

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ: МЕТОДЫ, РЕКОМЕНДАЦИИ И АЛГОРИТМЫ

*С.В. Латин, * Н.М. Лазарева, * А.В. Мазинг, * Т.В. Булгакова, * А.Л. Маслянский, ** А.А. Тололян, ****

** ГОУ ВПО СПбГМУ им. И.П. Павлова, Научно-методический центр по молекулярной медицине,*

*** Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург,*

**** НИИ Эпидемиологии и Микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург*



Латин Сергей Владимирович

ГОУ ВПО СПбГМУ

им. И.П. Павлова,

*Научно-методический центр
по молекулярной медицине*

Иммунологическим признаком системных заболеваний соединительной ткани (СЗСТ) является возникновение клеточных и гуморальных реакций, направленных против антигенов собственных клеток и тканей организма, которые сопровождаются появлением антинуклеарных антител (АНА) [2, 5, 23, 24]. Выявление АНА имеет большое значение в диагностике и дифференциальной диагностике системной красной волчанки (СКВ), системного склероза (СС), синдрома Шегрена, других СЗСТ, а также аутоиммунных заболеваний печени и артритов [4, 5, 17, 19]. Под АНА понимают общее название семейства аутоантител к компонентам клетки, обычно направленных к нуклеиновым кислотам ядра клетки и ассоциированных с ними белкам, а также ряда белков нуклеолеммы и цитоплазмы клетки [14]. Поэтому некоторые авторы рекомендуют новое название АНА — «антицеллюлярные антитела» [8].

Терминология лабораторных методов выявления АНА до сих пор не устоялась даже в международной литературе [8], поэтому присутствует путаница в названиях, которые описывают антитела, их разновидности, скрининговые и подтверждающие лабораторные тесты для их выявления. Ниже даны определения основным понятиям лабораторного определения АНА, которые мы будем использовать в данной статье.

В семейство АНА входят определенные разновидности или «специфичности» АНА. Под термином «специфичность АНА» понимают выявление связывания аутоантител с охарактеризованной молекулой антигена, которое может быть выявлено с помощью лабораторного теста. В настоящее время описано около 100 специфичностей АНА (т.е. аутоантигенов, с которыми антитела реагируют), причем в клинических лабораториях обычно выявляют около 20-30 наиболее распространенных из них [20]. В качестве аутоантигенов АНА могут выступать нуклеиновые кислоты, отдельные белки, рибонуклеопротеино-

вые комплексы (например нуклеосомы) и органеллы клетки (компоненты рибосом и др.). В то же время, антигены многих АНА до сих пор не охарактеризованы, поскольку могут представлять конформационные, нестабильные или комплексные белковые или рибонуклеопротеиновые структуры. В таком случае АНА выявляются только с помощью тестов, основанных на непрямой иммунофлуоресценции, которые позволяют выявлять реакции антител с нестойкими или конформационными антигенами. Однако такое связывание обычно не выявляется иммунометрическими тестами для выявления конкретных специфичностей [13]. В одной сыворотке могут быть обнаружены АНА к нескольким антигенным мишеням, в таком случае принято говорить о спектре АНА, выявляющегося у данного человека. Определение конкретной специфичности АНА, например антител к двуспиральной ДНК (дсДНК) или антигену Scl-70, имеет важное клинико-диагностическое значение, поскольку с помощью типа выявленных антител не только определяется тот или иной диагноз СЗСТ, но и выявление аутоантител указывает на риск развития характерных клинических проявлений заболевания. Необходимость выявления такого многообразия серологических реакций в дифференциальной диагностике СЗСТ является причиной повышенного внимания к вопросам иммунологического выявления АНА [2, 4, 19].

Методы выявления АНА

Основной задачей лабораторного тестирования АНА является определение всех разновидностей аутоантител, присутствующих в конкретном образце. Методы выявления АНА делят на скрининговые, которые детектируют присутствие или отсутствие АНА в образце, и подтверждающие, результатом которых является определение спектра специфичностей АНА. Скрининговые тесты для выявления АНА используют для ранней диагностики СЗСТ, а также исключения диагноза СЗСТ в случае неопределенной клинической картины [20]. В тестировании АНА особое значение имеет метод непрямой иммунофлуоресценции (антинуклеарный фактор), в котором антитела выявляются за счет связывания с антигенами внутри клеток или тканевого субстрата [23].

Термин антинуклеарный фактор (АНФ) обобщает тесты для скринингового выявления АНА, основанные на методе непрямой иммунофлуоресценции [3]. Антитела выявляются за счет их связывания с клетками клеточных линий (реже криосрезами тканей лабораторных животных). Исторически использовался ряд клеточных и тканевых субстратов для выявления

АНФ, но в настоящее время повсеместно используется клеточная линия эпителиоидных клеток аденокарциномы горлани человека Нер2 [16]. Распределение антигенов внутри клетки определяет тип свечения ядра, который позволяет судить о спектре АНА, присутствующих в данной сыворотке. Однако не всегда при наличии даже высоких титров АНФ можно установить антигенную специфичность АНА, поскольку многие антигены, выявляющиеся с помощью АНФ, относят к конформационным и недостаточно охарактеризованным.

В России реактивы для определения АНФ представлены рядом производителей, например, Euroimmun AG (Германия), Immco (США), BioSystems (Испания), Medipan AG (Германия). Преимуществами продукции Euroimmun AG является использование клеточной линии Нер-2000, обладающей повышенным числом клеточных делений, а также возможностью одновременного иммунофлюоресцентного исследования в одном реакционном поле других субстратов, например печени приматов, что повышает выявляемость ряда специфичностей АНА.

Кроме АНФ выделяют скрининговые тесты, основанные на выявлении антител к смеси антигенов ядер, очищенных из клеток или полученных методами генной инженерии [10]. До недавнего времени, для описания спектра АНА в иммунологических лабораториях использовался экстрагируемый ядерный антиген (ЭНА), представляющий водно-солевые экстракты ядер клеток. В состав ЭНА входят растворимые клеточные антигены, прежде всего рибонуклеопротеины. Водонерастворимые антигены, например, нуклеиновые кислоты, в составе ЭНА отсутствуют. В настоящее время, под названием антитела к ЭНА обычно имеют в виду выявление антител к смеси рекомбинантных антигенов [21].

Наконец, проведение дифференциальной диагностики в рамках СЗСТ требует определения отдельных специфичностей АНА [17]. На сегодняшний день для определения специфичностей АНА существует широкий спектр методов и принципов детекции аутоантител, причем этот перечень постоянно расширяется. Современные молекулярно-биологические методы позволяют получать большой набор очищенных аутоантигенов, что значительно облегчает разработку новых методов. Ведущими мировыми производителями создаются автоматизированные полузакрытые и закрытые системы, принцип работы которых основывается на различных методах: метод ИФА, иммуно и лайн-блоты, хемилюминесцентный метод, мультиплексный анализ на микрочастицах (*Таблица 1*).

Несмотря на постоянное совершенствование методов, лайн-блоты представляют собой сравнительно недорогую, но достаточную надежную альтернативу автоматизированным методам для лабораторий с небольшим потоком исследований [18, 22]. Большинство лайн-блотов, представленных на отечественном лабораторном рынке, позволяет выявлять от 9 до 20 различных аутоантител в одном тесте, что обеспечивает значительное преимущество перед другими технологиями по спектру определяемых показателей. Так, для диагностики СЗСТ компания Euroimmun AG выпускает линейку иммуноблотов с возможностью выявления

Таблица 1. Основные лабораторные методы и оборудование для выявления АНА в клиничко-диагностических лабораториях.

Принцип измерения	Лабораторное оборудование, фирмы-производители
Непрямая иммунофлюоресценция на эпителиоидных клеточных линиях человека Нер-2 и Нер 2000 (НРИФ)	TITERPLANE (Euroimmun AG), ALKIDES (Medipan)
Иммуноферментный анализ (ИФА)	ANALYZER (Euroimmun AG), ALEGRIA (Orgentec)
Иммуноблот: лайн-блот (LIA), вестерн-блот, дот-блот	EUROBlotOne (Euroimmun AG), BlueDiver (D-TEK)
Хемилюминесценция (CLIA)	LIAISON (DiaSorin)
Проточная цитометрия с иммунореактивными микрочастицами (ALBIA)	BIOPLEX 2200 (BioRad)
Иммуноферментный флюоресцентный метод (FEIA)	PHADIA 250 (Thermo Scientific)

до 30 специфичностей АНА. Разработаны продукты как для дифференциальной диагностики всех СЗСТ, так и для дифференциальной диагностики в рамках СКВ, склеродермии, полимиозита.

Возможность денситометрии с помощью высококачественных оптических систем офисных сканеров обеспечивает возможность количественной и полуколичественной оценки результатов блотов, а также возможность архивации результатов исследований (программа EUROLineScan компании Euroimmun AG).

Внедрение в рутинную практику современных автоматизированных систем ставит вопрос о целесообразности сохранения АНФ в качестве основного метода диагностики АНА. Несмотря на большую аналитическую чувствительность иммунометрических методов по сравнению с непрямой иммунофлюоресценцией на тканевых субстратах, спектр выявляемых АНА с помощью таких методов ограничен. Ограниченный спектр выявляемых специфичностей АНА обуславливает меньшую диагностическую чувствительность иммунометрических мультиплексных тестов по сравнению с АНФ, т.е. при использовании таких методов высока вероятность ложноотрицательного результата. Наши данные свидетельствуют о том, что при определении АНА, например, с помощью лайн-блота, теряется до 9% и 50% положительных результатов в высоких и средних титрах АНФ соответственно [1].

Именно поэтому АНФ до сих пор является «золотым стандартом», который обеспечивает наиболее корректный тест для определения АНА [8, 25].

Международные рекомендации по выявлению АНА

Для выявления АНА в клинической лаборатории может быть использован ряд лабораторных методов и значительное число диагностических тестов. Единой номенклатуры этих методов

Таблица 2. Международные рекомендации 2014 года по детекции аутоантител к клеточным компонентам (АНА) [8].

1	Диагноз СЗСТ требует нескольких специализированных лабораторных тестов
2	Выявление АНА, анти-дсДНК и антител к ЭНА (специфичностей АНА) следует использовать для диагностики СЗСТ и ряда других аутоиммунных заболеваний
3	Выявление АНФ является первым лабораторным тестом в диагностике СЗСТ
4	Выявление АНФ следует использовать для диагностики, а не мониторинга СЗСТ
5	Непрямая иммунофлуоресценция (АНФ) является референтным методом скринингового выявления АНА. Другие методы выявления АНА могут отличаться по уровню ложных результатов. Если существует клиническое подозрение при отрицательном результате другого метода выявления АНА, следует провести выявление АНФ
6	Диагностические лаборатории должны указывать метод выявления АНА
7	Тесты, основанные на смеси нескольких конкретных ядерных антигенов, не должны называться АНА-тестом или АНА—скринингом
8	Лаборатории, которые используют внутривидовые методы для выявления АНФ, равно как и антитела к дсДНК и специфическим ЭНА, должны стандартизовать эти методы с помощью международных стандартов (ВОЗ или CDC/IUIS)
9	Для выявления АНФ следует использовать меченную флюорохромом античеловеческую антисыворотку против IgG
10	Титр АНФ зависит от реактивов, оборудования и других факторов, поэтому разведение для скрининга сыворотки следует определять в лаборатории. Повышенный АНФ следует считать титр выше 95-го перцентиля контролей из здоровой популяции. В большинстве случаев разведение сыворотки 1:160 достаточно для выявления АНФ во взрослой популяции
11	В случае положительного результата выявления АНФ в результате лабораторного теста должен быть указан тип свечения клетки и наивысший титр разведения сыворотки
12	Тип АНФ следует указывать в соответствии со стандартной терминологией (см. Табл. 2)
13	Кроме типов свечения ядра АНФ должны указываться свечения цитоплазмы и делящихся клеток
14	При обнаружении АНФ и клиническом подозрении на СКВ следует рекомендовать выявление антител к дсДНК
15	При выявлении антител к дсДНК наилучшую специфичность имеют радиоиммунный тест (тест Фарр/Фарг) и непрямая иммунофлуоресценция на <i>Criethidia luciliae</i> (CLIFT). Положительные результаты других тестов следует подтверждать этими методами
16	Метод, используемый для выявления антител к дсДНК, следует указывать в форме результата лабораторного теста
17	Результат выявления антител к дсДНК должен предоставляться в количественном виде
18	При мониторинге СКВ с помощью количественного измерения антител к дсДНК должен использоваться один и тот же лабораторный метод
19	В случае положительного результата АНФ, следует использовать лабораторные тесты для определения специфичности АНА
20	Для выявления антител к ЭНА следует указывать метод выявления. В случае расхождения с результатами АНФ или клинической картиной, рекомендуется использование альтернативного метода выявления антител
21	Результаты определения специфичности антител к ЭНА следует указывать отдельно (включая отрицательный результат выявления антител). При интерпретации результатов скрининговых тестов выявления антител достаточно указать какие разновидности ЭНА присутствуют в составе тест-системы
22	При подозрении на смешанное заболевание соединительной ткани рекомендуется количественное определение антител к RNP
23	В случае подозрения на конкретное СЗСТ следует проводить углубленное исследование конкретной специфичности АНА. Например, антител к Jo-1 при воспалительных миопатиях, антител к рибосомам и SSA антигену при различных формах волчанки и синдроме Шегрена
24	Каждая лаборатория должна верифицировать референтные пределы скрининговых методов выявления АНА с помощью сывороток здоровых лиц известного пола и возраста. Референтные пределы должны быть сопоставлены с 95 перцентилем результатов измерений в сыворотках здоровых лиц.
25	Каждая лаборатория должна верифицировать (подтверждать) референтные значения методов выявления антител к дсДНК и антител к ЭНА. Следует использовать достаточное количество образцов от пациентов с разными аутоиммунными заболеваниями, от заболевших и здоровых доноров. Референтные значения должны устанавливаться с помощью ROC-анализа

Примечания: АНА — антинуклеарные антитела; АНФ — антинуклеарный фактор; дсДНК — двуспиральная ДНК; СЗСТ — системные заболевания соединительной ткани; ЭНА- экстрагируемые нуклеарные антигены; CLIFT - *Criethidia luciliae* immunofluorescence test.

Таблица 3. Типы свечения ядра и цитоплазмы на клеточной линии HEp2, аутоантигены и заболевания [8] с изменениями.

Тип свечения		Основной антиген(ы)	Заболевания
Нуклеарный	Гомогенный	дсДНК, гистоны, нуклеосомы	СКВ, ЮРА
	Крупногранулярный	RNP, RNP/Sm	СЗ, СКВ, СС
	Мелкогранулярный	SSA, SSB, Торо-1, другие антигены	СКВ, СС, СШ, ВМ, СЗ
	Центромерный	CENT-A, B, C	СС, синдром Рейно
	Ядрышковый	PM/Scl, RNA-Pol	СС, ВМ, синдром Рейно
Цитоплазматический	Диффузный	RibP, Jo-1	СКВ, ВМ
	Гранулярный	Jo-1, PDH/AMA-M2	ПБЦ, ВМ
Редкий нуклеарный	Периферический/ядерная мембрана Плотный мелкогранулярный Пролиферирующие клетки (PCNA)	Точки в ядре Центросома/центриоли Веретено деления	
Редкий цитоплазматический	Отдельные гранулы Комплекс Гольджи	Цитоскелет клетки	

Примечания: ВМ — воспалительные миопатии, ПБЦ — первичный билиарный цирроз, СЗ — смешанное заболевание соединительной ткани, СКВ — системная красная волчанка, СС — системный склероз, СШ — синдром Шегрена, ЮРА — ювенильный ревматоидный артрит.

не существует, что приводит к определенным затруднениям при назначении и интерпретации обследования [11]. Компании — изготовители реактивов и оборудования для клинической лабораторной диагностики могут предлагать различные методические подходы к скринингу АНА и определению основных специфичностей [15]. При этом выявление АНА постепенно покидает стены высокоспециализированных иммунологических лабораторий, что может привести к снижению качества обследования в угоду большей технологичности и пропускной способности метода.

Несмотря на важность выявления АНА, до недавнего времени не существовало международных рекомендаций, регламентирующих методы выявления АНА в клинической лабораторной диагностике. Международные рекомендации по выявлению АНА были опубликованы недавно [8]. В их подготовке принимали участие две группы экспертов. Наиболее многочисленной действующей группой, которая включала экспертов из 15 европейских стран, являлась «Европейская аутоиммунная инициатива по стандартизации» (European Autoimmunity Standardization Initiative — EASI). Под ее эгидой проводится значительное количество конференций и круглых столов по вопросам диагностики аутоиммунных заболеваний (www.easi-network.com). Другой международной организацией является совместный комитет Международного союза иммунологических обществ (IUIS), Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ/WHO), Фонда артрита (AR), Центра по контролю и предотвращению заболеваемости США (CDC) и Американского колледжа ревматологов (ACR). Совместный комитет по стандартизации аутоантител при ревматических и близких заболеваниях (IUIS/WHO/AR/CDC) более тридцати лет разрабатывает и внедряет стандарты и референтные сыворотки для выявления аутоантител (www.autoab.org). Опубликованные международные методические рекомендации охватывают

основные методические вопросы организации лабораторного выявления АНА (Таблица 2).

Данные методические рекомендации разделены на 3 блока вопросов. Первые 13 рекомендаций касаются методов выявления АНФ и регламентируют его использование, следующие 5 затрагивают выявление антител к двуспиральной ДНК и, наконец, последние пять пунктов определяют подходы к выявлению антител к ЭНА и специфичностей АНА. Рекомендации подчеркивают важность АНФ как референтного теста для скринингового выявления АНА, а также указывают на важность определения типа свечения ядра клетки (Таблица 3).

Тип свечения клетки позволяет планировать дальнейшее тестирование, например, классический гомогенный тип может быть поводом для выявления антител к двуспиральной ДНК, центромерный тип — для исследования АНА, характерных для склеродермии, а гранулярный цитоплазматический тип свечения обычно указывает на наличие антимитохондриальных антител, характерных для первичного билиарного цирроза.

Алгоритмы и комбинации тестов в практической диагностике СЗСТ

Учитывая разнообразие методов выявления АНА, одновременное назначение всех скрининговых и подтверждающих методов является трудоемким, дорогостоящим и часто неоправданным. Очевидно, что возникает необходимость последовательного тестирования данных АНА, основанного на определенном диагностическом алгоритме [9, 25]. Так как общепринятого алгоритма серологической диагностики АНА у лиц с подозрением на СЗСТ не существует, ряд авторов рекомендуют использовать внутренние алгоритмы, оптимизирующие выявление АНА в рутинной работе [9].

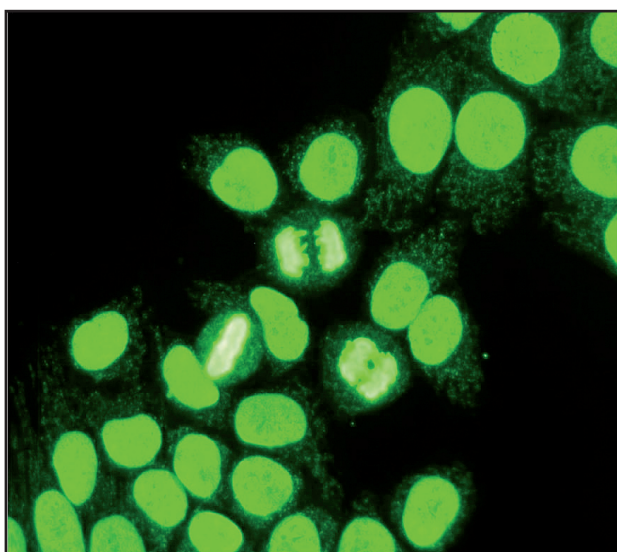


Рисунок 1. АНФ на клеточной линии Нер-2000 (Euroimmun AG), гомогенный тип свечения, флуоресцентная микроскопия, x400. Отмечается высокая частота клеточных делений.

Нами было проведено исследование по разработке и практической оценке алгоритма для диагностики СЗСТ, основанного на результатах обследования 981 пациента в нашей лаборатории [1]. Для выявления АНФ нами был использован метод непрямой иммунофлуоресценции на клеточной линии Нер-2 и Нер-2000 (Euroimmun AG). Клеточная линия Нер-2000 обладает повышенной частотой клеточных делений, клетки делятся в 4-10 раз чаще по сравнению с классической линией Нер-2 (Рисунок 1).

Для определения АНА с помощью лайн-блота использовались диагностические наборы компании Euroimmun AG. Данная диагностическая система содержит следующие рекомбинантные антигены: Sm, RNP/Sm, SS-A, SS-B, Scl-70, СЕНР-В, РСНА, дсДНК, нуклеосомы, гистоны, Jo-1, АМА-М2.

Среди исследованного 981 образца сыворотки крови лиц с подозрением на СЗСТ в 501 образце были выявлены АНА. В образцах анализировались результаты выявления АНФ и антител к ЭНА. Хотя оба метода обладают высокой схожимостью, чувствительность определения антител к ЭНА значительно уступает АНФ (20% против 48%). Эта находка подчеркивает необходимость использования АНФ для ранней диагностики СЗСТ.

Антитела к ЭНА у лиц с подозрением на аутоиммунную патологию были обнаружены в 34% образцов

Таблица 4. Встречаемость положительных результатов лайн-блота в зависимости от титров АНФ (n=474) [1].

Титры АНФ	Определены специфичности АНА с помощью лайн-блота
Отрицательный (менее 1:80)	5% (28/507)
Низкие титры (1:80-1:160)	37% (55/150)
Средние титры (1:320-1:640)	62% (111/179)
Высокие титры (1:1280-1:5120)	91% (120/132)
Очень высокие титры (>1:10240)	92% (12/13)

совместно с АНФ. Изолированно антитела к ЭНА были обнаружены у 6% пациентов, что указывает на их роль в определении тех разновидностей АНА, которые утрачиваются из ядра клетки в ходе фиксации, либо плохо распознаются при микроскопии (Рисунок 2).

Наряду с определением АНФ и антител к ЭНА мы исследовали данные образцы с помощью лайн-блота. Частота положительных результатов лайн-блота в зависимости от титров АНФ представлена в Таблице 4. В образцах, положительных по антителам к ЭНА, но отрицательных по АНФ, антитела к растворимым SS-A/SS-B антигенам отмечались в 64% (18/28) случаев, в образцах положительных по АНФ и анти-ЭНА — в 46% (136/298) случаев. Кроме того, в двух образцах изолированно положительных по антителам к ЭНА были обнаружены антитела к Jo-1 антигену, который располагается

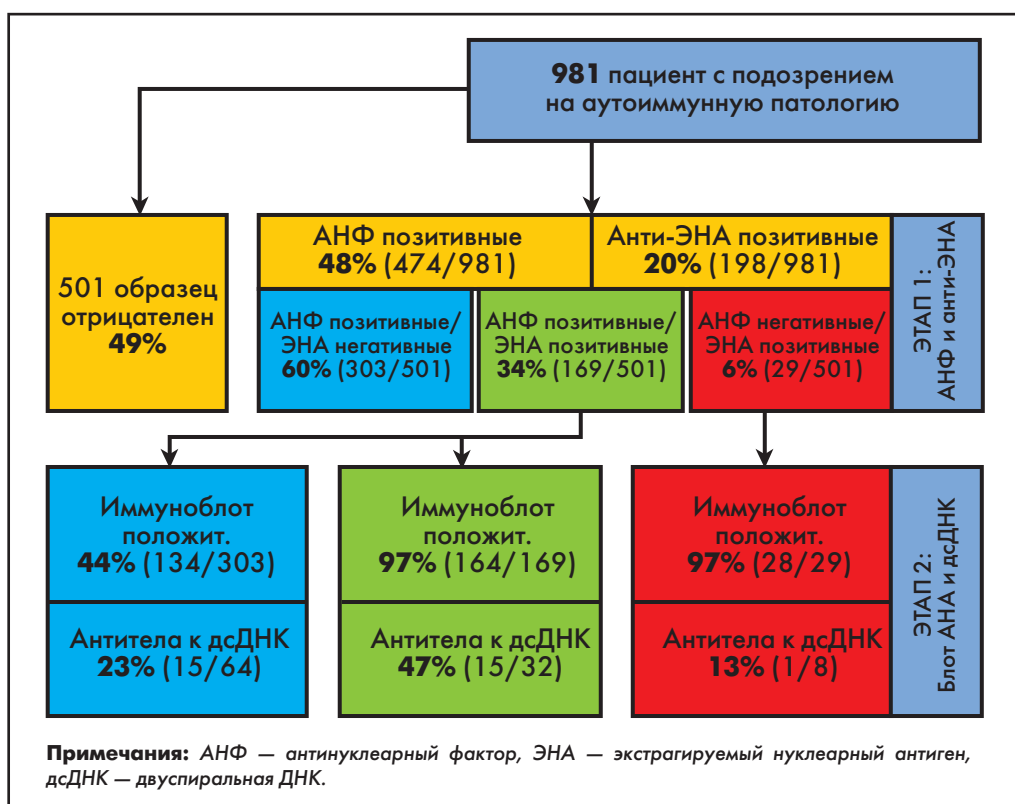


Рисунок 2. Результаты выявления АНА у 981 пациента с подозрением на СЗСТ.

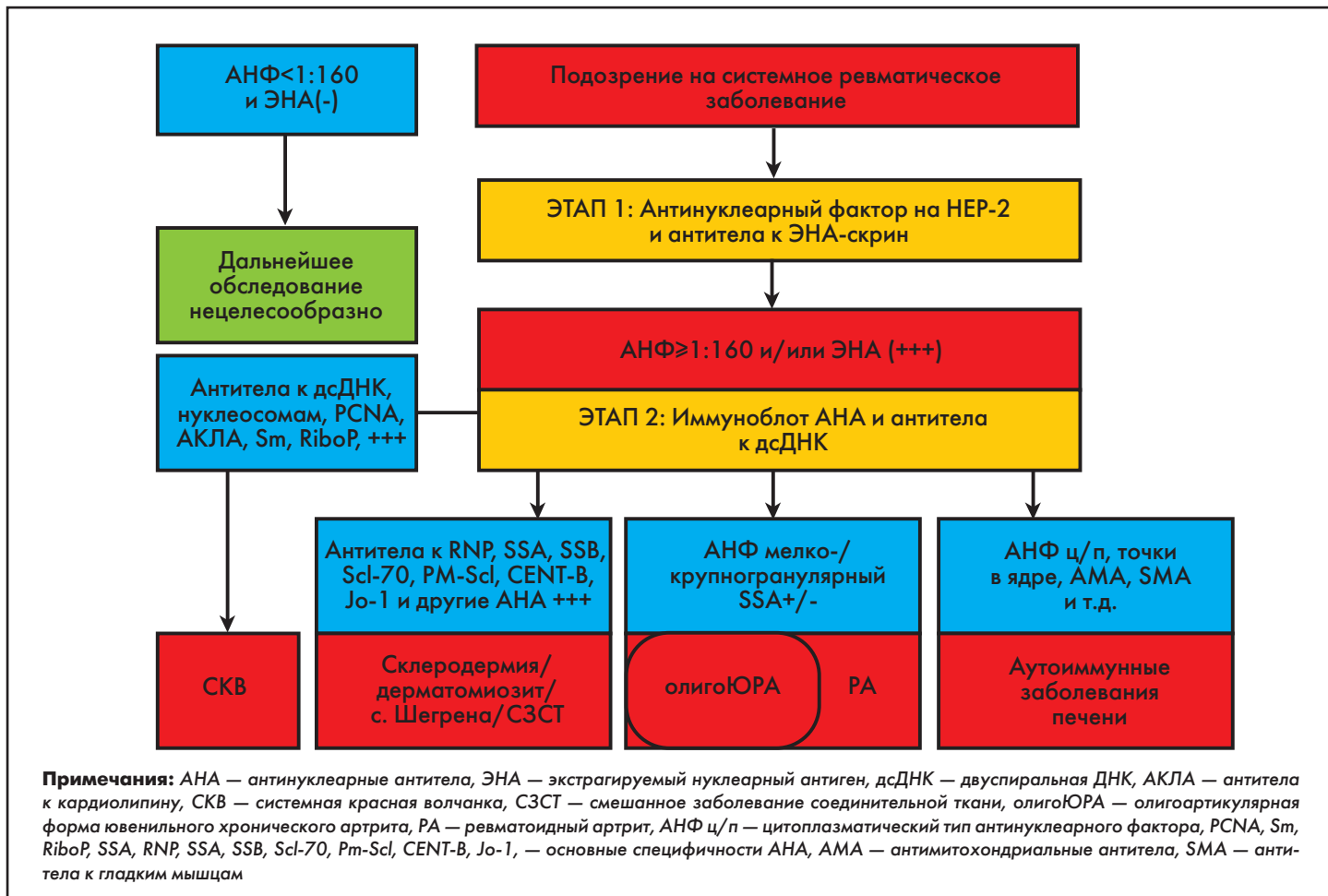


Рисунок 3. Алгоритм диагностики СЗСТ.

в цитоплазме клеток и может быть неразличим при микроскопии. Полученные результаты сопоставимы с данными литературы [12, 18].

Специфичность АНА с помощью метода лайн-блота была установлена в 63% образцов положительных по АНФ и в 97% образцов положительных по антителам к ЭНА. Таким образом, специфичность АНА с помощью используемых методов не может быть установлена в 37% АНФ-положительных образцов, что не исключает диагностической ценности выявления АНФ. Лайн-блот оказывается отрицательным у большинства пациентов с низкими титрами АНФ, что совпадает с данными, полученными другими авторами. Таким образом, выполнение лайн-блота у пациентов с отрицательным или низким результатом АНФ и отсутствием антител к ЭНА нецелесообразно.

Выявление антител к дсДНК обладает высокой схожимостью с результатами определения АНФ и антител к ЭНА. При выявлении АНФ и/или антител к ЭНА вероятность обнаружения антител к дсДНК составляет около 30%, что позволяет рекомендовать антитела к ДНК в качестве теста «второй линии» при обследовании пациентов с системными заболеваниями, после обнаружения АНФ или антител к ЭНА. Чувствительность ИФА тест-систем по определению антител к дсДНК у различных производителей значительно

варьирует, несмотря на то, что для стандартизации данных тестов используется референтная сыворотка Всемирной Организации Здравоохранения Wo80 [4]. По нашим данным, разница в чувствительности тестов составила 56% и 38% в зависимости от производителя. Наряду с методом ИФА в диагностике антител к дсДНК используется метод нРИФ с использованием простейших *Crithidia lucilliae*. Несмотря на сравнительно низкую чувствительность метода, этот тест по-прежнему рекомендуется в качестве подтверждающего теста, позволяющего объективизировать выявление антител к дсДНК [1, 6].

Полученные нами данные позволяют рекомендовать сочетанное выявление АНФ методом нРИФ и при помощи теста для определения антител к смеси ЭНА в качестве серологического лабораторного скрининга системных заболеваний соединительной ткани. Отрицательный результат обоих методов указывает на отсутствие АНА, делает диагноз СЗСТ маловероятным и не требует дальнейшего применения теста «второй линии», к которым может относиться определение АНА методом лайнблота, методом твердофазного ИФА с раздельными антигенами или методами мультиплексного анализа.

При выявлении АНФ или антител к ЭНА рекомендуется использование методов определения специфичности АНА, к ко-

торым относится метод лайн-блота и определение антител к дсДНК [7].

Проведенный нами финансовый анализ эффективности использования данного алгоритма показывает, что он сокращает затраты на обследование одного пациента с подозрением на СЗСТ на 33,5%. Кроме того, последовательное назначение тестов повышает диагностическую эффективность, поскольку снижает число ложноположительных результатов обследования (Рисунок 3).

Среди СЗСТ по встречаемости АНА системная склеродермия (ССД) даже опережает СКВ, поскольку АНФ отмечается у 95-100% пациентов с этим заболеванием. К настоящему времени при ССД описано около 30 антигенных мишеней АНА, причем выявление ряда специфичностей АНА может определять как особенности поражения внутренних органов, так и прогноз заболевания. В большинстве ИФА и блот-тестов обычно присутствует ограниченный спектр антигенов, представленный Scl-70 и CENT-B, определяющих предрасположенность к диффузной и лимитированной форме заболевания.

Компания Euroimmun AG впервые выпустила набор реагентов, основанный на методе лайн-блота, для выявления антител к широкому спектру антигенов, характерных для ССД. В него, кроме антигенов Scl-70 и CENT-A и B, входят также антигены РНК-полимераз (RP11 и RP155), которые отмечаются при тяжелом течении ССД, антитела к Th/To, встречающиеся при мягкой клинической форме ССД. Также в лайн-блоте представлены антигены, характеризующие перекрестные синдромы, в частности Ku, антитела против которого отмечаются при СКВ с симптоматикой ССД, и антигены РМ-Scl 75кДа и 100 кДа, являющиеся маркером сочетания ССД и полимиозита. В состав блота также входит ряд антигенов ядрышка (фибрилларин и NOR90), антигены PDGFR и Ro-52.

Для выявления АНА нами были обследованы 67 больных ССД, проходившие стационарное лечение в условиях специализированного ревматологического отделения. В обследованной группе антиядерный фактор (АНФ) был выявлен у 100% (67/67) пациентов, причем преобладали центромерный и ядрышковый типы свечения ядра.

Антитела против Scl-70 и/или анти-CENP-B, которые присутствуют в большинстве тест систем для диагностики системных заболеваний отмечались в 28% (19/67) и 34% (23/67) соответственно, а хотя бы одно из этих антител было обнаружено в 61% случаев. Использование расширенного лайн-блота, содержащего 12 аутоантигенов, позволило определить специфичность АНА в 94% (63/67), т.е. позволило увеличить число положительных серологических находок более чем на треть.

Таким образом, несмотря на тенденции к автоматизации и попыткам упрощения тестов для серологической диагностики СЗСТ, на сегодняшний день наилучшей комбинацией лабораторного тестирования для определения АНА является сочетание выявления АНФ и выявления специфичностей АНА с помощью метода лайн-блота с максимально широким спектром аутоантигенов.

Список литературы

1. Лазарева Н.М., Лапин С.В., Мазинг А.В., Булгакова Т.В., Ивливанова Е.П., Маслянский А.Л., Тотолян А.А. // Клини. лаб. диаг. — 2011. — Vol. 12. — P. 12-17.
2. Лапин С.В., Тотолян А.А. // Мед. иммунология. — 2001. — Vol. 3, №1. — P. 35-50.
3. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний / Санкт-Петербург. — Человек 2010. — 272 p.
4. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика ревматических заболеваний / Санкт-Петербург. — Человек 2007. — 128 p.
5. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. // Тер. архив. — 2010. — Vol. 85, №5. — P. 5-9.
6. Созина А.В., Ивливанова Е.П., Шульман А.М., Шульман М.А., Шемеровская Т.Г., Лапин С.В., Тотолян А.А. // Клини. лаб. диаг. — 2008. — Vol. 5. — P. 44-47.
7. Созина А.В., Неустрובה Ю.А., Тихомирова Т.А., Лапин С.В. // Мед. иммунология. — 2007. — Vol. 9, №1. — P. 69-76.
8. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., et al. // Ann Rheum Dis. — 2014. — Vol. 73, №1. — P. 17-23.
9. Bonaguri C., Melegari A., Dall'Aglio P., Ballabio A., Terenziani P., et al. // Ann N Y Acad Sci. — 2009. — Vol. 1173. — P. 124-129.
10. Bossuyt X., Hendrickx A., Frans J. // Arthritis Rheum. — 2005. — Vol. 53, №6. — P. 987-988.
11. Bossuyt X., Louche C., Wiik A. // Ann Rheum Dis. — 2008. — Vol. 67, №8. — P. 1061-1063.
12. Bossuyt X., Luycckx A. // Clin Chem. — 2005. — Vol. 51, №12. — P. 2426-2427.
13. Damoiseaux J.G., Tervaert J.W. // Autoimmun Rev. — 2006. — Vol. 5, №1. — P. 10-17.
14. Egner W. // J Clin Pathol. — 2000. — Vol. 53, №6. — P. 424-432.
15. Fenger M., Wiik A., Hoier-Madsen M., Lykkegaard J.J., Rozenfeld T., et al. // Clin Chem. — 2004. — Vol. 50, №11. — P. 2141-2147.
16. Hepburn A.L., Charles P.J. // Rheumatology (Oxford). — 2002. — Vol. 41, №3. — P. 343-345.
17. Hochberg M.C. // Arthritis Rheum. — 1997. — Vol. 40, №9. — P. 1725.
18. Hoffman I.E., Peene I., Veys E.M., De Keyser F. // Clin Chem. — 2002. — Vol. 48, №12. — P. 2171-2176.
19. Kumar Y., Bhatia A., Minz R.W. // Diagn Pathol. — 2009. — Vol. 4. — P. 1.
20. Meroni P.L., Schur P.H. // Ann Rheum Dis. — 2010. — Vol. 69, №8. — P. 1420-1422.
21. Orton S.M., Peace-Brewer A., Schmitz J.L., Freeman K., Miller W.C., et al. // Clin Diagn Lab Immunol. — 2004. — Vol. 11, №2. — P. 297-301.
22. Peene I., Meheus L., Veys E.M., De Keyser F. // Ann Rheum Dis. — 2001. — Vol. 60, №12. — P. 1131-1136.
23. Sack U., Conrad K., Csernok E., Frank I., Hiepe F., et al. // Ann N Y Acad Sci. — 2009. — Vol. 1173. — P. 166-173.
24. E.M. Tan, A.S. Cohen, J.F. Fries, A.T. Masi, D.J. McShane, et al. // Arthritis Rheum. — 1982. — Vol. 25, №11. — P. 1271-1277.
25. Wiik A., Cervera R., Haass M., Kallenberg C., Khamashta M., et al. // Lupus. — 2006. — Vol. 15, №7. — P. 391-396.