

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

НАО «Медицинский Университет Астана»
Кафедра внутренних болезней №4 ННМЦ
АО «Национальный научный медицинский центр»

В рамках научного проекта: «Национальная программа внедрения
персонализированной и превентивной медицины в Республике
Казахстан»

Иманбаева Н.Д.

**ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(учебное пособие для резидентов)

Нур-Султан, 2022

УДК 616.1/9-092-071

ББК 54.1:53.43я73

И 66

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Г.Х. Габдуллина – кафедра ОВП №1 НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова», д.м.н, профессор

В.Б. Молотов – Лучанский - главный терапевт клиники медицинского университета Караганды, д.м.н, профессор

А.Х.Альмухамедова– НАО МУА, кафедра внутренних болезней с курсом гастроэнтерологии, пульмонологии, эндокринологии, к.м.н, ассоц. профессор

Авторы: Н.Д.Иманбаева

И 66. Инновационные методы лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний. Учебное пособие /Н.Д. Иманбаева; НАО Медицинский университет Астана. - Нур-Султан, 2022. – 105 с.

ISBN 0000-00.00

Предлагаемое учебное пособие содержит материал по инновационным методам диагностики аутоиммунных заболеваний, разработка и внедрение которых стало возможным благодаря получению новых данных о патогенезе аутоиммунных заболеваний человека. В введении и в первой главе учебно-методического пособия представлены современные данные по патогенезу аутоиммунных заболеваний, базирующиеся на фундаментальных данных научной литературы по данной проблеме. В пособии показано понимание тесной взаимосвязи между прогрессом в изучении патогенетических механизмов и диагностикой аутоиммунных заболеваний. Учебное пособие предназначено для резидентов всех специальностей.

УДК 616.1/9-092-071

ББК 54.1:53.43

Утверждено и рекомендовано к изданию Комитетом по обеспечению качества образовательных программ университета НАО «Медицинский университет Астана» в качестве дополнительной учебной литературы.

Протокол №. __ от «__» _____ 20 г

@ Н.Д. Иманбаева 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений	4
Введение	8
1. Проблемы иммунопатологии аутоиммунных заболеваний	8
1.1. Иммунологические основы патогенеза аутоиммунных заболеваний	8
1.2. Современные достижения лабораторной медицины	10
2. Современные подходы к лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний	16
2.1. Аутоантитела - критерий диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний	16
2.2. Предииктивные биомаркеры	18
2.3. Диагностические скрининговые и подтверждающие тесты при различных аутоиммунных заболеваниях в Центре аутоиммунной диагностики АО «ННМЦ»	23
2.4. Диффузные заболевания соединительной ткани (ДБСТ) и Антифосфолипидный синдром (АФС)	27
2.5. Ревматоидный артрит	54
2.6. Васкулиты и аутоиммунные поражения почек	57
2.7. Аутоиммунные поражения печени и ЖКТ	61
2.8. Аутоиммунные неврологические заболевания	84
2.9. Аутоиммунные эндокринопатии	86
Заключение	88
Приложение №1	89
Тестовые задания	91
Ответы к тестовым заданиям	100
Список использованной литературы	101

Перечень сокращений

ННМЦ - Национальный научный медицинский центр
АИЗ/АЗ - аутоиммунные заболевания
АРЗ - аутоиммунные ревматические заболевания
СД – сахарный диабет
Treg - T-регуляторные клетки
TCR - антигенраспознающий рецептор
nTreg – натуральные T-регуляторные клетки
γδ-T-клетки - небольшая популяция T- клеток, T-клеточный рецептор которых образован γ и δ субъединицами.
АПК - антигенпрезентирующая клетка
РА – ревматоидный артрит
ФНОα - фактор некроза опухоли α
ГИБП - генно-инженерный биологический препарат
мАТ - моноклональные антитела
СРБ - С-реактивный белок
SAA - сывороточный амилоидный белок А
рИЛ6Р-растворимый рецептор ИЛ6
ВЭФР - васкулоэндотелиальный фактора роста
МХБ1 - моноцитарный хемоаттрактантный белок 1
ММП - матриксные металлопротеиназы
МНС II класса - молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса
ПГЕ2 - простагландин E2
РФ - ревматоидный фактор
АЦБ - антитела к цитруллинированным белкам
Th - Т хелперы
ПсА - псориатический артрит
СКВ - системная красная волчанка
ТФР β - трансформирующий фактор роста β
ТЦЗ – тоцилизумаб
РЗ - ревматические заболевания
JAK - Janus-ассоциированные киназы
TLR – Толл (Toll)-подобные рецепторы
NLR - Nod-подобные рецепторы
NLRP3 – Nod-подобный рецептор семейства NLR, распознающий паттерны патогенов или паттерны, связанные с повреждениями.
АЦВ/АЦВВ - антитела к цитруллинированному белку виментину
ИФМ - иммуноферментный метод
ПЦР - полимеразная цепная реакция
иРНК - информационная рибонуклеиновая кислота
мРНК - матричная рибонуклеиновая кислота
ГМКСФ - гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора

ИФН γ - интерферона γ
УКЛ1 - цитоскелетный белок
НРИФ - непрямая реакция иммунофлюоресценции
ИФА - иммуноферментный анализ
ИБ – иммуноблоттинг
РИА – радиоиммуноанализ
АС - анкилозирующий спондилит
САРЗ – системные аутоиммунные ревматические заболевания
АНА (Antinuclear antibodies)- антиядерные антитела (антиядерные антитела)
АФЛ/ АФЛА - антифосфолипидные антитела
АНЦА (ANCA) - антинейтрофильные цитоплазматические антитела.
cANCA - цитоплазматические антинейтрофильные цитоплазматические антитела
pANCA перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
КФК - креатинфосфокиназа
EULAR (European League Against Rheumatism) - Европейская антиревматическая лига
ACR (American College of Rheumatology) - Американская Коллегия Ревматологии
SLICC/ACR – индекс повреждения, разработанный Международной организацией сотрудничества клиник СКВ при содействии Американской коллегии ревматологов
Анти-дсДНК (анти-nDNA) - антитела к двухспиральной (дс) ДНК
Анти-Sm - – антитела к антигену Sm (Smith)
Анти-SSA/Ro - антитела к антигену Ro/SSA
Анти-SSB/La - антитела к антигену La/SS-B
АКЛ - антитела к кардиолипину
 α 2-ГП I - антитела к β 2-гликопротеину I
ВА - волчаночный антикоагулянт
ССД - системная склеродермия
Scl-70 (анти- Scl-70) - антитела к топоизомеразе I
АЦА - антицентромерные антитела CENP-A, CENP-B, CENP-C
Анти-РНК-полимераза III - антитела к РНК-полимеразе III
СШ - синдром Шегрена
СЗСТ - смешанное заболевание соединительной ткани
Анти-ПРЗ - антитела к протеиназе 3
Анти-МПО - антитела к миелопероксидазе
АЦЦП (anti-CCP) - антитела к циклическому цитруллинированному пептиду
АНЦА-СВ -аутоантитела к компонентам цитоплазме нейтрофилов
ПКТ – прокальцитонин

MAS - синдром активации макрофагов
РТМ – ритуксимаб
АБЦ – абатацепт
ДБСТ - диффузные болезни соединительной ткани
АНФ - антинуклеарный фактор
ANA-скрин –антинуклеарные антитела, скрининг
HLA - человеческий лейкоцитарный антиген
Anti-RNP - антитела к рибонуклеопротеину
Jo-1 – антитела к гистидил- 1РНК-синтетазе
БМК (Glomerular Basement Membrane IgA&IgM& IgG antibody, anti-GBM) - базальная мембрана клубочков почек
ЖКТ - желудочно-кишечный тракт
АМА (M2) - антимитохондриальные антитела (подтип 2)
ASMA - антитела к гладкой мускулатуре
APCA - антитела к париетальным клеткам желудка
LKM1 - антитела к микросомам печени 1 типа
sp100 – антитела к растворимому ядерному белку (к Sp100-антигену)
gp210 - антитела к интегральному мембранному гликопротеину
LC-1 - антитела к цитозольному антигену печени 1 типа
SLA - антитела к растворимому антигену печени
F-актин - антитела к гладким мышца, в том числе к фибриллярному F-актину
U1-sn RNP - антитела к U1 рибонуклеопротеину
Анти-GM1,GM2, GM3, GD1a, GD1b, GQ1b, GT1b класса IgG - антитела к ганглиозидам
AxP (AchR) - антитела к ацетилхолиновым рецепторам
ICA - антитела к островковым клеткам
ДБСТ - диффузные болезни соединительной ткани
осДНК (ssДНК) - антитела к односпиральной (денатурированной) ДНК
РНК - рибонуклеиновая кислота
ДНК(DNA) - дезоксирибонуклеиновая кислота
Аг – антиген
Ат –антитело
PCNA - антитела к ядерному антигену пролиферирующих клеток
CREST-синдром - симптомокомплекс, включающий симптомы: кальциноз тканей (C), Синдром Рейно (R), эзофатит (E), склеродактилия (S), телеангиоэктазии (T)
NUMA 1 - антитела к митотическому аппарату клетки
ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы
С3, С4 – комплемент
ДМ – дерматомиозит
ФД - фоточувствительный дерматит
ВИЧ - вирус иммунодефицита человека
АКА (Anti-keratin antibody) - антителаккератину

СВ – системные васкулиты
ПБХ - первичный билиарный холангит
ПБЦ (PBC) - первичный билиарный цирроз
АИГ/АИН - аутоиммунный гепатит
ПСХ/PSC - первичный склерозирующий холангит
Reticulin Antibody IgA&IgG, ARA - антитела к ретикулину IgA и IgG
RI - тип антиретикулиновых антител
Anti-Endomisial Antibody IgA&IgG, EMA - антитела к эндомизию IgA и IgG
Anti-tissue transglutaminase IgG, tTG IgG - антитела класса IgG к тканевой трансглутаминазе
Anti-tissue transglutaminase IgA, tTG IgA - антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе
КП - коэффициент позитивности
Ig - иммуноглобулин
IgA - иммуноглобулин А
IgG – иммуноглобулин G
IgM – иммуноглобулин М
Fecal Calprotectin - кальпротектин фекальный
НПВС - нестероидные противовоспалительные средства
Alpha-1-Antitrypsin, Feces (A1AT) - альфа-1-антитрипсин в кале
Autoantibodies against Exocrine Pancreas, Pancreatic Antibodies, PAB - антитела к ацинарным клеткам поджелудочной железы, IgG и IgA суммарно (антитела к экзокринной части поджелудочной железы)
GP2 - гликопротеин 2-го типа
Антитела к GP2 (Anti-GP2) - антигену centroacinarных клеток поджелудочной железы
ASCA (антитела к Saccharomyces cerevisiae) - антитела к сахаромицетам
Anti-Intestinal Goblet Cells Antibodies, GAB, IgA, IgG, Total - антитела классов IgA и IgG к бокаловидным клеткам кишечника, суммарно
ЦНС – центральная нервная система
ПНС – периферическая нервная система
ЦМВ – цитомегаловирус
GBS - синдром Гийена –Барре
MFS - синдром Миллера-Фишера
MMN - мультифокальная моторная нейропатия
CANOMAD - хроническая атаксическая нейропатия
AMAN - острая моторная аксональная нейропатия
AchR - антитела к ацетилхолиновым рецепторам
ТТГ - тиреотропный гормон
GAD - антитела к декарбоксилазе глутаминовой кислоты

Введение

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) — общее название иммуноопосредованных заболеваний, обусловленных специфической иммуновоспалительной реакцией против чужеродных антигенов. АИЗ относятся к числу самых тяжелых хронических иммуновоспалительных болезней человека, широко распространены в популяции и представлены более 100 нозологическими формами у 8% населения земного шара. Аутоиммунные заболевания, особенно при перекрестных Overlap синдромах, обусловлены высокой частотой распространения, трудностью ранней диагностики, прогрессирующим течением и зачастую неблагоприятным жизненным прогнозом [1]. Значительную долю в структуре АИЗ составляют аутоиммунные ревматические заболевания (АРЗ): ревматоидный артрит, системная красная волчанка, серонегативные артриты, системные васкулиты, системный склероз, а также и другие системные заболевания соединительной ткани.

Важность понимания фундаментальных механизмов иммунопатогенеза АИЗ необходимы для разработки инновационных методов ранней диагностики, а также совершенствовать базисное патогенетическое лечение и прогнозировать эффективность терапии этих патологических состояний.

Специфичность диагностики АРЗ связаны с развитием иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования, включающие аутоантитела, острофазовые белки воспаления, цитокины, хемокины, маркеры активации сосудистого эндотелия, компоненты системы комплемента, субпопуляции лимфоцитов и др. В настоящее время во всем мире делается акцент на возможности ранней диагностики аутоиммунных заболеваний.

Делает успех научной медицины XXI в. - разработка и внедрение в практику инновационных молекулярно-клеточных технологий, которая повышает диагностическую чувствительность и специфичность лабораторных тестов, является предпосылкой для разработки комплекса иммунологических и молекулярно-биологических методов диагностики аутоиммунных заболеваний.

1. Проблемы иммунопатологии аутоиммунных заболеваний

1.1 Классификация аутоиммунных заболеваний

Для классификации аутоиммунных процессов используются медико-биологические критерии (табл.1).

Таблица №1. Медико-биологические критерии аутоиммунных заболеваний Rose-Wona

Прямые свидетельства	<u>Антитело- опосредованные</u> Аутоантитела в крови, влияющие на функции органа Аутоантитела, фиксированные в ткани Иммунный комплекс, локализованный в ткани Воспроизведение заболевания при пассивном переносе Ig <u>Клеточно- опосредованные</u> Перенос Т-клеток в SCID мышь с тканевым имплантатом Цитотоксичность аутоагрессивных Т-клеток invitro
Непрямые свидетельства	<u>Экспериментальная иммунизация</u> Иммунизация антидиотипическим антителом Спонтанное заболевание у животных Экспериментальная дизрегуляция иммунной системы у животных
Дополнительные свидетельства	Аутоантитела в крови Ассоциация с другими аутоиммунными заболеваниями Ассоциация с HLA-генотипом Лимфоцитарная инфильтрация органа Ответ на иммуносупрессивную терапию

Согласно классификация АИЗ подразделяют на орган-неспецифические и орган-специфические аутоиммунные заболевания (табл.2). Для орган-специфических АИЗ свойственно поражение конкретного органа и ткани. При орган-неспецифических заболеваниях могут поражаться несколько систем и органов, как при ревматических заболеваниях.

Таблица №2. Классификация аутоиммунных заболеваний

Орган-специфические	Рассеянный склероз Зоб Хашимото Первичная микседема Тиреотоксикоз (болезнь Грейвса) Пернициозная анемия Первичный билиарный цирроз Аутоиммунный гепатит Сахарный диабет 1 типа Болезнь Крона Язвенный колит
---------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	Аутоиммунная гемолитическая анемия Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура Пемфигоид
Орган-неспецифические	Системная красная волчанка Гранулематоз с полиангиитом (ранее с-м Вегенера) Склеродермия Смешанное заболевание соединительной ткани Дерматомиозит Ревматоидный артрит

1.2 Иммунологические основы патогенеза аутоиммунных заболеваний.

В патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний важнейшее значение имеют генетически детерминированные и приобретенные дефекты иммунной системы.

Иммунная система в норме не распознает и не реагирует на собственные антигены, что характеризуется наличием иммунологической толерантности к собственным антигенам или *ауто толерантности*. Аутоиммунным называется иммунный ответ на антигены собственных клеток и тканей, который и приводит к развитию *аутоиммунных заболеваний (АЗ)*.

Регуляторные Т-клетки. В развитии неответственности на собственные антигены на периферии участвуют Т-регуляторные клетки (Treg). В тимусе, в результате центральной селекции, лимфоциты, антигенраспознающий рецептор (TCR) обладают высоким сродством к аутоантигенам, подвержены апоптозу или превращаются в регуляторные клетки. *Регуляторная толерантность*, толерантность, обусловленная регуляторными клетками, а сами клетки - *естественными или натуральными (nTreg)*. Имеются два типа регуляторных клеток, и общим для обоих видов регуляторных клеток является экспрессия CD4 и CD25 на их поверхности, транскрипционный фактор FoxP3. Распознавание аутоантигенов на периферии особыми антигенпрезентирующими клетками (АПК) или соматическими клетками (которые в определенных ситуациях также могут экспрессировать антигены в комплексе с МНС II класса) nTreg продуцируют TGF- β и ИЛ-10. Эти цитокины подавляют активацию и дифференцировку аутореактивных Т-лимфоцитов в эффекторные клетки, распознавания ими аутоантигена.

Источник аутоантител - аутореактивные клоны В-лимфоцитов, если концентрация их невелика. В-клетки не могут эффективно пролиферировать и продуцировать антитела при недостатке помощи Т-

лимфоцитов. Поэтому у любого здорового человека можно выявить аутоантитела к спектру аутоантигенов, но в небольших, диагностически незначимых количествах.

Синтез аутоантител, с дефектами В-клеточной толерантности, поддерживающих воспаление и деструкцию тканей организма человека, способствуют нарушению Т-клеточного иммунного ответа, которая играет значение в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Изучено, что плазматическими клетками синовиальной ткани одного коленного сустава больных РА продуцируется столько иммуноглобулинов, сколько всей лимфоидной тканью здорового.

Особо важная роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний принадлежит провоспалительным цитокинам – фактору некроза опухоли α (ФНО α) и интерлейкину 6 (ИЛ6), а также ИЛ12, ИЛ23, ИЛ17 и др., которые принимают участие в развитии хронического воспаления, приводят к деструкции суставов и других органов, и систем (рис.1).

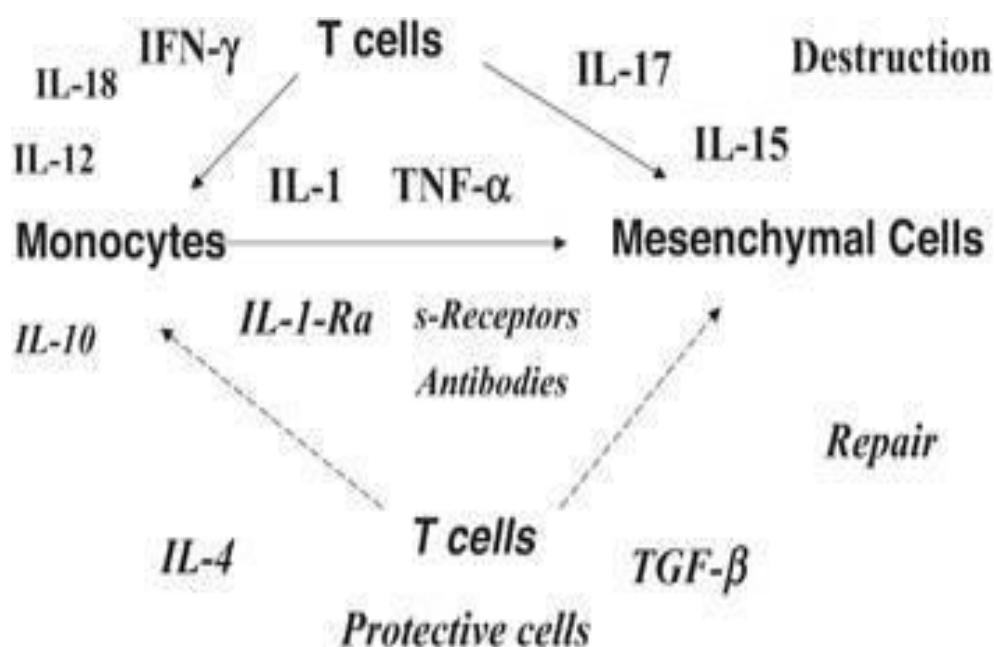


Рис.1 Вклад ФНО и интерлейкина ИЛ-1 в системные проявления хронического воспаления

Генетические факторы риска в развитие большинства аутоиммунных РЗ не превышают 12–67%.

Генетические полиморфизмы РЗ включают:

- моногенные мутации (AIRE, TNFRSF6, FOXP3, CD25),
- гены предрасположенности к развитию заболевания, ассоциированные с аллелями HLA классов I, II, III (СКВ ассоциируется с HLA-II: DR3, DR2, DR8, HLA-III: TNF, C2, C4, C4B; РА – с HLA-II: DR4, HLA-III: TNF;

- анкилозирующий спондилит (АС) – с HLA-I: B27) и гены, не связанные с локусами HLA, выявляемые с помощью полногеномных ассоциативных исследований GWAS (PTPN22, IRF5-TNPO3, STAT4, CTLA4, PAD14 и др.) [20].

В основе патогенеза РЗ лежит воздействие множества факторов, с потерей иммунологической толерантности в отношении собственных антигенов и развитии аутоиммунитета с нарушением баланса клеточных популяций (T reg и Tr1) и эффекторными Т-хелперными клетками (Th1, Th2, Th17, Tfh), стимулирующие активацию В-клеток, созревание плазматических клеток, продукцию аутоантител, цитокинов: ФНО α , ИЛ1, ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ15, ИЛ17, ИЛ18, ИЛ21, ИЛ23, ИФН γ , В-клеточного активационного фактора/Влимфоцитарного стимулятора (BAFF/BLyS), APRIL, CD40L – и образование цитотоксических Т-лимфоцитов.

Для патогенетической терапии СКВ, РА, ССД и других САРЗ, коррекции аутоиммунных нарушений и восстановления иммунологической толерантности, применяются аутологичные гемопоэтические стволовые клетки, мезенхимальные стромальные клетки, аутологичные толеронные дендритные клетки, Т- и В-регуляторные клетки, генно-инженерная биологическая терапия, пептидные антигены.

Очень часто аутоиммунным заболеваниям могут предшествовать острые инфекции. Выделяемые в ответ на инфицирование провоспалительные цитокины, способствуют выходу незрелых клеток не только из костного мозга, но и из тимуса. Здесь и повышается вероятность выхода в циркуляцию Т-лимфоцитов, не прошедших селекцию, большая вероятность аутореактивных заболеваний (рис.2).

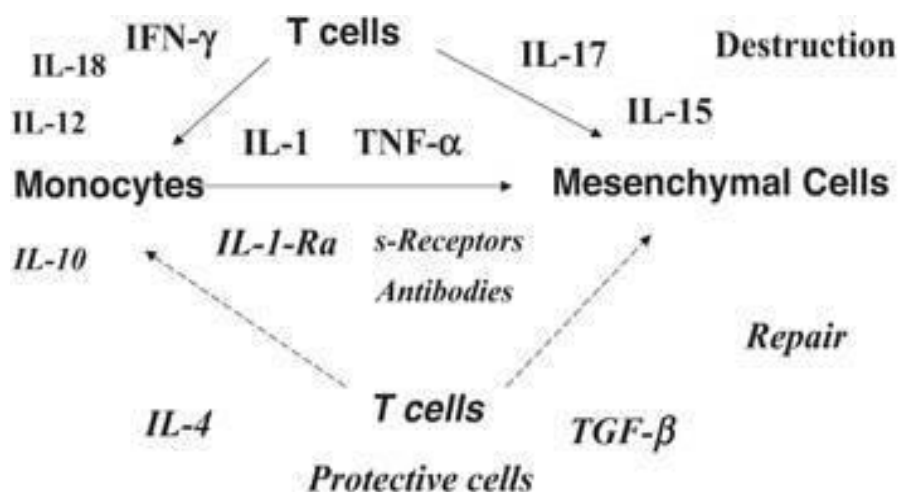


Рис.2 Взаимодействие между регуляторными цитокинами, разрушением матрикса и дефектами репарации

Провоспалительные цитокины, В- и Т-клетки являются перспективными терапевтическими мишенями для лечения аутоиммунных ревматических заболеваний [2], клинические и иммунологические эффекты генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) позволяют получить новые данные о патогенезе ревматических и других иммуновоспалительных заболеваний человека.

На современном этапе для лечения распространенных форм неинфекционных заболеваний в начале XXI в. разработано более 10 инновационных генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) – моноклональных антител (мАТ) и рекомбинантных белков, ингибирующих активность важнейших провоспалительных цитокинов – ФНО α [2], ИЛ-6 [3], ИЛ-1 [4], ИЛ-17 [5], ИЛ-12/23 [6], а также патологическую активацию Т-лимфоцитов [2] и В-лимфоцитов [7,8,9], многие из которых успешно применяются в клинической практике во всем мире, в том числе в России и Казахстане.

Один из наиболее характерных системных провоспалительных эффектов ИЛ-6 – стимуляция острофазового воспалительного ответа, который связан с увеличением экспрессии гена ИЛ-6 в печени и проявляется в повышении концентрации белков острой фазы воспаления (С-реактивный белок – СРБ, фибриноген, сывороточный амилоидный белок А – SAA).

Под действием ИЛ-6 увеличивается синтез в печени другого острофазового белка – гепсидина, при связывании которого происходит ингибирование высвобождения железа макрофагами и уменьшение абсорбции железа в двенадцатиперстной кишке, что ведет к развитию анемии хронического заболевания у пациентов с РА [10]. ИЛ-6 стимулирует выработку лептина – гормона анорексии, характерной для хронических воспалительных заболеваний. Проявления системного действия ИЛ-6 – лихорадка и утренняя скованность, связанные с суточным ритмом секреции данного цитокина, максимум которой приходится на ранние утренние часы. Как уже установлено, развитие артрита характеризуется неоваскуляризацией синовиальной ткани с последующей лейкоцитарной инфильтрацией и гиперплазией синовиоцитов, что, в конечном итоге, приводит к образованию паннуса.

ИЛ6 в присутствии растворимого рецептора ИЛ-6 (pИЛ6R) стимулирует выработку васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) синовиальными фибробластами больных РА, активирует синтез эндотелиальными клетками, мононуклеарными клетками и синовиальными фибробластами таких хемокинов, как МХБ1 и ИЛ-8, усиливает и способствует миграции воспалительных клеток в полость сустава. В комбинации с ИЛ-1 стимулирует выработку синовиальными клетками матриксных металлопротеиназ (ММП) 1, 3, 13, участвующих в деструкции хрящевой ткани при РА [11], усиление остеокластогенеза и костной резорбции, имеющих центральное значение в прогрессировании эрозивного поражения суставов при РА, созревание остеокластов из гематопоэтических

стволовых клеток гранулоцитарно-макрофагального ряда, активирует синтез простагландина E2 (ПГЕ2) при взаимодействии с rИЛ-6Р.

Цитокин ИЛ-6 в патогенезе РА оказывает влияние на адаптивный иммунный ответ. ИЛ-6 приводит к пролиферации и дифференцировке В-лимфоцитов в зрелые плазматические клетки, секретирующие аутоантитела (ревматоидный фактор – РФ, антитела к цитруллинированным белкам – АЦБ) и иммуноглобулины, активирует продукцию ИЛ-21 в CD4+Th-лимфоцитах.

Th17-клетки участвуют в иммунопатогенезе иммуновоспалительных заболеваний, включая РА, псориаз, ПсА, воспалительные заболевания кишечника, СКВ, болезнь Шегрена и др. В формировании Th17 принимают члены семейства ИЛ12-цитокинов – ИЛ-12 и ИЛ-23, ТФР. Дифференцировка наивных CD4+Th-клеток в Th17-лимфоциты происходит также под влиянием ИЛ-1 β и ИЛ-6 совместно с трансформирующим фактором роста β (ТФР- β), сопровождается синтезом цитокинов, в первую очередь ИЛ-17, ИЛ-12, ИЛ-22, подавляющих влияние Т-регуляторных клеток. Установлено, что представитель суперсемейства ФНО α -TWEAK действует синергично с ИЛ-23 и ИЛ-21 в индукции дифференцировки Th17-клеток и синтеза ИЛ-17А.

Во многих научных исследованиях показана роль ИЛ-17А в иммунопатогенезе РА и других воспалительных заболеваний суставов. Известно, что ИЛ17А также участвует в секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов, ММП1, 2, 9, 13.

Синтез Th17 ИЛ-17А осуществляется иммунокомпетентными клетками, включая тучные клетки, нейтрофилы, дендритные клетки, $\gamma\delta$ -Т-клетки, макрофаги, естественные киллерные клетки. А мишенями для ИЛ17А являются клетки, экспрессирующие ИЛ-17Р, включая кератиноциты, синовиоциты, фибробласты, эпителиальные клетки.

Расшифровка ключевых патогенетических механизмов РЗ позволила идентифицировать молекулярные и клеточные биомаркеры, которые могут быть использованы в качестве терапевтических «мишеней». влияния ИЛ-6 в патогенезе ревматических заболеваний определило важность ингибиции ИЛ6 с использованием гуманизированных мАТ к рецепторам ИЛ6 – тоцилизумаба (ТЦЗ, Актемра; «Ф. Хоффман-ля Рош Лтд»), в лечении РА и других иммуновоспалительных ревматических заболеваний, и стало важным достижением фармакотерапии воспалительных заболеваний, чем создание ингибиторов ФНО α .

Низкомолекулярные химически синтезированные вещества - новый класс лекарственных средств, представляющих собой (small molecules – малые молекулы), позволили получить новые данные о патогенезе ревматических и других иммуновоспалительных заболеваний человека. Важную роль в регуляции активности цитокинов играют тирозинкиназы, в первую очередь Janus-ассоциированные киназы (JAK) [12].

Патогенез аутоиммунных заболеваний не укладывается в рамки классических представлений о механизмах развития этой патологии, которую в первую очередь связывают с активацией приобретенного иммунитета и гиперпродукцией патогенных аутоантител [13]. В свое время Илья Мечников - основоположник концепция аутовоспаления, продемонстрировал роль макрофагов в развитии воспаления в отсутствие сывороточных факторов (аутоантител) — фагоцитарная теория иммунитета. Основную роль в этом процессе играют Toll- и NOD-подобные рецепторы, распознающие определенные последовательности (паттерны) микроорганизмов, компонентов ядра, высвобождающихся из подвергнутых апоптозу (или некрозу) клеток, кристаллы мочевой кислоты, холестерина и др. Представитель семейства NOD-подобных молекул NLRP3 (Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain containing 3) регулирует активацию каспазы 1 — фермента, конвертирующего неактивные провоспалительные интерлейкины (ИЛ), такие как про-ИЛ-1, про-ИЛ 18 и про-ИЛ-33, в активные формы. Гиперпродукция ИЛ-1, связанная с активацией NLRP3, является ведущим механизмом, объединяющим аутоиммунные и аутовоспалительные заболевания [14]. Дисбаланс врожденного иммунитета способствует усилению воспаления и деструкции тканей организма, активации моноцитов/макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов, естественных клеток-киллеров, тучных клеток, гиперпродукция ИЛ-1, ИЛ-18, ИЛ-33, ИФН- α/β , других провоспалительных цитокинов и локальных тканевых факторов (ферментов, костимулирующих молекул).

Таким образом, от ранней диагностики, проведение патогенетической терапии в дебюте болезней зависит прогноз и исход аутоиммунных ревматических заболеваний.

2. Современные подходы к лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний

Решение клинических задач сопряжено с дифференцированным использованием лабораторных верификации АИЗ (табл.3).

Таблица 3. Современные лабораторные методы диагностики АИЗ

Задача обследования	Используемый метод иммунохимия
Скрининг аутоантител при ранней диагностике	нРИФ
Дифференциальная диагностика	Иммуноблот
Мониторинг эффективности терапии	ИФА, иммунохимия

Разработка и внедрение в клиническую практику инновационных молекулярно-клеточных технологий значительно повысили

диагностическую чувствительность и специфичность новых лабораторных биомаркеров в ревматологии [15].

2.1. Аутоантитела - критерий диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний

Биомаркеры ревматических заболеваний (РЗ) определяют в различных биологических субстратах:

- в крови,
- синовиальной жидкости,
- моче,
- биоптатах синовиальной оболочки, почек и других пораженных тканей.

В настоящее время применяют высокотехнологичные автоматизированные аналитические системы с использованием методов иммунохимического анализа:

- (непрямая реакция иммунофлюоресценции – НРИФ,
- иммуноферментный анализ – ИФА,
- иммуноблоттинг – ИБ,
- иммунодот,
- иммунонефелометрия,
- хемилюминесцентный иммунный анализ,
- радиоиммуноанализ – РИА),

на основе:

- ДНК-,
- РНК-,
- белковых и клеточных микрочипов,
- полимеразной цепной реакции (ПЦР),
- проточной цитометрии

Современная генерация молекулярных и клеточных биомаркеров РЗ включает:

- **патогенетические биомаркеры**- для получения объективной информации о характере иммунопатологических нарушений при РЗ;
- **диагностические биомаркеры** - для обозначения классификационных и диагностических критериев РЗ;
- **предиктивные биомаркеры** - для диагностики РЗ на ранней, доклинической стадии.

Патогенетически значимые биомаркеры РЗ:

- Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки, макрофаги,
- провоспалительные цитокины и их рецепторы,
- аутоантитела, продукты метаболизма костной и хрящевой ткани,
- показатели активации сосудистого эндотелия,
- компоненты системы комплемента,
- внутриклеточные сигнальные молекулы,
- простагландины,
- протеазы,

- вазоактивные амины,
- свободные радикалы кислорода и др. [18, 19, 20, 21].

Диагностические биомаркеры АИЗ

Циркулирующие антитела – основной серологический маркер АИЗ. Характерные признаки САРЗ - это патологическая активация В-клеток и гиперпродукция органонеспецифических аутоантител [23].

Определение титра аутоантител-основная доля иммунологических исследований в ревматологии (63,6%), определяется серологическими тестами. Основные диагностические лабораторные маркеры САРЗ:

- антинуклеарные антитела (АНА),
- ревматоидный фактор (РФ),
- антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ),
- антифосфолипидные антитела (АФЛ),
- антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА).

Фиксируем положительные результаты этих и ряда других антител, и повышение уровней маркеров воспаления

- СОЭ, С-реактивного белка – СРБ,
 - снижение концентрации компонентов системы комплемента (СН50, С3, С4),
 - гематологические нарушения (гемолитическая анемия, лейкопения, лимфопения, тромбоцитопения, эозинофилия),
 - биохимические изменения (повышение активности креатинфосфокиназы – КФК, альдолазы),
 - криоглобулинемия и гипериммуноглобулинемия
- входят в число диагностических и классификационных критериев САРЗ и васкулитов [24,25,26,27].

2.2 Предиктивные биомаркеры

Иммунопатологические нарушения, развиваются в среднем за 5 лет до возникновения первых клинических симптомов САРЗ, связанные с потерей иммунологической толерантности к собственным антигенам и инициацией системного аутоиммунитета и воспаления, такие как снижение функциональной активности Т-регуляторных клеток, образование патогенных аутоантител (АНА, АФЛ, IgM РФ, АЦБ), повышение уровней острофазовых белков, провоспалительных цитокинов и хемокинов, [30, 31]. При этом в доклинический период СКВ ряд аутоантител (АНА, АЦЦП, АФЛ) выявляются раньше, чем другие.

Увеличивается концентрация АНА и АЦБ на клинической стадии СКВ и РА, когда уже происходит срыв иммунологической толерантности и ускорение аутоиммунного процесса, что обусловлено расширением эпителиев, распознаваемых аутоантителами [32, 31].

Сывороточные биомаркеры - предикторы обострения люпус-нефрита (увеличение концентрации а-дсДНК и аС1q, снижение уровней С3 и С4) и АНЦА-СВ с поражением почек [33, 34].

Полезны прогностические биомаркеры РЗ в клинической практике. Это острофазовые показатели (СОЭ, уровень СРБ, САА, ПКТ, ферритин, кальпротектин, гепсидин, гаптоглобин, фибриноген и др.) [35,36,37]. Синтез СРБ происходит в гепатоцитах под действием провоспалительных цитокинов, и является более стабильным, валидированным, воспроизводимым и специфичным маркером воспаления, чем СОЭ.

Установлено, что кальпротектин - сывороточный белок (S100A8/A9, MRP8/MRP14), высвобождающийся активированными нейтрофилами и моноцитами синовиальной оболочки. Он используется в качестве перспективного маркера активности РА и выраженности синовиального воспаления, прогнозирования рентгенологического прогрессирования заболевания, оценки эффективности базисных противовоспалительных препаратов.

Маркер и медиатор гиперферритинемического синдрома (повышение уровня ферритина в сыворотке крови >500–1000 нг/мл). Повышение наблюдается при синдроме активации макрофагов (MAS), болезни Стилла взрослых, катастрофическом АФС и септическом шоке.

Высокая активность патологического процесса у больных СКВ наблюдается при снижении концентрации С3- и С4-компонентов системы комплемента и повышение уровней продуктов активации комплемента (С3d, С3а, С4а, С5а, iС3, С4d, Вb, С5b-9) в крови [38].

Изученные литературные данные и проведенный метаанализ клинических исследований, серопозитивность по РФ и/или АЦЦП и высокие уровни этих аутоантител в сыворотке крови до начала лечения являются предикторами хорошего ответа на терапию РТМ при РА [39,40,4].

Высокий базальный уровень IgM РФ в сыворотках больных РА достигается хорошим клиническим эффектом при лечении ТЦЗ [42]. Больные РА, высокопозитивные по АЦЦП, лучше отвечают на терапию АБЦ, чем АЦЦП-негативные пациенты [42, 43].

При раннем РА по сравнению с развернутой стадией заболевания обнаружено достоверное повышение концентрации Тх1- (интерферон γ , ИФН γ) и Тх17 (ИЛ 17) -цитокинов, хемокинов (ИП-10, МИФ-1), колониестимулирующих факторов (ИЛ 7, Г-КСФ).

Для профилактики, ранней диагностики, оценки активности, прогноза и эффективности терапии РЗ, необходимы современные молекулярные и клеточные биомаркеры, которые также помогают раскрыть патогенетические механизмы РЗ. У большинства людей в крови всегда есть незначительное количество аутоантител, которые не являются проявлением болезни.

Синтез низкоаффинных аутоантител в норме контролируется популяцией В-1 (CD5+) клеток. Только в случае серьезной поломки в иммунитете, уровень становится повышенным и достаточным для постановки диагноза. Использование конкретного вида аутоантител в качестве диагностического показателя определяется их встречаемостью при аутоиммунном заболевании.

Аутоантитела, которые встречаются исключительно при этом заболевании, получили название высокоспецифичными серологическими маркерами. Высокое содержание антител предполагает их высокую аффинность, отражает специфичность и выраженность иммунного ответа.

Считается, что содержание аутоантител не коррелирует с активностью заболевания, тем не менее особенное течение заболевания наблюдается именно у пациентов, имеющих в сыворотке специфический набор антител, в отличие от симптомов у больных, не имеющих этих антител.

При аутоиммунных заболеваниях воспаление может затрагивать все ткани и органы организма, что отображает так называемый спектр аутоиммунных заболеваний и делит их на органоспецифические и органонеспецифические. В таблице 2 представлены диагностические скрининговые и подтверждающие тесты при различных аутоиммунных заболеваниях: диффузные болезни соединительной ткани (ДБСТ) и Антифосфолипидный синдром (АФС); ревматоидный артрит и поражения суставов, васкулиты и аутоиммунные поражения почек, аутоиммунные поражения печени и ЖКТ, аутоиммунные неврологические заболевания и эндокринопатии.

В настоящее время изучаются клиническая информативность измерения сывороточной концентрации IgG4, соотношения IgG4/IgG, количества тканевых и циркулирующих IgG4-позитивных плазмобластов и целесообразность использования данных показателей в качестве лабораторных критериев диагностики иммунопролиферативных IgG - связанных заболеваний [28].

Первичным скрининговым методом определения АНА в сыворотке крови является НРИФ (непрямой реакции иммунофлюоресценции) с использованием в качестве субстрата клеток HEp-2 (НРИФ-HEp-2), «золотой стандарт» согласно рекомендациям EULAR [29].

Аутоантитела – ключевые критерии диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний

Аутоантитела, включенные в диагностические и/или классификационные критерии аутоиммунных ревматических заболеваний, представлены в таблице 4.

Таблица 4. Аутоантитела, включенные в диагностические и/или классификационные критерии аутоиммунных ревматических заболеваний

Заболевание	Аутоантитела	Диагностические и/или классификационные критерии АРЗ
Ревматоидный артрит (РА)	Ревматоидный фактор (РФ), Антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ)	Классификационные критерии ACR/EULAR (2010)
Системная красная волчанка (СКВ)	Антиядерные антитела (АНА), Антитела к двухспиральной (дс) ДНК (анти-дсДНК), Анти-Sm, Анти-SSA/Ro, Анти-SSB/La, Антифосфолипидные антитела (АФЛ): Антитела к кардиолипину (АКЛ) <ul style="list-style-type: none"> • Антитела к β_2-гликопротеину I ($\alpha\beta_2$-ГП I) • Волчаночный антикоагулянт (ВА) • Ложноположительная реакция Вассермана Прямая проба Кумбса (в отсутствии гемолитической анемии)	Классификационные критерии SLICC (2012)
Системная склеродермия (ССД)	АНА, Антитела к топоизомеразе I (Scl-70), Антицентромерные антитела (АЦА) к CENP-A, CENP-B, CENP-C, Антитела к РНК-полимеразе III (анти-РНК-полимераза III)	Классификационные критерии ACR/EULAR (2013)
Синдром Шегрена (СШ)	Анти-SSA/Ro, Анти-SSB/La, РФ, АНА	Классификационные критерии ACR (2012)

Смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ)	Анти-U1RNP	Диагностические критерии(1996)
Недифференцированное заболевание соединительной ткани	АНА	Предварительные классификационные критерии(1997)
Антифосфолипидный синдром(АФС)	ВА, АКЛа, β_2 -ГП	Классификационные критерии (консенсус;2006)
Системные васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-СВ)	АНЦА, Антитела к протеиназе3 (анти-ПР3), Антитела к миелопероксидазе (анти-МПО)	Классификационные критерии (консенсус;2007)

Комплекс иммунологических и молекулярно-биологических методов ранней диагностики РА представлен в таблице 4.

Таблица №5. Комплекс иммунологических и молекулярно-биологических методов ранней диагностики РА

№	Исследование	Метод проведения
1	определении аутоантител (АЦБ, антитела к цитруллинированному виментину – АЦВ, IgM и IgA РФ)	иммуноферментным анализ (ИФА);
2	определение белков острой фазы воспаления (СРБ и др.)	высококочувствительным иммунонефелометрическим методом
3	олиготипирование генов (HLA-DRB1 и его аллелей, так называемый shared эпитоп – SE)	использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР);
4	оценка экспрессии информационной РНК (иРНК) цитокинов в мононуклеарных клетках периферической крови и синовиальной жидкости человека	методом ПЦР в режиме реального времени

5	определение концентрации цитокинов в биологических жидкостях	использованием ИФМ и мультиплексного анализа (xMAP)
---	--------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------

Из 36 биомаркеров выделены наиболее «сильные» предикторы раннего РА, а именно:

- увеличение концентрации ИЛ-6,
- СРБ,
- гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМКСФ),
- интерферона γ (ИФН- γ),
- ИФН γ -индуцибельного белка,
- АЦБВ -антитела к цитруллинированному белку виментину

Таблица №6. Биомаркеры, отражающие патогенетические механизмы РА

1	провоспалительные цитокины/рецепторы (ИЛ-6, ФНО- α рецептор типа I),
2	факторы роста (эпидермальный фактор роста, сосудистый эндотелиальный фактор роста A),
3	ММП1, ММП3 - матриксные металлопротеиназы
4	цитоскелетный белок (YKL1),
5	сосудистая молекула адгезии 1
6	острофазовые белки (СРБ и SAA),
7	гормоны (лептин и резистин).

2.3 Диагностические скрининговые и подтверждающие тесты при различных аутоиммунных заболеваниях в Центре аутоиммунной диагностики АО «ННМЦ»

С учетом современных достижений лабораторной медицины, патогенетических механизмов АИЗ в настоящее время на базе Национального научного медицинского центра (ННМЦ, г. Нур-Султан) внедрены иммунологические и молекулярно-биологические методы диагностики аутоиммунных заболеваний с использованием высокотехнологичных автоматизированных систем.

Имеется около 200 разновидностей антител к нуклеопротеинам и рибонуклеиновым кислотам, которые получили название антинуклеарный фактор (АНФ). Исследование антинуклеарного фактора (АНФ) представляет собой основной метод выявления антинуклеарных антител, позволяя выявлять аутоантитела к нуклеиновым кислотам (дсДНК, осДНК, РНК), к растворимым компонентам ядра клетки

рибонуклеопротеинам, а также большинству конформационных и нерастворимых антигенов.

Определение АНФ методом непрямой флюоресценции является "золотым стандартом" выявления антинуклеарных антител (АНА) и диагностики аутоиммунных заболеваний

В норме АНА отсутствуют в организме. При аутоиммунной патологии иммунная система начинает вырабатывать специфические иммуноглобулины к собственным клеткам и их компонентам

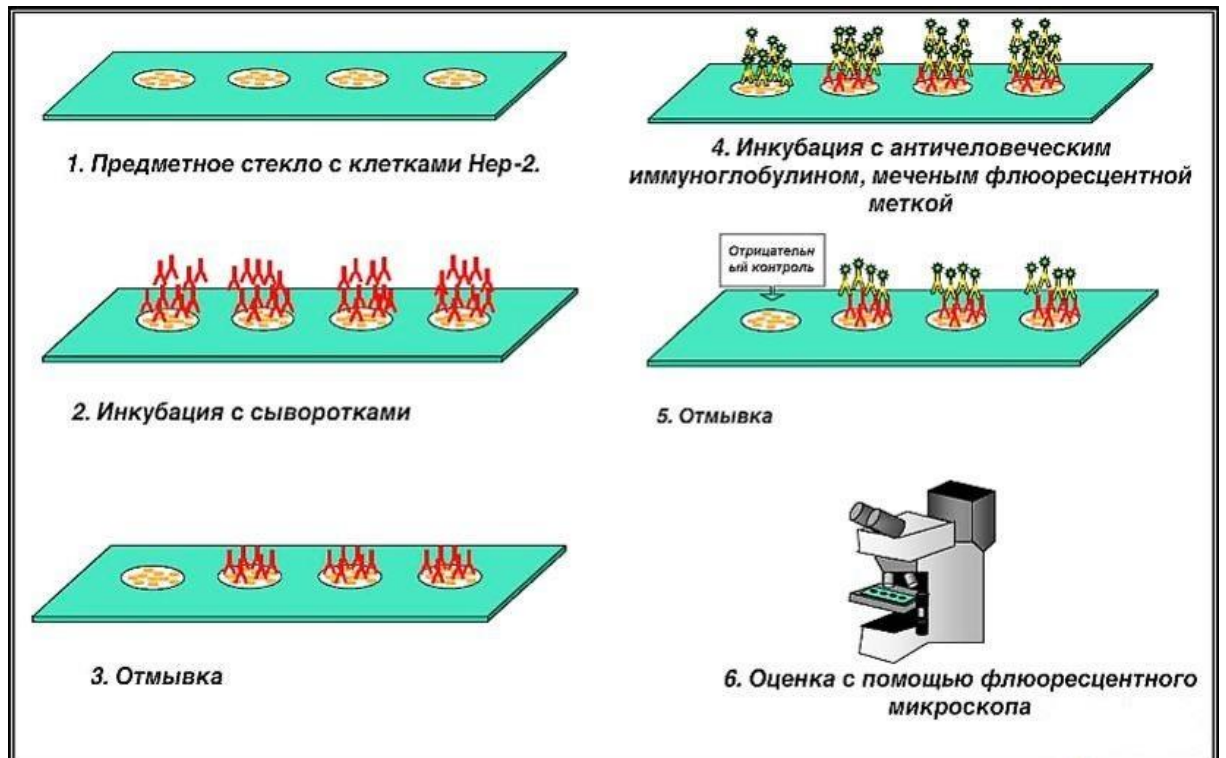
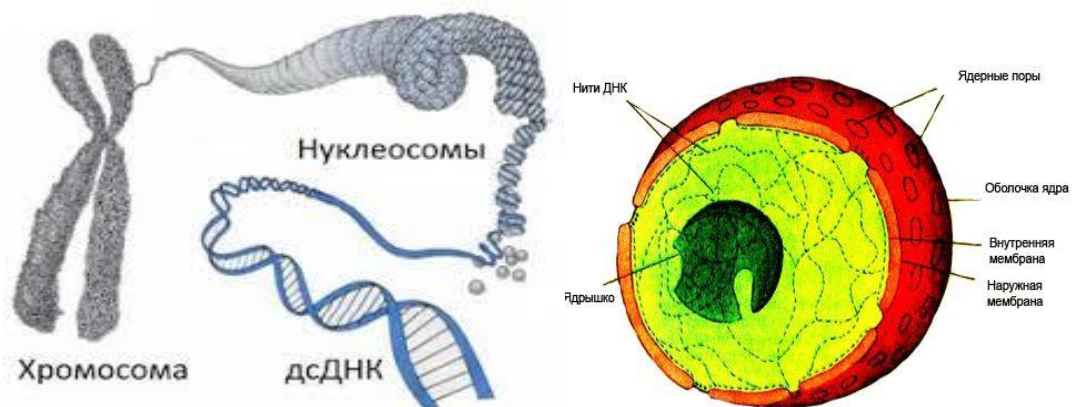


Рис. 3 Схема проведения реакции непрямой иммунофлюоресценции



Основные антигены антинуклеарных антител



Рис.4 Основные антигены антинуклеарных антител

Современная номенклатура ICAP 2014 типов свечения антинуклеарного фактора

Международная согласительная группа по типам свечения была основана на секции в рамках Международного семинара по Аутоиммунитету и аутоантителам (IWAA) в Сан-Паоло, Бразилии, в 2014 году.

Результатом этой работы стало формирование обобщенной номенклатуры и описания типов свечения АНФ, базы микрофотографий, а также классификации с делением на уровни компетентности при оценке типов свечения.

Для популяризации результатов работы Согласительной группы ICAP был создан сайт в интернете <https://www.anapatterns.org>, на котором была представлена номенклатура с подробным описанием типов свечения, которая на сегодняшний день насчитывает 30 типов свечения, включая отрицательный (#AC-0).

Определение антинуклеарного фактора (АНФ) на HEp-2 клетках

Лучшим объектом субстратом для выявления антинуклеарных антител методом ИРИФ признана клеточная линия HEp-2, которая существенно улучшает чувствительность теста за счет яркой флуоресценции даже при значительных разведениях сыворотки больного,

а большое, богатое эухроматином ядро позволяет точно описать тип свечения.

Результат оценивается с помощью флюоресцентного микроскопа.

При обнаружении антинуклеарного фактора (АНФ) окрашиваются ядра клеток, при выявлении антинейтрофильных АТ, свечение локализуется в цитоплазме нейтрофилов

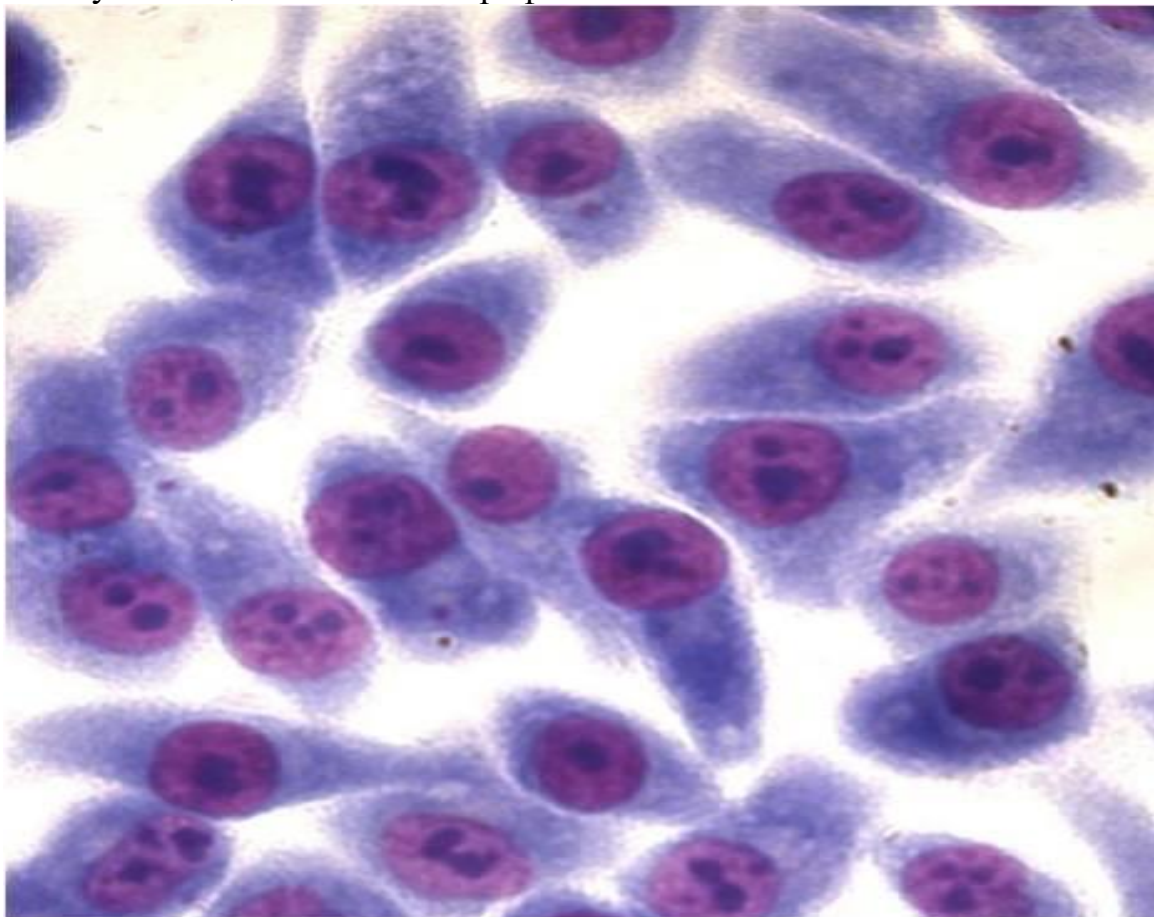


Рис. 5 Клетки клеточной линии HEp-2, окрашенные гематологическим красителем.

Таблица №7. Сравнительные характеристики нРИФ и ИФА

Метод	нРИФ	ИФА
Определяемый параметр	Аффинно-зависимый	Концентрационно-зависимый
Содержание IgG	Не зависит	зависит
Число мишеней	Много антигенов	Один антиген
Денатурация антигена	редко	часто
Реакции с блокирующим в-вом	Редко	Часто
Растворимый антиген	Не используется	Используется
Автоматизация	Плохо	Хорошо

Таблица 8. Перечень исследований, проводимых в Центре аутоиммунной диагностики АО «ННМЦ»

Диффузные болезни соединительной ткани (ДБСТ) и Антифосфолипидный синдром (АФС)	
1	Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
2	Определение высокоаффинных антител к дсДНК на клетках <i>C. Luciliae</i>
3	Скрининг болезней соединительной ткани: АНФ и ANA-18 иммуноблот (дсДНК, Sm, рибосомы, гистоны, RNP, SS-A 60 kDa, SS-A 52 kDa, SS-B, Scl-70, CENP-B, Jo-1, AMA-M2, f-Actin, PCNA, PMScl-100)
4	Развернутая диагностика антифосфолипидного синдрома: АФС-иммуноблот IgG и IgM (10 антигенов- кардиолипин, фосфатидиловая кислота, фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, аннексин V, β 2-GP-1 и протромбин)
5	Обследование при СКВ: дсДНК на клетках <i>Crithidia luciliae</i> , АНФ и АФС-иммуноблот IgG и IgM (10 антигенов: кардиолипин, фосфатидиловая кислота, фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, аннексин V, β 2-GP-1 и протромбин)
6	Пакет "Скрининг на аутоиммунные ревматические заболевания" (АНФ, ANA-8 иммуноблот, дсДНК, ANCA)
7	Пакет "Скрининг на аутоиммунные воспалительные миопатии и системные склерозы" (АНФ, ANA-иммуноблот (Sm, Sm/RNP, SS-A/Ro SS-B/La, Scl-70, PM-Scl, CENP-A/B, Jo-1, PL-7, PL-12, SRP, Ku, Mi-2, PCNA))
8	Пакет "Скрининг на Антифосфолипидный синдром" (АНФ, ANA-8 иммуноблот, АФС-иммуноблот IgM/IgG (суммарные антитела))
Ревматоидный артрит и поражения суставов	
9	Антитела к циклическому цитруллин-содержащему пептиду (anti-CCP/АЦЦП)
10	Определение ревматоидного фактора (РФ)
Васкулиты и аутоиммунные поражения почек	

11	Дифференциальная диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и васкулитов: ANCA антитела с описанием тип свечения и титра, с определением трёх антител (антитела к базальной мембране клубочка (GBM), анти-PP3, анти-MPO)
12	Диагностика аутоиммунного поражения почек: АНФ HEp2, ANCA антитела с описанием тип свечения и титра, с определением трёх антител (антитела к базальной мембране клубочка (GBM), анти-PP3, анти-MPO)
13	Пакет "Скрининг на аутоиммунные васкулиты и аутоиммунные поражения почек" (АНФ, ANA-8 иммуноблот, ANCA антитела с описанием тип свечения и титра, с определением трёх антител (антитела к базальной мембране клубочка (GBM), анти-PP3, анти-MPO))
Аутоиммунные поражения печени и ЖКТ	
14	Скрининг аутоиммунных заболеваний ЖКТ: АНФ HEp2; определение антиядерных, антимитохондриальных, антигладкомышечных, антипариетальных антител (ANA/AMA/ASMA/APCA)
15	Иммунодот для дифференциальной диагностики аутоиммунных заболеваний печени, IgG (антитела к gp210, sp100, LKM1, M2, SLA, F-actin, LC1)
16	Пакет "Скрининг на аутоиммунные заболевания печени и ЖКТ" (АНФ, ANCA, антимитохондриальных, антигладкомышечных, антипариетальных антител (ANA/AMA/ASMA/APCA), Иммуноблот (к AMA-M2, gp210, sp100, LKM1, LC1, SLA и F-актину))
17	Пакет "Скрининг на целиакию и аутоиммунные гастриты" (АНФ, ANA-8 иммуноблот; антитела к эндомиозию, антитела к тканевой трансглутаминазе, антитела к деамидизированному пептиду глиадина; антител к внутреннему фактору и антигену обкладочных клеток)
Неврологические заболевания	
12	Развернутое обследование при полиневритах: (АНФ HEp2; ANA-иммуноблот (дсДНК, Sm, рибосомы, гистоны, RNP, SS-A 60 kDa, SS-A 52 kDa, SS-B, Scl-70, CENP-B и Jo-1); Антитела к ганглиозидам классов IgG и IgM (сульфатида, GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GQ1b, GT1a, GT1b))
13	Тест для диагностики полинейропатий: Антитела к ганглиозидам классов IgG и IgM (сульфатида, GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GQ1b, GT1a, GT1b)
14	Тест для диагностики миастении. Антитела к ацетилхолиновым рецепторам AхР (AсhR)
15	Пакет "Скрининг на аутоиммунный миастенический синдром" (АНФ, ANA-8 иммуноблот, антител IgG к антигенам скелетных мышц SkMA, антитела к MuSK)
16	Пакет "Скрининг на аутоиммунные полинейропатии" (АНФ, ANA-8 иммуноблот; суммарные антитела к ганглиозидам IgM/IgG)
Аутоиммунные эндокринопатии	

17	Пакет "Скрининг на аутоиммунные эндокринопатии" (АНФ, ANA-8 иммуноблот, антитела к островковым клеткам IgG, антитела к антигенам коры надпочечников IgG)
Аутоиммунные поражения кожи (пузырчатки)	
18	Пакет "Скрининг на аутоиммунные поражения кожи" (АНФ, ANA-8 иммуноблот, ANCA (anti-MPO, anti-PR3, anti-GBM); антитела к кожным антигенам ASA IgG (anti-VM, anti-ICS))

2.4 Диффузные заболевания соединительной ткани (ДБСТ) и Антифосфолипидный синдром (АФС)

1) Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)

Общая информация об исследовании

Иммунный ответ направлен против нуклеопротеиновых антигенов, т.е. комплексов нуклеиновых кислот и белков, которое видим при системной красной волчанке (СКВ) и других системных ревматических заболеваниях. Данные эндогенные нуклеопротеиновые аутоантигены могут образовываться в процессе апоптоза эпителиальных клеток, направленного на уничтожение и удаление поврежденной или дефектной клетки. Ускорение процессов апоптоза под действием ультрафиолетового облучения, вирусных инфекций или лекарственных препаратов, одновременно с нарушенным или замедленным удалением продуктов апоптоза, запускает аутоиммунные ответы при СКВ. Нуклеопротеиновые антигены конденсируются в апоптотических тельцах, которые становятся мишенью для аутоантител.

При определении АНФ используют эпителиальные клетки аденокарциномы гортани человека HEp-2. Клетки HEp-2 имеют крупное ядро и на стеклах растут в один слой, очень удобный субстрат для лабораторного исследования. При добавлении сыворотки пациента с АНА на стекло выявляется флюоресценция (свечение) комплекса Ag+At, которое регистрируется прибором. Антинуклеарные антитела обнаруживают благодаря их связыванию с внутриклеточными антигенами перевиваемой линии клеток эпителия человека (HEp-2). Ядро и цитоплазма клеток HEp-2 содержит все антигены, характерные для человеческой клетки, что позволяет выявлять в одном тесте все основные антинуклеарные антитела.

Метод непрямой реакции иммунофлюоресценции на клеточной линии HEp2 рекомендован в качестве золотого стандарта выявления антинуклеарных антител ведущими экспертами, включая европейские (EASIGroup 2010) и американские группы экспертов (ACRANATaskforce 2008).

Положительный результат АНФ наблюдается более чем у 90% больных с диффузными болезнями соединительной ткани, такими как СКВ и кожные формы этого заболевания, склеродермия и ее разновидности, смешанное заболевание соединительной ткани, синдром Шегрена.

Определение АНФ имеет большое значение в диагностике ювенильного ревматоидного артрита и аутоиммунных заболеваний печени.

Аутоантитела также выявляются при множестве других аутоиммунных (тиреоидит, диабет), инфекционных (вирусный гепатит), воспалительных и онкологических заболеваний.

Встречается АНФ до 1-3% у клинически здоровых людей и несколько возрастает у лиц старше 65 лет.

Повышенный риск развития аутоиммунных заболеваний наблюдаются у лиц с высокими титрами АНФ

Таблица №9. Показания к исследованию АНФ

1	Системная красная волчанка
2	Подострая кожная волчанка и другие разновидности кожной волчанки
3	Смешанное заболевание соединительной ткани
4	Синдром Шегрена и ассоциированные заболевания
5	Диффузная и локализованная склеродермия, CREST синдром
6	Воспалительные миопатии (полимиозит и дерматомиозит)
7	Ювенильный хронический артрит
8	Аутоиммунный гепатит
9	Первичный билиарный цирроз и склерозирующий холангит
10	Полинейропатии и миелит

Важнейшими критериями диагностической оценки аутоиммунных маркеров являются определение титра антител и типа свечения антител

Титр антител **более 1:80** является диагностическим

Вовремя обострения ревматических заболеваний титр превышает **1:640**, а в период ремиссии снижается до **1:160-1:320**. И чем больше антител, тем выше титр.

По типу свечения определяются мишени антинуклеарных антител, которое имеет важное клиническое значение и определяет тактику дальнейшего обследования пациента.

Основные виды свечения: **гомогенный (или диффузный), периферический, гранулярный или крапчатый (мелко-/крупно-), центромерный, ядрышковый (или нуклеолярный), веретенообразный аппарат и цитоплазматический типы** окрашивания ядра. Каждый тип свечения имеет характерные признаки, которые позволяют отличить один вариант от другого.

Определение различных типов свечения свидетельствует о присутствии разных видов антител.

Таблица 10. Типы свечения антител

Тип свечения	Для чего он характерен)	антигены
Гомогенный (диффузный)	<p>Для СКВ (высокие титры), и низкие титры при: ЛВ, ССД, хронического активного гепатита, РА</p> <p>хромосомная область митозных клеток – ярко выраженное свечение</p>	DNA. гистоны
2) Периферический	<p>Для СКВ (высокие титры) обусловлено периферическим распределением хроматина в ядре, связано с АТ к ДНК и характерно для СКВ.</p> <p>Периферический тип свечения необходимо дифференцировать от окрашивания ядерной мембраны, которая присуща аутоиммунным заболеваниям печени.</p> <p>хромосомная область митозных клеток – ярко выраженное свечение</p>	DNA. гистоны
3) Гранулярный/крапчатый/ в некоторых источниках сетчатый	<p>Гранулярный тип окрашивания встречается очень часто и является наименее специфичным, свойственно многим аутоиммунным заболеваниям. Аутоантигенами являются нуклеопротеиновые комплексы в ядре:</p> <p>Sm (СКВ), nRNP (MCTD) - грубо-крапчатое свечение, хромосомная область митозных клеток отрицательная. Для СКВ, синдрома Шегрена.</p> <p>SS-A, SS-B – крапчатое свечение с равномерным распределением, хромосомная область митозных клеток отрицательная. Очень часто при первичном синдроме Шегрена, реже при СКВ, SS-A – очень часто при</p>	Sm, nRNP, SS-A, SS-B -Scl-70, PCNA

	<p>неонатальной волчанке и врожденной блокаде сердца.</p> <p>Sc1-70 – мелко-крапчатое свечение, хромосомная область митозных клеток положительная. Маркер ПСС.</p> <p>PCNA – мелко-/крупно-крапчатое свечение, хромосомная область митозных клеток положительная или отрицательная.</p> <p>Обнаруживается в небольшом процентном соотношении при СКВ.</p> <p>Очень высокие титры АНФ с крупногранулярным типом свечения характерны для смешанного заболевания соединительной ткани.</p>	
4) Центромерный	<p>хромосомная область митозных клеток отрицательная. Для формы склеродермии – CREST-синдрома или синдроме Тибьержа-Вейсенбаха, реже при диффузной склеродермии и синдроме Рейно.</p>	<p>Центроме ра белков хромосом, NSP- 1(SP100)</p>
5) Ядрышковый / нуклеолярный	<p>Высокие титры выявляется при ПСС, полимиозита/дерматомиозита, низкие титры при синдроме Рейно, синдроме первичного Шегрена.</p>	<p>РНК- полимераза- 1, NOR, U₃RNP, PMScI, фибриллар ин</p>
6) Веретенообразный аппарат	<p>Сеть из тонких нитей, которые соединяют друг с другом центросомы в митозных клетках. Редкий тип свечения характерен при ряде аутоиммунных и других заболеваниях: РА, СКВ, РВС, синдром запястного канала.</p>	<p>Веретеноо бразные нити в митозных клетках</p>

<p>7) Цитоплазматический</p>	<p>Гранулированное или нитевидное свечение в цитоплазме. Рибосомные антитела RNP – характерно в некоторых случаях при СКВ, рекомендовано подтверждение – проведение теста на других срезах ткани. Jo-1 (PL-7,PL-12) - дерматомиозит/полимиозит Митохондрии - маркер аутоиммунного заболевания печени, первичного билиарного цирроза Цитоскелет (актин, виметин, тубулин) – различные АИЗ, часто при аутоиммунном гепатите и инфекционных заболеваниях.</p>	<p>Рибосомные антитела RNP, Jo-1 (PL-7,PL-12), митохондрии, цитоскелет(актин, виметин, тубулин)</p>
-----------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Типы свечения

ЯДЕРНЫЕ ТИПЫ СВЕЧЕНИЯ

Крупногранулярный тип свечения ядра (АС-5) указывает на наличие антинуклеарных антител против U1/RNP, Sm. Характерно для смешанного заболевания соединительной ткани, СКВ, системной склеродермии (ССД).

Гомогенный тип свечения ядра (АС-1) указывает на наличие антинуклеарных антител против нуклеосом, двуспиральной ДНК и гистонов. Характерны для СКВ, лекарственной волчанки, системной склеродермии, хронического активного гепатита.

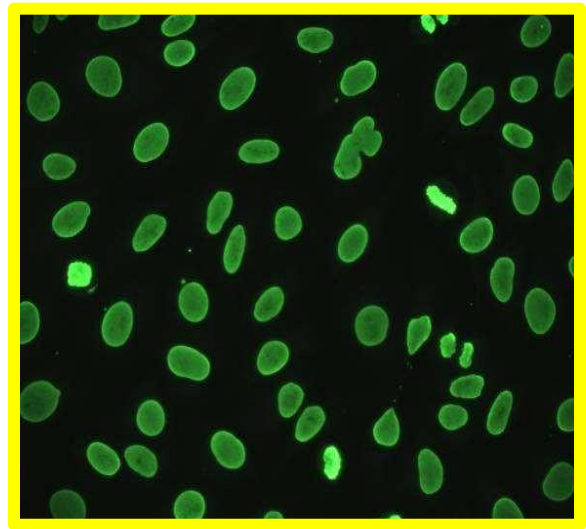


Рис. 6 Гомогенный тип свечения АНФ

Иммуноблот АНА -Антитела к дсДНК Sm-антиген
 Антитела к нуклеосомам
 Антитела к кардиолипину

Основными структурными единицами хроматина являются нуклеосомы - комплексы ДНК и гистонов. Таким образом, гомогенный тип свечения предполагает наличие антител против нуклеосом, двуспиральной ДНК и гистонов.

Обычно обнаружение высокого титра АНФ с гомогенным типом свечения указывает на диагноз «системная красная волчанка».

Таблица №11. Гомогенный тип свечения АНФ

Заболевания	Основные антигены	Встречаются антигены
СКВ	дсДНК 50%,	
Лекарственная волчанка/ васкулиты	Гистоны 30%	RNP/Sm 10%
Аутоиммунный гепатит		
Склеродермия	Нуклеосомы 60%	SSA 60 20%
Ювенильный идиопатический артрит		SSA 52 (белок лигазы) 25%

Мелкогранулярный / гомогенный тип свечения ядра (частично положительное ядрышко) указывает на наличие антинуклеарных антител против Scl-70. Характерно для системной склеродермии (ССД), системный склероз с диффузным поражением кожи и внутренних органов.

Мелкогранулярный тип свечения ядра (AC-4) указывает на наличие антинуклеарных антител против SS-A (Ro), SS-B (La). Характерно для Синдрома Шегрена, СКВ, дерматомиозита, ревматоидного артрита, системной склеродермии (ССД), подострой кожной красной волчанки.

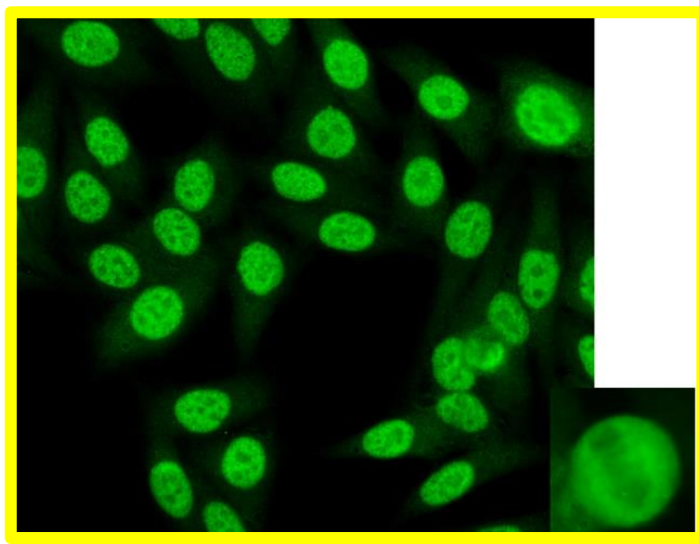


Рис. 7 Гранулярный тип свечения

Гранулярный тип является наиболее часто встречающимся и, одновременно, наиболее неспецифическим. Иногда этот тип свечения в отечественной литературе называют «крапчатым» или «сетчатым» заболеваний.

Выявления очень высоких титров АНФ (1:2560-1:10240) с *крупногранулярным типом* свечения ядра обычно указывает на диагноз смешанного заболевания соединительной ткани и требует дообследования для выявления RNP-антигена, который является основным серологическим маркером этого заболевания

Таблица №12. Гранулярный тип свечения

Заболевания	Основные антигены
СКВ, кожная КВ	RNP 60% Sm 30% SSA-60 20% SSA-52 40% SSB 20%
СЗСТ	
с. Шегрена	
РА	
Системная склеродермия	
Дерматомиозит	
Полимиозит	

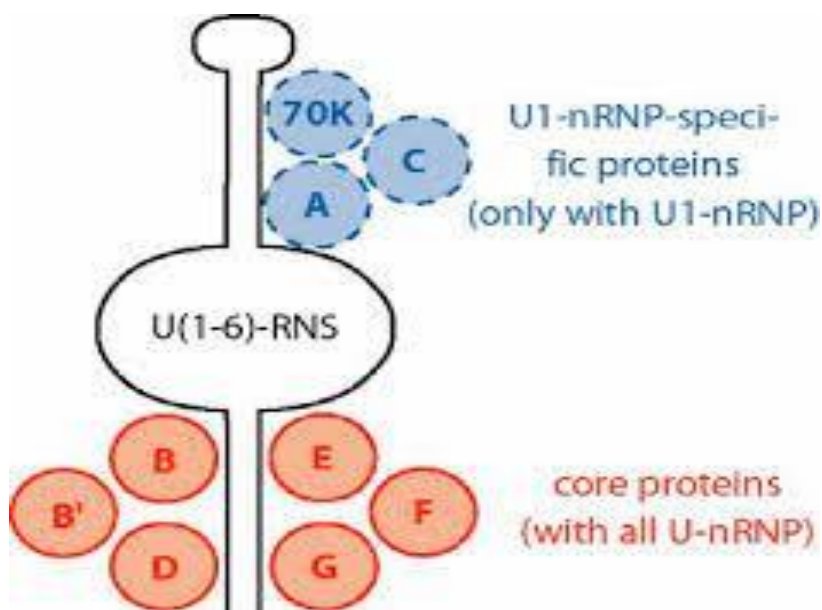
Антитела к рибонуклеопротеинам (RNP-Sm комплекс)

Крупные ядерные гранулы— крупногранулярный тип свечения ядра
 Состоит из комплекса нуклеиновой кислоты (РНК) и белков, составляющих антигены RNP (U1-RNP) в оболочке и Sm — антиген в сердцевине

Sm —встречается изолировано основной маркер СКВ

U1-RNP —встречаются совместно с Sm —основной серологический маркер смешанного заболевания соединительной ткани

Антитела к рибонуклеопротеинам: SSA/SSB комплекс



Мелкогранулярный тип свечения —наиболее частый
Антигены растворимы— утрачиваются из HEp2 клеток

3 антигена:

zSS-A 52 kDa —Ro 52

zSS-A 60 kDa —Ro 60

zSS-B/La

SSA 52 —наиболее частое АНА, неспецифичный, маркер большинства аутоиммунных заболеваний

SS-A/60 —изолировано—СКВ, совместно с SS-B —синдром Шегрена

Таблица №13. Другие рибонуклеопротеины

Рибонуклеопротеины	Заболевания
Scl-70— антисклеродермальный антитела фрагмент топоизомеразы-1	маркер диффузной склеродермии
CENT A,B,C - центромеры	CREST синдром
PCNA-белок циклин p32 - белок ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA).	маркер СКВ
RiboP —белок рибосом	Нейролюпус

Белок Ku —белки ядерного матрикса	СКВ
Белки ядрышка—PM (полимиозит)- Scl, фибриллярин, NOR	Склеродермия
Jo-1 -тРНК-синтетазы (антитела к гистидин-тРНК-синтетазе)	Полимиозит
Mi2 —240 кДа белок ядра	Дерматомиозит

Антитела к гистонам и нуклеосомам

Ядро нуклеосомы—H1, H2A/B, H3, H4 —основные мишени H1 и H 2B

Антитела к гистонам и нуклеосомам наиболее встречаются при лекарственной волчанке, склеродермии, аутоиммунном гепатите

При лекарственной волчанке они появляются на фоне лечения и исчезают в течении полугода после отмены

Нуклеосомы представляют основную иммунологическую мишень при СКВ

Антитела к нуклеосомам высоко специфичны, отмечаются у 50-60% больных СКВ, могут использоваться совместно с антителами к дсДНК в диагностики СКВ

Таблица №14. Ядерные типы свечения

Тип свечения	Мишени антител (примеры)	Заболевания
Гомогенный	Хроматин (дсДНК, гистоны)	СКВ, склеродермия
Гранулярный (мелко- ; крупно-)	Нуклеопротеины (RNP, Sm, SS-A, SS-B)	СКВ, смешанное заболевание соединительной ткани, дискоидная и подострая кожная красная волчанка, ревматоидный артрит, ювенильный ревматоидный артрит, синдром Шегрена
Ядрышковый	Антигены ядрышка (фибрилярин)	Диффузная склеродермия
Центромерный	Центромера в хромосоме (CENT-B)	Склеродермия

Цитоплазматический	Антигены цитоплазмы (тРНК-синтетазы, рибосомы, органеллы)	Аутоиммунные заболевание печени, системная красная волчанка, полимиозит
Цитоплазматический (митохондриальный)	Антигены митохондрий (антигены пируват-декарбоксилазного комплекса)	Первичный билиарный цирроз
Точки в ядре	Нуклеопротеины	Аутоиммунные заболевание печени

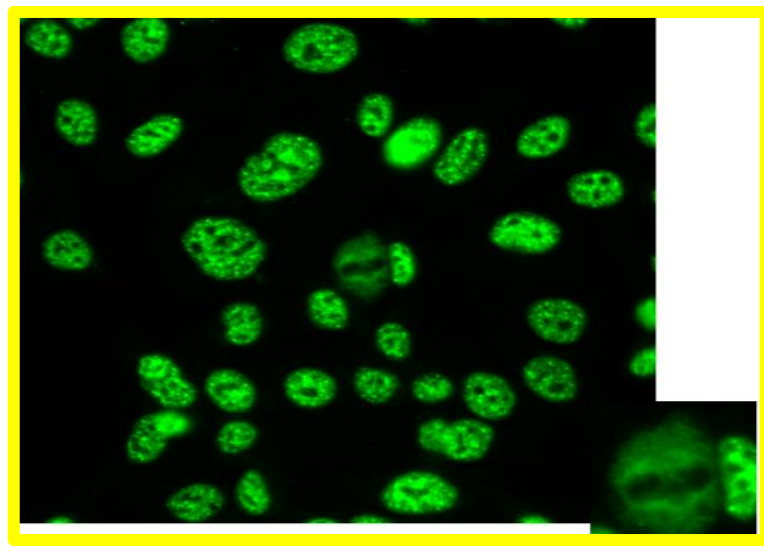


Рис.8 Ядерный тип свечения гранулярный (крупное крапчатое)

Таблица №15. Ядерный тип свечения гранулярный (крупное и мелкое крапчатое)

Ядерный тип свечения гранулярный		Основные антигены	Встречаются антигены
Заболевания (крупное крапчатое свечение)	Заболевания (мелкое крапчатое свечение)		
Системная красная волчанка	Системная красная волчанка	дсДНК 50%, Гистоны 30% Нуклеосомы 60%	RNP/Sm 10% SS-A/60 20% SS-A/52 (белок)
Смешанное заболевание соединительной ткани	синдром Шегрена		
синдром Рейно	Смешанное заболевание соединительной ткани		

Системная склеродермия	Воспалительные миопатии		лигазы) 25%
синдром Шегрена			
Недифференцированное заболевание соединительной ткани			

Ядрышковый гомогенный тип свечения ядра (АС-8) указывает на наличие антинуклеарных антител против PM-Scl. Характерно для системной склеродермии (ССД), дерматомиозита, подострой кожной красной волчанки.

Ядрышковый глыбчатый тип свечения ядра (АС-9) указывает на наличие антинуклеарных антител против U3-snoRNP/фибрилларин. Характерно для системной склеродермии (ССД).

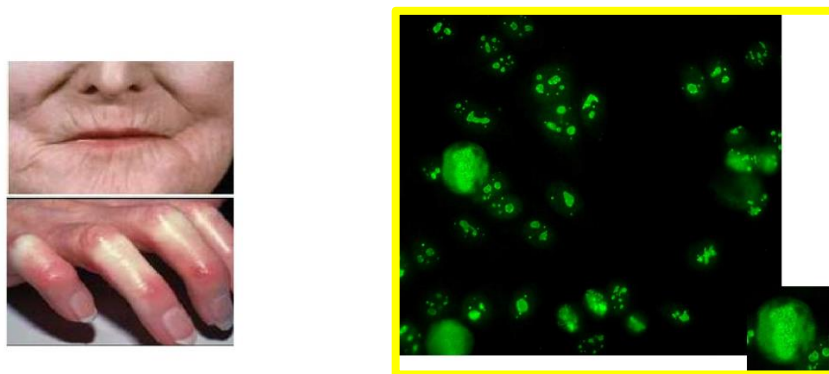


Рис. 9 Ядрышковый тип свечения

Таблица №16. Ядрышковый тип свечения

Ядрышковый тип свечения		
Заболевания	Основные антигены	Другие
Диффузная склеродермия	Sc170 4/10 PM-Scl 1/10	SSA52 –3/10
Дерматомиозит		

Центромерный тип свечения ядра (АС-3) (Dots>30) указывает на наличие антинуклеарных антител против CENP-A, B. Характерно для системной склеродермии (ССД), первичного билиарного цирроза (ПБЦ), Синдрома Шегрена.



Рис.10 Центромерный тип свечения

Таблица №17. Центромерный тип свечения

Центромерный тип свечения		
Заболевания	Основные антигены	Другие
Диффузная склеродермия	Cenp-B 95% Scl-70 20%	PM-Scl 1/12 SSA 52 3/12
CREST синдром		

Множественный тип свечения ядра (точки в ядре, AC-6 Dots 6-20) указывает на наличие антинуклеарных антител против Sp-100. Характерно для первичного билиарного цирроза (ПБЦ), диффузной болезни соединительной ткани (ДБСТ), дерматомиозита.

Гомогенный тип свечения ядра с тонким линейным свечением ядерной мембраны (AC-11) указывает на наличие антинуклеарных антител против Lamín (ламинаы А, В, С, или ламин-ассоциированные белки). Характерно для СКВ, Синдрома Шегрена, серонегативного артрита.

Плеоморфный гранулярный тип свечения ядра, S-фаза – положительно (AC-13) указывает на наличие антинуклеарных антител против PCNA (Антитела к ядерному антигену пролиферирующих клеток). Характерно для СКВ, других состояний.

Плеоморфный мелкогранулярный тип свечения ядра, G-2 фаза положительно (AC-14) указывает на наличие антинуклеарных антител против CENP-F. Характерно для онкологических заболеваний и других состояний.

Мелкогранулярный тип свечения ядра (AC-26, chromatinnegative, spindle (митотическое веретено) positive) указывает на наличие антинуклеарных антител против NUMA 1 (антитела к митотическому аппарату клетки). Характерно для СКВ, системной склеродермии (ССД), Синдрома Шегрена, смешанных заболеваний соединительной ткани, ревматоидного артрита, первичного билиарного цирроза (ПБЦ).

Цитоплазматические типы свечения

Цитоплазматический мелкогранулярный, диффузное окрашивание цитоплазмы, наложение крупных точек (АС-20) указывает на наличие антинуклеарных антител против Jo-1. Характерно для «антисинтетазный синдром», полимиозита, дерматомиозита, локальной ССД, идиопатического плеврального выпота.

Полярное цитоплазматическое окрашивание с одной стороны, комплекс Гольджи в цитоплазме (АС-22) указывает на наличие антинуклеарных антител против гиантин/макрогольджин, гольджин-95/GM130, гольджин-160, гольджин-97, гольджин-245. Характерно для Синдрома Шегрена (РЕДКО), СКВ, ревматоидного артрита, диффузной болезни соединительной ткани (ДБСТ), гранулематоз Вегенера, идиопатической мозжечковой атаксии, паранеопластической мозжечковой дегенерации, вирусных инфекциях.

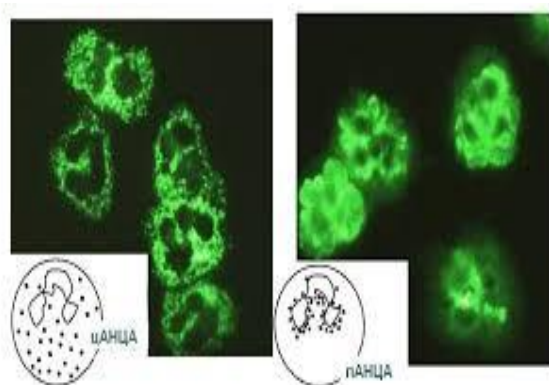


Рис.11 Гранулематоз Вегенера и АНЦА-ассоциированные васкулиты



Рис. 19.2. Гранулематоз Вегенера правой орбиты

Таблица №18. Антитела к МРО (миелопероксидазе) встречаются при целом ряде васкулитов

Заболевания	Антитела
GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера)	сАНСА рАНСА МРА- рАНСА
Эозинофильный гранулематоз с полиангититом (EGPA, ранее синдром Чарга-Стросса)	
Микрополиангиопатии	
Узелковым полиартериите	
Антитела также обнаруживаются при гломерулонефритах, например, при быстропрогрессирующем гломерулонефрите	

Цитоплазматическое свечение от мелкогранулярного до гомогенного, точки в ядре (смешанный тип) указывает на наличие антинуклеарных антител против Ribosomal phosphoproteins, Coilin.
 Характерно для СКВ, системной склеродермии (ССД), Синдрома Шегрена, первичного билиарного цирроза (ПБЦ).

Дифференциальная диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и васкулитов:

- антитела к базальной мембране клубочка (БМК), анти-ПРЗ, анти-МПО

- антитела к базальной мембране клубочков почек IgA, IgM, IgG (анти-БМК, Glomerular Basement Membrane IgA, IgM, IgG antibody, anti-GBM)

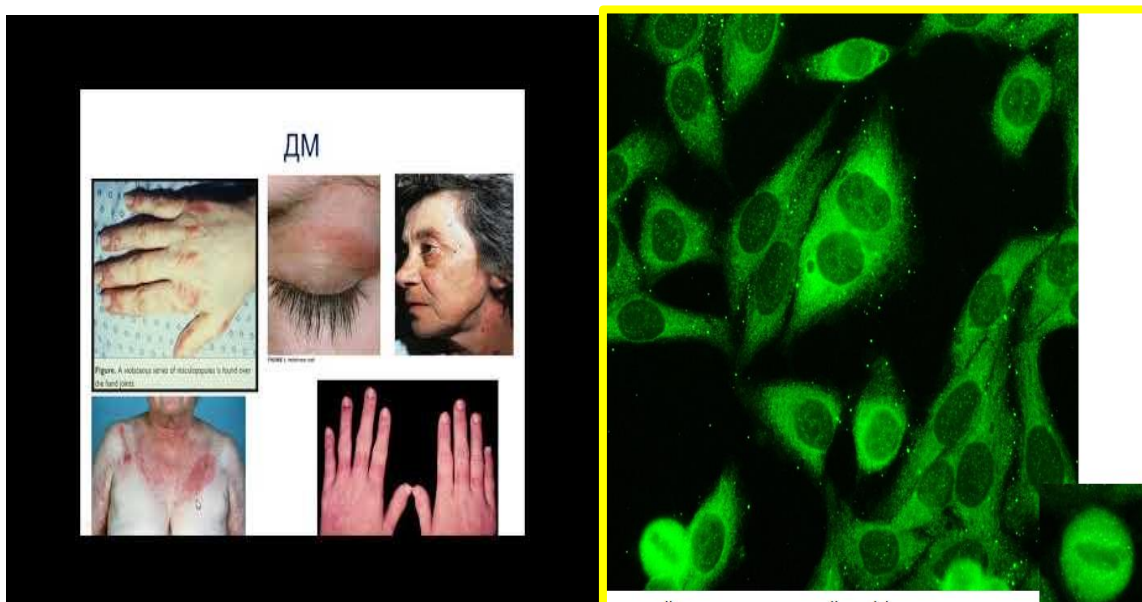


Рис.12 Цитоплазматическое мелкое крапчатое свечение. Дерматомиозит

Таблица №19. Цитоплазматическое мелкое крапчатое свечение

Клинические варианты	Заболевания	Повышение мышечных ферментов	Диагностика
Симметричная слабость проксимальных мышц верхних и нижних конечностей	Системная красная волчанка	КФК, ЛДГ, альдолазы	АНФ с диффузным цитоплазматическим свечением

Симметричная слабость проксимальных мышц верхних и нижних конечностей	Воспалительные миопатии	Данные ЭНМГ	Иммуноблот АНА при полимиозите
Поражение мышц глотки, гортани, пищевода	Первичный билиарный холангит		Антитела Jo1 (антитела к гистидину),
Поражение мышц глотки, гортани, пищевода			SRP (сигнал распознающая частица), Mi-2
Миалгии, отек мышц			
Кожные проявления			

При получении отрицательного результат в 90% исключает диагноз аутоиммунных заболеваний: СКВ, диффузной склеродермии, синдрома Шегрена, CREST-синдрома, СЗСТ, вторичного АФС; и в 80% исключает наиболее частые формы аутоиммунного поражения печени. АНФ встречается отрицательным у единичных больных СКВ, кожными формами красной волчанки, полимиозитом, АФС, и конечно требует назначения дополнительного обследования. Отсутствие антител к нуклеосомам значительно снижает вероятность СКВ, в том числе таких клинических проявлений как волчаночный нефрит, однако не исключает наличие у больного кожных форм волчанки.

Митохондриальный / ретикулярный тип свечения цитоплазмы (большие цитоплазматические точки, расположенные в нитевидной сети) (АС-21) указывает на наличие антинуклеарных антител против АМА-M2. Характерно для первичного билиарного цирроза (ПБЦ).

Повышение АНА наблюдается при эндокринных заболеваниях (сахарном диабете 1-го типа, тиреоидите, тиреотоксикозе, полиэндокринном синдроме), кожных заболеваниях (псориазе, пузырчатке), при беременности, после трансплантации органов и тканей, у больных на гемодиализе.

Важнейшими критериями диагностической оценки аутоиммунных маркеров являются определение титра антител и типа свечения антител **Диагностически значимым считается титр антител более 1:80.**

При обострении ревматических заболеваний он превышает 1:640, 1:1280, а в период ремиссии снижается до 1:160-1:320. Чем больше антител, тем выше титр.

По типу свечения можно установить мишени антинуклеарных антител, что имеет важное клиническое значение и определяет тактику дальнейшего обследования пациента.

Таблица №20. Причинами повышения титра АНФ на Нер-2 клетках являются

№	Заболевания
1	Системная красная волчанка (в 95 % случаев)
2	Дерматомиозит/полимиозит
3	Системная склеродермия (в 60-90 % случаев)
4	Синдром Шегрена (в 40-70 % случаев)
5	Смешанное заболевание соединительной ткани (синдром Шарпа)
6	Синдром Рейно
7	Дискоидная волчанка
8	Лекарственная волчанка
9	Ревматоидный артрит
10	Некротизирующий васкулит
11	Инфекционный мононуклеоз
12	Лейкемия
13	Злокачественные новообразования (преимущественно лимфома)
14	Тяжелая миастения
15	Инфекционный эндокардит
16	Хронический аутоиммунный гепатит
17	Первичный билиарный цирроз печени
18	Туберкулез
19	Пневмокониоз
20	интерстициальный фиброз легких

Таблица №21. Ложноположительному результату способствуют:

№	Причины
	Возраст старше 60-65 лет в 10-37 % случаев
	Применение лекарственных препаратов, которые могут привести к лекарственной волчанке ацетазолamid, карбидопа, хлоротиазид, хлорпромазин, клофибрат, этосуксимид, соли золота, гризеофульвин, гидралазин, изониазид, соли лития, метилдопа, пероральные контрацептивы, пенициллин, фенилбутазон, фенитоин, примидон, прокаиnamид, пропилурацил, хинидин,

	резерпин, сульфаниламид, тиазидные диуретики	стрептомицин, тетрациклин,
Прием глюкокортикостероидов	преднизолон, дексаметазон, метипред	

Важные замечания

- При СКВ в 5 % случаев встречается отрицательный результат данного исследования (АНФ-отрицательная СКВ). Тогда для уточнения диагноза необходимо определить антитела к SS-антигенам (Ro).
- Положительный результат теста не всегда может быть абсолютным доказательством наличия аутоиммунного заболевания. У здоровых людей в 3-13 % случаев титр АНФ повышен и достигает 1:320.
- Поэтому результаты теста необходимо оценивать в комплексе с клиническими данными и другими лабораторными показателями.
- Для верификации диагноза при положительном результате исследования рекомендуется определить специфичность АНА иммуноблотом.

При повышении титра антител сыворотки, при положительном результате анализа характерен тип свечения ядра. Это объясняется широким спектром антител, которые находят свои мишени внутри клетки. Наблюдается более 40 типов свечения, однако в клинической практике используется 6 из них: гомогенный, периферический, гранулярный, ядрышковый, центромерный и цитоплазматический

Референсные значения: <1:80 отрицательно

Встречается описание 2-х типов свечения, при котором один в низких титрах маскирует другой. Тогда, при выявлении положительного результата АНФ необходимо установить антигенные мишени антинуклеарных антител, с помощью дополнительных тестов, как определение антител к двуспиральной ДНК и антител к нуклеосомам, иммуноблота антинуклеарных антител, иммуноблота антител при склеродермии, иммуноблота антител при полимиозите и определения антител к кардиолипину.

Аутоиммные антитела в диагностике СКВ

Систематические ревматически-воспалительные заболевания, такие как СКВ и ее варианты, являются мультисистемными заболеваниями. Аутоантитела к нативной, двуспиральной ДНК являются патогномичным признаком СКВ и помимо Sm аутоантител, относятся к критериям классификации Американской коллегии ревматологов.

Определение высокоаффинных антител к dsДНК на клетках *Crithidia luciliae*

Определяются методом непрямой иммунофлюоресценции на стекле. Для данного исследования используются простейшие жгутикового микроорганизма *Crithidia luciliae*, они содержат кинетопласт - органеллу, содержащую кольцевую ДНК, которая при **положительном результате теста окрашивается в яркий яблочно-зеленый цвет.**

Определение анти-nDNA методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием *Crithidia luciliae* целесообразно комбинировать с иммуноферментным методом (ИФА). Однако ИФА дает большое количество ложноположительных результатов.

Частота положительного результата антител к nDNA при определении методом непрямой иммунофлюоресценции на клетках *Crithidia luciliae* с использованием данного набора составила для пациентов с СКВ **68%**, склеродермией 0%, с РА 0%, контрольная группа – 0%.

Ат к nDNA специфичны для СКВ и редко встречаются у пациентов, страдающих РА, ССД или другими аутоиммунными заболеваниями. Наблюдается непосредственное участие анти-дсДНК IgG антител в патогенезе развития васкулитов и волчаночного нефрита.

Могут обнаруживаться приблизительно у 40-70% больных в активной фазе (чувствительность – 91%, специфичность – 96%). Встречаемость и титр этик антител колеблется в зависимости от активности заболевания с тенденцией к исчезновению вовремя иммуносупрессирующей терапии и периода ремиссии.

При проведении ежемесячного мониторинга концентрации аутоантител к nDNA позволит предсказать надвигающийся рецидив заболевания. Титры антител тесно коррелируют с концентрацией IgG-содержащих ЦИК в сыворотке крови больных СКВ. Тесты на анти-nDNA и гипокомплементию являются диагностическим инструментом для выявления категории больных с высоким риском развития волчаночного гломерулонефрита. Наблюдается прямая корреляция между нарастанием титра анти-nDNA, выраженностью гипокомплементии и тяжестью волчаночного нефрита.

дсДНК обладает способностью связываться с базальной мембраной почечных клубочков, и приводит к образованию иммунных комплексов непосредственно в клубочках. В данном патогенезе, накопление иммунных комплексов ведёт к активации комплемента (с потреблением его сывороточных резервов) и развитию воспаления и повреждения тканей.

Наблюдается корреляция тяжести гломерулонефрита с уровнем анти-дсДНК IgG антител у пациентов с СКВ. Концентрация данных антител варьирует при изменении активности СКВ. Рост уровня анти-дсДНК IgG антител в течение нескольких недель и снижение содержания комплемента (компоненты комплемента С3, С4) в большинстве случаев являются предвестниками клинического обострения. Выявляется снижение уровня антител непосредственно в момент обострения гломерулонефрита.

Встречается, когда у некоторых пациентов с СКВ анти-дсДНК антитела не выявляются.

В таких случаях, отрицательный результат теста не всегда исключает заболевание.

Референсные значения: отрицательный результат - флюоресцентное свечение (титр) **<1:10**, положительный результат: более или равно **1:10**

Единицы измерения в Независимой лаборатории ИНВИТРО: МЕ/мл.

Таблица №22. Определение антител к дсДНК ИФА-методом

Референсные значения		Повышение уровня > 25 МЕ/мл	Заболевания
< 20 МЕ/мл	отрицательно		Системная красная волчанка (СКВ)
20 - 25 МЕ/мл	сомнительно		Ревматоидный артрит
> 25 МЕ/мл положительно			Синдром Шегрена
			Склеродермия
			Хронический активный гепатит
			Билиарный цирроз
			Инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барра и цитомегаловирусная инфекция.

Таблица №23. Качественное определение антител класса IgG к ядерным и цитоплазматическим антигенам в сыворотке или плазме человека методом иммуноблота (тест-полоски с нанесенными антигенами)

№	Аутоантитела
1	dsDNA
2	Nucleosomen
3	Sm (Smith)
4	PO
5	Histon
6	RNP (anti-ribonucleoprotein)
7	SS-A/Ro60 белки, связанные с РНК
8	SS-A/Ro52
9	PM –полимиозит
10	SS-B/La (антитела к белку, связанному с РНК-полимеразой-3)
11	Scl-70 (антисклеродермальные антитела с молекулярной массой 70 кДа, антитела к топоизомеразе I)
12	Jo-1 Анти-Jo-1-антитела (антитела к гистидин-тРНК-синтетазе) впервые были обнаружены в сыворотке крови

	больных миозитом
13	CENP-B Антицентромерные антитела (анти-CENT-B антигену пролиферирующих клеток (PCNA))
14	АТ к рибосомальному белку Р (Ribo P)

Антитела к нуклеосомам.

Антитела к НКС выявлялись преимущественно у больных с поражением почек (85%) и цитопениями (75%)

Использовать анти-НКС и анти-дсДНК для выявления больных СКВ с тяжелым течением волчанки

Могут использоваться для диагностики СКВ при выявлении высоких титров АНФ

Для СКВ также может быть периферический тип свечения

Скрининг болезней соединительной ткани - в комплексное исследование входит:

а) Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)

б) АНА-скрин, 18 антинуклеарных аутоантител (дсДНК, Sm, рибосомы, гистоны, RNP, SS-A 60 kDa, SS-A 52 kDa, SS-B, Scl-70, CENP-B, Jo-1, AMA-M2, f-Actin, PCNA, PMScl-100) - системные воспалительные ревматические заболевания (СКВ, ССД, РА, Синдром Шегрена, ДМ, Синдром Шарпа) характеризуются производством большого количества антител, направленных против цитоплазматических и/или антиядерных антигенов.

Одновременное нахождение цитоплазматических и антиядерных антител с помощью **АНА-18 иммуноблота** позволяет определить характерные профили для дифференциальной диагностики системных ревматических воспалительных заболеваний.

Это качественное определение (положительно/отрицательно) антител класса IgG к ядерным и цитоплазматическим антигенам в сыворотке или плазме человека методом иммуноблота (тест-полоски с нанесенными антигенами)

Чувствительность теста: dsDNA-100%, Nucleosomen-94%, Sm-100%, PO-100%, Histon-87%, RNP-100%, SS-A/Ro60-100%, SS-A/Ro52-100%, SS-B/La-98%, Scl-70-96%, CENP-B-96%, Jo-1-100%

Таблица №24. Определение антител при ревматических воспалительных заболеваниях, их частота

Частота, % Забо- левание	Тип антител, антитела к ...								
	ds- ДНК	ss- ДН К	Г и с - т о н	SS-A (Ro)	S S- B (La)	S m	R N P / S m	S cl 7 0	Jo -1
СКВ	> 90	> 90	3 0 - 5 0	10-30	30 - 50	10 - 30	1 0 - 3 0		
ЛВ*		30- 50	5 0 - 9 0						
С. Шарпа/СЗС Т	10-30	10- 30					> 9 0		
РА		30-	3	10-30					
С. Шегрена	10-30	10- 30		> 90	> 90				
Склеро- дерма	10-30	10- 30		10-30				> 9 0	
ФД, ДМ**	10-30	10- 30							50 - 90

истинные антиядерные антитела (ANA):

dsДНК, ssДНК, гистоны, ядерные РНК и ДНК

экстрагируемые ядерные антигены:

Sm (Smith), n-RNP, Scl 70 и PM-1

цитоплазматические антигены:

SS-A (Ro)*, SS-B (La)* и Jo-1

Развернутая диагностика антифосфолипидного синдрома - комплексное исследование, в него входит:

- 1) Антиядерный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ) -

2) 10 антифосфолипидных антител IgM и IgG (кардиолипин, фосфатидиловая кислота, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, аннексин V, β 2-GP-1 и протромбин).

Это качественное определение (положительно/отрицательно) антител класса IgM и IgG к фосфолипидам (кардиолипин, фосфатидиловая кислота, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин) и их кофакторам (плазменным белкам) - β 2-гликопротеин I, протромбин, аннексин V в сыворотке или плазме человека методом иммуноблота (тест-полоски с нанесенными антигенами).

Для антифосфолипидного синдрома, выявление антифосфолипидных антител (АФЛА) как лабораторного маркера АФС, определяет патогенез его клинических проявлений. АФЛА воздействуют на процессы регуляции системы свертывания крови, сдвигая равновесие в сторону гиперкоагуляции – то есть тромбообразования. Процесс тромбообразования включает взаимодействие АФЛА с фосфолипидами мембран тромбоцитов, эндотелия (клеток, выстилающих изнутри кровеносные сосуды) и связанными с фосфолипидами плазменными белками. При АФС потенциально поражаются сосуды любого калибра – от капиллярного русла до крупных артерий, и проявляется чрезвычайно разнообразным спектром клинических проявлений заболевания.

АФЛА - это семейство иммуноглобулинов разных классов (IgA, IgM и IgG), и распознают определенные участки молекул фосфолипидов. По данным последних исследований, выяснилось, что главными мишенями АФЛА являются не сами фосфолипиды, а связывающиеся с ними белки плазмы, называемые кофакторы. Данный комплекс кофактор-фосфолипид формирует новую молекулярную последовательность, к которой вырабатываются специфические антитела. АФЛА реагируют с гетерогенной группой фосфолипидов и белковых антигенов плазмы крови, к которым относятся:

- фосфолипиды – кардиолипин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин и фосфатидиловая кислота;
- плазменные белки – "кофакторы" – β 2-гликопротеин I, протромбин, тромбин, протеин S, протеин C, аннексин V.

Диагностический критерий антифосфолипидного синдрома (АФС)

Антитела к фосфолипидам (АФЛ) - это аутоиммунные, или аутоантитела класса IgG и IgM, действуют против основных компонентов клеточных мембран - фосфолипидов и, соответственно, против собственных клеток и тканей организма. Фосфолипиды могут быть отрицательно заряженными (фосфатидилсерин, кардиолипин), положительно заряженными (фосфатидилинозитол и фосфатидиловая кислота),

нейтральными (фосфатидилхолин). Клеточные мембраны играют важную роль в процессе свёртывания крови.

АФЛ фосфатидилсерин, из анионных (отрицательно заряженных), оказался наиболее антигенным. На внутренней поверхности тромбоцитов и клеточных мембран эндотелия сосудов находится фосфатидилсерин.

Нарушение нормального функционирования эндотелия кровеносных сосудов вызывают антитела к фосфолипидам (АФЛ), приводя к васкулопатии (сужение сосудов) и образование сосудистых тромбов. Во взаимодействии АФЛ с фосфолипидами, принимают участие кофакторы, такие как - бета-2-гликопротеин, присутствующий в нормальной плазме и циркулирующий в ассоциации с липопротеинами (аполипопротеин Н). Бета-2-гликопротеин обладает естественной антикоагулянтной активностью.

Связывание антифосфолипидных антител с эндотелием сосудов в присутствии бета-2-гликопротеина при АФС, стимулируют синтез фактора Виллебранда, индуцирует активность тканевого фактора эндотелиальными клетками, стимулирует процесс гемокоагуляции.

Определение высокого уровня антифосфолипидных антител свойственно для антифосфолипидного синдрома (АФС), для которого характерно поражение сосудов сердца, головного мозга, почек, печени, надпочечников.

Высокий титр антител к фосфолипидам - высокий риск развития тромбоза вен, инфаркта миокарда у мужчин, а у женщин - повторных выкидышей (чаще в 2 и 3 триместре беременности).

Антитела к фосфолипидам клеток эндотелия сосудов приводят к нарушению равновесия между свёртывающей и противосвёртывающей системами в сторону образования тромбов.

Нарушения микроциркуляции при беременности могут приводить к нарушению кровообращения также и в области плаценты и даже к отторжению плода.

При АФС часто наблюдается нарушение мозгового кровообращения с развитием инсульта, неврологической патологией, поражением кожи (сетчатое ливедо, кожные язвы).

В 2 - 4% обнаруживаются антитела к фосфолипидам у здоровых людей, чаще пожилого, чем молодого возраста.

Таблица №25. Повышение уровня АФС

№	Заболевания
1	Рецидивирующие тромбозы сосудов, тромбоэмболии
2	Тромбцитопения
3	Привычное невынашивание беременности (в/у гибели плода, выкидыши, преэклампсия)
4	Ложноположительная реакция Вассермана

5	Коллагенозы (системная красная волчанка, узелковый периартериит)
---	------------------------------------------------------------------

Таблица №26. Повышение уровня АФС

№	Первичный АФС	
1	Патология сосудов	Инсульты
		Инфаркты внутренних органов
		Гангрена конечностей
		Тромбофлебит (тромбоз глубоких вен конечностей)
2	Привычное невынашивание беременности	рецидивирующие необъяснимые спонтанные аборт в I триместре или внутриутробная гибель плода во II - III триместре
		развитие HELLP-синдрома при патологии беременности (гемолиз, повышение активности печёночных ферментов, снижение содержания тромбоцитов)
Вторичный АФС		
3	Свойственна воспалительным, аутоиммунным и инфекционным заболеваниям	ВИЧ инфекция
		Вирусный гепатит С
		Системная красная волчанка
4	Злокачественные опухоли	
5	Приём лекарственных препаратов	оральные контрацептивы, психотропные средства

Присутствие антител к кардиолипину, которые являются основной фракцией АФЛА, характерно для развития тромбозов и тромбоцитопений. Повышенный титр антител к кардиолипину на фоне клинической картины тромбозов позволяет установить диагноз антифофолипидного синдрома "АФС".

Антитела к аннексину V. Отводится особая роль аннексину V, который необходим для предотвращения тромбообразования в сосудах плаценты. Он представлен во многих тканях, но в основном на эндотелиальных клетках и в плаценте. Аннексин V предотвращает свертывания крови, конкурируя с протромбином (фактор свертывания крови) за связывание с фосфатидилсерином на оболочке клеток эндотелия и трофобласта. Молекулы аннексина V формируют блокирующий слой, и на поверхности трофобласта не происходит тромбообразования. А у больных АФС, антитела к белку аннексину V вытесняют его с поверхности эндотелиоцитов и клеток трофобласта, что сопровождается тромбозом сосудов плаценты и потере беременности. Чаше антитела к аннексину V

обнаруживаются при вторичном антифосфолипидном синдроме (возникающем на фоне других аутоиммунных заболеваний), соответственно, на практике в клинической картине таких пациенток чаще встречается синдром привычного невынашивания беременности.

Антитела к протромбину. Самая основная причина тромбозов, прежде всего венозных – это обнаружение антител к тромбину. Выявляется повышенный уровень антител класса IgM к протромбину у пациентов с АФС примерно в 30 %, а IgG - в 18 % случаев заболевания.

Антитела к протромбину назначаются при несоответствии клинической картины отрицательным результатам тестов, рекомендованных сиднеевскими лабораторными критериями АФС (волчаночный антикоагулянт, антитела классов IgM и IgG к кардиолипину и β 2-гликопротеину I).

Наблюдаются, что около 5 % здоровых людей имеется повышенный титр АФЛА, чаще это лица пожилого возраста – с возрастом процент АФЛА-позитивных людей, не страдающих АФС, увеличивается. Тенденция выявления антифосфолипидных антител увеличивается также у больных воспалительными, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями (сифилис, ВИЧ-инфекция, вирусный гепатит С, герпес-вирусная инфекция), злокачественными новообразованиями, а также на фоне приема некоторых лекарственных препаратов (психотропные средства, оральные контрацептивы). Все выше указанное свидетельствует, что любой из лабораторных признаков при отсутствии клинических симптомов не является достаточным условием для постановки диагноза "АФС"

Диагностические критерии антифосфолипидного синдрома Sydney Consensus Workshop (Miyakis et al., J Thrombosis & Haemostasis, 2006)

Клинические критерии

1. Сосудистый тромбоз
2. Акушерско гинекологические проявления (замершая беременность и т.д.)

Серологические исследования:

1. Волчаночный антикоагулянт
2. Антитела к кардиолипину (IgG/IgM)
3. Антитела к бета2 гликопротеину 1 (IgG/IgM)

1 критерий + 1 критерий ⇒ АФС



Рис. 13 Клинические проявления антифосфолипидного синдрома

Таблица №27. Клинические проявления антифосфолипидного синдрома

№	Органы мишени	Проявления заболеваний	%
1	Периферический тромбоз	Тромбоз глубоких вен Тромбоз артерий/вен	64%
2	Невынашивание	Ранний/поздний выкидыш Ранние роды	63%
3	Ревматические жалобы	Артралгия Артрит	68%
4	Неврологические появления	Мигрень Инсульт	66%
5	Кожные проявления	Livedo reticularis Язвы ног	40%
6	Гематология	Тромбоцитопения Гемолитическая анемия	30%
7	Сердечные проявления	Утолщение клапанов Инфаркт миокарда	27%
8	Легочные проявления	ТЭЛА Легочная гипертензия	20%

Таблица №28. Лабораторная диагностика АФС

№	Исследование	Референсные значения
1	Коагулогические тесты: АЧТВ и волчаночный антикоагулянт (ВАК)	<10 Ед/мл.
2	Антитела к кардиолипину IgG, A, M	
3	Антитела к кардиолипину IgG/IgM	
4	Антитела к бета 2-гликопротеину (IgGAM)	

5	Антинуклеарный фактор и другие антинуклеарные антитела	
---	-----------------------------------------------------------	--

Антитела к кардиолипину, β 2гликопротеину и ВАК могут быть транзиторно повышены после вирусных инфекций – требуется повторное определение через 3-6 мес

Обследование при СКВ и- в комплексное исследование входит:

- 1) Определение высокоаффинных антител к дс ДНК на клетках *S.Luciliae*
- 2) Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
- 3) 10 антифосфолипидных антител IgM и IgG (кардиолипин, фосфатидиловая кислота, фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, аннексин V, β 2-GP-1 и протромбин).

2.5 Ревматоидный артрит

Скрининг ревматоидного артрита (anti-CCP и РФ IgM) – комплексное исследование в него входит:

1) Антитела к циклическому цитрулин-содержащему пептиду (anti-CCP) – несмотря на то что РФ IgM можно обнаружить в сыворотке пациентов с РА в 70-80% случаев, он не является строго специфичным для ревматоидного артрита и находится в сыворотке молодых здоровых доноров в 1-4%, а у лиц пожилого возраста в 25%. В отличие от антител к ЦЦП, антитела к этому синтетическому пептиду обнаруживаются уже на ранних стадиях заболевания и имеют высокую прогностическую значимость.

К антицитруллиновым антителам относится АЦЦП. Данные аутоантигены, содержащих цитруллин, свойственны для ревматоидного артрита, явились важным открытием ревматологии последнего времени в области серологической диагностики. Цитруллин не относится к стандартным аминокислотам, включающимся в белки при их синтезе, он образуется в результате последующей модификации аргинина.

Индуктором образования антител к цитруллинированным пептидам в механизме развития ревматоидного артрита определяют цитруллинированный фибрин, который в большом количестве накапливается в воспалённой синовиальной оболочке. Также к цитруллинированным антигенам синовиальных тканей относят цитруллинированный виментин. В процессе разработки методов определения антител к цитруллинированным антигенам было показано, что использование синтетических циклических форм цитруллинированных пептидов обеспечивает большую чувствительность теста, сравнительно с использованием линейных пептидов. Антитела к циклическому

цитруллинированному пептиду в настоящее время являются информативным серологическим маркером ревматоидного артрита.

АЦЦП часто выявляется только в 30% случаев серонегативного ревматоидного артрита (отрицательного по ревматоидному фактору). Определена целесообразность применения этого теста в ранней диагностике артрита и в целях прогноза недавно развившегося ревматоидного артрита (АЦЦП больше ассоциирован с прогрессией и эрозивными артритами, чем ревматоидный фактор). Применение АЦЦП в целях мониторинга активности процесса не рекомендовано (корреляции с маркерами активности, в т. ч. СОЭ, СРБ, не выявлено).

Референсные значения для количественного определения:
отрицательно – менее 30ед/мл, положительно – более или равно 30 ед/мл.

2) Определение IgM ревматоидного фактора (РФ)

Это количественный ИФА метод определения антител класса М.

Референсные значения:

1. отрицательно (менее 10,0 IU/ml),
2. серая зона (10-15 IU/ml),
3. положительно (более 15 IU/ml)

Антитела РФ могут относиться ко всем классам IgM, IgG, IgA, причем IgM встречаются чаще всего у пациентов с РА. Экстраартикулярные проявления, в первую очередь, могут быть ассоциированы с IgA. Высокая концентрация IgG имеет аналогичное IgM проявление у пациентов с тяжелым течением болезни, выражающееся в прогрессирующей эрозии суставов.

Таблица №29. Серологические маркеры ревматоидного артрита

Аутоантитело	Описание	Частота
Ревматоидный фактор	Waalder, 1940	80%
Антинуклеарные антитела	Beck, 1964	30%
Антитела к RA-33	Hassfeld et al. 1989	50%
Антиперинуклеарный фактор	Nienhuis et al. 1964	50%
Антикератиновые антитела	Young et al. 1979	40%)
Антитела к виментину (Саантиген)	Despres N et al 1994	30%
Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду	Schellekens GA et al. 1998, van Venrooij et al. 2000	70%
Антитела к модифицированному цитруллиновому виментину	Bang et al. 2006	80%

Другие антицитруллиновые антитела (цитруллинированные филаггрин, цитруллинированный IgG, пептиды ВЭБ) – 2005-2008	50-80%
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------

3) Антитела к кератину (Anti-keratin antibody, АКА)

Выявлено наличие антител к кератину (АКА) как одного из специфических серологических маркеров ревматоидного артрита. Данное исследование сопряжено с группой тестов на наличие антител к цитруллинированным антигенам, к которой относят такие исследования, как определение антиперинуклеарного фактора и тест на антитела к циклическому цитруллин-содержащему пептиду.

Определение антикератиновых антител важно для ранней диагностики ревматоидного артрита. Их наличие может предшествовать клиническим проявлениям заболевания – в ретроспективных исследованиях на замороженных пробах сыворотки показано, что в четверти случаев АКА можно выявить за 5 лет и менее до дебюта ревматоидного артрита, в 10% случаев – за 5 - 9 лет, в 8% случаев – за 10 и более лет.

Данные антитела могут встречаться у пациентов с серонегативным ревматоидным артритом.

В отличие от ревматоидного фактора, для АКА характерна более высокая специфичность (88 - 99%), при более низкой чувствительности (40 - 60%).

Выявлено у пациентов с ревматоидным артритом, присутствие АКА ассоциировано с тяжестью эрозивных поражений, высокой концентрацией циркулирующих иммунных комплексов.

1) Таблица №30. Определение антител к кератину (Anti-keratin antibody, АКА)

№	Показания	Референсные значения	Положительно
1	Дифференциальная диагностика суставного синдрома неясного генеза	<1:10 (отрицательно).	Ревматоидный артрит
2	Ранняя диагностика ревматоидного артрита		Системная красная волчанка
3	В целях оценки тяжести патологии и прогноза при ревматоидном артрит		Синдром Шегрена

Развернутая серология ревматоидного артрита (АНФ, anti-CCP и РФ IgM) – комплексное исследование в него входит:

- 1) Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
- 2) Антитела к циклическому цитрулин-содержащему пептиду (anti-CCP) методом ИФА
- 3) Определение IgM ревматоидного фактора (РФ) методом ИФА

Васкулиты и аутоиммунные поражения почек.

1) Дифференциальная диагностика быстро прогрессирующего гломерулонефрита и васкулитов: ANCA антитела с описанием тип свечения и титра, с определением трёх антител (антитела к базальной мембране клубочка (GBM), анти-PR3, анти-MPO)

Данный тест используется в диагностике GPA -гранулематоза с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера). Болезни, при которых иммунитет направлен против нормальных компонентов базальной мембраны клубочков почек и альвеолярного эпителия, ассоциированные с этим видом антител относятся к редко встречающимся аутоиммунным заболеваниям. Выявлено, что основная антигенная мишень для антител данного типа является альфа-3 цепи NC1 домена коллагена IV типа, присутствующего в почках, лёгких, хрусталике, мозге и яичках, но, очевидно, более доступного на уровне клубочков почек вследствие уникальных особенностей их строения.

Воздействие факторов, нарушающих целостность альвеолярного эпителия (курение, воздействие других вдыхаемых токсических веществ, респираторные инфекции) приводят к поражению легких.

В результате активации под действием антител местного иммунопатологического процесса развиваются клинические проявления, включающие патологию почек, вплоть до быстро прогрессирующего гломерулонефрита, лёгочные кровотечения, признаки системной патологии.

GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера) включает сочетание гломерулонефрита и геморрагического альвеолита (почечно-лёгочный синдром). Для данного заболевания характерна генетическая предрасположенность, и частота данной патологии выше среди мужчин.

При появлении клинических симптомов, ранняя диагностика является крайне важным для назначения адекватного лечения и прогноза заболевания.

Диагностическим критерием определяется выявление антител к базальной мембране и позволяет дифференцировать ассоциированную с ними патологию от других причин лёгочных кровотечений и гломерулонефрита.

В трети случаев у пациентов выявляются также антитела к цитоплазме нейтрофилов (ANCA).

Таблица №31. Диагностика васкулитов - антитела к цитоплазме нейтрофилов (ANCA).

Показания	Референсные значения	Положительно	Отрицательно
<p>GPA - гранулематоз с полиангиитом (почечно-лёгочный синдром; симптомы общего недомогания, острые, обычно быстро прогрессирующие гломерулонефриты, лёгочные гемorragии, часто предшествующие нефриту)</p>	<p>отрицательно (<20).</p>	<p>GPA - гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера) (почечно-лёгочный синдром);</p>	<p>1. Отсутствие антител к базальной мембране клубочков</p> <p>2. Низкие титры антител</p>
		<p>Быстро прогрессирующий гломерулонефрит, осложнённый образованием антител к базальной мембране клубочков;</p>	
		<p>Anti-GBM болезнь, развивающаяся у части пациентов с синдромом Алпорта (наследственная аномалия коллагена IV типа) после пересадки почки</p>	
		<p>Тубулоинтерстициальная патология почек, связанная с антителами к базальной мембране клубочков</p>	

Ложноположительные результаты могут быть связаны с выявлением антител, связывающихся с другими цепями коллагена IV.

Качественное определение антител IgG к миелопероксидазе (MPO), протеиназе 3 (PR3) и гломерулярной базальной мембране (GBM – коллаген IVa3) в сыворотке или плазме крови человека.

Данное исследование - иммуноблот (тест-полоска) основано на принципе ИФА, дает качественный ответ: **положительно или отрицательно!**

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA) представляют собой группу антител, направленных против цитоплазматических антигенов нейтрофильных гранулоцитов. Главным образом они ассоциированы с воспалительным заболеванием кровеносных сосудов. Различают цитоплазматические (cANCA) и перинуклеарные (pANCA). В качестве основного антигена для цитоплазматических определена протеиназа 3. Антитела к PR3 проявляют большую специфичность в диагностике GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера) носоглотки, а также почки и легкого. Антитела к MPO встречаются при целом ряде васкулитов, например, микроскопической форме полиангиита, эозинофильном гранулематозе с полиангитом (EGPA, ранее синдром Чарга-Стросса), а также при узелковом полиартериите, антитела также обнаруживаются при гломерулонефритах, например, при быстро прогрессирующем гломерулонефрите.

К аутоиммунным заболеваниям почек относится GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера), комбинация гломерулонефрита и пульмонарной геморрагии с высокой смертностью при отсутствии лечения. Данное заболевание характеризуется патогномическими аутоантителами, которые накапливаются на базальной мембране гломерулярного аппарата (GBM) и являются непосредственной причиной гломерулонефрита. В качестве целевых антигенов аутоантител идентифицирован домен NC 1 цепи $\alpha 3$ коллагена – IV (компонент базальной мембраны гломерулярного аппарата). Таким образом, подтверждение антител ВМК (GBM) позволяет отличить GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера) от других аутоиммунных заболеваний почек.

3) Антитела к миелопероксидазе (anti-MPO)

Количественное определение антител IgG к миелопероксидазе (MPO) – Ядерные аутоантитела (pANCA) в основном связаны с реактивностью миелопероксидазы локализованной в первичных гранулах нейтрофилов. Аутоантитела к MPO коррелируют с идиопатическим васкулитом ассоциированным с быстро прогрессирующим гломерулонефритом. Они встречаются у 70% пациентов с микроскопическим полиангитом, и у 5-50%

больных эозинофильным гранулематозом с полиангититом (EGPA, ранее синдром Чарга-Стросса).

Референсные значение: положительно – более или равно 10 ед/мл, отрицательно – менее 10 ед/мл

4) Антитела к протеиназе -3 (anti-PR3)

Количественное определение антител IgG к протеазе 3 (PR3) – патогенез системного васкулита (СВ) характеризуется воспалительными процессами различных стенок кровеносных сосудов в результате морфологических изменений. Артерии и вены могут быть затронуты одновременно. Клиническая картина, как правило, характеризуется общими симптомами: лихорадка, истощение и потеря веса. В дальнейшем картина варьирует в зависимости от пострадавших типов сосудов. В серологической диагностике важную роль играет определение цитоплазматических антител (ANCA). ANCA бывают цитоплазматические (сANCA) или ядерные (рANCA). Протеиназа 3 (PR3) является наиболее важным аутоантителом для сANCA (цитоплазматических) и именно эти антитела обнаруживаются в широком спектре васкулитов. Это специфическое антитело характерно для GPA -гранулематоза с полиангитом (ранее гранулематоз Вегенера). Титры антител тесно связаны с активностью болезни.

Референсные значения: положительно - более или равно 10 ед/мл, отрицательно – менее 10 ед/мл

GPA -гранулематоз с полиангитом (ранее гранулематоз Вегенера) и АНЦА -ассоциированные васкулиты, аутоиммунные поражения почек

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA) представляют собой группу антител, направленных против цитоплазматических антигенов нейтрофильных гранулоцитов.

Главным образом они ассоциированы с воспалительным заболеванием кровеносных сосудов.

Различают цитоплазматические (сANCA) и перинуклеарные (рANCA). В качестве основного антигена для цитоплазматических определена протеиназа 3. Антитела к PR3 проявляют большую специфичность в диагностике GPA -гранулематоза с полиангитом (ранее гранулематоз Вегенера), носоглотки, а также почки и легкого



Рис.14 GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера) и АНЦА -ассоциированные васкулиты

Диагностика аутоиммунного поражения почек, комплексное исследование, в него входят: АНФ, БМК, anti-MPO, anti-PR3

- 1) Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
- 2) Качественное определение антител IgG к миелопероксидазе (МПО), пероксидазе 3 (PR3) и базальной мембране клубочка (БМК).

2.7 Аутоиммунные поражения печени и ЖКТ

Скрининг аутоиммунных заболеваний ЖКТ, комплексное исследование в него входят:

- 1) Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
- 2) Определение антиядерных, антимитохондриальных, антигладкомышечных, антипариетальных антител (ANA, AMA, ASMA, APCSA) методом непрямой иммунофлюоресценции на комбинированных срезах ткани из печени, желудка и почек крысы в сыворотке крови человека.

ANA – антинуклеарные антитела реагируют с антигенами в клеточном ядре. Они являются важными маркерами ревматических заболеваний, таких как, СКВ, ССД, с.Шегрена или с.Шарпа. Помимо этого, АНА являются маркерами аутоиммунного гепатита. Также АНА могут присутствовать и при неаутоиммунных заболеваниях (инфекции, лейкемия, лимфомы, меланомы). Низкий уровень АНА может быть вызван приемом лекарств и встречается также у здоровых людей в пожилом возрасте.

AMA – Антимитохондриальные антитела реагируют преимущественно с богатой фосфолипидами внутренней мембраной митохондрий. AMA служат маркером первичного билиарного холангита, при котором они обнаруживаются у более чем 90% больных и еще до клинической постановки диагноза. Низкий титр антител наблюдается при склеродермии, с. Шегрена, РА и других АИЗ, чаще всего в этом случае, данные заболевания ассоциированы с ПБЦ.

ASMA – антитела к гладкой мускулатуре встречаются в большом количестве при аутоиммунных гепатитах. При этом антитела направлены против белка мышечной ткани актина. В малом количестве и без специфичности к актину **ASMA** встречаются при многих аутоиммунных и инфекционных заболеваниях, а также при раке груди и яичников, злокачественных меланомах.

APCSA – циркулирующие антитела к структурам париетальных клеток слизистой оболочки желудка являются маркером злокачественной анемии. Однако они могут обнаруживаться при других заболеваниях, например, болезнях желудка (хронический атрофический гастрит, язва), щитовидной

железы (тиреоидит Хашимото, микседема) реже при железодефицитной анемии, сахарном диабете и у людей пожилого возраста.

Комбинированный срез ткани позволяет дифференцировать на участке для анализа различные антитела и вследствие этого, может эффективно использоваться в качестве поискового теста для следующих антител.

При отрицательном результате титр менее 20 ед, положительный более или равно 20 ед.

Скрининг аутоиммунного поражения печени, комплексное исследование в него входит:

- 1) Антиядерный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
- 2) Качественное определение IgG к 7 антигенам: **M2, gp210, sp100, LKM1, LC1, SLA, F-actin.**

Круг первичных АИЗ печени включает аутоиммунный гепатит (АИГ/АИН), ПБЦ (PBC) и первичный склерозирующий холангит (ПСХ/PSC). Клиника PBC в большинстве случаев существенно не отличается от других хронических заболеваний печени. Около 15% случаев хронических заболеваний печени имеет аутоиммунный патогенез. После исключения инфекционного патогенеза, в частности, вирусных инфекций, для дифференциальной диагностики привлекаются тесты на определение аутоантител.

При PBC антимитохондриальные антитела считаются патогномичными. Из 9 описанных подтипов (M1-M9), только антитела **M2** показывают высокую специфичность к PBC. Они реагируют с эпитопами клеток в митохондриальных мембранах. PBC дополнительно характеризуется специфическими АНА, которые реагируют преимущественно с **gp210** и **sp100** и свидетельствуют о различном течении болезни. Печеночная недостаточность, кроме всего прочего связано с обнаружением антител к **gp210**. У пациентов с PBC с различной реакцией на урсодезоксихолевую кислоту подтверждение АНА к **gp210** или **sp100** в дальнейшем течении болезни было ассоциировано с трансплантацией печени или летальным исходом.

У пациента с АИГ/АИН могут определяться различные реакции с антителами. На основании известных антител в настоящий момент ведется дискуссия о выделении 3 подгрупп. Характерный для АИН типа 1 является обнаружение АНА и **ASMA**. При 2 типе, напротив, обнаруживаются антитела к микросомам печени и почек (**LKM1**) и антитела **LC1**. Пробы пациентов с 3 типом обнаруживают исключительно антитела к растворимому антигену печени **SLA**.

Данное исследование, это не зависящий от устройств набор для тестирования, позволяющий быстро и точно определить наличие либо отсутствие конкретных антител.

Чувствительность и специфичность набора более 99%.

Результат: положительный или отрицательный по каждому антителу.

Аутоиммунный гепатит

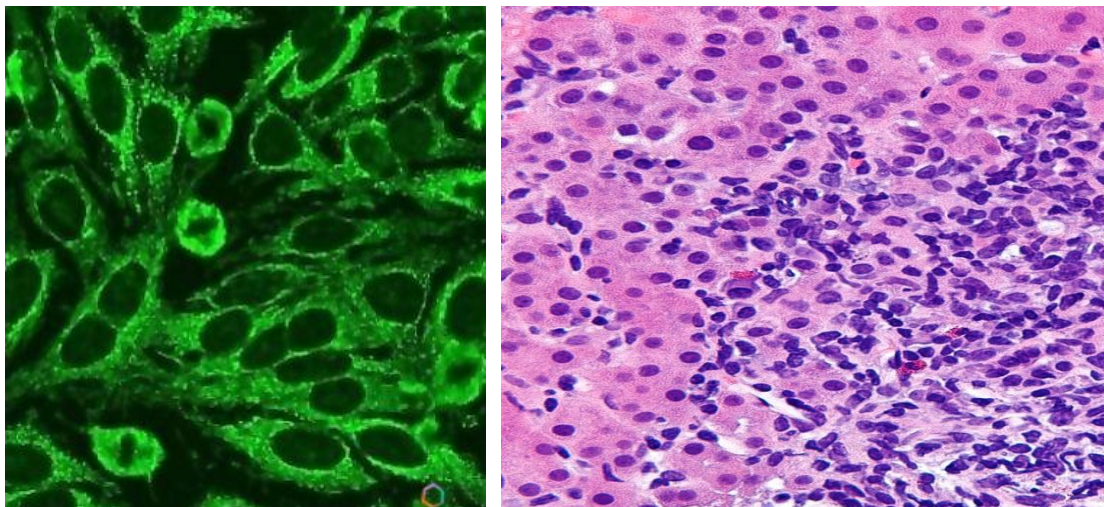


Рис.15 Цитоплазматический тип свечения. Мелкое крапчатое
Подразделяют свечения: -митохондрий -цитоскелета -органелл

Таблица №32. Цитоплазматический тип свечения

№	Показания	Основные антигены
1	Аутоиммунные заболевания печени	АМА
2	ПБХ (первичный билиарный холангит)	M2 –40%
3	Системная красная волчанка	F-актин–25%
4	Воспалительные миопатии	RiboP –20%
		Jo GPA -гранулематоз с полиангиитом (ранее гранулематоз Вегенера) и АНЦА -ассоциированные васкулиты ца -1 – 10%

Аутоиммунные поражения желудочно-кишечного тракта.

Целиакия

Антитела к ретикулину IgA и IgG (Reticulin Antibody IgA, IgG, ARA)

Метод определения: НРИФ

Аутоиммунные антитела, ассоциированные с целиакией (глютен-чувствительной энтеропатией). См. также тесты «Антиглиадиновые антитела» и «Антитела к эндомизию» Ретикулин (гистологический термин) – фибриллы, участвующие в образовании трёхмерных сетчатых структур – ретикулума, образующего строуму мягких органов, преимущественно представляют коллаген III типа.

Высоко патогномичный для целиакии RI тип антитрикулиновых антител характеризуется связыванием с перитубулярными, перигломерулярными и периваскулярными волокнами почечных срезов.

Потребление глютена (белка клейковины хлебных злаков) может вызвать развитие иммуноопосредованного воспалительного заболевания кишечника (целиакии) или глютен-чувствительной энтеропатии, чаще у генетически предрасположенных людей. Для целиакии войственно появление аутоиммунных антител к структурам внеклеточного матрикса, в т. ч. эндомизию (соединительная ткань, окружающая гладкомышечные элементы кишечных крипт) и ретикулину, и антител к глиадину (фракция глютена).

Один из факторов развития такого аутоиммунного ответа является тканевая трансглутаминаза (фермент, участвующий в метаболизме глютена).

Серологическое тестирование (выявление в сыворотке крови антител к эндомизию, глиадину, ретикулину) необходимо в качестве предварительного скринингового обследования при клинических подозрениях на целиакию и решении вопроса о направлении на биопсию с гистологическим исследованием, что является решающим диагностическим тестом.

Необходима комбинация тестов, которая будет повышать специфичность и чувствительность серологического исследования (**тест на антитела к глиадину более чувствителен, тесты на антитела к эндомизию и ретикулину – более специфичны**).

У детей до 2 лет тестирование менее информативно, так как антитела, характерные для целиакии, могут у них еще не развиваться.

Условия для проведения тестов при целиакии:

1. Необходимо соблюдение правил при применении теста в целях выявления целиакии (глютен-чувствительной энтеропатии). Основное требование, его следует проводить до перехода на безглютеновую диету. Если же безглютеновая диета была уже начата, перед проведением исследования целесообразно вернуться к диете, содержащей глютен (для обеспечения должной чувствительности теста к моменту обследования пациент должен получать пищу, содержащую глютен в течение не менее недели).

2. Тест применяется также для контроля лечения целиакии (с целью оценки соблюдения безглютеновой диеты). В таком случае отмены безглютеновой диеты не требуется.

Таблица №33. Диагностика аутоиммунных поражений желудочно-кишечного тракта. Целиакия. Антитела к глиадину

Показания (клинические проявления)	Референсные значения	Интерпретация Положительно
метеоризм	Референсные значения: <1:10 (отрицательно).	Целиакия
вздутие живота		Герпетиформный дерматит
диарея		Болезнь Крона
задержка в прибавлении роста и веса у детей		Буллезный дерматоз
потеря веса у взрослых		Отрицательно
необъяснимая анемия		здоровые люди
необъяснимая гипокальциемия или остеомалация		эффективное лечение целиакии - безглютеновая диета несколько месяцев (антитела появляются вновь при нарушении диеты и поступлении глютена с пищей)
селективный IgA дефицит		
герпетиформный дерматит		

Антитела к эндомизию IgA и IgG (Anti-Endomisial Antibody IgA, IgG, EMA)

Эндомизий – рыхлая соединительная ткань, окружает гладкомышечные клетки. У генетически предрасположенных людей употребление глютена (белка клейковины хлебных злаков) может вызвать развитие иммуноопосредованного воспалительного заболевания кишечника (целиакии, или глютен-чувствительной энтеропатии), характеризующейся появлением аутоиммунных антител к структурам внеклеточного матрикса, в т. ч. эндомизию и ретикулину.

Важным фактором развития такого аутоиммунного ответа является тканевая трансглутаминаза (фермент, участвующий в метаболизме глютена, по всей видимости, являющийся основной антигенной мишенью антител к эндомизию и ретикулину, выявляемых в исследованиях на тканевых препаратах).

Необходимо серологическое тестирование (в том числе - исследование крови на наличие антител к эндомизию, глиадину, ретикулину полезно в качестве предварительного скринингового обследования при клинических подозрениях на целиакию и решении вопроса о направлении на биопсию с гистологическим исследованием, которое является решающим диагностическим тестом.

Помогает постановке диагноза комбинация тестов, которая повышает специфичность и чувствительность серологического исследования (тест на антитела к глиадину более чувствителен, тесты на антитела к эндомизиуму и ретикулину – более специфичны).

Также возможен следующий алгоритм серологического исследования при подозрении на целиакию: при выявлении антител к глиадину подтвердить результат исследованием антител к эндомизию и ретикулину.

При выборе единственного теста, предпочтительно выбрать исследование антител к эндомизию.

Как было выше указано, что тестирование детей до 2 лет менее информативно, поскольку антитела, характерные для целиакии, могут у них еще не развиваться.

Исследование антител, ассоциированных с целиакией, можно применить также в мониторинге лечения целиакии (исключение глютена из пищи). Антитела к эндомизию, глиадину, ретикулину исчезают через несколько месяцев после перехода на безглютеновую диету.

1. Необходимо соблюдать требования при применении теста в целях выявления целиакии (глютен-чувствительной энтеропатии), его следует проводить до перехода на безглютеновую диету. Если безглютеновая диета была уже начата, перед проведением исследования целесообразно вернуться к диете, содержащей глютен (для обеспечения должной чувствительности теста к моменту обследования пациент должен получать пищу, содержащую глютен в течение не менее недели). 2)

2. Тест может быть использован также для контроля лечения целиакии (с целью оценки соблюдения безглютеновой диеты). В таком случае отмены безглютеновой диеты не требуется.

Таблица №34. Диагностика аутоиммунных поражений желудочно-кишечного тракта. Целиакия. Антитела к эндомизию IgA и IgG (Anti-Endomisial Antibody IgA, IgG, EMA)

Показания (клинические проявления)	Референсные значения	Интерпретация Положительно
метеоризм		Целиакия
вздутие живота		Герпетиформный дерматит
диарея		

задержка в прибавлении роста и веса у детей		
потеря веса у взрослых		
необъяснимая анемия		
необъяснимая гипокальциемия или остеомалация		
селективный IgA дефицит		
герпетиформный дерматит		
Используется при скрининговом обследовании родственников больных целиакией	> = 1:40 – положительно	здоровые люди эффективное лечение целиакии - безглютеновая диета несколько месяцев (антитела появляются вновь при нарушении диеты и поступлении глютена с пищей)
Позволяет провести мониторинг эффективности лечения (исчезают через несколько месяцев безглютеновой диеты)	1:2, 5 – 1:40 - сомнительно	

Антитела класса IgG к тканевой трансглутаминазе (anti-tissue transglutaminase IgG, tTG IgG)

Тест важен и используют в комплексе серологических тестов в целях диагностики целиакии. В лабораторной диагностике целиакии (глютен-чувствительной энтеропатии) в качестве наиболее чувствительного и специфичного скринингового теста обычно используют тест на антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе. При этом, поскольку целиакия может быть ассоциирована с дефицитом иммуноглобулинов класса А, целесообразно параллельно определить общий уровень IgA. При низкой концентрации общих IgA, к лабораторному скринингу следует добавить исследование IgG антител к трансглутаминазе. В комплексе серологических тестов диагностики целиакии используют также исследование антител к глиадину, антител к эндомизию. Золотым стандартом диагностики целиакии служит подтверждение гистологических изменений слизистой оболочки тонкого кишечника при биопсии.

Необходимо также соблюдать требования при применении теста в целях выявления целиакии (глютен-чувствительной энтеропатии), его следует проводить до перехода на безглютеновую диету. В случае, если безглютеновая диета была уже начата, перед проведением исследования целесообразно вернуться к диете, содержащей глютен (для обеспечения должной чувствительности теста к моменту обследования пациент должен получать пищу, содержащую глютен в течение не менее недели).

1. Тест может быть использован также для контроля лечения целиакии (с целью оценки соблюдения безглютеновой диеты). В таком случае отмены безглютеновой диеты не требуется.

Таблица №35. Диагностика аутоиммунных поражений желудочно-кишечного тракта. Целиакия. Антитела класса IgG к тканевой трансглутаминазе (anti-tissue transglutaminase IgG, tTG IgG)

Показания	Референсные значения	Интерпретация Положительно
В комплексе серологических тестов при подозрении на целиакию	<p>< 1.0 – отрицательный</p> <p>>1.0 - 2.0 - слабоположительный;</p> <p>>2.0 - 5.0 - положительные;</p> <p>> 5.0 – высокоположительный</p>	Целиакия
В комплексе лабораторных исследований при диагностике герпетиформного дерматита		Герпетиформный дерматит

Результат следует оценивать в комплексе с клиническими данными и результатами других лабораторных обследований

* Коэффициент позитивности (КП) определяется отношением оптической плотности пробы пациента к пороговому значению.

КП - коэффициент позитивности является универсальным показателем, который применяется в качественных иммуноферментных тестах.

КП определяет степень позитивности исследуемой пробы и необходим врачу для правильной интерпретации полученного результата. Данный коэффициент позитивности не коррелирует линейно с концентрацией антител в пробе, поэтому не рекомендуется использовать КП для динамического наблюдения за пациентами, в том числе контроля эффективности лечения.

Антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе (anti-tissue transglutaminase IgA, tTG IgA)

Используется данное скрининговое исследование в целях диагностики целиакии. Глютен-чувствительная энтеропатия (целиакия) – характеризуется неспособностью переваривать глютен, белок клейковины, содержащийся в большом количестве в некоторых злаках (пшеница, рожь, ячмень), которая ведет к хроническому воспалению и повреждению слизистой оболочки тонкого кишечника. Свойственна данная патология у генетически восприимчивых детей и взрослых. Выявлено, что это

патологическое состояние в настоящее время достаточно часто остается не диагностированным.

Наиболее частые клинические проявления включают у взрослых

- диарею,
- железодефицитную анемию;

у детей

- диарею,
- вздутие живота,
- отставание в развитии.

Менее распространенные проявления могут включать:

- повторный афтозный стоматит,
- возвратные боли в области живота,
- стеаторею,
- фолат-дефицитную анемию,
- остеопению или остеопороз,
 - дефицит витамина К,
 - повышение печеночных ферментов,
 - тромбоцитоз (гипосплению),
 - артралгию или артропатию,
 - полинейропатию,
 - хроническую усталость,
 - возбудимость или депрессию,
 - алопецию,
 - повторное невынашивание беременности,
 - бесплодие,
 - задержку роста,
 - задержку пубертата

Часто наблюдаются сочетание с глютенчувствительной энтеропатией такие патологические состояния, как герпетиформный дерматит, дефицит иммуноглобулина А, аутоиммунные расстройства (диабет 1 типа, аутоиммунные заболевания щитовидной железы, синдром Шегрена, микроскопический колит, ревматоидный артрит), синдром Дауна, IgA-нефропатия.

Возможно, ассоциации патологий включают дополнительный спектр патологических состояний. Доказано, что тканевая трансглутаминаза – фермент, который широко распространен во многих органах. Показано, что именно этот белок является основной антигенной мишенью в аутоиммунной реакции при целиакии. Модификация глиадина (компонент глютена) тканевой трансглутаминазой клеток слизистой оболочки кишечника играет ключевую роль в запуске Т-клеточного аутоиммунного ответа при данной патологии. Исследование IgA антител к тканевой трансглутаминазе – чувствительный и специфичный скрининговый тест, используемый в лабораторной диагностике целиакии и герпетиформного дерматита. Концентрация IgA антител коррелирует с активностью

заболевания, тест может быть использован для мониторинга, в том числе контроля соблюдения безглютеновой диеты. По оценкам, в скрининге на целиакию чувствительность тестов на антитела к тканевой трансглутаминазе составляет 85-98%, специфичность 95-99%. Поскольку целиакия может быть ассоциирована с дефицитом IgA, следует параллельно исследовать уровень общих иммуноглобулинов А. При низкой концентрации общих IgA, к лабораторному скринингу следует добавить исследование IgG антител антитела к тканевой трансглутаминазе IgG, антитела классов IgA, IgG к глиадину, тест - суммарные IgA и IgG антитела к эндомизию). Золотой стандарт диагностики целиакии - это подтверждение гистологических изменений слизистой оболочки тонкого кишечника при биопсии. Часть пациентов может иметь положительные результаты в тесте на антитела IgA к тканевой трансглутаминазе, но отрицательные в тесте на анти-эндомизиальные или анти-глиадиновые IgA антитела, что может быть свидетельством ложноположительного результата или ранней стадии заболевания. Позитивные результаты серологических тестов, но отрицательный результат биопсии может свидетельствовать о безглютеновой диете перед исследованием, латентной или ранней стадии энтеропатии. В случае, если безглютеновая диета была уже начата, перед проведением исследования целесообразно вернуться к глютенной диете. При отрицательных результатах серологических тестов, но остающемся подозрении на целиакию (диарея, стеаторея, потеря веса и пр.) обосновано проведение биопсии.

Пределы определения: 0.6 отн. ед/мл-200 отн. ед/мл

1. При применении теста в целях выявления целиакии (глютен-чувствительной энтеропатии) его следует проводить до перехода на безглютеновую диету. В случае, если безглютеновая диета была уже начата, перед проведением исследования целесообразно вернуться к диете, содержащей глютен (для обеспечения должной чувствительности теста к моменту обследования пациент должен получать пищу, содержащую глютен в течение не менее недели).

2. Тест может использоваться также для контроля лечения целиакии (с целью оценки соблюдения безглютеновой диеты). В таком случае отмены безглютеновой диеты не требуется.

Таблица №36. Диагностика аутоиммунных поражений желудочно-кишечного тракта. Целиакия. Антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе (anti- tissue transglutaminase IgA, tTG IgA)

Показания	Референсные значения	Интерпретация Положительно
Скрининговое исследование при подозрении на целиакию		Целиакия

Мониторинг процесса, безглютеновой диеты	активности контроль	< 20 отн. ед/мл (отрицательно).	Герпетиформный дерматит
Диагностика дерматита	герпетиформного		

Интерпретация результата. Специфичность тестов на антитела к тканевой трансглутаминазе, по оценкам, составляет 95-99 % (вероятность ложноположительных результатов 1-5%), чувствительность - 85-98% (вероятность ложноотрицательных результатов 2-15%).

Аутоиммунные поражения желудочно-кишечного тракта.

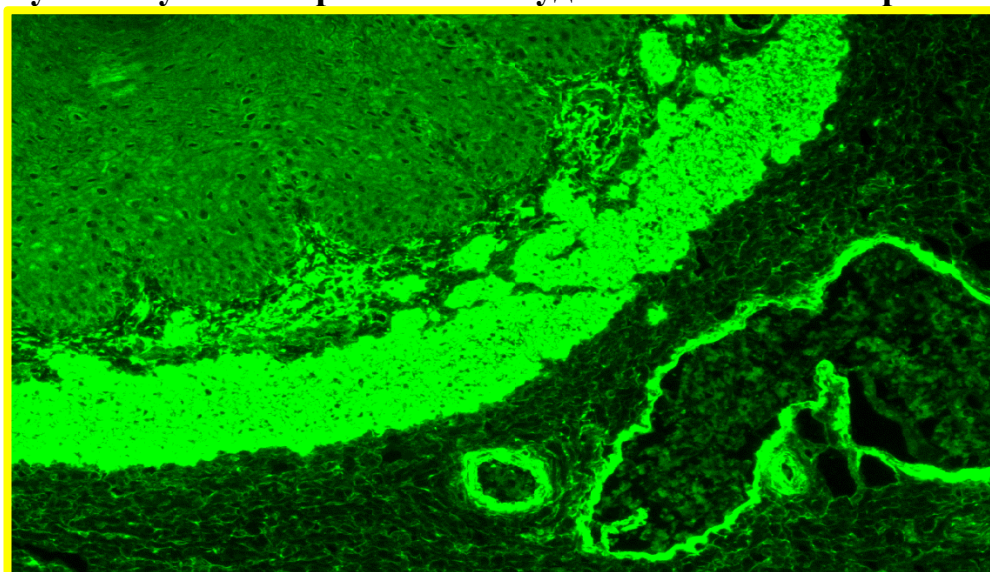


Рис. 16 Целиакия, антитела к эндомизию на срезе ткани пищевода примата

Антитела к ретикулину IgA и IgG (Reticulin Antibody IgA, IgG, ARA)

Аутоиммунные антитела, ассоциированные с целиакией (глютенчувствительной энтеропатией). Ретикулин (гистологический термин) – фибриллы, участвующие в образовании трёхмерных сетчатых структур - ретикулума, образующего строму мягких органов, преимущественно представляют коллаген III типа.

Высоко патогномичный для целиакии RI тип антиретикулиновых антител

Комбинация тестов повышает специфичность и чувствительность серологического исследования:

тест на антитела к глиадину более чувствителен,

тесты на антитела к эндомизиуму и ретикулину – более специфичны

Антитела к эндомизию IgA и IgG (Anti-Endomisial Antibody IgA, IgG, EMA)

Антитела класса IgG к тканевой трансглутаминазе (anti-tissue transglutaminase IgG, tTG IgG)

Антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе (anti-tissue transglutaminase IgA, tTG IgA)

Аутоиммунные поражения желудочно-кишечного тракта.

Кальпротектин фекальный (FecalCalprotectin)

Кальпротектин, биомаркер воспалительных заболеваний кишечника, продукт нейтрофильных гранулоцитов, обнаружение которых в кале указывает на поражение стенки кишки. К числу белков такого типа относят также лактоферрин, лизоцим, эластазу, миелопероксидазу и кальпротектин. Среди них лактоферрин и кальпротектин наиболее стабильны и медленно разлагаются протеазами микроорганизмов, что позволяет использовать в диагностических целях исследование их концентрации в кале. Данные белки относят к биомаркерам «фекального воспаления». Кальпротектин – белок с молекулярным весом 36 kDa, содержащий в своем составе ионы кальция и цинка и обладающий бактериостатическим и фунгицидным действием *in vitro*. Он составляет 60% белка, содержащегося в цитоплазме нейтрофилов, в низкой концентрации может быть обнаружен в моноцитах и тканевых макрофагах. Синтез кальпротектина в кале отражает приток нейтрофилов в просвет кишки, что подтверждается высокой корреляцией результатов исследования концентрации фекального кальпротектина с оценкой экскреции гранулоцитов, меченных индием-111. Кровотечение из стенки кишки незначительно отражается на концентрации кальпротектина в стуле и увеличивает его концентрацию не более чем на 10 мкг/г. Повышение концентрации фекального кальпротектина более 120 мкг/г отмечают более чем у 90% больных с воспалительными заболеваниями кишечника на этапе первичной диагностики.

Определение фекального кальпротектина позволяет дифференцировать больных с синдромом раздраженной толстой кишки от больных с органическими причинами поражения желудочно-кишечного тракта.

Умеренно повышенные значения кальпротектина отмечено при поражении слизистой (в том числе при целиакии, лактазной недостаточности, аутоиммунном гастрите), значительно повышенные концентрации отмечаются при воспалительных заболеваниях кишечника, бактериальных инфекциях желудочно-кишечного тракта, дивертикулах и онкологических заболеваниях, постоянном приеме нестероидных противовоспалительных средств (НПВС).

В период новорожденности, а также у детей младшего возраста, концентрация кальпротектина в среднем выше, чем у взрослых.

В связи с низкой специфичностью, фекальный кальпротектин не может заменить инструментальные методы диагностики болезни Крона. Гистологическое исследование является «золотым стандартом»

диагностики, комбинация эндоскопических визуализационных методов позволяет уточнить локализацию участков и объем поражения кишечника. Преимуществом исследования фекального кальпротектина при болезни Крона является то, что его повышенная концентрация может отражать сегментарные поражения тонкой кишки, которая недоступна для эндоскопического и/или гистологического исследований.

Часто концентрация фекального кальпротектина в стуле непосредственно коррелирует с гистологической и эндоскопической активностью заболевания.

Стойко повышенный уровень фекального кальпротектина может указывать на неэффективность терапии, а повышение содержания кальпротектина в динамике наблюдения - на вероятность обострения заболевания.

При диагностике заболеваний кишечника исследование фекального кальпротектина и исследование кала на скрытую кровь у пациентов со специфическими жалобами указывают на необходимость проведения колоноскопии.

Пределы определения: 10 – 1800 мкг/г

Таблица №37. Аутоиммунные поражения желудочно-кишечного тракта. Кальпротектин фекальный (Fecal Calprotectin)

Показания	Референсные значения	Повышение
дифференциальная диагностика органических (воспалительных) изменений стенки кишечника и функциональных расстройств	До 1 года - <500 мкг/г; 1-4 года <150 мкг/г; 4-65 лет <50 мкг/г; Старше 65 лет <100 мкг/г.	Болезнь Крона и Неспецифический язвенный колит
комплексная диагностика и оценка активности воспалительных заболеваний кишечника		Бактериальные инфекции желудочно-кишечного тракта
мониторинг терапии при неспецифическом		Дивертикулы и онкологические заболевания

язвенном колите и болезни Крона		
в комплексе с анализом кала на скрытую кровь при оценке необходимости проведения колоноскопии		Прием нестероидных противовоспалительных средств
энтеропатия, связанная с приемом нестероидных противовоспалительных средств		Воспалительные поражения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта при целиакии, аутоиммунном гастрите, дивертикулите и др.

При референсной границе <50 мкг/г интерпретация повышенных результатов: 50-200 мкг/г – умеренное повышение, которое может говорить об органическом поражении, вызванном нестероидными противовоспалительными препаратами, дивертикулитом и воспалительными заболеваниями кишечника в фазе ремиссии. А также о слабом иммунном ответе, в этом случае рекомендуется наблюдение в динамике;

более 200 мкг/г – выраженное повышение. Вероятно воспалительное заболевание кишечника.

Протеин-теряющая энтеропатия Альфа-1-антитрипсин в кале (Alpha-1-Antitrypsin, Feces)

Тест используют для **оценки потери белка в кишечнике в целях диагностики белок-теряющей энтеропатии.**

Альфа-1-антитрипсин (А1АТ) – основной компонент альфа-1-фракции белков сыворотки крови, где его концентрация составляет 1-2 г/л. Вырабатывается А1АТ преимущественно клетками печени, но также кишечными макрофагами, моноцитами и эпителиальными клетками. Это основной ингибитор сериновых протеаз. Так, А1АТ является главным ингибитором эластазы нейтрофилов и высвобождается при воспалительных процессах для снижения активности данного фермента в участках воспаления, он ингибирует и другие сериновые протеазы (трипсин и химотрипсин, протеиназы плазменной системы свертывания и др.).

Определение альфа-1-антитрипсина в кале используют для оценки состояния слизистой оболочки и потери белка в кишечнике. Большинство белков сыворотки при попадании в кишечник быстро расщепляются под

действием пищеварительных ферментов. Молекулы А1АТ, соответственно его уникальной функции ингибирования протеолитических ферментов, очень устойчивы к действию протеаз и остаются интактными в содержимом кишки, в отличие от других сывороточных белков. Остаточная концентрация А1АТ в кале является надежным маркером присутствия белков крови в просвете кишечника при ряде патологических состояний, объединяемых симптомокомплексом энтеропатии с потерей белка (чрезмерной потери белков плазмы в просвет кишечника через лимфатические сосуды или через измененную воспалительным процессом слизистую оболочку).

Энтеропатия с потерей белка может быть связана:

- с энтеритом аллергической,
- бактериальной,
- вирусной,
- паразитарной этиологии,
- целиакией,
- эрозиями и язвами слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта,
- карциномой,
- лимфатической обструкцией,
- повреждением или аномалией лимфатических сосудов

Таблица №38. Диагностика Альфа-1-антитрипсин в кале (Alpha-1-Antitrypsin, Feces) – протени - теряющая энтеропатия

Показания	Референсные значения	Интерпретация
Хроническая диарея	<250 мг/л.	эрозии и язвы пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки, гипертрофического гастрита
Абдоминальная боль		энтерита, аллергического энтерита, язвенного еюноилеита, пурпуры Шенлейна-Геноха, целиакии
Прогрессирующая потеря массы тела		псевдомембранозного колита, язвенного колита, цитомегаловирусного энтерита, глистной инвазии
Гипоальбуминемия с отечным синдромом		опухоли слизистой, карциноида, саркомы Капоши
Гипонатриемия		амилоидоза, лимфатической обструкции при туберкулезе, саркоидозе, ретроперитонеальном фиброзе

Анемический синдром		сердечной недостаточности с асцитом
Гиповитаминоз		энтеропатии, вызванной нестероидными противовоспалительными препаратами или химиотерапией

Антитела к ацинарным клеткам поджелудочной железы, IgG и IgA суммарно (антитела к экзокринной части поджелудочной железы, Autoantibodies against Exocrine Pancreas, Pancreatic Antibodies, PAB)

Обнаружение антител, ассоциированных с болезнью Крона.

Ацинарные клетки поджелудочной железы принимают участие в обеспечении ее экзокринной функции – образовании пищеварительных ферментов, секретируемых в кишечник. Антитела к ацинарным клеткам поджелудочной железы, выявляемые методом непрямой флюоресценции, клинически ассоциированы с воспалительными заболеваниями кишечника и наиболее характерны для болезни Крона.

Причины появления антител к антигенам экзокринной части поджелудочной железы при воспалительных заболеваниях кишечника в настоящее время изучены недостаточно. Связи между панкреатитом и появлением таких антител не обнаружено, у пациентов с острым или хроническим панкреатитом подобные антитела выявляются лишь изредка (их титр в таких случаях значительно ниже, чем при болезни Крона). В то же время доказано, что антигены панкреатических ацинарных клеток являются нормальным компонентом пищеварительного сока кишечника, попадая в него в процессе секреции пищеварительных ферментов поджелудочной железой. Среди них гликопротеин GP2 (белок мембраны секреторных гранул ацинарных клеток) идентифицирован как основной антиген для антител к ацинарным клеткам поджелудочной железы, ассоциированных с болезнью Крона. Антитела к GP2 антигену центрoацинарных клеток поджелудочной железы). Относительно недавно было обнаружено, что экспрессия этого белка присуща не только ацинарным клеткам поджелудочной железы. В исследованиях с использованием биопсийного материала были продемонстрированы транскрипция GP2 мРНК и усиленная экспрессия GP2 в участках воспаления толстого кишечника пациентов с болезнью Крона, что вызвало дополнительный интерес к изучению возможной роли GP2-специфичных антител в патогенезе этого заболевания.

Антитела к экзокринной части поджелудочной железы выявляются в среднем у 39% пациентов с болезнью Крона (при длительности болезни более двух лет – у 50% заболевших), несколько чаще у сравнительно молодых пациентов. Значительно реже антитела к центрoацинарным клеткам поджелудочной железы могут обнаруживаться при других заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Для пациентов с болезнью

Крона характерна также потерей толерантности к нормальной кишечной флоре и наличие постоянного неадекватного иммунного ответа на антигены нормальной флоры кишечника (см. тесты №№ 1335, 1336 Антитела к сахаромицетам, ASCA, IgG и IgA). Определение ASCA и PAB является полезным дополнением в процессе диагностики болезни Крона. Однако результаты этих серологических тестов сами по себе не являются основанием для постановки диагноза и должны рассматриваться в комплексе с результатами клинических, эндоскопических, лучевых методов обследования и гистологической оценки.

Таблица №39. Антитела к ацинарным клеткам поджелудочной железы, IgG и IgA суммарно

Показания	Референсные значения	Интерпретация Положительно
Обследование пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника	титр менее 1:10.	Болезнь Крона
Подозрение на болезнь Крона		
Нарушение всасывания, потеря массы тела		

Интерпретация результатов: обнаружение антител к экзокринной части поджелудочной железы указывает на высокую вероятность воспалительного заболевания кишечника и требует углубленного клинического и инструментального обследования. Выявление антител к ацинарным клеткам поджелудочной железы в сочетании с другими (клиническими, эндоскопическими, гистологическими, серологическими) признаками позволяет диагностировать болезнь Крона.

Антитела классов IgG и IgA к GP2 антигену центрoацинарных клеток поджелудочной железы (Anti-GP2, IgG, IgA)

Обнаружение антител, ассоциированных с болезнью Крона.

Гликопротеин 2-го типа (GP2) – количественно преобладающий белок мембраны экскреторных гранул ацинарных клеток поджелудочной железы. В ряде исследований было отмечено, что именно этот белок является основным антигеном для антител к поджелудочной железе, ассоциированных с болезнью Крона (Антитела к ацинарным клеткам поджелудочной железы).

Причины появления антител к GP2 при воспалительных заболеваниях кишечника изучены недостаточно. В процессе секреции панкреатических ферментов одновременно с ними в просвет кишечника попадает и GP2, который является нормальным компонентом панкреатического сока. Обладая высокой структурной гомологией с белком Тамма-Хорсфалла мочи, GP2, по данным исследований, выполняет сходную с ним защитную

антибактериальную функцию, связываясь с фимбриями бактерий в кишечнике. Ацинарные клетки поджелудочной железы не являются исключительным местом экспрессии GP2. Недавнее выявление экспрессии этого белка на апикальной мембране М-клеток кишечника, а также обнаружение транскрипции GP2 мРНК и усиленной экспрессии GP2 в биоптатах, взятых из мест воспаления кишечника у пациентов с болезнью Крона, дают возможное объяснение непонятной ранее связи аутоантител к антигену поджелудочной железы с локализацией патологического процесса в кишечнике.

Антитела к GP2 классов IgG и IgA можно обнаружить у 30-35% пациентов с болезнью Крона, независимо от присутствия характерных для этой патологии антител к сахаромицетам (Антитела к сахаромицетам, ASCA, IgG и IgA). Совместное использование этих маркеров повышает достоверность лабораторного тестирования и позволяет выявить серологические признаки данного заболевания у 60-70% пациентов.

Антитела к GP2 находят у более молодых больных. Присутствие этих антител проявляет связь с индивидуальной формой заболевания. При болезни Крона антитела к GP2 антигену отмечаются при иликоколите, стриктурирующей форме заболевания с частым перианальным воспалением.

В отличие от болезни Крона, такие антитела редко обнаруживают у пациентов с неспецифическим язвенным колитом (менее 8% случаев). Анти-GP2 могут отмечаться при некоторых других заболеваниях желудочно-кишечного тракта, в том числе при активной целиакии, а также у 3% здоровых лиц.

Показания:

- Обследование пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.
- Подозрение на болезнь Крона.
- Нарушение всасывания, потеря массы тела, витаминodefицит, железодефицит.

Таблица №40. Интерпретация результатов:

Антитела к GP2 класса IgA	<ul style="list-style-type: none"> • <5 Ед/мл – антитела не обнаружены • 5-10 Ед/мл – пограничное содержание антител • > 10 Ед/мл – диагностический уровень антител
Антитела к GP2 класса IgG	<ul style="list-style-type: none"> • <10 Ед/мл – антитела не обнаружены • 10-15 Ед/мл – пограничное содержание антител • > 15 Ед/мл – диагностический уровень антител

Обнаружение антител к GP2 классов IgG и/или IgA указывает на высокую вероятность воспалительного заболевания кишечника и требует углубленного клинического и инструментального обследования.

Выявление анти-GP2 в сочетании с другими (клиническими, эндоскопическими, гистологическими, серологическими) признаками позволяет поставить диагноз болезни Крона. При болезни Крона антитела к GP2 антигену чаще выявляются у молодых больных, при илеоколите, стриктурирующей форме заболевания с частым перианальным воспалением.

ASCA (антитела к *Saccharomyces cerevisiae* Ig A и IgG – дифференциальная диагностика болезни Крона и язвенного колита.

Антитела классов IgA и IgG к бокаловидным клеткам кишечника, суммарно (Anti-Intestinal Goblet Cells Antibodies, GAB, IgA, IgG, Total)

Обнаружение антител, ассоциированных с неспецифическим язвенным колитом.

Бокаловидные клетки кишечника имеются во всех отделах кишечного тракта, но максимальное их количество находится в прямой кишке, особенно в криптах толстого кишечника. Основной функцией этих клеток является выработка муцинов – высокомолекулярных гликопротеинов, способных формировать гель. Муцины кишечника образуют поверхностный слой слизи, который облегчает продвижение содержимого в просвете кишечника и одновременно служит защитой его слизистой оболочки как от физических и химических факторов кишечного содержимого, так и от проникновения потенциальных патогенов.

Наличие циркулирующих антител к бокаловидным клеткам кишечника ассоциировано с воспалительными заболеваниями кишечника. Эти антитела наиболее характерны для неспецифического язвенного колита (15-28% случаев) и очень редко встречаются при болезни Крона и других заболеваниях кишечника или у здоровых лиц. Основной мишенью данных антител является вырабатываемый бокаловидными клетками кишечника муцин (антигенные эпитопы находятся как в сердцевинном белке, так и в углеводных компонентах муцина).

Антитела к бокаловидным клеткам кишечника могут быть вовлечены в патогенетически значимые аутоиммунные процессы при неспецифическом язвенном колите. Локализация этих клеток макро- и микроскопически совпадает с локализацией участков поражения при данном заболевании, гистологически наблюдается снижение числа бокаловидных клеток, отмечается уменьшение количества муцина. Но первичная роль этих антител в развитии патологического процесса в толстом кишечнике

сомнительна, учитывая относительно невысокую частоту их выявления. Их появление может быть вторичным феноменом.

К другим антителам, ассоциированным с неспецифическим язвенным колитом, относятся антитела к цитоплазме нейтрофилов (Антитела к цитоплазме нейтрофилов, АНЦА, IgA, IgG), однако они менее специфичны. Серологические тесты используют в диагностике воспалительных заболеваний кишечника в качестве дополнения, их результаты сами по себе не могут служить основанием для постановки диагноза неспецифического язвенного колита и должны рассматриваться в комплексе с результатами клинических, эндоскопических, лучевых методов обследования и гистологической оценки.

Присутствие циркулирующих антител к бокаловидным клеткам отмечается также при редком заболевании – аутоиммунной энтеропатии, которое характеризуется неподдающейся лечению диареей, воспалением и гистологическими изменениями слизистой оболочки тонкого кишечника (со снижением числа бокаловидных клеток и атрофией ворсин), присутствием циркулирующих антител к энтероцитам и предрасположенностью к другим аутоиммунным заболеваниям и полиэндокринопатии.

Предпочтительно выдержать 4 часа после последнего приема пищи, обязательных требований нет.

Таблица №41. Антитела классов IgA и IgG к бокаловидным клеткам кишечника, суммарно

Показания	Референсные значения	Интерпретация Положительно
Обследование пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника	титр менее 1:10	Неспецифический язвенный колит
Подозрение на неспецифический язвенный колит		Аутоиммунная энтеропатия
Подозрение на аутоиммунную энтеропатию		
Нарушение всасывания, потеря массы тела, дефицит витаминов, дефицит железа неясной этиологии		
Комплексное обследование больных с аутоиммунными заболеваниями, включая		

аутоиммунные полиэндокринопатии		
------------------------------------	--	--

Интерпретация результатов: увеличение титра антител к бокаловидным клеткам кишечника указывает на высокую вероятность воспалительного заболевания кишечника. Выявление антител к бокаловидным клеткам кишечника в сочетании с другими (клиническими, эндоскопическими, гистологическими, серологическими) признаками помогает поставить диагноз неспецифического язвенного колита или аутоиммунной энтеропатии.

Соответственно данным фирмы-производителя, клиническая чувствительность используемой тест-системы (установленная по группе пациентов с установленным язвенным колитом) составляет 28%, клиническая специфичность (установленная по группе здоровых доноров) приближается к 100%.

**Аутоиммунные поражения желудочно-кишечного тракта
Метод выявления – комбинация субстратов для нРИФ
Аутоантитела при болезни Крона**

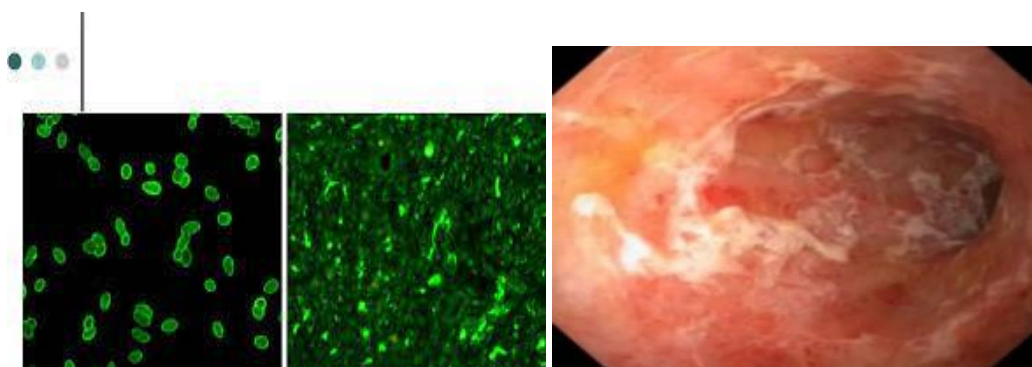


Рис.17 Болезнь Крона

Таблица №42. Аутоантитела при болезни Крона

№	Аутоантитела
1	Антитела к <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
2	Антитела к центроацинарным клеткам поджелудочной железы

Таблица №43. Антитела к полисахаридам *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) и Антитела к центроацинарным клеткам поджелудочной железы

Показания	Референсные значения	Интерпретация
		Положительно

Обследование пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника	титр менее 1:10	болезнь Крона
Подозрение на болезнь Крона		
Нарушение всасывания, потеря массы тела, витаминдефицит, железодефицит		

Аутоантитела при неспецифическом язвенном колите

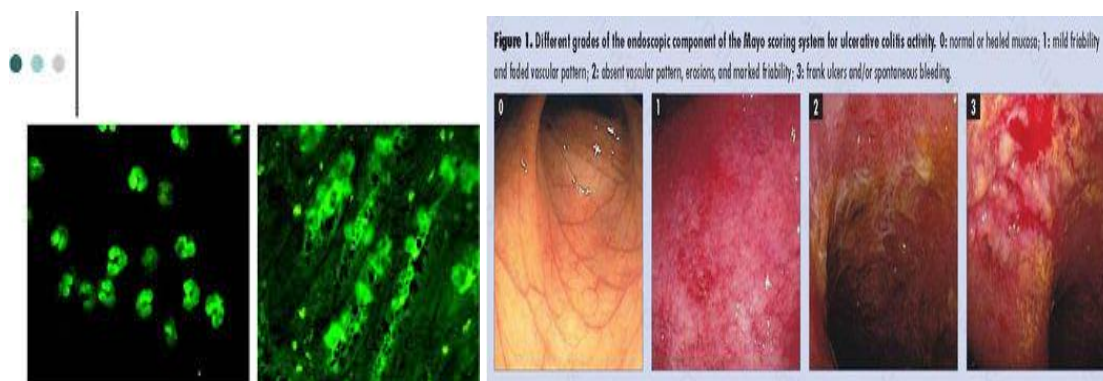


Рис.18 Неспецифический язвенный колит

Таблица №44. Аутоантитела при неспецифическом язвенном колите

№	Аутоантитела
1	Антитела к цитоплазме нейтрофилов, пАНЦА, нейтрофилы донора
2	ASCA (антитела к <i>Saccharomyces cervisiae</i> Ig A и IgG – дифференциальная диагностика болезни Крона и язвенного колита)
3	Антитела классов IgA и IgG к бокаловидным клеткам кишечника
4	Обнаружение антител, ассоциированных с неспецифическим язвенным колитом

Антитела к цитоплазме нейтрофилов (АНЦА) встречаются при НЯК и склерозирующем холангите, однако не реагируют с МРО (миелопероксидазой) и PR3 (протеиназой3)

2.8 Аутоиммунные неврологические заболевания.

Таблица №45. Развернутое обследование при полиневритах, комплексное исследование в него входит:

№	Аутоантитела
1	Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 (АНФ)
2	ANA-screen, 12 антинуклеарных аутоантител (dsDNA, Nucleosomen, Sm, PO, Histon, RNP, SS-A/Ro60, SS-A/Ro52, SS-B/La, Scl-70, CENP-B, Jo-1)
3	Качественное определение антител IgG и/или IgM к ганглиозидам (anti-GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GQ1b, GT1b).

Воспалительные нейропатии периферической нервной системы характеризуются большим количеством клинических симптомов, начиная от легкого чувства усталости и до отказа работы функций дыхания и остановки сердца. При заболеваниях периферической нервной системы в последнее время было обнаружено возрастающее число случаев обнаружения антител к ганглиозидам. Ганглиозиды это кислые гликолипиды, они являются частью клеточной мембраны и обнаруживаются в ЦНС и ПНС. Структуры схожие с ганглиозидами можно обнаружить на поверхности микроорганизмов, таким образом воспалительные полинейропатии часто встречаются в результате перенесенных инфекций, таких как, инфекция, вызываемая микроорганизмами *Campylobacter jejuni*, ЦМВ, вирус Эпштейна-Барр, микоплазма, гемофильная палочка, палочка Пфейфера. Антитела к возбудителям ганглиозидных структур могут вступать в перекрестную реакцию с ганглиозидами костного мозга или нервных волокон и способствовать воспалению с последующей демиелинизацией.

Таблица №46. Следующие антитела были описаны как характерные для периферийных нейропатий

Синдром Гийена –Барре (GBS)	GM1, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b	IgM (IgG)
Синдром Миллера-Фишера (MFS)	GQ1b, GT1a	IgG

Мультифокальная моторная нейропатия (MMN)	GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
Хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия	GM2, GM3, GD1a, GD1b	IgM
Хроническая атаксическая нейропатия (CANOMAD)	GM3, GD1b, GD2, GD3, GT1b, GQ1b	IgM
Острая атаксическая сенсорная нейропатия	GD1b, GD3	IgG
Острая моторная аксональная нейропатия (AMAN)	GM1, GD1a	IgG
IgM-парапротеинемическая демиелинизирующая нейропатия	Сульфатиды	IgM (IgG)

Тест для диагностики полинейропатий, антитела IgG и/или IgM к ганглиозидам (anti-GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GQ1b, GT1b,)

Тест для диагностики миастении, антитела к ацетилхолиновым рецепторам (AChR)

Количественное определение антител к рецептору ацетилхолина (AChRAK) в сыворотке человека методом твердофазного ИФА. Антитела к рецептору ацетилхолина ответственны за отказ нервно-мышечной передачи у пациентов с миастенией. Обнаружение антител является определяющим для диагностики и лечения данного заболевания.

Референсные значения:

Отрицательно <0,45 нмоль/л,

положительно $\geq 0,45$ нмоль/л

2.9 Аутоиммунные эндокринопатии

Диагностика диабета 1 типа, скрининг антител к островковым клеткам (ICA)

Сахарный диабет 1 типа (инсулинозависимый), возникает в результате хронического аутоиммунного процесса, направленного специфически против бета-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Разрушение клеток определяется взаимодействием CD4 и CD8 аутореактивных Т-лимфоцитов. Уже перед установлением диагноза СД 1

типа в сыворотке больных обнаруживаются аутоантитела, направленные против различных аутоантигенов островковых клеток. Данный процесс может продолжаться многие годы и иметь место в любом возрасте.

Эти IgG аутоантитела являются важнейшими маркерами для выявления людей с повышенным риском заболевания диабетом уже тогда, когда имеющиеся в распоряжении метаболические анализы еще показывают нормальный результат. Это полуколичественное определение антител методом твердофазного ИФА, концентрация антител определяется по коэффициенту связывания.

В лабораторной практике для определения антител к островковым клеткам (ICA) применяется метод иммуноферментного твердофазного анализа (ИФА) - полуколичественный иммуноферментный анализ ICAScreen.

Обнаружение ICA имеет наибольшее прогностическое значение в развитии СД I типа. Они появляются за 1-8 лет до клинической манифестации заболевания. Высокая прогностическая значимость определения ICA определяется ещё и тем, что у пациентов с наличием ICA даже при отсутствии признаков диабета, в конечном счете, тоже развивается СД I типа. Поэтому определение ICA полезно для ранней диагностики этого заболевания. Их обнаружение позволяет клиницисту подбирать диету и проводить иммунокорректирующую терапию. В зависимости от иммунологических особенностей СД I типа выделяют тип A1, при котором частота выявления аутоантител после развития клинической картины достигает 90%, а через год снижается до 20%, и тип B1, при котором персистенция аутоантител сохраняется длительное время.

Таблица №47. Определение антител к островковым клеткам (ICA)

Показания	Референсные значения
Сахарный диабет I типа	отрицательно <0,7, серая зона 0,7-1,0, положительно ≥ 1,0.

Таблица №48. Диагностика АИЗ щитовидной железы

Показания	Антитела
аутоиммунный тиреоидит	Антитела к тиреоглобулину Антитела к тиреопероксидазе Антитела к рецепторам ТТГ Антитела к микросамальной фракции тиреоцитов
Болезнь Грейвса	
Зоб Хашимото	
Атрофический тиреоидит	

Первичный тиреотоксикоз	Антитела к ткани щитовидной железы
-------------------------	------------------------------------

Таблица №49. Диагностика поджелудочной железы (сахарный диабет 1-го типа).

Показания	Антитела
Сахарный диабет 1-го типа	Антитела к инсулину
	Антитела к островковым клеткам поджелудочной железы
	Антитела к декарбоксилазе глютаминовой кислоты (GAD)

Во время асимптоматического развития диабета, антитела к трем указанным антигенам могут определяться у пациентов за 7 лет до клинического проявления болезни.

Заключение

Таким образом, в методическом пособии представлены методологические основы лабораторной диагностики различных аутоиммунных заболеваний на современном этапе развития медицины. В пособии рассмотрены общие вопросы патогенеза, лежащие в основе развития АИЗ. Представлены инновационные технологии количественного и качественного анализа биомаркеров АИЗ с анализом результатов исследований, точности и специфичности отдельных методов диагностики.

Учебное пособие может быть полезным для интернов, резидентов, всех специальностей.

На сегодняшний день наличие огромного количества новейших тестов для диагностики патологических состояний требует от клиницистов знаний не только основ клинической биохимии, но и новых алгоритмов лабораторной диагностики.

В представленной работе рекомендации клиницистам подобрать правильный подход в лабораторной диагностике ряда патологических состояний, основываясь на рекомендациях Всемирной организации здравоохранения, новейших достижениях науки и клинической практике, собственных научно практических исследований.

Представленная работа даст возможность врачам охарактеризовать патологические процессы в организме, выйти на правильные диагностические критерии и проследить ход лечения АИЗ.

Приложение №1

Диагностическое и патогенетическое значение аутоантител

Аутоантитела	Диагностическое и патогенетическое значение
Аутоантитела к двухцепочечной ДНК (анти-ds-ДНК)	Являются наиболее специфичным маркером для СКВ. При эффективной терапии титр этих антител значительно снижается. С помощью ИФА у здоровых лиц анти-ds-ДНК выявляются в 2,5% случаев, при СКВ – в 40-70%, при лекарственной волчанке не выявляются, а при РА, ЮРА, ССД, болезни Шегрена определяются в 4-17% случаев.
Аутоантитела к одноцепочечной ДНК (анти-ss-ДНК)	Неспецифичны по отношению к определенным заболеваниям, присутствуя в организме при СКВ, заболеваниях соединительной ткани, ревматоидном артрите, склеродермии и синдроме Шегрена
Аутоантитела к эстрагируемому ядерному антигену Sm	Встречаются в 10-30% случаев при СКВ. Негативные результаты не исключают наличия СКВ. Клиническими признаками, связанными с присутствием Sm-антител, являются агрессивное течение заболевания, поражение ЦНС, волчаночные психозы и относительная сохранность функции почек.
Аутоантитела к гистонам	Представляют собой одну из разновидностей антинуклеарных антител и определяются в основном при СКВ, являясь ее ранним маркерами. Выявляются у 80% больных СКВ, а также у больных первичным билиарным циррозом, РА (в 15-50%) и склеродермии. Часто определяются у пациентов с лекарственной красной волчанкой после приема таких лекарств, как гидралазин и прокаинамид. Однако у таких больных отсутствует антитела к ds-ДНК.
Аутоантитела к нуклеосомам	Обнаруживается при СКВ со специфичностью, близкой к 100%. Нередко свидетельствуют о поражении почек (люпус-нефрит)
Аутоантитела к рибосомальным белкам Р	Специфичны для СКВ. Встречаются у 10-20% больных с СКВ. Они взаимодействуют с фосфопротеинами рибосом и встречаются у больных СКВ с поражением центральной нервной системы, почек и печени. Их обнаружение специфично для СКВ, протекающей с волчаночным психозом.
Аутоантитела к антигенам митохондрий AMA-2	Антитела к антигенам митохондрий МА-2, расположенным на внутренней органеллы. Характерны для первичного билиарного цирроза печени. Также могут быть обнаружены при других заболеваниях

	печени (30%), при прогрессирующем системном склерозе (7-25%)
Аутоантитела к рибонуклеопротеиду	Выявляются у 100% больных со смешанными заболеваниями соединительной ткани (синдромом Шарпа) и почти у половины больных СКВ. Титр антител коррелирует с клинической активностью заболевания.
Аутоантитела к центромерам	Обнаруживаются при ограниченной форме склеродермии, при CREST-синдроме (кальциноз, синдром Рейно, эзофагит, телеангиоэктазии) у 70% пациентов. Их наличие указывает на благоприятный исход заболевания, низкую вероятность поражения внутренних органов.
Аутоантитела к цитоплазматическому антигену Jo-1 (к гистидин-тРНК-синтетазе)	Обнаруживаются у 25-35% больных дерматомиозитом. Часто связаны с системными проявлениями: легочным фиброзом и синдромом Рейно.
Аутоантитела к нативному ядерному антигену SS-A	Наиболее часто определяются у пациентов с синдромом Шегрена (4-080% случаев), при СКВ (30-40%), при первичном билиарном циррозе (20%), практически в 100% случаев красной волчанки у новорожденных. Обычно встречается в популяции у больных СКВ с выраженной симптоматикой фотосенситивных кожных проявлений.
Аутоантитела к Ro-52	Выявляются при различных АИЗ, но наиболее характерны для СКВ и синдрома Шегрена
Аутоантитела к SS-B	Находят почти исключительно у женщин (29:1) при синдроме Шегрена (40-80%), но также при диссеминированной красной волчанке (10-20%). При синдроме Шегрена обычно встречаются комбинации антител к SS-A и SS-B
Аутоантитела к Scl-70	Антисклеродермальные антитела (антитела к топоизомеразе) выявляются при диффузной и реже при ограниченной форме склеродермии, CREST-синдроме. Они высокоспецифичны для склеродермии и являются плохим прогностическим признаком относительно развития легочного фиброза.
Аутоантитела к Pm-Scl	Обнаруживаются у 50-70% пациентов с комбинацией симптомов полимиозита, дерматомиозита и склеродермии. Распространенность составляет 3% при склеродермии (диффузная форма) и 8% при ДМ и ПМ.
Ревматоидный фактор (РФ)	Определяется у 75-80% больных РА артритом, кроме того, обнаруживается при синдроме Шегрена, склеродермии, ДМ, гипергаммаглобулинемиях, В-

	клеточных лимфопролиферативных заболеваниях. По своей природе РФ – это антитела против Fc-фрагмента IgG. Чаще (до 90%) эти антитела относятся к IgM, но встречаются и IgG, IgA и IgE=антитела
Антитела к циклическому цитрулинированному пептиду (анти-ЦЦП)	Показано, что антитела к линейному синтетическому пептиду, содержащему необычную аминокислоту цитрулин, присутствуют в 79% сывороток от больных РА со специфичностью для РА 97% и обнаруживаются на очень ранней стадии РА. Кроме того, тест позволяет дифференцировать эрозивную и неэрозивную формы РА. У АЦПП(+) пациентов отмечается большая степень повреждения хряща по сравнению с АЦПП(-) пациентами. Прогностическая ценность метода возрастает, если его использовать в комбинации с РФ. Этот тест позволяет дифференцировать РА с другими заболеваниями соединительной ткани.

Тестовые задания

1. Антинуклеарные антитела, IgG, скрининг, ИФА (Антиядерные антитела, Antinuclear antibodies, ANAs, EIA)

А. Один из распространенных скрининговых тестов, используемых для диагностики аутоиммунных заболеваний

В. Один из распространенных скрининговых тестов, используемых для диагностики аутоиммунных заболеваний почек

С. Один из распространенных скрининговых тестов, используемых для диагностики аутоиммунных заболеваний опорно-двигательного аппарата

Д. Один из распространенных скрининговых тестов, используемых для диагностики аутоиммунных заболеваний печени

Е. Один из распространенных скрининговых тестов, используемых для диагностики полинейропатии

2. Антинуклеарный фактор (АНФ, HEp-2, титры. Антинуклеарные антитела методом непрямой иммунофлюоресценции на препаратах HEp-2-клеток; ANA IF, titers)

А. Тест показан для дифференциальной диагностики заболеваний системы крови

В. Тест показан для дифференциальной диагностики аутоиммунных заболеваний

С. Лабораторным маркером системных заболеваний соединительной ткани являются антинуклеарные антитела.

Д. Тест показан для дифференциальной диагностики заболеваний органов дыхания

Е. Тест показан для дифференциальной диагностики полинейропатии

3. Антитела класса IgG к двуспиральной (нативной) ДНК (анти-дсДНК IgG, anti-double-stranded (native) DNA IgG antibodies, anti-dsDNA IgG)

А. Высокоспецифичный маркер системной красной волчанки

В. Используют для диагностики и мониторинга течения системной красной волчанки

С. Присутствие анти-дсДНК IgG в более низкой концентрации отмечается при других диффузных болезнях соединительной ткани или лекарственно-индуцированной СКВ

Д. Все выше перечисленное верно

Е. Используют для диагностики полинейропатии

4. Панель антинуклеарных антител при склеродермии (SCLERODERMA ANTIBODIES PANEL) (Scl-70, CENP A, CENP B, RP 11, RP 155, фибриллярин, NOR 90, Th/To, PM-Sc100, PM-Sc1 75, Ku, PDGFR, Ro-52)

А. Исследование предназначено для определения антинуклеарных антител при склеродермии, для диагностики и тяжести течения болезни

В. Исследование предназначено для определения антинуклеарных антител при склеродермии для оценки степени поражения органов и систем

С. Исследование предназначено для определения антинуклеарных антител, для диагностики и тяжести течения антифосфолипидного синдрома

Д. Исследование предназначено для определения антинуклеарных антител для диагностики очаговой формы склеродермии

Е. Используют для диагностики полинейропатии

5. Антитела к нуклеосомам, Ig G (NUCLEOSOME, CHROMATIN ANTIBODY, IgG)

А. Имеют большое значения в патогенезе поражения почек при волчаночном нефрите

В. Показан для диагностики и дифференциальной диагностики СКВ, волчаночного гломерулонефрита

С. Показан для диагностики и дифференциальной диагностики при клинических признаках ревматического заболевания

Д. Все выше перечисленное верно

Е. Показан для диагностики аутоиммунных эндокринных заболеваний

6. Иммуноблот антинуклеарных антител (ANTINUCLEAR ANTIBODY) (Sm, RNP/Sm, SS-A (60 кДа), SS-A (52 кДа), SS-B, Scl-70, PM-Scl, PCNA, CENP-B, dsDNA, Histone, Nucleosome, Rib P, AMA-M2, Jo-1 антигену)

А. Иммуноблот обеспечивает дифференциальную диагностику основных системных ревматических заболеваний

В. Иммуноблот обеспечивает дифференциальную диагностику заболеваний системы крови

С. Иммуноблот обеспечивает дифференциальную диагностику заболеваний легких

Д. Иммуноблот обеспечивает дифференциальную диагностику заболеваний органов пищеварения

Е. Иммуноблот обеспечивает дифференциальную диагностику аутоиммунных эндокринных заболеваний

7. Антитела к экстрагируемому нуклеарному антигену IgG (ЭНА, Extractable Nuclear Antigen Antibodies, ENA) (смесь RNP/Sm, SS-A (Ro), SS-B(La), Scl-70, центромерный белок В и Jo-1)

А. Данный тест дает возможность проводить раннюю диагностику системных заболеваний

В. Обеспечивает уточнение диагноза системного заболевания при неясной клинической картине

С. Обеспечивает уточнение диагноза системного заболевания при проведении дифференциальной диагностики

Д. Все выше перечисленное верно

Е. Обеспечивает уточнение диагноза аутоимунных эндокринных заболеваний

8. АНЦА Антитела к протеиназе3(анти-ПР3), Антитела к миелопероксидазе(анти-МПО)

А. Обеспечивает уточнение диагноза аутоимунных эндокринных заболеваний

В. Обеспечивает диагностике заболеваний опорно-двигательного аппарата

С. Обеспечивает диагностике заболеваний системы крови

Д. Обеспечивает диагностике заболеваний мочеполовой системы

Е. Обеспечивает диагностике системных васкулитов, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-СВ)

9. Качественное определение (положительно/отрицательно) антител класса IgM и IgG к фосфолипидам (кардиолипин, фосфатидиловая кислота, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин) и их кофакторам (плазменным белкам) - β 2-гликопротеин I, протромбин, аннексин V в сыворотке или плазме человека методом иммуноблота (тест-полоски с нанесенными антигенами)

А. Характерно для антифофолипидного синдрома

В. Характерно для СКВ, системной склеродермии

С. Характерно для диффузной болезни соединительной ткани (ДБСТ).

Д. Характерно для дерматомиозита

Е. Характерно для аутоимунных воспалительных заболеваний кишечника

10. Ревматоидный фактор(РФ). Антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ)

А. Данный тест дает возможность проводить диагностику синдрома Шегрена

В. Данный тест дает возможность проводить диагностику ревматоидного артрита

С. Данный тест дает возможность проводить диагностику болезни Бехчета

Д. Данный тест дает возможность проводить диагностику анкилозирующего спондилита

Е. Данный тест дает возможность проводить диагностику аутоимунных воспалительных заболеваний кишечника

11. Крупногранулярный тип свечения ядра (АС-5) указывает на наличие антинуклеарных антител против U1/RNP, Sm.

- A. Характерно для смешанного заболевания соединительной ткани (с-м Шарпа)
- B. Характерно для СКВ
- C. Характерно для системной склеродермии (ССД)
- D. Все выше перечисленное верно
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

12. Гомогенный тип свечения ядра (АС-1) указывает на наличие антинуклеарных антител против нуклеосом, двуспиральной ДНК и гистонов.

- A. Характерны для СКВ, лекарственной волчанки
- B. Характерны для системной склеродермии
- C. Характерны хронического активного гепатита
- D. Характерно для анкилозирующего спондилита
- E. Все выше перечисленное верно

13. Мелкогранулярный / гомогенный тип свечения ядра (частично положительное ядрышко) указывает на наличие антинуклеарных антител против Scl-70.

- A. Характерно для системной склеродермии (ССД).
- B. Характерно для системного склероза с диффузным поражением кожи
- C. Все перечисленное верно
- D. Характерно для системного склероза с поражением внутренних органов
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

14. Мелкогранулярный тип свечения ядра (АС-4) указывает на наличие антинуклеарных антител против SS-A (Ro), SS-B (La).

- A. Характерно для Синдрома Шегрена, СКВ
- B. Характерно для дерматомиозита, ревматоидного артрита.
- C. Характерно для системной склеродермии (ССД), подострой кожной красной волчанки.
- D. Характерно для анкилозирующего спондилита
- E. Все выше перечисленное верно

15. Ядрышковый гомогенный гомогенный тип свечения ядра (АС-8) указывает на наличие антинуклеарных антител против PM-Scl.

- A. Характерно для системной склеродермии (ССД)
- B. Характерно для дерматомиозита
- C. Все перечисленное верно

- D. Характерно для подострой кожной красной волчанки.
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

16. Ядрышковый глыбчатый тип свечения ядра (АС-9) указывает на наличие антинуклеарных антител против U3-snoRNP/фибрилларин.

- A. Характерно для системной склеродермии (ССД)
- B. Характерно для синдрома Шегрена
- C. Характерно для болезни Бехчета
- D. Характерно для анкилозирующего спондилита
- E. Характерно для ревматоидного артрита

17. Центромерный тип свечения ядра (АС-3) (Dots>30) указывает на наличие антинуклеарных антител против СЕНР-А, В.

- A. Характерно для системной склеродермии (ССД)
- B. Все перечисленное верно
- C. Характерно для первичного билиарного холангита (ПБХ)
- D. Характерно для Синдрома Шегрена.
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

18. Множественный тип свечения ядра (точки в ядре, АС-6 Dots 6-20) указывает на наличие антинуклеарных антител против Sp-100.

- A. Характерно для первичного билиарного холангита (ПБХ).
- B. Характерно для диффузной болезни соединительной ткани (ДБСТ).
- C. Все перечисленное верно
- D. Характерно для дерматомиозита.
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

19. Гомогенный тип свечения ядра с тонким линейным свечением ядерной мембраны (АС-11) указывает на наличие антинуклеарных антител против Lamin (ламина А, В, С, или ламин-ассоциированные белки).

- A. Характерно для СКВ.
- B. Характерно для Синдрома Шегрена
- C. Характерно для серонегативного артрита
- D. Характерно для анкилозирующего спондилита
- E. Все выше перечисленное верно

20. Мелкогранулярный тип свечения ядра (АС-26, chromatinnegative, spindie (митотическое веретено) positive) указывает на наличие антинуклеарных антител против NUMA 1 (антитела к митотическому аппарату клетки).

- A. Характерно для СКВ, системной склеродермии (ССД)

В. Характерно для Синдрома Шегрена, смешанных заболеваний соединительной ткани, ревматоидного артрита.

С. Характерно для первичного билиарного холангита (ПБХ).

Д. Все выше перечисленное верно

Е. Характерно для анкилозирующего спондилита

21. Цитоплазматический мелкогранулярный, диффузное окрашивание цитоплазмы, наложение крупных точек (АС-20) указывает на наличие антинуклеарных антител против Jo-1.

А. Характерно для «антисинтетазный синдром», полимиозита дерматомиозита

В. Все перечисленное верно

С. Характерно для локальной ССД

Д. Характерно для идиопатического плеврального выпота

Е. Характерно для анкилозирующего спондилита

22. Полярное цитоплазматическое окрашивание с одной стороны, комплекс Гольджи в цитоплазме (АС-22) указывает на наличие антинуклеарных антител против гигантин/макрогольджин, гольджин-95/GM130, гольджин-160, гольджин-97, гольджин-245.

А. Характерно для Синдрома Шегрена (РЕДКО), СКВ, ревматоидного артрита

В. Характерно для диффузной болезни соединительной ткани (ДБСТ), гранулематоза Вегенера

С. Все перечисленное верно

Д. Характерно для идиопатической мозжечковой атаксии, паранеопластической мозжечковой дегенерации, вирусных инфекциях

Е. Характерно для анкилозирующего спондилита

23. Митохондриальный / ретикулярный тип свечения цитоплазмы (большие цитоплазматические точки, расположенные в нитевидной сети) (АС-21) указывает на наличие антинуклеарных антител против АМА-M2.

А. Характерно для первичного билиарного холангит (ПБХ).

В. Характерно для болезни Бехчета

С. Характерно для синдрома Шегрена

Д. Характерно для диффузных болезни соединительной ткани

Е. Характерно для анкилозирующего спондилита

24. Цитоплазматическое свечение от мелкогранулярного до гомогенного, точки в ядре (смешанный тип) указывает на наличие антинуклеарных антител против Ribosomal phosphoproteins , Coilin.

А. Характерно для СКВ, системной склеродермии (ССД)

В. Характерно для Синдрома Шегрена

- C. Характерно для первичного билиарного холангита (ПБХ).
- D. Все перечисленное верно
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

25. Кальпротектин - продукт нейтрофильных гранулоцитов

- A. Характерно для синдрома раздраженного кишечника
- B. Характерно для воспалительных заболеваний кишечника (болезни Крона, НЯК)
- C. Характерно для первичного билиарного холангита (ПБХ)
- D. Характерно для аутоимунных поражений печени
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

26. Антитела к ацинарным клеткам поджелудочной железы, IgG и IgA суммарно (антитела к экзокринной части поджелудочной железы, Autoantibodies against Exocrine Pancreas, Pancreatic Antibodies, PAB)

- A. Характерны для заболеваний поджелудочной железы
- B. Характерны для аутоимунных заболеваний печени
- C. Клинически ассоциированы с воспалительными заболеваниями кишечника и наиболее характерны для болезни Крона
- D. Характерны для первичного билиарного холангита (ПБХ)
- E. Характерно для анкилозирующего спондилита

27. Антитела классов IgA и IgG к бокаловидным клеткам кишечника, суммарно (Anti-Intestinal Goblet Cells Antibodies, GAB, IgA, IgG, Total)

- A. Обнаружение антител, ассоциированных с синдромом раздраженного кишечника.
- B. Обнаружение антител, ассоциированных с болезнью Крона
- C. Обнаружение антител, ассоциированных с целиакией
- D. Обнаружение антител, ассоциированных с неспецифическим язвенным колитом
- E. Характерно для аутоимунного гепатита

28. Антитела IgG и/или IgM к ганглиозидам (anti-GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GQ1b, GT1b,)

- A. Тест для диагностики полинейропатий
- B. Тест для диагностики аутоимунных воспалительных заболеваний кишечника
- C. Тест для диагностики эндокринных заболеваний
- D. Тест для диагностики мешанного заболевания соединительной ткани
- E. Тест для диагностики аутоимунного гепатита

29. Скрининг антител к островковым клеткам (ICA)

- A. Тест для диагностики эндокринных заболеваний
- B. Тест для диагностики аутоиммунного гепатита
- C. Тест для диагностики воспалительных заболеваний кишечника
- D. Тест для диагностики полинейропатии
- E. Тест для диагностики сахарного диабета 1 типа

30. Антитела классов IgG и IgA к GP2 антигену centroacinарных клеток поджелудочной железы (Anti-GP2, IgG, IgA)

- A. Обнаружение антител, ассоциированных с неспецифическим язвенным колитом
- B. Обнаружение антител, ассоциированных с болезнью Крона
- C. Обнаружение антител, ассоциированных с аутоиммунным гепатитом
- D. Обнаружение антител, ассоциированных с васкулитом
- E. Обнаружение антител, ассоциированных с сахарным диабетом

ОТВЕТЫ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

<i>Вопрос</i>	<i>Ответ</i>
1	A
2	C
3	D
4	B
5	D
6	A
7	D
8	E
9	A
10	B
11	D
12	E
13	C
14	E
15	D
16	A
17	B
18	C
19	E
20	D
21	B
22	C
23	A
24	D
25	B
26	C
27	D
28	A
29	E
30	B

Список использованной литературы

Основная:

1. Авдеева А.С., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Клиническое значение матриксных металлопротеиназ при ревматоидном артрите (обзор литературы и собственные данные). Научно-практическая ревматология. 2014; 52 (1):79–84. [Avdeeva AS, Aleksandrova EN, Nasonov EL. The clinical significance of matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis patients (review of the literature and our own data). Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2014; 52(1):79–84. (In Russ.)].
2. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Рекомендации по лабораторной диагностике ревматических заболеваний Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России». Современная ревматология. 2015;9(4):25-36.
3. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные подходы к лабораторной диагностике ревматических заболеваний: роль молекулярных и клеточных биомаркеров. Научно-практическая ревматология. 2016;54(3):324-338.
4. Ананьева Л.П., Алекперов Р.Т., Насонов Е.Л. Мезенхимальные клетки костного мозга – перспективы использования при ревматических болезнях. Научно-практическая ревматология. 2013;51(1):59-67 [Ananyeva LP, Alekperov RT, Nasonov EL. Bone marrow mesenchymal cells: Promises for use in rheumatic diseases. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013;51(1):59-67 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1203 25. Aletaha D, Neogi T, Silman AS, et al. 2010 rheumatoid arth
5. Галушко Е.А., Беленький Д.А. Современные аспекты диагностики и лечения анемии у больных ревматоидным артритом. Научно-практическая ревматология. 2012; 50 (5):98–105. [Galushko EA, Belenkiy DA. Modern aspects of diagnosis and treatment of anemia in rheumatoid arthritis patients. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2012; 50 (5):98–105. (In Russ.)].
6. Елисеев М.С., Барскова В.Г., Насонов Е.Л. Канакинумаб (ингибитор интерлейкина 1 β) – прорыв в возможностях противовоспалительной терапии подагры. Научнопрактическая ревматология 2013;51(4):428–32. [Eliseev MS, Barskova VG, Nasonov EL. Canakinumab (an interleukin 1 β inhibitor) is a breakthrough in the possibilities of anti-inflammatory therapy for gout. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013; 51(4):428–32. (In Russ.)]. DOI:.
7. Корсакова Ю.Л., Станислав М.Л., Денисов Л.Н., Насонов Е.Л. Устекинумаб – новый препарат для лечения псориаза и псориатического артрита. Научно-практическая ревматология. 2013;51(2):170–80. [Korsakova YL, Stanislav ML, Denisov LN, Nasonov EL. Ustekinumab is a new

drug to treat psoriasis and psoriatic arthritis. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013; 51(2):170–80. (In Russ.)). DOI:

8. Лапин С.В. Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний/ Издательство «Человек», СПб - 2010.

9. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Авдеева А.С., Панасюк Е.Ю. Ингибция интерлейкина 6 – новые возможности фармакотерапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Научно-практическая ревматология 2013;51(4):416–27. [NasonovEL, AleksandrovaEN, AvdeevaAS, PanasyukEY. Interleukin 6 inhibition: new possibilities of pharmacotherapy for immunoinflammatory rheumatic diseases. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013;51(4):416–27. (In Russ.)]. DOI:

10. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Аутоиммунные ревматические заболевания – проблемы иммунопатологии и персонализированной терапии. Вестник РАМН. 2015;70(2):169-82 [Nasonov EL, Aleksandrova EN, Novikov AA. Autoimmune rheumatic diseases – problems of immunopathology and personalized therapy. Vestnik RAMN. 2015;70(2):169-82 (In Russ.)]. doi: 10.15690/vramn,v70i2.1310

11. Насонов ЕЛ, Александрова ЕН. Современные технологии и перспективы лабораторной диагностики ревматических заболеваний. Терапевтический архив. 2010; 82(5):5–9. [Nasonov EL, Aleksandrova EN. Rheumatic diseases: Current technologies and perspectives of laboratory diagnosis. Terapevticheskii arkhiv. 2010;82(5):5–9. (In Russ.)] 19. НовиковАА, АлександроваЕН, ГерасимовАИдр.

12. Насонов Е.Л., Денисов Л.Н., Станислав М.Л.. Интерлейкин 17 – новая мишень для антицитокиновой терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Научно-практическая ревматология 2013;51(5):545–52. [Nasonov EL, Denisov LN, Stanislav ML. Interleukin-17 is a new target for anti-cytokine therapy of immune inflammatory rheumatic diseases. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013; 51(5):545–52. (In Russ.)]. DOI:

13. Насонов Е.Л., Решетняк Т.М., Денисов Л.Н. и др. Белимумаб: прогресс в лечении системной красной волчанки. Научнопрактическая ревматология. 2012;50(5):13–9. [Nasonov EL, Reshetnyak TM, Denisov LN, et al. Belimumab: advances in drug therapy for systemic lupus erythematosus. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2012; 50(5):13–9. (In Russ.)]. DOI:

14. Насонов Е.Л., редактор. Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. Москва: ИМАПРЕСС; 2012. С. 119–52. [Nasonov EL, editor. Anti-B-kletochnaya terapiya v revmatologii: fokus na rituksimab [Anti-B-cellular therapy in rheumatology: focus on rituksimab]. Moscow: IMAPRESS; 2012. P. 119–52.]

15. Насонов Е.Л., редактор. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Москва: ИМАПРЕСС; 2013. 549с. [Nasonov EL, editor. Genno-inzhenernye biologicheskie preparaty v lechenii revmatoidnogo artrita [Genetically engineered biological preparations in treatment of rheumatoid arthritis]. Moscow: IMA-PRESS; 2013. 549 p.]
16. Насонов Е.Л. Достижения ревматологии в XXI в. Научно-практическая ревматология. 2014;52(2):133–140.
17. Насонов Е.Л. Новые подходы к фармакотерапии ревматоидного артрита: тофацитиниб. Научно-практическая ревматология 2014;52(2):209–21. [Nasonov EL. New approaches to pharmacotherapy of rheumatoid arthritis: tofacitinib. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2014; 52(2):209–21. (In Russ.)]
18. Насонов Е.Л. Ревматоидный артрит: проблемы и значение персонафицированной медицины. Терапевтический архив 2012;84(5):5–9. [Nasonov EL. Rheumatoid arthritis: problems and significance of personalized medicine. Terapevticheskii arkhiv. 2012;84(5):5–9.]
19. Парфенов А.И. Глютенчувствительная целиакия и железодефицитная анемия. Справочник поликлинического врача 2009, №8, 11-15.
20. Рекомендации EASL по лечению аутоиммунного гепатита Европейская ассоциация по изучению печени (EASL). Journal of Hepatology 2015 vol. 63 | 971–1004 (рус. перевод) http://www.easl.eu/medias/cpg/pdf_files/AIH_RU.pdf
21. Супоницкая Е.В., Александрова Е.Н., Алексанкин А.П., Насонов Е.Л. Гомеостаз В-лимфоцитов и направления антиВ-клеточной терапии при ревматоидном артрите. Научнопрактическая ревматология. 2013;51(4):432–8. [Suponitskaya EV, Aleksandrova EN, Aleksankin AP, Nasonov EL. B-lymphocyte hemostasis and anti-B-cell therapy areas for rheumatoid arthritis. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013;51(4):432–8. (In Russ.)].
22. Шипилов М.В. Диарея: Руководство для врачей. - СПб.:Изд. «Гиппократ». 2011:392.
23. Aletaha D, Neogi T, Silman AS, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. Arthritis Rheum. 2010;62:2569-81. doi: 10.1002/art.27584
24. Amiot A. Protein-losing enteropathy. La Revue de Médecine Interne. 2015;36(7):467-473.
25. Bertsias G, Ioannidis JP, Boletis J, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. Ann Rheum Dis. 2008;67:195-205. doi: 10.1136/ard.2007.070367
26. Bogdanos D.P. et al. Pancreatic-specific autoantibodies to glycoprotein 2 mirror disease location and behaviour in younger patients with Crohn's disease. - Gastroenterology 2012, 12:102.

27. Conrad K, Schlosler W., Hiepe F., Fitzler M.J. Autoantibodies in Organ Specific Autoimmune Diseases: A Diagnostic Reference/ PABST, Dresden – 2011.
28. Costenbader KH, Chibnik LB, Schur PH. Discordance between erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements: clinical significance. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25:746-9.
29. Crowson CS, Rahman MU, Matteson EL. Which measure of inflammation to use? A comparison of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements from randomized clinical trials of golimumab in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2009;36:1606-10. doi: 10.3899/jrheum.081188
30. Cristen U., Hintermann E. Autoantibodies in Autoimmune Hepatitis: Can epitopes Tell Us about the etiology of the Disease? *Frontiers in Immunology*, 2018, vol.9, article 163. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5820307/pdf/fimmu-09-00163.pdf>
31. Daien CI, Morel J. Predictive factors of response to biological disease modifying antirheumatic drugs: towards personalized medicine. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:386148. doi: 10.1155/2014/386148
32. Damoiseaux J, Andrade LE, Fritzler MJ, Shoenfeld Y. Autoantibodies 2015: From diagnostic biomarkers toward prediction, prognosis and prevention. *Autoimmun Rev.* 2015;14:555-63. doi: 10.1016/j.autrev.2015.01.017
33. Dayer E, Dayer JM, Roux-Lombard P. Primer: the practical use of biological markers of rheumatic and systemic inflammatory diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2007;3:512-20. doi: 10.1038/ncprheum0572
34. Deane KD, El-Gabalawy H. Pathogenesis and prevention of rheumatic disease: focus on preclinical RA and SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2014;10:212-28. doi: 10.1038/nrrheum.2014.6
35. Emery P, Dö rner T. Optimising treatment in rheumatoid arthritis: a review of potential biological markers of response. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:2063-70. doi: 10.1136/ard.2010.148015
36. Fox RI, Fox CM. IgG4 levels and plasmablasts as a marker for IgG4-related disease (IgG4-RD). *Ann Rheum Dis.* 2015;74:1-3. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-205476
37. Gottenberg JE, Ravaud P, Cantagrel A, et al. Positivity for anticyclic citrullinated peptide is associated with a better response to abatacept: data from the Oencia and Rheumatoid Arthritis' registry. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:1815-9. doi: 10.1136/annrheumdis2011-201109
38. Hennes et al. Simplified Criteria for the Diagnosis of Autoimmune Hepatitis. *Hepatology*, 2008, 48 (1), pp.169-176.
39. Humoto T., Nishoka M. Autoantibodies in liver disease: important clues for the diagnosis, disease activity and prognosis. *Autoimmun Highlights*, 2013, 4, pp. 39–53

40. Jordan S, Maurer B, Michel B, Distler O. Performance of the new EULAR/ACR classification criteria for systemic sclerosis in clinical practice. *Ann Rheum Dis.* 2013;72 Suppl 3:60. doi: 10.1093/rheumatology/keu5
41. Illei GG, Tackey E, Lapteva L, Lipsky PE. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: II. Markers of disease activity. *Arthritis Rheum.* 2004;50:2048-65. doi: 10.1002/art.20345
42. Isaacs JD, Cohen SB, Emery P, et al. Effect of baseline rheumatoid factor and anticitrullinated peptide antibody serotype on rituximab clinical response: a meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:329-36. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-201117
43. Kallenberg CG. Anti-C1q autoantibodies. *Autoimmun Rev.* 2008;7(8):612-5. doi: 10.1016/j.autrev.2008.06.006
44. Kavanaugh A.F., Solomon D.H. Guidelines for Immunologic Laboratory Testing in the Rheumatic Diseases: Anti-DNA Antibody Tests. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research).* 2002;47(5):546-555. DOI 10.1002/art.10558
45. Kuna A.T. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Biochem Medica.* 2013;23:28-42.
46. Liu CC, Kao AH, Manzi S, Ahearn JM. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future. *Ther Adv Musculoskeletal Dis.* 2013; 5:210-33. doi: 10.1177/1759720X13485503
47. Lopalco G., Cantini L., Vatale A., Iannone F., Anelli M.G., Androzzoli L., Lapadula G., Galeazzi M., Rigante D. Interleukin-1 as a common denomination from autoinflammatory to autoimmunedisorders: premises, perils, and perspectives. *Mediators Inflamm.* 2015; ID194864.
48. Maneiro RJ, Salgado E, Carmona L, Gomez-Reino JJ. Rheumatoid factor as predictor of response to abatacept, rituximab and tocilizumab in rheumatoid arthritis: Systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2013;43:9-17. doi: 10.1016/j.semarthrit.2012.11.007
49. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365:2205-19. doi: 10.1056/NEJMra1004965
50. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011; 365:2205-19. doi: 10.1056/NEJMra1004965
51. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1420-2. doi: 10.1136/ard.2009.127100
52. Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2677-86. doi: 10.1002/art.34473
53. Roggenbuck D., Reinhold D., Schierack P., Bogdanos D.P., Conrad K., Laass M.W. Crohn's disease specific pancreatic antibodies: clinical and pathophysiological challenges. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2014;52(4):483-494.

54. Shah S, Leffler D/. Celiac disease: an underappreciated issue in women's health. , Womens Health (Lond Engl). 2010 September ; 6(5): 753–766.

55. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. Arthritis Care Res (Hoboken). 2012;64:475-87. doi: 10.1002/acr.21591

56. Takakubo Y, Konttinen YT. Immune-regulatory mechanisms in systemic autoimmune and rheumatic diseases. Clin Dev Immunol. 2012; 2012:941346. doi: 10.1155/2012/941346.

57. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. J Intern Med. 2015; 278:369-95. doi: 10.1111/joim.12395

Дополнительная литература:

1. Авдеева А.С., Александрова Е.Н., Насонов Е.Л. Клиническое значение матриксных металлопротеиназ при ревматоидном артрите (обзор литературы и собственные данные). Научнопрактическая ревматология. 2014; 52 (1):79–84. [Avdeeva AS, Aleksandrova EN, Nasonov EL. The clinical significance of matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis patients (review of the literature and our own data). Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2014; 52(1):79–84. (In Russ.)].

2. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Рекомендации по лабораторной диагностике ревматических заболеваний Общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России». Современная ревматология. 2015;9(4):25-36.

3. Галушко ЕА, Беленький ДА. Современные аспекты диагностики и лечения анемии у больных ревматоидным артритом. Научно-практическая ревматология. 2012; 50 (5):98–105. [Galushko EA, Belenkiy DA. Modern aspects of diagnosis and treatment of anemia in rheumatoid arthritis patients. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2012; 50 (5):98–105. (In Russ.)].

4. Елисеев МС, Барскова ВГ, Насонов ЕЛ. Канакинумаб (ингибитор интерлейкина 1 β) – прорыв в возможностях противовоспалительной терапии подагры. Научнопрактическая ревматология 2013;51(4):428–32. [Eliseev MS, Barskova VG, Nasonov EL. Canakinumab (an interleukin 1 β inhibitor) is a breakthrough in the possibilities of anti-inflammatory therapy for gout. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013; 51(4):428–32. (In Russ.)]. DOI:.

5. Корсакова ЮЛ, Станислав МЛ, Денисов ЛН, Насонов ЕЛ. Устекинумаб – новый препарат для лечения псориаза и псориатического артрита. Научно-практическая ревматология. 2013;51(2):170–80. [Korsakova YL, Stanislav ML, Denisov LN, Nasonov EL. Ustekinumab is a new

drug to treat psoriasis and psoriatic arthritis. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013; 51(2):170–80. (In Russ.)). DOI:

6. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. Изд. «Человек», Санкт-Петербург, 2010», 272 с.

7. Насонов ЕЛ, Александрова ЕН, Авдеева АС, Панасюк ЕЮ. Ингибция интерлейкина 6 – новые возможности фармакотерапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Научно-практическая ревматология 2013;51(4):416–27. [NasonovEL, AleksandrovaEN, AvdeevaAS, PanasyukEY. Interleukin 6 inhibition: new possibilities of pharmacotherapy for immunoinflammatory rheumatic diseases. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013;51(4):416–27. (In Russ.)]. DOI:

8. Насонов Е.Л., Денисов Л.Н., Станислав М.Л. Интерлейкин 17 – новая мишень для антицитокиновой терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Научно-практическая ревматология 2013;51(5):545–52. [Nasonov EL, Denisov LN, Stanislav ML. Interleukin-17 is a new target for anti-cytokine therapy of immune inflammatory rheumatic diseases. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2013; 51(5):545–52. (In Russ.)]. DOI

9. Насонов ЕЛ, Решетняк ТМ, Денисов ЛН и др. Белимумаб: прогресс в лечении системной красной волчанки. Научнопрактическая ревматология. 2012;50(5):13–9. [Nasonov EL, Reshetnyak TM, Denisov LN, et al. Belimumab: advances in drug therapy for systemic lupus erythematosus. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2012; 50(5):13–9. (In Russ.)]. DOI:

10. Насонов ЕЛ, редактор. Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. Москва: ИМАПРЕСС; 2012. С. 119–52. [Nasonov EL, editor. Anti-B-kletochnaya terapiya v revmatologii: fokus na rituksimab [Anti-B-cellular therapy in rheumatology: focus on rituksimab]. Moscow: IMA-PRESS; 2012. P. 119–52.]

11. Насонов Е.Л., редактор. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Москва: ИМАПРЕСС; 2013. 549с. [Nasonov EL, editor. Genno-inzhenernye biologicheskie preparaty v lechenii revmatoidnogo artrita [Genetically engineered biological preparations in treatment of rheumatoid arthritis]. Moscow: IMA-PRESS; 2013. 549 p.]

12. Насонов Е.Л. Достижения ревматологии в XXI в. Научно-практическая ревматология. 2014;52(2):133–140.

13. Насонов ЕЛ. Новые подходы к фармакотерапии ревматоидного артрита: тофацитиниб. Научно-практическая ревматология 2014;52(2):209–21. [Nasonov EL. New approaches to pharmacotherapy of rheumatoid arthritis: tofacitinib. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2014; 52(2):209–21. (In Russ.)]

14. Рекомендации EASL по лечению аутоиммунного гепатита Европейская ассоциация по изучению печени (EASL). *Journal of Hepatology* 2015 vol. 63 | 971–1004 (рус. перевод) http://www.easl.eu/medias/cpg/pdf_files/AIH_RU.pdf
15. Супоницкая ЕВ, Александрова ЕН, Алексанкин АП, Насонов ЕЛ. Гомеостаз В-лимфоцитов и направления антиВ-клеточной терапии при ревматоидном артрите. *Научнопрактическая ревматология*. 2013;51(4):432–8. [Suponitskaya EV, Aleksandrova EN, Aleksankin AP, Nasonov EL. B-lymphocyte hemostasis and anti-B-cell therapy areas for rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;51(4):432–8. (InRuss.)].
16. Conrad K, Schlosler W., Hiepe F., Fitzler M.J. *Autoantibodies in Organ Specific Autoimmune Diseases: A Diagnostic Reference/ PABST*, Dresden – 2011;8.
17. Kavanaugh A.F., Solomon D.H. Guidelines for Immunologic Laboratory Testing in the Rheumatic Diseases: Anti-DNA Antibody Tests. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*. 2002;47(5):546-555. DOI 10.1002/art.10558
18. Kuna A.T. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Biochem Medica*. 2013;23:28-42.