

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

О. А. БОРИСОВА

НУЗ «Отделенческая больница на ст. Тула ОАО «РЖД», г. Тула

Ряд авторов в области физиологии и медицины обращают внимание на необходимость точной формулировки понятия физиологического стандарта. **Целью работы** является экспериментальное доказательство отсутствия стандартов в медицине на базе детерминистского и стохастического подходов. **Объект и методы.** Группа из 15-ти женщин многократно тестировалась по параметрам сердечно-сосудистой системы в режиме реализации 15-ти серий (по 15 выборок кардиоинтервалов в каждой серии). В итоге для каждого испытуемого было построено по 15 матриц парных сравнений выборок. **Результаты.** Во всех 225 матрицах парных сравнений выборок параметров кардиоинтервалов. Мы имеем крайне низкие значения доли стохастики в виде чисел k парных сравнений этих выборок, имеющих одну, общую генеральную совокупность. Обычно $k \leq 20\%$ от всех 105 пар в каждой такой матрице. Это означает, что выборки уникальны. **Выводы.** Если каждая выборка уникальна, то в любом стационарном (физиологически неизменном) состоянии организма мы не можем задавать стандарт в виде одной точки (конкретного значения $x_i(t)$ — параметра функции организма). Одновременно нельзя задавать стандарт в виде параметров статистических функций распределения $f(x)$, спектральных плотностей сигнала, автокорреляции и т.д. Нужно новое понимание стандарта, которое базируется не на детерминистских и стохастических методах, а на новых методах теории хаоса-самоорганизации.

Ключевые слова: иммунологическая диагностика, антитела, аутоиммунитет, воспаление.

Введение в проблему

В соответствии с современными представлениями ревматические заболевания (РЗ) относятся к иммуновоспалительным ревматическим заболеваниям (ИВРЗ), основную роль в развитии которых играют аутоиммунитет и аутовоспаление, связанные с генетически детерминированными и индуцированными факторами внешней среды, а также дефектами активации приобретённого и врождённого иммунного ответа.

Рекомендации по лабораторной диагностике ИВРЗ составлены с учётом оптимального применения лабораторных тестов для ранней диагностики, оценки активности, тяжести течения, прогноза болезни и эффективности лечения. Среди лабораторных биомаркеров для ИВРЗ наибольшее клиническое значение имеют аутоантитела и острофазовые показатели. Но большинство иммунологических лабораторных тестов имеют недостаточную специфичность.

Современная клиническая иммунология позволяет проводить достаточно эффективную лабораторную диагностику ИВРЗ. Применяемые методики дают возможность получить объективную информацию о характере иммунопатологических изменений, являясь важным инструментом для

диагностики, оценки активности, определения прогноза, выбора метода лечения болезни и мониторинга эффективности проводимой терапии. В настоящее время возможен оптимальный выбор и использование иммунологических методов. Центральное место в лабораторной диагностике ИВРЗ занимают серологические тесты на обнаружение циркулирующих органоспецифических аутоантител в сыворотке крови [1, 5, 6].

Роль аутоантител в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний

Аутоантитела представляют собой иммуноглобулины классов А, М, G специфически связывающиеся с антигенными эпитопами молекул человеческого организма.

Увеличение концентрации IgM отражает острый воспалительный процесс и защитную реакцию организма на инфекцию, IgG отражает развитие хронического воспалительного процесса, а IgA — реакцию на токсическое повреждение или аутоиммунную патологию.

Появление аутоантител является нормальным биологическим явлением. Роль и причина появления аутоантител в норме до конца не изучены. Предположительно причиной их образования яв-

ляется перекрестная реактивность иммуногенных эпитопов между антигенами инфекционных агентов и собственными молекулами организма.

Встречаемость ряда аутоантител возрастает в пожилом возрасте. Однако титры аутоантител при отсутствии патологии достаточно низкие и весьма нестойкие. Для дифференциации транзиторной индукции аутоантител от хронического их присутствия при каком-либо аутоиммунном заболевании очень важно провести повторное обследование. С учётом времени полужизни сывороточных иммуноглобулинов (около 3 месяцев) минимальное время до повторного определения должно превышать полгода.

Одним из характерных для иммуновоспалительной патологии признаков является повышение в сыворотке крови уровня Ig (определяется методом радиальной иммунодиффузии, однако более предпочтительна лазерная нефелометрия).

Увеличение концентрации одновременно всех классов иммуноглобулинов говорит о процессах поликлональной активации В-лимфоцитов и отражает активность воспалительного процесса при ИВРЗ. Возрастание преимущественно уровня IgA зачастую характерно для геморрагического васкулита, при поражениях печени, IgA-нефропатии, глютенной энтеропатии, реже — при реактивном артрите, хронических гнойных заболеваниях лёгких, СПИД. Повышение же уровня IgA у пациентов с анкилозирующим спондилитом выступает предиктором развития специфической нефропатии. Увеличение концентрации IgM характерно для первичного билиарного цирроза, острой ревматической лихорадки (ОРЛ), а резкое повышение его содержания может явиться проявлением моноклональной гаммапатии.

Определенное значение имеет также снижение уровня Ig (при болезни Шегрена чаще всего указывает на присоединение злокачественного лимфопролиферативного заболевания). При наследственном дефиците IgA повышена частота иммунопатологических заболеваний.

Возможность использования какой-либо разновидности аутоантител в диагностике показателя определяется частотой их встречаемости при аутоиммунном заболевании (должна составлять более 60–70% при патологии, менее 1% в норме и при других заболеваниях). Положительные результаты определения аутоантител входят в число диагностических критериев ИВРЗ, играют важную роль в диагностике в ранней стадии и в дебюте заболевания (в ряде случаев могут являться предикторами развития при отсутствии симптоматики), используются для оценки активности и прогноза заболевания, а также позволяют идентифицировать отдельные клинические субтипы.

Высокоспецифичными серологическими маркерами называют разновидности аутоантител, которые встречаются исключительно при этом заболевании. Аутоантитела могут одновременно быть высокоспецифичными маркерами для нескольких групп заболеваний. Ряд аутоантител, характерных для аутоиммунных заболеваний, может встречаться у здоровых лиц, что ограничивает их диагностическое использование, хотя появление высоких титров специфических аутоантител у таких людей может рассматриваться в качестве фактора риска развития аутоиммунного заболевания. Аутоантитела в сыворотке крови могут обнаруживаться за несколько месяцев до возникновения клинических проявлений заболевания.

При определении в сыворотке специфического набора антител наблюдается особенное течение заболевания, отличное от симптоматики больных, не имеющих аналогичных титров. Динамика этого титра в ходе заболевания так же имеет прогностическое значение.

Таким образом, исследование содержания аутоантител и их спектра указывают на особенности функционирования иммунной системы и отражают ее особую предрасположенность к формированию аутоиммунного ответа [1, 5, 10].

Антинуклеарные антитела.

Антинуклеарные антитела (АНА) представляют собой семейство аутоантител, связывающихся с нуклеиновыми кислотами и ассоциированными с ними белками. Они встречаются более чем у 90% больных с ИВРЗ, но могут быть обнаружены при инфекционных, воспалительных и онкологических заболеваниях. Встречаемость АНА достигает 1–5% у клинически здоровых людей и несколько возрастает у пожилых.

Разнообразие типов АНА позволяет использовать для уточнения прогноза, особенностей течения и предупреждения обострения заболевания. Общее содержание АНА в сыворотке измеряется лабораторным показателем — антинуклеарным фактором (АНФ), характеризующегося высокой чувствительностью.

Традиционно термином АНФ обозначают результат иммунофлюоресцентного теста для обнаружения АНА. Результатом определения АНФ является факт наличия аутоантител в диагностическом титре и тип свечения ядра клетки. Сохранение высокого уровня антител в течение длительного времени является неблагоприятным признаком, а снижение уровня отражает ремиссию или (в более редких случаях) прогнозирует вероятный летальный исход.

Кроме системных заболеваний соединительной ткани, АНА в крови выявляются при хроническом активном гепатите (30–50%), при дискоидной красной волчанке (50%). Также АНФ встречается при тромбоцитопениях, гемолитической анемии, миело- и лимфо-пролиферативных заболеваниях, миастении и тимоме. Почти в 10% случаев данный показатель выявляется у здоровых людей, но в титре, не превышающем 1:50.

Использование клеток линии HEp-2 позволяет охарактеризовать более 20 различных вариантов окрашивания ядра, которые зависят от спектра АНА. Для практической лаборатории достаточно различать 6 основных вариантов: гомогенный, периферический, гранулярный (мелко-/крупно-), ядрышковый, центромерный и цитоплазматический типы свечения ядра. Каждому типу свечения присущи характерные признаки, а также набор антигенов, с которыми реагируют аутоантитела в сыворотке больного.

При **гомогенном типе** свечения аутоантитела реагируют с антигенами, которые распределены в ядре диффузно (входят в состав хроматина). Данный тип свечения предполагает наличие антител против нуклеосом, дсДНК и антител к гистонам. Он встречается у больных с СКВ, лекарственной волчанкой, ССД.

Периферический тип (разновидность гомогенного) — артефакт фиксации клеток, что приводит к перераспределению хроматина на периферию ядра. Необходимо отличать периферический тип свечения от окрашивания ядерной мембраны при

аутоиммунных заболеваниях печени. Периферический тип свечения обнаруживается при наличии антител к дсДНК преимущественно у больных с СКВ.

Гранулярный (крапчатый, сетчатый) тип — наиболее часто встречающийся и наиболее неспецифический. Аутоантитела реагируют с гранулами в ядре, представляющими надмолекулярные нуклеопротеиновые комплексы. К основным аутоантигенам при данном типе относятся: Sm, U1-RNP, SS-A, SS-B, RANA. Гранулярный тип свечения ядра отмечается у больных при СКВ, СШ, СС, ДМ/ПМ, РА. Низкие титры АНФ с гранулярным типом преобладают у клинически здоровых лиц с АНФ без признаков системного заболевания.

Антигены ядрышка могут выступать в качестве мишеней АНА, что приводит к обнаружению **ядрышкового типа** флюоресценции, который определяется у больных при наличии антител к компонентам ядрышка, таким как РНК-полимераза I, NOR, U3-RNP, PM/ScI. Данный тип характерен для пациентов с ССД.

Центромерный тип флюоресценции отмечается при появлении антител к центромерам хромосом и обнаруживается только в делящихся клетках. Характерен при CREST-варианте ССД.

Цитоплазматический тип свечения указывает на антитела к тРНК-синтетазам, в частности Jo-1, которые отмечаются при ПМ, аутоиммунном гепатите, первичном билиарном циррозе.

ДИАГНОЗ	АНА-НПО	аНДНК	аSm	аU ₁ RNP	аSSA/SSB	аScl-70	аJo-1	аriboRNP	АНА-НПО	МРО-АНА	PR3-АНА	аКП	аβ ₂ -ГП	IgM RF	АЦП
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	

Алгоритм лабораторной диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний [1, 5, 9, 11]

Может встречаться сочетание нескольких типов свечения, например мелкогранулярного и ядрышкового, что характерно для антител к Scl-70. Если в низких разведениях преобладает один тип свечения, а при дальнейших разведениях выявляется другой, то это говорит о наличии в сыворотке различных видов АНА.

Несмотря на то, что тип свечения может указывать на тот или иной диагноз, необходимо помнить о низкой его специфичности, что требует дальнейшего лабораторного обследования.

Серологическая диагностика Ревматоидного артрита.

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным поражением внутренних органов. РА — одно из наиболее частых ИВРЗ, сопровождающееся поликлональной активацией В-клеток с гипергаммаглобулинемией и синтезом широкого спектра аутоантител. При РА может быть обнаружено до 50 различных видов аутоантител.

В качестве специфических серологических маркеров при РА как правило определяют ревматоидный фактор (РФ) и антитела к цитруллинированным антигенам (АЦА). Существует также аутоантитела, обнаружение которых по ряду причин не получило широкого распространения в лабораторной практике: антитела к RA33 (анти-hnRNP-A2) — одна из разно-

видностей АНА, иммуноглобулины к белку (анти-BiP), кальпастатину и α -энолазе. Только антитела к RA-33 высокоспецифичны для РА и, несмотря на их низкую встречаемость, (около 30%), они обычно рассматриваются в числе антител, характерных для РА.

РФ — аутоантитела, представленные иммуноглобулинами всех классов, реагирующие с Fc-фрагментом человеческого или животного Ig G. До 90% случаев они относятся к IgM, но встречаются и IgG-, IgA-, IgE-АТ. Однако РФ не является специфичным для РА, он также обнаруживается при СШ, ССД, ДМ, гиперглобулинемиях, В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях. Наличие РФ в сыворотке крови может оказывать негативное влияние на результаты других серологических реакций. Его диагностическая чувствительность — 50–90%, специфичность — 80–93%, предсказательная ценность положительных результатов (ПЦПР) — 24–84%, предсказательная ценность отрицательных результатов (ПЦОР) — 75,2–89%.

Несмотря на низкую специфичность, наличие РФ считается важным прогностическим признаком. Серопозитивный по РФ РА характеризуется более тяжелым поражением суставов и чаще сопровождается внесуставными проявлениями, более ранним развитием суставных деструкции и инвалидизацией пациента. Ревматоидные узелки и другие проявления васкулита отмечаются исключительно у серопозитивных пациентов.

Маркер	Чувствительность, %	Специфичность, %	Метод определения	Норма
РФ (IgM)	50–90	80–93	Латекс-тест Тест Ваалера—Розе Нефелометрия ИФА	1:40 Отсутствие агглютинации 0–15 МЕ/мл 0–20 МЕ/мл
Антитела к цитруллинированным белкам				
Антиперинуклеарный фактор*	40–91	92–99	НРИФ	<1:80
Антикератиновые антитела*	48,6	95–97	»	<1:10 (Immco Diagnostics)
Антифилаггриновые антитела*	50–67,1	68–98	Иммуноблоттинг ИФА	abs Стандартизованный метод отсутствует
Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду*	49–91	73–99	ИФА	0–5 Ед/мл (Axis-Shield, Euroimmun) 0–6,25 Ед/мл (Genesis) 0–20 Ед/мл (Inova) 0–25 Ед/мл (Euro-Diagnostica)
Антитела к цитруллинированному виментину*	20–75	95	»	0–20 Ед/мл (Orgentec)
Антитела к цитруллинированному фибриногену*	59–80	95–99	»	Стандартизованный метод отсутствует
Другие аутоантитела				
Антитела к RA33	30	90	НРИФ Иммуноблоттинг	abs
Антитела к BiP	60	96 (?)	ИФА	Стандартизованный метод отсутствует
Антитела к калпастатину	31,1–57	63–71	»	То же
Антитела к α -энолазе	24,8	97,2	Иммуноблоттинг	abs

Аутоантитела, выявляемые при РА

У некоторых пациентов с серонегативным РА с помощью специальных методических приемов можно обнаружить так называемый «скрытый» РФ в составе ЦИК. Но выявляемый таким образом РФ как правило содержится в низких титрах, а его диагностическая ценность сомнительна (как и клиническое значение РФ, относящегося к IgA, G и E).

РФ, обычно отсутствует при болезни Бехтерева, псориатическом артрите, реактивном артрите и других заболеваниях, характеризующихся наличием антигена HLA-B27, при остром бактериальном и микрокристаллических артритах, что оказывает влияние на дифференциальную диагностику вышеназванных заболеваний.

Семейство АЦА включает в себя антиперинуклеарный фактор (АПФ), антикератиновые антитела (АКА), антифилаггриновые антитела (АФА), антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), антитела к Sa-антигену/цитруллинированному виментину (АМЦВ) и антитела к цитруллинированному фибриногену (АЦФ). АТ против цитруллинированных белков высоко специфичны для диагностики РА.

АЦЦП считается наиболее диагностически эффективным маркером РА. С недавнего времени в лабораторную практику начали входить наборы для ИФА, использующие антиген третьего поколения — АЦЦП-3 и его модификацию АЦЦП-3.1, позволяющую определять одновременно антитела изотипов IgA и Ig G. Согласно данным зарубежных авторов, АЦЦП-3и АЦЦП-3.1, хотя и обладают высокой диагностической эффективностью, демонстрируют чувствительность, сравнимую с АЦЦП-2, при этом уступая последним в специфичности.

Встречаемость АЦА уже на этапе недифференцированного артрита достигает 40–50% и практически не меняется с течением времени.

Длительное время комбинация АЦЦП+РФ была оптимальным сочетанием в диагностике РА. С появлением антител к модифицированному цитруллинированному виментину (анти-MCV) ситуация изменилась.

Виментин — широко распространенный в организме цитруллинированный белок, который синтезируется и модифицируется макрофагами под регуляцией провоспалительных и воспалительных цитокинов, встречается в синовиальной ткани пациентов с РА. Изоферменты PAD2 и PAD4 цитруллинируют синовиальные белки, включая виментин. Цитруллинированные циклические пептиды активируют Т-лимфоциты и связываются с HLA-DR4 на поверхности антиген — представляющих клеток. Цитруллинирование виментина ферментом PAD приводит к изменению структуры белка и росту возможных эпитопов — мишеней аутоантител,

связанных с РА. Около половины РФ-негативных пациентов выявляются с помощью анти-MCV. Комбинация анти-MCV с РФ увеличивает чувствительность почти до 100%. Часто анти-MCV выявляются за несколько лет до появления первых клинических признаков РА.

Только у 30% больных РА может быть обнаружен АНФ, что не позволяет использовать АНФ как серологический маркер в данном случае.

Затрагивая принадлежность к системе HLA (Human Leukocyte Antigens), необходимо отметить, что больные РА часто бывают носителями антигена HLA-DR4 и HLA-Dw4 [3,5,6,9,11].

Ювенильный ревматоидный артрит.

Ювенильный артрит (ЮА) — артрит неясной этиологии, длительностью более 6 недель, развивающийся у детей в возрасте младше 16 лет при исключении другой патологии суставов.

Наиболее вероятно, фактор некроза опухоли (ФНО), ИЛ-17 и другие провоспалительные цитокины являются основными факторами трансформации острого иммунного воспаления (свойственного ранней стадии РА) в хроническое с развитием паннуса и необратимым разрушением суставных структур. Кроме того, ИЛ 17 стимулирует выработку RANKL (лиганд семейства ФНО), который способен активировать остеокласты и усиливать костную резорбцию. Нарушение процессов остеогенеза различного происхождения сочетается с выраженными изменениями продукции таких цитокинов, как ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17, ФНО.

Основным маркером ЮРА являются РФ и АНФ. Для ЮА с системным началом характерно повышение концентрации СРБ, IgM и IgG в сыворотке крови.

Серопозитивная по РФ полиартритическая форма ЮРА наиболее близко напоминает РА взрослых, диагностические титры АНФ при ней отмечаются у 25% больных. При олигоартикулярном варианте ювенильного РА, особенно при раннем начале заболевания, АНФ встречается гораздо чаще, и его встречаемость достигает 70–80%. Кроме того, при серопозитивной форме повышена сывороточная концентрация IgM, IgG, СРБ, характерно наличие HLA DR4.

При пауциартикулярном юношеском артрите у 80% больных выявляется положительный АНФ в сыворотке крови, РФ — отрицательный, высока частота обнаружения HLA A2.

Выявление АНФ может быть использовано при дифференциальной диагностике гематогенного остеомиелита и олигоартикулярной формы ЮРА. Наряду с АНФ и РФ при подозрении на ЮРА должны определяться иммуноглобулины сыворотки, так как гипергаммаглобулинемия является независимым маркером ЮРА.

Существует несколько исследований, посвященных определению АЦЦП при ЮРА, результаты которых неоднозначны.

Псориатическая форма ЮРА подразумевает проведение типирования HLA-B27, при котором отрицательный результат с большой вероятностью позволяет исключить заболевание. При обследовании пациентов с псориатической формой ЮРА немаловажно проследить наследование HLA-B27 антигена по линии родителей и наличие у них заболеваний группы серонегативных спондилоартропатий.

Среди экстрагируемых ядерных антигенов наиболее часто отмечается SSA антиген (20–30%). Иммуноблот антинуклеарных антител, который применяется для определения специфичности антинуклеарных антител, целесообразно использовать только в случае необходимости дифференциального диагноза ЮРА с системными заболеваниями соединительной ткани [1, 5, 6, 9, 11].

Спондилоартриты.

Спондилоартропатии — группа заболеваний, для которых характерно частое вовлечение в воспалительный процесс крестцово-подвздошных сочленений (КПС), позвоночника, наличие периферического моно- или олигоартрита, частое развитие энтезита, серонегативность по ревматоидному фактору, семейные случаи заболевания.

Экспрессия HLA-B27 тесно ассоциирована с анкилозирующим спондилитом (АС) и другими серонегативными спондилоартритами. Выявление HLA-B27 при АС составляет 95%, при синдроме Рейтера — 80%, а при недифференцированных спондилоартропатиях — 70%. При артритах на фоне воспалительных заболеваний кишечника, псориатическом артрите и реактивном артрите встречаемость HLA-B27 не более 30%. В европейской популяции его встречаемость в норме в популяции около 10%.

Большинство спондилоартропатий возникают на фоне воспалительного поражения слизистой и кожных покровов. В основе иммунопатогенеза всех состояний лежит нарушение иммунологической толерантности при презентации антигенов, опосредованной HLA-B27. Присутствие генетической предрасположенности к заболеванию приводит к возникновению аутоиммунного артрита.

Несмотря на высокую диагностическую чувствительность (90%) и специфичность (92%) HLA-B27 у больных АС, его определение не рекомендуют использовать в качестве скринингового теста для диагностики АС в популяции, так как рентгенологические и клинические признаки сакроилита развиваются 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 чётких 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 тяжёлого течения суставного синдрома у носителей данного генетического маркера [1,5,6,7].

Иммунологическая диагностика Системной красной волчанки.

Системная красная волчанка (СКВ) — хроническое аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся системным иммуновоспалительным поражением жизненно важных органов и большим разнообразием клинических проявлений. Полиморфная клиническая картина, отсутствие абсолютно патогномоничных морфологических и инструментальных критериев предполагает иммунологическое обследование как основной метод подтверждения диагноза СКВ.

При использовании клеточной линии HEp-2, АНФ выявляет АНА (>1:160) более чем у 98% пациентов с СКВ. Отсутствие значимых титров АНФ у отдельных больных, имеющих типичные клинические проявления СКВ, определяет условную группу пациентов с «АНФ-негативной СКВ». Одной из основных разновидностей АНА, которые у них отмечаются, являются антитела к SS-A антигенам. Серонегативными остаются до 5% таких пациентов. Для устранения данных недостатков была создана трансгенная клеточная линия HEp-2000, в генотип которой был искусственно внесен ген SS-A антигена. Однако даже это не позволяет окончательно избавиться от проблемы «АНФ-негативной СКВ»: около 2–3% пациентов с клинически очевидной СКВ не имеют диагностических концентраций АНФ. Люди с врожденной недостаточностью факторов комплемента (C2 и C4) могут страдать кожным волчаночноподобным заболеванием с выраженной фоточувствительностью. При лабораторном обследовании в большинстве случаев у них отсутствуют значимые титры АНФ и антитела к dsДНК, хотя в ряде случаев у них могут быть обнаружены антитела к Ro/SS-A. Для сокращения этой категории пациентов используется комплексное тестирование.

Ложноотрицательные результаты АНФ могут быть получены в присутствии АНА к антигенам цитоплазмы — рибосомальным антигенам и антисинтетазным антигенам (Jo-1), а также в случае присутствия антител к фосфолипидам.

Виды аутоантител	Частота, %
Антинуклеарный фактор	90–95
Антитела к ДНК:	
активная стадия	80–98
неактивная стадия	30–70
Антитела к экстрагированным антигенам ядра (ENA-тест):	40–60
Sm-антитела	25–30
PNP-антитела	12–32
Антитела к ядерным антигенам:	
SS-A (Ro)	25–35
SS-B (La)	10–15

Частота выявления аутоантител при СКВ

Встречаемость конкретных типов свечения зависит от обследуемых контингентов пациентов.

Гомогенный тип свечения обусловлен присутствием антител к дсДНК и характеризуется более агрессивным течением и большей вероятностью поражения почек, центральной нервной системы и развитием кожного васкулита. Наряду с антителами к дсДНК при гомогенном типе свечения отмечаются антитела к нуклеосомам и антиэндотелиальные антитела, также участвующие в патогенезе волчаночного нефрита.

Выделяют две основные разновидности гранулярного типа свечения у больных СКВ. Крупно-гранулярный тип свечения отмечается у пациентов с антителами к компонентам сплайсосома Sm и RNP (характеризуется тяжелым течением заболевания с большой вероятностью поражения центральной нервной системы, цитопениями, выраженным синдромом Рейно). Мелкогранулярный тип свечения обусловлен присутствием антител к SS-A и SS-B антигенам (характеризуют преимущественно кожные формы заболевания с выраженной фоточувствительностью).

Для оценки активности заболевания используются титры АНФ, антител к дсДНК, антител к нуклеосомам, антиэндотелиальных антител, содержание сывороточных иммуноглобулинов и гаммаглобулинемия, содержание компонентов системы комплемента, изменение уровней ЦИК и СОЭ. В отличие от других заболеваний концентрация СРБ при СКВ обычно в пределах нормы, её увеличение указывает на присоединение инфекционного процесса и требует активного поиска очагов скрытой инфекции.

Заболевания	Частота, %
СКВ	50–55
СКВ с активным заболеванием почек	89
СКВ с активными непочечными проявлениями	56
Неактивная СКВ	32
Ревматоидный артрит	0
Системная склеродермия	0

Частота выявления anti-dsDNA в сыворотке при различных формах СКВ

Антитела к двухспиральной ДНК (anti-dsDNA) высокоспецифичны для СКВ. Для их выявления используются методы НИФ и ИФА. Существует значимая корреляция между активностью СКВ и уровнем антител к dsDNA в сыворотке крови. Антитела могут исчезать при ремиссии заболевания. Титры АТ к dsDNA тесно коррелируют с концентрацией IgG-содержащих ЦИК в сыворотке крови больных СКВ. Имеется прямая корреляция между нарастанием титра АТ к dsDNA, выраженностью гипоккомплементемии и тяжестью волчаночного нефрита.

Антитела к односпиральной ДНК (anti-ssDNA) выявляются как при ИВРЗ, так и при других соматических заболеваниях. Однако наибольшая частота выявления повышенного уровня этих антител наблюдается при СКВ и склеродермии, особенно при ее активных и злокачественных формах.

Антитела к экстрагированным ядерным антигенам (ENA-тест), представляющим собой комплексы растворимых рибонуклеопротеинов, — важный диагностический признак для мониторинга и диагностики различных ИВРЗ. Антитела к антигенам Sm специфичны для СКВ и присутствуют у 30–40% больных (реже у лиц европеоидной расы и до 30% пациентов негроидной расы). При других заболеваниях соединительной ткани их присутствие указывает на сочетание заболеваний. Концентрация анти-Sm АТ не изменяется при терапии СКВ, поэтому их мониторинг не проводится. Крайне редко АТ к компоненту Sm обнаруживаются изолированно и обычно выявляются в комбинации с АТ к Sm/RNP-комплексу. Клинически присутствие Sm-АТ вместе с высоким содержанием анти-дсДНК, проявляется более агрессивным течением заболевания, поражением ЦНС, волчаночными психозами и относительной сохранностью функции почек. Анти-Sm направлены против семи белков, которые образуют ядро: U1, U2, U4 и U5 малых ядерных RNP-частиц. Анти-Sm могут синтезироваться в результате молекулярной мимикрии с вирусом Эпштейна-Барр.

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

Частота выявления антител к различным экстрагируемым ядерным антигенам

Другие антитела, направленные против RNP, SS-A(Ro) и SS-B(La), не специфичны для какого-то определенного заболевания.

Анти-SS-A и анти-SS-B направлены против белков Ro с массой 52 и 60 кДа, La или против одного из пептидов РНК. Анти-Ro встречаются у некоторых пациентов с СКВ, с перекрёстным синдромом, первичным билиарным циррозом и у 15–20% пациентов с ПМ\ДМ. При СКВ они ассоциированы с неэрозивной артропатией (синдромом Жакку) и поздним проявлением заболевания (старше 50 лет). Анти-La наиболее часто обнаруживают при СШ, при СКВ они обычно встречаются с анти-Ro и вместе служат маркером низкого риска развития заболеваний почек.

Антитела против RNP встречаются у 35–45% больных СКВ и более чем у 95% больных смешанным заболеванием соединительной ткани. Изредка их обнаруживают при ССД, РА и волчанке, вызванной лекарственными препаратами. Пациенты, у которых выявлены анти-RNP, менее подвержены почечным осложнениям по сравнению с больными, у которых обнаружены анти-Sm антитела. Пациенты, у которых выявляют только анти-RNP-70 из всего разнообразия АНА, 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 [1,6,8,9].

Диагностика системной склеродермии.

Системная склеродермия (ССД) — аутоиммунное заболевание соединительной ткани с характерным поражением кожи, сосудов, опорно-двигательного аппарата и внутренних органов, в основе которого лежат нарушения микроциркуляции, воспаление и генерализованный фиброз.

АНФ выявляется у 95% больных ССД, обычно в умеренном титре. Важное значение имеет определение склеродермаспецифических аутоантител.

АТ Scl-70, или АТ к топоизомеразе-1 редко обнаруживаются в норме и являются достаточно специфичными для ССД (40%). Могут встречаться у пациентов с локализованной формой СД, эозинофильным миалгическим синдромом и реакцией «трансплантат против хозяина». Чаше выявляются при диффузной, чем при лимитированной форме. Присутствие АТ в сочетании с носительством HLA-DR3/DRw52 в 17 раз увеличивает риск развития лёгочного фиброза при ССД. Титр АТ

коррелирует с распространённостью поражения кожи и активностью болезни. Обнаружение АТ Scl-70 у пациентов с изолированным феноменом Рейно ассоциируется с последующим развитием клиники ССД.

Антицентромерные АТ (АЦА) обнаруживаются у 20% больных ССД в основном при лимитированной форме, а также у 12% больных первичным билиарным циррозом (половина из которых имеет признаки ССД), очень редко при хроническом активном гепатите и первичной лёгочной гипертензии. АЦА рассматриваются как маркёр развития ССД при изолированном феномене Рейно.

АТ к РНК-полимеразе III выявляются у 20–25% больных, преимущественно с диффузной формой и поражением почек, ассоциируются с неблагоприятным прогнозом.

Помимо перечисленных аутоантител, при ССД с меньшей частотой выявляются другие антинуклеолярные АТ, в том числе:

- АТ к Pm-Scl выявляются приблизительно у 3–5% больных ССД в сочетании с полимиозитом (ССД-полимиозит перекрёстный синдром);
- АТ к U3-РНП выявляются у 7% больных и ассоциируются с диффузной формой болезни, первичной лёгочной гипертензией, поражением скелетных мышц и ранним дебютом болезни;
- АТ к U1-РНП выявляются в среднем у 6% больных ССД, ассоциируются с ССД-СКВ перекрёстным синдромом, артритом, изолированной лёгочной гипертензией и ранним дебютом болезни.

РФ обнаруживается у 45% больных, главным образом при сочетании с синдромом Шёгрена [5,6,9,11,12].

Диагностика Антифосфолипидного синдрома.

Антифосфолипидный синдром (АФС) — симптомокомплекс, характеризующийся венозными и/или артериальными тромбозами, акушерской патологией (невынашивание в I и II триместрах беременности, преждевременные роды), реже — тромбоцитопенией, а также другими проявлениями, связанный с гиперпродукцией антифосфолипидных АТ.

Серодиагностика АФС достаточно сложна. Согласно международным предварительным критериям АФС (Sapporo, 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.

Антитела к фосфолипидам — частая находка у больных СКВ (около 50% пациентов в стадии обострения). АТ к КЛ — основная фракция АТ к фосфолипидам, являющаяся одним из наиболее ценных и стандартизированных тестов для диагностики АФС. Высокие титры АКЛА сопровождаются повышенной частотой тромботических осложнений, значительным риском неврологических проявлений заболевания, синдрома Рейно, сетчатого ливедо. У больных СКВ, имеющих ВА и АКЛ, наблюдается большая частота выкидышей, венозных и артериальных тромбозов, тромбоцитопении и анемии, легочной гипертензии и эндокардита Либмана-Сакса, сетчатого ливедо с и без кожных изъязвлений. Титры АТ к КЛ обычно максимальны непосредственно перед развитием тромбоза и несколько снижаются сразу после его возникновения.

АТ к КЛ часто отмечают у клинически здоровых лиц, а также появляются при многих инфекционных и неинфекционных заболеваниях. Среди наиболее частых индукторов АТ к КЛ — 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 низкие титры АТ к КЛ класса IgM, которые плавно снижаются после выздоровления. Присутствие АТ к КЛ отмечается у пациентов с неврологической патологией. Онкологические заболевания, хронические интоксикации, в том числе алкоголизм, индуцируют АФЛА, что обуславливает сложность интерпретации.

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

Несмотря на относительно высокую специфичность, применение для постановки диагноза АФС только двух критериев (АТ к КЛ и ВА) недостаточно. 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).

В последние годы обсуждается возможность существования, так называемого АФЛА-негативного варианта АФС, при котором имеются клинические проявления патологии, но отсутствуют классические серологические маркеры — ВА и АТ к КЛ. В сыворотках некоторых таких больных обнаруживаются только АТ к $\beta 2$ -ГП I.

Связанные с фосфолипидами клеточных мембран белки плазмы — протромбин, $\beta 2$ -ГП I, аннексин V, высокомолекулярный кининоген, протеины С 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.

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. Выявление АТ к $\beta 2$ -ГП I следует рассматривать в качестве лабораторного метода, дополняющего выявление АКЛ.

Аннексин V, также известный как плацентарный антикоагулянтный протеин (РАР 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. 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.

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 иден-

тифицирован как первый кофактор, обеспечивающий эффект волчаночных АТ. 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.

АТ к тромбину (IgG/IgM) — один и наиболее чувствительных тестов для диагностики АФС синдрома. Чувствительность определения АТ к тромбину выше, чем у АТ к протромбину [1, 5, 6, 8, 9].

Диагностика системных васкулитов.

Системные васкулиты (СВ) — гетерогенная группа заболеваний, основным морфологическим признаком которых является воспаление сосудистой стенки, клинические проявления зависят от типа, калибра, локализации пораженных сосудов и активности системного воспаления.

В основе патогенеза СВ крупных сосудов, к которым относятся аортоартериит Такаясу и височный артериит, а также ревматическая полимиалгия, лежит поражение сосудистой стенки. Синтез эндотелием провоспалительных цитокинов (TNF- α и IL-6) приводит к формированию выраженного острофазного ответа, в связи с чем диагноз ревматической полимиалгии и гигантоклеточного артериита ставится на основании значительно увеличенных СОЭ (до 100 мм/час) и СРБ (более 40 мг/мл).

Васкулиты сосудов среднего калибра имеют инфекционный генез и не сопровождаются продукцией специфических аутоантител.

Васкулиты мелких сосудов по своему патогенезу подразделяются на гранулематозные или АНЦА-ассоциированные и иммунокомплексные, что обуславливает использование различных подходов к их диагностике.

Узелковый полиартериит является редкой формой СВ. Он развивается в течение 1 года после перенесенного вирусного гепатита В. Несмотря на то, что морфологически он проявляется гранулематозным воспалением, АНЦА и другие специфические серологические маркеры при классическом узелковом полиартериите отсутствуют. Его обострение сопровождается гипокомплементемией, а также увеличением концентраций острофазных белков. В сыворотке крови пациентов обычно обнаруживаются НВsAg и НВeAg.

Болезнь Кавасаки поражает преимущественно детей до 10 лет. В данном случае достаточно часто определяются антиэндотелиальные антитела, коррелирующие с активностью процесса.

Гранулематозные васкулиты — группа заболеваний, морфологически обусловленной образованием тканевых гранул, ассоциированных с мелкими сосудами, а также поражением клубочка в виде некротизирующего олигоиммунного гломерулонефрита с полулуниями. Основное значение имеет определение в сыворотке крови АНЦА методом непрямой иммунофлуоресценции или с помощью иммуноферментного анализа с определением специфичности к протеиназе-3 (PR-3) или миелопероксидазе (МРО). Значение АНЦА в их патогенезе позволяет объединить их в группу АНЦА-ассоциированных васкулитов.

В 90% случаев в сыворотке крови, содержащей ц-АНЦА, целевым АГ является PR-3. Цитоплазматический тип свечения АНЦА, обусловленный антителами к PR-3, является чувствительным и специфичным маркером Гранулематоза Вегенера (ГВ), проявляющегося триадой с гранулематозным поражением носоглотки, дыхательных путей, легких и почек. Высокие титры антител к PR-3/цАНЦА встречаются у 95% больных с развернутой картиной активного ГВ, больных с ГВ с поражением почек, в то время как локализованные формы ГВ, поражающие верхние дыхательные пути, реже сопровождаются аутоантителами (50–60%). Титры цАНЦА при ГВ являются клинически значимыми и коррелируют с активностью заболевания. Несмотря на высокую специфичность выявления АНЦА при ГВ, цАНЦА могут встречаться при паранеопластическом и лекарственном васкулитах.

Преобладающей формой васкулитов у больных с пАНЦА/анти-МРО является микроскопический полиангиит (МПА). Специфичность АТ к МРО при МПА — 60%. По гистологической картине МПА сходен с узелковым полиартериитом, но не сопровождается развитием гранул и поражает сосуды мелкого калибра. Приблизительно у трети больных с антителами к МРО отмечается изолированный олигоиммунный гломерулонефрит с полулуниями, который не сопровождается внепочечными проявлениями. Титр пАНЦА/анти-МРО максимален во время активно протекающего гломерулонефрита. Затихание процесса или подавление активности васкулита при эффективной цитостатической терапии приводит к элиминации антител у 95% пациентов, у 75% сероконверсия происходит в течение ближайших 6 месяцев после достижения клинической ремиссии.

Другой клинической формой гранулематозных васкулитов, которая сопровождается пАНЦА/анти-МРО, является синдром Чарга-Штраусса, — разновидность эозинофильных синдромов, включающих эозинофильные пневмонии, эозинофильный фасцит и эндокардит Либмана-Сакса. Антитела

к МРО выявляются у 75% больных, у которых клиническая симптоматика легочного васкулита с эозинофильными инфильтратами сопровождается астмой и гиперэозинофилией. Помимо АНЦА, часто обнаруживаются антиэндотелиальные антитела и повышенные уровни эозинофильных катионных белков (ЕСР) в сыворотке.

Как пАНЦА/анти-МРО, так и цАНЦА/анти-PR3 отмечаются при быстро прогрессирующем гломерулонефрите приблизительно с одинаковой частотой. У небольшой категории больных олигоиммунным некротизирующим гломерулонефритом антитела к PR-3 и МРО не обнаруживаются, у большинства из них могут быть обнаружены АНЦА, направленные против нейтрофильной эластазы.

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

Нет полной специфичности того или иного типа АНЦА при конкретных формах васкулитов, сопровождающихся гломерулонефритом. Изолированные формы быстро прогрессирующего гломерулонефрита, сопровождающиеся выявлением антител к PR-3 протекают более агрессивно. Быстро прогрессирующий гломерулонефрит на фоне цАНЦА/анти-PR3 чаще сопровождается обострениями.

Выявление АНФ необходимо для подтверждения специфичности выявления пАНЦА, его обнаружение в высоком титре говорит о системном заболевании соединительной ткани.

Хуже прогноз относительно функции почек у пациентов с антителами к базальной мембране клубочка. Сравнительно тяжело протекает поражение почек при обнаружении АНЦА к PR-3, и наилучший прогноз среди пациентов с почечно-легочным синдромом — при выявлении анти-МРО АНЦА.

Пурпура Шенлейна-Геноха поражает преимущественно детей и подростков, хотя ее проявления могут отмечаться в любом возрасте. Основным патогенетическим механизмом является синтез аномального IgA, обладающего способностью к самоагрегации. В результате в мелких сосудах наблюдаются выраженные отложения полимерного иммуноглобулина. Выявление ЦИК при данном заболевании обычно не информативно. Основным методом диагностики пурпуры Шенлейна-Геноха является анализ биопсий ткани с иммуно-флюоресцентным обследованием. В биопсии почки отмечается мембранозный гломерулонефрит с мезангиальными отложениями IgA и С3 фактора комплемента. Исследования биопсии кожи выявляют гранулярные отложения IgA в сосудах дермы.

Наиболее часто выраженный лейкоцитокластический васкулит отмечается при эссенциальной смешанной криоглобулинемии, связанной с появлением в сыворотке крови криоглобулинов 2-го типа с активностью РФ. Основной причиной эссенциальной криоглобулинемии является гепатит С. Среди популяций больных с вирусным гепатитом С криоглобулины отмечаются у 20% пациентов и только у трети из них выявляются характерные клинические проявления. Выраженность клинических проявлений не зависит от абсолютного содержания криоглобулинов, так как даже незначительное количество КГ может приводить к характерной клинической симптоматике.

В диагностике иммунокомплексных васкулитов, наряду с методами выявления ЦИК и отложениями иммунных комплексов в ткани, целесообразно исследовать уровни факторов комплемента, уровни иммуноглобулинов сыворотки и острофазовые реактанты. Хотя нормальные показатели этих тестов не исключают диагноз иммунокомплексного васкулита, частые диагностические находки позволяют подтвердить иммунный генез процесса [1,5,6,7,9,11].

Болезнь Бехчета.

Болезнь Бехчета (ББ) является хроническим мультисистемным заболеванием, которое характеризуется афтозным стоматитом, язв гениталий,

поражением кожи, офтальмологическими, неврологическими или ревматологическими проявлениями. Болезнь Бехчета уникальна среди васкулитов в том, что она обладает способностью поражать мелкие, средние и крупные сосуды.

Типирование гена HLA-B51 — определение варианта одного из генов системы HLA, ассоциированного с развитием у людей с иными предрасполагающими факторами аутоиммунного васкулита, характеризующегося мультиорганным поражением. Ген HLA-B*51 обнаруживается у 52–70% пациентов с ББ, а носительство данного гена значительно увеличивает риск развития заболевания. HLA-B*51 является одним из двух отдельных сплит-антигенов серотипа HLA-B5 и в первую очередь связан с риском развития ББ. Из 200 подтипов HLA-B*51 наиболее распространенным является HLA-B*51:01.

Несмотря на то, что типирование HLA не входит в международные критерии ББ данного теста составляет 51%, а специфичность — 71%. Типирование HLAB*51 рекомендуется использовать как подтверждающий тест при ББ. **Отсутствие аллели HLA-B*51** значительно снижает риск развития болезни Бехчета, но не исключает его полностью. Возможная прогностическая ценность была приписана HLA-B*51: было показано, что носители HLA-B*51 имеют более высокий риск генитальных язв, а также поражения глаз или кожи. Положительный результат теста на HLA-B*51 чаще выявляется у пациентов мужского пола. Определенные подтипы могут быть связаны с различными клиническими проявлениями, например, HLA-B*51:03-позитивные пациенты имеют более высокий риск развития неврологических симптомов, а HLA-B*51:09 может снизить риск развития папулопустулярных поражений [5,6,9].

Особенности иммунологической диагностики воспалительных миопатий.

Воспалительные миопатии представляют собой группу хронических заболеваний неизвестной этиологии, основным проявлением которых является симметричная мышечная слабость проксимальных отделов конечностей, связанная с воспалением поперечно-полосатой мускулатуры. К ним относятся полимиозит (ПМ), дерматомиозит (ДМ), ювенильный дерматомиозит (ЮДМ); миозит, сочетающийся с системными заболеваниями соединительной ткани (СЗСТ) (перекрестный синдром); миозит, сочетающийся с опухолями; миозит с внутриклеточными включениями и некоторые другие более редкие заболевания. Общими клиническими признаками вышеперечисленных заболеваний являются слабость проксимальных групп мышц и наличие системных проявлений, таких как лихорадка, ар-

тралгии, синдром Рейно и поражение внутренних органов, в частности сердца и легких (альвеолит, легочный фиброз), полисиндром. В отличие от других воспалительных миопатий для ДМ характерно поражение кожи. Также обращает на себя внимание связь ДМ со злокачественными опухолями (по данным современных исследований — у каждого третьего пациента).

В патогенезе ПМ основное значение имеют аутоагрессивные Т-клетки, в то время как при ДМ — аутоантитела. Изначальные причины развития обоих видов аутоагрессии окончательно пока не выяснены.

ДМ — это гуморально-опосредованное иммунопатологическое заболевание. Основное значение в его патогенезе имеют аутоантитела к клеткам эндотелия, коже и мышцам. Воспаление при ДМ является вторичным.

ПМ — это клеточно-опосредованное иммунопатологическое заболевание, которое развивается в результате опосредованной Т-лимфоцитами антигенспецифической цитотоксической реакции. Причина инициирования аутоагрессии неизвестна, возможно, это инфекция. Антиген также неизвестен, предположительно это какой-то белок в ядре мышечных волокон. Заболевание связано с активацией CD8+ Т-лимфоцитов.

В дифференциальной диагностике и определении прогноза воспалительных миопатий большую роль играет выявление миозит-специфических аутоантител, большинство из которых направлены против ядерных антигенов, что позволяет отнести их к антиядерным антителам. Аутоантитела обнаруживаются в сыворотке пациентов 50% ПМ/ДМ. Присутствие миозит-ассоциированных антител наблюдается и при других ИВРЗ. К ним относятся: АНА, анти-U1 рибонуклеопротеидные (анти-U1-RNP) антитела, которые при ПМ/ДМ обнаруживаются в 52%, 12% и 11%, соответственно. Anti-PM/ScI антитела определяются у около 8% пациентов с заболеванием, представленном фенотипическими чертами ПМ и ССД.

Среди миозит-специфических аутоантител наибольшее семейство составляют антисинтетазные антитела, направленные против ферментов тРНК синтетаз. У пациентов с антисинтетазными антителами отмечается характерный «антисинтетазный синдром», сочетающийся полимиозит с признаками склеродермии, интерстициального поражения легких и симптоматикой артрита. Антисинтетазные антитела появляются еще до начала клинических проявлений ДМ/ПМ. Изменения их титра не несут значимой клинической информации, а повторное исследование играет исключительно подтверждающую роль.

Антитела	Название	Клиническое значение
Анти-cN1или анти-NT5C1A	Антитела к цитозольной 5'-нуклеотидазе 1A	Антитела к ядерному белку cN1A, участвующему в процессинге РНК; ассоциируются с миозитом с включениями
Анти-Jo-1	Антитела к гистидил-тРНК-синтетазе	Ассоциируются с антисинтетазным синдромом (миопатия, лихорадка, интерстициальное поражение легких, синдром Рейно, артрит и "рука механика")
Анти-PL-7, анти-PL-12, анти-EJ, анти-OJ, анти-KS, анти-Zo, анти-YRS	Другие типы антисинтетазных аутоантител	Ассоциируются с антисинтетазным синдромом (некоторые в большей степени связаны с интерстициальным поражением легких, другие - с миозитом)
Анти-HMGCR	Антитела к 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазе	Антитела к ферменту, на который действуют статины. Характерны для некротизирующего аутоиммунного миозита
Анти-MDA-5	Антитела к белку-5, ассоциирующему с дифференцировкой меланомы	Антитела к РНК-специфической геликазе. Ассоциируются с амиопатическим дерматомиозитом или быстро прогрессирующим интерстициальным поражением легких
Анти-Mi-2	Антитела к ядерной ДНК-геликазе	Антитела к ядерной ДНК-геликазе, участвующей в активации транскрипции. Ассоциируются с типичным поражением кожи при дерматомиозите
Анти-SRP	Антитела к сигнал-узнающей частице	Антитела к полипептидному комплексу, обеспечивающему транспорт белков в эндоплазматический ретикулум. Характерны для некротизирующего аутоиммунного миозита.
Анти-TIF-1γ	Антитела к промежуточному фактору транскрипции 1γ	Аутоантитела участвующие в росте и дифференцировке клеток. Ассоциируются с паранеопластическим дерматомиозитом
Анти-NXP-2	Антитела к ядерному матричному белку	Ассоциируются с паранеопластическим дерматомиозитом
Анти-SAE	Антитела к ферментам, активирующим малый убиквитин-подобный белок-модификатор	SAE — фермент, вызывающий сумонлирование (модификация белков, похожая на убиквитинирование) и образование стабильных конъюгатов белков, включая факторы транскрипции. Антитела к SAE характерны для дерматомиозита

Антитела, определяющиеся при воспалительных миопатиях

Анти-Mi2 антитела (к ядерной ДНК геликазе) наблюдаются у 10–20% пациентов с ДМ и ассоциируются с благоприятным течением заболевания. Как правило, это классический хронический ДМ с папулами Готтрона и характерными высыпаниями, дающий хороший ответ на иммуносупрессивную терапию.

Выявление SRP говорит о тяжелом ПМ, нередко сопровождающимся вовлечением сердца и являющимся резистентным к терапии.

Наличие анти-TIFγ и анти-NXP-2 антител указывает на повышенную вероятность паранеопластического ДМ. Кроме того, анти-NXP2 антитела позволяют предсказать образование кальцинатов, особенно при ювенильном ДМ.

Анти-Jo-1 антитела (к гистидил-тРНК-синтетазе) являются высокоспецифичными для воспалительных миопатий. Определение их осуществляют методами иммуноблоттинга или ELISA. В настоящее время описаны антитела к 6 из 20 аминокислот-тРНК синтетаз. Антитела встречаются у 20–30% пациентов с ПМ и у 60–70% с сопутствующим лёгочным фиброзом. ДМ характеризуется более частым злокачественным течением, чем ПМ, но анти-Jo-1 представлены в 5–10% случаев. У подавляющего большинства пациентов с анти-Jo-1 антителами развивается интерстициальное поражение легких, которое ассоциируется также

с анти-MDA-5 антителами. Jo1, PL-7, PL-12, EJ, OJ — маркеры «антисинтетазного синдрома» сочетающего характерную симптоматику склеродермии и полимиозита.

Анти-cN1A антитела характерны для миозита с включениями, анти-HMGCR и анти-SRP антитела — для некротизирующего аутоиммунного миозита.

Обнаружение Ku указывает на перекрестный ревматологический синдром, сочетающий ПМ и симптоматику СКВ. А выявление PM-Scl 100/75 — на перекрестный ревматологический синдром, сочетающий проявления ДМ и ССД, нередко сопровождающийся поражением внутренних органов [2, 4, 5, 6, 9, 12].

Болезнь Шегрена.

Болезнь Шегрена (БШ) — системное аутоиммунное заболевание соединительной ткани, характеризующееся хроническим аутоиммунным и лимфопролиферативным процессом в секретирующих эпителиальных железах (главным образом слюнных и слезных). Выделяют также синдром Шегрена (СШ) (поражение слезных и слюнных желез), развивающийся у 5–25% пациентов с ИВРЗ (чаще — РА), 50–75% больных с хроническими аутоиммунными поражениями печени и щитовидной железы (хронический активный гепатит, первичный

билиарный цирроз печени, аутоиммунный тиреоидит Хашимото) и реже при других аутоиммунных заболеваниях.

Основные аутоиммунные феномены подразумевают очаговую лимфоплазмочитарную инфильтрацию эпителиальных желез и поликлональную В-клеточную активацию с образованием органоспецифических/неспецифических аутоантител с синтезом лимфоидными инфильтратами большого количества антител, поликлональных и моноклональных иммуноглобулинов, преимущественно G/M класса. В-клеточная гиперреактивность лежит в основе патогенетических механизмов развития БШ/СШ и проявляется лимфоидной инфильтрацией как секретирующих эпителиальных желез, так и других органов и тканей, образованием аутоантител (РФ, АНФ, Ro/La) и криоглобулинов с моноклональным РФ в составе, а также развитием у 5–16% больных преимущественно В-клеточных лимфом.

АНА-тест положителен в большинстве случаев СШ. Антитела, специфичные для синдрома Шегрена — анти-SS-A (Ro) и анти-SS-B (La), тесты на них входят в обязательную панель при диагностике СШ, в большинстве случаев результат положительный. Выявление высоких титров антител к Ro/La-клеточным антигенам связано с тяжестью, длительностью и системными проявлениями при БШ.

РФ может быть положительным, что наиболее характерно для подострых форм заболевания. Иногда могут наблюдаться низкие уровни Anti-dsDNA [5, 6].

Смешанное заболевание соединительной ткани.

Смешанное заболевание соединительной ткани (СМЗСТ) или синдром Шарпа — клинко-иммунологический синдром системного поражения соединительной ткани воспалительного характера, проявляющийся сочетанием отдельных признаков СКВ, ССД, РА, ПМ с наличием антител к анти-U1-РНП в высоких титрах и доброкачественным течением. Есть мнение, что СМЗСТ — это один из вариантов перекрестного синдрома либо ранняя (транзиторная) стадия одного из САРЗ. В пользу выделения данной патологии как самостоятельной нозологической единицы свидетельствуют ассоциация СМЗСТ с HLADR1, HLA-DR4 и в меньшей степени с HLA-DR2, высокие титры U1-РНП IgG-антител, специфическая клиническая картина с доброкачественным течением, высокая смертность от ЛАГ (по сравнению с другими заболеваниями соединительной ткани), хороший ответ на терапию ГК, относительно благоприятный прогноз.

Наличие анти-U1-РНП — характерная черта СМЗСТ и обязательный критерий для установле-

ния диагноза. У пациентов с высокими титрами анти-U1-РНП без критериев СМЗСТ или других определенных заболеваний соединительной ткани, зачастую наблюдается развитие СМЗСТ в течение 2 лет. Патогенетическая роль анти-U1-РНП не доказана. Антитела к U1-РНП направлены против молекулы U1-snRNP, что связано с тремя белками — U1-A, U1-C и U1-70K.

У этих пациентов выявляются также aRo, анти-Sm и анти-dsDNA. АКЛ присутствуют примерно у 15% пациентов и связаны с развитием ЛАГ у при СМЗСТ, но не с тромботическими событиями или другими проявлениями АФС. Это может быть объяснено низкими титрами G-антител с преобладанием IgM-изотипа по сравнению с АФС.

Присутствие различных аутоантител служит предиктором вовлечения внутренних органов или указывает на уже имеющееся поражение внутренних органов: анти-Sm — на поражение почек, aRo — нервной системы и легких, анти-Scl-70 — пищевода, АЦА ассоциировались с наличием склеродактилии, анти-dsDNA и aRo — серозита [5, 6, 9, 12].

Заключение.

Исходя из вышесказанного, необходимо отметить, что лабораторные иммунологические тесты охватывают весь спектр клинических задач, касающихся вопросов диагностики, терапии и прогноза течения иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Однако ни один тест — как клинический, так и лабораторный — не может рассматриваться изолированно, в отрыве от совокупной клинко-лабораторной картины заболевания.

Основная цель лабораторной диагностики ИВРЗ — получение объективной информации о наличии и характере иммунопатологических изменений у обследуемого пациента, что является важным инструментом для ранней диагностики, оценки активности, тяжести течения, прогноза болезни и эффективности проводимой терапии.

В настоящее время разработано и используется множество лабораторных методов определения и изучения иммунологических маркеров РЗ. Благодаря этим методикам достигнут значительный прогресс в исследовании диагностической ценности лабораторных маркеров РА. Однако прогресс в области клеточной и молекулярной биологии позволяет на принципиально новом уровне проводить исследования в области изучения патогенеза и диагностики этого заболевания. Одним из перспективных подходов, как в диагностическом, так и в прогностическом плане, является определение аутоантител к множеству различных мишеней в одном биологическом образце, т.е. исследование индивидуального профиля аутоантител.

Важной задачей стандартизации лабораторной диагностики ИВРЗ является сопоставление иммунологических тестов с международными и национальными референтными материалами (аттестованными стандартными образцами) и методами исследований, базами данных о референтных пределах анализируемых биомаркеров, алгоритмами оценки полученных результатов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний и их применение в реальной клинической практике // Научно практ. ревматология. 2013. Т. 51, № 4. С. 368–376.
2. Алексеева Т.М., Жулев Н.М., Карпцова Е.В., Сайкова Л.А. Критерии диагностики и комплексная терапия дерматомиозита и полимиозита — Вестник Санкт-Петербургского Университета, сер.11, 2007, вып.3.
3. Беляева И.Б., Мазуров В.И., Трофимова Т.Н. Ранний ревматоидный артрит: Принципы диагностики и лечения. — Изд-во СПбМАПО, 2007. — 104с.
4. Зыкова А.С., Новиков П.И., Моисеев С.В. Дерматомиозит взрослых: новые критерии диагностики и перспективы терапии — Клиническая фармакология и терапия 2017, 26 (2) — С. 83–92.
5. Лазарева Н.М., Лапин С.В., Мазинг А.В., Булгакова Т.В., Иливанова Е.П., Маслянский А.Л., Тотолян А.А. // Клин. лаб. Диаг. — 2011. — Vol. 12. — С. 12–17.
6. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний / Спб.: Человек, 2010. — 272с.
7. Мазуров В.И. Клиническая ревматология — 2-е изд. — Фолиант, 2005. — 416с.
8. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром: Монография. — Литтерра, 2004. — 440с.
9. Насонов Е.Л. Клинические рекомендации. Ревматология. — ГЭОТАР-МЕД, 2008. — 288с.
10. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. // Тер. архив. — 2010. — Vol. 85, № 5. — С. 5–9. Ревматология.
11. Новиков А.А., Александрова Е.Н., Черкасова М.В., Насонов Е.Л. Современные методы лабораторной диагностики ревматоидного артрита — Научно-практическая ревматология, 2010, № 1 — С. 31–45.
12. Шахметова Р.У., Ананьева Л.П. Смешанное заболевание соединительной ткани — Современная ревматология, 2019, № 1 — С. 11–18.

IMMUNOLOGICAL DIAGNOSTICS SYSTEMIC CONNECTIVE TISSUE DISEASES

O. A. BORISOVA

Modern clinical immunology makes it possible to conduct fairly effective laboratory diagnostics of immuno-inflammatory rheumatic diseases (IVRS). The applied methods make it possible to obtain objective information about the nature of immunopathological changes, being an important tool for diagnosis, assessment of activity, determining the prognosis, choosing a treatment method for the disease and monitoring the effectiveness of therapy. Currently, the optimal choice and use of immunological methods is possible. The main goal of laboratory diagnostics of IVRS is to obtain objective information about the presence and nature of immunopathological changes in the examined patient, which is an important tool for early diagnosis, assessment of activity, severity of the course, prognosis of the disease and the effectiveness of therapy.

Keywords: immunological diagnostics, antibodies, autoimmunity, inflammation.