

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**ГУ «РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ И ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»**

Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко

**АУТОАНТИТЕЛА – ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ АУ-
ТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Практическое пособие для врачей

Гомель, ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2017

Авторы:

Ю.И. Ярец, врач лабораторной диагностики (заведующий) клинко-диагностической лаборатории ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», кандидат медицинских наук, доцент

Н.И. Шевченко, врач-бактериолог (заведующий) лабораторией клеточных технологий ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», кандидат биологических наук, доцент

Рецензенты:

Е.Р. Качеровская, заведующая клинко-диагностической лабораторией УЗ «3-я городская клиническая больница г. Минска», главный внештатный специалист по лабораторной диагностике Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

А.Л. Калинин, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней УО «Гомельский государственный медицинский университет», доктор медицинских наук, доцент.

Ярец Ю.И.

Аутоантитела – лабораторные маркеры аутоиммунных заболеваний / Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко. – Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2017. – 59 с.

В практическом пособии дана общая характеристика аутоиммунных заболеваний и их патогенез. Представлены общие принципы применения тестов оценки аутоантител при аутоиммунных заболеваниях. Приведена информация о клинко-диагностическом значении определения аутоантител при аутоиммунных эндокринопатиях (заболеваниях щитовидной железы, поджелудочной железы), заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ревматических заболеваниях, а также при антифосфолипидном синдроме. В пособии содержится информация только о тестах, входящих в перечень исследований клинко-диагностической лаборатории и лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Пособие предназначено для врачей всех клинческих специальностей, врачей лабораторной диагностики.

Рекомендовано к изданию на заседании Ученого совета ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» протокол № 2 от 24 февраля 2017 г.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

ASCA	Антитела к <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
GAD	Антитела к декарбоксилазе глутаминовой кислоты
Ig	Иммуноглобулины
LE-клетки	Клетки красной волчанки
SS-A (Ro)	Sjogren's Syndrome A antigen (Robair)
SS-B (La)	Sjogren's Syndrome B antigen (Lapierre)
U ₁ -RNP	Антитела к белковым компонентам U ₁ малого ядерного рибонуклеопротеида
АГ	Аутоантигены
АИЗ	Аутоиммунные заболевания
аКЛ	Антитела к кардиолипину
АНА	Антинуклеарные антитела
Анти-dsДНК	Антитела к двуспиральной ДНК
Анти-ssДНК	Антитела к односпиральной ДНК
анти- β_2 -ГП I	Антитела к β_2 -гликопротеину I
анти-ВФ	Антитела к внутреннему фактору
анти-ПК	Антитела к париетальным клеткам
Анти-рТТГ	Антитела к рецепторам тиреотропного гормона
анти-ССР	Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду
Анти-ТГ	Антитела к тиреоглобулину
АНФ	Антинуклеарный фактор
АТ	Аутоантитела
аФЛ	Анти-фосфолипидные антитела
АФС	Антифосфолипидный синдром
ВА	Волчаночный антикоагулянт
ЕНА	Антитела к экстрагируемому ядерному антигену
ИЗСД	Инсулинзависимый сахарный диабет
ИФА	Иммуноферментный анализ
НИФ	Непрямая иммунофлюоресценция
РА	Ревматоидный артрит
РЗ	Ревматические заболевания
РФ	Ревматоидный фактор
СД	Сахарный диабет
СКВ	Системная красная волчанка
ТГ	Тиреоглобулин
ТТГ	Тиреотропный гормон
ФЛ	Фосфолипиды
ЩЖ	Щитовидная железа

СОДЕРЖАНИЕ

Аутоиммунные заболевания. Общие сведения	5
Общие черты АИЗ	5
Иммунопатогенез АИЗ	6
Факторы, способствующие аутоиммунизации	7
Генетическая предрасположенность	7
Триггерные факторы	8
Аутоантитела и аутоиммунные заболевания	10
Лабораторная диагностика АИЗ	15
Общие принципы применения тестов оценки АТ при АИЗ	15
Диагностическое значение определения АТ при аутоиммунных эндокринопатиях	18
Аутоантитела-маркеры заболеваний щитовидной железы	20
Аутоантитела к тиреопероксидазе	20
Аутоантитела к тиреоглобулину в сыворотке (анти-ТГ)	23
Антитела к тиреотропным рецепторам (анти-рТТГ) в сыворотке	25
Тиреоидмикросомные АТ в сыворотке	27
Клинические показания к исследованию антитиреоидных АТ	27
Аутоантитела-маркеры заболеваний поджелудочной железы	29
Аутоантитела к АГ островковых клеток в сыворотке	30
Антитела к инсулину в сыворотке	30
Антитела к декарбоксилазе глутаминовой кислоты в сыворотке	32
Аутоантитела – маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта	33
Антитела к париетальным клеткам в сыворотке	35
Антитела к внутреннему фактору в сыворотке	36
Антитела к глиадину в сыворотке	37
Антитела к тканевой трансглутаминазе в сыворотке	38
Антитела к <i>Saccharomyces cerevisiae</i> в сыворотке (ASCA)	39
Аутоантитела – маркеры РЗ	40
Антинуклеарный фактор в сыворотке (АТ к нуклеарным АГ)	41
LE-клетки в крови	43
Антитела к ДНК в сыворотке (анти-ДНК)	46
Антитела к двуспиральной ДНК в сыворотке (анти-dsДНК)	46
Антитела к односпиральной ДНК в сыворотке (анти-ssДНК)	48
АТ к ENA в сыворотке	48
Ревматоидный фактор в сыворотке	51
Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (анти-CCP)	53
Аутоантитела – маркеры АФС	54
Антифосфолипидные АТ	55
Список использованной литературы	59

Аутоиммунные заболевания. Общие сведения

Аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) называют патологические процессы, основой которых служит самоподдерживающийся иммунный ответ на собственные антигены (аутоантигены – АГ) организма, что приводит к повреждению клеток, экспрессирующих эти АГ. Находящиеся в норме в небольшом количестве естественные аутоантитела (АТ), обычно IgM-класса, не вызывают патологических процессов, а стимулируют регенерацию тканей. Для иммунной аутоагрессии необходимо не только увеличение их количества, но и качественные изменения: усиление антигенной специфичности, повышение авидности и т. д.

Заболевание является аутоиммунным, когда в основе его этиологии лежат нарушения механизмов развития и поддержания ауто толерантности, проявляющиеся замедленными и немедленными реакциями, направленными против собственных АГ.

Общие черты АИЗ

Основа АИЗ – иммунные процессы. Все закономерности развития иммунного ответа находят отражение в патогенезе этих заболеваний. Факторы, подавляющие иммунный ответ, ослабляют проявления этих патологий, а иммуностимуляторы, наоборот, усиливают аутоиммунный процесс;

Проявления аутоиммунных процессов во многом определяются локализацией АГ в организме: если он содержится только в определенном органе, поражение имеет локализованный характер, затрагивая соответствующий орган; при широкой распространенности АГ в организме развивается системный процесс.

Развитие АИЗ зависит также от характера иммунных механизмов, преобладающих при ответе на АГ. Это может быть преимущественно клеточная реакция, состоящая в формировании цитотоксических Т-лимфоцитов или провоспалительных Т-клеток, активирующих макрофаги, или гуморальная

реакция, проявляющаяся в выработке АТ, способных привлекать клеточные (фагоциты) и гуморальные (комплемент) эффекторные факторы.

В связи с невозможностью удаления АГ из организма (т.е. его персистенцией) аутоиммунные процессы всегда имеют затяжной характер с признаками самоподдержания.

Анализируя состав, вид, молекулярную массу и классы АТ, выявляемых при АИЗ, можно отметить их гетерогенность по всем показателям. Одни из них являются органо-специфическими, другие направлены против АГ клеток и их структур. Можно выделить особый тип аутоиммунных реакций – антирецепторные, когда АТ блокируют или связывают клеточные рецепторы, что вызывает усиление или подавление функции клетки – тиреоидиты, заболевания поджелудочной железы. Третью группу составляют АТ циркулирующих клеток (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты).

Критерии АИЗ были сформулированы в 1961 г. L.Witebsky, они включают наличие АТ или сенсibilизированных лимфоцитов во всех случаях заболевания, хотя бы на некоторых его стадиях. В большом перечне болезней и синдромов Международной классификации болезней значительное место занимают состояния, при которых ведущим причинным фактором и первичным механизмом их развития являются иммуногенетические особенности пациента и аутоиммунные нарушения. Выявление этих нарушений крайне важно с практической точки зрения – возможности их коррекции.

Иммунопатогенез АИЗ

Иммунологическая толерантность – неспособность организма к иммунному ответу на определенный АГ при сохранении иммунологической реактивности к другим АГ. Согласно теории Бернета, во время эмбрионального развития все клоны иммунокомпетентных клеток, которые могли бы реагировать с АГ собственных тканей, элиминируются или инактивируются, и поэтому на более поздних стадиях развития иммунный ответ на АГ собственного организма отсутствует. Таким образом, уже в процессе становления им-

мунной системы формируется способность организма отличать «свое» от «чужого», т.е. естественная иммунологическая толерантность предотвращает нарушения, которые индуцируются иммунными механизмами. По мнению Бернета, аутореактивные клетки элиминируются тимусом (теория «запрещенного клона»). Несмотря на сложнейшие механизмы селекции, в организме человека всегда присутствует некоторое количество аутореактивных В- и Т-клеток. В условиях АИЗ количество таких клеток значительно возрастает, а механизмы негативной селекции нарушаются за счет двух возможных вариантов:

- срыв (отмена) иммунологической толерантности в результате аномальной АГ-стимуляции;
- нарушение механизмов иммунорегуляции вследствие первичного изменения иммунной системы.

Механизм аутоиммунного разрушения клеток и тканей не отличим от того, который действует в условиях нормы при адаптивном иммунитете, и включает как специфические Ig различных классов, так и субпопуляции Т-клеток, способные реагировать на собственные АГ. Механизмы повреждения тканей при органоспецифических и органонеспецифических АИЗ различны. В тех случаях, когда АГ локализован в каком-либо одном органе, наибольшее значение имеют гиперчувствительность II типа и клеточные реакции. При органонеспецифических АИЗ основную роль играет отложение иммунных комплексов, ведущее (в том числе через активацию комплемента и фагоцитоза) к воспалению.

Факторы, способствующие аутоиммунизации

Для развития АИЗ необходимо наличие двух факторов: генетической предрасположенности и неблагоприятных условий окружающей среды.

Генетическая предрасположенность

Практически все изученные АИЗ ассоциированы с тем или иным гаплотипом HLA. При органоспецифических заболеваниях особенно часто

встречается гаплотип В8-DR3, хотя тиреоидит Хашимото чаще ассоциирован с DR5, а ревматоидный артрит – с DR4. Это подтверждает представление об участии нескольких генетических факторов в развитие АИЗ: во-первых, генов, определяющих общую предрасположенность к аутоиммунной патологии и, во-вторых, генов, которые определяют конкретную мишень для развития аутоиммунной реакции. Тот факт, что в пределах одной семьи могут регистрироваться разные клинические формы АИЗ, свидетельствует о передаче по наследству лишь предрасположенности к аутоиммунизации.

Триггерные факторы

В настоящее время в связи с высокой частотой бактериально-вирусных инфекций, их роль в развитии аутоагрессии является лидирующей. Инфекции могут вызывать развитие АИЗ через 2 механизма: молекулярную мимикрию и избыточную активацию аутореактивных лимфоцитов. Например, два белка оболочки клеток *Y. enterocolitica* имеют общие эпитопы с внеклеточным доменом рецептора тиреотропного гормона человека. АТ к стрептококку при ревматической лихорадке реагируют также с тканями сердца. Обнаруживаемые при язвенном колите АТ к АГ толстой кишки перекрестно реагируют с *E. coli* 014. При попадании в организм инфекционный агент, несущий перекрестно реагирующие эпитопы, может напрямую активировать аутореактивные Т-хелперы, вызывая экспрессию ко-стимулирующих молекул (CD2, CD28, LFA-1). Будучи активированными, аутореактивные лимфоциты уже не нуждаются во внешнем стимуле и способны реагировать с аутоэпитопами на поверхности собственных клеток.

Многие аутореактивные В-лимфоциты не подвергаются клональной экспансии, т.к. Т-хелперы, в «содействии» которых они нуждаются, либо находятся в состоянии толерантности под воздействием низкой концентрации АГ, либо способны распознавать только «скрытые» эпитопы. Однако при инфицировании поверхностные Ig аутореактивных В-клеток способны узнать, связать, процессировать и представить чужеродные перекрестные АГ в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости. В ответ Т-

хелперы стимулируют В-клетки, которые начинают продуцировать аутоАТ. Третий вариант развития аутоиммунных процессов может быть опосредован через активацию синтеза интерферона- γ при распознавании Т-лимфоцитами вирус-инфицированных клеток, который, индуцирует экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости класса II в нормальных тканях и делает «видимыми» их АГ для иммунной системы.

Кроме патогенов, функцию инициатора АИЗ за счет перекреста могут выполнять и другие факторы окружающей среды, в частности активные метаболиты лекарственных препаратов, связывающиеся с белками.

Вторая частая причина развития аутоиммунной реакции может быть связана с деструкцией или некрозом тканей, или изменением их АГ-структуры таким образом, что изменённая ткань становится иммуногенной для организма хозяина. Именно по такому механизму развивается аутоиммунный хронический активный гепатит после перенесённого гепатита В.

Третья причина аутоиммунных реакций – нарушение целостности гистогематических барьеров, в норме отделяющих забарьерные органы и ткани от крови и, соответственно, от иммунной агрессии лимфоцитов. По данному механизму развивается аутоиммунный тиреоидит, т.к. в норме коллоид щитовидной железы в кровь не попадает (гемато-тиреоидный барьер), в кровь высвобождаются лишь T_3 и T_4 и частично тиреоглобулин.

Четвёртая возможная причина аутоиммунных реакций – гипериммунное состояние (патологически усиленный иммунитет) или иммунологический дисбаланс с нарушением «селекторной», подавляющей аутоиммунитет, функции тимуса или со снижением, активности супрессорных клеток.

Механизм развития многих АИЗ (системной склеродермии, узелкового периартериита, приобретённой гемолитической анемии и др.) не выяснен. Большинство их протекает по типу аллергических реакций замедленного типа с участием иммунных лимфоцитов. При аутоиммунных поражениях крови первостепенное значение имеют циркулирующие в крови АТ. Отдельная роль в развитии АИЗ придается антиидиотипическим АТ, которые, с одной

стороны, являются важнейшим фактором иммунорегуляции, а с другой, способствуют развитию аутоиммунизации. Например, при системной красной волчанке (СКВ) или миастении клиническая ремиссия всегда сопровождается продукцией данных АТ.

Аутоантитела и аутоиммунные заболевания

Аутоантитела представляют собой иммуноглобулины классов IgG, IgA, IgM, специфически связывающиеся с антигенными эпитопами молекул человеческого организма. Образование АТ представляет собой нормальный биологический феномен, а связывание иммуноглобулинов с собственными АГ можно зафиксировать в сыворотке любого человека. В норме существует охарактеризованная популяция В-клеток, синтезирующая полиреактивные низкоаффинные иммуноглобулины, способные связываться со многими АГ. Роль АТ в норме и причина их появления изучена недостаточно. Вероятнее всего причиной образования АТ является перекрестная реактивность иммунных эпитопов между АГ инфекционных агентов и собственными молекулами организма. Спектр АГ стимулов, окружающих человека, постоянно меняется, что ведет к образованию низкоаффинных непатогенных АТ.

Большинство разновидностей АТ сравнительно часто может быть обнаружено у клинически здоровых лиц. К АТ, которые могут стать случайной находкой у клинически здоровых лиц, относят антинуклеарный фактор (АНФ) (3%), ревматоидный фактор (РФ) (3%), АТ к тиреопероксидазе (4%), АТ к кардиолипину (1%), АТ к миокарду (5%), АТ к скелетной мускулатуре (3%). Частота встречаемости многих АТ нарастает с возрастом.

АТ обнаруживают при инфекционных и онкологических заболеваниях, воспалительных процессах различного генеза, хронических интоксикациях (алкоголизме) либо на фоне приема лекарственных препаратов, которые не сопровождаются аутоиммунными проявлениями. В этом случае АТ могут нести самостоятельную иммунную функцию, например, участвовать в клиренсе тканевых АГ. Наличие РФ при вирусном гепатите С, антимиокардиальных

АТ при вирусных миокардитах указывает на большое значение инфекции в генезе аутоиммунных процессов. Встречаемость антинуклеарных АТ (АНА) несколько возрастает у пациентов с онкологическими заболеваниями, причем индукция АНА на фоне опухоли указывает на лучший прогноз у онкологических больных. Встречаемость ряда АТ, в частности РФ и АНФ, нарастает в пожилом возрасте. Однако титры АТ, присутствующих в норме, низки и сравнительно нестойки. АНФ часто диагностируют при болезни «трансплантат против хозяина» и солидных опухолях, что можно объяснить аллоиммунным или противоопухолевым иммунным ответом. Это доказывает, что в определенном смысле АТ – компонент естественного иммунного ответа, участвующий в удалении из системы циркуляции «состаренных» белков.

Изученные механизмы участия АТ в иммунопатогенезе АИЗ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Патогенетические механизмы действия АТ при АИЗ

Механизм	Основные АТ
Взаимодействие с белковыми системами крови и биологических жидкостей	Волчаночный антикоагулянт АТ к C1q и C1INH АТ к внутреннему фактору Касла
Взаимодействие с рецептором (слушивание, блокада или стимуляция)	АТ к ацетилхолиновому рецептору АТ к рецептору тиреотропного гормона АТ к ионным каналам
Комплемент-опосредованное разрушение компонентов клеток и ткани	АТ к эритроцитам АТ к антигенам десмосом АТ к антигенам базальной мембраны кожи АТ к базальной мембране клубочка АТ к ганглиозидам
Перекрестное связывание молекул и активация клетки	Антинейтрофильные цитоплазматические АТ
Отложение иммунных комплексов с реактивным воспалением	АТ к dsДНК и нуклеосомам РФ Отложения полимерного Ig и комплемента в мезангии клубочка и стенках сосудов почки при IgA-нефропатии
Опсонизация, фагоцитоз и изменение клиренса молекул и клеток	АТ к гликопротеинам IIb/IIIa АТ к окисленным липопротеинам

Высокое содержание АТ не всегда сопровождается высокой клинической активностью АИЗ. Это указывает на то, что ряд характеристик АТ, в

том числе аффинность, количество, присутствие тканевого воспаления и других реакций иммунной системы, крайне важны для проявления патогенетического действия АТ. С другой стороны, при АИЗ может наблюдаться ситуация, при которой АТ постепенно исчезают из сыворотки с увеличением длительности болезни. Так, АТ к островковым клеткам поджелудочной железы у большинства пациентов с сахарным диабетом I типа исчезают через 1 год после клинического дебюта заболевания.

Возможность использования конкретной разновидности АТ в качестве диагностического показателя определяется их встречаемостью при АИЗ. Встречаемость тех АТ, которые используются для клинической диагностики, обычно составляет более 60-70% при патологии, менее 1% в норме и при других заболеваниях. Хорошие клинико-лабораторные параметры многих разновидностей АТ позволяют рассматривать их в качестве лабораторных маркеров этих заболеваний, т.е. высокоспецифичных лабораторных тестов, обладающих исключительной диагностической информативностью. Высокоспецифичными серологическими маркерами называют те разновидности АТ, которые встречаются исключительно при этом заболевании. Так, к высокоспецифичным серологическим маркерам относят анти-dsДНК и анти-Sm при СКВ, АТ к Scl-70-АГ при склеродермии. Некоторые АТ могут быть высокоспецифичными маркерами одновременно нескольких групп АИЗ. Например, АТ к цитоплазме нейтрофилов образуются как при гранулематозных васкулитах, так и при воспалительных заболеваниях кишечника. Ряд АТ, характерных для АИЗ, сравнительно часто регистрируют у здоровых лиц без признаков АИЗ, что значительно ограничивает их диагностическое использование. К примеру, клиническое использование АТ к скелетным мышцам при миастении или АТ к миокарду ограничено, поскольку они могут часто встречаться в норме либо при неиммунных заболеваниях.

Обычно появление высоких титров специфических АТ у клинически здоровых лиц рассматривается в качестве фактора риска развития АИЗ. АТ в сыворотке крови могут обнаруживаться за несколько месяцев до первых

клинических проявлений заболевания. Так, при ревматоидном артрите (РА) антицитруллиновые АТ могут быть обнаружены за 1,5 года до дебюта артрита, обнаружение антинейтрофильных АТ предваряет развитие гломерулонефрита на несколько месяцев.

Клиническое значение обнаружения АТ отчасти зависит от титров содержания АТ в сыворотке обследуемого. Обычно высокое содержание АТ указывает на высокую аффинность последних. Это, в свою очередь, характеризует специфичность и выраженность иммунного ответа. Обнаружение высоких титров АТ, как правило, указывает на АИЗ, в то время как низкие титры часто отмечаются в норме и не специфичны. В отсутствие иммуносупрессивного лечения при АИЗ содержание АТ обычно сохраняется на высоком уровне в течение длительного времени. При наличии АТ на фоне инфекции или неиммунного воспаления титры АТ обычно нестойки. АТ могут быть индуцированы воспалительным, инфекционным, онкологическим процессом или спровоцированы назначением определенных препаратов. Для того, чтобы отличить транзиторную индукцию АТ от хронического присутствия АТ при АИЗ, может потребоваться проведение повторного исследования. Учитывая, что время полужизни сывороточных Ig составляет около 3 мес, минимальное время между повторными исследованиями должно превышать полгода. В то же время продукция АТ при АИЗ не является постоянной величиной. Встречаемость АТ может нарастать с увеличением длительности АИЗ, как это происходит при РА, или снижаться ниже порога детекции в течение первого года заболевания при сахарном диабете. АТ синтезируются в составе нормального пула Ig сыворотки крови плазмócитами костного мозга, лимфатических узлов и селезенки, однако в ходе иммунного ответа при АИЗ продукция АТ в очаге воспаления может приобретать особые характеристики, например, может измениться клональность Ig. Например, при рассеянном склерозе отмечается выраженное увеличение местного синтеза АТ и иммунный ответ в ликворе становится олигоклональным, а при смешанной криог-

лобулинемии в состав криоглобулинов сыворотки входит моноклональный РФ.

Хотя большинство АТ служат свидетелями аутоиммунного воспаления и их содержание не коррелируют с активностью заболевания, обнаружение определенных типов АТ при ревматических заболеваниях (РЗ) указывает на характерные особенности клинического течения. Так, у пациентов, имеющих в сыворотке специфический набор АТ, наблюдается особенное течение заболевания, отличное от симптоматики пациентов, не имеющих этих АТ. При СКВ, сопровождающейся образованием АТ к SS-A (Ro), гломерулонефрит встречается реже, чем у пациентов, имеющих высокий титр анти-dsДНК, но имеется определенный риск развития поражений кожи и склонность к повышенной фоточувствительности. В связи с этим определение АНА позволяет врачу предсказать, а иногда и предотвратить развитие осложнений. Динамика титра определенных видов АТ в ходе заболевания имеет прогностическое значение. Увеличение концентрации антител к dsДНК предшествует вспышке СКВ, и ранняя патогенетическая терапия может уберечь пациента от развития клинических симптомов или уменьшить их остроту. Выделение пациентов с тем или иным типом АТ в отдельную, часто клинически гомогенную, группу подтверждается обнаружением определенного HLA-генотипа у больных с конкретным типом АНА. К примеру, пациенты с дерматомиозитом, у которых в сыворотке крови обнаруживают АТ к Jo-1, характеризуются исключительно HLA-DR3 (DRw17) и HLA-DRw52-генотипом. Таким образом, результаты исследования содержания АТ и их спектра указывают на особенности функционирования иммунной системы и отражают ее особую предрасположенность к формированию аутоиммунных ответов.

Лабораторная диагностика АИЗ

Диагностика АИЗ должна включать следующие комплексы лабораторных тестов:

- тесты, направленные на выявление специфических АТ;

- тесты, позволяющие установить сенсibilизацию Т-лимфоцитов к АГ;
- тесты, позволяющие выявлять иммунные комплексы и лимфоцитарную инфильтрацию пораженных тканей (биопсия);
- прогностические тесты (комплексное исследование иммунного статуса).

В настоящем пособии рассматривается клинико-диагностическое значение результатов оценки тестов специфических АТ. В пособии содержится информация только о тестах АТ, входящих в перечень исследований клинико-диагностической лаборатории и лаборатории клеточных технологий ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека».

Общие принципы применения тестов оценки АТ при АИЗ

При диагностике АИЗ надо стремиться к исследованию всего спектра АТ, характерного для данного заболевания, так как некоторые АТ присутствуют в крови только в острой фазе процесса и исчезают при ремиссии. При интерпретации результатов исследований надо помнить, что не всегда имеется корреляция между остротой воспалительного процесса и титрами АТ.

Правильное использование приведенных комплексов тестов может дать полезную информацию об остроте и тяжести аутоиммунного процесса, а также для подбора базисной и противовоспалительной терапии.

Благодаря единому патогенетическому механизму индукции АТ, конкретные их разновидности могут быть сгруппированы в семейства, реагирующие с мишенями одного рода. Например, все представители семейства АНА реагируют с рибонуклеопротеиновыми АГ ядер. Каждая разновидность АТ, даже направленная к одному АГ, представляет собой поликлональную популяцию АТ, представленную молекулами иммуноглобулинов с разными физико-химическими свойствами. Это обусловлено тем, что поликлональные АТ реагируют с разными эпитопами на поверхности молекулы-АГ, причем сила связи каждой молекулы АТ с АГ (аффинность) различна. Естественно, что в идеале иммунологический лабораторный метод должен позволять уста-

новить не одну разновидность молекул (как это происходит в большинстве традиционных лабораторных тестов), а спектр АТ, направленных на разные АГ. Причем каждое АТ значительно отличается от других по заряду, молекулярной массе и силе связывания с АГ, которая зависит от условий реакции. Такого идеального метода не существует.

На практике для точного описания спектра АТ используют несколько методов, каждый из которых имеет свои достоинства и недостатки. В результате интерпретация результатов исследования одного лабораторного показателя зависит от метода, с помощью которого он определен. Особенности обнаружения АТ приводят к тому, что один тест может иметь до 10 вариантов ответов, включающих наличие АТ, его титр, а также несколько разнообразных типов связывания АТ с субстратом. Обычно на первом этапе тестирования применяют метод, обладающий максимальной чувствительностью, в котором присутствует максимально широкий спектр АГ. Уточнение специфичности обнаруженных АТ возможно при использовании подтверждающих тестов, назначенных по результатам первичного тестирования.

В случае невысоких титров АТ, которые могут быть обусловлены неспецифическим связыванием АТ или присутствием специфических серологических маркеров, но в низкой концентрации, интерпретация результата зависит от постановки клинической задачи. Если речь идет об исключении ревматической природы заболевания в дифференциальной диагностике неревматической патологии, то результат может быть интерпретирован как отрицательный. В случае, когда тест используют для подтверждения РЗ у пациента с другими клиническими признаками ревматической патологии, результат теста должен рассматриваться как положительный.

Планирование серологического обследования зависит от клинической задачи, которую требуется решить клиницисту, в свою очередь, назначение конкретных тестов зависит от их клинико-лабораторных параметров. Для скрининга используют тесты, отрицательный результат которых с большой вероятностью позволяет исключить заболевание. Обычно такими параметра-

ми обладают методы, позволяющие одновременно определять АТ к АГ одного семейства. Так, назначение АНФ целесообразно на этапе скрининга РЗ, поскольку обычно диффузные заболевания соединительной ткани сопровождаются обнаружением АНА. Отрицательный результат выявления АНФ делает диагноз СКВ или системной склеродермии маловероятным. Часто уже на этапе скрининга необходимо выполнять комбинации тестов, параллельное назначение которых значительно снижает вероятность ошибочного исключения диагноза. К примеру, в диагностике РА уже в дебюте этого заболевания рационально назначать определение РФ и антицитруллиновых антител. Дифференциальная диагностика требует проведения тестов, обладающих большей специфичностью. Например, при обнаружении низких титров АНФ выявление анти-dsДНК указывает на диагноз СКВ. Не менее важен вопрос о результатах тестов, которые находятся в «серой зоне». В случае скринингового теста результат, находящийся в «серой зоне», следует интерпретировать как неспецифический, в то время как у пациента с уже определенным диагнозом тот же результат следует отнести к низкой, но значимой концентрации АТ. При решении задач дифференциальной диагностики комбинации тестов делают результат обследования более убедительным. Так, диагностика антифосфолипидного синдрома (АФС) с помощью антифосфолипидных антител должна расширяться за счет параллельного обследования для диагностики СКВ. Комбинированное тестирование несомненно улучшает информативность обследования пациентов. Комбинированное тестирование, включающее параллельный скрининг разных АИЗ, имеющих общие черты, крайне информативно при дифференциальной диагностике системных РЗ. Такой подход позволяет рекомендовать наборы тестов и комплексные алгоритмы обследования, что в итоге приводит к росту числа диагностических находок.

Особенности постановки диагностической задачи и планирования иммунологического обследования при АИЗ приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Постановка и решение задач лабораторной диагностики АИЗ

Клинический вопрос	Диагностическая задача	Назначение обследования
Как исключить диагноз?	Ранняя диагностика и оценка риска	Скрининговый тест, обладающий высокой чувствительностью
Как подтвердить диагноз?	Дифференциальная диагностика	Подтверждающий тест, обладающий высокой специфичностью
Границы нормы и патологии?	Классификация заболевания	Устанавливаются индивидуально на основании опыта лаборатории и результатов контроля качества
Что значит для пациента результат обследования?	Прогноз исхода заболевания	Данные литературы при анализе больших когорт пациентов
Как часто повторять тест?	Контроль терапии	Учитывать время клиренса исследуемых молекул

Диагностическое значение определения АТ при аутоиммунных эндокринопатиях

Наиболее раскрыты и изучены причины многих эндокринопатий, в основе которых лежат аутоиммунные процессы. Выявление в крови пациента АТ при различных эндокринопатиях существенным образом расширяет представление клинициста о патогенезе заболевания, позволяет еще в доклинической стадии заболевания проводить целенаправленную иммунокорригирующую терапию. О роли и значении аутоиммунных процессов в эндокринной патологии говорит приведенная в таблице 3 классификация.

Таблица 3 – Патогенетическая классификация аутоиммунных эндокринопатий

Иммуноэндокринный синдром	Иммунопатологический механизм
<i>Первичные аутоиммунные эндокринопатии с морфологическими последствиями аутоагрессии</i>	
Инсулинзависимый сахарный диабет	Лимфоидная и плазмочитарная инфильтрация островков Лангерганса (инсулит) с уменьшением числа β -клеток или с их полным исчезновением; циркулирующие АТ к β -клеткам; ЦИК
Аутоиммунный тиреоидит	Лимфоидная и плазмочитарная инфильтрация щитовидной железы с исходом в склерозирование; циркулирующие АТ к тиреоидным АГ; ЦИК
Аддисонова болезнь	Аутоиммунная деструкция (склерозирование) коркового вещества надпочечников; циркулирующие АТ к стероидсекретирующим клеткам
Идиопатический гипогонадизм	Аутоиммунная деструкция (склерозирование) гонад; циркулирующие АТ к стероидсекретирующим и гаме-

	топродуцирующим клеткам
Гипоталамические и гипоталамо-гипофизарные синдромы	Аутоиммунная деструкция различных гипоталамических и аденогипофизарных структур с парциальным или тотальным гипопитуитаризмом
Аутоиммунный полиэндокринный синдром	Аутоиммунная деструкция нескольких эндокринных и неэндокринных органов и тканей
<i>Первичные аутоиммунные эндокринопатии с функциональными нарушениями эндокринных желез</i>	
Диффузный токсический зоб	Циркулирующие тиреоидстимулирующие АТ к ТТГ-рецепторам с гиперплазией и гиперфункцией щитовидной железы
Идиопатический гипотиреоз	Циркулирующие АТ к ТТГ-рецепторам с функциональной блокадой и атрофией тиреоцитов
Идиопатический гипопаратиреоз	Циркулирующие АТ к ТТГ-рецепторам, блокирующие действие паратгормона
Некоторые формы вторичного сахарного диабета	Циркулирующие АТ к инсулиновым рецепторам, блокирующие действие инсулина
Спонтанно гипогликемические пароксизмы при вторичном сахарном диабете	Циркулирующие АТ к инсулиновым рецепторам с эпизодами спонтанного освобождения последних от связи с антителами на фоне реактивной гиперинсулинемии
Вторичная аменорея	Циркулирующие АТ к ФСГ-рецепторам, блокирующие действие ФСГ
<i>Вторичные обменно-эндокринные синдромы на фоне системной или реактивной иммунопатологии</i>	
Гиперкальциемия при плазмоцитоме	Костно-резорбтивное и кальциймобилизующее действие медиаторов иммунных реакций
Гиперкальциемия при болезни Педжета и синдроме Бамбергера-Мари	Дисфункция костных клеток, вызванная гуморальными субстанциями из поврежденных иммунокомпетентных клеток в очаге воспаления
Подострый тиреоидит с транзиторным гипотиреозом	Аутоиммунная деструкция тиреоцитов в результате индуцированного вирусом изменения их АГ структуры
Послеродовой аутоиммунный тиреоидит	Индукцированная беременностью аутоиммунная атака тиреоцитов по типу тиреоидита де Кервена
Галакторея-аменорея при первичном гипотиреозе	Аутоиммунная деструкция или блокада щитовидной железы с реактивной гиперсекрецией тиреолиберина и пролактина

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

В клинической практике к эндокринопатиям, в патогенезе которых аутоиммунные процессы играют важную роль, относятся заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, недостаточность надпочечников.

Аутоантитела-маркеры заболеваний щитовидной железы

В патогенезе большинства заболеваний щитовидной железы (ЩЖ) (диффузный токсический зоб, токсический узловой зоб, первичный гипоти-

реоз и др.) решающую роль играют аутоиммунные процессы, поэтому диагностика их требует определения антитиреоидных АТ. В настоящее время в диагностике используют определение:

- аутоантител к тиреоидпероксидазе (анти-ТПО);
- антител к тиреоглобулину (анти-ТГ);
- аутоантител к рецепторам ТТГ щитовидной железы;
- тиреоидмикросомных АТ.

Аутоантитела к тиреопероксидазе

Референтные величины анти-ТПО – 0-18 МЕ/мл

Тиреоидная пероксидаза (ТПО) – основной фермент гормоногенеза ЩЖ, изначально описана под названием «микросомальный антиген». До сих пор существует название «АТ к микросомальной фракции ЩЖ», которое интерпретируется как АТ к слабо очищенной ТПО, хотя микросомальная фракция содержит также белки митохондрий и ряд цитоплазматических разновидностей АНА. В современных тест-системах используют высокоочищенный белок или рекомбинантную ТПО.

Пероксидаза находится на апикальной поверхности тиреоидных фолликулярных клеток. ТПО осуществляет окисление йодидов в фолликулах до активного йода и йодирование тирозина. В ходе дальнейшего окисления пероксидазой происходит сопряжение моно- и дийод-тирозинов с образованием различных йодтиронинов, из которых в количественном отношении преобладает Т₄. Она представляет собой основную АГ мишень при тиреоидите Хашимото, против которой направлено большинство клеточных ответов при этом заболевании. До развития клинической картины заболевания в ЩЖ можно обнаружить выраженную клеточную инфильтрацию. Мононуклеарные инфильтраты содержат большое количество В-клеток, Т-клеток и макрофагов. Формирование инфильтратов сопровождается постепенной деструкцией этих фолликулов и «попытками» ЩЖ регенерировать, что приводит к ее диффузному или узловому увеличению и появлению зоба. Показана

связь между анти-ТПО и клиническими особенностями заболевания: АТ чаще обнаруживают у пациентов с узлами по сравнению с пациентами без узлов ЩЖ.

Характерно, что анти-ТПО продуцируются главным образом лимфоцитарными инфильтратами ЩЖ и только в малой степени – клетками регионарных лимфатических узлов и костного мозга. Именно поэтому анти-ТПО коррелируют с гистологической тяжестью тиреоидита и увеличенными размерами ЩЖ на ранних стадиях заболевания. У пациентов с высокой активностью АТ отмечается склонность к гипотиреозу. Титр анти-ТПО соотносится с продукцией в воспалительном инфильтрате классических провоспалительных цитокинов, таких как IFN- γ и TNF- α , которые могут быть связаны с повреждением ЩЖ. Большинство анти-ТПО относится к IgG₁-субклассу, который считают хорошим активатором комплемента; продемонстрирована комплемент-опосредованная цитотоксичность на изолированных тиреоидных клетках. Найдены отложения компонентов комплемента в ЩЖ пациентов, обусловленные его активацией под действием анти-ТПО.

Основным показанием к обследованию на анти-ТПО считают диагностику АИЗ ЩЖ. По сравнению с анти-ТГ анти-ТПО более чувствительны и специфичны, поэтому существует мнение, что дополнительное выявление анти-ТГ только увеличивает цену обследования, не добавляя диагностической информативности.

Антитела к ТПО присутствуют у 75-90% пациентов с тиреоидитом Хашимото, у 60% пациентов с послеродовым тиреоидитом и примерно у 75% пациентов с болезнью Грейвса. Поскольку анти-ТПО обнаруживают при всех формах АИЗ ЩЖ, то они не могут быть использованы для дифференциальной диагностики аутоиммунного тиреоидита и болезни Грейвса.

При тиреоидите Хашимото в результате разрушения АТ ТПО в фолликулах ЩЖ нарушается обмен йода (его окисление до активного йода), что приводит к низкому содержанию йода в ТГ. Функция ЩЖ снижается в основном за счет снижения секреции Т₄.

При оценке полученных результатов исследования необходимо учитывать так называемую пограничную линию, которая составляет 18 МЕ/мл и используется для того, чтобы дифференцировать пациентов с эутиреоидным состоянием и пациентов с тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса.

У больных тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса уровень анти-ТПО > 18 МЕ/мл встречается в 98 и 83% случаев соответственно. Специфичность этой границы для этих заболеваний составляет 98%. Обычно уровень анти-ТПО у пациентов тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса составляет 100 МЕ/мл и более.

Другим показанием к определению этих АТ является исключение аутоиммунного гипотиреоза во время беременности. Примерно 2% беременностей протекает при пониженной тиреоидной функции. Беременность может «предъявлять» повышенные требования к тироксину, поэтому субклинический гипотиреоз обычно проявляется на ее фоне. Повышение уровня тиреотропного гормона (ТТГ) или понижение свободного T_4 во время I триместра беременности может сочетаться с нарушением нейрорепродуктивного развития плода. Присутствие анти-ТПО во время беременности указывает на увеличение риска развития клинически значимого гипотиреоза и может рассматриваться как показание к выполнению повторных измерений ТТГ. Наличие анти-ТПО также увеличивает риск послеродовой тиреоидной дисфункции. Послеродовой гипотиреоз наблюдается примерно у 5% рожениц и характеризуется наличием анти-ТПО. Это нарушение обычно наблюдают в первые месяцы после родов, часто оно начинается с тиреотоксической фазы, сменяемой пролонгированным гипотиреозом. Он может персистировать в течение многих месяцев и примерно в 30% случаев может стать перманентным. Женщины с анти-ТПО во время беременности имеют 50% вероятность развития послеродовой тиреоидной дисфункции в сравнении только с 2% вероятностью у женщин с негативными результатами исследования. Если анти-ТПО выявляют в III триместре беременности, то риск послеродовой тиреоидной дисфункции увеличивается и достигает 80%.

Достаточно противоречиво определение АТ для оценки субклинического тиреоидита и гипотиреоза. Так же, как другие часто встречающиеся АТ, например АНФ или РФ, анти-ТПО часто обнаруживают у клинически здоровых лиц, преимущественно у женщин среднего и пожилого возраста. Частота таких находок варьирует в зависимости от возраста, географического и демографического состава популяции. Ряд исследователей указывают на встречаемость АТ у 20% женского населения. Этот феномен предлагается использовать для выявления лиц с предрасположенностью к тиреоидиту и гипотиреозу. Наличие анти-ТПО у здоровых лиц может быть использовано как показание для обследования с целью диагностирования субклинического гипотиреоза, характеризуемого повышенным уровнем ТТГ при нормальной концентрации свободного Т₄. Имеются результаты популяционных исследований, указывающих на то, что ежегодный риск развития гипотиреоза у здоровых субъектов значительно увеличивается в присутствии анти-ТПО. Эти индивидуумы могут иметь повышенный риск развития явного гипотиреоза и/или сердечно-сосудистых болезней. В связи с этим нужно проводить регулярное исследование функции ЩЖ у лиц с высоким содержанием анти-ТПО.

Анти-ТПО часто находят у больных другими АИЗ, такими как СКВ, РА, сахарный диабет I типа и болезнь Аддисона.

Аутоантитела к тиреоглобулину в сыворотке (анти-ТГ)

Референтные величины анти-ТГ – 0-51 МЕ/мл

Тиреоглобулин (ТГ) – главный компонент коллоида фолликул щитовидной железы. Он играет основную роль в фиксации ЩЖ атомарного йода и синтезе йодированных тиреоидных гормонов тироксина (Т₄) и трийодтиронина (Т₃). В норме йодируется не более 25% тирозиновых остатков в составе ТГ. Доказано, что йод пищи играет роль в модулировании аутоиммунного тиреоидита, что базируется на клинических и эпидемиологических доказательствах и экспериментальных исследованиях на животных, склонных к ти-

реоидиту. Содержание йода в ТГ зависит от его поступления с пищей. У экспериментальных животных повышенное содержание йода в диете увеличивает тяжесть тиреоидита. Роль йода в качестве одного из факторов развития АИЗ связана с его способностью менять конформационную структуру белка. Высокойодированный ТГ представляется более антигенным, чем ТГ с меньшим количеством йода. Анти-ТГ рассматривают как непатогенные, главным образом, потому, что введение сыворотки больных лабораторным животным не приводит к тиреоидиту. Титр анти-ТГ обычно не коррелирует со степенью тиреоидной дисфункции. Анти-ТГ представлены IgG и распределены среди всех его 4 субклассов. АТ класса IgG₂ доминируют при тиреоидите Хашимото, в то время как АТ класса IgG₄ представлены при болезни Грейвса, нетоксическом зобе и дифференцированной карциноме ЩЖ.

Анти-ТГ чаще всего используют для подтверждения клинического подозрения на тиреоидит Хашимото, их обычно определяют вместе с анти-ТПО. Анти-ТГ менее постоянны и ниже титром, чем анти-ТПО. Поскольку у всех пациентов с тиреоидитом Хашимото в присутствии анти-ТГ отмечаются и анти-ТПО, последние являются наилучшим тестом для диагностики тиреоидита. Чувствительность метода составляет 95-98%, поэтому негативные результаты имеют высокое отрицательное предсказательное значение и позволяют исключить диагноз тиреоидита. Анти-ТГ обладают низкой специфичностью. Они присутствуют в 40-50% случаев болезни Грейвса, 20% случаев нетоксического зоба и при раке ЩЖ, а также у здоровых индивидуумов, особенно у пожилых женщин, у которых встречаемость АТ достигает до 10%.

В оценке результатов исследования важное значение имеет так называемая пограничная линия, которая составляет 70 МЕ/мл и используется для того, чтобы дифференцировать пациентов с эутиреоидным состоянием и пациентов с тиреоидитом Хасимото и болезнью Грейвса. У пациентов тиреоидитом Хасимото и болезнью Грейвса уровень анти-ТГ > 70 МЕ/мл встречается у 85 и 62 % пациентов соответственно. Специфичность этой границы для этих заболеваний составляет 97%. У 55-85% пациентов аутоиммунным ти-

реоидитом уровень анти-ТГ повышается до 600 МЕ/мл и более. Отсутствие анти-ТГ у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом обусловлено либо наличием в крови комплексов ТГ-АТ, которые не реагируют с ТГ, либо образованием АТ к другому АГ.

Анти-ТГ обнаруживаются у пациентов с раком ЩЖ (45% случаев) при наличии регионарных метастазов, пернициозной анемией (50% случаев), СКВ (20% случаев).

Узкой областью клинического применения исследования на наличие анти-ТГ является постоперационный мониторинг пациентов с дифференцированным раком ЩЖ. После тиреоидэктомии и абляции радиоактивным йодом у пациентов рецидив заболевания сопровождается увеличением свободного ТГ в сыворотке. Поскольку ТГ – тканеспецифичный белок, экспрессируемый исключительно тиреоидными клетками, повышенная концентрация ТГ после операции указывает на рецидив рака или метастазы. В этом случае анти-ТГ приводят к заниженным концентрациям свободного ТГ.

В настоящее время могут быть определены АТ к трийод-тиронину (T_3) и тироксину (T_4) – гормонам ЩЖ, которые представляют собой субклассы АТ к ТГ и имеют такое же диагностическое значение, как исследование анти-ТГ. Значительно повышенный или сниженный уровень свободных T_3 и T_4 в крови у пациентов с эутиреозом без клинических симптомов обычно указывает на наличие АТ к T_3 и T_4 .

Антитела к тиреотропным рецепторам (анти-рТТГ) в сыворотке

Уровень анти-рТТГ (тиреоидстимулирующие АТ) в сыворотке в норме – до 11 ЕД/л

Рецептор ТТГ (рТТГ) экспрессируется преимущественно на поверхности тиреоидных фолликулярных клеток, но также на лимфоцитах, адипоцитах и фибробластах. ТТГ является регулятором активности ЩЖ. Сигнал от рТТГ запускает продукцию тиреоидных гормонов и рост тиреоидных фолликулярных клеток. Избыточная активация рТТГ при болезни Грейвса объясняет наличие тиреотоксикоза и зоба при этом заболевании. Молекула рТТГ со-

стоит из двух (А и Б) субъединиц гликопротеина. Эффект связывания АТ с рТТГ может быть разнонаправленным. Так, экстрацеллюлярная А-субъединица рецептора распознается тиреоидными стимулирующими АТ, в то время как АТ, распознающие субъединицу Б, локализованную вблизи клеточной поверхности, действуют как функционально блокирующие АТ.

Стимулирующие АТ составляют основу болезни Грейвса – диффузного токсического зоба. Блокирующие АТ связываются с рецептором, но не вызывают его конформационных изменений, требуемых для сигнальной трансдукции. Они препятствуют связыванию ТТГ с рецептором, в результате чего возникает снижение тиреоидной функции. Блокирующие АТ были обнаружены у пациентов с атрофическим тиреоидитом Хашимото и у пациентов с болезнью Грейвса, протекающей с офтальмопатией. Блокирующая активность АТ может отчасти объяснить колебания тиреоидной функции, наблюдаемой у пациентов с болезнью Грейвса, и отсутствие корреляции между титром анти-рТТГ и тиреоидной функцией. Блокирующие АТ могут проходить сквозь плаценту и вызвать транзиторный врожденный гипотиреоз. Наконец, установлены нейтральные АТ к рТТГ, которые связываются с рецептором, но блокируют связывание ТТГ или других рецепторных АТ. Нейтральные АТ определяют у пациентов с болезнью Грейвса. Их патогенетическое значение остается неустановленным.

Для определения анти-рТТГ применяют радиоиммунный, ИФА и иммунохимический методы. Однако, ни один из этих методов не позволяет уточнить присутствие в сыворотке крови стимулирующих или блокирующих АТ. Существующие функциональные тесты на культурах тироцитов животных для дифференцированного определения АТ в связи со сложностью стандартизации и трудоемкости используются только в научных лабораториях.

Анти-рТТГ высокоспецифичны, они крайне редко встречаются у здоровых людей. Клиническая чувствительность составляет около 80%, то есть негативный результат определения АТ не позволяет исключить заболевание. Низкая чувствительность методов связана с тем, что анти-рТТГ присутству-

ют в сыворотке в очень малой концентрации, на несколько порядков ниже, чем уровни анти-ТГ и анти-ТПО.

Тиреоидмикросомные АТ в сыворотке

У здоровых лиц в норме не определяются.

Определение АТ к микросомной фракции ЩЖ используется для диагностики аутоиммунного тиреоидита и гипотиреоза, при которых уровень АТ в крови повышается. АТ к микросомам ЩЖ образуют иммунные комплексы на поверхности клеток, активируют комплемент и цитотоксические лимфоциты, что приводит к разрушению клеток и формированию воспалительного процесса в ЩЖ. АТ при тиреоидите являются органоспецифическими. Уровень их коррелирует с тяжестью воспалительного процесса и может быть использован в качестве прогностического признака. Под воздействием эффективной терапии титр АТ снижается, но не восстанавливается до нормы из-за нарушения иммунорегуляции. При тиреоидите могут образовываться активирующие АТ, усиливающие функцию ЩЖ путем блокировки тиреотропных рецепторов. Их фиксация на ТТГ-рецепторах вызывает клеточную активацию, выходящую из-под контроля, что приводит к гипертиреозу.

Тиреоидмикросомные АТ появляются при следующих заболеваниях: тиреоидит Хасимото, гипотиреоз, базедова болезнь, рак ЩЖ, тиреотоксикоз, после хирургического лечения ЩЖ, после приема препаратов радиоактивного йода, пернициозная анемия, синдром Шмидта, диффузные болезни соединительной ткани.

Клинические показания к исследованию антитиреоидных АТ

За последние годы был уточнен АГ состав тиреоидной ткани, открыты новые типы антитиреоидных АТ и оценена их роль в патогенезе болезней ЩЖ. В связи с этим были пересмотрены показания к исследованию АТ для диагностики заболеваний ЩЖ. Для верификации аутоиммунных тиреопатий в настоящее время рекомендуют использовать только определение АТ к АГ микросомной фракции (анти-ТПО), а анти-ТГ – только для мониторинга па-

циентов, оперированных по поводу высокодифференцированного рака ЩЖ. Обладая способностью связываться с комплементом, анти-ТПО принимают прямое участие в повреждении ткани ЩЖ. Кроме того, в 64-90% случаев они обнаруживаются в крови в повышенных титрах без одновременного увеличения уровня анти-ТГ, которые, по-видимому, не принимают первичного участия в инициации повреждения ткани ЩЖ.

Повторное (в процессе лечения) исследование уровня антитиреоидных АТ у пациентов с установленным аутоиммунным тиреоидитом проводить нецелесообразно, так как они не имеют прогностического значения в развитии заболевания. Пациентам с вероятностным заболеванием ЩЖ, в патогенезе которого аутоиммунные процессы играют важную роль, при отсутствии АТ в крови при первичном обследовании показано повторное их определение в течение первого и второго года наблюдения.

Анти-ТГ

Абсолютные показания:

- мониторинг послеоперационного лечения рака ЩЖ обязательно в сочетании с исследованием ТГ (для исключения ложноотрицательного результата);
- при концентрации ТГ в сыворотке крови выше 2,5-3 мкг/л у пациентов, перенесших экстирпацию ЩЖ, необходимо исключать наличие метастазов и/или рецидива рака.

Анти-ТПО

Абсолютные показания:

- диагностика болезни Грейвса, аутоиммунного тиреоидита при первичном гипотиреозе, прогноз риска гипотиреоза при изолированном повышении ТТГ, прогноз послеродового тиреоидита у женщин из группы высокого риска.

Относительные показания:

- дифференциальная диагностика аутоиммунного (лимфоцитарного) и подострого тиреоидита при транзиторном тиреотоксикозе, диагностика ау-

тоиммунного тиреоидита при эутиреоидном диффузном или узловом зобе, прогноз гипотиреоза у лиц в группах высокого риска.

Анти-рТТГ (тиреоидсвязывающие ингибирующие антитела)

Абсолютные показания:

- дифференциальный диагноз послеродового тиреоидита и болезни Грейвса при послеродовом тиреотоксикозе,
- прогноз риска фетального/неонатального тиреотоксикоза у женщин с предшествовавшей радиоаблацией щитовидной железы по поводу болезни Грейвса или на фоне текущей терапии тиронамидами.

Относительные показания:

- диагностика эутиреоидной офтальмопатии Грейвса, расчет длительности терапии и риска рецидива у пациентов, получающих терапию по поводу болезни Грейвса (особенно у детей).

Аутоантитела-маркеры заболеваний поджелудочной железы

В настоящее время инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) рассматривается как АИЗ с деструкцией β -клеток островков поджелудочной железы, развивающееся под действием факторов окружающей среды при генетической предрасположенности. При ИЗСД в крови пациента можно выявить различные виды АТ: к цитоплазме и поверхности островковых клеток, карбоксипептидазе, проинсулину, белковым транспортерам глюкозы и др. К индукторам аутоиммунного процесса при ИЗСД относятся вирусы Коксаки В, эпидемического паротита, энцефаломиелита, краснухи и др. Для подтверждения аутоиммунного характера повреждения β -клеток поджелудочной железы в клинической практике наибольшее распространение получили методы определения АТ к АГ островковых клеток. Помимо АТ к цитоплазме и поверхности островковых клеток при ИЗСД обнаруживаются АНА к одно- и двуспиральной ДНК у 87 и 48% больных соответственно.

Аутоантитела к АГ островковых клеток в сыворотке

Антитела к АГ островковых клеток в норме не определяются

Обнаружение АТ к АГ островковых клеток имеет наибольшее прогностическое значение в развитии ИЗСД. Они появляются за период от года до 8 лет до клинической манифестации сахарного диабета. Их выявление позволяет клиницисту ставить диагноз предиабета, подбирать диету и проводить иммунокорригирующую терапию. Проведение такой терапии играет чрезвычайно важную роль, так как клинические симптомы инсулиновой недостаточности в виде гипергликемии и связанные с ней жалобы появляются при поражении 80-90% инсулинпродуцирующих β -клеток поджелудочной железы и возможности иммунокорригирующей терапии в этот период заболевания ограничены. Высокий уровень АТ к АГ островковых клеток в доклинический период и в начале клинического периода заболевания постепенно снижается в течение нескольких лет, вплоть до полного исчезновения. Применение в лечении ИЗСД иммунодепрессантов также приводит к снижению уровня АТ. В зависимости от иммунологических особенностей ИЗСД выделяют тип А1, при котором частота выявления АТ после развития клинической картины достигает 90%, а через год снижается до 20%, и тип В1, когда длительная персистенция АТ наблюдается за несколько месяцев или лет до появления клинических симптомов диабета и сохраняется длительное время.

Антитела к инсулину в сыворотке

Референтные величины уровня АТ к инсулину – менее 10 ЕД/мл

Антитела к инсулину – это один из видов АТ, которые относятся к IgG и направлены к эндогенному инсулину самого пациента. Для выявления аутоантител класса IgG к инсулину в сыворотке крови в лаборатории используется метод ИФА.

Уровень АТ к инсулину может быть повышен у 35–40% пациентов с впервые выявленным ИЗСД (т.е. у нелеченых инсулином) и почти у 100% детей в течение 5 лет со времени проявления ИЗСД. В основе появления АТ к

инсулину лежит гиперинсулинемия, имеющая место в начальной стадии заболевания, и реакция иммунной системы. Поэтому определение АТ к инсулину может быть использовано для диагностики начальных стадий сахарного диабета (СД), его дебюта, стертых и атипичных форм (чувствительность – 40-95%, специфичность – 99%). Спустя 15 лет от начала заболевания АТ к инсулину выявляются только у 20 % пациентов. Высокий титр у малолетних детей связывают с тем обстоятельством, что у них заболевание протекает более агрессивно, с быстрым развитием зависимости от экзогенного инсулина.

Титр АТ обратно пропорционален возрасту и уменьшается по мере разрушения β -клеток. В отличие от других АТ к островковым АГ, значение АТ к инсулину максимально в возрасте до 10 лет, после чего АТ обнаруживают крайне редко.

Длительная инсулинотерапия обычно вызывает увеличение количества циркулирующих АТ к вводимому препарату инсулина у больных ИЗСД. Антитела к инсулину в крови больных являются причиной инсулинорезистентности, которая зависит от количества и концентрации АТ. У большинства пациентов высокий уровень АТ к гормону оказывает существенное влияние на фармакокинетику вводимого инсулина. Уровень выявляемых в крови АТ к инсулину является важным диагностическим параметром, позволяющим лечащему врачу проводить коррекцию инсулинотерапии и целенаправленное иммуносупрессивное лечение. Вместе с тем не всегда имеется прямая зависимость между уровнем АТ и степенью резистентности к инсулину.

Антитела к инсулину могут обнаруживаться в крови больных, леченных не только инсулином, но и пероральными антидиабетическими препаратами группы сульфанилмочевины.

Совместное определение уровня АТ к АГ островковых клеток и инсулину может быть использовано для оценки степени риска возникновения ИЗСД на протяжении ближайших 5 лет у родственников первой степени. В случае наличия уровня АТ к АГ островковых клеток риск возрастает почти в

8 раз и составляет 37 %, при сочетании АТ к АГ островковых клеток и инсулину он достигает 50%.

Антитела к декарбоксилазе глутаминовой кислоты в сыворотке

Референтные величины уровня АТ к глутамат-декарбоксилазе – менее 1 ЕД/мл.

Антитела к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (GAD) – это АТ к основному АГ β -клеток островков поджелудочной железы, представляющего собой главную мишень для АТ, связанных с развитием ИЗСД. GAD – мембранный фермент β -клеток поджелудочной железы, участвующий в синтезе γ -оксибутировой кислоты, которая контролирует высвобождение инсулина из секреторных гранул β -клеток поджелудочной железы. GAD не является специфичной для β -клеток поджелудочной железы, поскольку присутствует в нервной системе и семенных железах. Фермент присутствует в организме в двух изоформах: растворимая форма – GAD 67 (67 кДа) – распространена главным образом в нейронах, а нерастворимая – GAD 65 (65 кДа) – присутствует в β -клетках поджелудочной железы.

GAD 65 – основная мишень АТ у пациентов с СД I, латентным аутоиммунным диабетом у взрослых, диабетом беременных. Помимо того, что GAD 65 вызывает развитие гуморального иммунного ответа, GAD 65 является мишенью для Т-клеточных ответов, обнаруживаемых как у заболевших людей, так и на экспериментальных моделях диабета. Деструкция β -клеток при СД обусловлена активностью цитотоксических Т-клеток, чьи АГ-специфичные рецепторы распознают β -клеточные пептиды, происходящие из GAD 65.

АТ к GAD – это очень информативный маркер для диагностики предиабета, а также выявления лиц с высоким риском развития ИЗСД (чувствительность – 70%, специфичность – 99%). Повышенный уровень АТ к GAD может быть выявлен у пациентов за 7-14 лет до клинического проявления болезни. В начале заболевания (при ювенильном начале) СД I 70-90% пациен-

тов положительны по АТ к GAD 65. Со временем уровень АТ к GAD 65 у пациентов ИЗСД снижается и спустя годы АТ обнаруживаются только у 20 % пациентов. Антитела к GAD 65 выявляют у 60-80% пациентов с ИЗСД, их обнаружение у пациентов с СД типа 2 свидетельствует о вовлечении аутоиммунных механизмов в патогенез заболевания, о риске прогрессирования заболевания в инсулинрезистентный СД и служит показанием для проведения иммунокорригирующей терапии.

Нормально протекающая беременность сопровождается многочисленными гормональными сдвигами, предрасполагающими к гипергликемии и, соответственно, к развитию СД. От 1 до 14 % беременных женщин страдают преходящим (транзиторным) СД. Диагноз СД, установленный во время беременности, называют гестационным диабетом. У большинства женщин с гестационным СД в конце беременности, когда гормональный уровень возвращается к исходному, проявления болезни исчезают. Тем не менее примерно у 30-50 % женщин с гестационным СД в анамнезе в дальнейшем развивается сахарный диабет типа 2. Определение АТ к GAD показано женщинам с гестационным СД.

Аутоантитела – маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта

Аутоиммунный гастрит является вариантом хронического гастрита типа А. Он встречается значительно реже, чем хеликобактерный гастрит, и обычно сочетается с В₁₂ и фолиевоедефицитной анемией, реже – с болезнью Аддисона, гипопаратиреозом и аутоиммунным тиреоидитом Хашимото. Непосредственной причиной довольно быстрого развития атрофии является выработка АТ к обкладочным клеткам и внутреннему фактору. АТ связываются с обкладочными клетками слизистой оболочки желудка, повреждают функциональные железы и приводят к прогрессирующей атрофии. Клинически аутоиммунный гастрит характеризуется ахилией, морфологически – резко выраженной атрофией фундальных желез с кишечной метаплазией. Следст-

вием этого является дефицит внутреннего фактора, вырабатываемого париетальными клетками. Это ведет к нарушению всасывания витамина В₁₂ и к развитию пернициозной анемии. Возникновение ахлоргидрии обусловлено наличием АТ против Н⁺,К⁺-АТФазы, обеспечивающей функцию протонной помпы при секреции соляной кислоты.

Глютеновая энтеропатия (нетропическая спру, целиакия взрослых, глютеновая болезнь, идиопатическая стеаторея) – заболевание, в основе которого лежит дефицит специфических ферментов группы пептидаз в кишечной стенке, вследствие чего нарушается расщепление пептида злаков – глютена. В настоящее время признаются два аспекта патогенеза глютеновой энтеропатии: генетический и иммунный. Генетически наследуемый дефицит пептидаз вызывает неполный гидролиз глютена. Фактором повреждения слизистой оболочки тонкой кишки считают патологическую иммунную реакцию кишки на глютен, точнее, на одну из его составных частей – глиадин. Пшеничная мука содержит от 7 до 15 % белка, 90 % которого составляет глютен. В состав глютена входят 4 компонента: альбумин, глобулин, проламин и глиадин. Глиадин можно разделить на 40 различных фракций, которые по электрофоретической подвижности объединены в 4 главных семейства: α-, β-, γ- и ω-глиадины. Наиболее токсичен α-глиадин, имеющий высокое сродство к пептидазе слизистой оболочки кишки, называемой тканевой трансглутаминазой, и ретикулину собственной пластинки слизистой оболочки, определяет участки молекул АГ, соединяющиеся с АТ в этой пептидазе, которая запускает продукцию ретикулин/эндомизальных АТ у восприимчивых пациентов. Глютеновая энтеропатия может возникнуть в любом возрасте. У взрослых она обычно проявляется хронической или рецидивирующей железодефицитной анемией, у детей – задержкой роста и развития. Для диагностики глютеновой энтеропатии и оценки эффективности лечения заболевания исследуют уровень АТ к α-глиадину, тканевой трансглутаминазе, поверхностным компонентам гладкомышечных волокон (антиэндомизальные антитела) и ретикулину.

Аутоиммунные механизмы играют важную роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника, которые имеют две основные формы: язвенный колит и болезнь Крона. Этиология заболеваний до сих пор достоверно не установлена. Для проведения успешной терапии и определения прогноза важное практическое значение имеет дифференциальная диагностика болезни Крона и язвенного колита.

Для дифференциальной диагностики болезни Крона язвенного колита разработаны тест-системы на основе ИФА для определения АТ к *Saccharomyces cerevisiae*, которые обладают высокой специфичностью в отношении болезни Крона. В диагностике заболеваний тонкой и толстой кишки немаловажное значение имеет отличие острых воспалительных заболеваний, к которым относятся болезнь Крона и язвенный колит, от острых невоспалительных заболеваний, объединенных понятием синдром раздраженного кишечника. Основным лабораторным критерием в дифференциальной диагностике этих заболеваний служит уровень лактоферрина в кале.

Антитела к париетальным клеткам в сыворотке

АТ к париетальным клеткам в норме не определяются.

Париетальные (обкладочные) клетки желудка вырабатывают соляную кислоту и внутренний фактор Кастла, необходимый для всасывания витамина В₁₂ в кишечнике. Они преимущественно локализуются в железах слизистой оболочки дна желудка.

АТ к париетальным клеткам (анти-ПК) представляют собой АТ к микросомам и клеточной поверхности париетальных клеток. АТ являются комплемент-фиксирующими и непосредственно участвуют в разрушении популяции обкладочных клеток и развитии атрофического гастрита. Уничтожение популяции обкладочных клеток ведет к гипоацидному гастриту, мальабсорбции, железодефицитной и пернициозной анемиям. Не отмечается взаимосвязи между обнаружением анти-ПК желудка и антральным гастритом. Титры анти-ПК не коррелируют с тяжестью атрофии слизистой оболочки желудка, поэтому их мониторинг нецелесообразен.

Анти-ПК присутствуют примерно у 90% пациентов с пернициозной анемией, у 50 % пациентов с аутоиммунным гастритом без пернициозной анемии и у 33% пациентов с тиреоидитом Хашимото. Титр анти-ПК коррелирует со степенью выраженности атрофии слизистой оболочки желудка. С меньшей частотой анти-ПК выявляются у пациентов с болезнью Аддисона, миастенией, ИЗСД, язвенной болезнью желудка, железодефицитной анемией, синдромом Шегрена, а также у 2% здоровых лиц.

Определение анти-ПК является более чувствительным, но менее специфичным тестом в отношении пернициозной анемии, чем исследование АТ, блокирующих внутренний фактор.

Антитела к внутреннему фактору в сыворотке

В качестве cut-off используют содержание АТ к внутреннему фактору в сыворотке более 6 ЕД/л.

Внутренний фактор представляет собой белок, вырабатываемый париетальными клетками желудка. Его основная роль состоит в обеспечении всасывания цианокобаламина (витамин В₁₂). Дефицит витамина В₁₂ благодаря имеющимся в печени запасам проявляется обычно через 1-3 года после нарушения его поступления. Возникновение дефицита приводит к развитию макроцитарной анемии и дегенерации нервных волокон. Витамин В₁₂ входит в состав пищи только животного происхождения и полностью отсутствует в растительной пище. В желудке, высвободившись из пищи под действием соляной кислоты, витамин В₁₂ соединяется с R-белком слюны. После расщепления в двенадцатиперстной кишке R-белка панкреатическим протеазами витамин В₁₂ связывается с внутренним фактором. Щелочная среда в двенадцатиперстной кишке усиливает связь внутреннего фактора с витамином В₁₂, в результате чего витамин В₁₂ становится устойчивым к действию протеолитических ферментов. В дальнейшем молекула внутреннего фактора и витамина В₁₂ абсорбируется в подвздошной кишке.

Антитела к внутреннему фактору (анти-ВФ) блокируют соединение витамина В₁₂ с внутренним фактором и тем самым препятствуют его всасы-

нию. От 50 до 75 % пациентов с пернициозной анемией имеют повышенный уровень анти-ВФ в сыворотке крови. Положительный результат на анти-ВФ, особенно если он сочетается с низким уровнем витамина В₁₂, с высокой вероятностью подтверждает диагноз пернициозной анемии. Однако отсутствие антител не может служить основанием для исключения заболевания. Анти-ВФ могут выявляться у 3-6% пациентов с гипертиреозом и ИЗСД. Ложноположительные результаты теста на анти-ВФ могут быть обусловлены высоким содержанием в крови пациента витамина В₁₂.

Антитела к глиадину в сыворотке

В качестве cut-off используют содержание АТ к глиадину в сыворотке для класса IgA более 15 МЕ/мл, IgG – более 35 М Е/мл.

У пациентов с нелеченной глютеновой энтеропатией значительно повышается уровень АТ классов IgA и IgG к α-глиадину в сыворотке крови. В период обострения заболевания уровень АТ IgA и IgG повышается в 8-10 раз и более (IgA – у 70–90% пациентов, IgG – 50–70%). Чувствительность определения антител IgA для диагностики энтеропатии составляет 87-100%, специфичность – 62–94,5%. Определение антител IgG более чувствительный, но менее специфичный, чем IgA, тест для диагностики энтеропатии.

Выявление АТ к глиадину в крови является дополнительным показанием к биопсии слизистой оболочки тонкой кишки с последующим морфологическим исследованием биоптатов. Эффективное лечение сопровождается снижением уровня АТ IgA до нормальных показателей у большинства пациентов в течение 3–4 нед., уменьшение уровня АТ IgG в эти сроки менее выражено и остается повышенным у 50 % пациентов. Поэтому исследование уровня АТ классов IgA и IgG к α-глиадину в сыворотке крови имеет значение для диагностики, оценки результатов лечения и объективного контроля за соблюдением аглютеновой диеты. Этот показатель расценивается большинством исследователей как высокоинформативный скрининговый тест, определяющий показания к проведению энтеросорбции как у детей, так и у взрослых.

Повышенный уровень АТ к глиадину в сыворотке крови может быть выявлен у 25% пациентов с герпетиформным дерматитом и аутоиммунными заболеваниями.

Аналогичную информацию в отношении диагностики глютенной энтеропатии дают результаты определения **антиэндомизальных АТ** (АТ к соединительной ткани, расположенной между гладкомышечными волокнами), диагностическая чувствительность которых составляет для IgA 80–100%, специфичность – 100%, и **АТ к ретикулину** (ретикулин – белок ретикулярных волокон, по составу близкий к коллагену) в сыворотке крови. Вместе с тем следует отметить, что антиэндомизальных АТ выявляются у 70–80 % больных с глютенной болезнью и герпетиформным дерматитом, а АТ к ретикулину – у 60 % детей с глютенной болезнью и у 20-30 % пациентов с герпетиформным дерматитом. Небольшой титр антиэндомизальных АТ может длительное время определяться у 10-20% пациентов с целиакией, соблюдающих безглютеновую диету, несмотря на наличие у них нормальной гистологической картины.

Антитела к тканевой трансглутаминазе в сыворотке

В качестве cut-off используют содержание АТ к тканевой трансглутаминазе в сыворотке для класса IgA более 10 МЕ/мл, IgG – более 10 МЕ/мл.

Тканевая трансглутаминаза принадлежит к семейству кальций-зависимых ацилтрансфераз, катализирующих образование перекрестных связей между белками. В настоящее время установлено, что тканевая трансглутаминаза является основным, если не единственным, эндомизальным АГ у пациентов с целиакией. Поэтому определение АТ к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови является высокоспецифичным для глютенной болезни. Для выявления АТ используют методы НИФ и ИФА. Антитела к тканевой трансглутаминазе удается обнаружить более чем у 95 % пациентов с целиакией, и уровень АТ в сыворотке крови коррелирует с наличием или отсутствием глютена в пище. Антитела класса IgA обладают 95-100%-й чувствительностью и 90-97%-й специфичностью в отношении целиакии.

Алгоритм диагностики целиакии представлен на рисунке 1.

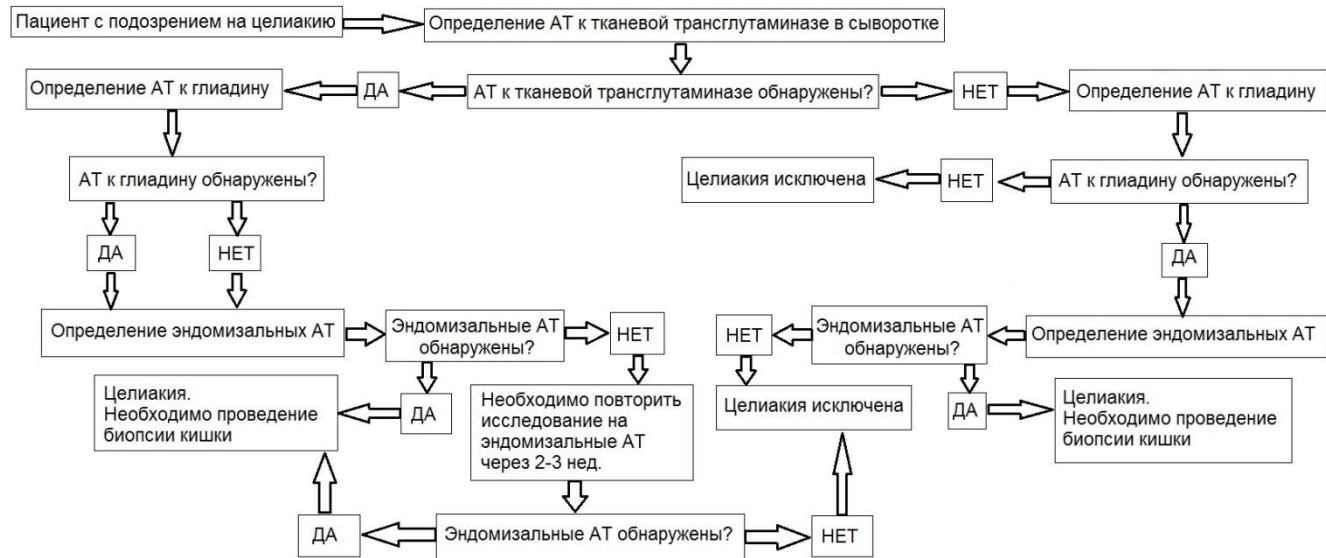


Рисунок 1 – Алгоритм диагностики целиакии

Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке (ASCA)

В качестве *cut-off* используют содержание антител к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке для класса IgA более 10 ME/мл, IgG – более 10 ME/мл.

Saccharomyces cerevisiae – одноклеточные грибы, широко известные как пекарские дрожжи. Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* классов IgG и IgA направлены против олигоманнанового эпитопа маннана (фосфопептидоманнан) клеточной мембраны дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Фосфопептидоманнан — растворимый в воде комплекс остатков маннозы, связанных с белком. Последние исследования показали, что АТ классов IgG и IgA к *Saccharomyces cerevisiae* тесно связаны с болезнью Крона и обладают специфичностью 95-100%. Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* в крови при болезни Крона возникают в результате молекулярной мимикрии и прайминга с антигенами бактерий или вирусов, содержащих маннозу, или АГ, а возможно, образуются в ответ на колонизацию грибами слизистой оболочки тонкой кишки. Диагностическая чувствительность определения АТ класса IgG для диагностики болезни Крона составляет 75 %, для класса IgA – 60%. 93%. При

болезни Крона у пациентов с ASCA заболевание протекает тяжелее, что связано с частыми эпизодами кишечной непроходимости.

Аутоантитела – маркеры РЗ

РЗ – группа заболеваний, характеризующаяся системным поражением соединительной ткани и сосудов, обусловленным в основном иммунными нарушениями. РЗ включают более 150 нозологических форм, основными из которых являются: РА, СКВ, системная склеродермия, синдром Шегрена, системные васкулиты, дерматомиозит, полимиозит, а также ювенильные артриты, спондилоартриты, псориатический артрит и др.

Центральное место в лабораторной диагностике РЗ занимают серологические тесты, связанные с обнаружением циркулирующих АТ. Определение АТ особенно важно для ранней диагностики РЗ и характеристики клинико-лабораторных вариантов их течения. Положительные результаты определения АТ входят в число диагностических критериев ряда системных РЗ и могут иметь прогностическое значение в рамках отдельных субтипов этих заболеваний. При РЗ тестирование АТ, в первую очередь, проводится с целью подтверждения диагноза у пациентов с недостаточным числом клинических проявлений. Обнаружение АТ при отсутствии клинических признаков не является достаточным для постановки диагноза АИЗ.

АТ, специфичные только для одного РЗ, встречаются очень редко. РЗ характеризуются одномоментным присутствием нескольких типов АТ в одной сыворотке, так называемым профилем АТ, оценка которого существенно увеличивает диагностическую ценность определения данных биомаркеров.

В настоящее время разработаны стандартные профили АТ для диагностики различных системных РЗ. Основными диагностическими лабораторными маркерами РЗ являются АНФ (АНА), РФ, АТ к цитруллинированным белкам (анти-ССР), антифосфолипидные антитела.

Антинуклеарный фактор в сыворотке (АТ к нуклеарным АГ)

У здоровых лиц титр АТ к нуклеарным АГ в сыворотке – 1:40–1:80, клинически значимый титр обычно 1:160 и более при использовании метода непрямой иммунофлюоресценции; при использовании скрининговых методов – менее 1:50.

Общее содержание АНА в сыворотке крови больных обозначается как АНФ. АНФ – АТ к цельному ядру. Это гетерогенная группа АТ, реагирующих с различными компонентами ядра. Определение АТ к нуклеарным АГ в сыворотке – тест на системные заболевания соединительной ткани.

Основным механизмом индукции АНА, является патологический апоптоз кератиноцитов, лимфоцитов и других клеток, который возникает при диффузных заболеваниях соединительной ткани. Апоптотические тельца, содержащие в своем составе АГ АНА, напоминают по структуре вирусные частицы и способны индуцировать специфические иммунные ответы. АТ могут иметь патогенетическое значение, что показано по отношению к АТ к dsДНК при СКВ с поражением почек, но большинство разновидностей АНА является вторичным феноменом по отношению к деструкции ткани при АИЗ.

К настоящему времени описано более 100 разновидностей АНА, направленных против нуклеиновых кислот, гистонов, белков ядерной мембраны, компонентов сплайсосомы, рибонуклеопротеинов, белков ядрышек и центромер. Номенклатура конкретных разновидностей АНА зависит как от ядерных мишеней АТ, так и от методов, с помощью которых их определяют. Отдельно выделяют АНА, реагирующие с нуклеиновыми кислотами, прежде всего ДНК; АТ к водорастворимым АГ, которые могут быть экстрагированы водно-солевыми растворами, – АТ к экстрагируемому ядерному АГ (ЕНА) и др. Большинство видов АНА направлено к сложным комплексам РНК и белков. Обычно тип АНА получал название, в основе которого лежит имя пациента, у которого данная разновидность АНА была впервые обнаружена. В основе более современной номенклатуры лежат клеточные мишени АТ, с которыми они взаимодействуют. Так, АТ к АГ SS-A (Ro) (Ro – по фамилии па-

циента, Robair, SS-A – Sjogren's Syndrome A antigen) направлены против белков массой 52 и 60 кДа, связанных с Y₁-Y₅ РНК в составе сплайсосомы, а АТ к АГ SS-B (La) (La – по фамилии пациента, Lapiere, Sjogren's Syndrome B antigen) направлены против белка, связанного с РНК-полимеразой 3. Номенклатура АТ, основанная на фамилиях пациентов, постепенно уходит в прошлое, в современной литературе доминирует название АГ с указанием молекулярной массы, например SS-A АГ молекулярной массы 52 и 60 кДа. Может сложиться ситуация, что в одной сыворотке одновременно обнаруживают АТ разных специфичностей, направленные к нескольким АНА. Некоторые АТ часто определяются совместно, например АТ к SS-A и SS-B либо U₁-RNP и Sm-антигенам. Эти ассоциации обусловлены тем, что АГ входят в состав одного белкового комплекса, с которым реагируют АТ. Некоторые разновидности АНА могут часто встречаться совместно за счет того, что они имеются при одном заболевании или при перекрестных синдромах.

Разнообразие типов АНА и уточнение клинко-лабораторных корреляций позволило использовать АНА как показатель, позволяющий клиницисту уточнить прогноз, течение и, зачастую, предупредить обострение заболевания. Для обнаружения АНА применяют ряд показателей, которые могут измеряться при помощи разных методов (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели и методы определения АНА

Показатель	Определение	Цель определения
LE-клетки	Опсонизирующие АНА к ядрам клеток	Скрининг АНА
АНФ	АНА против нерастворимых и конформационных антигенов ядра	Скрининг АНА
Антитела к экстрагируемому ядерному антигену	АНА против растворимых АГ, выделенных из клетки	Скрининг АНА
Антитела к dsДНК	АНА против нуклеиновых кислот	Определение конкретных разновидностей АНА
Антитела к рибонуклеопротеинам	Ядерные мишени АНА: Sm, RNP, SS-A (Ro), /SS-B (La), Jo-1, Scl-70	Определение конкретных разновидностей АНА

Присутствие в сыворотке крови АНФ обуславливает обнаружение в крови клеток красной волчанки (LE-клеток). LE-клетки можно рассматривать в качестве вторичного показателя, указывающего на наличие АНА.

LE-клетки в крови

Клетки красной волчанки (LE-клетки) в крови в норме отсутствуют

LE-клетки представляют собой нейтрофильные лейкоциты (реже моноциты) крови, фагоцитировавшие ядра лимфоцитов, содержащих деполимеризованную ДНК. Фагоцитируемая субстанция представляет собой иммунный комплекс, состоящий из волчаночного фактора (АНФ – АТ класса IgG к ДНК-гистоновому комплексу), остатков ядра лейкоцитов и комплемента. Обнаружение LE-клеток – специфический симптом СКВ. Исследование необходимо проводить до начала кортикостероидной терапии. Отрицательный результат исследования не исключает возможность данного заболевания. LE-клетки обнаруживаются в ранний период болезни, а также при выраженном нефротическом синдроме и потере с мочой большого количества белка. Волчаночный фактор может содержаться в пунктате костного мозга, белковых жидкостях (экссудаты, мочевой белок при поражениях почек).

Частота обнаружения LE-клеток у больных острой СКВ колеблется от 40 до 95 %. У больных СКВ можно выявить, во-первых, LE-клетки, во-вторых, свободное ядерное вещество (гематоксилиновые тельца, тельца Харгрейвса), и в-третьих, «розетки» – скопление нейтрофилов вокруг волчаночных клеток. Чаше LE-клетки находят при обострении заболевания. Появление их в большом количестве – прогностически неблагоприятный признак. При улучшении состояния больного в процессе его лечения количество LE-клеток уменьшается, а иногда они и совсем исчезают.

От истинных LE-клеток нужно отличать так называемые tart-клетки и ложные волчаночные В-клетки. Они отличаются от LE-клеток по морфологическим признакам и диагностического значения для СКВ не имеют.

LE-феномен наблюдается, хотя и редко (до 10% случаев), при плазмцитоме, тяжелых поражениях печени, острых лейкозах, остром ревматизме,

эритродермиях, милиарном туберкулезе, пернициозной анемии, при непереносимости антибиотиков – пенициллина, при узелковом полиартериите, гемолитической анемии, тромбоцитопенической пурпуре. При этих заболеваниях единичные LE-клетки обнаруживаются непостоянно.

Низкая чувствительность и плохая воспроизводимость тестов, используемых для обнаружения LE-клеток, не позволяет им конкурировать с АНФ, постепенно эти тесты полностью вытесняются серологическими методами обнаружения АНА.

АНА встречаются более чем у 90% больных с диффузными болезнями соединительной ткани, такими как СКВ, системная склеродермия, синдром Шегрена (таблица 5). Представители этого семейства АТ могут быть обнаружены при инфекционных, воспалительных и онкологических заболеваниях. В то же время встречаемость АНФ достигает 1-5% у клинически здоровых лиц и несколько возрастает в пожилом возрасте.

Таблица 5 – Частота обнаружения АНФ при РЗ и у здоровых лиц

Заболевания	Встречаемость АНФ, %
Системная красная волчанка	95–100
Системная склеродермия	95
Синдром Шегрена	95
Дерматомиозит, полимиозит	30 – 50
Смешанное заболевание соединительной ткани	100
Дискоидная красная волчанка	50–60
Локализованная склеродермия	50
Ревматоидный артрит	30–40
Юношеский ревматоидный артрит (олиго- и полиартритная форма)	50–90
Аутоиммунный гепатит	95–100
Первичный билиарный цирроз	95–100
Узелковый полиартериит	10–20
Злокачественные заболевания	10–20
Хроническое невынашивание беременности	10–15
Пожилые (>65 лет)	10
Здоровые женщины	5–10

Основная цель исследования АНА – исключить СКВ, поскольку при этом заболевании АНА появляются в сыворотке 95 % пациентов в течение 3 месяцев после его начала.

Определение АНА имеет также большое значение для диагностики диффузных болезней соединительной ткани. При узелковом полиартериите титр (при использовании скрининговых методов) может увеличиваться до 1:100, при дерматомиозите – 1:500, при СКВ – 1:1000 и выше. При СКВ тест на выявление АНФ обладает высокой степенью чувствительности (89%), но умеренной специфичностью (78%) по сравнению с тестом на определение антител к нативной ДНК (чувствительность – 38%, специфичность – 98%). Корреляции между высотой титра и клиническим состоянием больного нет, однако выявление АНА служит диагностическим критерием и имеет важное патогенетическое значение. АНА высокоспецифичны для СКВ. Сохранение высокого уровня АНА в течение длительного времени является неблагоприятным признаком. Снижение уровня предвещает ремиссию или (иногда) летальный исход.

При склеродермии частота выявления АНА составляет 60–80%, однако титр их ниже, чем при СКВ. Между уровнем АНФ в крови и степенью тяжести заболевания не существует взаимосвязи. При РА часто выделяют СКВ-подобные формы течения, поэтому выявляются АНА.

Кроме РЗ, АНА в крови обнаруживают при хроническом активном гепатите. Титр иногда достигает 1:1000. АНА могут выявляться в крови при инфекционном мононуклеозе, острых и хронических лейкозах, приобретенной гемолитической анемии, болезни Вальденстрема, циррозе печени, билиарном циррозе печени, гепатитах, малярии, хронической болезни почек, тромбоцитопениях, лимфопролиферативных заболеваниях, миастении и тимоме.

Почти в 10% случаев АНФ обнаруживается у здоровых лиц, однако титр у них не превышает 1:50.

Обнаружение АНФ – основа для использования других лабораторных тестов, уточняющих спектр АНА в крови пациентов. У пациентов с положительными результатами определения АНФ рекомендуется проведение под-

тверждающих тестов на специфические АНА к отдельным ядерным АГ (dsДНК, RNP/Sm, SS-A (Ro), SS-B (La), Scl-70 и т.д.).

Существуют международные рекомендации по определению АНА, разработанные в 2013 г. (EASI и IUIS/WHO/AF/CDC), согласно которым:

- для диагностики системных аутоиммунных РЗ необходим набор специфических лабораторных тестов (например, АНА, анти-ДНК и АТ к экстрагируемому ядерным АГ (ENA).
- определение АТ, таких как АНА, анти-ДНК и ENA должно быть включено в процедуру диагностического обследования пациентов с системным аутоиммунным РЗ, а также некоторыми другими АИЗ;
- тестирование на наличие АНА является тестом первого уровня для лабораторной диагностики системных аутоиммунных РЗ;
- тест на наличие АНА предназначен, в первую очередь, для диагностических целей, а не для мониторинга прогрессирования заболевания.

Рекомендуемая частота определения АНФ составляет 1 раз в 6 месяцев – 1 год.

Антитела к ДНК в сыворотке (анти-ДНК)

Анти-ДНК подразделяются на два основных типа: АТ, реагирующие с двуспиральной (нативной) ДНК и АТ, реагирующие с односпиральной (денатурированной) ДНК.

Определение анти-ДНК рекомендовано для диагностики СКВ у пациентов с положительными результатами определения АНФ. Наличие анти-ДНК является обязательным диагностическим критерием СКВ. Определение анти-ДНК при СКВ полезно для оценки активности патологического процесса (диагностическая чувствительность и специфичность составляет 66%) и поражения почек (диагностическая чувствительность – 86%).

Антитела к двуспиральной ДНК в сыворотке (анти-dsДНК)

Уровень анти-dsДНК в сыворотке в норме – менее 30 МЕ/мл, 30-40 МЕ/мл – пограничные значения.

Причиной образования АТ к dsДНК служит сенсibilизация к компонентам ядерного материала, высвобождающегося из ядер клеток в ходе апоптоза. Обнаружение антител к dsДНК способно «предсказать» развитие СКВ еще до проявления развернутой картины заболевания.

Антитела к двуспиральной (нативной) ДНК высокоспецифичны для СКВ, их определение рекомендовано для диагностики СКВ у пациентов с положительными результатами определения АНФ (диагностическая специфичность составляет 97,4%). Существует хорошая корреляция между активностью СКВ и уровнем анти-dsДНК в сыворотке крови. Однократное повышенное определение анти-dsДНК позволяет сделать диагностический, но не прогностический вывод. Уровень анти-dsДНК коррелирует с активностью СКВ и наличием гломерулонефрита. При исследовании уровня анти-dsДНК в динамике отсутствие его снижения или его нарастание являются неблагоприятным прогностическим признаком. Снижение уровня предвещает ремиссию или (иногда) летальный исход. Антитела могут исчезать при ремиссии заболевания. При других РЗ анализ анти-dsДНК не полезен, так как они выявляются очень редко и в низких титрах. Частота выявления повышенного уровня анти-dsДНК в сыворотке при различных формах СКВ представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Частота выявления анти-dsДНК в сыворотке при СКВ и других РЗ

Заболевание	Частота, %
СКВ	5-55
СКВ с активным заболеванием почек	89
СКВ с активными непочечными проявлениями	56
Неактивная СКВ	32
Ревматоидный артрит	0
Системная склеродермия	0

Одновременное определение АНА с их высокой чувствительностью и анти-dsДНК в сыворотке с их высокой специфичностью является наилучшей комбинацией тестов для диагностики СКВ.

Рекомендуемая частота определения анти-dsДНК составляет 1 раз в 3 месяца.

Антитела к односпиральной ДНК в сыворотке (анти-ssДНК)

Уровень анти-ssДНК в сыворотке в норме – менее 300 МЕ/мл, 300-350 МЕ/мл – пограничные значения.

Анти-ssДНК обнаруживаются как при ревматических, так и при других соматических и инфекционных заболеваниях, а также у клинически здоровых лиц. Высока встречаемость анти-ssДНК у онкологических пациентов, получающих цитотоксическую терапию. Однако наибольшая частота выявления повышенного уровня этих АТ наблюдается при СКВ и склеродермии, особенно при ее активных и злокачественных формах. Анти-ssДНК встречаются при СКВ даже чаще, чем анти-dsДНК, и могут быть обнаружены приблизительно у 70% больных с СКВ.

Неспецифичность обнаружения анти-ssДНК в значительной степени ограничивает их применение в клинической практике.

АТ к ENA в сыворотке

Уровень антител к экстрагированным ядерным антигенам (ENA-тест) в сыворотке в норме:

- к АГ RNP/Sm < 20 МЕ/мл, 20-25 МЕ/мл – пограничные значения;
- к АГ Sm < 20 МЕ/мл, 20-25 МЕ/мл – пограничные значения;
- к АГ SS-A (Ro) < 20 МЕ/мл, 20-25 МЕ/мл — пограничные значения;
- к АГ SS-B (La) < 20 МЕ/мл, 20-25 МЕ/мл – пограничные значения;
- к АГ Scl-70 — отсутствуют.

В качестве первичного скринингового теста для выявления ENA рекомендуется определение АНФ (АНА).

ENA-тест предназначен для количественного определения IgG-антител против экстрагируемых ядерных антигенов — RNP/Sm, Sm, SS-A(Ro) и SS-B(La) в сыворотке крови.

АТ к экстрагированным ядерным антигенам представляют собой комплексы растворимых рибонуклеопротеидов. АТ против различных ядерных

АГ являются весьма важным диагностическим признаком для мониторинга и диагностики различных РЗ (таблица 7).

АТ к АГ RNP/Sm (АТ к белковым компонентам U_1 малого ядерного рибонуклеопротеида – U_1 -RNP) обнаруживаются при смешанном заболевании соединительной ткани (диагностическая чувствительность и специфичность составляют 95 – 100% и 98%, соответственно), реже – при СКВ и других аутоиммунных РЗ (диагностическая чувствительность – 30%, специфичность низкая). Уровень АТ не коррелирует с активностью и развитием обострения. В сыворотках 60% пациентов с положительными результатами определения АТ к U_1 -RNP выявляются АТ к Sm. Рекомендуемая частота определения АТ к U_1 -RNP составляет 1 раз в 3 месяца.

Таблица 7 – Частота выявления АТ к ENA

Тип анти-тел	Заболевание	Частота, %
Sm	СКВ	10-40
RNP	СКВ	20-30
	Смешанные заболевания соединительной ткани	95-100
SS-A (Ro)	СКВ	15-33
	Системная склеродермия	60
	Неонатальная красная волчанка	100
	Синдром Шегрена	40-70
SS-B (La)	СКВ	10-15
	Системная склеродермия	25
	Синдром Шегрена	15-60
Scl-70	Системная склеродермия	20-40

Sm-АГ состоит из пяти малых ядерных РНК (U_1 , U_2 , U_4 , U_5 , U_6), ассоциированных с 11 или большим числом полипептидов (A', B'/B', C, D, E, F, G). АТ к Sm-АГ специфичны для СКВ и присутствуют у 30-40% пациентов с данным заболеванием. Эти АТ весьма редко встречаются при других заболеваниях соединительной ткани, а если и выявляются, то указывают на сочетание заболеваний. Однако уровень АТ к Sm-АГ не коррелирует с активностью и клиническими субтипами СКВ. Согласно клиническому руководству, АТ к Sm-АГ – один из критериев диагностики СКВ (диагностическая

специфичность составляет 99%, но чувствительность – от 8 до 20%). Рекомендуется однократное определение АТ к Sm-АГ.

АТ SS-A и SS-B

Сывороточный фактор у пациентов с синдромом Шегрена, связывающийся с экстрактами слюнных и слезных желез, был идентифицирован под названиями Ro и La, в соответствии с именами пациентов, у которых АТ были впервые выделены. Согласно современной номенклатуре, эти разновидности АТ получили названия SS-A и SS-B (Sjogren's syndrome A and B antigens).

SS-A (Ro)-АТ – направлены против ядерных рибонуклеопротеинов 60 и 52 кДа, с которым связаны hY1, hY3 и hY5 цитоплазматические РНК, транскрибируемые РНК-полимеразой III. АГ SS-A присутствует в большинстве клеток человеческого организма, однако в наибольших количествах в лимфоидных тканях, таких как тимус и селезенка. АТ к АГ SS-A(Ro) наиболее часто обнаруживаются при синдроме/болезни Шегрена и при СКВ. Положительные результаты обнаружения АТ к SS-A(Ro) являются диагностическими критериями первичного и вторичного синдрома Шегрена. При СКВ продукция данных АТ ассоциируется с определенным набором клинических проявлений и лабораторных нарушений: фотосенсибилизация, синдром Шегрена, гиперпродукция РФ. Наличие АТ к SS-A(Ro) в крови беременных увеличивает риск развития неонатального волчаночноподобного синдрома у новорожденных. В основе этого заболевания лежит проникновение в кровь новорожденного через плаценту антител к Ro/SS-A. АТ к АГ SS-A (Ro) могут быть повышены у 10% больных ревматоидным артритом.

Рекомендованная частота определения АТ к SS-A(Ro) составляет 1 раз в 3 месяца.

SS-B (La)-АГ – нуклеоцитоплазматический фосфопротеиновый комплекс с Ro малых ядерных РНК (Ro hY1-hY5), являющийся транскриптором РНК-полимеразы III. АТ к АГ SS-B (La) обнаруживаются при болезни и синдроме Шегрена (40-94% случаев). При синдроме Шегрена обнаружение АТ к

АГ SS-B (La) ассоциируется с выраженной лимфоидной инфильтрацией слюнных желез и развитием экстрагландулярных проявлений (пурпура, васкулит, лимфаденопатия). При СКВ АТ к SS-B(La)-АГ чаще встречаются в начале болезни, развивающейся в пожилом возрасте (9-35 %), и ассоциируются с низкой частотой развития нефрита.

Рекомендованная частота определения АТ к SS-A(Ro) составляет 1 раз в 3 месяца.

По классификационным критериям синдрома Шегрена (Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance=SICCA, 2012) требуется наличие SS-A (Ro)-АТ и/или SS-B(La)-АТ и/или позитивный РФ и АНФ.

Scl-70-АГ

Scl-70-АГ – топоизомераза I белок с молекулярной массой 100 кДа и его фрагмент, имеющий молекулярную массу 67 кДа. Определение АТ к Scl-70 является полезным тестом для диагностики системной склеродермии (диагностическая чувствительность составляет 20–40%, специфичность: 90–100%). Антитела к Scl-70 чаще выявляют при диффузной (40%), чем при ограниченной (20%) форме системной склеродермии, их наличие является плохим прогностическим признаком. Рекомендуется однократное определение анти-Scl-70.

Ревматоидный фактор в сыворотке

Референтные величины РФ в сыворотке при определении методом нефелометрии — менее 14 МЕ/мл.

К РФ причисляют АТ против IgG, представленные основными классами иммуноглобулинов – IgG, IgM и IgA. Хотя РФ может быть представлен любым классом иммуноглобулинов, однако турбидиметрические и агглютинационные тесты помогают обнаружить в основном IgM-РФ. Основной мишенью РФ является эпитоп Ga, расположенный в тяжелой цепи молекулы IgG подклассов IgG₁, IgG₂, IgG₄, недалеко от сайта связывания со стафилококковым протеином А. Комплекс IgG+РФ не фагоцитируется, откладывает-

ся в периваскулярном пространстве, стимулируя клеточно-опосредованные цитотоксические реакции, что приводит к возникновению воспаления.

Определение РФ до сих пор является основным лабораторным методом диагностики РА и служит основанием для выделения двух его основных клинико-иммунологических разновидностей: серонегативного и серопозитивного РА. Отсутствие РФ при ряде воспалительных артритов позволяет выделить клиническую группу серонегативных спондилоартропатий.

РФ обладает достаточно высокой чувствительностью и имеется у 60-80% пациентов РА; зависимости титра РФ от продолжительности заболевания не выявлено. При оценке результатов определения РФ методом нефелометрии значения в диапазоне 30-50 МЕ/мл следует рассматривать как слабоположительные в отношении РА. Однако в дебюте заболевания, на раннем этапе, РФ обнаруживают менее чем у 25% пациентов, что существенно снижает его значение для ранней диагностики этого заболевания. Повышение титра РФ определяется не ранее чем через 6-8 недель после клинических проявлений. Однократного определения РФ на ранней стадии РА с отрицательным результатом недостаточно для того, чтобы исключить серопозитивную клинико-иммунологическую форму РА. Если диагноз РА подозревают или даже он клинически подтвержден, при отрицательном результате теста по определению РФ требуются повторные определения его титра каждые 6 или 12 месяцев. Этот срок приблизительно соответствует времени обновления пула плазматических клеток, способных синтезировать АТ. Если же будет получен положительный результат, то нет реальных предпосылок повторять определение РФ с течением времени, поскольку титры АТ плохо отражают активность заболевания. Значение повторных определений содержания РФ для контроля над течением заболевания имеет несравненно меньшее значение, чем мониторинг острофазового ответа. Снижение титра РФ в плазме крови при успешной терапии может отчасти объясняться цитостатическим эффектом применяемых препаратов. Тем не менее у пациентов с РА возможна сероконверсия как в одну, так и в другую сторону в зависимости от актив-

ности и длительности заболевания, а также от проводимого лечения. Сероконверсия из серопозитивной в серонегативную группу встречается редко и обычно сопутствует полной клинической ремиссии заболевания. Кроме низкой встречаемости РФ в дебюте заболевания, очевидным недостатком РФ в качестве маркера РА является его сравнительно низкая специфичность, которая не превышает 60%. Частота выявления концентраций РФ, превышающих 20 МЕ/мл, у здоровых людей среднего возраста составляет около 3% и увеличивается до 10-15% у пожилых лиц старше 65 лет. Диагностические уровни РФ часто встречаются при синдроме Шегрена, гранулематозе Вегенера, аутоиммунных поражениях печени, СКВ, криоглобулинемии, реже – при других АИЗ, а также при хронических инфекциях (подостром септическом эндокардите, туберкулезе, вирусном гепатите С). Хотя РФ входит в классификационные критерии РА, его обнаружение не позволяет доказать наличия РА при атипичной клинической картине, а отсутствие РФ в сыворотке пациента не позволяет исключить диагноз РА.

Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (анти-ССР)

АТ к цитруллированным белкам – АТ, которые распознают АГ детерминанты филагрина и других белков, содержащих атипичную аминоксилоту цитруллин, образующуюся в результате посттрансляционной модификации остатков аргинина под действием фермента пептидиларгининдеиминазы, который находят в большом количестве в синовиальной жидкости при воспалении. Данные АТ обладают высокой диагностической специфичностью при РА. Среди семейства АТ к цитруллированным белкам ведущую роль в клинической практике имеет определение анти-ССР, которые являются наиболее стандартизированным маркером для ранней диагностики и оценки прогноза РА. Положительные результаты обнаружения анти-ССР в сыворотке крови служат диагностическим критерием РА. Анти-ССР – более высоко специфичный диагностический маркер РА (диагностическая чувствительность: 49–91%; диагностическая специфичность: 73–99%), особенно на ранней стадии болезни (диагностическая чувствительность: 39–71%; диагностическая спе-

цифичность: 93–99%) по сравнению с РФ. Определение анти-ССР имеет важное значение для диагностики серонегативного по РФ РА (частота обнаружения анти-ССР у РФ-отрицательных пациентов с РА составляет 20–40%) и дифференциальной диагностики РА с другими РЗ. Серопозитивность по анти-ССР является прогностическим маркером тяжелого эрозивного поражения суставов при РА. Обнаружение анти-ССР в сыворотке крови служит предиктором развития РА у здоровых лиц и у пациентов с ранним недифференцированным артритом. Анализ анти-ССР позволяет прогнозировать эффективность терапии у пациентов с РА. Серопозитивность по анти-ССР и высокий уровень этого маркера в крови до начала лечения рассматривается в качестве предикторов хорошего ответа на терапию. На поздней стадии РА исследование анти-ССР нецелесообразно.

У серонегативных по анти-ССР пациентов рекомендуемая кратность определения анти-ССР на ранней стадии РА составляет 1 раз в 6 месяцев, на развернутой стадии – однократно. При высокой позитивности по анти-ССР на ранней и развернутой стадии РА рекомендуется однократное исследование анти-ССР.

Аутоантитела – маркеры АФС

АФС – симптомокомплекс, включающий рецидивирующие тромбозы (артериальный и/или венозный), акушерскую патологию (чаще синдром потери плода) и связанный с синтезом антифосфолипидных АТ (аФЛ): антикардиолипидных АТ (аКЛ) и/или волчаночного антикоагулянта (ВА), и/или АТ к β_2 -гликопротеину I (анти- β_2 -ГП I). АФС является вариантом аутоиммунного тромбоза и относится к приобретенным тромбофилиям.

В 2004 г. в Сиднее были разработаны обновленные Международные критерии АФС, которые в 2006 году были официально приняты и рекомендованы. Лабораторными критериями АФС являются:

- IgG- или IgM-АТ к кардиолипину и/или:
- ВА (клоттинговые тесты) и/или:

- IgG- или IgM- анти- β_2 -ГП I,

которые должны определяться не менее 2 раз на протяжении 12 недель.

Клиническими критериями АФС являются:

-артериальный или венозный тромбоз различной локализации и/или:

- привычное невынашивание беременности (спонтанные аборт, выкидыши, внутриутробная гибель плода).

АФС диагностируется при наличии одного клинического и одного серологического критерия. АФС исключается, если менее 12 недель или более 5 лет выявляются аФЛ без клинических проявлений или клинические проявления без аФЛ. Пациенты должны быть стратифицированы по наличию или отсутствию факторов риска тромбозов. Определенный профиль аФЛ может быть идентифицирован как высокий или низкий риск для последующих тромбозов.

Высокий риск тромбозов определяется при:

- позитивности по ВА;

- позитивности по трем типам аФЛ: ВА+аКЛ+анти- β_2 -ГП I;

- изолированная постоянная позитивность по аКЛ.

Низкий риск тромбозов определяется при:

- изолированное периодическое повышение каждого из аФЛ на средних и низких уровнях.

Антифосфолипидные АТ

Антитела к фосфолипидам (ФЛ) представляют собой гетерогенную популяцию, реагирующую с отрицательно заряженными (кардиолипин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол и фосфатидные кислоты), реже нейтральными (фосфатидилэтаноламин) ФЛ и/или фосфолипидсвязывающими сывороточными белками (β_2 -ГП I, аннексии V, протромбин). Наиболее часто в клинике для диагностики АФС используют определение ВА, аКЛ, анти- β_2 -ГП I. АТ к другим ФЛ и кофакторным белкам (фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидилэтаноламину, протромбину, аннексину V) не имеют доказанного значения в диагностике АФС.

аКЛ в сыворотке

Референтные величины аКЛ в сыворотке: IgG – менее 19 МЕ/мл; IgA – менее 15 МЕ/мл; IgM – менее 10 МЕ/мл.

аКЛ – это АТ к ФЛ (кардиолипину – дифосфатидилглицеролу) клеточных мембран, ведущий показатель наличия АФС. аКЛ являются основной фракцией АТ к ФЛ. Определенное количество аКЛ присутствует в крови и здоровых лиц, но при повышении их уровня возникает качественно новое состояние в системе гемостаза. Эти АТ взаимодействуют с ФЛ мембран тромбоцитов и эндотелиальных клеток сосудов, вызывая их разрушение и способствуя возникновению тромбозов и тромбоэмболии.

Нарастание уровня АТ является чувствительным и специфическим лабораторным тестом, характеризующим риск возникновения тромботических осложнений. Пациенты, у которых обнаружен повышенный уровень аКЛ, относятся к группе риска по возникновению тромбозов при различных заболеваниях. При диагностике АФС определяются антитела IgG, IgA и IgM, более часто встречаются антитела к кардиолипину класса IgG (39–44%) и IgA (17–57%), чем класса IgM (5–33%).

АТ класса IgM наиболее быстро (их уровень снижается) реагируют на эффективное лечение АФС. Низкий уровень аКЛ класса IgM могут быть обнаружены при ревматоидном артрите, синдроме Шегрена, лекарственно-индуцированной красной волчанке, болезни Лайма и сифилисе. По данным литературы, аКЛ выявляют у 2,4-46% пациентов с ишемическими нарушениями мозгового кровообращения молодого возраста.

Относительный риск развития инсультов, выкидышей или тромбозов глубоких вен у пациентов, имеющих аКЛ в крови, в 2-4 раза выше, чем у пациентов, у которых они отсутствуют.

анти-β2-ГП I

Референтные величины анти-β2-ГП I в сыворотке: IgG – менее 19 МЕ/мл; IgM – менее 10 МЕ/мл.

Для того чтобы в крови произошло взаимодействие аФЛ с ФЛ, необходимо присутствие кофактора. Таким кофактором является $\beta 2$ -ГП I. Белок – $\beta 2$ -ГП I имеет молекулярную массу 50 кДа, обладает естественной антикоагулянтной активностью, присутствует в нормальной плазме в концентрации около 200 мкг/мл и циркулирует в ассоциации с липопротеидами. Природа кофакторной активности $\beta 2$ -ГП I при АФС в настоящее время активно изучается. Предполагается, что при АФС аКЛ взаимодействуют не с кардиолипином, а с конформационными эпитопами, формирующимися в процессе взаимодействия $\beta 2$ -ГП I с кардиолипином. Поэтому обнаружение аКЛ в сыворотке крови одновременно с анти- $\beta 2$ -ГП I повышает специфичность диагностики АФС. В здоровой популяции определение антител классов IgG, IgM и IgA к $\beta 2$ -ГП I имеет специфичность 100, 93 и 96% соответственно.

Исследование анти- $\beta 2$ -ГП I имеет одинаковую с аКЛ чувствительность в отношении диагностики АФС (57 %), но более высокую специфичность (82 и 43 % соответственно). При использовании в качестве cut-off для всех трех типов антител (IgA, IgM, IgG) значения 20 МЕ/мл специфичность составляет для антител IgG – 100%, для IgA – 96%, для IgM – 93%. Положительная предсказательная ценность этого теста (т. е. вероятность того, что у больного с повышенным уровнем анти- $\beta 2$ -ГП I в сыворотке крови возникнут тромботические осложнения) составляет 29 %, а чувствительность (т. е. вероятность того, что у больного с тромбозами будут обнаружены анти- $\beta 2$ -ГП I) – 24%.

Алгоритм диагностики АФС с применением тестов АТ представлен на рисунке 2.

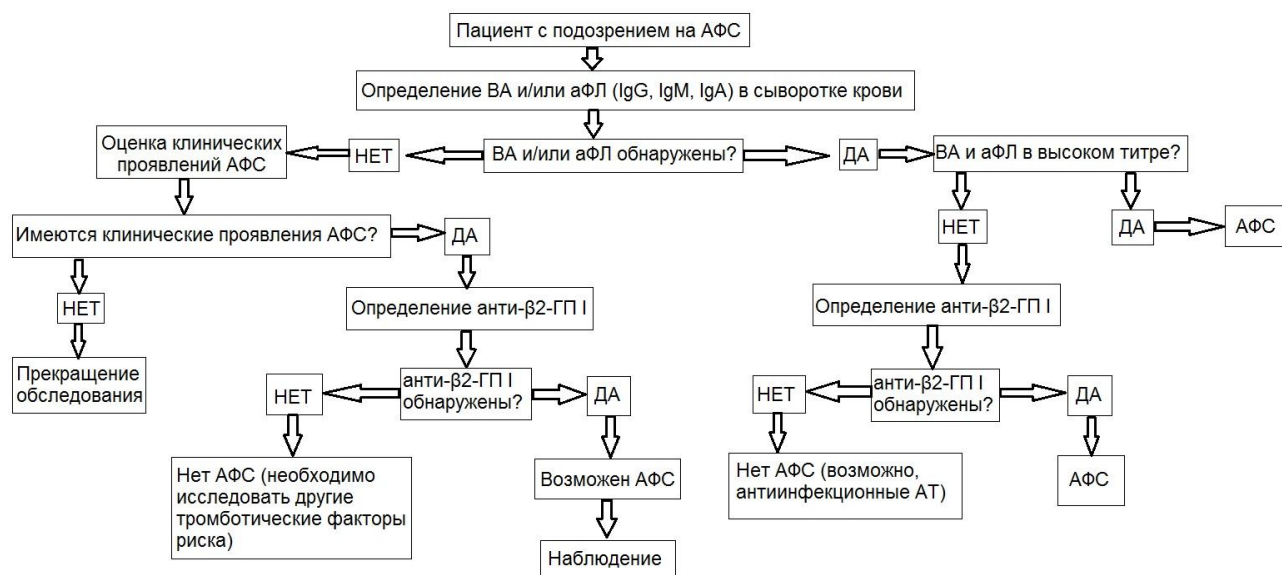


Рисунок 2 – Алгоритм диагностики АФС

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гормональные и генетические исследования в клинической практике / Кишкун А.А. – М.: Лабора, 2007. – 400 с.
2. Дати Ф. Белки. Лабораторные тесты и клиническое применение / Ф. Дати, Э. Метцманн. перевод с англ. – М.: Лабора, 2007. – 560 с.
3. Камышников, В.С. Клиническая лабораторная диагностика соматических заболеваний: учеб.пособие / В.С. Камышников. – Минск: Адукация и выхаванне, 2014. – 464 с.
4. Кишкун А.А. Иммунологические исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 712 с.
5. Кишкун, А.А. Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие / А.А. Кишкун. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 976 с.
6. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. / по ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.
7. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.В. Алексеев и др.; под ред. А.И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – Т. 1. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 472 с.: ил.
8. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.В. Алексеев и др.; под ред. А.И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – Т. 2. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.: ил.
9. Current Medical Diagnosis and Treatment, 42th Edition / Ed. by L.M. Tierney, S.J. McPhee, M.A. Papadekis. – McGraw-Hill: Lange Med. Books, 2003.
10. Harrison's principles of internal medicine. 16th edition. 1, 2 / E.Braunwald, K.J. Isselbacher, R.G. Petersdorf et al. / McGraw-Hill Book Company – 1300 p.