

# Диагностика аутоиммунных заболеваний

# 28

Этиопатогенез АИЗ 302 Факторы, способствующие аутоиммунизации 303  
Методы лабораторной диагностики АИЗ 304 Диагностика аутоиммунной  
патологии соединительной ткани 305 Антиядерные антитела 306  
Диагностика ревматоидного артрита 313 Диагностика системных васкулитов  
и АИЗ почек и желудочно-кишечного тракта 315 Диагностика  
антифосфолипидного синдрома 318

## сокращения раздела:

АГ – антиген	ДМ – дерматомиозит	СЗСТ – смешанные заболевания соединительной ткани
АИ – аутоиммунный	КЛ – кардиолипин	СШ – синдром Шегрена
АИЗ – аутоиммунные заболевания	ЛКВ – лекарственная красная волчанка	СРБ – С-реактивный белок
АНФ – антинуклеарный фактор	НИФ – непрямая иммунофлуоресценция	ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы
АТ – антитела	ПМ – полимиозит	В2-ГП I – $\beta$ 2-гликопротеин I
АФС – антифосфолипидный синдром	РА – ревматоидный артрит	ИГ – иммуноглобулины
АЯА – антиядерные антитела	РФ – ревматоидный фактор	
ВА – волчаночный антикоагулянт	СКВ – системная красная волчанка	
ГКГС – главный комплекс гистосовместимости		

**А**утоиммунные заболевания (АИЗ) развиваются в тех случаях, когда в организме появляются антитела (АТ) или клоны Т-клеток, направленные против собственных антигенов (АГ), которые способны разрушать клетки и ткани организма. Возникший АИ процесс – явление в значительной степени хроническое, приводящее к долговременному повреждению тканей. Связано это, в первую очередь, с тем, что АИ реакция постоянно поддерживается тканевыми АГ. В качестве аутоАГ могут выступать белки, нуклеиновые кислоты, фосфолипиды, полисахара, в том числе и сами иммуноглобулины (Ig). Так, ревматоидный фактор, – это аутоАТ к IgG. АИЗ поражают 5-7% населения земного шара, чаще развиваются у женщин, чем у мужчин. Как правило, АИЗ начинаются в молодом возрасте, что связано с действием половых гормонов на тимус, Т- и В-клетки и систему макрофагов. АутоАТ к ревматоидному и нуклеарным факторам чаще выявляются у лиц преклонного возраста. У 70-летних лиц аутоАТ обнаруживаются примерно в 60% случаев без соответствующих клинических проявлений.

• **Более подробную информацию** о диагностике АИЗ щитовидной железы, нервной системы, ЖКТ, целиакии, сахарного диабета, бесплодия, гепатитов см. в соответствующих главах

АИЗ можно разделить на органоспецифические и органонеспецифические в зависимости от того, реагируют ли они главным образом с АГ клеток одного или многих органов. Органами-мишенями при органоспецифических заболеваниях часто оказываются щитовидная железа, надпочечники, желудок и поджелудочная железа (тиреоидит Хашимото, первичная микседема, тиреотоксикоз, пернициозная анемия, болезнь Аддисона, инсулин-зависимый сахарный диабет и др.). При органонеспецифических АИЗ, в том числе ревматоидных, обычно возникают поражения кожи,

почек, суставов и мышц (дерматомиозит, системная красная волчанка – СКВ, склеродермия, ревматоидный артрит – РА и другие).\*

## Этиопатогенез АИЗ

Иммунологическая толерантность – неспособность организма к иммунному ответу на определенный АГ при сохранении иммунологической реактивности к другим АГ. Согласно теории Бернета, во время эмбрионального развития все клоны иммунокомпетентных

клеток, которые могли бы реагировать с АГ собственных тканей, элиминируются или инактивируются, и поэтому на более поздних стадиях развития иммунный ответ на АГ собственного организма отсутствует. Таким образом, уже в процессе становления иммунной системы формируется способность организма отличать «свое» от «чужого», т.е. естественная иммунологическая толерантность предотвращает нарушения, которые индуцируются иммунными механизмами. По мнению Бернета, аутореактивные клетки элиминируются тимусом (теория «запрещенного клона»). Несмотря на сложнейшие механизмы селекции, в организме человека всегда присутствует некоторое количество аутореактивных В- и Т-клеток. В условиях АИ патологии количество таких клеток значительно возрастает, а механизмы негативной селекции нарушаются за счет двух возможных вариантов:

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

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

### Факторы, способствующие аутоиммунизации

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

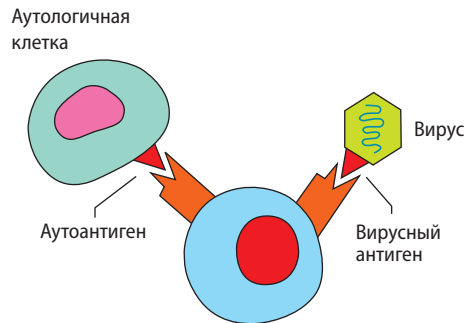
**Генетическая предрасположенность.** Практически все изученные АИЗ ассоциированы с тем или иным гаплотипом HLA.\* При органоспецифических заболеваниях особенно часто встречается гаплотип B8-DR3, хотя тиреодит Хашимото чаще ассоциирован с DR5, а РА – с DR4. Это подтверждает представление об участии нескольких генетических факторов в развитии АИЗ: во-первых, генов, определяющих общую предрасположенность к АИ патологии и, во-вторых, генов, которые определяют конкретную мишень для развития АИ реакции. Тот факт, что в пределах одной семьи могут регистрироваться разные клинические формы

АИЗ, свидетельствует о передаче по наследству лишь предрасположенности к аутоиммунизации.

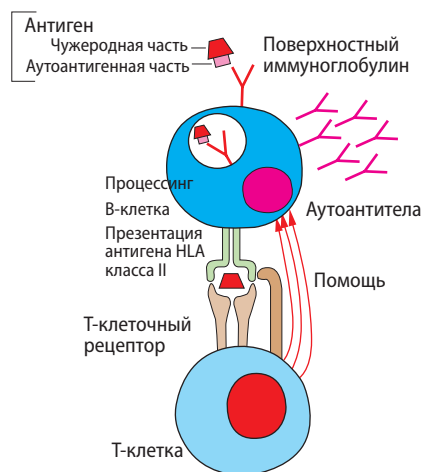
**Триггерные факторы.** В настоящее время в связи с высокой частотой бактериально-вирусных инфекций, их роль в развитии аутоагрессии является лидирующей. Инфекции могут вызывать развитие АИЗ через 2 механизма: молекулярную мимикрию и избыточную активацию аутореактивных лимфоцитов. Например, два белка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

#### Варианты индукции АИ ответа на фоне инфекции

##### А. Молекулярная мимикрия

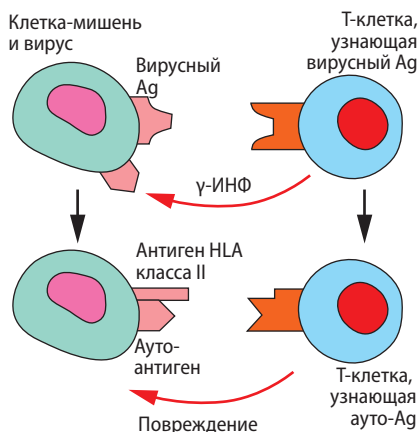


##### В. Индукция синтеза аутоАТ



\* Подробнее см. раздел ДНК-диагностика наследственных болезней, стр. 525

## С. Индукция АИ ответа через антигены ГКГС класса II



(Burmester, 2007)

Многие аутореактивные В-лимфоциты не подвергаются клональной экспансии, т.к. Т-хелперы, в «содействии» которых они нуждаются, либо находятся в состоянии толерантности под воздействием низкой концентрации аутоАГ, либо способны распознавать только «скрытые» эпитопы. Однако при инфицировании поверхностные Ig аутореактивных В-клеток способны узнать, связать, процессировать и представить чужеродные перекрестные АГ в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС). В ответ Т-хелперы стимулируют В-клетки, которые начинают продуцировать аутоАТ. Наконец, третий вариант развития АИ процессов может быть опосредован через активацию синтеза ИФН- $\gamma$  при распознавании Т-лимфоцитами вирус-инфицированных клеток, который, в свою очередь, индуцирует экспрессию молекул ГКГС класса II в нормальных тканях и делает «видимыми» их аутоАГ для иммунной системы.

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

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

Третья причина АИ реакций – нарушение целостности гисто-гематических барьеров, в норме отделяющих забарьерные органы и ткани от крови и, соответственно, от иммунной агрессии лимфоцитов. По данному механизму развивается аутоиммунный тиреоидит, т.к. в норме коллоид щитовидной железы в кровь не попа-

дает (гемато-тиреоидный барьер), в кровь высвобождаются лишь Т3 и Т4 и частично тиреоглобулин.

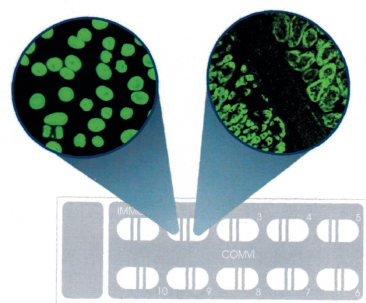
Четвёртая возможная причина АИ реакций – гипериммунное состояние (патологически усиленный иммунитет) или иммунологический дисбаланс с нарушением «селекторной», подавляющей аутоиммунитет, функции тимуса или со снижением активности супрессорных клеток.

Механизм развития многих АИЗ (системной склеродермии, узелкового периартериита, приобретённой гемолитической анемии и др.) не выяснен. Большинство их протекает по типу аллергических реакций замедленного типа с участием иммунных лимфоцитов. При АИ поражениях крови первостепенное значение имеют циркулирующие в крови АТ. Отдельная роль в развитии АИЗ придается антиидиотипическим АТ, которые, с одной стороны, являются важнейшим фактором иммунорегуляции, а с другой, способствуют развитию аутоиммунизации. Например, при СКВ или миастении клиническая ремиссия всегда сопровождается продукцией данных АТ.

Обнаружение в сыворотке крови различных аутоАТ имеет порой решающее диагностическое значение для подтверждения того или иного заболевания, тесно связано с активностью болезни или может определять прогноз. Применяемые лабораторные тесты являются важным инструментом при выборе метода лечения и для мониторинга эффективности проводимой терапии.

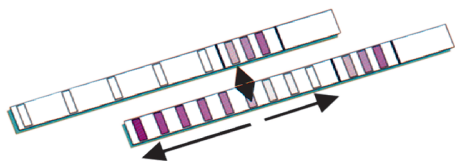
## Методы лабораторной диагностики АИЗ

Основными методами лабораторной диагностики АИЗ являются: непрямая иммунофлуоресценция (НИФ), иммуноферментный анализ и иммуноблот. На практике для точного описания спектра аутоАТ, присутствующих в биологической жидкости, используется несколько методов, каждый из которых имеет свои достоинства и недостатки. В итоге, интерпретация результатов исследования одного лабораторного показателя зависит от метода, с помощью которого он определен.



Выделяют прямую и непрямую иммунофлуоресценцию. Метод прямой иммунофлуоресценции используется для обнаружения отложений Ig и факторов комплемента в биоптатах кожи и почек. НИФ применяется для обнаружения АТ в сыворотке крови и других биологических жидкостях. При этом сыворотка больного в серийных разведениях инкубируется с клетками или тканью-мишенью на предметном стекле. После связывания аутоАТ с мишенями комплексы выявляют с помощью флуоресцентных антисывороток, направленных против Ig человека. Лучшим объектом для НИФ 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 люминесцентного микроскопа.

При обнаружении антиядерного фактора (АНФ) окрашиваются ядра клеток, при выявлении антинейтрофильных АТ, свечение локализуется в цитоплазме нейтрофилов. Преимуществом НИФ является возможность оценки одновременного связывания аутоАТ со всем разнообразием АГ, которое имеется в тканевом субстрате. Следует отметить, что этот метод требует очень высокой квалификации лаборанта. Недостатками метода является субъективность учета результатов и трудоемкость.



За последние несколько лет широкое распространение получили методы на основе иммуноблота. В этом случае на нитроцеллюлозную мембрану наносятся рекомбинантные АГ. Результат может быть оценен как полуколичественно, так и количественно с помощью специального ридера например, Easy ридер. Высокая чувствительность и сравнительная дешевизна делают его одним из базовых тестов для выявления основных АТ.

ЗАО «БиоХимМак» предлагает тест-системы для определения различных аутоантител с помощью методов непрямой иммунофлуоресценции (НИФ) компании «IMMCO» (США), иммуноферментного анализа (ELISA) и с помощью иммуноблота компании «Orgentec» (Германия).

## Диагностика аутоиммунной патологии соединительной ткани

К АИЗ соединительной ткани (ревматические заболевания) относят более 120 нозологических форм, наиболее распространенными среди которых являются:

- миастения гравис
- полимиозит (ПМ) или дерматомиозит (ДМ)
- РА
- рассеянный склероз
- синдром Шегрена (СШ)
- СКВ
- системная склеродермия
- смешанные заболевания соединительной ткани (СЗСТ)
- иногда антифосфолипидный синдром (АФС) и узелковый периартериит, хотя в большинстве публикаций последнего времени эти заболевания «открывают» группу системных васкулитов.

Из всех перечисленных заболеваний в мире наиболее распространен РА (около 1% населения, среди женщин – около 3%). На каждые 100 случаев РА приходится 25 случаев СКВ, 15 – системной склеродермии, 10 – ДМ и 3 случая – узелкового периартериита.

Лабораторная диагностика ревматических заболеваний включает определение аутоАТ, Ig, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), компонентов системы комплемента, белков острой фазы воспаления, показателей дисфункции/повреждения эндотелия, генетических маркеров, маркеров костного метаболизма.

Основными диагностическими маркерами ревматических заболеваний в качестве первичных (скрининговых) серологических тестов, рекомендованных международным комитетом по стандартизации методов, являются антиядерные АТ (АЯА), АТ к нейтрофильным цитоплазматическим АГ (ANCA), антифосфолипидные АТ, ревматоидный фактор, АТ к циклическому цитруллинированному пептиду. В качестве вторичных (подтверждающих) предлагаются тесты для определения АТ к ДНК, Sm, SSA/Ro, SSB/La, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1,  $\beta_2$ -гликопротеину I ( $\beta_2$ -ГП I). При назначении лабораторных тестов, связанных с анализом аутоАТ, следует учитывать, что скрининговые тесты должны обладать высокой диагностической чувствительностью, а подтверждающие тесты – высокой диагностической специфичностью.

Большинство аутоАТ не являются специфичными для какого-либо заболевания, они обнаруживаются в различных комбинациях. Закономерность той или иной комбинации различных присутствующих АТ и их концентрации с учётом клинической картины является полезным диагностическим средством в лечении ревматоидных АИЗ.



Алгоритм лабораторной диагностики ревматоидных АИЗ (по A.S. Wilk и соав., 2004)

диагноз \ маркер	АЯА-НИФ	aDNA	aSm	aU <sub>1</sub> RNP	aSSA/SSB	aScl-70	aJo-1	ariboRNP	ANCA-НИФ	MPO-ANCA	PR3-ANCA	акЛ	aβ <sub>2</sub> -ТПП	IgM RF	АЦЦП
СИСТЕМНАЯ КРАСНАЯ ВОЛЧАНКА	1	2	2	3	2			2				2	3	3	
СИНДРОМ ШЕГРЕНА	1	3	3		2			3				3		3	
СИСТЕМНАЯ СКЛЕРОДЕРМИЯ	1			2		2						3			
СМЕШАННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	1	2	2	2				2				3		3	
ПОЛИМИОЗИТ/ ДЕРМАТОМИОЗИТ	1			2			2								
АНТИФОСФОЛИПИДНЫЙ СИНДРОМ	1											1	2		
РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ														1	1
ВАСКУЛИТЫ С ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ СОСУДОВ МЕЛКОГО КАЛИБРА									1	2	2				
ЗАБОЛЕВАНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	1	3	3	3	2	3	2		1	3		1	2	1	

**Примечания:** **1** – первичные скрининговые тесты, **2** – подтверждающие тесты, **3** – дополнительные тесты. В ряде случаев можно добавить подтверждающие тесты: для диагностики системной склеродермии (АТ к РНК-полимеразе I и III, U<sub>3</sub>РНП, T<sub>7</sub>/T<sub>8</sub>РНП), для ПМ/ДМ (АТ к аминоксилсинтетазам т-РНК, SRP, Mi-2, PM-Scl, Ku) и для АФС (волчаночный антикоагулянт).

Перечень первичных (скрининговых), вторичных (подтверждающих) и дополнительных серологических тестов, рекомендованных международным комитетом по стандартизации методов определения аутоАТ для диагностики ревматоидных АИЗ, представлен в таблице.

Определение аутоАТ особенно важно для ранней диагностики ревматоидных АИЗ и клинико-лабораторной характеристики вариантов их течения. Положительные результаты определения аутоАТ входят в число диагностических критериев ряда системных ревматических заболеваний и могут иметь прогностическое значение в рамках отдельных субтипов этих заболеваний. Однако обнаружение аутоАТ при отсутствии клинических признаков не является достаточным для постановки диагноза АИЗ. Отмечено нарастание частоты выявления аутоАТ у лиц пожилого и старческого возраста, на фоне приема лекарственных препаратов, при вирусных и бактериальных инфекциях, злокачественных новообразованиях. При оценке клинического значения аутоАТ необходимо учитывать стойкость и выраженность их гиперпродукции.

Обнаружение определенных типов аутоАТ при ревматических заболеваниях указывает на характерные особенности клинического течения. Так, у пациентов, имеющих в сыворотке специфический набор АТ, на-

блюдается особенное течение заболевания, отличное от симптоматики больных, не имеющих этих АТ. При СКВ, сопровождающейся появлением АТ к Ro/SS-A, гломерулонефрит встречается реже, чем у больных, имеющих высокий титр АТ к dsDNA, но имеется определенный риск развития поражений кожи и предрасположенность к повышенной фоточувствительности.

В связи с тем, что при АИ расстройствах клеточные и гуморальные механизмы воспалительного процесса аналогичны тем, которые сопровождают и другие формы иммунной реактивности, наряду с исследованием аутоАТ, наиболее полезными лабораторными тестами в ревматологии являются методы определения маркеров воспаления (СОЭ, С-реактивный белок). Эти тесты позволяют оценить активность заболевания, характер прогрессирования и прогноз его исхода, а также эффективность проводимой терапии.

## Антядерные антитела (АЯА)

Выявление LE-клеток (фагоцитированные ядра разрушенных клеток, покрытые АЯА) – трудоемкий и недостаточно чувствительный метод лабораторной диагностики СКВ, введенный в 1982 году и значительно устаревший в настоящее время.

Сегодня для диагностики этого и других АИЗ используются более простые, дешевые и воспроизводимые методы, основанные на определении АЯА. Критерии Американской ассоциации ревматологов (AAR) предлагают развернутую схему диагностики СКВ. В связи со сложностью диагностики этого заболевания были установлены 11 критериев, при наличии 4 из которых высока вероятность СКВ:

1. Волчаночная бабочка – на обеих щеках.
2. Дискоидная сыпь – эритематозные пятна.
3. Фотосенсибилизация – кожная сыпь в результате необычной чувствительности к солнечному свету.
4. Изъязвления слизистой оболочки полости рта и носоглотки, обычно безболезненные.
5. Артрит – неэрозивный артрит, затрагивающий 2 или более сустава.
6. Серозит – документированный плеврит или перикардит.
7. Поражение почек – персистирующая протеинурия 0,5 г/сут или клеточные потери.
8. Неврологические нарушения – судороги, психоз.
9. Гематологические нарушения – гемолитическая анемия или лейкопения или тромбоцитопения.
10. Иммунные нарушения – наличие LE-клеток или АТ к dsDNA или анти-Sm-АТ или ложноположительная реакция Вассермана.
11. Повышение титра АЯА при отсутствии терапии лекарствами, которые могут вызвать «лекарственный волчаночный синдром».

АЯА – гетерогенная группа аутоАТ, реагирующих с различными компонентами ядра. Основная цель исследования АЯА – исключить СКВ, поскольку при этом заболевании АЯА появляются в сыворотке 95% больных в течение 3 месяцев после начала заболевания. Кроме того, наличие АЯА может быть связано с такими заболеваниями, как РА, СЗСТ, склеродерма, СШ, ДМ, ПМ, дискоидная красная волчанка и с другими плохо изученными синдромами (например, с CREST-синдромом – разновидность склеродермии в виде кальциноза, синдрома Рейно, дискинезии пищевода, склеродактилии и телеангиоэктазии, и прогрессирующим системным склерозом). Частота положительной реакции на АЯА среди нормальной популяции составляет примерно 2-4%. АЯА выявляются в 93% случаев при СКВ, в 60% – при СШ, в 99% – при СЗСТ, в 40% – при РА и 15% случаев при подростковой форме РА.

К настоящему времени описано более 100 разновидностей АЯА, направленных против цитоплазматических и ядерных структур (против нуклеиновых кислот, гистонов, белков ядерной мембраны, компонентов сплайсосомы, рибонуклеопротеинов, белков ядрышек и центромер).

АЯА могут быть разделены на три группы:

1. Истинные АЯА – к dsDNA, ssDNA, гистонам, ядерной РНК
2. АТ к экстрагируемому ядерным АГ – к Sm, n-RNP, Scl 70
3. Цитоплазматические АГ – к SS-A (Ro)\*, SS-B (La)\* и Jo-1

\*SS-A (Ro) и SS-B (La) могут локализоваться как в цитоплазме, так и в ядрах.

Отличие иммуноферментных тест-систем для скрининга состоит в том, что в инкубационную лунку помещается смесь АГ – ядерный экстракт. **ANA screen** детектирует суммарные АЯА к следующим АГ: SS-A/Ro, SS-B/La, RNP70, Sm, RNP/Sm, центромере В и Jo-1. Кроме ANA интерес представляют АТ другой группы, направленные против так называемых экстрагируемых ядерных АГ (ENA) – **ENA screen**: SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1.

Положительный результат скрининговых тестов указывает на наличие у больного одной или сочетания нескольких разновидностей АЯА. Отрицательный результат такого теста более чем в 95% случаев позволяет исключить СКВ, лекарственную волчанку (ЛКВ), СШ, СЗСТ, системный склероз, ДМ и ПМ. Однако использование смеси, а не одного очищенного АГ, приводит к увеличению частоты ложноположительных результатов. С другой стороны, при выделении АГ утрачивается большое количество конформационных и межмолекулярных АГ-доминант. Эта особенность скрининговых иммуноферментных тест-систем не позволяет им заменить НИФ.

Согласно рекомендациям ACR по стандартизации методов лабораторной иммунодиагностики ревматических заболеваний 2004 г. основным скрининговым методом определения АЯА считается НИФ с использованием в качестве субстрата криостатных срезов мышины или крысиной печени (почек), либо клетки линии HEp-2 (эпителиальные клетки рака гортани человека). Применение стандартизованных HEp-2 клеток предпочтительнее, так как позволяет существенно повысить чувствительность метода и достоверно описать различные типы свечения ядра. При тестировании АЯА методом НИФ их традиционно обозначают как АНФ. Оценка результатов НИФ проводится с указанием максимального титра обнаружения АНФ в исследуемых сыворотках, а также интенсивности и типа иммунофлуоресценции. Характер свечения отражает присутствие различных типов АЯА, в определенной степени специфичных для ряда ревматоидных АИЗ. Описано более 40 типов свечения ядра клетки, но в практической работе обычно используется всего шесть: гомогенный, периферический, гранулярный, ядрышковый, центромерный и цитоплазматический. Так, периферический тип

The logo for Alegria, featuring the word "alegria" in a blue, lowercase, sans-serif font with a yellow dot above the 'i'.

## Новый автоматический анализатор для лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний

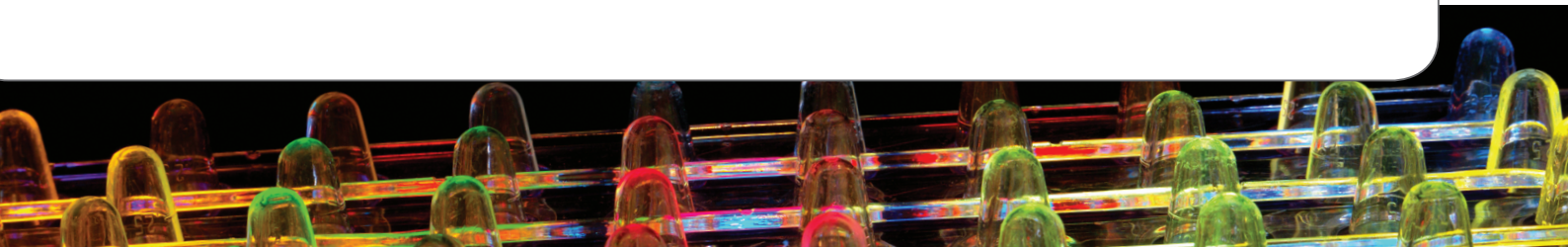
- Свободный и гибкий выбор тестов для анализа
- Количество тестов – свыше 70
- Возможность одновременного проведения анализа от 1 до 30 образцов
- Время анализа при полной загрузке 30 образцов – 90 минут
- Два формата тест-систем – 12 и 24 исследования, встроенная калибровка и контроль качества



### Определяемые параметры:

- Ревматология
- Диагностика васкулитов
- Тиреоидная панель
- Гастроэнтерология
- Диагностика тромбозов
- Диабет
- Поражение почек и онкология

Постоянно пополняемое меню. Ожидается появление тест-систем для диагностики инфекций



свечения обнаруживается у больных с АТ к ядерной мембране и выявляется преимущественно у больных с СКВ. Негативный результат исследования АЯА методом НИФ не исключает наличия АТ к dsDNA, т.к. эти АГ могут быть замаскированы. Более того, уровень АЯА, определенный методом НИФ, имеет только слабую корреляцию с тяжестью заболевания.

Несмотря на то, что исследование АЯА методом ИФА в ряде случаев увеличивает процент ложноположительных результатов и не может полностью заменить тестирование АНФ методом НИФ, в настоящее время этот метод получил широкое распространение в качестве первичного скринингового теста, т.к. ИФА доступен и прост в исполнении, а также исключает субъективный фактор, связанный с визуальной оценкой результатов. У пациентов с положительными результатами определения АЯА методом ИФА рекомендуется проведение подтверждающих тестов на специфические АЯА к отдельным ядерным и цитоплазматическим АГ (dsDNA, Sm, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, РНП), используя ИФА или иммуноблот.

На практике получили широкое распространение комбинированные ИФА системы выявления АЯА – ANA combi. Лунки планшета набора ORGENTEC ANAcombi ELISA покрыты восемью аутоАГ, позволяющими проводить определение наиболее важных АЯА к: Sm, SSA/Ro, SSB/La, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1, являющихся маркерами основных АИЗ соединительной ткани. Необходимо учитывать, что ни одна разновидность АЯА не выявляется у 100% больных. В связи с этим целесообразно применять для обследования комплекс методов, позволяющий с большей уверенностью решить диагностическую задачу.

### ANA Detect

NEW

Вторым этапом ANA-алгоритма диагностики АИЗ (после НИФ с клеточной линией HEp-2) является определение специфичности обнаруженных АТ (например, с использованием ANA-combi). Между этими этапами возможен дополнительный скрининговый анализ. Лунки планшета набора ORGENTEC ANA Detect ELISA покрыты смесью большого числа высоко очищенных антигенов, позволяющей проводить скрининг наиболее важных аутоАТ: SSA-52 (Ro 52), SSA-60 (Ro 60), SSB (La), RNP/Sm, RNP-70 Kd, RNP-A, RNP-C, Sm-BB', Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl-70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомы, мононуклеосомы, гистоновый комплекс, гистоны H1, H2A, H2B, H3 и H4, PM-Scl-100, центромера В. Использование набора ANA Detect позволяет проводить чувствительный скрининг на один или большее количество сывороточных АЯА.

### Антитела к двуспиральной ДНК (АТ к dsDNA)

АТ к dsDNA относятся к группе АЯА. Для выявления этих АТ используются методы НИФ и ИФА. В качестве субстрата в методе НИФ используются клетки простейшего жгутикового микроорганизма *Crithidia luciliae*. При наличии у больного АТ, реагирующих с dsDNA в кинетопласте, выявляется яркая флуоресценция на конце клетки, несущем жгутик. Как и другие иммунофлуоресцентные методы, НИФ с использованием *C. luciliae* позволяет получить только полуколичественный результат, поэтому его целесообразно комбинировать с методом ИФА. Однако ИФА дает большое количество ложноположительных результатов, т.к. используемый в методе АГ (dsDNA) может содержать ssDNA вследствие недостаточной очистки или частичной денатурации. ИФА выявляет IgG- и IgM-АТ к dsDNA, при этом наибольшее клиническое значение имеют IgG.

АТ к dsDNA включены в состав одного из 11 критериев СКВ AAR 1982 г. Эти АТ специфичны для СКВ и могут обнаруживаться приблизительно у 40-70% больных в активной фазе (чувствительность – 91%, специфичность – 96%). Сывороточная концентрация АТ к dsDNA при СКВ имеет положительную корреляцию с тяжестью заболевания, напротив при эффективной и успешной терапии их концентрация снижается. Ежемесячный мониторинг концентрации ауто-dsDNA АТ позволяет предсказать надвигающийся рецидив заболевания. Титры АТ к dsDNA тесно коррелируют с концентрацией IgG-содержащих ЦИК в сыворотке крови больных СКВ. Выявление АТ к dsDNA и гипокомплементемии представляют собой незаменимые диагностические тесты, выявляющие категорию больных с высоким риском развития волчаночного гломерулонефрита. Имеется прямая корреляция между нарастанием титра АТ к dsDNA, выраженностью гипокомплементемии и тяжестью волчаночного нефрита.

### Антитела к односпиральной ДНК (АТ к ssDNA)

АТ к ssDNA в основном направлены 1-спиральной ДНК. В сыворотке больных СКВ эти АТ обнаруживаются с частотой до 87% в активной фазе и до 43% в период ремиссии. Хотя АТ к ssDNA неспецифичны для СКВ (выявляются также при РА, склеродермии и СШ), их регулярное обнаружение в элюатах из почечных клубочков больных с этим АИЗ, умерших от гломерулонефрита, может свидетельствовать о роли АТ к ssDNA в патогенезе поражения почек при волчаночном нефрите. Обнаружение в сыворотке больного АТ к ssDNA класса IgM имеет значение для диагностики дискоидной красной волчанки. При ЛКВ уровень АТ к ssDNA повышается более чем в 50% случаев. Анти-



ssDNA AT обнаруживаются также в сыворотке больных мононуклеозом, гепатитом и различными формами лейкозов.

Данные о встречаемости аутоАТ к dsDNA и ssDNA при различных заболеваниях представлены в таблице.

**Частота встречаемости аутоАТ к ds и ssDNA при патологических состояниях**

Заболевания	Частота обнаружения (%)	
	АТ к dsDNA	АТ к ssDNA
СКВ (активная)	60-90	78-87
СКВ (неактивная)	60	43
Дискоидная волчанка	25	20
ЛКВ	3	52
Коллагенозы без АЯА	5	27
Синдром Шарпа (СЗСТ)	22	
Склеродермия	27	
СШ	25	
Ювенильный РА	4	35-50
ПМ/ДМ	21	
Миастения Гравис	12	
Тиреотоксикоз	20	
Инфекционный мононуклеоз		40
Аутоиммунный хронический агрессивный гепатит		58
Острый миелолейкоз		89
Острый лимфолейкоз		83
Хронический миелолейкоз		60
Здоровые люди	0-5	4

## Антитела к гистонам

Гистоны – основные белковые компоненты ядра клетки. Гистоны составляют около 50% общей массы эукариотических хромосом. Комплекс ДНК с гистонами может диссоциировать при воздействии на хроматин эукариот солей или растворов кислот. Гистоны подразделяются на 5 классов (Н1, Н2А, Н2В, Н3, Н4). При окраске методом НИФ АТ к гистонам обычно демонстрируют гомогенное, периферическое (окаймляющее) или стохастическое (точечное) окрашивание ненуклеиновых компонентов ядер клеток. АТ к димерам гистонов Н2А-Н2В выявляются примерно в 20-50% случаев при спонтанной системной эритематозной волчанке и в 50-90% случаев при ЛКВ, индуцированной прокаинамидом (чувствительность – 73%), а также у больных, принимающих прокаинамид, но не имеющих симптомов волчанки (чувствительность –

44%). При этом анти-dsDNA АТ отсутствуют. Следовательно, одновременное определение анти-dsDNA и АТ к гистонам позволяет проводить дифференциальную диагностику СКВ и ЛКВ. Отмена лекарственного препарата приводит к постепенному снижению титров аутоАТ и их исчезновению из сыворотки крови в течение 6 мес. Кроме того, АТ к гистонам можно обнаружить у пациентов с первичным билиарным циррозом, РА, склеродермией, АИ гепатитом.

## Антитела к нуклеосомам

АТ к нуклеосомам впервые были описаны в связи с СКВ в 1957 г. С этого времени они известны под термином «клеточный фактор LE». В 1986 г. Hardin предположил, что нуклеосомы, возможно, важнейший АГ, стимулирующий выработку АЯА у пациентов с СКВ. Но только в 1995 г. нуклеосомы были детально охарактеризованы в качестве аутоАГ при системных АИЗ. Сейчас определение антинуклеосомных АТ особенно распространено при СКВ и ЛКВ. АТ к нуклеосомам выявляются значительно раньше, чем АТ к dsDNA и обнаруживаются у 84-88% пациентов с СКВ. Нуклеосома состоит приблизительно из 146 пар оснований ДНК, обернутой вокруг основы из белков-гистонов Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Гистон Н1 взаимодействует с нуклеосомой и в комплексе с ДНК связывает прилегающие нуклеосомы. Отсюда можно заключить, что нуклеосомная структура – важная в сжатии ядерной ДНК. Было показано, что 16-30% больных СКВ имеют АТ к нуклеосоме, в то время как анти-dsDNA и АТ к гистонам у этих больных отсутствуют. Антинуклеосомные IgG-АТ более чувствительный маркер СКВ, чем АТ к dsDNA, и их выявляют почти исключительно при СКВ. Сравнительно редко они обнаруживаются у больных с СШ (5-8%) и с той же частотой при СЗСТ. АТ к нуклеосомам не выявляется у больных другими заболеваниями соединительной ткани и здоровых доноров, что позволяет отнести их к высокоспецифичным маркерам СКВ. Обнаружение АТ к нуклеосомам ассоциируется с поражением почек при СКВ и развитием аутоиммунного гепатита типа I. Нуклеосомы, находящиеся в крови, обладают высокой аффинностью к гепарансульфату базальной мембраны клубочков и способны откладываться на ней, приводя к развитию гломерулонефрита.

## Активность ДНКазы

**NEW**

Одной из причин, почему у пациентов с СКВ часто выявляют высокие титры циркулирующих нуклеосом, является ошибка при фрагментации ДНК погибающих в процессе апоптоза клеток. • Дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) – фермент, непосредственно связанный с деградацией ДНК при

• Подробнее см. раздел «Апоптоз», стр. 432



апоптозе. Недавние исследования показали, что линии человеческих клеток с дефицитом ДНКазы резистентны к апоптозу, индуцированному лекарственными препаратами. Кроме того, было показано, что у трансгенных мышей с дефицитом ДНКазы не удаляются циркулирующие нуклеосомы. Снижение активности ДНКазы и нарушение апоптоза приводит к развитию спонтанного волчаночно-подобного синдрома (например, гломерулонефрита). Недостаточность ДНКазы (точечная мутация в I гене фермента) выявлена у пациентов с СКВ и коррелирует с высокими титрами АТ к нуклеосомным АГ. В-клетки пациентов с СКВ, у которых присутствует такая мутация, имеют только 30-50% активности ДНКазы, по сравнению со здоровыми людьми. Соответственно, и титр IgG к нуклеосомным АГ у пациентов с этой мутацией в 7-8 раз выше, чем у пациентов, страдающих СКВ, но не имеющих этой мутации, и в 70-80 раз выше, чем у здоровых людей. Гипотетическая модель описывает различные генетические пути инициации патогенеза СКВ, включая взаимодействия между различными генами, такими как гены C1q и ДНКазы. У многих родственников первой линии пациентов с СКВ наблюдается аналогичный сероположительный фенотип, без развития тяжелого заболевания. Это может быть связано со снижением активности ДНКазы.

В настоящее время рекомбинантная человеческая ДНКазы I используется для лечения пациентов с кистозным фиброзом, у которых дыхательные пути блокируются слизью, содержащей большие количества бактериальной ДНК. Недавно была завершена I фаза клинического исследования, в котором была доказана эффективность ДНКазы I для лечения пациентов с СКВ. Развитие этого направления терапии больных СКВ является одним из перспективных направлений.

Предлагаемый набор DNase Activity ELISA производства компании ORGENTEC GmbH является новым и прогрессивным методом определения активности ДНКазы. Это первый в мире коммерчески доступный метод измерения энзиматической активности ДНКазы в ИФА формате. Можно сказать, что это полезный диагностический инструмент для определения и мониторинга, а также прогноза развития различных АИЗ.

Диагностическая значимость **DNase Activity ELISA**:

- Прогноз СКВ
- Контроль терапии СКВ
- Скрининг семейной СКВ
- Контроль лечения больных кистозным фиброзом с использованием препаратов ДНКазы
- Вирусные и бактериальные инфекции

## Антитела к компоненту Sm

В настоящее время установлено, что Sm АГ составляют около 9 белков, ассоциированных с РНК, которые входят в состав сплайсосомы – белкового комплекса, осуществляющего перестройку мРНК. ИФА имеет наиболее высокую чувствительность и рекомендуется для скрининга АНФ-положительных сывороток на АТ к Sm. АТ к компоненту Sm выявляются приблизительно у 20-30% больных СКВ. Негативные результаты по анти-Sm АТ не исключают наличия этого АИЗ. Следует отметить, абсолютную специфичность анти-Sm АТ при СКВ, что явилось причиной их включения в 10-й критерий СКВ (наряду с АТ к dsDNA и LE-клетками). Однако концентрация анти-Sm АТ не изменяется при терапии СКВ, поэтому их мониторинг не имеет клинического значения. Только в редких случаях АТ к компоненту Sm обнаруживаются изолированно и обычно выявляются в комбинации с АТ к Sm/RNP-комплексу. Клиническими признаками, связанными с присутствием Sm-АТ, являются, прежде всего, более агрессивное течение заболевания, поражение ЦНС, волчаночные психозы и относительная сохранность функции почек.

## Антитела к RNP-70

Перекрёстный синдром (Overlap syndrome) – это общий термин, созданный для того, чтобы объединить разные воспалительные АИЗ, характеризующиеся наложением симптомов СКВ, прогрессирующей системной склеродермии, ДМ/ПМ, РА и СШ. СЗСТ – это хорошо изученный перекрёстный синдром, для которого характерны специфические клинические манифестации, наличие АТ различной специфичности и характерный фенотип HLA-АГ (т.е. DR2 и DR4). Крайнее клиническое проявление СЗСТ – это феномен Рейно, для которого специфическим симптомом является сосудистый отёк пальцев и рук. Кроме этого, пациенты страдают от артрита. У пациентов с СЗСТ часто находят симптомы различных перекрёстных соединительно-тканевых заболеваний. Однако они могут проявиться не у всех пациентов. Серологически СЗСТ характеризуется присутствием аутоАТ, направленных против белка с м.м. 70 кДа (также называемого белок 60 кДа) U1-snRNP-комплекса сплайсосом (RNP-70). До 100% больных с СЗСТ имеют высокие титры анти-RNP-70 АТ. Пациенты, у которых выявляют только анти-RNP-70 АТ из всего разнообразия ААА, имеют классические клинические проявления СЗСТ. Кроме этого, у этих пациентов часто находят типичные для СКВ АТ (например, анти-dsDNA, анти-Sm, антигистоновые). В этих случаях классическое СЗСТ скорее всего разовьётся в СКВ. АТ к RNP-70 встречаются приблизительно у 30% больных СКВ (часто в комбинации с АТ к Sm). У больных СКВ с АТ к RNP-70 обычно присутствуют синдром Рейно, признаки миозита и склеродактилия.

В наборе ORGENTEC Anti-RNP-70 ELISA ячейки покрыты исключительно белком 70 кДа U1-snRNP комплекса. Соответственно, этот анализ обеспечивает высоко специфичное обнаружение главным образом СЗСТ-ассоциированных анти-RNP-70 АТ.

## Аутоантитела к компонентам SS-A и SS-B

АутоАТ к компонентам SS-A и SS-B присутствуют у 40-80% пациентов с первичным СШ и 30-50% больных СКВ. СШ является хроническим АИЗ, поражающим слюнные и слезные железы, что приводит к ксеростомии и ксерофтальмии. Обнаружение у больного СШ АТ к SS-A и SS-B может прогнозировать развитие таких экстрагландулярных проявлений заболевания, как васкулит, лимфоаденопатия, спленомегалия, анемия и лейкопения. АТ к SS-A обычно встречаются в популяции больных СКВ с выраженной симптоматикой фотосенситивных кожных проявлений. Большое значение имеет определение АТ к компоненту SS-A у женщин во время беременности как фактора риска развития тяжелой кардиальной патологии у плода. АТ к SS-A обнаруживаются у 98% матерей, у которых дети страдают синдромом неонатальной волчанки. В основе этого заболевания лежит проникновение в кровь новорожденного через плаценту АТ к SS-A. Основным проявлением врожденной волчанки является ДМ и ряд системных и гематологических синдромов, включающих врожденную поперечную блокаду, гепатит, гемолитическую анемию и тромбоцитопению. Около половины матерей, имеющих детей с врожденной волчанкой, обычно асимптомичны до рождения ребенка. После рождения у большинства асимптомичных матерей развивается картина того или иного заболевания соединительной ткани. Все беременные с подозрением на СЗСТ должны быть иммунологически обследованы для выявления группы риска врожденной волчанки у плода. При СКВ гиперпродукция АТ к SS-B коррелирует с низкой частотой поражения почек.

## Антитела к рибосомальному белку Р

АТ к рибосомальному белку Р встречаются у 10-20% больных с СКВ. Эти АТ взаимодействуют с фосфоропотеинами рибосом и встречаются преимущественно у больных СКВ с поражением ЦНС (специфичны для СКВ, протекающей с волчаночным психозом).

## Антитела к центромере В (АЦА) и топоизомеразе I (Scl-70)

При системной склеродермии имеют значение АТ к центромере В (АЦА) и топоизомеразе I (Scl-70), как

диагностические показатели лимитированной и диффузной системной склеродермии соответственно.

АЦА распознают более 6 центромерных нуклеопротеинов. Стандартным методом определения АЦА является НИФ с помощью HEp-2 клеток (дискретный крапчатый тип свечения). Для склеродермии чувствительность – 19-33%; специфичность – 90-99,9%; для CREST синдрома чувствительность – 60-65%; специфичность – 83-99,9%. Определение АЦА полезно для прогнозирования лимитированного поражения кожи (чувствительность – 44%; специфичность – 79-93%) и низкой вероятности развития рентгенологических признаков легочного фиброза (чувствительность – 12%; специфичность – 71%).

АТ к Scl-70 реагируют с топоизомеразой I (основной негистоновый хромосомный белок с молекулярной массой 70 кДа). В настоящее время для исследования АТ к Scl-70 чаще используются ИФА и иммуноблот. Определение Scl-70 очень полезно для диагностики системной склеродермии (чувствительность – 20-40%; специфичность – 90-100%).

## Миозит-специфические антитела (МСА)

МСА, реагирующие с различными ядерными и цитоплазматическими АГ, выявляются примерно у 50% больных идиопатическими воспалительными миопатиями, включая ПМ и ДМ. К группе МСА относятся АТ к аминоксилсинтетазам т-РНК (Jo-1), частицам сигнального распознавания (SRP), Mi-2, PM-Scl, KJ.

МСА имеют высокую специфичность, но низкую чувствительность в отношении диагностики и прогнозирования течения ПМ/ДМ. Тестирование АТ к Jo-1 полезно для диагностики ПМ/ДМ с наличием антисинтетазного синдрома, который характеризуется острым началом миозита, интерстициальным поражением легких, лихорадкой, артритом, феноменом Рейно и изменением кожи кистей по типу «рука механика». АТ к SRP обнаруживаются только при ПМ, ассоциирующимся с острым началом заболевания, тяжелым течением миозита, кардиомиопатией и плохим ответом на глюкокортикоидную терапию. Определение АТ к Mi-2 полезно для диагностики классического стероидчувствительного ДМ с благоприятным прогнозом и редким развитием опухолевого миозита.

## Антитела к альфа-фодрину

Альфа-фодрин – внутриклеточный органоспецифический белок цитоскелета. Это димерный белок, состоящий из альфа- и бета-субъединиц. Сеть, образованная актином и фодрином, расположена под плазматической мембраной секреторных клеток и участвует в транспорте секреторных пузырьков к плазматической мембране. В процессе апоптоза димер альфа-фодрина расщепля-

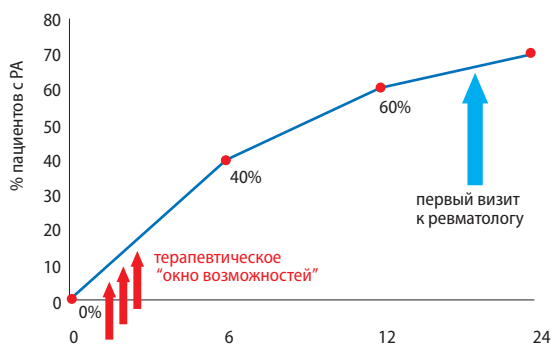
ется на продукты с м.м. 120 кДа, в большом количестве встречающиеся в слюнных железах. Протеолиз фодрина может быть следствием активации протеаз во время апоптоза. Установлено, что продукт расщепления альфа-фодрина с м.м. 120 кДа – важнейший аутоАГ в патогенезе органоспецифических АИЗ. АТ, направленные против альфа-фодрина, присутствуют у взрослых как с первичным (95%) так и со вторичным СШ (62,5%). Кроме того, они обнаружены у детей с СШ. Takahashi и соавт. описали эти АТ у детей с РА (n = 5/9) и СКВ (n = 5/6).

## Антитела к катепсину G

Катепсины относятся к группе внутриклеточных протеаз, локализованных в основном в лизосомах клеток селезенки, печени, почек. Катепсин G представляет собой сериновую протеазу. АутоАТ к катепсину G встречаются при коллагенозах и других воспалительных ревматических заболеваниях – СКВ, СШ и синдроме Фелти.

## Диагностика ревматоидного артрита

Основной характеристикой одного из наиболее распространенных АИЗ – РА, является воспаление сустава, приводящее к его повреждению и потере функции. Пациент попадает к ревматологу в среднем на 21 месяце болезни, до этого он обращается к врачам других специальностей. К этому моменту у 60% пациентов развиваются необратимые повреждения суставов, т.е. лучшее время для терапии упущено. Диагностика осложняется тем, что на ранних стадиях клинические признаки неспецифичны: слабость, усталость, апатия, депрессия, ночное потоотделение, повышенная чувствительность к изменениям погоды, утренняя скованность и боль в суставах, напряженность в мышцах. Ранняя диагностика РА и немедленное начало соответствующего лечения очень важны для предупреждения полного повреждения сустава. Диагностика РА в первую очередь основывается на клинической манифестации, до настоящего момента серологические исследования были ограничены определением аутоАТ к РФ.



## Ревматоидный фактор (РФ)

По своей природе РФ – это АТ против Fc-фрагментов IgG. Чаще (до 90% случаев) эти АТ относятся к IgM, но встречаются и IgG-, IgA-, IgE-АТ. Наличие РФ – один из критериев классификации РА, установленных ААР. 75-80% больных РА имеют РФ. РФ не является специфичным для РА, он также обнаруживается при СШ, склеродермии, ДМ, гиперглобулинемиях, В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях. Показано, что свыше 30% пациентов с СКВ, не имеющих признаки РА, РФ-позитивны. Несмотря на низкую специфичность, наличие РФ считается важным прогностическим признаком для исхода РА.

## Антитела к кератину

АТ к кератину, определяемые методом НИФ с использованием буккального эпителия или крысиного эзофагального эпителия, являются высокоспецифичными для РА. Эти АТ выявляются приблизительно у 40% пациентов с РА. АТ к кератину обнаруживаются у пациентов, имеющих высокий уровень ЦИК.

## Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (АЦЦП)

АЦЦП относятся к гетерогенной группе аутоАТ, которые распознают АГ детерминанты филаггрина и других белков, содержащих атипичную аминокислоту цитруллин. Профилаггрин, присутствующий в кератогиалиновых гранулах буккальных человеческих клеток, протеолитически расщепляется до филаггрина в процессе клеточной дифференцировки. На этой стадии белок дефосфорилируется и некоторые аргининовые остатки превращаются в цитруллин. Наряду с АЦЦП семейство АТ к цитруллинсодержащим белкам включает антиперинуклеарный фактор (АПФ), антикератиновые АТ (АКА), антифилаггриновые АТ (АФА), АТ к цитруллинированному фибриногену (АЦФ) и АТ к модифицированному цитруллинированному виментину (Sa-АГ; АМЦВ). АТ против цитруллинированных белков высоко специфичны для диагностики РА. АПФ и АКА определяются методом НИФ с использованием в качестве субстрата эпителия слизистой оболочки человека и пищевода крыс. Несмотря на высокую специфичность для диагностики РА, АПФ и АКА не нашли широкого применения в клинической лабораторной практике из-за технических трудностей, связанных со стандартизацией субстрата и субъективной оценкой результатов НИФ. Недостатком тестирования АФА с помощью иммуноблота и ИФА при использовании филаггрина, выделенного из кожи человека, является сложность

получения высокоочищенных препаратов АГ, стандартизованных по содержанию цитруллинсодержащего белка. Среди различных методов определения антицитруллиновых АТ наиболее чувствительным и стандартизованным тестом является ИФА с использованием в качестве АГ иммобилизованного на твердой фазе циклического цитруллинсодержащего пептида, имеющего более высокую связывающую активность по сравнению с линейной версией.

Было показано, что АТ, взаимодействующие с линейным синтетическим пептидом, содержащим необычную аминокислоту цитруллин, присутствуют в 41-80% сывороток больных РА со специфичностью 93-99%. АЦЦП обнаруживаются на очень ранней стадии РА. Кроме того, этот тест позволяет дифференцировать эрозивную и неэрозивную формы РА (чувствительность – 67-78%, специфичность – 57-82%). У АЦЦП-положительных пациентов отмечается большая степень повреждения хряща по сравнению с отрицательными по данным АТ пациентами. Прогностическая ценность метода возрастает, если его используют в комбинации с РФ. Эта комбинация позволяет дифференцировать РА с другими заболеваниями соединительной ткани.

ЗАО «БиоХимМак» предлагает иммуноферментную тест-систему компании Axis-Shield (Шотландия) для определения аутоантител в сыворотке против синтетического циклического пептида, содержащего модифицированные аргининовые остатки. Измерение проводят при 540 нм.

## Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (анти-MCV)

NEW

Виментин – широко распространенный в организме цитруллинированный белок. С одной стороны, виментин является белком цитоскелета клеток мезенхимы и эндотелия, фибробластов, хондроцитов и остеоцитов. При этой локализации он используется в качестве маркера опухолей мягких тканей.

С другой стороны, виментин синтезируется и модифицируется макрофагами под регуляцией провоспалительных и воспалительных цитокинов. С 1994 г. Этот белок (ранее известный как Sa-АГ) упоминается в контексте РА, в связи с тем, что он выявляется в синовиальной ткани пациентов с РА. Фермент пептидил-аргинин дезимидаза (PAD), который находят в большом количестве в синовиальной жидкости при воспалении (в виде изоформ PAD2 и PAD4), цитруллинирует многие синовиальные белки, включая виментин.



Вплоть до настоящего момента комбинация АЦЦП+РФ была лучшим выбором в диагностике РА. С появлением анти-MCV ситуация изменилась. Преимущества анти-MCV по сравнению с АЦЦП связаны с тем, что виментин больше филаггрина (Аг для АЦЦП) в 20 раз и, следовательно, обладает большим количеством эпитопов (45 по сравнению с 1-2, соответственно). Кроме того, в отличие от синтетического филаггрина виментин является естественным белком с известной структурой.

Около половины РФ-негативных пациентов выявляются с помощью анти-MCV. Комбинация анти-MCV с РФ увеличивает чувствительность почти до 100%. Последние исследования, сравнившие результаты более 1000 пациентов, показали преимущества набора **ORGENTEC Anti-MCV ELISA** в чувствительности по сравнению с тестом на АЦЦП, по крайней мере, на 10%.

Около половины РФ-негативных пациентов выявляются с помощью анти-MCV. Комбинация анти-MCV с РФ увеличивает чувствительность почти до 100%. Последние исследования, сравнившие результаты более 1000 пациентов, показали преимущества набора **ORGENTEC Anti-MCV ELISA** в чувствительности по сравнению с тестом на АЦЦП, по крайней мере, на 10%.

	Анти-MCV	АЦЦП
Чувствительность	82%	72%
Специфичность	98%	96%

Очень часто анти-MCV выявляются за несколько лет до появления первых клинических признаков РА. При ранней диагностике с помощью анти-MCV «окно возможностей» не упускается, при этом терапия на ранних стадиях будет менее агрессивной и более щадящей (меньше побочных эффектов).

Длительное наблюдение больных с РА привело к следующему выводу: повышенная концентрация АТ против цитруллинированного виментина специфична для пациентов с РА и значительно коррелирует с активностью болезни. Таким образом, их определение полезно для прогноза развития РА.

АутоАТ являются не только диагностическими маркерами, но и помогают определить степень активности болезни и ее прогноз. Прогностическое значение имеет изменение уровня аутоАТ как в сторону повышения титров, так и их снижения. Большинство аутоАТ не являются специфичными для какого-либо заболевания, они обнаруживаются в различных комбинациях. Закономерность той или иной комбинации различных присутствующих АТ и их концентрации с учётом клинической картины является полезным диагностическим средством в лечении ревматоидных АИЗ.



## Краткая информация о встречаемости и концентрации аутоАТ при ревматоидных АИЗ.

Заболевание	Антитела к (частота выявления в %):								
	dsDNA	ssDNA	гистоны	SS-A (Ro)	SS-B (La)	Sm	RNP/Sm	Scl 70	Jo-1
СКВ	>90	>90	30-50	10-30	30-50	10-30	10-30		
ЛКВ		30-50	50-90						
Синдром Шарпа / СЗСТ	10-30	10-30					>90		
РА		30-50	30-50	10-30					
СШ	10-30	10-30		>90	>90				
Склеродермия	10-30	10-30		10-30				>90	
Светочувствительные дерматиты, ДМ	10-30	10-30							50-90

## Циркулирующие иммунные комплексы C1q и C3d (ЦИК C1q и C3d)\*

Формирование ЦИК представляет собой физиологический механизм защиты, приводящий к быстрому устранению эндогенных или экзогенных (микроорганизмы, вирусы, паразиты, АГ растений, грибов, пыльцы, пищевых продуктов) АГ через ретикуло-эндотелиальную систему.

Высокий уровень ЦИК в сыворотке и/или в других биологических жидкостях наблюдается при многих воспалительных и злокачественных заболеваниях. Определение ЦИК в сыворотке – важный маркер для оценки активности заболевания, особенно при АИЗ.

Определение количества ЦИК основано на их способности связываться с C1q компонентом комплемента, сорбированным в ячейках микропланшета. В дальнейшем, комплексы C1q-ЦИК, связанные с твердой фазой, специфически детектируются с помощью ферментного конъюгата, взаимодействующего с Fc-фрагментом IgG в составе иммунных комплексов.

## Антитела к C1q

**NEW**

До 50% образцов пациентов с СКВ имеют анти-C1q аутоАТ. У пациентов с СКВ постоянное измерение этих АТ целесообразно для определения риска развития активного люпус-нефрита (при негативных результатах – риск минимален в течении 3-4 месяцев, при росте титров АТ в период от нескольких недель до 6 месяцев – следует ожидать манифестацию процесса).

При активном люпус-нефрите, последовательное определение анти-C1q аутоАТ помогает оценить успех иммуносупрессивной терапии (снижение титров).

## Элафин

**NEW**

Относится к эпителиальным ингибиторам протеиназы. Предполагается, что он играет важную роль в регуляции процессов воспаления и в защите от тканевых повреждений в многослойном эпителии. У человека в нормальных клетках кожи элафин отсутствует, однако он быстро индуцируется во время воспалительных процессов, таких как псориаз и заживление ран. Пре-элафин или Trappin-2 представляет собой белок с м.м. 12,3 кДа, содержащий 117 аминокислот. Отщепление сигнального пептида приводит к образованию зрелого белка с м.м. 9,9 кДа. Секретируемый 9,9 кДа белок является основной формой, обнаруживаемой в культуральной среде. В экстрактах кожи присутствует также форма с м.м. 6 кДа которая включает в себя 57 аминокислот (в основном – С-концевых). В сыворотке представлены обе формы (9,9 и 6 кДа). В моче обнаружена только короткая 6 кДа форма. Пре-элафин может использоваться в качестве маркера при мониторинге лечения псориаза циклоспорином. В сыворотке/плазме здоровых индивидуумов содержится около 10-50 нг/мл элафина. Во время псориаза наблюдается 10-кратное увеличение концентрации этого белка. Совсем недавно было показано, что элафин также обладает антимикробной активностью против грам-положительных и грам-отрицательных бактерий. \*\*

## Диагностика системных васкулитов и АИЗ почек и желудочно-кишечного тракта

## Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA)

Термином «ANCA» обозначают АТ, специфичные к цитоплазматическим АГ гранулоцитов и моноцитов. Классическими методами определения ANCA явля-

\* См. также раздел «Система комплемента», стр. 375

\*\* См. главу «Антимикробные пептиды», стр. 367



ются иммунофлуоресцентные методы. Методом НИФ выявлены два основных типа свечения:

- цитоплазматический (с-ANCA) тип свечения
- перинуклеарный (р-ANCA) тип свечения

АГ-мишенью для 80-90% с-ANCA является протеиназа 3 (PR3) – сериновая протеаза из α-гранул нейтрофилов. Оставшиеся с-ANCA направлены к другим белкам. Приблизительно 90% р-ANCA-положительных сывороток содержит АТ против миелопероксидазы (MPO), локализованной в гранулах нейтрофильных гранулоцитов. Среди других р-ANCA часто выявляют АТ к следующим АГ: лактоферрину, эластазе, катепсину G и лизоциму. Точная идентификация и классификация ANCA с использованием НИФ довольно затруднительна. Поэтому каждый положительный случай в НИФ, должен дополнительно анализироваться методом ИФА, который использует очищенные АГ.

	Тип свечения	Антиген-мишень
<b>Синдромы системных васкулитов</b>		
Гранулематоз Вегенера	с-ANCA, редко р-ANCA	PR3, редко MPO
Микроскопический полиангиит	с-ANCA, р-ANCA	PR3, MPO
Синдром Чарга-Штрауса	р-ANCA	MPO
Быстро прогрессирующие гломерулонефриты	р-ANCA	MPO
Узелковый полиартериит	Редко ANCA	Редко PR3 и MPO
Неклассифицируемые васкулиты	Редко	Нет PR3 и MPO
<b>Коллагенозы и другие ревматические заболевания</b>		
РА	GS-ANA, р-ANCA, атипичные ANCA	Неизвестный, АЯА, редко MPO, лактоферрин
СКВ	р-ANCA	редко MPO, лактоферрин
<b>Другие заболевания</b>		
Язвенные колиты		
Болезнь Крона		Катепсин G, лактоферрин
Хронические гепатиты	р-ANCA, атипичные ANCA	и другие неизвестные АГ

В настоящее время PR3 и MPO определены как серологические маркеры первичных системных васкулитов, которые распространены обычно шире, чем полагают: от 1,5 до 5 случаев на 1000 в старшей возрастной группе. Показания к исследованию на специфические ANCA представлены в таблице.

## Антитела к протеиназе-3 (PR3)

В 90% случаев в сыворотке крови, содержащей с-ANCA, целевым АГ является PR3. PR3 была впервые описана как основной АГ при гранулематозе Вегенера (ГВ). В отличие от микроскопического полиартериита (МПА), при котором с одинаковой частотой встречаются как анти-PR3, так и анти-MPO АТ, для ГВ свойственны преимущественно аутоАТ к PR3 (специфичность в начальной фазе составляет 50%, в генерализованной фазе – более 90%). Это позволяет использовать исследование ANCA с определенной эпитопной специфичностью для дифференциальной диагностики ГВ и МПА, в качестве маркера активности васкулита и эффективности проводимой терапии у этих больных. При этом повышение уровня АТ в сыворотке крови во времени предшествует появлению клинических симптомов обострения. Определение анти-PR3 в качестве скринингового теста позволяет увеличить выявляемость ГВ, особенно на ранней стадии болезни, у больных с лимитированной и атипичной формами заболевания или перекрестными ангиитными синдромами, а также помогает верифицировать диагноз у некоторых больных с почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе. Использование ANCA как показателя активности васкулита имеет определенные преимущества перед такими лабораторными показателями, как СОЭ и С-реактивный белок (СРБ), более адекватно отражая степень активности и эффективность проводимой терапии. Кроме того, в отличие от СОЭ и СРБ, не отмечено зависимости повышения титра ANCA от присоединения инфекционных осложнений. Исследование ANCA оказалось более чувствительным тестом в оценке активности и по сравнению с РФ, который определялся у больных активным ГВ с меньшей частотой (50%).

## Антитела к миелопероксидазе (MPO)

АТ к MPO классифицируются как важнейший маркер такого тяжелого заболевания, как быстро прогрессирующий нефрит. Кроме того, они встречаются у 70-90% пациентов с серьезным повреждением почек. Данные АТ встречаются при синдроме Чарга-Штрауса, МПА и других васкулитах. Концентрация анти-MPO аутоАТ коррелирует с активностью МПА. МПА характеризуется клинической манифестацией в легких, почках и респираторном тракте, однако эти проявления, в отличие от ГВ, не носят гранулематозного характера. Специфичность АТ к MPO при МПА составляет 60%. Отсутствие аутоАТ к MPO и PR3 при одновременном определении АЯА может использоваться для дифференциальной диагностики ANCA-ассоциированных васкулитов и васкулитов при СКВ.

## Тромбомодулин

NEW

Тромбомодулин является мембранным гликопротеином эндотелиоцитов, и его выделение в кровотоке сопутствует повреждению сосудистой стенки. Высокое содержание этого белка в плазме крови отмечается при пурпуре Шенлейна-Геноха, синдроме Чарга-Штрауса и других ANCA-ассоциированных васкулитах. В качестве маркера активности СКВ тромбомодулин превосходит растворимые молекулы адгезии, sИЛ-2R, сывороточные ИЛ-6 и ИЛ-10, АТ к дсДНК, острофазовые белки, СОЭ, комплемент и Ig, креатинин и ААА.

## ICAM-1

ICAM-1 выделяется при активации эндотелиальных клеток при воспалении и потенциально может использоваться в качестве показателя активности васкулитов и близких васкулитам состояний. Увеличенные уровни sICAM-1 в сыворотке наблюдаются при пурпуре Шенлейна-Геноха, ANCA-ассоциированных и лейкоцитокластических васкулитах, активной СКВ, синдроме Бехчета, септическом шоке, злокачественных новообразованиях и инфаркте миокарда. Васкулит, сопровождающий СЗСТ, также приводит к увеличению содержания sICAM-1. У больных РА отмечается значительно увеличенное содержание sICAM-1 в сыворотке крови, причем особенно высокие концентрации sICAM-1 наблюдались у больных с клиникой иммунокомплексного васкулита. С той же целью используется определение растворимых форм других эндотелиальных молекул адгезии sVCAM и L-селектина.

## Антитела к бактерицидному белку, увеличивающему проницаемость (BPI)

BPI – это мембранный белок полиморфноядерных гранулоцитов и моноцитов, обладает бактерицидным действием. АутоАТ к данному АГ в настоящее время классифицируются как сANCA. BPI имеет высокое сродство к LPS грам (-) бактерий. BPI расщепляется и инактивируется эластазой и другими сериновыми протеазами. АутоАТ к BPI превалируют над всеми другими АТ, определяемыми при хронических заболеваниях ЖКТ, таких как болезнь Крона и язвенный колит. В отличие от АТ к МРО и PR3 эти АТ не обнаруживаются при васкулитах.

## ASCA

NEW

Дифференцировать болезнь Крона от язвенного колита можно с помощью сравнения ANCA и ASCA (АТ к *Saccharomyces*

*cerevisiae*). ASCA направлены против олигоманозных эпитопов на клеточной стенке дрожжей *S. cerevisiae*. Специфичность IgG- и IgA-ASCA для болезни Крона составляет 95-100%. Исследования выявили 5% положительных результатов IgG- и 7% IgA-ASCA при язвенном колите, тогда как при болезни Крона чувствительность для ASCA IgG- и для IgA-класса составляет 75% и 60%, соответственно. Наличие атипичных ANCA (aANCA) при болезни Крона встречается гораздо реже, чем при язвенном колите. Частота выявления ANCA варьирует от 50% до 90% при язвенном колите, и от 10% до 20% при болезни Крона.

Комбинация двух серологических тестов ANCA и ASCA – делает возможным быстрый и неинвазивный дифференциальный диагноз между болезнью Крона и язвенным колитом.

## Антитела к эластазе

Эластаза представляет собой сериновую протеазу со степенью гомологии 54% по отношению к PR3. Фермент встречается в основном в полиморфноядерных нейтрофильных гранулоцитах, макрофагах и эндотелиальных клетках. Разрушение протеогликанов нейтрофилами обусловлено в основном действием эластазы. Эластаза также играет решающую роль в разрушении тканей при эмфиземе и РА. АутоАТ к данному АГ ассоциированы в основном с РА и васкулитами.

## Антитела к лизоциму

Лизоцим представляет собой гликозидазу, разрушающую гликозидную связь в полисахаридах клеточной стенки бактерий, что приводит к гибели микроорганизмов. Фермент локализован в азурофильных и специфических гранулах нейтрофилов, а также в слюне и слезной жидкости, где он проявляет бактерицидную активность. АТ к нему с высокой частотой встречаются при ревматоидных васкулитах и воспалительных заболеваниях кишечника, например, при язвенном колите.

## Антитела к лактоферрину

Лактоферрин – железосвязывающий белок с м.м. 77-93 кДа, присутствующий в высоких концентрациях в секретах слизистых оболочек, слезной жидкости и молоке. Лактоферрин также присутствует в гранулах полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов, откуда выделяется экзоцитозом при активации. Повышенный сывороточный уровень лактоферрина определяется при активных воспалительных процессах.

• См. главу

«Молекулы адгезии», стр. 422

•• См. главу

«Эндогенные антимикробные пептиды», стр. 367

Физиологический антимикробный эффект лактоферрина связан с его железосвязывающей способностью, поскольку железо необходимо бактериям для роста и развития. Лактоферрин ингибирует миелопоэз, предупреждает активацию комплемента и образование гидроксил-радикалов. Вероятно, лактоферрин служит неспецифическим противовоспалительным фактором защиты слизистых наряду с секреторным IgA. АутоАТ к лактоферрину с высокой частотой встречаются у пациентов с ревматоидным васкулитом, язвенным колитом и первичным склерозирующим холангитом.

### Диагностическая значимость выявления различных ANCA-антител

Вид антител	Заболевание
Анти-MPO ANCA	Васкулиты, микроскопический полиангит, синдром Чарга-Страуса, РА, СКВ
Анти-PR3 ANCA	ГВ
Анти-BPI ANCA	Хронические инфекционные болезни, болезнь Крона, язвенный колит
Анти-эластаза ANCA	Эмфизема, РА, воспалительные ревматические болезни
Анти-катепсин G ANCA	Воспалительные ревматические болезни, СКВ, СШ, синдром Фелти
Анти-лизоцим ANCA	Ревматоидный васкулит, воспаление кишечного тракта, язвенный колит
Анти-лактоферрин ANCA	Ревматоидный колит, язвенный колит, первичный склеротизирующий холангит

### Антитела к базальной мембране клубочков (анти-GMB)

Анти-GMB непосредственно вызывают прогрессирующий гломерулонефрит без или с кровоизлиянием в легкие (синдром Гудпасчера). Гистологически заболевание характеризуется линейным отложением ЦИК на базальной мембране клубочков, что может быть выявлено прямой иммунофлуоресценцией биоптата почек.

Базальная мембрана клубочков формирует анатомический барьер между эпителием и соединительной тканью и является основным функциональным элементом фильтрации первичной мочи в клубочках почек. Коллаген VI типа, обнаруживаемый только в базальной мембране клубочков, формирует матрикс, в который интегрированы другие молекулы (ламинин, энтактин).

Специфичные для синдрома Гудпасчера анти-GMB направлены против домена NC1 а-3 цепи молекулы коллагена VI типа в базальной мембране клубочков. Выявление этих аутоАТ в циркуляции в комбинации с гломерулонефритом и легочными кровотечениями является основным диагностическим критерием для этого заболевания. ИФА тест-системы на основе чистого АГ показывают чувствительность при синдроме Гудпасчера 98-99%.

### Диагностика антифосфолипидного синдрома (АФС)

АФС – симптомокомплекс, характеризующийся венозными и/или артериальными тромбозами, акушерской патологией (невынашивание в I и II триместрах беременности, преждевременные роды), реке тромбоцитопенией, а также другими (сердечно-сосудистыми, неврологическими, кожными и т.д.) проявлениями, связанный с гиперпродукцией антифосфолипидных АТ. Течение АФС, тяжесть и распространенность тромботических осложнений непредсказуемы. У одних больных АФС проявляется преимущественно венозными тромбозами, у других – инсультом, у третьих – акушерской патологией или тромбоцитопенией. Один из признаков АФС – ложноположительная реакция Вассермана (РВ), свидетельствующая о высоком уровне АТ к кардиолипину. Больные с ложноположительной РВ делятся на две группы: больные с транзиторно-положительной РВ, у которых часто отмечаются острые вирусные и бактериальные инфекции, и больные с постоянно положительной РВ, присущей таким АИЗ, как АФС и СКВ.

**Антифосфолипидные антитела (АФЛА)** являются серологическим маркером и фактором риска развития тромботических осложнений при АФС. АФЛА представляют собой семейство АТ, которые распознают АГ детерминанты анионных и нейтральных фосфолипидов (кардиолипина (КЛ), фосфатидилинозитола, фосфатидилсерина, фосфатидиловой кислоты) и комплексные эпитопы, образующиеся в процессе взаимодействия фосфолипидов и фосфолипид-связывающих белков.

Процесс тромбообразования включает взаимодействие аутоАТ с фосфолипидами мембран тромбоцитов, эндотелия и фосфолипид-связанными белками плазмы.

Выделяют следующие основные формы АФС:

- **первичный АФС:** политромботический синдром, нарушения мозгового кровообращения (особенно у лиц молодого возраста), привычное невынашивание беременности и внутриутробная гибель плода (упорно повторяющиеся выкидыши при от-

существии акушерско-гинекологической патологии), аллергия к лекарственным препаратам (хинидин, гидролазин, фенотиазин, прокаинамид), длительный прием антидепрессантов без четкой иммунной патологии);

- **вторичный АФС:** на фоне АИЗ (СКВ, узелковый периартериит, РА, системная склеродермия, иммунный тиреоидит), на фоне злокачественных новообразований (солидные опухоли, тимома, карциномы, гематологические опухоли), на фоне инфекционных и инфекционно-иммунных заболеваний (болезнь Лайма, бронхиальная астма, ВИЧ-инфекция, стафилококковая, стрептококковая инфекция), в связи с другими причинами (терминальная стадия почечной и печеночной недостаточности);
- **«катастрофический» АФС** (острая диссеминированная коагулопатия/vasculopathy) с острым мультиорганным тромбозом;
- **другие микроангиопатические синдромы** (тромботическая тромбоцитопеническая пурпура/гемолитикоуремический синдром), HELLP-синдром (гемолиз, повышение активности печеночных ферментов, снижение содержания тромбоцитов), ДВС-синдром, гипопротромбинемический синдром;
- **«серонегативный» АФС.** В последние годы обсуждается возможность существования, так называемого АФЛА-негативного варианта АФС, при котором имеются клинические проявления патологии, но отсутствуют классические серологические маркеры – волчаночные АТ и АТ к КЛ. В сыворотках некоторых таких больных обнаруживаются только АТ к  $\beta_2$ -ГП I.

Спектр клинических проявлений АФС чрезвычайно разнообразен, т.к. потенциально могут поражаться сосуды любого калибра и локализации: от капилляров до крупных, включая аорту. В рамках АФС описана патология ЦНС, ССС, нарушение функции почек, печени, эндокринных желез, ЖКТ. Синдром может проявляться одним или несколькими клиническими признаками и протекать как в легкой, так и в тяжелой форме, вплоть до развития катастрофической формы, которая характеризуется острой полиорганной недостаточностью (напоминает таковую при ДВС-синдроме) с развитием респираторного дистресс-синдрома, поражением ЦНС, надпочечниковой недостаточностью и т.д.

Наиболее характерным проявлением АФС является акушерская патология. **Акушерские осложнения, связанные с наличием АФЛА, включают:** привычное невынашивание (два и более самопроизвольных выкидыша или неразвивающиеся беременности в I и II триместрах), антенатальную гибель плода, преждевременные роды, тяжелые формы гестоза, задержку внутриутробного развития плода в сочетании и без

симптомов гестоза, тяжелые осложнения послеродового периода. Потеря плода при СКВ составляет 91% у больных с АФЛА и только 6% у больных без этих АТ. Потеря плода может наступить в любые сроки беременности, но несколько чаще в I триместре. В послеродовом периоде у больных АФС нередко развивается характерный симптомокомплекс, связанный с циркулирующими АФЛА – плевропневмонии, кардиомиопатии и тромбозы различной локализации. Патогенетической причиной развития акушерских осложнений при АФС является плацентарная децидуальная васкулопатия, вызванная нарушением продукции простаглицлина, тромбозом и инфарктами плаценты и нарушением процесса имплантации. Описан «неонатальный» АФС у новорожденных от матерей с АФС, что свидетельствует о возможности трансплацентарной передачи АФЛА.

Истинная распространенность АФС в популяции неизвестна. АФЛА обнаруживаются в сыворотках у 2-4% (в высоком титре менее 0,2%) здоровых людей, чаще у лиц пожилого, чем молодого возраста. Частота обнаружения АФЛА увеличивается у больных воспалительными, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями (ВИЧ, гепатит С и др.), злокачественными новообразованиями, на фоне приема лекарственных препаратов (оральные контрацептивы, психотропные средства и др.). У женщин АФЛА обнаруживаются в 2-5 раз чаще, чем у мужчин. АФЛА найдены примерно у 20% больных молодого возраста, перенесших инфаркт миокарда, у 3-46% с ишемическими нарушениями мозгового кровообращения, у 5-15% женщин с рецидивирующими спонтанными абортми. Женщины с высоким титром IgG-АФЛА имеют 30%-ную вероятность спонтанных выкидышей. В целом АФЛА выявляются примерно у трети больных СКВ. В случае обнаружения АФЛА при СКВ риск развития тромбозов увеличивается до 60-70%, а при их отсутствии составляет 10-15%.

Дифференциальная диагностика АФС проводится с широким кругом заболеваний, протекающих с сосудистыми нарушениями. При АФС наблюдается очень большое количество клинических проявлений, которые могут имитировать васкулиты, инфекционный эндокардит, опухоли сердца, рассеянный склероз, гепатит, нефрит и др.

Согласно международным предварительным критериям АФС (Sarrogo, 1999) обязательные методы лабораторной диагностики АФС включают определение IgG- и IgM-АТ к кардиолипину с использованием ИФА и обнаружение волчаночного антикоагулянта (ВА) в фосфолипидзависимых коагуляционных тестах.



## Диагностические критерии АФС

Клинические	Лабораторные
Венозный тромбоз	IgG-АТ к КЛ (умеренный/высокий титр)
Артериальный тромбоз	IgM-АТ к кардиолипину (умеренный/высокий титр)
Привычное невынашивание беременности	Положительный тест на наличие ВА
Тромбоцитопения	

Примечание: Для постановки диагноза АФС необходимо наличие по крайней мере одного (любого) клинического и одного (любого) лабораторного признака; IgG/IgM АТ к КЛ должны определяться в сыворотке в средних или высоких титрах в 2 и более исследованиях с интервалом не менее 6 недель с помощью стандартного ИФА, позволяющего выявлять β2-ГП I-зависимые АТ к КЛ. ВА должен определяться в плазме в 2 или более исследованиях с интервалом не менее 6 недель стандартным методом, включающим несколько этапов (см. ниже).

## Волчаночный антикоагулянт (ВА)

**NEW** Наличие циркулирующего ВА у пациентов с СКВ было впервые обнаружено в 1952 году и ассоциировано с повышенным риском парадоксального тромбоза в 1963 году. Термин «ВА», введенный в 1972 году, не вполне корректен, т.к. чаще обнаруживается у пациентов без волчанки и ассоциирован более с тромбозом, чем с патологическим кровотечением.

Согласно рекомендациям субкомитета по АФС/ВА Комитета по стандартизации Международной Ассоциации по тромбозу и гемостазу (2000, 2002) диагностика ВА складывается из трех этапов.

I этап включает скрининговые исследования, основанные на удлинении фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов (АЧТВ, каолиновый тест, тест с ядом гадюки Рассела, протромбиновое время, текстаринное время). Необходимо использование, по крайней мере, двух таких тестов.

II этап – коррекционная проба (тест на смешивание плазмы больного с контрольной нормальной плазмой), подразумевает уточнение генеза удлинения скрининг-тестов, позволяя отличить ВА от врожденных коагулопатий, связанных с дефицитом одного из факторов каскада свертывания.

III этап – подтверждающая проба с добавлением избытка фосфолипидов, целью которой является выяснение природы ингибитора (специфический или неспецифический). Как и в случае обнаружения АТ к КЛ, необходимо подтвердить перманентный характер

присутствия ВА в сыворотке, т.к. ВА может появляться на фоне вирусных и бактериальных инфекций, под действием ряда лекарственных препаратов.

Крайне важным является соблюдение преаналитического этапа метода, так как присутствие в исследуемой плазме тромбоцитов, которые являются эндогенным источником фосфолипидов, может привести к ложноотрицательным результатам теста. Важно учитывать, что назначение терапии антикоагулянтами, прежде всего гепарином, ведет к удлинению АЧТВ и других скрининговых тестов. Это в определенной степени затрудняет выявление ВА у пациентов, которым антикоагулянтная терапия была начата по жизненным показаниям. В данном случае большую специфичность при диагностике АФС имеют серологические тесты.

ВА имеет большое значение в акушерской практике. Полагают, что выявление ВА в крови является качественным проявлением действия определенных аутоАТ к фосфолипидам на систему гемостаза.

## Антитела к фосфолипидам

Термином «АТ к фосфолипидам» обозначаются суммарные АТ к отрицательно заряженным фосфолипидам, таким как КЛ, фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидиловая кислота (ФК). С помощью скринингового теста была отмечена связь между наличием IgG АФЛА и развитием тромбозов у пациентов; присутствием IgG ФК, IgG ФИ, IgG ФС и тромбоцитопенией.

## Антитела к кардиолипину (анти-КЛ)

В клинической практике иммуноферментное определение АТ к КЛ является одним из наиболее ценных и стандартизированных тестов для диагностики АФС. АТ к КЛ являются основной фракцией АТ к фосфолипидам. Эти АТ обнаруживаются при различных АИЗ. Их присутствие у пациентов с СКВ ассоциируется с развитием тромбозов и тромбоцитопений. Титры АТ к КЛ обычно максимальны непосредственно перед развитием тромбоза и несколько снижаются сразу после его возникновения, что свидетельствует об их потреблении в процессе коагуляции. Увеличения титра анти-КЛ АТ при развитии клинической картины тромбоза служит основой для постановки диагноза АФС. У нас в стране частота обнаружения АТ к КЛ у пациентов с привычным невынашиванием беременности составляет 28-31%, и практически у всех обнаруживают вирусносительство. Среди наиболее частых индукторов анти-КЛ АТ описаны инфекции, вызванные вирусом гепатита С, ВИЧ, вирусом Эпштейна-Барр, парвовирусом В19, стрептококками, *H. pylori*, а также возбудителями сальмонеллеза и инфекций мочевыводящих путей. Обычно при инфекциях появляются

• См. главу «Мониторинг гемостаза», стр. 57



низкие титры анти-КЛ АТ класса IgM, которые плавно снижаются после выздоровления. Присутствие анти-КЛ АТ отмечается у пациентов с неврологической патологией. Нетромботические патологии ЦНС, например хорей и эпилепсия, также ассоциируются с наличием анти-КЛ АТ. Онкологические заболевания, хронические интоксикации, в том числе алкоголизм, индуцируют АФЛА, что обуславливает сложность интерпретации этого показателя. Частота присутствия разных классов АТ к КЛ, выявляющихся при СКВ, представлена в таблице.

### Частота выявления классов АТ к КЛ при СКВ

Антитела	Частота выявления, %
IgG	39-44
IgA	17-57
IgM	5-33

При лечении АФС концентрация АТ к КЛ может меняться или оставаться на прежнем уровне. Рекомендуется плановое определение АТ к КЛ у беременных с СКВ или тромбозом для оценки риска осложнений беременности. СКВ не является единственным ревматологическим заболеванием, сопровождающимся продукцией АФЛА. Сравнительно часто АТ к КЛ присутствуют у больных с васкулитами и васкулитоподобными состояниями, например при синдроме Бехчета и болезни Крона. Для связывания АТ к КЛ с АГ требуется сывороточный кофактор –  $\beta_2$ -ГП I. Для ИФА-тестов необходимая концентрация  $\beta_2$ -ГП I создается добавлением очищенного белка в лунки микропланшета, что обеспечивает качество и воспроизводимость получаемых результатов. IgG- (чувствительность – 45-68%, специфичность – 71-75%) и IgM-АТ к КЛ (чувствительность – 35-69%, специфичность – 72-81%) имеют умеренную чувствительность, но низкую специфичность для диагностики АФС. ВА (чувствительность – 29-59%, специфичность – 81-86%) является более специфичным, но менее чувствительным диагностическим маркером АФС по сравнению с IgG/IgM-АТ к КЛ.

Несмотря на относительно высокую специфичность, применение для постановки диагноза АФС только двух официальных критериев (АТ к КЛ и ВА) вызывает неудовлетворенность многих клиницистов (оба теста могут быть отрицательными при наличии клинических проявлений АФС) и заставляет активно использовать другие подходы. При наличии у пациентов характерных клинических признаков АФС и низко положительных или отрицательных результатов тестирования АТ к КЛ и ВА дополнительно используют определение IgG и IgM АТ к  $\beta_2$ -ГП I (реже IgA), а также АТ к другим фосфолипидам или их смеси и кофакторным белкам (аннексину V и протромбину).

Для прогнозирования риска развития тромботического осложнения очень полезно тестирование ВА (чувствительность – 59-65%, специфичность – 82-87%), IgG-АТ к КЛ (чувствительность – 53-77%, специфичность – 72-85%) и IgG-АТ к  $\beta_2$ -ГП I (чувствительность – 29-58%, специфичность – 80-95%). Наиболее полезными прогностическими тестами в отношении повторных потерь плода являются ВА (чувствительность – 55-58%, специфичность – 88%) IgG-АТ к КЛ (чувствительность – 50-86%, специфичность – 64-89) и IgG-АТ к  $\beta_2$ -ГП I (чувствительность – 50-75%, специфичность – 84-89%).

ЗАО «БиоХимМак» предлагает иммуноферментную тест-систему для определения АТ к смеси фосфолипидов фирмы «ORGENTEC» (Германия).

Микропланшет покрыт высокоочищенными фосфолипидами (КЛ, фосфатидил-серин, фосфатидил-инозитол, фосфатидиловой кислотой) и высокоочищенным  $\beta_2$ -ГП I человека. Специальная технология нанесения АГ в ячейки гарантирует нативную иммуногенную структуру фосфолипидов после иммобилизации на твердой фазе. Данный набор специфичен для аутоАТ к фосфолипидам или их комплексу с  $\beta_2$ -ГП I.

### Кофакторы АФЛА

Связанные с фосфолипидами клеточных мембран белки плазмы – протромбин,  $\beta_2$ -ГП I, аннексин V, высокомолекулярный кининоген, протеины C и S и ряд других служат кофакторами, в присутствии которых фосфолипиды связываются с аутоАТ. Обнаружение кофактор-зависимых АФЛА – наиболее достоверный признак причастности аутоАТ к АФС, тогда как кофактор-независимые АФЛА относят к неспецифическим признакам инфекционного процесса. В частности, АФЛА могут обнаруживаться у больных сифилисом, острыми и хроническими вирусными инфекциями. В этих случаях они не взаимодействуют с фосфолипид-связанными белками. Напротив, при ложноположительной РВ у больных, страдающих системными и гематологическими заболеваниями, обнаружение АФЛА, связанных с протромбином или  $\beta_2$ -ГП I, свидетельствует об их связи с АФС.

### Антитела к $\beta_2$ -гликопротеину I ( $\beta_2$ -ГП I)

Предполагается, что особенно важную роль в процессе взаимодействия АФЛ и эндотелиальных клеток играет  $\beta_2$ -ГП I.  $\beta_2$ -ГП I с молекулярной массой 50 кДа присутствует в нормальной плазме в концентрации примерно 200 мкг/мл, циркулирует в ассоциации с липопротеинами и обладает естественной антикоа-

гулянтной активностью. АТ, присутствующие в сыворотках больных АФС, на самом деле распознают АГ детерминанты не КЛ, а конформационные эпитопы, формирующиеся в процессе взаимодействия  $\beta$ 2-ГП I с КЛ. Диагностическая точность результатов определения IgG/IgM-АТ к  $\beta$ 2-ГП I (чувствительность – 23-60%, специфичность – 83-97%) при АФС выше, чем у АТ к КЛ и ВА, однако определение АТ к  $\beta$ 2-ГП I не может быть использовано в качестве лабораторного критерия диагностики АФС, так как это исследование не стандартизовано на международном уровне. На сегодняшний день выявление АТ к  $\beta$ 2-ГП I следует рассматривать в качестве лабораторного метода, дополняющего выявление анти-КЛ АТ.

## Антитела к аннексину V

Причиной невынашивания беременности на поздних сроках при прогрессировании АФС является развитие тромботической васкулопатии спиральных артерий плаценты. Доказана роль аннексина V в генезе синдрома потери плода у больных АФС (снижение этого белка на поверхности ворсинок приводит к развитию тромбозов и инфарктов плаценты).

Аннексин V, также известный как плацентарный антикоагулянтный протеин (PAP I), принадлежит семейству кальций-зависимых белков, связывающих фосфолипиды. Аннексин V представлен во многих тканях, главным образом на эндотелиальных клетках и плаценте. В низких концентрациях аннексин V присутствует в тромбоцитах, в более высоких – в эритроцитах и лейкоцитах. Он обладает выраженными антикоагулянтными свойствами. Это свойство аннексина V обусловлено высоким сродством к анионным фосфолипидам и способностью препятствовать активированным факторам свертывания крови связываться с клеточными мембранами. Сродство аннексина V к фосфатидилсерину в 1000 раз выше, чем протромбина.

Плазматическая мембрана клетки характеризуется асимметричным расположением фосфолипидов с наружной и внутренней стороны. Исчезновение этой асимметрии служит первым признаком апоптоза. При нормальных условиях фосфатидилсерин локализуется на цитоплазматической (внутренней) стороне клеточной мембраны, при апоптозе он находится на наружной поверхности мембраны, где высокоспецифично связывается с аннексином V. Аннексин V покрывает фосфолипиды по типу ковра, оказывая местный антикоагулянтный эффект. Во время физиологической беременности за счет длительного расположения аннексина V на поверхности трофобласта не происходит тромбообразования. У больных АФС, в том числе на фоне инфекционного

процесса, возможна выработка аутоАТ к этому белку. Эти АТ вытесняют аннексин V с поверхности эндотелиоцитов и клеток трофобласта, что приводит к гиперкоагуляции и потере беременности. По мере прогрессирования беременности процессы тромбообразования в сосудах плаценты становятся все более значимыми.

АТ к аннексину V не только высоко специфичны для АФС, но также повышены у пациентов с СКВ. Считают, что АТ к аннексину V имеют значение в развитии РА. У пациентов с положительным результатом на наличие АТ к аннексину V найдена очень высокая частота артериального или венозного тромбоза. При наличии этих АТ очень высок риск привычного выкидыша у пациенток с СКВ.

## Антитела к протромбину

Протромбин (фактор II свертывания) – витамин К-зависимый гликопротеин, синтезируемый в печени и участвующий в свертывании крови. Протромбин, превращаясь в тромбин на мембране поврежденных клеток, обеспечивает активацию факторов VIII и V и переход фибриногена в фибрин. АТ к протромбину являются патогенными – напрямую ингибируют факторы коагуляции, что приводит к удлинению времени фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов. Протромбин был идентифицирован как первый кофактор, обеспечивающий эффект волчаночных АТ. АТ класса IgM к протромбину обнаруживают у 12%, IgG – у 14% больных СКВ. У пациентов с первичным АФС повышенный уровень АТ класса IgM к протромбину выявляют в 27%, IgG – в 18% случаев заболевания.

Наличие аутоАТ к протромбину является одной из основных причин тромбоза у пациентов с СКВ и АФС. Высокие уровни АТ к протромбину связаны с риском тромбоза глубоких вен бедра, эмболии легочной артерии. Кроме того, показано, что повышение концентрации АТ к протромбину является прогностическим фактором риска инфаркта миокарда.

## Антитела к тромбину

**NEW**

АТ к тромбину (IgG/IgM) – один и наиболее чувствительных тестов для диагностики АФС синдрома. Так, было показано, что в группе пациентов с IgG АТ к тромбину у 67% наблюдались тромбоэмболические осложнения, и этот показатель был выше, чем для других маркеров АФС. Для сравнения: у пациентов с АТ к  $\beta$ 2-ГП I тромбоэмболия отмечалась в 62% случаях, к ВА – 63%, к фосфатидилсерину – 64%. При диагностике АФС также оказалось, что чувствительность определения АТ к тромбину выше, чем у АТ к протромбину.

• См. главу «Апоптоз», стр. 432

•• См. главу «Мониторинг гемостаза», стр. 57

## Тесты для оценки иммунного воспаления

Мониторинг воспаления составляет одну из задач определений иммунологических тестов. При ревматических заболеваниях наиболее удобным является мониторинг продукции белков воспаления, которые синтезируются печенью в больших количествах и могут быть обнаружены в сыворотке крови. Концентрация некоторых белков в ходе ответа увеличивается более чем на 50%. Основными индукторами продукции факторов воспаления являются цитокины (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и т.д.).

## C-реактивный белок (СРБ)

СРБ – классический острофазовый белок плазмы крови, который рассматривается как наиболее чувствительный лабораторный маркер инфекции, воспаления и тканевого повреждения. Определение СРБ информативно в качестве скринингового теста, позволяющего выявлять острое воспаление. На сегодняшний день измерение СРБ можно рассматривать в качестве основного метода оценки активности иммунной системы. Иммунологическое обследование больного с ревматоидным заболеванием должно обязательно включать измерение концентрации СРБ в сыворотке крови и повторяться с регулярными интервалами времени для наблюдения за ходом заболевания. Период полувыведения СРБ составляет 19 часов и является постоянной величиной в норме и патологии. На фоне воспаления, инфекции или травматического повреждения уровень СРБ быстро возрастает в 100 и более раз. Граница уровня СРБ 100 мг/л позволяет дифференцировать инфекционный (выше) и аутоиммунный (ниже) характер воспалительного процесса. Наиболее значительное увеличение концентрации СРБ выявляется при бактериальных (100 мг/л и выше), системных грибковых и вирусных инфекциях (10-30 мг/л); туберкулезе; ревматических заболеваниях (РА, ювенильный хронический артрит, анкилозирующий спондилоартрит, псориатический артрит, системные васкулиты, ревматическая полимиалгия, болезнь Рейтера, болезнь Крона, ревматическая лихорадка, семейная средиземноморская лихорадка); некрозах (инфаркт миокарда, метастазы опухолей, острый панкреатит); травмах (хирургические вмешательства, ожоги, переломы); злокачественных новообразованиях (лимфома, карцинома, саркома).

Определение СОЭ может быть полезным для мониторинга течения РА, гигантоклеточного артериита и ревматической полимиалгии, однако увеличение СОЭ не всегда коррелирует с активностью процесса и не является основанием для изменения дозы глюкокортикостероидов в отсутствие динамики клини-

ческих проявлений. По сравнению с СОЭ увеличение количества СРБ в сыворотке крови значительно чаще свидетельствует об органической природе заболевания. Увеличение СОЭ может быть использовано для подтверждения клинически обоснованного диагноза, но не дает достаточных оснований для проведения диагностического поиска при отсутствии сложившейся клинической картины. Мониторинг СОЭ может служить мерой эффективности иммуносупрессивной терапии. Таким образом, данные исследований СРБ и СОЭ должны рассматриваться одновременно.

Мониторирование концентрации СРБ и СОЭ необходимо при РА. Они отражают активность воспалительного процесса и обычно характеризуют эффективность противовоспалительной терапии у этих больных. Больные, у которых дебют РА сопровождается высокой активностью воспалительного процесса, имеют худший прогноз в отношении деструкции суставов и нуждаются в активной терапии. При СКВ увеличенное СОЭ сопровождается низкими концентрациями СРБ. Увеличение концентрации СРБ у больного СКВ свидетельствует о наличии вторичного инфекционного процесса.

## sIL2R

sIL2R представляет собой растворимую форму клеточного рецептора к ИЛ-2, который экспрессируется в процессе активации на поверхности лимфоцитов. sIL2R – это прямой показатель вовлеченности механизмов клеточного иммунитета, отражающий активацию лимфоцитов. Значительное увеличение sIL2R в сыворотке отмечается у больных с СЗСТ, рассеянном склерозе, при инфекционных и вирусных заболеваниях, онкопатологии, у больных, подвергающихся гемодиализу. У больных СКВ уровни sIL2R сыворотки коррелируют с активностью заболевания и рядом лабораторных маркеров, в частности с высоким содержанием АТ к dsDNA, повышенным СОЭ и низким содержанием факторов комплемента. Измерение концентраций sIL2R в сыворотке отражает активность заболевания при ANCA-ассоциированных васкулитах. У ряда больных в стадии ремиссии сохраняются высокие уровни sIL2R, несмотря на нормализацию других показателей активности, в частности СРБ и ANCA. При РА содержание sIL2R достоверно выше нормальных значений как в сыворотке крови, так и в синовиальной жидкости, причем концентрация маркера зависит от активности и длительности заболевания. У больных с высоким содержанием sIL2R клинические показатели активности заболевания и его прогноз значительно хуже. У больных с РА sIL2R хорошо коррелирует с содержанием других маркеров острого воспаления, в частности с СРБ, СОЭ, IgG и С3. Уровень sIL2R не поз-

воляет установить точную природу воспалительного артрита, что позволяет отнести sIL2R к неспецифическим маркерам воспаления.

## Антигены системы HLA (Human Leukocyte Antigens)

**Методы определения.** Комплементзависимый лимфоцитотоксический тест (метод Терасаки); полимерная цепная реакция (ПЦР).<sup>•</sup>

**HLA-B27.** Экспрессия HLA-B27 тесно ассоциируется с анкилозирующим спондилитом (АС) и другими серонегативными спондилоартритами. Частота носительства HLA-B27 при АС составляет 90-95%; у больных псориазическим и реактивным артритом, спондилоартритом, неспецифическим язвенным колитом, болезнью Крона, синдромом Рейтера, ювенильным АС – 20-90%, в общей популяции – 6-8%. Несмотря на высокую диагностическую чувствительность (90%) и специфичность (92%) HLA-B27 у больных АС, его определение не рекомендуется в качестве скринингового теста, у 15-20% носителей

HLA-B27. Типирование HLA-B27 целесообразно при 50% вероятности наличия АС, особенно у больных с короткой продолжительностью болезни, атипичным суставным синдромом и отсутствием четких рентгенологических признаков поражения крестцово-подвздошных сочленений. Вероятность диагноза АС в этой группе больных при наличии HLA-B27 увеличивается до 90%, а при отсутствии – снижается до 10%. Тестирование HLA-B27 полезно для прогнозирования более тяжелого течения суставного синдрома у носителей данного генетического маркера.

**HLA-DRB1** Показано, что HLA-DR аллели, ассоциирующиеся с повышенным риском развития РА, имеют сходную аминокислотную последовательность, так называемый «shared epitope». Выявлена определенная связь между носительством HLA-DRB1\*0401, HLA-DRB1\*0404, HLA-DRB1\*0408 и тяжестью РА, гиперпродукцией РФ, выявлением АЦЦП.

Типирование аллеля HLA-DRB1\*0401, полезно для прогнозирования тяжелого течения РА с быстрым развитием эрозивных изменений в суставах.

28

• См. главу «HLA-типирование», стр. 533

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
416-5020	Orgentec	Антитела к тиреоглобулину, 96
416-5030	Orgentec	Антитела к тиреоидной пероксидазе, 96
4003	Medipan	Антитела к рецептору ТТГ, 96
3805	Medipan	Стимулирующие антитела к рецептору ТТГ, 96
416-5380	Orgentec	Антиядерные антитела скрининг (антигены: RNP-70, RNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70, центромера B, Jo-1), 96
416-5390	Orgentec	Антиядерные антитела профиль, 96
416-6000	Orgentec	Антиядерные антитела скрининг (ANA-Detect) (26 антигенов), 96
416-5060	Orgentec	Экстрагируемые ядерные антитела скрининг (антигены: SS-A, SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl-70, Jo-1), 96
416-5140	Orgentec	Экстрагируемые ядерные антитела профиль, 96
416-5110	Orgentec	Антитела к компоненту RNP/Sm, 96
416-5100	Orgentec	Антитела к компоненту Sm, 96
416-6320	Orgentec	Антитела к компоненту RNP-70, 96
416-5120	Orgentec	Антитела к компоненту Scl-70, 96
416-5080	Orgentec	Антитела к компоненту SS-A, 96
416-5090	Orgentec	Антитела к компоненту SS-B, 96
416-5130	Orgentec	Антитела к компоненту Jo-1, 96
416-6330	Orgentec	Анти-центромерные B антитела (anti Centromere B), 96
416-6040	Orgentec	Антитела к двуспиральной ДНК, IgG, 96
416-60405	Orgentec	Антитела к двуспиральной ДНК, скрининг, 96
430-1106	Immco	Антитела к нативной двуспиральной ДНК, метод IFA, 48
416-6050	Orgentec	Антитела к односпиральной ДНК, 96
416-5280	Orgentec	Антитела к нуклеосоме, 96

**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА**



Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
416-5070	Orgentec	Антитела к гистонам, 96
416-7100/8	Orgentec	ANA-9 иммуноблот (антиядерные антитела), 8 (9 антигенов)
416-7100/16	Orgentec	ANA-9 иммуноблот (антиядерные антитела), 16 (9 антигенов)
416-7110/8	Orgentec	Панель Nucleo-9 иммуноблот (ds-ДНК, нуклеосома и антиядерные антитела), 8
416-7110/16	Orgentec	Панель Nucleo-9 иммуноблот (ds-ДНК, нуклеосома и антиядерные антитела), 16
ORG 700	Orgentec	Easy, Блот-ридер для количественной обработки блотов Orgentec (на 4 блота)
430-1102	Immco	Антиядерные антитела Нер-2, метод IFA, 100
430-1107	Immco	Набор COMVI (ANA, AMA, ASMA, AGPA), метод IFA, 48
416-5900	Orgentec	Набор для определения активности ДНКазы, 96
416-6420	Orgentec	Анти-альфа фодрин, 96
416-5170	Orgentec	Антитела к компоненту Rib-P, 96
416-5180	Orgentec	Антитела к протеиназе 3 (PR3), 96
416-5890	Orgentec	ANCA скрининг (антигены PR3, MPO), 96
416-5300	Orgentec	ANCA combi (антигены: PR3, BPI, MPO, эластаза, катепсин G, лизоцим, лактоферрин), 96
416-7890/8	Orgentec	Панель ANCA-3 иммуноблот (PR3, MPO, GBM), 8
416-7890/16	Orgentec	Панель ANCA-3 иммуноблот (PR3, MPO, GBM), 16
430-1140	Immco	Антинейтрофильные цитоплазматические антитела, метод IFA, 48
416-5190	Orgentec	Антитела к миелопероксидазе, 96
416-5230	Orgentec	Антитела к BPI (бактерицидный белок, увеличивающий проницаемость), 96
416-5240	Orgentec	Антитела к эластазе, 96
416-5270	Orgentec	Антитела к лактоферрину, 96
416-5260	Orgentec	Антитела к лизоциму, 96
416-5250	Orgentec	Антитела к катепсину G, 96
416-5500	Orgentec	Антитела к базальной мембране клубочков (Anti GBM), 96
416-5210	Orgentec	Антитела к β2-гликопротеину I, IgG/IgM, 96
416-5210A	Orgentec	Антитела к β2-гликопротеину I, IgA, 96
416-5210S	Orgentec	Антитела к β2-гликопротеину I, скрининг (суммарные IgA, IgM, IgG), 96
416-6430	Orgentec	Антитела к аннексину V IgG/IgM, 96
416-5410S	Orgentec	Антитела к протромбину, скрининг, 96
416-5410	Orgentec	Антитела к протромбину, IgG/IgM, 96
416-5410A	Orgentec	Антитела к протромбину, IgA, 96
466-7223	BCM Diagnostics	Антитела к протромбину и фосфатидилсерину, IgG+IgM, 96
466-7226	BCM Diagnostics	Антитела к протромбину и фосфатидилсерину, IgG и/или IgM, 96
466-7227	BCM Diagnostics	Антитела к протромбину и фосфатидилсерину, IgA, 96
466-7225	BCM Diagnostics	Антитела к тромбину, скрининг (суммарные IgA, IgM, IgG) 96
466-7228	BCM Diagnostics	Антитела к тромбину, IgG и/или IgM, 96
466-7213	BCM Diagnostics	Антитела к тромбину, IgA, 96
416-5290	Orgentec	Анти-фосфолипид скрининг IgG/IgM (определение суммарного количества антител к кардиолипину, фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидиловой кислоте и β2-гликопротеину I), 96
416-5550	Orgentec	Набор ThromboCombo IgG/IgM (дифференциальное определение антител к бета-2-гликопротеину I, кардиолипину, фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу и фосфатидиловой кислоте), 96
416-5150S	Orgentec	Антитела к кардиолипину скрининг (суммарные IgA, IgM, IgG), 96
416-5150	Orgentec	Антитела к кардиолипину IgG/IgM, 96
416-5150A	Orgentec	Антитела к кардиолипину IgA, 96
416-5350	Orgentec	Антитела к фосфатидилсерину, IgG/IgM, 96
416-5360	Orgentec	Антитела к фосфатидилинозитолу, IgG/IgM, 96
416-5370	Orgentec	Антитела к фосфатидиловой кислоте, IgG/IgM, 96





## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
466-7209	BCM Diagnostics	Антитела к фосфатидилэтаноламину IgG/IgM, 96
466-7212	BCM Diagnostics	Антитела к фосфатидилхолину IgG/IgM, 96
466-7235	BCM Diagnostics	Антитела к ламинину IgG, 96
466-7214	BCM Diagnostics	Антитела к сфингомиелину IgG/IgM, 96
5450401	Technoclone	Ингибитор ADAMTS-13 (Антитела к ADAMTS-13), 96
5450451	Technoclone	Ингибитор ADAMTS-13 (Антитела к ADAMTS-13), 48
416-5160	Orgentec	Антитела к митохондриям (AMA-M2), 96
430-1168	Immco	Антитела к микросомам печени и почек (Anti LKM), 96
466-7704	BCM Diagnostics	Антитела к растворимому антигену печени/поджелудочной железы (SLA/LP), IgG, 96
466-7702	BCM Diagnostics	Антитела к цитоплазматическому антигену печени (LC-1), IgG, 96
416-7400/8	Orgentec	Гастро-5-лайн иммуноблот, 8 (внутренний фактор, париетальные клетки, трансглутаминаза, ASCA, глиадин)
416-7400/16	Orgentec	Гастро-5-лайн иммуноблот, 16
416-5310	Orgentec	Антитела к париетальным клеткам желудка, 96
416-6470	Orgentec	Антитела к внутреннему фактору (IF), 96
416-5450	Orgentec	ASCA, 96
EK-CAL	Buhlmann	Кальпротектин в кале, 96
HK318	HBT	Элафин/SKALP, 192 (псориаз, атопический дерматит)
HK321	HBT	LL-37, 192 (псориаз, атопический дерматит)
416-5400A	Orgentec	Антитела к тканевой трансглутаминазе, IgA, 96
416-5400G	Orgentec	Антитела к тканевой трансглутаминазе, IgG, 96
416-5400S	Orgentec	Антитела к тканевой трансглутаминазе, скрининг (IgG+IgA), 96
416-5340A	Orgentec	Антитела к глиадину, IgA, 96
416-5340G	Orgentec	Антитела к глиадину, IgG, 96
416-5340S	Orgentec	Антитела к глиадину, скрининг, 96
430-1114	Immco	Антитела к эндомизию, метод IFA, 48
430-1115	Immco	Антитела к ретикулину, 48, метод IFA
430-1104	Immco	Антитела к эпителию кожи (Anti-IC/BMZ), 48, метод IFA
416-5200	Orgentec	Антитела к инсулину, 96
414-6002	Biomerica	Антитела к клеткам островков Лангерганса, 96
414-8080	Biomerica	Антитела к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (GAD), 96
416-5220	Orgentec	Ревматоидный фактор (общий), 96
416-5220A	Orgentec	Ревматоидный фактор, IgA, 96
416-5220G	Orgentec	Ревматоидный фактор, IgG, 96
416-5220M	Orgentec	Ревматоидный фактор, IgM, 96
FCCP200	Axis-Shield	Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду, 96 (540 нм)
416-5480	Orgentec	Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (Anti-MCV), 96
430-1122	Immco	Антитела к кератину, метод IFA, 48
425-4020	Bioserv	Антиовариальные антитела, 96
425-2020	Bioserv	Антитела к <i>Zona Pellucida</i> , 96
425-1020	Bioserv	Антиспермальные антитела, 96
416-5490	Orgentec	Антитела к C1q компоненту комплекса, 96
EK-CIC	Buhlmann	Циркулирующие иммунные комплексы C1q, 96
CG59221	IBL	Циркулирующие иммунные комплексы C3d, 96
442-0032	Biomedica	Антитела к липопротеинам низкой плотности (oLAB), 96
EK-MAG	Buhlmann	Антитела к миелин-ассоциированному гликопротеину (Anti-MAG), 96
EK-GM1	Buhlmann	Антитела к ганглиозиду M1, 96
EK-GD1	Buhlmann	Антитела к ганглиозиду D1b, 96
EK-GQ1	Buhlmann	Антитела к ганглиозиду Q1b, 96

**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА**



Кат.№	Производитель	Наименование, количество/упаковка
EK-GCO	Buhlmann	GanglioCombi (антитела к ганглиозидам, профиль), 96
EK-SGPG	Buhlmann	Антитела к сульфатированному глюкуронил параглобозиду (Anti-SGPG), 96
EK-IFNB	Buhlmann	Анти-интерферон β BAV, 96
430-1185G	Immco	IgG – Антитела к галактоцереброзиду, 96
430-1185M	Immco	IgM – Антитела к галактоцереброзиду, 96
430-1101H	Immco	Анти-миокардиальные антитела, метод IFA, 48
430-1111	Immco	Антитела к нейрональным антигенам, метод IFA, 48
450404	Dynal	DRB1*04 SSP Unitray, 12 HLA-типирование, жидкий формат
55221D	Dynal	DRB1*04 SSP Allset, 20 HLA-типирование, лиофилизированный
149006	Dynal	Набор для скринингового определения локуса HLA-B27 (комплемент зависимый микроцитотоксический тест) HLA-B27 3 TEST TRAY 18 TESTS DY
55821D	Dynal	Набор для скринингового низкоразрешающего типирования HLA-B27 (ПЦР ДНК-типирование), лиофилизированный формат SSP ALLSET B27 48 TESTS 48 TESTS
470003D	Dynal	Набор для высокоразрешающего типирования HLA-B27 (ПЦР ДНК-типирование), жидкий формат B-27 SSP UNITRAY 12 TESTS
541160D	Dynal	Набор для высокоразрешающего типирования HLA-B27 (ПЦР ДНК-типирование), лиофилизированный формат READYSET HLA-B*27 SSP KIT 10 TESTS
ORG300	Orgentec	Автоматический иммуноферментный анализатор ALEGRIA (“закрытая система для диагностики аутоиммунных заболеваний)