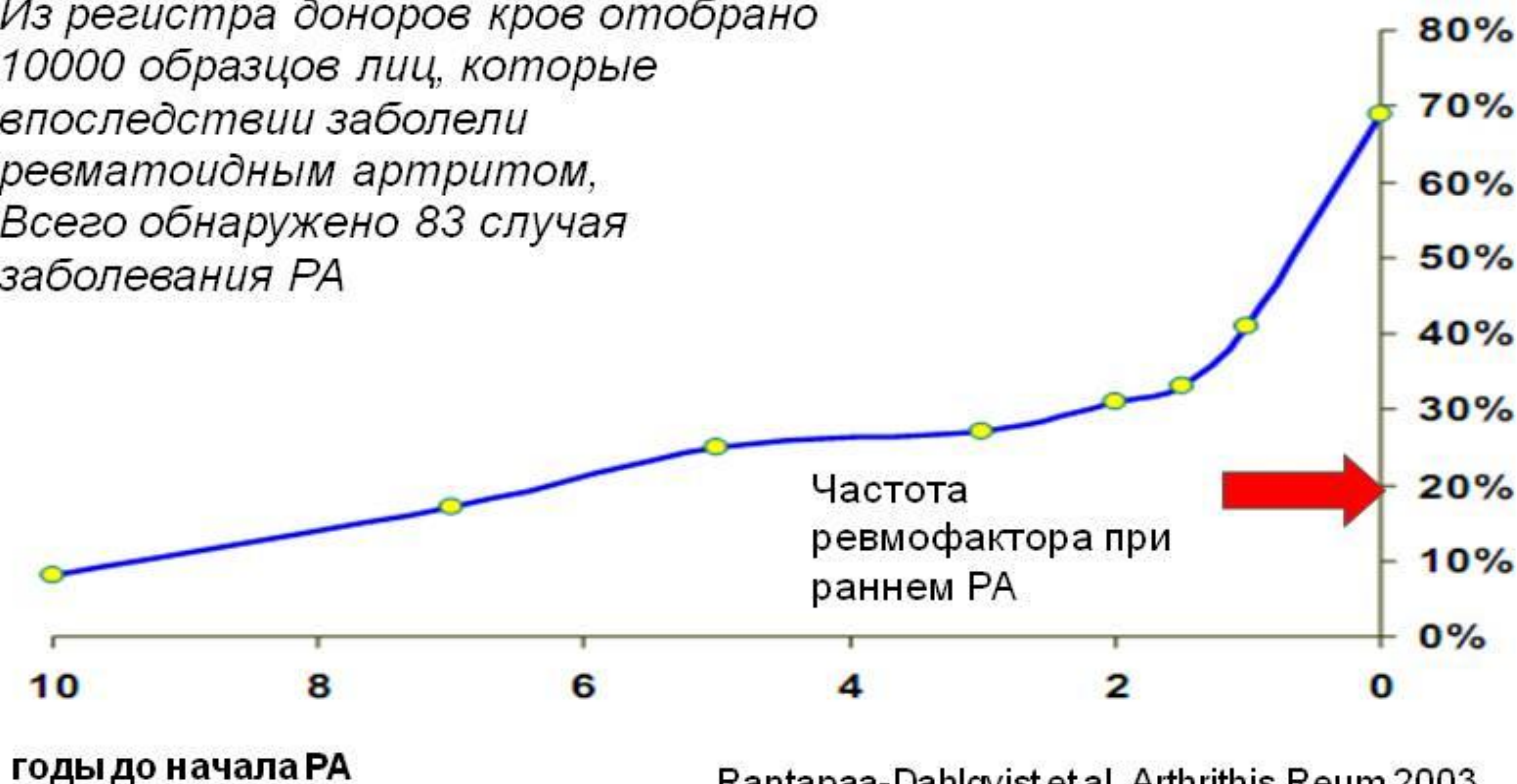
Большим преимуществом антител АЦЦП является их появление до задолго до начала клинических проявлений заболевания. Популяционные исследования, посвященные времени появления аутоантител АЦЦП в ходе РА, показали, что АЦЦП могут быть обнаружены задолго до развития клинических симптомов заболевания. До появления клинических симптомов заболевания в 34% случаев были обнаружены антитела к циклическому цитруллиновому пептиду. У 19% здоровых на момент обследования людей, был обнаружен ревматоидный фактор класса IgM (РФ IgM), причем в нескольких случаях появление антител предсказывало РА за 20 лет до появления симптомов заболевания. Частота обнаружения антител значительно нарастала к моменту, соответствующему 1,5 годам до постановки диагноза РА. После выявления минимального диагностического титра содержание антител обычно увеличивалось вплоть до срока постановки диагноза (см. рис.)



Выявление антител к циклическому цитруллиновому пептиду в диагностике ревматоидного артрита



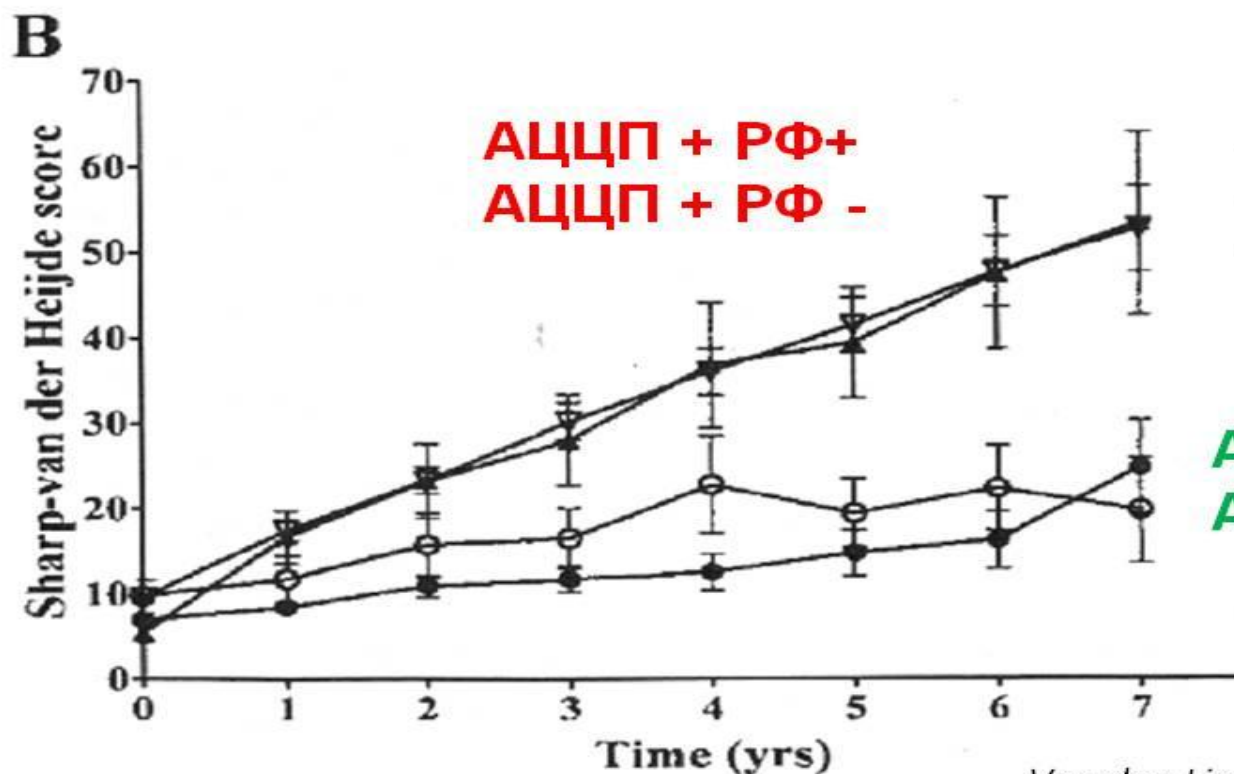
Из регистра доноров кров отобрано 10000 образцов лиц, которые впоследствии заболели ревматоидным артритом, Всего обнаружено 83 случая заболевания РА



Rantapaa-Dahlqvist et al, Arthritis Reum 2003

Тестирование АЦЦП полезно для диагностики серонегативного РА
(частота обнаружения АЦЦП у РФ-отрицательных больных РА
составляет 34-69,3%)

Серопозитивность по антителам к циклическому
цитруллиновому пептиду (АЦЦП/ССР)
прогнозирует развитие деструкций при
ревматоидном артрите вне зависимости от РФ



АЦЦП - РФ+
АЦЦП - РФ -

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) гетерогенная популяция аутоантител, реагирующих с ферментами цитоплазмы нейтрофилов.

- Различают два основных типа АНЦА – цитоплазматические АНЦА (**цАНЦА**), взаимодействующие с протеиназой 3(ПР-3), и перинуклеарные АНЦА (**пАНЦА**), специфичные в отношении миелопероксидазы (МПО).



Обнаружение АНЦА ассоциируется с системными васкулитами, включая гранулематоз Вегенера (ГВ), микроскопический полиангиит (МПА), узелковый полиартериит (УП), синдром Чарга Страуса, быстро прогрессирующий гломерулонефрит, синдром Гудпасчера

Заболевание	цАНЦА/ПР-3	пАНЦА/МПО
Гранулематоз Вегенера	80-90%	5-10%
Микроскопический полиангиит	40-50%	40-50%
Узелковый полиартериит	5-10%	5-10%
Синдром Чарга-Страуса	10%	70-80%
Быстро прогрессирующий гломерулонефрит	5-10%	65-75%
Синдром Гудпасчера	-	20-30%

Методы определения.

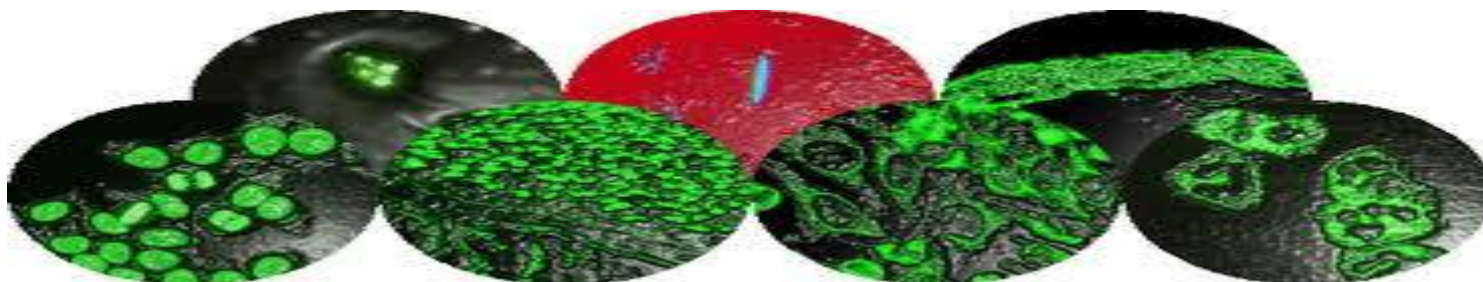
- Основным скрининговым тестом для определения АНЦА является метод НИФ с использованием фиксированных этанолом нейтрофилов. цАНЦА дают диффузный цитоплазматический гранулярный тип свечения с большей интенсивностью по направлению к ядру нейтрофилов, чем к периферии.
- пАНЦА характеризуются перинуклеарным типом свечения, аАНЦА – диффузным мелкокрапчатым, гомогенным или линейным цитоплазматическим типом свечения. Перинуклеарный тип свечения расценивается как артефакт, связанный с фиксацией нейтрофилов этанолом, приводящей к перераспределению положительно заряженных белков

Норма. Нормальный уровень цАНЦА и пАНЦА в сыворотке крови при использовании техники НИФ составляет менее 1:16-1:20, ИФА - менее 5,0-20,0 ЕД/мл.

■ **Клиническое значение.**

Определение цАНЦА методом НИФ является очень полезным тестом для диагностики **ГВ** (ДЧ:63-91% в зависимости от активности и стадии менее полезно для диагностики МПА ,быстропрогрессирующего гломерулонефрита и синдрома **Чарга Страуса**; в ряде случаев полезно для прогнозирования обострений ГВ на фоне ремиссии болезни.

Определение пАНЦА методом НИФ имеет более низкую специфичность, однако в сочетании с ИФА может быть полезно для диагностики быстропрогрессирующего гломерулонефрита и идиопатического альвеолярного геморрагического синдрома .



Ревматоидные факторы (РФ) – аутоантитела IgM, IgA и IgG классов, реагирующие с Fc-фрагментом IgG. Наибольшее значение в клинической практике имеет определение Ig M РФ

■ **Методы определения.** Стандартными методами определения IgM РФ являются реакция агглютинации сенсibilизированных IgG частиц латекса (латекс-тест) или эритроцитов барана (реакция Ваалер-Розе), нефелометрия и ИФА

Норма. Нормальный уровень IgM РФ при тестировании сывороток с помощью латекс-агглютинации составляет <1:40, нефелометрии < 15 МЕ/мл, ИФА <20 МЕ/мл, однако имеются рекомендации о его повышении до 50 МЕ/мл

Клиническое значение

Положительные результаты обнаружения Ig М РФ в сыворотке крови служат диагностическим критерием . при определении IgМ РФ составляет 50-90%.

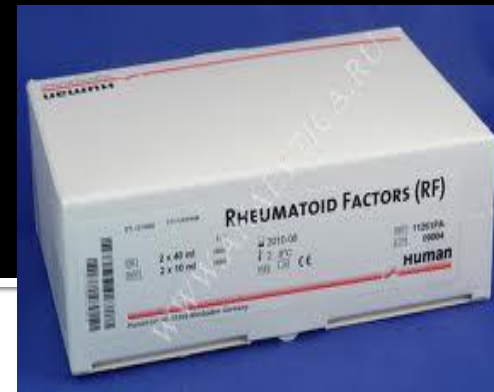
IgМ РФ —

- чувствительный, но недостаточно специфичный маркер для диагностики **РА**, так как обнаруживается в сыворотках при других ревматических заболеваниях, хронических инфекциях, болезнях легких, злокачественных новообразованиях, первичном билиарном циррозе и в пожилом возрасте



Клиническое значение

- Диагностический критерий РА
- **IgM РФ** – РА, другие ревматические заболевания, хронические инфекции, болезни легких, злокачественные новообразования, первичный билиарный цирроз
- **IgM РФ** в высоких титрах - быстропрогрессирующий деструктивный РА с системными проявлениями
- **IgA РФ** -РА с полиартикулярным вариантом начала заболевания и внесуставными (системными проявлениями), при IgA-нефропатии, синдроме Шегрена, пурпуре Шенлейна-Геноха и инфекционном эндокардите.



Антифосфолипидные антитела (АФЛ) – гетерогенная популяция аутоантител, распознающих антигенные детерминанты анионных и нейтральных фосфолипидов, и комплексные эпитопы, образующиеся в процессе взаимодействия фосфолипидов и фосфолипидсвязывающих белков плазмы крови

АФЛ являются серологическим маркером антифосфолипидного синдрома (АФС) и фактором риска развития тромботических осложнений и акушерской патологии при данном заболевании



Методы определения

- определение антител к кардиолипину (аКЛ) классов IgG и IgM с использованием ИФА,
- обнаружение волчаночного антикоагулянта (ВА) в фосфолипидзависимых коагуляционных тестах
- исследование антител к β_2 -гликопротеину I ($\alpha\beta_2$ -ГП I) классов IgG и IgM с помощью ИФА.
- IgG/IgM АКЛ должны определяться в сыворотке в титрах >40 GPL/MPL

- **ВА** должен определяться в плазме в 2 или более исследованиях с интервалом не менее 12 недель стандартным методом, в несколько этапов:
- (а) Удлинение фосфолипидзависимого свертывания крови при использовании скрининговых коагуляционных тестов (АЧТВ, каолиновый тест, тест с ядом гадюки Рассела);
- (б) Отсутствие нормализации времени свертывания по данным скрининговых тестов при смешивании с нормальной, лишенной тромбоцитов плазмой;
- (в) Нормализация удлиненного времени свертывания крови при добавлении избытка фосфолипидов;
- (г) Исключение других коагулопатий (наличия в крови ингибиторов фактора VIII или гепарина).

Выделено 4 категории больных АФС в зависимости от профиля аФЛ с наличием:

- I – более одного лабораторного критерия (в любой комбинации);
- IIa – только ВА;
- IIb – только аКЛ;
- III – только $\alpha\beta_2$ - ГП I

аКЛ и $\alpha\beta_2$ -ГП1 класса IgA, а также антитела к другим ФЛ и кофакторным белкам (фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидилэтаноламину, фосфатидилхолину, смеси ФЛ, протромбину, белкам C, S, Z и аннексину V) не имеют доказанного значения для диагностики АФС.

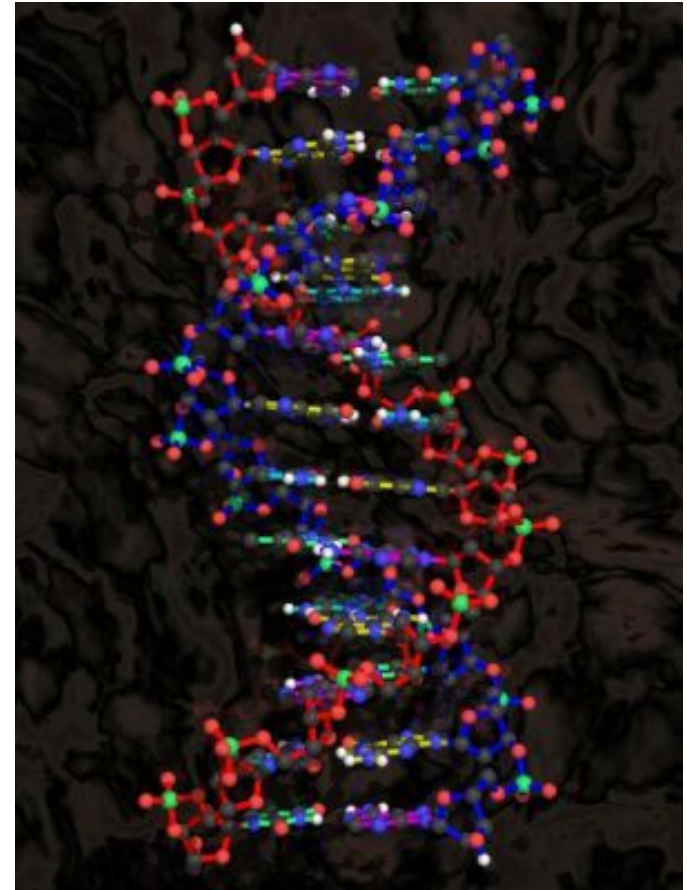
Клиническое значение

- *IgG/IgM АКЛ, ВА и IgG/IgM $\alpha\beta_2$ -ГП I входят в число обязательных диагностических критериев **АФС**.*
- *IgG α КЛ и IgM α КЛ имеют умеренную чувствительность, но низкую специфичность для диагностики АФС.*
- *ВА и IgG/IgM $\alpha\beta_2$ - ГП I являются более специфичными, но менее чувствительными диагностическими маркерами АФС.*
- *Для прогнозирования риска развития **тромботических осложнений** особенно важное значение имеет тестирование ВА, IgG α КЛ и IgG $\alpha\beta_2$ - ГП I.*

Методы определения антител к ДНК

- Антитела к ДНК подразделяются на два основных типа: антитела, реагирующие с двухспиральной (нативной) **ДНК (dsДНК)** и антитела, реагирующие с односпиральной (денатурированной) **ДНК (ssДНК)**. Антитела к ДНК являются серологическим маркером СКВ

Антитела к dsДНК более специфичны для диагностики СКВ, чем антитела к ssДНК, которые присутствуют в сыворотках больных при других ревматических заболеваниях и не имеют существенного диагностического значения.



ИФА

- Первичным скрининговым тестом для обнаружения антител к dsДНК является метод ИФА.
- Высокая чувствительность
- Меньшая специфичность
- При положительных результатах - рекомендуется проведение подтверждающих тестов, **включая НИФ и метод Farr**, обладающих меньшей чувствительностью, но более высокой специфичностью для диагностики СКВ.

НИФ

- В основе метода с использованием простейшего жгутикового микроорганизма *Crithidia luciliae* лежит взаимодействие антител к dsДНК с кинетопластом жгутика, имеющим митохондрию, содержащую большое количество молекул dsДНК.
- Методом НИФ выявляются IgG- и IgM-антитела к dsДНК со средней авидностью.

Метод Farr

- основанный на преципитации меченной $[^3\text{H}]$ -ДНК антителами к dsДНК с помощью насыщенного раствора сульфата аммония, позволяет измерять высоко авидные антитела к dsДНК.
- При популяционных исследованиях у больных СКВ и у здоровых лиц наблюдается достоверная корреляция между результатами определения антител к dsДНК тремя указанными методами

Норма

- Нормальный уровень антител к dsДНК при тестировании сывороток с помощью ИФА составляет $< 10-20$ МЕ/мл,
 - НИФ с *Crithidia luciliae* - $< 1:10$,
 - метода Farr < 7 МЕ/мл.
-
- У здоровых лиц частота обнаружения антител к dsДНК не превышает 2,5%

Клиническое значение

- Наличие антител к dsДНК является **обязательным диагностическим критерием СКВ**.
- Определение антител к dsДНК при СКВ полезно для оценки активности патологического процесса и поражения почек.
- При других ревматических заболеваниях тестирование антител к dsДНК не полезно, так как они выявляются очень редко ($\leq 5\%$ случаев) и в низких титрах.

Антитела к гистонам

- **Гистоны** – основные белковые компоненты ядра клетки, которые подразделяются на 5 классов (H1, H2A, H2B, H3, H4).
- Методы определения. **ИФА, ИБ, РИА.**
- Нормальный уровень антител к гистонам при тестировании сывороток с помощью ИФА составляет **< 40 ЕД /мл.**

Клиническое значение

- IgG-антитела к H2A-H2B гистонам наиболее часто выявляются у больных *лекарственной волчанкой*, индуцированной прокаинамидом, а также у больных, принимающих прокаинамид, но не имеющих симптомов волчанки и у больных *СКВ*
- ДС теста составляет 86% [40-42].

Антитела к нуклеосомам

- антихроматиновые антитела
- антитела к ДНП
- LE-клеточный фактор

Методы определения.

- ИФА,
- ИБ,
- РИА,
- LE-клеточный тест.

Нормальный уровень при ИФА составляет <20
ЕД/мл.

Клиническое значение

Определение IgG-антител к нуклеосомам полезно для диагностики:

- СКВ;
- лекарственной волчанки, индуцированной прокаинамидом и другими препаратами (хинидином, пеницилламином, ацебуталолом)
- Обнаружение антител к нуклеосомам ассоциируется с поражением почек при СКВ и развитием аутоиммунного гепатита типа 1.
- ДС теста составляет 86- 99%.

Антитела к экстрагируемым ядерным антигенам (ЭЯА)

- антитела к Sm,
- U₁RNP,
- Ro/SSA,
- La/SSB,
- Scl-70
- Jo-1.

Методы определения:

- НИФ,
 - ИФА,
 - двойная иммунодиффузия (ДИД) по Оухтерлони,
 - контриммуноэлектрофорез (КИЭФ)
-
- ИФА имеет высокую чувствительность, но недостаточную специфичность =>
 - Последующие тестирование : КИЭФ и ДИД.

Антитела к Sm (Smith) антигену

- Sm антиген состоит из 5 малых ядерных (мя) РНК (U₁, U₂, U₄, U₅, U₆), связанных с 11 и более полипептидами
- Методы определения. ИФА, ДИД, КИЭФ и ИБ.
- ИФА имеет наиболее высокую чувствительность и рекомендуется для скрининга АНФ-положительных сывороток на антитела к Sm антигену.
- Нормальный уровень антител к Sm при **ИФА < 25 ЕД /мл.**
- Клиническое значение. Антитела к Sm являются специфичным серологическим маркером СКВ
- Положительные результаты определения антител к Sm входят в число лабораторных критериев диагноза **СКВ**, однако не имеют пользы для оценки активности заболевания

Антитела к U₁РНП

- реагируют с белковыми компонентами (70 kDa, A и C) U₁ малого ядерного рибонуклеопротеина (U₁ мяРНП).
- Норма при ИФА < 25 ЕД/мл.

Клиническое значение –

- для диагностики СЗСТ;
- менее полезно для диагностики СКВ;
- не имеет пользы для оценки активности и прогнозирования риска развития обострений

Антитела к SS-A/Ro (Robert)

- SS-A/Ro антиген – полипептиды 60 kDa и 52 kDa, образующие комплекс с RoPHK (hY1, hY3 и hY5).
- Норма антител к SS-A/Ro при ИФА < 25 ЕД /мл; антител к SS-A/Ro-52 kDa и SS-A/Ro-60 kDa <10 ЕД /мл.
- Клиническое значение
У 40-80% больных СШ и 30-50% больных СКВ
- Полезно для диагностики первичного и вторичного СШ
- При беременности исследование сывороточного уровня антител к SS-A/Ro-52 kDa и SS-B/La-48 kDa полезно для прогнозирования риска развития **полной поперечной блокады сердца у плода**, антител к SS-A/Ro – для прогнозирования риска развития **неонатального волчаночноподобного синдрома**
- У больных СКВ положительные результаты тестирования ассоциируются с СШ и гиперпродукцией РФ.

Антитела к SS-B/La (Lane)

- SS-B/La антиген – нуклеоцитоплазматический комплекс, являющийся терминальным транскрипционным фактором для РНК полимеразы III.
- Норма при ИФА < 25 ЕД /мл.

Клиническое значение.

- для диагностики первичного и вторичного СШ, прогнозирования риска развития врожденной полной поперечной блокады сердца
- При СШ обнаружение антител к SS-B/La ассоциируется с выраженной лимфоцитарной инфильтрацией слюнных желез и развитием экстрагландулярных проявлений (пурпура, васкулит, лимфаденопатия)
- При СКВ гиперпродукция антител к SS-B/La коррелирует с низкой частотой поражения почек

Склеродермические антитела

- Группа аутоантител, с высокой частотой выявляемых при различных вариантах ССД.
- антицентромерные антитела (АЦА),
- антитела к Scl-70
- антинуклеолярные антитела

Антицентромерные антитела

- АЦА распознают более 6 центромерных нуклеопротеинов (ЦЕНП).
- Методы определения. НИФ с помощью НЕр-2 клеток (дискретный крапчатый тип свечения). ИБ и ИФА не рекомендуется
- Норма. При НИФ составляет <1:160.

Клиническое значение.

- полезно для диагностики ССД, особенно CREST синдрома;
- полезно для прогнозирования лимитированного поражения кожи и низкой вероятности развития рентгенологических признаков легочного фиброза

Антитела к Scl-70

Методы определения.

- КИЭФ, ДИД, ИФА и ИБ
- ИФА имеет низкую специфичность для диагностики ССД
- Норма. При ИФА < 25 ЕД /мл.

Клиническое значение.

- для диагностики ССД
- для прогнозирования диффузного поражения кожи
- Для определения высокой вероятности развития легочного фиброза и нарушения функциональных легочных проб

Миозит-специфические антитела

- выявляются примерно у 50% больных идиопатическими воспалительными миопатиями, включая полимиозит (ПМ) и дерматомиозит (ДМ).
- К миозит-специфическим антителам относятся антитела к аминоксилсинтетазам m-РНК (Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS), частицам сигнального распознавания (SRP) и Mi-2, миозит-ассоциированным антителам - антитела к PM-Scl, KJ [93-95].
- Методы определения. ДИД, ИП, ИБ и ИФА.

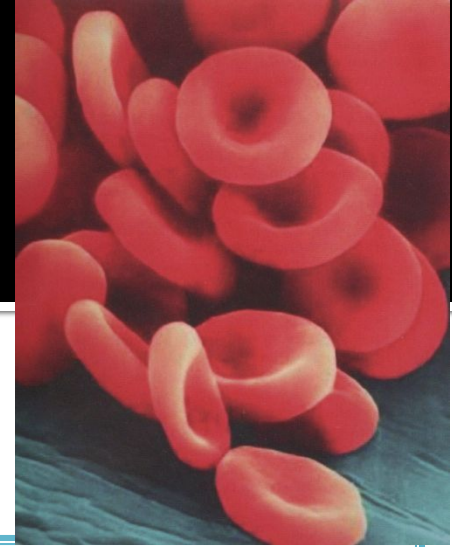
Клиническое значение

- Миозит-специфические антитела имеют высокую специфичность, но низкую чувствительность в отношении диагностики и прогнозирования течения ПМ/ДМ.
- Частота обнаружения антител к Jo-1 при ПМ/ДМ -11-20%
- **Антитела к Jo-1** - ПМ/ДМ с наличием антисинтетазного синдрома.
- **Антитела к SRP** обнаруживаются только при ПМ, ассоциирующимся с острым началом заболевания, тяжелым течением миозита, кардиомиопатией и плохим ответом на глюкокортикоидную терапию.
- **Определение антител к Mi-2** полезно для диагностики классического стероидчувствительного ДМ с благоприятным прогнозом.
- **Антитела к PM-Scl** ассоциируются с субтипом ДБСТ, включающего признаки ССД, ПМ и поражение почек.
- **Антитела к KJ** выявляются при миозите, феномене Рейно и интерстициальном поражении легких

Острофазовый ответ

- 1. СОЭ
- 2. С-реактивный белок
- 3. Прокальцитонин

СОЭ



СОЭ зависит от двух факторов:

- степени агрегации эритроцитов
- свойств самих эритроцитов

Факторы ускорения СОЭ:

- ⦿ анемия,
- ⦿ гиперхолестеринемия,
- ⦿ беременность,
- ⦿ воспаление,
- ⦿ женский пол, пожилой возраст;

Факторы замедления

- ⦿ серповидноклеточная анемия,
- ⦿ сфероцитоз,
- ⦿ акантоцитоз,
- ⦿ полицитемия,
- ⦿ лейкоцитоз,
- ⦿ микроцитоз,
- ⦿ гипофибриногенемия,
- ⦿ гипербилирубинемия,
- ⦿ застойная сердечная недостаточность,
- ⦿ кахексия.

Увеличение СОЭ :

- При злокачественных новообразованиях (злокачественные лимфомы, метастазирующие солидные опухоли; 12-58%),
- инфекционной патологии (туберкулез, урогенитальная и легочная инфекция; 8-60%),
- ревматических заболеваниях (8-33%)
- других воспалительных заболеваниях (цирроз печени, гепатит, колит, болезни почек (4-17%).
- В 3-11% не удается установить причину, лежащую в основе повышения СОЭ.

■ Методы определения

Вестергрену как наиболее чувствительный при повышении СОЭ.

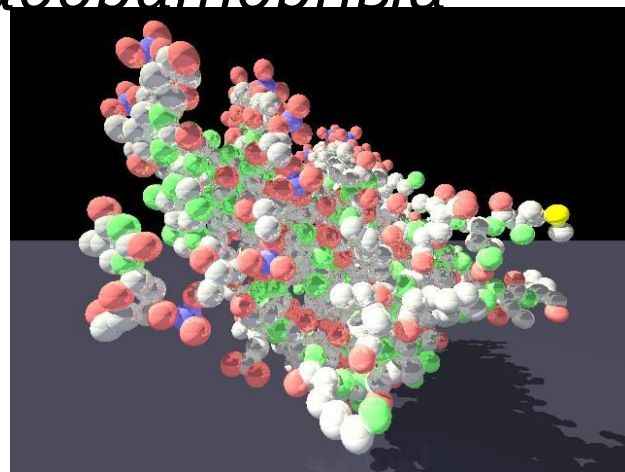
■ **Норма.** Верхняя граница СОЭ в норме по Вестергрену зависит от возраста и пола, рассчитывается по формуле: для женщин $\text{СОЭ (мм/час)} = (\text{возраст в годах} + 10) / 2$; для мужчин $\text{СОЭ (мм/час)} = (\text{возраст в годах}) / 2$.

■ **Клиническое значение.** СОЭ - высокочувствительный, но неспецифичный маркер системного воспаления.

C-реактивный белок

СРБ - классический острофазовый белок плазмы крови, который рассматривается как наиболее чувствительный лабораторный маркер:

- Инфекции
 - Воспаления
 - Тканевого повреждения
-
- Синтез СРБ происходит в гепатоцитах и регулируется провоспалительными цитокинами, в первую очередь, ИЛ-6, а также ИЛ-1 и ФНО α .



- На фоне воспаления, инфекции или травматического повреждения уровень СРБ быстро возрастает в 100 и более раз.
- Сывороточная концентрация СРБ повышается более 5 мг/л уже через 6 часов после активации его синтеза в гепатоцитах.

Наиболее значительное увеличение концентрации СРБ выявляется при :

- **бактериальных** (100 мг/л и выше),
- **системных грибковых и вирусных инфекциях** (10-30 мг/л);
- **туберкулезе**;
- **ревматических заболеваниях** (РА, ювенильный хронический артрит, анкилозирующий спондилоартрит, псориатический артрит, системные васкулиты, ревматическая полимиалгия, болезнь Рейтера, болезнь Крона, ревматическая лихорадка, эритема нодозум, семейная средиземноморская лихорадка);
- **некрозах** (инфаркт миокарда, метастазы опухолей, острый панкреатит);
- **травмах** (хирургические вмешательства, ожоги, переломы);
- **злокачественных новообразованиях** (лимфома, карцинома, саркома).

Методы определения

- В зависимости от цели исследования определение концентрации СРБ проводится классическими и высокочувствительными методами.
- Классические методы - радиальная иммунодиффузия, иммунотурбидиметрия и иммунонефелометрия, предназначены для выявления повышенного уровня СРБ в пределах диапазона концентраций 5-500 мг/л.
- Высокочувствительный анализ СРБ (hsСРБ), основанный на усилении аналитической чувствительности иммунохимических методов с помощью специальных реагентов, позволяет измерять концентрации СРБ ниже 5мг/л

Клиническое значение

Определение СРБ является полезным для :

- скрининга поражения внутренних органов;
- оценки активности патологического процесса у больных с ревматическими и другими хроническими воспалительными заболеваниями, а также у больных с острым панкреатитом;
- мониторингирования и контроля эффективности терапии бактериальных и вирусных инфекций, в том числе интеркуррентных инфекций при СКВ и др. заболеваниях с незначительным или отсутствующим острофазовым ответом;
- дифференциальной диагностики хронических воспалительных заболеваний (СКВ и РА, болезни Крона и язвенного колита)

Прокальцитонин

- Прокальцитонин (ПКТ) представляет собой гликопротеин – пропептид кальцитонина, состоящий из 116 аминокислот, с молекулярной массой около 13 кДа.
- Синтез ПКТ осуществляется С-клетками щитовидной железы.
- При тяжелой бактериальной инфекции с системными проявлениями уровень ПКТ возрастает более чем в 100 раз.
- Наиболее значительное увеличение концентрации ПКТ имеет место при бактериальных (>100 нг/мл), системных грибковых и паразитарных инфекциях; сепсисе.
- Незначительное повышение или нормальный уровень ПКТ отмечается при вирусных инфекциях, системных аутоиммунных (РА, болезнь Крона, ДМ, ССД, неспецифический язвенный колит, СКВ) и аллергических заболеваниях

Методы определения

Концентрация ПКТ в сыворотке крови измеряется:

- иммунолюминетрическим,
 - Флюорометрическим
 - Полуколичественным иммунохроматографическим методами.
-
- В норме сывороточная концентрация ПКТ составляет <0,1 нг/мл.
 - Клиническое значение - для диагностики системной бактериальной инфекции у больных аутоиммунными ревматическими заболеваниями с высокой активностью патологического процесса и лихорадкой.

Система комплемента

- 1. *C3-компонент комплемента*
- 2. *C4-компонент комплемента*
- 3. *Антитела к компоненту комплемента C1q*



С3-компонент комплемента

- С3 - ключевой компонент активации системы комплемента по классическому и альтернативному пути.
- **Снижение уровня** С3-компонента комплемента в сыворотке крови может быть связано с повышенным потреблением комплемента при **иммунокомплексных заболеваниях** (СКВ, эссенциальная смешанная криоглобулинемия, ревматоидный васкулит), **врожденным дефектом комплемента, нарушением его синтеза в печени или усилением катаболизма.**
- **Увеличение** - **при острофазовых реакциях**, однако может маскироваться понижением его уровня, вызванным одновременным потреблением комплемента.

- Методы определения. РИД, нефелометрия.
- Норма 0,9-1,8 г/л.

- Клиническое значение - для оценки активности патологического процесса при **СКВ**
- Снижение концентрации С₃ коррелирует с активностью процесса и наиболее часто наблюдается у больных **волчаночным нефритом**.
- При **мембранозно-пролиферативном гломерулонефрите** наблюдается снижение уровня С₃, фактора В и пропердина при нормальной концентрации С₄, что связывают с синтезом аутоантител (нефритического фактора), вызывающих активацию компонентов альтернативного пути.

C₄-компонент комплемента

- C₄-компонент классического пути активации комплемента.
- Устойчивое снижение концентрации C₄ характерно для **СКВ**.
- Методы определения. РИД, нефелометрия.
- Норма **0,1-0,4 г/л** в сыворотке крови.
- Клиническое значение -для оценки активности патологического процесса и нефрита при СКВ, идентификации врожденного дефицита C₄-компонента комплемента

Антитела к C1q

- Антитела к компоненту комплемента C1q обнаруживаются у 30 – 60% больных СКВ.
- Методы определения. ИФА.
- Норма. Менее 10 ЕД/мл в сыворотке крови.
- Клиническое значение. Обнаружение антител к C1q является наиболее полезным
- лабораторным тестом для мониторингирования активности пролиферативного люпус-нефрита у
- АФЛ-негативных больных СКВ (ДЧ: 80,5%, ДС: 71%) по сравнению с повышением титров
- антител к dsДНК и снижением концентрации C3- и C4-компонентов комплемента в
- сыворотке крови

Антитела к С1q

- Антитела к компоненту компонента С1q обнаруживаются у 30 – 60% больных СКВ.
- Методы определения. ИФА.
- Норма. Менее 10 ЕД/мл в сыворотке крови.
- Клиническое значение. Обнаружение антител к С1q является наиболее полезным лабораторным тестом для мониторингирования **активности пролиферативного люпус-нефрита у АФЛ-негативных больных СКВ**

Криоглобулины

— группа иммунных комплексов (либо агрегированных иммуноглобулинов), обладающих способностью к обратимой преципитации или образованию геля при низкой температуре.

Криоглобулины обнаруживаются в сыворотке при:

- **болезнях крови**
- **вирусных (гепатит А, В и С, СПИД, инфекционный мононуклеоз),**
- **бактериальных (бактериальный эндокардит, постстрептококковый гломерулонефрит, проказа, сифилис, болезнь Лайма)**
- **паразитарных (шистозоматоз, токсоплазмоз, малярия) инфекциях,**
- **диффузных болезнях соединительной ткани (СКВ, РА, синдром Шегрена, УП, ССД),**
- **заболеваниях печени,**
- **саркоидозе, в возрасте старше 60 лет**

- Норма $\leq 0,016$ ед.опт.пл.

- Клиническое значение - для подтверждения диагноза эссенциальной смешанной **криоглобулинемии**, которая характеризуется развитием **кожной васкулитной пурпуры, нефрита, нейропатии** и других системных проявлений, а также часто связана с инфицированием вирусом гепатита С.
- Криоглобулинемия ассоциируется с активностью патологического процесса и поражением **почек при СКВ, развитием системных проявлений при синдроме Шегрена и РА**

Антигены системы HLA (Human Leukocyte Antigens)

- 1. HLA-B27
- 2. HLA-DR4



1. HLA-B27

- Экспрессия HLA-B27 тесно ассоциируется с **анкилозирующим спондилитом (АС)** и другими серонегативными спондилоартритами.
- Частота носительства HLA-B27 при АС составляет 90-95%;
- у больных **псориазическим артритом, реактивным артритом, спондилоартритом при неспецифическом язвенном колите и болезни Крона, синдромом Рейтера, больных ювенильным анкилозирующим спондилитом** – 20-80%,
- в общей популяции - 6-8%

Клиническое значение

- определение не рекомендуется использовать в качестве скринингового теста для диагностики АС в популяции, так как рентгенологические и клинические признаки сакроилиита развиваются у 15 - 20% носителей HLA-B27.
- Типирование HLA-B27 **целесообразно** у больных с короткой продолжительностью болезни, атипичным суставным синдромом и отсутствием четких рентгенологических признаков поражения крестцово-подвздошных сочленений
- Вероятность диагноза АС в этой группе больных при наличии HLA-B27 увеличивается до **90%**, а при отсутствии – снижается до **10%**.
- Тестирование HLA-B27 полезно **для прогнозирования более тяжелого течения** суставного синдрома у носителей данного генетического маркера.

2. HLA-DR₄

- 80-90% больных **РА** являются носителями молекул HLA-DR₄ или HLA-DR₁.
- Выявлена определенная связь между носительством HLA-DRB1*0401, HLA-DRB1*0404, HLA-DRB1*0408 и тяжестью РА, гиперпродукцией РФ, выявлением АЦЦП
- *Клиническое значение.* Типирование HLA-DR₄, особенно аллели HLA-DRB1*0401, полезно для прогнозирования **тяжелого течения РА с быстрым развитием эрозивных изменений** в суставах.

Спасибо за
внимание!!!

