

Ревматологические и аутоиммунные исследования

Антинуклеарные антитела (АНА, АНА)

Показатель системных заболеваний соединительной ткани. Представляет собой группу аутоантител к белкам и другим компонентам, находящимся в ядрах клеток. Основные показания к применению: исключение диагноза – системная красная волчанка (считается, что АНА появляются в 90% случаев СКВ), дифференциальная диагностика системных коллагенозов (системная красная волчанка, склеродермия, узелковый периартериит, дерматомиозит), хронический активный гепатит.

При некоторых заболеваниях, например СКВ, системной склеродермии (системный склероз), некоторых инфекциях, иммунная система пациентов воспринимает ядра (белки ядер) клеток собственных тканей, как чужие, и продуцирует к ним антитела (антинуклеарные антитела – АНА). При этом они повреждают соединительную ткань, что и способствовало внедрению определения антинуклеарного фактора в качестве теста на системные заболевания соединительной ткани.

№ п/п	ANA 12	ANA 17
1	Nucleosomes	dsDNA
2	dsDNA	Nucleosomes
3	Histones	Histones
4	SmD1	SmD1
5	U1-snRNP	PCNA
6	SS-A / Ro 60kD	RPP/P0
7	SS-A / Ro 52 kD	SS-A / Ro 60kD
8	SS-B / La	SS-A / Ro 52 kD
9	Scl 70	SS-B / La
10	CENP-B	CENP-B
11	Jo-1	Scl 70
12	RPP / P0	U1-snRNP
13	-	AMA M2
14	-	Jo-1
15	-	PM-Scl
16	-	Mi-2
17	-	Ku

При интерпретации данных следует учитывать, что спектр АНА включает в себя большую группу аутоантител к ДНК, нуклеопротеидам, гистонам, ядерным рибонуклеопротеидам и другим компонентам ядра. Тест

направлен на обнаружение различных антител к компонентам ядра и цитоплазмы, которые впервые были обнаружены при СКВ.

В скрининговых тестах для определения суммарных АНА обычно используется набор следующих антигенов, являющихся основными маркерами аутоиммунных заболеваний соединительной ткани: SS-A (Ro), SS-B (La), Scl-70, Sm, RNP/Sm, J01, центромере В.

Основные антигены, применяющиеся в современных наборах для выявления ядерных антител класса IgG представлены следующим набором:

1. SS-A (Ro) – ядерные рибонуклеопротеины, (полипептиды). Антитела на них обнаруживаются, чаще, при системной склеродермии (60 % случаев), синдроме Шегрена (до 70% случаев) и при СКВ (до 30% случаев). Считается, что если данные антитела обнаруживаются в крови у беременных, то это является показателем риска увеличения возникновения неонатального волчаночноподобного синдрома у новорожденного ребенка (неонатальный люпус-синдром). Данные антитела матери проходят через плаценту и вызывают поражение плода, приводящие к гемолитической анемии и тромбоцитопении. К тяжелым последствиям относят поражение проводящей системы сердца ребенка (вплоть до постоянной кардиостимуляции). Отмечено, что у женщин у которых во время беременности был выявлен значительный титр данных антител, без явных клинических признаков, в дальнейшем развивается какое либо аутоиммунное заболевание, включая СКВ.

2. SS-B (La) – ядерные белки. Антитела к ним выявляются до 60% случаев при синдроме Шегрена и в 15% случаев при СКВ.

3. Scl-70 – белок-фермент, участвующий в обмене нуклеиновых кислот (топоизомераза-1). Антитела на данный белок наиболее специфичны при системной склеродермии (до 70% случаев).

4. Двухцепочечная ДНК – нативная ДНК. Антитела к ДНК наиболее специфичны при СКВ (до 80% случаев) и практически не определяются при ревматоидном артрите и склеродермии.

5. RNP/Sm – комплекс антигенов RNP/Sm состоит из U1-рибонуклеопротеидов: U1-68, U1-A, U1-C, U5, U6; а также из Sm-полипептидов: SmA | , SmB | B, SmD, SmE, SmF, SmG. Антитела, образующиеся к этим антигенам наиболее специфичны для смешанных заболеваний соединительной ткани, т.е. при наличии симптомов склеродермии, ревматоидного артрита, СКВ, полимиозита (около 95% случаев) и в меньшей степени для СКВ (до 30% случаев).

6. Jo-1 – фермент, синтетаза аминоксилтранспортирующей РНК. Аутоантитела к данному белку являются диагностически значимыми при миозите (полимиозит/дерматомиозит).

7. CENP-B (Центромера) – для выявления антицентромерных антител (Anti-Centromer B), с целью диагностики CREST-синдрома (данный синдром представляет собой совокупность кальциноза кожи, синдрома Рейно, нарушения моторики пищевода, склеродактилии, телеангиэктазии. CREST-синдром относится к варианту системной склеродермии (системный

склероз). Данные антитела у больных свидетельствуют о благоприятном течении системной склеродермии и говорят о небольшом поражении внутренних органов.

8. Нер-2 клетки – клетки эпителиальной карциномы гортани человека линии Нер-2, содержащие много различных ядерных антигенов, включая антиген SS-A (Ro) и антигены центромеры. Антитела к Нер-2 обнаруживаются у больных с полимиозитом и дерматомиозитом до 90% случаев.

9. Митохондрии (PDC). PDC – пируватдегидрогеназный комплекс. Большая группа антимиохондриальных антител представляют собой аутоантитела, которые образовались на ферменты пируватдегидрогеназного комплекса, располагающегося в митохондриях клеток и участвующего в окислительном декарбоксилировании пирувата.

Основные показания к назначению анализа:

- ✓ исключение диагноза – системная красная волчанка (считается, что АНА появляются в 90% случаев СКВ);
- ✓ дифференциальная диагностика системных коллагенозов (системная красная волчанка, склеродермия, узелковый периартериит, дерматомиозит);
- ✓ хронический активный гепатит.

Аутоантитела к двуцепочечной ДНК (dsDNA-IgG)

Антитела к двуцепочечной ДНК – неоднородная группа антител против двухспиральной ДНК, аутоантитела против расположенной внутри ядра ДНК, лабораторный маркер системной красной волчанки.

Иммунная система человека производит антитела – специальные белки, которые борются с вирусами, бактериями, грибами, различными паразитами – т.е. всем, что генетически отличается от своего. Задание любого антитела – уничтожить инородный материал, а родные клетки не трогать (механизм аутоотолерантности).

В некоторых случаях иммунный ответ направлен не против инородных, а против собственных клеток и тканей. В таком случае говорят о развитии аутоиммунного заболевания. А антитела, которые вырабатываются к своим же клеткам или их компонентам называются аутоиммунными. В случае серьезной поломки в иммунитете, уровень аутоантител становится повышенным и достаточным для постановки диагноза.

Антитела к двуцепочечной ДНК — это не одно антитело, а целый комплекс антител, их мишень — ДНК из ядра клетки. Анализ на антитела к двухспиральной ДНК высокочувствителен для диагностики системной красной волчанки, т.е. положительный результат подтверждает диагноз. Антитела к dsDNA выявляют у 70-80% больных. Но, недостаточная чувствительность исследования требует осторожности в чтении результата

анализа (т.е. отрицательный результат — не исключает диагноза системной красной волчанки).

Антимитохондриальные антитела (АМА М2)

Специфические антитела, вырабатываемые в организме к компонентам собственных клеток (митохондриям) и чаще всего выявляющиеся при первичном билиарном циррозе.

Увеличение продукции антимитохондриальных антител в значительной степени связано с развитием первичного билиарного цирроза печени — аутоиммунного заболевания, которое вызывает воспаление, а затем склерозирование желчных протоков в печени, что приводит к нарушению структуры и функции печени и задержке выделения желчи. Оно встречается преимущественно у женщин в возрасте от 35 до 60 лет. Более чем у 90 % пациентов, страдающих первичным билиарным циррозом печени, выявляются значительные концентрации антимитохондриальных антител.

Кроме того, уровень антител к митохондриям повышается при первичном и вторичном склерозирующем холангите, при заболеваниях печени, вызванных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника, а также при обструкции желчных протоков. Иногда это сопровождается повышением содержания щелочной фосфатазы.

Основные показания к назначению анализа:

✓ подозрение на первичный билиарный цирроз (зуд кожи, утомляемость, необъяснимая гиперлипидемия, повышение уровня печёночных ферментов, семейная предрасположенность, сопутствующие аутоиммунные заболевания).

Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (Anti-CCP)

Это гетерогенная группа IgG-аутоантител, которые распознают антигенные детерминанты филлагрина и других белков, содержащих атипичную аминокислоту цитруллин.

Anti-CCP в настоящее время один из самых информативных маркеров раннего ревматоидного артрита. Anti-CCP относится преимущественно к классу IgG и обнаруживаются в крови на самых ранних стадиях заболевания ревматоидным артритом (за 1-2 года до появления первых симптомов).

Ревматоидный артрит — наиболее распространённое хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся поражением периферических суставов с развитием в них эрозивно-деструктивных изменений и широким спектром внесуставных проявлений. Характерным

признаком ревматоидного артрита является симметричное поражение суставов кистей, стоп, лучезапястных, локтевых, плечевых, коленных и голеностопных суставов. Отмечается болезненность, припухлость, покраснение кожных покровов над пораженными суставами, ограничение движений и, как следствие, нарушение функции суставов. Одним из важных симптомов ревматоидного артрита является утренняя скованность в суставах длительностью более одного часа. Прогрессирующее воспаление суставов приводит к значительному ограничению их подвижности с развитием суставных отклонений.

Основные показания к назначению анализа:

- ✓ ранняя диагностика ревматоидного артрита (целесообразно в сочетании с РФ);
- ✓ диагностика серонегативных (по ревматоидному фактору) форм ревматоидного артрита;
- ✓ в прогностических целях, при недавно развившемся ревматоидном артрите.

Аутоиммунные воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта

Каждый отдел ЖКТ склонен к своим собственным уникальным заболеваниям. Болезнь Крона, целиакия, язвенные колиты и злокачественная анемия являются четырьмя наиболее серьезными диагнозами, которые отражают длительные тенденции заболеваний пищеварительного тракта. Заболевания пищеварительного тракта связаны с увеличением проницаемости пищеварительного тракта и ассоциированы с большим числом иммунных заболеваний человека в целом. Симптомы при таких условиях могут проявляться у пациентов за много лет до постановки диагноза.

№ п/п	Gastro-LIA	Предполагаемая патология
1	IgA, IgG к глиадину	Болезнь Дюринга
2	IgA, IgG к трансглутаминазе	Болезнь Крона, целиакия
3	IgA, IgG к <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
4	IgA, IgG к париетальным клеткам	Анемия Эддисона
5	IgA, IgG к внутреннему фактору	

Внутренний фактор: аутоантитела к внутреннему фактору могут определяться в 50-70% случаев у пациентов при злокачественной анемии.

Они высокоспецифичные для анемии Бирмера: пока не документировано ни одного случая истинно положительного результата у здоровых лиц. Аутоантитела вызывают патологический эффект, мешая всасыванию кобаламина в подвздошной кишке.

Париетальные клетки: аутоантиген-мишень - α - и β -субъединицы желудочной H^+/K^+ АТФазы. H^+/K^+ АТФаза желудка – фермент транспорта H^+ , ответственный за кислотность желудочного сока. Циркулирующие антитела к париетальным клеткам желудка могут выявляться в 80-90% случаев у пациентов при злокачественной анемии.

Глиадин: у пациентов с целиакией на фоне приема глютена экспрессируется высокий уровень антител к глиадину и tTG в сыворотке. На безглютеновой диете титр антител снижается, а, возможно, исчезает совсем. Глиадины – это белки, содержащие большое количество аминокислот пролин и глутамин; встречаются в злаках, семенах пшеницы, овса, ячменя и ржи. Взаимосвязь целиакии и избирательного дефицита IgA потенциально может привести к ложноотрицательным результатам. Таким образом, если целиакия является вероятным диагнозом, рекомендуется проводить также и определение IgG-аутоантител.

Тканевая трансглутаминаза (tTG): анти-tTG антитела класса А являются высокочувствительным маркером целиакии - 95-100%, и обладают специфичностью 90-97%. tTG является основной мишенью для эндомизиальных антител.

ASCA (антитела к Saccharomyces cerevisiae): ASCA направлены против эпитопов олигосахарида, состоящего из маннозы (фосфопептидоманнан) на клеточной стенке дрожжей Saccharomyces cerevisiae. ASCA могут быть использованы вместе с ANCA для дифференциальной диагностики болезни Крона и язвенного колита. ASCA строго ассоциированы с болезнью Крона: специфичность для IgG, так же как и для IgA, 95-100%, и чувствительность для IgG ASCA - 75% и для IgA ASCA - 60%. При язвенном колите ASCA находят только в 5% случаев для IgG и в 7% – для IgA.

Показания:

- первичная диагностика с неясными симптомами,
- диагностика и дифференциальная диагностика в одном тесте (например, болезнь Крона),
- определение IgG и IgA-антител: важно для диагностики целиакии.

Антитела к антигенам аутоиммунных заболеваний печени

Аутоиммунные заболевания печени относятся к группе заболеваний, при которых в биологических жидкостях обнаруживаются аутоантитела, направленные к различным компонентам клеток и тканей организма человека. Существуют три категории аутоиммунных заболеваний печени. Они включают в себя аутоиммунный гепатит, первичные билиарные

заболевания печени (первичный билиарный цирроз и первичный склерозирующий холангит) и "перекрестный" синдром. Аутоантитела являются диагностическими лабораторными критериями данных заболеваний.

Аутоиммунный гепатит (АИГ) – это аутоиммунное заболевание печени, проявляющееся слабостью, утомляемостью, мышечными и суставными болями, периодическим повышением температуры тела. Изменения лабораторных данных, характерные для АИГ, включают в себя повышение уровня гамма-глобулинов или иммуноглобулина G (IgG), а также появление в сыворотке крови аутоантител.

Антитела к микросомальной фракции печени и почек (анти-LKM, от англ. anti-liver kidney microsomal) представляют собой гетерогенную группу аутоантител, взаимодействующих с ферментами микросомальной системы окисления печени и почек. Различают несколько вариантов этих антител. Анти-LKM-1 взаимодействуют с ферментом цитохромксидазой CYP 2D6. Антитела к LKM-1 встречаются у 15 % больных АИГ, в частности у больных АИГ 2-го типа (90 %). Этот вариант аутоиммунного гепатита наиболее характерен для детей, чаще встречается у девочек, чем у мальчиков, и имеет наименее благоприятный прогноз по сравнению с АИГ 1-го и 3-го типов. Также анти-LKM-1 выявляются в сыворотке крови больных (около 5 %) с вирусным гепатитом С. Следует отметить, что обнаружение антител к LKM не является абсолютным диагностическим критерием АИГ, равно как и отрицательный результат на данные аутоантитела не позволяет исключить данный диагноз. Следует проводить комплексное обследование пациентов и исключать все возможные иные причины гепатита. Уровень антител к LKM может снижаться при лечении заболевания, что позволяет использовать этот параметр для оценки активности заболевания.

№ п/п	Liver-Lia	Предполагаемая патология
1	AMA M2 – антимитохондриальные антитела	билиарный цирроз печени
2	Gp210	
3	Sp100	
4	LKM1	аутоиммунный гепатит II типа
5	LC1	
6	SLA	аутоиммунный гепатит III типа

Антитела к цитозольному антигену 1-го типа (LC-1) и антитела к растворимому антигену печени/поджелудочной железы (SLA/LP) также являются диагностическими маркерами АИГ. Они относятся к лабораторным показателям второй линии диагностики, когда не обнаруживаются антитела первой линии: антитела к гладким мышцам, антинуклеарные антитела и антитела к LKM-1.

Антитела к LC-1 направлены к специфическому метаболическому ферменту печени - формиминотрансферазе циклодеаминазе. Они встречаются у 25-40 % больных при LKM-1-положительном аутоиммунном гепатите 2-го типа. Изолированно анти-LC-1 обнаруживаются в 10 % случаев данного заболевания. Данный тип аутоантител практически не обнаруживается при вирусном гепатите С и АИГ 1-го типа.

Антитела к SLA/LP связываются цитозольным белком-ферментом, содержащим селеноцистеин в пептидных связях (SepSecSбелок), и входят в состав диагностических критериев АИГ. Данные антитела встречаются у 15 % больных АИГ, а также являются лабораторным маркером АИГ в 35 % случаев без обнаружения классических маркеров данного заболевания. Анти-SLA/LP являются высокоспецифичным показателем АИГ 1-го типа, но также редко, до 4 % случаев, выявляются в сыворотке крови больных АИГ 2-го типа, при первичном билиарном циррозе, первичном склерозирующем холангите, целиакии и у здоровых людей.

Антитела к пируват-декарбоксилазному комплексу митохондрий (PDC/M2) отмечаются у 90-95 % больных первичным билиарным циррозом (ПБЦ). Они направлены к пируват-декарбоксилазному комплексу внутренней мембраны митохондрий, который осуществляет расщепление липидов. ПБЦ представляет собой хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся иммуноопосредованным воспалением и деструкцией малых и средних внутрипеченочных желчных протоков. К симптомам данного заболевания относятся увеличение печени и селезёнки, быстрая утомляемость, слабость, желтуха, зуд кожных покровов. Зачастую первым симптомом является повышение уровня печёночных ферментов, особенно щелочной фосфатазы. Незначительное повышение анти-PDC/M2 может выявляться у пациентов с хроническим активным гепатитом, аутоиммунным гепатитом, у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями, например с системной красной волчанкой, ревматоидным артритом, синдромом Шегрена, системной склеродермией, что указывает на повышенный риск развития первичного билиарного цирроза при этих состояниях.

Антитела при аутоиммунных васкулитах

Антитела к цитоплазме нейтрофилов (ANCA, от англ. anti-neutrophilic antibodies) – серологические маркеры, выявляемые у большинства пациентов с первичными системными васкулитами. При васкулитах ANCA направлены преимущественно против двух основных компонентов первичных гранул нейтрофилов – сериновой протеиназы-3 (анти-PR-3) и миелопероксидазы (анти-MPO).

№ п/п	Vasculitis-LIA	Предполагаемая патология
1	PR3 – протеиназа 3	гранулематоз Вегенера
2	MPO - миелопероксидаза	микроскопический

		полиартериит
3	GMB - базальная мембрана клубочков почек	аутоиммунный гломерулонефрит, синдром Гудпасчера

Любые антигены в составе указанных гранул могут быть потенциальными мишенями для ANCA.

Антитела к тиреопероксидазе (АТПО)

Специфические иммуноглобулины, направленные против фермента, содержащегося в клетках щитовидной железы и отвечающего за образование активной формы йода для синтеза тиреоидных гормонов. Они являются специфичным маркером аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.

Данный анализ предназначен для определения специфических антител к тканям щитовидной железы в сыворотке крови – антиТПО. Они образуются, когда иммунная система человека ошибочно распознает ткани щитовидной железы как чужеродную биологическую субстанцию, что может приводить к тиреоидиту, повреждению тканей железы и различным нарушениям её функции.

Фермент щитовидной железы тиреопероксидаза играет ключевую роль в образовании гормонов щитовидной железы. Тиреопероксидаза участвует в образовании активной формы йода, без которой невозможен биохимический синтез гормонов щитовидной железы Т4 и Т3. Появление в крови антител к данному ферменту нарушает его нормальную функцию, вследствие чего снижается производство соответствующих гормонов.

Основные показания к назначению анализа:

- ✓ новорождённые: гипертиреоз, высокий уровень АТ-ТПО или болезнь Грейвса у матери;
- ✓ взрослые: дифференциальная диагностика гипертиреоза, дифференциальная диагностика гипотиреоза, зоб, болезнь Грейвса (диффузный токсический зоб), хронический тиреоидит (Хашимото), офтальмопатия: увеличение окологлазных тканей (подозрение на эутиреоидную болезнь Грейвса), плотный отёк голеней (перитиббиальная микседема).

Антитела к тиреоглобулину (анти-ТГ)

Это аутоантитела в сыворотке к предшественнику гормонов щитовидной железы. Основные гормоны щитовидной железы – тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3) – образуются путем протеолитического расщепления тиреоглобулина. При наличии у пациента в крови антител к тиреоглобулину, они связывают его, нарушая образование гормонов щитовидной железы и вызывая тем самым недостаточность функции железы – гипотиреоз.

Основные показания к назначению анализа:

- ✓ зоб;
- ✓ проявление гипо-, гипертиреоза;
- ✓ повышение ТТГ;
- ✓ контроль эффективности лечения аутоиммунных тиреоидитов.