



Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний
**Научно-методический центр Минздрава России по
молекулярной медицине**
ПСПбГМУ им.акад. И.П. Павлова
Тел. 994-53-24, 338-71-94, www.autoimmun.ru

Методическое руководство по лабораторной диагностике аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний

*Созин С.Е., Назаров В.Д., Мазинг А.В., Суркова Е.А., Первакова М.Ю., Мошникова
А.Н., Блинова Т.В., Холопова И.В., Кузнецова Д.А., Сидоренко Д.В., Аянка Р.В.,
Малышкин К.А., Бибикина В.В., Бубнова Ю.О., Девяткина Е.А., Мусонова А.К.,
Плотникова А.А., Будкова А.И.*

Под общей редакцией Лапина С.В.



Оглавление:

- ☐ *Коротко об аутоиммунных заболеваниях;*
- ☐ *Системные заболевания соединительной ткани;*
- ☐ *Системная красная волчанка;*
- ☐ *Аутовоспалительные заболевания и HLA-I-патии;*
- ☐ *Антифосфолипидный синдром;*
- ☐ *Диагностика наследственных тромбофилий;*
- ☐ *Синдром Шегрена и склеродермия;*
- ☐ *Ревматоидный артрит и артропатии;*
- ☐ *Диагностика васкулитов;*
- ☐ *Аутоиммунное поражение почек;*
- ☐ *Дифференциальная диагностика анемий;*
- ☐ *Диагностика миеломы и парапротеинемий;*
- ☐ *Исследование системы комплемента и коагулопатии;*
- ☐ *Цитокины и биомаркеры системного воспаления;*

Санкт-Петербург, 2023

Коротко об аутоиммунных заболеваниях

Медико-биологические критерии аутоиммунных заболеваний (Noel-Rose, 1993) основаны на лабораторных моделях, поэтому не соответствуют клинической практике. К основным **клинико-эпидемиологическим характеристикам аутоиммунных заболеваний (АИЗ)** можно отнести:

- процессы неизвестной этиологии с хроническим системным/локальным воспалением;
- возникают у лиц с особым набором генов иммунного ответа (в т.ч. генов системы HLA);
- АИЗ часто сочетаются между собой у одного пациента;
- обычно поддаются терапии иммуносупрессивными препаратами;
- в крови и биологических жидкостях обнаруживаются аутореактивные лимфоциты и аутоантитела.

Аутовоспалительные заболевания (АВЗ) являются вариантом АИЗ, поскольку также характеризуются воспалением без этиологического фактора, связаны с генами иммунного ответа, поддаются иммуносупрессивной терапии. В отличие от АИЗ, обусловленных т.н. **«аутоиммунной реакцией»**, в основе патогенеза АВЗ лежит патология регуляции врожденных иммунных ответов.

Описано более 100 АИЗ и АВЗ, кроме того множество состояний имеют аутоиммунный патогенез. Хотя традиционно АИЗ относят к редким нозологиям, однако, по разным оценкам, они составляют до 20% общетерапевтической патологии. Эпидемиологические исследования показывают, что до 9% популяции имеют АИЗ. За последние 20 лет зарегистрирован общемировой рост числа АИЗ, в том числе многократное увеличение распространенности СКВ и системных ревматических заболеваний, сахарного диабета, рассеянного склероза и воспалительных заболеваний кишечника. Это позволяет говорить об **«эпидемии аутоиммунных заболеваний»**, к причинам которой относят развитие **химической промышленности** во второй половине 20 века, **адьювантную теорию**, указывающую на роль адьювантов иммунитета в составе вакцин и экзогенных веществ, а также **гигиеническую теорию**, объясняющую увеличение числа аутоиммунных заболеваний изменениями в микрофлоре организма, снижением числа инфекций и глистных инвазий.

В патогенезе АИЗ принимают участие все механизмы иммунитета, включая врожденные и приобретенные (как гуморальные, так и клеточные). На сегодняшний день клинически оправданных методов оценки клеточных иммунных ответов не существует. Выявление **аутоантител**, т.е. серологические методы, являются основными в диагностике АИЗ и входят в критерии ряда АИЗ. Аутоантитела представлены белками-иммуноглобулинами, направленными против собственных антигенов организма, они принимают участие в патогенезе многих АИЗ. Аутоантитела часто направлены против антигенов одного вида, что позволяет объединять их в семейства, например семейство антинуклеарных антител, семейство антимитохондриальных антител и т.д. При системных ревматических заболеваниях, аутоиммунных поражениях печени, аутоиммунных эндокринопатиях отмечаются «перекрестные синдромы», включающие симптоматику нескольких АИЗ. Комбинированное выявление **спектра аутоантител** важно для диагностики таких состояний.

Хотя аутоантитела в большинстве случаев являются надежными маркерами АИЗ, однако некоторые их разновидности сравнительно часто могут быть обнаружены у здоровых лиц, а выявляемость растет с возрастом. К аутоантителам, которые могут быть случайной находкой у клинически здоровых лиц относят антинуклеарный фактор (3-5%), антифосфолипидные антитела (5-10%), ревматоидный фактор (3%), антитела к тиреопероксидазе (4%), антитела к миокарду (5%), антитела к скелетной мышце (3%). Поэтому при диагностике аутоиммунных болезней большое значение имеет чувствительность и специфичность конкретного теста. **Чувствительность** определяет, как часто антитела встречаются у лиц с заболеванием. **Специфичность**, наоборот, определяет % отсутствия антител в контрольной группе с другими заболеваниями. Так, например, если специфичность равна 90%, то 10% в контрольной группе имеют антитела, т.е. каждый 10-й тест будет ложноположительным. Более чувствительные тесты целесообразно использовать при **скрининге** (т.е. ранней диагностике) заболеваний, более специфичные - при **подтверждении диагноза** (т.е. дифференциальной диагностике). Для практического врача полезным показателем, оценивающим значение лабораторного теста является фактор риска, определяющий во сколько раз увеличивается вероятность диагноза заболеваний при положительном результате теста. Фактор риска рассчитывается как **Чувствительность / (1-Специфичность)**. Так при чувствительности теста 90% и специфичности 95%, фактор риска будет равен 18, что обозначает 18-и кратное увеличение риска данного заболевания по отношению к претестовой вероятностью заболевания.

Антитела в лабораториях определяют несколькими методами, прежде всего, непрямым иммунофлюоресценцией (ИРИФ), методом иммуноферментного анализа (ИФА), иммуноблоттингом. Метод **непрямого иммунофлюоресценции** является наилучшим для определения антител к нерастворимым тканевым антигенам, кроме того, в одном тесте можно определить антитела к

нескольким мишеням, что делает его оптимальным методом для скрининга аутоантител. Если точно охарактеризован антиген, с которым связывают аутоантитела, то используется **метод иммуноферментного анализа (ИФА)** или **иммуноблоттинг (ИБ)**. Содержание аутоантител и иммуноглобулинов обычно снижается при назначении иммуносупрессивной терапии и при хорошем ответе на лечение. Однако, иммуноглобулины весьма стабильны и время полураспада молекул в организме составляет около 1 месяца. В связи с этим, повторные серологические обследования для обнаружения аутоантител целесообразно проводить **не чаще чем раз в 3 месяца**. Аутоантитела формируют иммунные комплексы и запускают классический путь системы комплемента, поэтому при многих АИЗ отмечается выраженная гипоккомплементемия, свидетельствующая о потреблении факторов комплемента. Особой разновидностью аутоантител являются аутоантитела представленные **парапротеинам**, т.е. моноклональными иммуноглобулинами. Так часто моноклональным может быть ревматоидный фактор, гемоагглютинины, антитела при полинейропатиях. В этом случае выявление аутоантител следует дополнять иммунофиксацией для определения клональности иммуноглобулинов. Для мониторингирования лечения АИЗ с системным воспалением обычно используются выявление показателей **острофазового ответа**, таких как СОЭ и СРБ. В связи с высокой скоростью полураспада (18 часов), при назначении эффективной терапии антибиотиками/иммуносупрессантами концентрация СРБ возвращается в норму через 3 дня после начала лечения, в то время как снижение СОЭ может занимать несколько недель. Новые информативные биомаркеры полезны для оценки системного воспаления при АВЗ и АИЗ.

Ряд основных международных рекомендаций в области диагностики АИЗ

Рекомендации по выявлению антиядерных антител

Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. // Ann Rheum Dis. 2014 Jan;73(1):17-23.

Von Mühlen CA et al. How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on HEp-2 cells: guidelines from the ICAP initiative. // Immunol Res (2021).

Диагностические критерии СКВ ACR/EULAR 2019

Ariener M, et al.:2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. // Arthritis Rheumatol 71(9):1400–1412, 2019.

Рекомендации по диагностике антифосфолипидного синдрома

Barbhaiya M, Zuilvy S, Naden R, et al; ACR/EULAR APS Classification Criteria Collaborators. 2023 ACR/EULAR Antiphospholipid Syndrome Classification Criteria. // Arthritis Rheumatol. 2023 Aug 28.

Рекомендации по выявлению антинейтрофильных антител

Bossuyt Xavier et al. Revised 2017 international consensus on testing of ANCA in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis // Nature Rev. Rheumatol.- v13. –pp.683-692

Moiseev S. 2020 international consensus on ANCA testing beyond systemic vasculitis // Autoimmun Rev. 2020 Sep;19(9):102618.

Рекомендации по диагностике ревматоидного артрита

Aletaha D. et al. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria ARTHRITIS & RHEUMATISM Vol. 62, No. 9, September 2010, pp 2569–2581.

Рекомендации по диагностике спондилоартропатий

Rudwaleit M, et.al The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. Ann Rheum Dis. 2011;70:25–31.

Рекомендации по диагностике множественной миеломы и парапротеинемий

Rajkumar S V, Dimopoulos MA, Palumbo A et.al International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma // Lancet Oncol 2014; 15: e538–48

Dimopoulos M.A. et al. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Ann. Oncology 2021 v.32, 309-322

Рекомендации по тестированию парапротеинемий

van de Donk N.W., et al. The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. // Haematologica. 2014 Jun;99(6):984-96.

Fermand J.P., Bridoux F., Dispenzieri A., Jaccard A., Kyle R.A., Leung N., Merlini G. Monoclonal gammopathy of clinical significance: A novel concept with therapeutic implications. // Blood. 2018;132:1478–1485. doi: 10.1182/blood-2018-04-839480.

Системные заболевания соединительной ткани (СЗСТ): *системная красная волчанка (СКВ), склеродермия и системный склероз, с.Шегрена, воспалительные миопатии, смешанное заболевание соединительной ткани, с.Рейно, CREST-синдром, ювенильный олигоартрит.*

При СКВ и других СЗСТ иммунный ответ направлен против нуклеопротеиновых антигенов, т.е. комплексов нуклеиновых кислот и белков. Эти эндогенные нуклеопротеиновые комплексы образуются в ходе процесса **апоптоза эпителиоцитов** и напоминают чужеродные вирусные частицы. Хотя вопрос о значении апоптоза при СЗСТ не решен, доказано, что ускорение процессов апоптоза под действием ультрафиолетового облучения, вирусных инфекций и лекарственных препаратов запускает аутоиммунные ответы при СКВ. При апоптозе основные антигены антител конденсируются в апоптотических тельцах, которые становятся мишенью для аутоантител. В настоящее время описаны около 200 разновидностей антител к нуклеопротеинам и рибонуклеиновым кислотам, которые получили название **антинуклеарные антитела (АНА)**. Для их выявления используются тест нРИФ на эпителиальной клеточной линии Нер-2, который в российской литературе называется «антинуклеарный фактор» или АНФ. Международные рекомендации (Agmon-Levin N et al. 2014) признают этот тест наиболее чувствительным методом выявления АНА.

Учитывая разнообразие мишеней аутоантител, основным методом обнаружения АНА является непрямая РИФ, после проведения которой используются другие методы выявления антител, прежде всего иммуноблот. Методы скринингового выявления АНА (АНА-скрин например), основанные только на ИФА и иммунохимии, могут быть недостаточно чувствительны для диагностики СКВ и других заболеваний. АНА не обладают цитотоксическим действием на клетки человека, однако, иммунные комплексы способны запускать воспаление в местах, где сосуды особенно тонки, в том числе в почках, коже, ЦНС, синови, плевре. Отложения аутоантител в почках или коже могут быть выявлены с помощью прямого иммунофлуоресцентного исследования (см. биопсия кожи - волчаночная полоска), которое является одним из методов диагностики СЗСТ (мечм 01.02.15.315).

Новые диагностические критерии СКВ (ACR/EULAR2019) значительно расширяют роль иммунологических лабораторных тестов в постановке диагноза. Прежде всего, АНФ на Нер-2 клетках (мечм 01.02.15.005) используется в качестве критерия отбора пациентов для дальнейшей диагностики, а отсутствие титров антител исключает диагноз. В качестве критериев СКВ используются антитела к дсДНК (мечм 01.02.15.124), антител к Sm (мечм 01.02.15.165), антифосфолипидные антитела (мечм 01.02.15.875) и гипокомплементемия (мечм 01.02.15.715), а также теста Кумбса (мечм 01.02.15.890) подтверждения аутоиммунного гемолиза. Для диагностики других СЗСТ также используются иммуноблот при склеродермии (мечм 01.02.15.535) и иммуноблот при воспалительных миопатиях (мечм 01.02.15.320).

Тест 01.02.15.005 Антинуклеарный фактор (АНФ) на клеточной линии Нер2 (нРИФ)

Антинуклеарные антитела обнаруживаются благодаря их связыванию с внутриклеточными антигенами перевиваемой линии клеток эпителия человека (НЕР-2). Антинуклеарный фактор один из основных скрининговых тестов при всех АИЗ. Содержание антител оценивается в виде титра сыворотки, чем он выше – тем антител больше. АНФ в титре 1:80 отмечается у 30% здоровых лиц. Титры 160-320 может отмечаться у 1-5% здоровых лиц, в титрах 640 и более указывает на высокую вероятность СЗСТ, прежде всего СКВ. Кроме титра сыворотки, при положительном результате анализа описывается **тип свечения** ядра и цитоплазмы клетки. Тип свечения обусловлен широким спектром антител, которые находят свои мишени внутри клетки. В соответствии с международной номенклатурой ICAP описано 30 типов (АС-#) свечения (см. www.anapatterns.org), однако в клинической практике чаще всего встречается несколько основных вариантов:

Тип свечения	АС-#	Мишени антител	Заболевания
Гомогенный/ Периферический	АС1/ АС11,12	Хроматин (дсДНК, гистоны)	СКВ, склеродермия, аутоиммунные болезни печени
Гранулярный	АС4,5	Нуклеопротеины (RNP, Sm, SS-A)	СКВ, ДКВ, РА, юРА, с.Шегрена
Ядрышковый	АС8-10	Антигены ядрышка	Диффузная склеродермия
Центромерный	АС3	Центромера в хромосоме (CENP)	Локализованная склеродермия
Цитоплазматический	АС15-20	Антигены цитоплазмы	Аутоиммун. болезни печени
Точки в ядре	АС6,7	Нуклеопротеины	Аутоиммун. болезни печени
Митохондриальный	АС21	Митохондрии	ПБЦ

Иногда могут быть одновременно описаны 2 типа свечения, при котором один в низких титрах маскирует другой. При выявлении положительного результата АНФ необходимо постараться установить антигенные мишени антинуклеарных антител с помощью выявления антител к дсДНК и ряда иммуноблотов, выявляющих антинуклеарные антитела (мечмы 01.02.15.165/535/320).

Тест 01.02.15.245 Скрининг системных заболеваний (АНФ и ЭНА (ЕНА)-скрин)

Представляет собой комбинацию АНФ и ИФА-теста для обнаружения антител к **экстрагируемым ядерным антигенам (ЭНА) - тест 01.02.15.160**. ЭНА - это легко растворимые компоненты ядра клетки, которые могут утрачиваться из эпителиальной клетки линии Нер-2 при ее фиксации. В том случае (не более 3-5%), если антинуклеарные антитела направлены только к ЭНА-антигенам, АНФ будет ложно-отрицательным. При диагностике СЗСТ данное комбинированное обследование обладает чувствительностью 98-99%, что позволяет использовать его для исключения диагноза СЗСТ (скрининга) в случае неясной клинической картины.

Тест 01.02.15.124 Антитела к двуспиральной ДНК (дсДНК) IgG (тест второго поколения)

Антитела к дсДНК являются одним из основных серологических показателей при СКВ (20-40% случаев). Тест ИФА второго поколения «DNA-NcX», основанный на комплексе дсДНК и нуклеосом, обеспечивает чувствительность 60-70% при высокой специфичности, в то время как традиционные тесты первого поколения могут давать ложноположительные результаты. В соответствии с рекомендациями (Agmon-Levin N et al. 2014) при положительном результате ИФА теста должен быть проведен тест **подтверждения специфичность антител на клетках *Crithidia luculia* (тест 01.02.15.905)**. Антитела к дсДНК участвуют в патогенезе поражения почек при СКВ. Так как почечная мембрана и дсДНК отрицательно заряжены, то положительно-заряженные антитела реагируют с почечной мембраной, что приводит к развитию гломерулонефрита. Целесообразно выявлять антитела к дсДНК совместно с АНФ, антителами к кардиолипину и нуклеосомам (**тесты 01.02.15.005/130/230/425/435**). Регулярные измерения антител к дсДНК и гипокомплементемия (**тест 01.02.15.715**) используются не реже, чем 1 раз в 3 месяца для оценки активности СКВ.

Тест 01.02.15.425 Антитела к нуклеосомам класса IgG (тест второго поколения)

Нуклеосомы, представляют собой структурные единицы хроматина, состоящие из ДНК и гистоновых белков. По современным представлениям они являются основной мишенью иммунного ответа при СКВ и отмечаются в 50-60% случаев классической СКВ с поражением внутренних органов и почек. Использование тестов 2 генерации позволяет избежать перекрестных реакций с другими антигенами.

Тест 01.02.15.925 Антитела к лимфоцитам класса IgG

Антитела к лимфоцитам направлены к поверхностным антигенам лимфоцитов, указывают на риск лимфопении при системной красной волчанке и отмечаются у 30-40% больных СКВ, поэтому их относят к числу частых маркеров этого заболевания. Антитела к лимфоцитам также возникают при лимфопениях после гемотрансфузий, трансплантации и ВИЧ инфекции.

Тест 01.02.15.165 Иммуноблот антинуклеарных антител

Иммуноблот антинуклеарных антител представляет собой основной метод определения специфичности антител при положительном результате АНФ. Этот метод характеризует высокая специфичность обследования. С его помощью выявляются антитела к 15 различным внутриклеточным антигенам. Некоторые из них обычно встречаются изолированно, некоторые отмечаются сочетанно.

Антиген	Значение	Антиген	Значение
Sm (Smith)	10 критерий СКВ	snRNP/Sm	С-м Шарпа, СКВ
SS-A (52 и 60 кДа)	СКВ, ДКВ, с-м Шегрена	Гистоны	СКВ, склеродермия
SS-B	СКВ, с-м Шегрена	ScI-70	Склеродермия
PCNA	Волчаночный нефрит	PM-ScI	Склеродермия/миозит
Рибосомы (Ribo P)	Люпоидный церебрит	CENP-B	Склеродермия, СШ
Нуклеосомы	Волчаночный нефрит	Jo-1	Полимиозит
дсДНК	10 критерий СКВ	AMA-M2	Билиарный цирроз, СШ

Специфичность антинуклеарных антител даже при высоких титрах АНФ удастся установить далеко не всегда, поскольку остаются неохарактеризованными ряд антигенов антинуклеарных антител. Отрицательный результат иммуноблота в этом случае не исключает диагноза СЗСТ. Ряд антинуклеарных антигенов определяются с помощью других иммуноблотов, выявляющих антинуклеарные антитела при воспалительных миопатиях – (**тест 01.02.15.320**) и иммуноблоте антинуклеарных аутоантител при склеродермии (**тест 01.02.15.535**).

Тест 01.02.15.535 Иммуноблот антинуклеарных антител при склеродермии

Метод выявления основных (ScI-70 и CENP-B), а также ряда минорных антител (в том числе PM-ScI и RNAPol), которые определяют особенности клинической картины диффузной склеродермии, а также определяют активность и прогноз этого заболевания.

Антиген	Значение	Антиген	Значение
ScI-70	Системный склероз	Фибриллярин	Склеродермия
CENP A и CENP B	CREST-синдром	NOR90	Малоспецифичен
PM-ScI (75/100)	Склеродерма/миозит	Th/To	Локализованная склеродермия
RNPPoIII(RP11/RP155)	Поражение внут. орган	Ku	Склеродермия/СКВ

Тест 01.02.15.1340 Антитела к SSA-антигену (болезнь/синдром Шегрена)

Антитела к Ro60/SS-A относятся к частым антинуклеарным антителам. Они не являются абсолютно специфичными для болезни/синдрома Шегрена (встречаются также при других системных заболеваниях соединительной ткани), однако являются важным диагностическим маркером, который входит в диагностические критерии болезни Шегрена ACR/EULAR 2016.

Тест 01.02.15.1330 Антитела к фодрину классов IgG и IgM (болезнь/синдром Шегрена).

Антитела к альфа-фодрину выявляются на ранних стадиях болезни Шегрена, иногда до появления антител к SS-A и SS-B. Тестирование предпочтительно сочетать с другими тестами.

Тест 01.02.15.325 Антитела при воспалительных миопатиях: антитела к Mi-2, Ku, PM-ScI 75, PM-ScI 100, антисинтетазные антитела (Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ)

Большинство воспалительных миопатий являются вторичными и возникают в рамках перекрестного синдрома с другими аутоиммунными (системными) заболеваниями: СКВ, склеродермой, болезнью Рейно, дерматомиозитом, смешанным заболеванием соединительной ткани. Обнаружение аутоантител указывает на ведущую причину заболевания.

Антитело	Синдром	Антитело	Синдром
Mi-2	Дерматомиозит	PM-ScI 75/100	Полимйозит и склеродерма
Jo-1	Антисинтетазный синдром: фиброз легких, «рука механика»	SRP	Некротизирующая миопатия, поражение сердца
Ku	Полимйозит при СКВ	OJ, EJ, PL-7, PL-12	Антисинтетазный синдром

Тест 01.02.15.315 Иммунофлюоресцентное исследование биопсий кожи (IgG, IgA, IgM, C3, C1q) – материал в транспортной среде

В диагностике пузырных дерматозов этот тест обладает почти 100% чувствительностью и является «золотым стандартом» обследования. При системных заболеваниях прежде всего СКВ, может быть обнаружена «**волчаночная полоска**», представляющая отложения IgM, IgG и факторов комплемента по базальной мембране при СКВ. При васкулитах в мелких сосудах дермы отмечаются отложения иммунных комплексов и комплемента. Можно выявить отложения IgA в сосудах дермы при пурпуре Шенлейн-Геноха. Для исследования следует брать биопсию неповрежденной кожи рядом с высыпным элементом с участков кожи закрытых от солнца. Необходим развернутый эпикриз.

Аутовоспалительные заболевания (АВЗ): периодическая болезнь, семейная средиземноморская лихорадка, дефицит мевалонаткиназы, синдром Макла-Уэльса (MWS), криопирин-ассоциированные периодические синдромы, TRAPS-синдром, синдром Блау, синдром Маджиди и ряд других.

Под термином АВЗ понимают воспалительные заболевания, сопровождающиеся выраженной активацией врожденной иммунной системы. В основе патогенеза **наследственных периодических лихорадок** находятся варианты генов регуляторов системы воспалительного ответа, нарушение работы которых приводит к повторяющимся эпизодам системных воспалительных реакций, обусловленных выработкой ряда цитокинов, прежде всего IL-1β. В отличие от АИЗ, при АВЗ отсутствует синтез аутоантител, а молекулярно-генетическая диагностика является основным методом постановки диагноза. Еще одна группа заболеваний, которые обладают сходным патогенезом, однако не имеют известных серологических или генетических маркеров, это заболевания, сопровождающиеся **синдромом макрофагальной активации**, к которым относят системную форму ювенильного артрита, болезнь Стилла взрослых, гемофагоцитарные и гиперферритинемические синдромы, характеризующиеся **синдромом высвобождения цитокинов**. Важными методами их диагностики является выявление характерных иммунологических биомаркеров, таких как IL-18 (**мечм 01.02.15.1510**), кальгранулин (S100 A8/A9) (**мечм 01.02.15.1710**), неоптерин (**мечм 01.02.15.470**) а также анализ гликированного ферритина (**мечм 01.02.15.506**). К АВЗ, которые проявляются характерным иммунным воспалением, также относят **HLA-1-ассоциированные заболевания**, обусловленные носительством ряда аллелей HLA 1 класса, таких как HLA-B27 (**мечм 01.02.05.307**) HLA-B51 (**мечм 01.02.05.365**) HLA-Cw6 (**мечм 01.02.05.365**) и HLA-A29 (**мечм 01.02.15.280**).

Тест 01.02.15.1175 Генодиагностика семейной средиземноморской лихорадки (ССЗЛ)

Периодическая болезнь представляет собой наиболее частое системное аутовоспалительное наследственное заболевание, сопровождающееся рецидивами асептической лихорадки неясного генеза с серозитом, абдоминальной болью, артритом, рожеподобными высыпаниями и головной болью. Часто заболевание осложняется амилоидозом и поражением почек. Причиной большинства случаев являются гомозиготные (такие как M694V) или компаундные гомозиготные варианты в 2,3,5,10 экзонах гена MEFV (белок пирин). Секвенирование гена пирина у пациента и родственников позволяет выявить доминантные и рецессивные формы этого заболевания.

Тест 01.02.15.1620 Криопирин-ассоциированные периодические синдромы (ген NLRP3).

Криопирин-ассоциированные периодические синдромы (CAPS) обусловлены вариантами гена NLRP3, кодирующего криопирин, ведущими к чрезмерной выработке IL-1 β . CAPS манифестируют как варианты одного заболевания со разной степенью выраженности клинической картины от легкой до тяжелой. В их число входит семейный холодовой аутовоспалительный синдром/ холодовая крапивница (FCAS/FCU), синдром Макл–Уэлса (MWS) и хронический неврологический кожно-суставной синдром/мультисистемная воспалительная болезнь новорожденных (CINCA/NOMID). Характеризуются хроническим рецидивирующим течением, лихорадкой, кожными высыпаниями по типу крапивницы, вовлечением центральной и периферической нервной системы, развитием нейросенсорной тугоухости, амилоидоза (у 20-40% больных) и почечной недостаточности. В связи с соматический мозаичностью гена NLRP3 для исключения заболевания требуется полноценный NGS анализа, способного установить наличие патогенных вариантов гена (**тест 01.02.05.735**).

Тест 01.02.05.255 Диагностика дефицита мевалонаткиназы (ген MVK) и TRAPS-синдрома

Периодический синдром, ассоциированный с рецептором TNF (TRAPS) и синдром дефицита мевалонаткиназы (СДМК) относят к редким АВЗ. TRAPS обусловлен мутацией гена рецептора TNF I типа (TNFRSF1A) и проявляется приступами лихорадки, абдоминальной боли, миалгии и болезненной эритемы на туловище или конечностях, длящимися дольше 1 недели. Степень тяжести СДМК связана с остаточной активностью мевалонаткиназы (MVK). Выделяют сравнительно легкий фенотип – синдром гипериммуноглобулинемии D (гипер-IgD-синдром, HIDS) при котором сохраняется ~10%-я активность фермента, с эпизодами периодической лихорадки, сыпью, афтозным стоматитом, лимфаденопатией, болями в животе и артралгиями. Мевалоновая ацидурия (активность <1%) сопровождается лицевым и скелетным дисморфизмом, психоневрологическими отставанием в сочетании с эпизодами немотивированного системного воспаления.

Тест 01.02.05.735 Полногеновый NGS анализ при аутовоспалительных заболеваниях.

Тест для обследования пациентов с подозрением на АВЗ, позволяющий провести углубленную молекулярно-генетическую диагностику патологии 11 генов при наиболее частых АВЗ.

Ген	Заболевание	Ген	Заболевание	Ген	Заболевание
MEFV	FMF	MVK	MKD/HIDS	TNFRSF1A	TRAPS
NLRP3	NOMID/ MWS	NOD2	Синдром Blau	LPIN2	MJDS
IL1RN	DIRA	IL10RA	IBD28	IL10RB	IBD25
PLCG2	FCAS3/ PALID	PSTPIP1	PAPA /PAPAS		

Диагностика антифосфолипидного синдрома (АФС) и тромбофилий: повторные венозные и артериальные тромбозы у лиц моложе 55 лет (ТЭЛА, тромбоз вен почек, глаз, инфаркт, инсульт, тромбоз вен голени), тромбоцитопения, сетчатое плевко, хр. невынашивание беременности и фетоплацентарная недостаточность

АФС представляет собой иммуопосредованное нарушение коагуляции, в ходе которого аутоантитела нарушают свертывание крови *in vitro*, что в организме приводит к повторным тромбозам, а также нарушениями плацентации при беременности. **Антифосфолипидные антитела (АФА)** – это семейство антител против отрицательных фосфолипидов и ассоциированных с ними белков. Особенностью белков ко-факторов АФА является изменение конформации при их взаимодействии с фосфолипидным бислоем, в результате чего формируются «неоантигены» - мишени для АФА. Большинство белков ко-факторов участвуют в прокоагулянтных и антикоагулянтных системах. Под действием антител к фосфолипиду удлиняется активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), которое отражает присутствие волчаночного антикоагулянта (БАК). В лабораторную часть новых клинико-лабораторных критериев АФС ACR/EULAR (*Barbhaiya M, et al. 2023*) входит БАК, антитела к кардиолипину (АКЛ) классов IgG и IgM (**тест 01.02.15.145**), а также выявление антител к основному белковому ко-фактору - бета-2 гликопротеину (**тест 01.02.15.225**). Стойкая позитивность по антителам класса IgG в высоких титрах

(более 80 ед.) увеличивает вероятность диагноза АФС. Отдельно выделяют «некритериальные» АФА, в том числе антитела к аннексину V при акушерском АФС (**тест 01.02.15.291**) и антитела к протромбиновому комплексу (**тест 01.02.15.615**), которые могут играть важную роль в патогенезе АФС. Риск тромбоза увеличивается при увеличении числа аутоантител, выявленных в одном образце. Новый метод **иммуноблотинга для выявления АФА (тест 01.02.15.875)** за счет использования гидрофобных подложек обладает высокой чувствительностью для выявления широкого спектра АФА, включая критериальные (АКЛ, бета-2ГП) и некритериальные показатели (антитела к аннексину, протромбину, отрицательно-заряженным фосфолипидам) и позволяет оценить общий риск тромбоза, обусловленного АФС.

Тест 01.02.15.145 Антитела к кардиолипину классов IgG и IgM (АКЛА)

Необходимо исследовать 2 класса IgG и IgM антител к кардиолипину, что значительно увеличивает чувствительность и специфичность обследования. Увеличение содержания IgG АКЛА лучше отражает риск АФС (ACR/EULAR 2023). Риск тромбоза повышается с увеличением содержания антител (высокие титры). Для подтверждения диагноза АФС необходимо показать, что высокие титры АКЛА сохраняются в течении 3-х месяцев и не являются транзиторными после перенесенной инфекции. Антикардиолипидные антитела перекрестно реагируют с мембранами тромбоцитов, и отмечаются при **тромбоцитопении (тест 01.02.15.487)**.

Так как АКЛА (**тест 01.02.15.1310**) отмечаются у 20-30% больных СКВ, обнаружение АКЛА может использоваться в диагностике этого заболевания (см. критерии СКВ ACR/EULAR 2019). У многих больных со «вторичным АФС» на фоне АКЛ отмечается АНФ, поэтому рекомендуется сочетать определение АКЛ и АНФ (**тест 01.02.15.235**) или АКЛ, анти-бета2 и АНФ (**тест 01.02.15.240**).

Тест 01.02.15.1305 Антитела к бета2 гликопротеину классов IgG и IgM

Среди АФА наиболее часто выявляются антитела к бета2 гликопротеину, которые могут использоваться для диагностики первичного антифосфолипидного синдрома. Этот тест рекомендуется использовать совместно с тестом **01.02.15.145** для постановки критериального диагноза АФС (ACR/EULAR 2023). Может использоваться комбинированный тест, который выявляет все серологические маркеры – **тест 01.02.15.240 Развернутая диагностика антифосфолипидного синдрома.**

Тест 01.02.15.291 Антитела к аннексину V классов IgG и IgM (Анн5)

Белок аннексин V формирует внутреннюю выстилку сосудов и ворсин хориона, которая играет большое значение в функции эндотелиальных клеток и плаценты. Такие антитела оказываются токсичным для плодных оболочек. Разрушение аннексинового слоя на ворсинах хориона под действием антител приводит рецидивирующим выкидышам и фетоплацентарной недостаточности.

Тест 01.02.15.615 Антитела к протромбину (ПТ) (фосфатидилсерину)

Антитела к ПТ тесно связаны с выявлением волчаночного антикоагулянта и патологией свертывающей системы, могут приводить к гипопротромбинемии, а также указывают на риск тромбозов как при первичном АФС, так и на фоне системной красной волчанки.

Тест 01.02.15.875 Иммуноблот антифосфолипидных антител классов IgG и IgM

Иммуноблот выявляет 10 разновидностей АФА, классов IgG и IgM, включая АКЛА, анти-б2ГП, аннексину, протромбину, а также антитела к отрицательным фосфолипидам (фосфатидиловой кислоте, фосфатидилглицеролу, фосфатидилсерину, фосфатидилхолину, фосфатидилинозитолу и фосфатидилэтаноламину), таким образом, исследует 20 отдельных АФА. Преимуществом этого теста является возможность определять сочетанную позитивность по нескольким АФА, что позволяет оценить риск развития клинических проявлений АФС, что особенно важно в акушерской практике. В качестве альтернативы комплексное определение АФА (**тест 01.02.15.670**) позволяет выявлять все антифосфолипидных антител (АКЛ, б2ГП, Анн5, ПТ) с помощью традиционного ИФА.

Тест 01.02.15.487 Антитела к тромбоцитам класса IgG

Антитела к тромбоцитам представляют широкое семейство антител, реагирующих с гликопротеинами мембраны, а также с молекулами HLA и фосфолипидами. Аутоантитела к тромбоцитам отмечаются после беременности, гемотрансфузий, индуцируются под действием лекарственных препаратов и гепарина. Антитела к тромбоцитам являются маркером идиопатической (аутоиммунной) тромбоцитопенической пурпуры, СКВ и антифосфолипидного синдрома.

Тест 01.02.05.270 Генодиагностика тромбофилий с развернутой интерпретацией (гены плазменного гемостаза: фибриноген FII), фактор V (Leiden), факторVII, факторFXIII; гены сосудисто-тромбоцитарного гемостаза: ITGA2,ITGB3,PAI) Комплексный тест выявления наследственной предрасположенности к тромбозу. Вероятность тромбозов значительно повышена при гомозиготном и гетерозиготном носительстве аллельных форм генов фактора V (Leiden) и

протромбина (G20210A), несколько выше при наличии двух и более других минорных мутаций в гетерозиготном или гомозиготном состоянии.

Тест 01.02.05.720 Генотипирование недостаточности системы антикоагулянтов при тромбофилиях (частые мутации генов протеина С, протеина S, антипротромбина III)

Антипротромбин III, протеин С и протеин S являются естественными антикоагулянтами, предотвращающими избыточное тромбообразование. Наследственный дефицит этих факторов может приводить к развитию тромбофилии (склонности к тромбообразованию) и тромбозам. Популяционная частота патогенных вариантов генов достигает 2-4%, и может объяснять до 15% случаев спонтанных и рецидивирующих тромбозов глубоких вен у лиц молодого и среднего возраста.

Тест 01.02.05.725 Генотипирование панели генов клонального гемопоэза при тромбофилиях (частые мутации генов JAK-2, CALR, MPL) Мутации стволовых клеток гемопоэза приводят к формированию эссенциального эритроцитоза (JAK-2) и тромбоцитоза (MPL/CALR), что приводит к повышенному риску ряда гематологических неоплазм, миелофиброза, а также значительно повышает риск артериальных и венозных тромбозов. Эпидемические данные указывают на сравнительно высокую частоту таких aberrаций, особенно в пожилом возрасте.

Тест 01.02.15.1190 Генодиагностика нарушений фолатного цикла (MTHFR, MTR и MTRR)

Врожденные особенности генов фолатного цикла приводят к гипергомоцистеинемии, патологическому состоянию с повышенным содержанием гомоцистеина в крови, ранним атеросклерозом, предрасположенностью к тромбозам, риском раков (аденокарциномы кишки и раком молочной железы), патологии беременности (незаращению нервной трубки плода), высокому риску побочных эффектов метотрексата, как препарата влияющего на метаболизм фолиевой кислоты.

Ревматоидный артрит (РА) и другие артропатии: ранний РА, спондилоартропатии, ювенильный идиопатический артрит, кристаллические артропатии, остеоартрит

Ревматоидный фактор (РФ) представляет собой антитела к Fc-фрагменту IgG и используется для диагностики РА уже более 70 лет. Однако он малоспецифичен (70%) и, встречается при других заболеваниях, которые протекают с активацией В-клеток, например СКВ, с-ме Шегрена, криоглобулинемии, хронических инфекциях. При РА РФ начинает определяться только к концу 1 года от начала заболевания, поэтому малоинформативен в диагностике дебюта РА. Большей специфичностью обладает РФ класса IgA. Другим важным семейством антител является семейство антицитруллиновых антител. Антикератиновые антитела реагируют с белком эпителиоцитов - филагрином, который после синтеза подвергается дезаминированию с помощью фермента PAD с образованием в структуре белка остатков цитруллина. Аминокислота цитруллин является основной мишенью антител при РА. В синовиальной мембране при РА отмечается высокая активность нейтрофильного фермента PAD, в результате чего в белках синовиальной оболочки и фибрине образуется множество остатков цитруллина, которые становятся мишенью аутоантител. Существует ряд методов выявления **аутоантител к цитруллину**, основным из которых является выявление антител к циклическому цитруллин-содержащему пептиду (АЦЦП или *anti-CCP* англ.), который обладает наилучшими диагностическими параметрами. Именно АЦЦП, совместно с РФ, СРБ и СОЭ, используются в критериях для постановки диагноза РА (Aletaha D. Et al., 2010). В то же время, существует несколько поколений тестов для определения АЦЦП антител. Наилучшими клинико-диагностическими параметрами, прежде всего, специфичностью, составляющей 97-98%, является антиген второго поколения CCP2. Дифференциальная диагностика артритов часто требует использования АНФ Нер2 (**тест 01.02.15.005**), типирования HLA-B27 (**тест 01.02.14.307**), а также выявления кристаллов в синовиальной жидкости (**тест 01.02.15.385**) и COMP при остеоартрозе (**тест 01.02.15.465**). В диагностике ювенильного хронического артрита рекомендуется использовать АНФ (**тест 01.02.15.005**), HLA-B27 (**тест 01.02.15.307**), исследование IL-18 (**тест 01.02.15.1510**) и белка S100 (**тест 01.02.15.1710**).

Тест 01.02.15.015 Ревматоидный фактор (РФ) и 01.02.15.585 РФ класса IgA

У 80% больных с РА можно обнаружить РФ, но он нередко отсутствует в дебюте заболевания. Встречаемость низких концентраций достигает 5% у пожилых лиц старше 65 лет. Деструктивный РА обычно отмечается на фоне высоких концентраций (> 40 IU/мл). В сомнительных случаях при изолированном РФ для повышения специфичности можно исследовать РФ IgA (**тест 01.02.15.585**)

Тест 01.02.15.065/070/075 Антикератиновые антитела (АКА)

Являются первыми изученными антицитруллиновыми антителами и входят в семейство антител к белку филагрину. Встречаемость при РА составляет 30-50%. Серопозитивность по АКА указывает на высокий риск развития костных деструкций при РА.

Тест 01.02.15.405 Антитела к модифицированному цитруллиновому виментину (MCV)

Антигеном данных аутоантител является генетически-модифицированный белок виментин, который

содержит много цитруллиновых остатков, в отличие от пептидного антигена АЦЦП. Антитела против MCV встречаются при РА несколько чаще, чем АЦЦП (до 85%), однако менее специфичны. Может быть рекомендован для скрининга РА совместно с РФ - тест **01.02.15.410.**

Тест 01.02.15.910 Антитела к Са-антигену

Антитела к Са-антигену реагируют с цитруллиновым виментином и отмечаются у 40-60% больных с РА. В отличие от антител к MCV обладают большей специфичностью и могут использоваться для подтверждения серологической реакции у больных РА.

Тест 01.02.15.081 Антитела к циклическому цитруллин-содержащему пептиду (АЦЦП), антиген второго поколения (ССР2)

Тест обладает чувствительностью 65-70% и специфичностью 98% для диагностики раннего РА, т.е. фактор риска заболевания при положительном результате обследования составляет около 30, что позволяет использовать АЦЦП в качестве основного биомаркера РА (критерии 2010). У бессимптомных доноров встречаемость 0,2-2%, серонегативных артропатиях 2-5%, СКВ 2%. АЦЦП могут появляться в крови за несколько лет до клинического развития заболевания.

Тест 01.02.15.275 Генотипирование HLA-DRB1 при ревматоидном артрите

Формирование антицитруллиновых антител тесно связано с носительством ряда генов HLA-DRB1, в которых присутствует характерная аминокислотная последовательность (общий эпитоп). Высокая аффинность таких HLA-DRB1*04 и *01 аллелей к цитруллиновым антигенам запускает РА с наибольшей частотой суставных деструкций и серопозитивностью по АЦЦП. Тест также позволяет выявлять гены, характерные для системной красной волчанки и ряда других АИЗ.

Тест 01.02.15.307 Выявление HLA-B27 методом ПЦР

Популяционная встречаемость HLA-B27 в Северной Европе составляет 6-7%, в то время как при болезни Бехтерева HLA-B27 обнаруживается в 95-100%, при других спондилоартропатиях (в том числе псориатическом артрите) в 60-70%. Риск развития б.Бехтерева в течение жизни у здоровых лиц, положительных по HLA-B27, равен около 2%. Отрицательный результат обследования значительно снижает вероятность диагностики спондилоартропатии у обследуемого.

Тест 01.02.15.307 Генотипирование HLA-B27 методом секвенирования

Поскольку существует более 160 аллелей гена HLA-B27 среди которых выделяют как патогенные (e.g. HLA-B*27:05, HLA-B*27:02 и др.), нейтральные и протективные (например HLA-B*27:09). Важную информацию имеет доза гена или зиготность, поскольку у гомозигот отмечается ранее и активное течение болезни. Также имеет значение сочетание HLA-B27 и HLA-B51 (**тест 01.02.15.1185.**)

Тест 01.02.05.265 Генотипирование HLA-Cw6 при псориазе/псориатическом артрите

Генотип HLA-Cw6 выявляется у 30% больных псориатическим артритом и у 83% больных с псориазом 1-го типа с определенными фенотипами заболевания: каплевидным псориазом, началом до 40 лет, наследственным семейным анамнезом (псориаз 1 типа). Также характерно обширное поражение верхних и нижних конечностей, туловища при отсутствии поражения кожи головы и ониходистрофии. Одной из ключевых характеристик при наличии гена HLA-Cw6 при псориазе является положительный ответ на лечение метотрексатом, устекинумабом и секукинумабом.

Тест 01.02.15.1335 Панель обследования при увеитах (HLA-B27, HLA-B51, HLA-A29, АНФ, ЭНА)

Хронические увеиты сопутствуют ряду ревматических аутоиммунных заболеваний, в том числе спондилоартропатиям, болезни Бехтерева и ювенильному хроническому артриту, а также выделяют ряд идиопатических форм (дробьевидная хореоретинопатия). Частая связь с генами HLA 1 класса позволяющая отнести их к HLA-1 ассоциированным заболеваниям.

Тест 01.02.15.465 Олигомерный матриксный белок хряща (COMP) является структурным компонентом суставного хряща, значительные количества этого биомаркера попадают в кровь при разрушении хряща при воспалительных заболеваниях суставов и остеоартрите. Постоянно повышенная концентрация COMP белка в крови указывает на хронический деструктивный артрит.

Тест 01.02.15.385 Исследование кристаллов в синовиальной жидкости

Нарушение обмена пуриновых оснований при подагре приводит к повышению содержания мочевой кислоты в крови и синовиальной жидкости. Острый приступ подагрического артрита сопровождается кристаллизацией солей с образованием кристаллов моноурата натрия. Методом их выявления является поляризационная микроскопия. Так кристаллы моноурата натрия имеют игловидную форму и обладают отрицательным двойным лучепреломлением. Кристаллы пирофосфата кальция при пирофосфатной артропатии, толще и короче и обладают положительным лучепреломлением.

Тест 01.02.15.1035 Иммуноблот антител к боррелиям IgG и IgM (14 антигенов)

Данное исследование выявляет антитела к 14 антигенам *Borrelia afzelii* (Ba), *Borrelia garinii* (Bg) и *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (Bb). В связи с персистенцией возбудителя, иммунный ответ не подчиняется классическим законам IgM-IgG перехода, поэтому даже в хронических стадиях

заболевания могут преобладать антител класса IgM. Тест выявляет антитела направленные к поверхностным и структурным антигенам боррелий, давая возможность уточнить стадию болезни, тип возбудителя, а также оценить ответ на проводимую терапию.

Тест 01.02.15.1720 Фрагменты коллагена 1 типа (alpha crosslaps) – маркер остеопороза

Коллаген 1-го типа составляет более 90% органического матрикса кости. Фрагменты коллагена, образующиеся при его деградации, поступают в кровь и выводятся почками с мочой. Тест служит для определения повышенной резорбции костной ткани, а также оценки эффективности антирезорбтивной терапии у пациентов с остеопенией, остеопорозом, костными метастазами, болезнью Педжета, рахитом, остеомалацией и гипертиреозом.

Тест 01.02.15.1715 Костный изофермент щелочной фосфатазы (остаза)

Костно-специфическая щелочная фосфатаза (остаза) – фермент, катализирующий отщепление фосфорной кислоты от ее органических соединений. Остаса является индикатором остеобластной активности и продуцируется остеобластами в местах ремоделирования кости. Определение концентрации остазы показано при обследовании пациентов с остеопорозом, болезнью Педжета, остеомалацией, первичным гиперпаратиреозом, метастазами в кости. Определение остазы является основным методом лабораторной диагностики и контроля пациентов с болезнью Педжета.

Тест 01.02.15.1615. Диагностика ахондроплазии (ген FGFR3)

Ахондроплазия (болезнь Парро-Мари) представляет заболевание с нарушением процесса роста костей. Оно проявляется карликовостью (рост менее 130 см), укорочением проксимальных отделов конечностей (короткими конечностями при обычной длине туловища), деформацией верхних и нижних конечностей, позвоночника и костей черепа. Интеллект обычно нормальный. Причиной развития ахондроплазии являются варианты гена рецептора фактора роста фибробластов 3-го типа (FGFR3), наиболее часто - в экзоне 10 (с.1138G>A и с.1138G>C). Варианты гена FGFR3 приводит к нарушению энхондрального окостенения и развитию вышеописанных симптомов.

Тест 01.02.15.1610. Диагностика гипохондроплазии (ген FGFR3)

Гипохондроплазия - скелетная дисплазия, приводящая к развитию карликовости, во многом сходная с ахондроплазией, но с менее выраженными аномалиями скелета: коренастое телосложение, укороченные конечности и пальцы, ограничение подвижности в локтевых суставах и поясничный лордоз. Варианты гена FGFR3 приводит к нарушению энхондрального окостенения и развитию вышеописанных симптомов.

Диагностика васкулитов: Болезнь Бехчета, аортоартериит и височный артериит, с-м Кавасаки, узелковый полиартериит, гранулематоз с полиангиитом, гранулематоз с эозинофилией, микрокиспический полиангиит, быстропрогрессирующий гломерулонефрит, лейкоцитокластические васкулиты, криоглобулинемия, синдром макрофагальной активации, диагностика потребления комплемента, диагностика ангионевротического отека

Васкулиты представляют собой широкий спектр заболеваний, имеющих разнообразную природу. Среди них первичные васкулиты имеют аутоиммунную этиологию, кроме того васкулиты часто являются вторичными по отношению к опухолям, инфекциям и коагулопатиям. Первичные васкулиты делят по калибру пораженных сосудов и механизму иммунологического поражения.

Васкулиты крупных сосудов (аортоартериит, височный артериит, узелковый периартериит) связаны с поражением эндотелия. Этот процесс сопровождается появлением антител к эндотелию (**тест 01.02.15.395**), острофазовым ответом СОЭ и СРБ, а также выделением специфических биомаркеров эндотелия таких как фактор фон Виллебранда (**тест 01.02.15.1535**). Важным тестом при васкулитах крупных сосудов является типирование HLA-B51 (**тест 01.02.15.1185**) при болезни Бехчета.

Гранулематозные васкулиты, такие как гранулематоз с полиангиитом, сопровождаются появлением антител к цитоплазме нейтрофилов (АНЦА) (**тест 01.02.15.680**), которые реагируют с белками азурофильных гранул цитоплазмы клеток. Воздействие АНЦА с антигенами ведет к дегрануляции нейтрофилов при трансэндотелиальной миграции и образованию воспалительной гранулемы.

Поражения мельчайших сосудов или капилляриты (лейкоцитокластические васкулиты) возникают под воздействием иммунных комплексов IgG, связывающих C1q (ЦИК) (**тест 01.02.15.725**), которые представлены полимерными иммуноглобулинами и недостаточно растворимы. Другая разновидность иммунных комплексов представлена криоглобулинами (**тест 01.02.15.150**), которые характеризуются снижением растворимости ЦИК на фоне охлаждения и являются причиной кожной пурпуры, артралгий, полиневрита и гломерулонефрита. Все варианты иммунокомплексных васкулитов обычно сопровождаются активацией комплемента по классическому пути с развитием гипокомплементемии (**тест 01.02.15.715**). Можно выявить снижение C3 и C4, а также увеличение сывороточных концентраций фактора распада комплемента C5a (**тест 01.02.15.1700**). При пурпуре

Геноха-Шонляйна и других капилляритах биопсия кожи с иммунофлюоресцентным исследованием (**тест 01.02.15.315**) позволяет обнаружить отложения иммуноглобулинов в структурах дермы.

Тест 01.02.15.395 Антитела к эндотелиальным клеткам

Антигенные мишени антиэндотелиальных антител недостаточно изучены, поэтому для выявления данных аутоантител используется нРИФ. У большинства больных с васкулитами крупных и средних сосудов, отмечается положительный результат обнаружения антител. Антитела к эндотелию могут иметь перекрестную реакцию с антифосфолипидными антителами и антителами к тромбоцитам.

Тест 01.02.15.1185 Типирование HLA-B51 при болезни Бехчета

Болезнь Бехчета (ББ) представляет собой системное аутоиммунное воспалительное заболевание, характеризующееся васкулитом, тромбозом артерий и вен всех размеров, изъязвлением слизистых, увеитом, менингоэнцефалитом, ассиметричной артропатией, гломерулонефритом, а также серозитами. До 75% пациентов с ББ являются носителями гена HLA-B51. У пациентов с ББ положительных на HLA-B51 чаще наблюдаются язвы слизистых, увеит и поражение кожи. Отсутствие аллели HLA-B51 значительно снижает риск развития ББ, но не исключает заболевание.

Тест 01.02.15.010 Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА)

Основной тест для выявления антинейтрофильных антител является нРИФ с исследованием титра и типа свечения цитоплазмы клетки. Выделяют два основных типа свечения – цитоплазматический (цАНЦА), характерный для гранулематоза, и перинуклеарный (пАНЦА), характерный для других микроскопических васкулитов. Может также выявляться нетипичный тип АНЦА (нАНЦА/xANCA), который отмечается при воспалительных заболеваниях кишечника. Существующие рекомендации по тестированию АНЦА при гранулематозных васкулитах и поражениях почек (Bossuyt X. et al. 2017) требуют совместного выявления антител к протеиназе-3 и миелопероксидазе с помощью тестов второго поколения (**тест 01.02.15.680**). При ВЗК и другой патологии целесообразно использовать метод нРИФ и выявлять АНЦА совместно с АНФ (**тест 01.02.15.035**), так как антинуклеарные антитела могут маскировать АНЦА. Сочетанное определение АНФ, АНЦА и РФ может использоваться в качестве скрининга васкулитов и ревматической патологии (**тест 01.02.15.020**).

Тест 01.02.15.680 АНЦА-скрининг; Тест 01.02.15.140 Антитела к протеиназе 3; Тест 01.02.15.135 Антитела к миелопероксидазе и тест 01.02.15.415 Антитела к антигенам антинейтрофильных антител (6 антигенов)

В азурофильных гранулах цитоплазмы нейтрофилов находится ряд белков, которые осуществляют микробицидные и бактерицидные функции этих клеток. Антитела к ним играют большое значение в диагностике васкулитов, поражений печени и заболеваний кишечника.

Антиген	Заболевание	Антиген	Заболевание
Протеиназа-3	Гранулематоз	Эластаза	СКВ, Васкулит, ВЗК (б.Крона, НЯК)
Миелопероксидаза	Полиангиит, нефрит	Белок BPI	Муковисцидоз
Катепсин G	СКВ, РА, ВЗК	Лактоферрин	Склерозирующий холангит, ВЗК

Тест 01.02.15.365 Антитела к C1q фактору комплемента

Система комплемента представляет собой группу сывороточных белков, которые совместно с иммуноглобулинами разрушают клеточные стенки бактерий и мембраны собственных клеток, пораженных вирусами. Антитела к C1q фактору комплемента способны стабилизировать C1-конвертазу и приводить к выраженной активации системы комплемента. В результате страдает стенка капилляров и развивается кожный **гипокомплементамический** васкулит. Антитела к C1q встречаются у 20-40% больных при СКВ и участвуют в поражении почек при этом заболевании, а также у 40% при иммунокомплексных васкулитах различной этиологии.

Тест 01.02.15.150 Определение криоглобулинов с активностью ревматоидного фактора

Криоглобулины отмечаются при криоглобулинемических васкулитах (криоглобулинемиях). Выделяют простую криоглобулинемию, при которой криоглобулины представлены моноклональными иммуноглобулинами одного класса. При смешанной криоглобулинемии в составе криопреципитата обнаруживаются иммуноглобулины двух классов, из которых один имеет активность РФ. В результате данного теста исследуется наличие криоглобулинов, оценивается криокрит (% от объема сыворотки) и активность РФ в преципитате. Для корректного обследования необходимо обратить внимание на строгие температурные условия забора крови и доставки биоматериала в лабораторию.

Тест 01.02.15.351 Типирование криоглобулинемии за счет определения моноклонального компонента позволяет уточнить тип криоглобулинемии.

Диагностика поражения почек: *быстро прогрессирующий гломерулонефрит, мембранозный гломерулонефрит, амилоидоз, болезнь Фабри, тубулоинтерстициальный нефрит, комплексная диагностика мочекаменной болезни*

Иммунологическое обследование при заболеваниях почек позволяет, прежде всего, выявить вторичные нефропатии на фоне системных заболеваний или васкулитов. С другой стороны, при ряде состояний, таких как синдром Гудпасчера, мембранозный гломерулонефрит, болезнь Фабри могут быть выявлены характерные лабораторные маркеры этих заболеваний. Обследование при заболеваниях почек важно дополнять исследованием системы комплемента, которое очень чувствительно к развитию иммунокомплексной патологии (см. последний раздел). Важным для выявления заболеваний почек также является детекция парапротеинемий (см. ниже), в виде **белка Бенс-Джонса (тесты 01.02.15.640/645)**, а также оценке индекса продукции свободных легких цепей иммуноглобулинов каппа/лямбда в сыворотке (**тест 01.02.15.341**). Парапротеин, представленный свободными легкими цепями, и полимеры воспалительных белков лежат в основе формирования амилоидоза почек, сопровождающего тяжелым нефротическим синдромом. **Исследование мазка подкожного жира (тест 01.02.15.360)** представляет собой быстрый и малоинвазивный метод выявления амилоидоза и хорошо коррелирует с амилоидным поражением почек.

Тест 01.02.15.085 Антитела к базальной мембране клубочка (БМК)

Антигеном антител к базальной мембране почек является коллаген IV типа, из которого состоит базальная мембрана клубочка и базальная мембрана альвеол легких. Появление антител сопровождается развитием почечно-легочного синдрома Гудпасчера. Типичными проявлениями заболевания являются быстро прогрессирующий гломерулонефрит и альвеолит. Для диагностики поражений почек и легких при васкулитах рекомендуется сочетание выявления АНФ, АНЦА и антител к базальной мембране (АНФ, АНЦА, ат к БМК) – тесты **01.02.15.090/095**

Тест 01.02.15.311 Антитела к рецептору фосфолипазы А2

При мембранозной нефропатии (идиопатический мембранозный гломерулонефрит) основным антигеном является трансмембранный гликопротеин - рецептор фосфолипазы А2 (PLA2R), экспрессирующийся на подоците. Антитела к PLA2R запускают синтез коллагена IV и ламина, и активацию комплемента с разрушением БМК и цитоскелета подоцита. Идиопатический МГН обусловлен субэпителиальными отложениями иммуноглобулинов и белков матрикса, что приводит к нефротическому синдрому, сопровождающему это заболевание. Концентрация антител выше в дебюте и при обострении и снижается на фоне эффективной терапии.

Тест 01.02.15.1115 Альфа-1 микроглобулин в разовой моче (пересчет на креатинин)

Альфа-1 микроглобулин (массой 27 кДа) вырабатывается печенью, фильтруется в мочу и полностью реабсорбируется проксимальными канальцами. Не является реактантом острой фазы, поэтому его синтез стабилен. В моче он подавляет образование мочевых конкрементов и обладает антибактериальным действием. Мочевая экскреция А1МГ-индикатор состояний с поражением канальцев, например интоксикации тяжелыми металлами, ишемии почки, обструктивной задержки мочи, тубуло-интерстициального нефрита, диабетической нефропатии и пиелонефрита.

Тест 01.02.15.1140 Антитела к базальным мембранам канальцев

Антитела к базальным мембранам канальцев являются маркером тубулярной нефропатии, сопровождающейся микрогематурией, протеинурией и полиурией, а также интерстициальным инфильтратом с поражением канальцев, выявляемым при биопсии почки.

Тест 01.02.15.1150 Генотипирование при болезни Фабри

Болезнь Фабри представляет собой X-сцепленное заболевание, при котором мутации в гене GLA снижают активность фермента альфа-галактозидазы А. Классическая форма развивается у мужчин и характеризуется акропарестезией, ангиокератомами, выраженным нарушением работы почек, офтальмологическими, кардиологическими и неврологическими нарушениями. У гетерозиготных носителей мутаций женского пола наблюдается легкая форма болезни Фабри, проявляющаяся хронической болезнью почек, ишемическими нарушениями головного мозга, а также гипертрофией левого желудочка. Рекомендуется проведения исследования у родственников.

Тест 01.02.15.360 Исследование подкожного жира для выявления амилоидоза

Исследование мазка подкожного жира (околопупочно) позволяет малоинвазивно выявить скопления амилоида в ткани с помощью окрашивания Конго рот. Метод хорошо коррелирует с результатами выявления амилоида в других органах. Также для дифференциальной диагностики первичного амилоидоза рекомендуется исследование свободных легких цепей в крови (**тест 01.02.15.341**) и генотипирование транстретинового амилоидоза (**тест 01.02.15.1605**).

Тест 01.02.15.885 Определение состава мочевого конкремента при МКБ

Мочекаменная болезнь (МКБ) поражает до 0,5% всей популяции, при этом до 40% случаев камнеобразования рецидивирует. Профилактика рецидива (метафилактика), а, в ряде случаев, и лечение МКБ, основано на представлении о химическом составе мочевых конкрементов. В состав мочевых камней входят различные минералы, преимущественно образованные на основе фосфатных солей кальция, щавелевой кислоты (оксалаты), аммонийных фосфатов (струвита), а также мочевой кислоты и ее солей. Спектроскопический анализ конкремента позволяет узнать его состав и определить правильную тактику лечения по рекомендациям EAU (Türk C. et al. 2017).

Тест 01.02.15.1090 Биохимическое определение литогенных субстанций в суточной моче (кальций, магний, оксалаты, фосфор, мочевая кислота, цитрат, креатинин)

В соответствии с рекомендациями EAU 2017 по диагностике мочекаменной болезни для определения причины камневыделения и планирования метафилактики у групп риска необходим двухразовый анализ экскреции основных литогенных субстанций в суточной моче. Возможен анализ разовой (ранней утренней) мочи (**тест 01.02.15.1095**), хотя он менее точен по сравнению с суточной экскрецией, но пересчет на креатинин позволяет нормализовать исследуемые показатели. Изменение экскреции кальция с мочой является частой причиной формирования оксалатных конкрементов, поэтому **тест 01.02.15.1100** позволяет определить и мониторировать нарушение экскреции кальция, в силу разных причин, в том числе, повышенной чувствительности рецептора (VDR) к витамину D (**тест 01.02.15.1220**), приводящей к адсорбционной гиперкальциурии.

Диагностика анемий: железодефицитная, мегалобластная и гипопролиферативные анемии, гемолитические анемии, сфероцитоз, глюкозо-6 фосфат дегидрогеназа, гемоглобинопатии.

Анемии представляют собой широкий спектр как самостоятельных заболеваний, так и вторичных состояний, причем их патогенез может включать несколько независимых механизмов.

Железодефицитная анемия характеризуется снижением общих запасов железа, а также вторичным увеличением предшественников эритропоэза, что отличает ее от **гипопролиферативных анемий**, связанных с воспалением, патологией почек, обменной патологией или поражением костного мозга. Патология кишечника также является частой причиной железодефицита (**тесты 01.02.15.720/735/260**). К **обменным анемиям** также относят мегалобластные анемии, причиной которых являются аутоиммунные нарушения всасывания в желудке и кишечнике (**тесты 01.02.15.050/211/256/546/1055/1060**), а также нарушение обмена фолатов (**тест 01.02.15.1190**).

Анемии смешанного генеза сопутствуют аутоиммунным поражением кишечника, таким как атрофический аутоиммунный гастрит, целиакия, ВЗК. Обязательным тестом при железодефиците является исследование стула с исследованием кальпротектин и гемоглобин (**тест 01.02.15.735**).

К **гемолитическим анемиям**, относят заболевания с разными механизмами. Аутоиммунные гемолитические анемии, обусловлены антиэритроцитарными антителами или **гемолизинами** (**тест 01.02.15.890**), кроме того выделяют холододые гемолизины (**тест 01.02.15.900**), которые обычно связаны с моноклональным парапротеином (**тест 01.02.15.421**).

Патогенез неиммунных гемолитических анемий очень разнообразен. **Гемоглобинопатии и талассемии** связаны с патологией синтеза гемоглобина, **энзимопатии (Г6ФДГ)** с дефектом антиокислительных ферментов, **сфероцитоз** - с дефектом мембраны эритроцита. Важнейшим тестом для дифференциальной диагностики неиммунных гемолитических анемий служит определение осмотической резистентности эритроцитов (**тест 01.02.15.930**).

Снижение уровня комплемента сыворотки крови (**тест 01.02.15.715**) отмечается при таких состояниях как пароксизмальная ночная гемоглобинурия и атипичный гемолитический уремический синдром. При **костномозговых апластических анемиях** обследование может выявить вторичную причину, е.г. системное ревматическое заболевание, гемофагоцитоз или парапротеинемию (**тесты 01.02.15.245/421/506**), кроме того, полезно исследование генов клонального гемопоэза (**тест 01.02.05.725**).

Среди неиммунных гемолитических анемий можно особо выделить **талассемии и гемоглобинопатии**, которые входят в число самых частых наследственных заболеваний (~7%), которыми повсеместно страдают более 250 млн человек. Распространенность в России малых форм талассемии неизвестна, но по большинству оценок может превышать 0,5%, при этом анемия напоминает таковую при железодефиците, но не отвечает на препараты железа и сопровождается высоким риском гемохроматоза.

Тест 01.02.15.890 Скрининг полиспецифических агглютининов (прямая проба Кумбса)

Тест выявляет антиэритроцитарные антитела класса IgG и C3d-компонент комплемента на поверхности эритроцитов. Развернутое исследование **моноспецифических агглютининов Кумбс-профиль** (**тест 01.02.15.895**) позволяет определить антиэритроцитарные антитела классов IgG, IgA, IgM, C3c, C3d. Гемолитические анемии, обусловленные появлением аутоантител гемолизин/агглютининов, также протекают с выраженной активацией системы комплемента (и его

потреблением). Прямая проба Кумбса часто отмечается при СКВ, даже в отсутствии проявлений гемолиза и входит в критерии диагностики волчанки.

Тест 01.02.15.900 Определение холодовых агглютининов

Гемолизины/агглютинины, которые проявляют активность только при низких температурах, являются причиной холодового гемолиза. Нередко холодовые агглютинины являются моноклональным парапротеином, который может быть выявлен с помощью скрининга **теста 01.02.15.421.**

Тест 01.02.15.940 Растворимый рецептор трансферрина (ррТФ)

Растворимый рецептор трансферрина (ррТФ) представляет собой рецептор для захвата трансферрина, основной формы переносимого железа в крови. Наибольшее количество рТФ находится на эритроидных предшественниках и при их пролиферации рТФ слущивается с мембраны и оказывается в крови. Увеличение ррТФ сыворотки возникает при увеличении эритроидного роста при железодефиците. В отличие от ферритина концентрация ррТФ не чувствительна к системному воспалению и не дает ложных результатов при воспалении, более того, исследование обоих маркеров целесообразно сочетать для увеличения информативности обследования.

Тест 01.02.15.1670 Исследования гепсидина

Гепсидин является полипептидным гормоном, синтезируемым печенью в ходе острофазовой реакции, а также в ответ на перегрузку железом, обеспечивая ее защиту от перегрузки железом. Гепсидин снижает всасывания железа из кишечника, что позволяет регулировать общий объем поступающего в организм железа. Повышенный уровень гепсидина отмечается при острофазовом ответе, переизбытке поступающего в организм железа, в том числе приеме препаратов железа, талассемии, гемохроматозе. При исследовании риска развития гемохроматоза целесообразно генотипирование HFE гена для определения патогенных вариантов (**тест 01.02.15.1020.**)

Тест 01.02.15.945 Коэффициент растворимый ррТФ/ферритин

Для диагностики железодефицита наилучшим тестом представляется расчетный коэффициент, объединяющий два наиболее чувствительных теста для выявления дефицита железа, даже на фоне хронических заболеваний. При железодефиците снижен ферритин сыворотки, отражающий общие запасы железа, но увеличивается пул эритроидных предшественников, которые являются источником ррТФ. При гипопролиферативных анемиях, таких как анемия хронического воспаления или почечная анемия, общие запасы железа остаются в норме, поэтому ферритин не изменен или даже повышен вследствие воспаления, а пролиферации эритроидных предшественников не возникает. Это позволяет использовать тест ррТФ/ферритин как оптимальный маркер выявления дефицита железа при определении показаний к терапии.

Антитела к фактору Кастла - внутреннему фактору (АВФ)

Аутоиммунный гастрит является очень распространенной патологией, сопутствующей многим аутоиммунным заболеваниям, поражающей более 2% лиц старше 60 лет. АПКЖ присутствуют у 90% больных с аутоиммунным гастритом, 60% больных с пернициозной анемией и 30% больных с тиреоидитом Хашимото. При гастрите АПКЖ целесообразно выявлять совместно с антителами к *Helicobacter pylori* класса IgG - **тест 01.02.15.295.** Антитела к внутреннему фактору участвуют в развитии витаминно-дефицита, поскольку обуславливают нарушение всасывания витамина В12 и, как следствие, развитие его дефицита. Отмечаются у 70-80% больных с пернициозной анемией. Рекомендуется исследовать совместно с АПКЖ (**тест 01.02.15.610**). Кроме того криптогенной причиной развития анемии при АВЗ является целикия, скрытые формы которой возникают при многих АИЗ. Для скрининга целикии целесообразно проводить серологическое **тест 01.02.15.211** и генетическое тестирование **тест 01.02.15.43.**

Тест 01.02.15.720 Гемоглобин и гемоглобин-гаптоглобин в стуле (FOBТ)

Гемоглобин в стуле или *fecal occult blood test* (FOBТ) является методом для исключения кровотечения из нижних отделов кишечника, в том числе при воспалениях стенки кишки и онкологических заболеваниях. В отличие от химического метода определения железа в стуле, иммунохимическое определение гемоглобина не только чувствительнее, но не изменяется при потреблении мясной пищи, богатой железом. Гемоглобин-гаптоглобиновый комплекс образуется при кровотечениях из ободочной кишки, в то время как источником гемоглобина являются полипы сигмовидной и прямой кишки. FOBТ совместно с определением кальпротектина в стуле, который указывает на воспаление кишечника, применяется в исследовании стула **тест 01.02.15.735**

комплексный фекальный скрининг поражения кишечника, который позволяет определить необходимость колоноскопии и эндоскопического исследования тонкого кишечника для определения причины воспаления и кровоточивости в стенке кишки.

01.02.15.930 Осмотическая стойкость эритроцитов

Определение диапазона стойкости эритроцитов к осмотическому лизису растворами NaCl различных концентраций представляет функциональный тест структурных свойств эритроцитов. Наследственный сфероцитоз характеризуется анемией с появлением в крови сфероцитов, эллиптоцитов или стоматоцитов. Основной особенностью сфероцитов является их сниженная стойкость в гипотонических растворах, что свидетельствует о структурных дефектах мембраны эритроцита, обусловленных генами мембранных белков. Частая умеренная анемия и желчнокаменная болезнь в молодом возрасте являются основными клиническими проявлениями заболевания. В отличие от сфероцитоза, при гемоглобинопатиях возникает относительный избыток мембраны, что ведет к увеличению осмотической стойкости клеток для гипотонического лизиса, поэтому тест позволяет проводить дифференциальный диагноз между наиболее частыми причинами наследственных гемолитических анемий.

Тест 01.02.15.950 Активность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Г6ФДГ)

Фермент Г6ФДГ принимает участие в синтезе глутатиона, небольшой молекулы, роль которой состоит в захвате свободных радикалов кислорода, в избытке образующихся в эритроците. Наследственный дефект Г6ФДГ является частой находкой в Южной Европе, Среднем Востоке, Африке и Азии. У лиц часто отмечается выраженная желтуха новорожденных (особенно вместе с UGT1A1 мутацией при с.Жильбера), а в зрелом возрасте может развиваться гемолитический криз в ответ на инфекции или препараты, желчнокаменная болезнь и хроническая гемолитическая анемия.

Тест 01.02.05.725 Генотипирование панели генов клонального гемопоэза (частые мутации генов JAK-2, CALR, MPL)

Мутации стволовых клеток гемопоэза приводят к формированию эссенциального эритроцитоза (JAK-2) и тромбоцитоза (MPL/CALR), что приводит к повышенному риску ряда гематологических неоплазм, миелофиброза. Мутация V617F в 14 экзоне гена JAK2 (Янускиназа-2) является маркером Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний: истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии и первичного миелофиброза. Данный маркер входит в критерии диагностики миелопролиферативных заболеваний, а также может встречаться при остром миелоидном лейкозе и миелодиспластическом синдроме, но значительно реже. Мутации 515 кодона гена MPL (рецептор тромбопоэтина) могут быть обнаружены у 3-5% больных эссенциальной тромбоцитемией и 5-8% больных первичным миелофиброзом. Мутации, делеции, инсерции в гене CALR (кальретикулин) выявляются у 20% больных с эссенциальной тромбоцитемией и 25% больных с первичным миелофиброзом.

Тест 01.02.15.506 Определение процента гликирования ферритина (БМК)

Синдром макрофагальной активации (МАС) представляет собой аутоиммунное состояние, сопровождающееся гемофагоцитозом, анемией, лихорадкой, гепатоспленомегалией, лимфаденопатией, поражением печени, ДВС и неврологическими проявлениями. Источником выраженной гиперферритинемии служат макрофаги костного мозга и селезенки. Продуцируемый макрофагами ферритин не гликозилирован, т.е. лишен остатков сиаловых кислот, в отличие от нормального ферритина, синтезируемого печенью. Низкий процент гликирования ферритина (<30%) указывает на активацию макрофагов и может использоваться для постановки диагноза.

Тест 01.02.15.1135 Электрофорез гемоглобина для диагностики гемоглобинопатий

Современный метод капиллярного изоэлектрофокусирования гемоглобинов позволяет детектировать основные фракции гемоглобина HbA, HbA2 и HbF, сравнительный анализ которых позволяет сделать вывод о дефекте синтеза нормального (HbA) гемоглобина. Кроме того, метод позволяет выявлять структурные варианты гемоглобина (HbS, HbE, HbC, HbH), множество редких гемоглобинопатий (>100). Электрофорез (изоэлектрофокусирование) гемоглобина хорошо выявляет все формы бета-талассемии, большинство гемоглобинопатий, но сравнительно нечувствителен для малых форм альфа-талассемии (-N/ΛΛ и (Λ-)/Λ-).

Тест 01.02.15.1135 Электрофорез гемоглобина для диагностики гемоглобинопатий

Современный метод капиллярного изоэлектрофокусирования гемоглобина позволяет детектировать основные его фракции HbA, HbA2 и HbF, сравнительный анализ которых позволяет сделать вывод о дефекте синтеза нормального (HbA) гемоглобина. Кроме того, метод позволяет выявлять структурные варианты гемоглобина (HbS, HbE, HbC, HbH), множество редких (>100) гемоглобинопатий. Электрофорез (изоэлектрофокусирование) гемоглобина хорошо выявляет все формы бета-талассемии, большинство гемоглобинопатий, но сравнительно нечувствителен для диагностики малых форм альфа-талассемии (-N/ΛΛ).

Тест 01.02.15.1460 Генетическая диагностика альфа-талассемии (ген HBA1,2, HS40)

Генотипирование гена гемоглобина HBA1 и HBA2, включающее его регуляторную область HS40, позволяет выявить протяженные делеции генетического материала, и является основным методом

диагностики альфа-талассемии. Повреждение одного или двух генов гемоглобина вызывает малые формы заболевания (- α/α и (α -/ α -), а более значительные нарушения приводят к синтезу HbH гемоглобина и тяжелой симптоматике заболевания.

Тест 01.02.15.1465 Генетическая диагностика бета-талассемии (гене HBB)

Секвенирование гена гемоглобина HBB является основным методом диагностики бета-талассемии и гемоглобинопатий, поскольку позволяет выявить широкий спектр (>1000 описанных вариантов) гена, многие из которых являются причиной серповидноклеточной анемии, синтеза структурных вариантов гемоглобина (HbE, HbC, и др.), бета-талассемии, а также ряда гемоглобинопатий. Клинический спектр патологии варьирует от микроцитарной гемоглитической анемии (с увеличением риска тромбозов), до симптоматики больших форм талассемии и серповидноклеточной анемии.

Диагностика заболеваний легких и сердца: саркоидоз, ХОБЛ, эмфизема, альвеолиты, миокардит, наследственный TTR-амилоидоз.

Саркоидоз представляет собой хронический гранулематозный процесс, обычно поражающий лимфатические узлы средостения. Кроме поражения легких, нередко отмечается внелегочная симптоматика, такая как увеит, узловатая эритема, артриты, образование гранулем в ЦНС, напоминающих рассеянный склероз. Гранулемы, состоящие из воспалительных клеток метаболически активны и синтезируют медиаторы иммунного ответа. Одним из продуктов саркоидных гранулем является **ангиотензин-превращающий фермент (АПФ)**. Его активность при саркоидозе уравнивается другими системами регуляции артериального давления. Синтез АПФ зависит от общего числа количества гранулем, его содержание выше при внелегочных проявлениях.

Механизм поражения при альвеолитах зависит от наличия или отсутствия экзогенного антигена. При экзогенных аллергических альвеолитах экзогенный антиген (аллерген) поступает в легкие с вдыхаемым воздухом и приводит к постепенному утолщению альвеолярной мембраны. Распространенными экзогенными аллергенами являются **антигены грибка *Aspergillus fumigatus***, который широко распространен в окружающей среде. Выявление антител класса IgG является типичным для экзогенного аллергического альвеолита.

Хроническая воспалительная реакция в легких возникает при многих заболеваниях и состояниях, в том числе при курении и производственной вредности. В регуляции воспалительных процессов в ткани большое значение имеют ингибиторы протеаз, прежде всего **альфа-1 антитрипсин**. Снижение его продукции или синтез неполноценных форм приводит к ХОБЛ и эмфиземе.

Тест 01.02.15.370 Активность ангиотензин-превращающего фермента сыворотки

Повышенная активность ангиотензин-превращающего фермента (дипептидил-карбоксипептидаза) обнаруживается при сердечно-сосудистых заболеваниях и саркоидозе. При саркоидозе высокая ферментативная активность отмечается у 70% пациентов, причем чаще при внелегочном поражении. Повышенная активность фермента является фактором риска инфаркта, а ее мониторинг может использоваться для оптимизации дозы ингибиторов АПФ. Активность фермента может быть неспецифически повышена при инфекциях мочевыводящих путей, СПИДе.

Тест 01.02.15.501 Иммунофенотипирование альфа-1-антитрипсина (A1AT)

A1AT представляет собой эндогенный ингибитор сериновых протеаз, играющий важное значение в регуляции процессов апоптоза, антимикробной защиты и иммунном ответе. Под альфа-1-антитрипсиновой недостаточностью (AATN) понимают количественный или качественный дефицит A1AT вследствие патогенных аллелей гена Pi. С помощью метода изоэлектрофокусирования (ИЭФ) возможно определение более 100 различных фенотипических вариантов AAT, среди которых наиболее часто встречающимися и клинически значимыми являются Z и S-формы. Дефектные аллельные формы обуславливают развитие клинических проявлений AATN в виде хронических неспецифических заболеваний лёгких (ХОБЛ) с развитием эмфиземы, а также поражения печени (за счет полимеризации молекул A1AT в гепатоцитах). Часто AATN выявляется на фоне первичных васкулитов, в том числе, с поражением легких. Лица, имеющие AATN, имеют особенно высокий риск ХОБЛ, который провоцируется курением и профессиональными вредностями.

Тест 01.02.15.375 Диагностика экзогенного аллергического альвеолита

Антитела к *Aspergillus fumigatus* класса IgG значительно повышены у больных с экзогенным альвеолитом, легочным и внелегочным аспергиллезом. Обнаружение антител подтверждает диагноз, однако, учитывая разнообразные причины экзогенного альвеолита, отсутствие антител не исключает заболевание, однако снижает вероятность того, что аспергиллез является его причиной.

Тест 01.02.15.170 Определение антител к миокарду

Антитела могут быть направлены к многим структурам миокарда, включая сарколемму и сократительные белки. На молекулярном уровне описаны около 10 антигенов антимиокардиальных антител. Метод непрямой иммунофлуоресценции позволяет выявлять сарколеммный (миоцеллемный)

тип свечения, который определяется антителами к мембранным антигенам, в том числе адренергическим рецепторам, и миофибриллярный тип свечения, связанный с появлением антител к сократительным и структурным белкам миокарда. Антитела к миокарду отмечаются при аутоиммунных и иммуопосредованных заболеваниях сердца, включая синдром Дресслера, посткардиотомический синдром, дилатационную кардиомиопатию, миокардит и ревмокардит. В то же время антитела могут отмечаться у 2-10% здоровых лиц без признаков клинического поражения сердца, что уменьшает специфичность обследования.

Тест 01.02.15.1605. Генодиагностика транстретинового амилоидоза (ген TTR)

Транстретиновый амилоидоз (ATTR, TTR-амилоидоз) - наиболее распространенная форма наследственного (семейного) амилоидоза, возникающего вследствие носительства патогенного варианта гена TTR, кодирующего белок транстретин (транспортный белок плазмы крови). Наиболее распространёнными клиническими формами TTR-амилоидоза являются поражение сердца с развитием рестриктивной кардиомиопатии и амилоидная полинейропатия. Данный тест направлен на выявление мутаций в 2, 3, 4 экзонах гена TTR. Целесообразно сочетать генотипирование TTR с исследованием мазка подкожного жира (**тест 01.02.15.360**, кроме того при подозрении на первичный амилоидоз рекомендовано исследование свободных легких цепей (**тест 01.02.15.341**).

Диагностика парапротеинемий: множественная миелома, болезнь легких цепей, амилоидоз, болезнь Вальденстрема, моноклональная гаммапатия невыясненного значения (МГНЗ)

Парапротеины (ПП) являются первыми описанными опухолевыми маркерами, т.е. отражают объем опухоли. Парапротеины встречаются как при онкологических, так и при других патологических процессах, отражая нарушенное функционирование иммунной системы. Молекулы парапротеина происходят из моноклональных иммуноглобулинов и синтезируются плазматическими клетками. Поликлональные молекулы иммуноглобулинов включают тяжелую (IgA-альфа, IgG- гамма, IgM- мю, IgD- дельта, IgE-эпсилон) и легкую (каппа или лямбда) белковые цепи. Тяжелая цепь иммуноглобулина определяет его класс и подкласс. Каждый клон плазматцитов экспрессирует легкие цепи только одной разновидности. Наряду с легкими цепями в составе парапротеина могут синтезироваться свободные легкие цепи (СЛЦ) иммуноглобулинов (**тест 01.02.15.341**), которые могут секретироваться изолированно, что сопровождается изменением индекса каппа/лямбда.

Наряду с определением плазматических клеток в костном мозге и симптомами CRAB, действующие Международные рекомендации по диагностике миеломы 2014 года (Rajkumar S et al. 2014) включают выявление выраженного изменения измененного индекса СЛЦ (>100 или <0.01). Хотя выявление парапротеина непосредственно не учитывается при постановке диагноза миеломы, содержание парапротеина используется для классификации предзаболеваний, в том числе МГНЗ и тлеющей миеломы, а также при мониторинге эффективности лечения миеломы.

У большинства пациентов с миеломой парапротеин может быть обнаружен за 5 лет и более до начала клинической картины, что первоначально расценивается как МГНЗ. Наблюдается увеличение встречаемости ПП с возрастом; в бессимптомной популяции большинство случаев представлено МГНЗ. Кроме того, большое значение имеет диагностика парапротеинемий с клиническим значением в рамках амилоидоза, криоглобулинемий, поражений почек, полинейропатии, гемолитических анемий, POEMS-синдрома и ряда других состояний. Это привело к выделению этой группы заболеваний в отдельную нозологическую форму (Femand J.P et al. 2018).

Значение обнаружения парапротеинемии в популяции приведено ниже:

Прогноз заболевания	Состояние	Вероятность (%) при ПП
Злокачественные процессы	Миелома	61%
	Лимфома	5%
	Макроглобулинемия Вальденстрема	4%
	Плазмацитома	3%
	ХЛЛ	1%
Незлокачественные парапротеинемии	Амилоидоз	2%
	Криоглобулинемия/моноклональный РФ	2%
	Гампатия ренального значения (МГРЗ)	2%
	Периферическая нейропатия	1%
Асимптоматические	МГНЗ(без прогресса за 5 лет)	18%
	Транзиторное (пожилой возраст)	1%

Накопление массы злокачественных плазматических клеток приводит к уменьшению популяции плазматцитов костного мозга, что ведет к подавлению продукции нормальных иммуноглобулинов (иммунопарезу). При транзиторных парапротеинемиях синтез парапротеина происходит на поликлональном фоне, и не ведет к угнетению синтеза защитных иммуноглобулинов крови.

Наилучшим методом определения парапротеина в сыворотке крови является количественный метод иммунофиссации. Иммунофиссация позволяет сначала разделить белки в геле методом зонального электрофореза, а затем места локализации моноклонального парапротеина окрашиваются специфическими антисыворотками против иммуноглобулинов человека. Одновременный анализ сыворотки и мочи является основой в диагностике парапротеинемий. Фрагменты иммуноглобулинов могут быть обнаружены в моче в виде белка Бенс-Джонса (ББД). При доброкачественных парапротеинемиях ББД в моче не обнаруживается, что позволяет использовать ББД как один из методов определения злокачественности парапротеинемий.

Тест 01.02.15.421 Скрининг парапротеинемий методом иммунофиссации сыворотки

Данный метод представляет сочетание электрофореза белков сыворотки и иммунофиссации с многокомпонентной (поливалентной) антисывороткой. Электрофорез белков позволяет проводить количественную оценку, а иммунофиссация выявляет моноклональный компонент.

Проведение данного исследования позволяет точно выявить моноклональную фракцию и с помощью денситометрического измерения рассчитать количественное содержание парапротеина в сыворотке, однако не позволяет провести его типирование. Этот тест рекомендован как для скрининга парапротеинемий у пациентов с симптомами парапротеинемии (боли в костях, лихорадка, повышенное СОЭ, нарушение функции почек, полинейропатия и т.д.), так и при мониторинге эффективности лечения миеломы и других плазматочных дисплазий. Комбинированный **скрининг парапротеинов в сыворотке и моче (тест 01.02.15.421)** позволяет проводить раннее выявление миеломы и гемобластозов.

Тест 01.02.15.640 Скрининг белка Бенс-Джонса в моче с помощью иммунофиссации и типирование протеинурии

Выявление ББД в моче с помощью иммунофиссации с поликомпонентной антисывороткой позволяет детектировать полимеры свободных легких цепей в моче, которые являются одним из основных характерных проявлений клинически значимой парапротеинемии (включая миелому, амилоидоз и болезнь отложений легких цепей). Одновременный анализ протеинограммы мочи позволяет количественно определить содержания белка ББД. Скрининговое определение ББД позволяет отличить моноклональную гаммапатию невыясненного значения от злокачественных парапротеинемий. Количественное определение ББД в суточной моче позволяет оценивать динамику парапротеиновых белков в ходе терапии заболевания. **Иммунофиссация белка Бенс-Джонса (тест 01.02.15.645)** позволяет типировать состав ББД. При отсутствии ББД анализ белкового состава мочи позволяет определить основные типы протеинурии: гломерулярная (селективная, неселективная), тубулярная, функциональная, переполнения и т.д.

Тест 01.02.15.655 Иммунофиссация IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, K, Λ цепей в сыворотке крови

В процессе иммунофиссации белки сыворотки разделяются с помощью электрофореза и окрашиваются соответствующими антисыворотками против основных классов иммуноглобулинов и легких цепей. Такое обследование позволяет определить основные формы парапротеинемий. В случае обнаружения только изолированной моноклональной легкой цепи производится дополнительная реакция с антисыворотками IgE и IgD.

Тест 01.02.15.645 Иммунофиссация парапротеинемий в разовой/суточной моче

Появление моноклональных свободных легких цепей в моче (белок Бенс-Джонса) встречается у большинства пациентов с миеломой и свидетельствует о поражении тубулярного аппарата почки.

Тест 01.02.15.341 Свободные легкие цепи иммуноглобулинов каппа и лямбда в сыворотке с расчетом индекса (Freelicht) каппа/лямбда

Свободные легкие цепи (СЛЦ) иммуноглобулинов являются фрагментам полных молекул иммуноглобулинов, однако они синтезируются с избытком и попадают в кровь. Увеличение синтеза СЛЦ каппа- и лямбда- типов возникает при большинстве случаев острого и хронического воспаления, а пропорциональное увеличение отмечается при многих АИЗ. На фоне парапротеинемии наблюдается рестрикция синтеза, т.е. преимущественно синтезируется только каппа- СЛЦ или только лямбда-СЛЦ. Чтобы оценить диспропорцию синтеза используется индекс концентраций каппа/лямбда, который указывает, какая из цепей синтезируется с избытком. Значительное изменение индекса указывает на парапротеинемию, которая, в ряде случаев, возникает без синтеза полных молекул иммуноглобулинов. СЛЦ часто вызывают поражение почек, а также амилоидоз.

Тест 01.02.15.451 Свободные легкие цепи в моче

Фрагменты иммуноглобулинов (**легкие цепи**) могут быть обнаружены в моче благодаря концентрирующему эффекту в почках, однако значимые концентрации СЛЦ появляются в моче на фоне протеинурии переполнения, которая соответствует как увеличению секреции легких цепей в мочу, так и миеломному поражению канальцев почки.

Тест 01.02.15.476 Определение бета 2 микроглобулина

Бета 2 микроглобулин является структурным компонентом молекул HLA 1 класса, повышенная экспрессия которых наблюдается на В-лимфоцитах и плазматических клетках. Концентрации свободного В2МГ в крови повышены при миеломе и лимфомах, и его измерение в сыворотке крови позволяет оценить прогноз этих заболеваний.

Тест 01.02.15.870 Диагностика синдрома гипервязкости

Вязкость крови может повышаться при увеличении числа форменных элементов (полицитемии, и лейкомиях) и увеличения вязкости плазмы крови вследствие увеличения концентрации белка при миеломе и макроглобулинемии Вальденстрема. Характерная триада синдрома гипервязкости крови включает кровоточивость слизистых, нарушение зрения и неврологическую симптоматику от головных болей до атаксии. Часто отмечается сердечная недостаточность, одышка, анорексия.

Тест 01.02.15.540 Определение концентрации подкласса IgG4

Увеличение содержания подкласса IgG4 отмечается при ряде состояний, которые получили название «IgG4-ассоциированные заболевания». Для этой группы заболеваний характерен выраженный фиброз тканей, с их инфильтрацией IgG4-синтезирующими плазматическими клетками. При проведении электрофореза белков сыворотки, увеличение IgG4 выглядит как моноклональный компонент и может имитировать парапротеин при проведении иммунофлюоресценции. Для определения уровня синтеза подкласса IgG4 определяется его количественное содержание, а также рассчитывается индекс IgG4/общий IgG сыворотки (в норме <20%). Определение других подклассов иммуноглобулина IgG проводится с помощью **теста 01.02.15.1570**.

Патология комплемента, цитокины и биомаркеры: иммунокомплексная патология и потребление комплемента, тромботическая микроангиопатия, ангионевротический отек, гемолитический уремический синдром, болезнь фон Виллебранда, аутовоспалительные заболевания синдром макрофагальной активации,

Исследование белков системы комплемента имеет большое значение в диагностике и дифференциальной диагностике васкулитов. Комплемент насчитывает около 30 растворимых и мембранных белков и ингибиторов, которые находятся в сложном балансе. Классический путь активируется иммуноглобулинами и иммунными комплексами, альтернативный – самопроизвольной активацией C3 на незаряженных клеточных мембранах, а маннозный путь – при взаимодействии ЛПС клеточной стенки бактерий в комплексе с лектиновыми белками и СРБ. Потребление компонентов классического пути (сочетанное снижение C3 и C4) отмечается при васкулитах, а также другой иммунокомплексной патологии, в т.ч. СКВ, АФС, криоглобулинемии и септических заболеваниях, альтернативного пути (снижение только C3) при постстрептококковом гломерулонефрите, мезангиокапиллярном гломерулонефрите, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, ГУС/ТТП и липоатрофии (**тест 01.02.15.715**). Существуют ряд растворимых и мембранных ингибиторов системы комплемента, дефицит которых приводит к хронической активации комплемента и повреждению ткани, в частности, ангионевротическому отеку (**тест 01.02.15.705**), гемолитическому уремическому синдрому (**тест 01.02.15.1705**).

Диагностика аутовоспалительной патологии требует исследования ряда биомаркеров воспаления, среди которых важнейшими являются IL-18, кальгранулин (белок S-100 A8/A9), IL-6, прокальцитонин и неоптерин. Также сосудистое повреждение при васкулитах характеризуется крайне высокими уровнями плазменного фактора фонВиллебранда (vWF). Также исследование vWF и его функции важны для постановки диагноза болезни фонВиллебранда.

Тест 01.02.15.700 Общая гемолитическая способность сыворотки (CH-50)

Определение CH-50 представляет собой интегративный метод оценки активности факторов комплемента классического пути, т.е. связанному с активацией комплемента под действием антител (и аутоантител). Кроме того, CH-50 определяет активность терминальных компонентов системы комплемента (т.н. МАК-комплекса). Низкая активность CH-50 отмечается как при потреблении комплемента в ходе иммунокомплексного процесса, так и при врожденном дефиците компонентов комплемента (например C2 или C4), приводящего к иммунодефициту и предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям. **Исследование CH-50 в комплексе с оценкой концентраций C3 и C4 (тест 01.02.15.715)** позволяет выявить потребление факторов комплемента при иммунокомплексной патологии или поставить диагноз иммунодефицита системы комплемента.

Тест 01.02.15.1700 Исследование C5a при активации комплемента

Расщепление C5 фактора комплемента C5 конвертазой является итогом запуска всех трех путей активации системы комплемента (классического, альтернативного и лектинового), а его протеолитическая активность приводит к формированию мембрано-атакующего комплекса. Фактор

C5a (анафилотоксин), является продуктом деградации C5 и представляет собой хемоаттрактант и мощный провоспалительный агент. Таким образом, уровни C5a в плазме крови можно рассматривать как интегральный показатель активации системы комплемента. Уровень C5a повышается при заболеваниях с системной активацией комплемента, в том числе C3-гломерулопатии (болезни плотных депозитов и других гломерулонефритах), атипичном ГУС, почечной СКВ, комплемент-опосредованной микроангиопатии, сывороточной болезни и системной иммунокомплексной патологии.

Тест 01.02.15.725 Иммунные комплексы класса IgG, связывающие C1q (C1q-IgG-ИК)

В отличие от распространенных, но часто ошибочных методов определения циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) с помощью преципитации ПЭГ, метод связывания C1q позволяет с высокой специфичностью выявить иммунокомплексную патологию и определить причину потребления комплемента (**тест 01.02.15.715**). Совместно с тестом по определению CН-50, определение C1q-IgG-ИК позволяет проводить диагностику вторичной иммунокомплексной патологии при АИЗ и иммунокомплексных васкулитах (**тест 01.02.15.020**).

Тест 01.02.15.1560 Исследование концентрации ингибитора C1-эстеразы (C1INH)

Ингибитор C1-эстеразы является основным растворимым ингибитором классического пути системы комплемента, и его функциональный дефицит ведет к рецидивирующему ангионевротическому отеку. Выделяют наиболее частую врожденную и редкие приобретенные формы этого заболевания. У большинства пациентов с дефицитом C1INH отмечается низкое содержание C4 компонента комплемента в сыворотке крови, что указывает на его потребление по классическому пути. Исследование содержания C1INH в плазме следует дополнять **исследованием активности C1-INH в плазме крови (тест 01.02.15.705)**.

Тест 01.02.15.1705 Исследование фактора Н комплемента

Фактор Н является растворимым ингибитором альтернативного пути комплемента, который связывается с белком C3b, ускоряет распад C3-конвертазы, а также действует как ко-фактор фактора I. Фактору Н принадлежит ключевая роль в защите эндотелиальных клеток от активации комплемента при тромботических микроангиопатиях (ТМА). Низкие уровни фактора Н или снижение его функции отмечают при атипичных формах гемолитико-уремического синдрома (аГУС). У пациентов с аГУС наиболее часто (около 30% случаев) обнаруживают мутации гена фактора Н (CFH), что приводит к снижению его концентрации в сыворотке крови. Аутоантитела к фактору Н обнаруживают приблизительно у 10-15% больных аГУС. Поскольку диагноз аГУС устанавливается путём исключения других причин ТМА, рекомендуется сочетать исследование уровня фактора Н с молекулярно-генетическим исследованием гена CFH.

Тест 01.02.15.1730 Исследование содержания и активности ADAMTS-13 (флюорометрия).

Основной точкой приложения эндотелиальной металлопротеиназы ADAMTS13 являются мультимеры фактора Виллебранда (vWF), образующиеся на поверхности эндотелия, что позволяет предотвратить гиперактивацию сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Недостаток активности ADAMTS13 приводит к тому, что возникает каскадная реакция агрегации тромбоцитов на поверхности эндотелия с тромбозом сосуда. Это приводит к развитию тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП, болезнь Мошковица) – редкого жизнеугрожающего заболевания, разновидности тромботической микроангиопатии, которая характеризуется неиммунной микроангиопатической гемолитической анемией, неиммунной тромбоцитопенией, потреблением, лихорадкой, почечной недостаточностью и неврологическими нарушениями. Диагноз ТТП подтверждается при активности ADAMTS13 в плазме менее 10%.

Тест 01.02.15.1235 Исследование фактора фон Виллерианда (vWF:Ag)

Фактор Виллерианда представляет собой индуктор сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, который хранится в тельцах Вебера-Палладе эндотелиоцитов и полимеризуется при повреждении эндотелия индуцируя формирование тромбоцитарного сгустка. Постоянно сниженные плазменные уровни vWF характерны для болезни Виллерианда тип 1, которая является наиболее распространенной формой этого заболевания и характеризуется пропорциональным снижением содержания и активности белка. Причиной болезни является наследственная патология, реже, на фоне миелопролиферации (также АИЗ), возможно развитие редких форм приобретенной болезни Виллерианда. Увеличение плазменных уровней vWF возникает на фоне васкулитов различной природы и тромботических микроангиопатий, что позволяет использовать уровни vWF в качестве биомаркера повреждения сосудов.

Тест 01.02.15.1540 Исследование свойств и активности фактора фон Виллерианда (vWF)

Снижение ристоцетин-кофакторной активности (VWF:RCO) и коллаген-связывающей активности (VWF:RCA) характерны для 2 типа болезни Виллерианда, сопровождающейся выраженным дефектом

функции белка. Уровни vWF и тесты на его активность следует выполнять совместно. Важно отметить, что поскольку большинство форм болезни фон Виллебранда являются аутосомно-доминантными при обследовании пациентов необходимо использование методов молекулярной генетики.

Тест 01.02.15.1710. Кальгранулин S100 A8/A9 сыворотке крови

Сывороточный кальпротектин (или кальгранулин) (СК) сопутствует острофазовому ответу при ряде воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Кальпротектин представляет собой кальций-связывающий белок цитоплазмы лейкоцитов, состоящий из гетерокомплекса S100A8/A9. Его сывороточные уровни отражают дегрануляцию (нетоз) лейкоцитов и отмечается при аутовоспалительных заболеваниях, протекающих с нейтрофиллезом. Повышенные уровни СК отмечаются при системной форме ЮХА (болезни Стилла), полиартикулярном ЮХА, болезни Kawasaki, болезни Стилла взрослых, рецидивирующем перикардите, семейной средиземноморской лихорадке и других АВЗ, что позволяет рассматривать его в качестве биомаркера этих состояний..

Тест 01.02.15.1510 Определение интерлейкина-18

Значительная выработка IL-18 происходит как клетках гранулоцитарно-макрофагальной системы, так и в стромальных клетках ткани на фоне системного воспаления под действием инфламмасомы, параллельно с выработкой IL-1 β . В отличие от последнего, благодаря сравнительно высоким концентрациям IL-18 лучше отражает макрофагальное воспаление, характерное для аутовоспалительных заболеваний, характеризующихся выработкой IL-1 β . Уровень IL-18 отражает активность многих АВЗ, включая семейную средиземноморскую лихорадку, системный ювенильный артрит и болезнь Стилла, болезни Kawasaki, кроме того встречается при многих гематологических, аутоиммунных и инфекционных заболеваниях в рамках синдрома макрофагальной активации (синдрома высвобождения цитокинов). При подозрении на гемофагоцитарный синдром целесообразно сочетать исследование IL-18 и определение уровня гликирования ферритина (**тест 01.02.15.506**).

Тест 01.02.15.1505 Определение интерлейкина-6

Интерлейкин-6 (IL-6) является основным макрофагальным цитокином, индуктором которого является IL-1 β , кроме того, положительная обратная связь запускает каскадный синтез IL-6, который лежит в основе острофазовой реакции. Повышение уровня IL-6 является причиной синтеза СРБ, как основного реактанта острой фазы. Хотя сывороточные уровни IL-6 сравнительно малочувствительны к системному воспалению (по сравнению с уровнями СРБ), однако увеличение сывороточных концентраций IL-6 указывает на выраженную системную воспалительную реакцию и «цитокиновый шторм».

Тест 01.02.15.1695 Определение прокальцитонина (метод ИФА)

Прокальцитонин (ПКТ) представляет собой высокочувствительный и высокоспецифичный маркер системной бактериальной инфекции (реже отмечается при системных грибковых и протозойных инфекциях). Уровень ПКТ у здорового человека чрезвычайно низкий – менее 0,05 нг/мл. При неосложненной вирусной инфекции не отмечается значимого повышения уровня ПКТ. Уровни от 0,5 до 2,0 нг/мл указывают на повышенный риск септических осложнений, а ≥ 2 нг/мл свидетельствуют о сепсисе или септическом шоке. Время полужизни молекулы ПКТ составляет около 48 часов, поэтому обратная динамика показателя малоинформативна.

Тест 01.02.15.1515 Определение интерлейкина-10

Интерлейкин-10 (IL-10) обычно относят к группе противовоспалительных цитокинов. Побочным эффектом избыточного синтеза IL-10 может быть развитие хронического воспаления и хронических инфекций вследствие неспособности иммунных механизмов полностью подавить воспаление. Рекомендуется оценивать системный уровень IL-10 для оценки хронизации воспаления различного генеза.

Тест 01.02.15.470 Определение неоптерина (НПТ)

Неоптерин является метаболитом нуклеиновых оснований, который синтезируется преимущественно макрофагально-моноцитарными клетками под действием интерферона-гамма. Продукция неоптерина значительно возрастает при активации клеточного иммунитета при вирусных инфекциях (вирусных гепатитах, ВИЧ), туберкулезе, хламидиальной инфекции, атипичной пневмонии, аутовоспалительных и аутоиммунных заболеваниях, гранулематозных процессах, в частности саркоидозе. Концентрация неоптерина остается в норме при местных и системных бактериальных инфекциях.

Назначение обследования: Консультации по объему обследования и диагностическому значению тестов можно получить по телефону +7(921)-994-53-24, 338-71-94 либо по e-mail: autoimmun@mail.ru. Для назначения адекватного обследования рекомендуется сформулировать краткий клинический эпикриз для дежурного врача лаборатории. Эпикриз обязателен для теста **01.02.15.315**

Правила направления материала: Все анализы за исключением кодов **01.02.05.XXX с тремя последними цифрами (245, 260, 270, 275, 295, 320) и 01.02.15.XXX с тремя последними цифрами (150;302;307;315;351;385;431;451;489;501;502;550;640;645;651;685;705;720;735;760;785;885;890;895;900;930;950;1025;1030;1045;1050;1055;1060;1065;1070;1075;1090;1100;1105;1115;1120;1170;1175;1180;1185;1190;1220;1240;1255)**

принимаются в сухой серологической (биохимической) пробирке (напр. вакутейнер) с красной крышкой 5-10 мл крови (у детей 2-5 мл крови). **На пробирке или контейнере с биологическим образцом должна быть разборчиво указана Фамилия И.О. обследуемого лица!**

Код 01.02.15.150 Скрининг криоглобулинов с активностью ревматоидного фактора – взятие крови осуществляется в предварительно нагретую до 37°C сухую вакуумную пробирку, которая сразу после взятия крови должна быть погружена в термос, заполненный теплой водой 40-42°C. Термос с материалом необходимо доставить в лабораторию в течение 1-2 часов. Материал, доставленный в лабораторию при температуре ниже 35°C, для исследования не принимается.

Код 01.02.15.315 Иммунофлуоресцентное исследование биопсий кожи – биопсии доставлять в пробирках со специальной транспортной средой в течение 1-2 суток от момента забора материала. Пробирки с транспортной средой следует получить заранее в лаборатории и хранить при температуре +4°C в течение 60 дней. К биопсии кожи обязательно сформулировать краткий клинический эпикриз.

Код 01.02.15.351 Типирование криоглобулинемий – на исследование принимаются две (2х 10 мл) б/х пробирки с венозной кровью. Взятие и доставка соответствует процедуре теста 01.02.15.150.

Код 01.02.15.360 Диагностика амилоидоза в мазке подкожного жира – для получения биоматериала необходимо проведение малоинвазивной пункционной биопсии жира. Для уточнения метода забора и условий доставки звонить в лабораторию: 994-53-24.

Код 01.02.15.385 Исследование синовиальной жидкости – для световой и поляризационной микроскопии необходимо от 0,1 мл синовиальной жидкости в пластиковой пробирке (типа эппендорф) или шприце. Доставлять в лабораторию в день забора биоматериала. При длительной транспортировке может быть изготовлен мазок синовиальной жидкости на чистых предметных стеклах по стандартной методике. Не использовать для пересылки Б/Х вакуумные пробирки!

Код 01.02.15.651 Скрининг парапротеинов в сыворотке и моче – для обследования необходимо доставлять парную пробу венозной крови (в б/х пробирке с красной крышкой 5-10 мл) и 10 мл мочи в мочевого контейнере (первая утренняя порция или аликвота 24 часовой мочи).

Код 01.02.15.885 Анализ химического состава почечного камня (конкремента) – для анализа необходимо предоставить мочевой камень, полученный в ходе хирургической (эндоскопической) операции или вышедший самостоятельно, в сухом мочевого контейнере.

Код 01.02.15.705 – 2-5 мл крови в пробирке с цитратом натрия (синяя крышка).

Код 01.02.15.900 Холодовые агглютинины (гемолизины) – на исследование принимаются две пробирки: пробирка с ЭДТА (фиолетовая крышка) и пробирка, соответствующая требованиям к исследованию 01.02.15.150.

Коды 01.02.05.XXX с тремя последними цифрами (245;260;270;275;295;320) и 01.02.15.XXX с тремя последними цифрами (302;307;501;431;760;785;890;895;930;950;1025;1030;1120;1170;1175;1180;1185;1190;1220;1240;1255) – Исследования методом ПЦР – 2-5 мл крови в пробирке с ЭДТА (фиолетовая крышка).

Коды 01.02.15.XXX с тремя последними цифрами (451;640;645;1090;1100;1105;1115) – Исследования мочи – Для обследования доставлять образец 10 мл в мочевого контейнере (первая утренняя порция или аликвота сбора 24 часовой мочи). Мочу доставлять в день сбора.

Коды 01.02.15.XXX с тремя последними цифрами (489;502;550;685;720;735;1045;1050;1055;1060;1065;1070;1075) – Исследования образцов стула – образец кала 20 гр. в контейнере с лопаточкой доставлять в день забора биоматериала.

Доставка материала в лабораторию:

Уже полученный материал может быть доставлен в лаборатории НМЦ по молекулярной медицине самим больным или родственниками больного, получен от пациента в пунктах забора биоматериала (см.ниже) или доставлен в лабораторию курьерской службой Университета.

Получение результата и проведение дополнительного обследования: о готовности анализов уточнять в течение 3-5 дней после доставки материала по телефонам лаборатории. Результаты лабораторных анализов могут быть получены в лаборатории либо высланы врачу или пациенту по факсу или e-mail, которые **следует предварительно указать на лицевой стороне бланка.**

Направление на аутоиммунную диагностику ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова		можно скачать на www.autoimmun.ru
ФИО больного:		
Учреждение, отделение	ФИО врача, E-mail:	
Ответы ☐ на руки	☐ E-mail:	
КОДЫ И СПИСОК ТЕСТОВ (обведите код):		
Системные ревматические заболевания, АФС и тромбофилии: 01.02.15.005 АНФ на НЕР-2; 01.02.15.245 Скрининг СЗСТ (АНФ и ЭНА/ЕНА-скрин); 01.02.15.124 Ат к дсДНК IgG (DNA-Nx); 01.02.15.905 Ат к дсДНК Cr.Lucilia; 01.02.15.145 Ат к кардиолипину IgG и IgM (АКЛ); 01.02.15.230 Обследование при СКВ (дсДНК и АНФ и АКЛ); 01.02.15.235 Диаг. вторич. АФС (АКЛ и АНФ); 01.02.15.160 ЭНА/ЕНА – скрин; 01.02.15.425 Ат к нуклеосомам IgG (АНСА); 01.02.15.225 Ат к бета2-эликопротеину (АБ2ГП); 01.02.15.291 Ат к аннексину V; 01.02.15.615 Ат к PS-PT; 01.02.15.670 Антифосфолипидные антитела (АКЛ, 62ГП, Анн5, PS-PT); 01.02.15.130 Диаг. волчан. нефрита (дсДНК и АНФ); 01.02.15.240 Развернутая диаг. АФС (АКЛ и АБ2ГП и АНФ); 01.02.15.165 Иммуноблот АНА (ат к Sm, RNP/Sm, SS-A (60 кДа), SS-A (52 кДа), SS-B, Scl-70, PM-Scl, PCNA, CENT-B, Jo-1, dsDNA/Histone, нуклеосомам, Ribo P., AMA-M2); 01.02.15.535 Иммуноблот АНА при склеродермии (13 антигенов) и АНФ; 01.02.15.325 Полимиозит (Mi2, Ku, Pm-Scl, Jo-1, PL-7, PL-12); 01.02.15.487 Ат к тромбоцитам; 01.02.15.925 Ат к лимфоцитам; 01.02.15.875 Иммуноблот антифосфолипидных антител, IgG и IgM; 01.02.05.270 Генетика тромбофилий; 01.02.05.720 Панель генов антикоагулянтлов; 01.02.05.725 Панель клонального гемопоэза и артериальн.тромбозов; 01.02.15.1340 Антитела к SSA; 01.02.15.1190 Генетика фолатного цикла;		
Аутовоспалительные заболевания 01.02.15.1175 Средиземном.лихор.(MEFV); 01.02.15.1620 Криопирин-синдр (NLRP3); 01.02.05.255 MVK и TRAPS; 01.02.05.735 NGS при AB3 (11 генов); 01.02.15.307 HLA-B27; 01.02.15.1475 HLA-B27 (аллели, доза гена, зиготность); 01.02.15.1185 HLA B-51; 01.02.05.265 HLA-Cw6; 01.02.15.1335 Хрон.увеит (HLA-B27,HLAB51,HLA-A29,АНФ,ЭНА)		
Ревматоидный артрит и артропатии: 01.02.15.015 РФ; 01.02.15.585 РФ класса IgA; 01.02.15.081 Ат к циклину,цитруллин, пептиду (anti-CCP/АЦЦП); 01.02.15.405 Ат к модиф. цитруллин. виментину (антu-MCV); 01.02.15.910 Ат к виментину (антu-Sa); 01.02.15.410 Скрининг РА (антu-MCV и РФ); 01.02.15.065 АКА; 01.02.15.070 АПФ; 01.02.15.075 АКА и АПФ; 01.02.15.025 Диагностика раннего РА (АКА и АПФ и АЦЦП/anti-CCP); 01.02.15.030 Развернутая серология РА (АКА и АПФ и АЦЦП/anti-CCP и РФ); 01.02.15.385 Крост. в синов. жидкости; 01.02.15.465 Олигомерный матриксный белок хряща (COMP); 01.02.15.725 ЦИК IgG, связывающие C1q; 01.02.05.275 Типирование HLA-DRB1 при ревматической патологии;		
01.02.15.1035 Иммуноблот IgG/IgM к боррелиям; 01.02.15.1610Гипохондроплазия(FGFR3);01.02.15.1615Ахондроплазия (FGFR3); 01.02.15.1715 Фраг.коллагена 1 типа; 01.02.15.1720 Остеаза;		
Васкулиты и нефропатии: 01.02.15.395 Ат к эндотелию (HUVeC); 01.02.15.010 АНЦА нРИФ класса IgG; 01.02.15.415 Ат к антигенам АНЦА (ПРЗ, МРО, эластаза, катепсин G, белок ВР1, лактоферрин); 01.02.15.135 Ат к МРО; 01.02.15.140 Ат к PR-3; 01.02.15.680 Панель АНЦА; 01.02.15.085 Ат к баз.мембране клубочка (БМК); 01.02.15.150 Криоглобулины (КГ); 01.02.15.351 Типирование КГ; 01.02.15.035 Диаг. гранул. васкулитов (АНФ и АНЦА); 01.02.15.020 Скрин ревмопатологии (АНФ и РФ и АНЦА); 01.02.15.365 Ат к C1q; 01.02.15.090 Диаг. БПГН (АНЦА и БМК); 01.02.15.095 Диаг. аутоимм. болезни почек (АНЦА и БМК и АНФ); 01.02.15.311 Ат к PLA2R; 01.02.15.1115 А1МГ в разовой моче (ТИН); 01.02.15.1140 Ат к канальцам почки; 01.02.15.360 Амилоид в подкож.жире; 01.02.15.885 Состав мочевого камня; 01.02.15.1090 Литогенные субстанции в моче; 01.02.15.1100 Кальций/креат. индекс;		
Заболевания легких и сердца: 01.02.15.370 Активность АНПФ; 01.02.15.375 IgG к Aspergillus fumigatus; 01.02.15.501 ФенотипА1АТ; 01.02.15.1255 А1АТPIZ/S; 01.02.15.170 Ат к миокарду); 01.02.15.1605 Транстипуретин. амилоидоз (ТТR);		
Диагностика анемий: 01.02.15.940 Растворимый рТФ; 01.02.15.945 Индекс рТФ/ферритин; 01.02.15.1670 Гепсидин 25; 01.02.05.1020 HFE гемохроматоз; 01.02.15.550 Кальпротектин в кале; 01.02.15.720 Гемоглобин и Hb-Hpt в стуле; 01.02.15.050 Ат к парет. кл. желудка (АПКЖ); 01.02.15.546 Ат к ф. Кастла (АФК); 01.02.15.610Гастрит типа А и анемия (АПКЖ и АВФ); 01.02.15.506 Гликированный ферритин (%); 01.02.05.725 Панель клонал. гемопоэза(JAK2,CALR,MPL) 01.02.15.930 Осмотич.стойкость эритроцитов; 01.02.15.950 Активность Г6ФДГ; 01.02.15.890 Кумбс скрин; 01.02.15.895 Кумбс профиль; 01.02.15.900 Холодовые агглютинины; 01.02.15.1135 Электрофорез Hb; 01.02.15.1460 Альфа-талассемии (HBA1, 2); 01.02.15.1465 Бета-талассемии (HBB);		
Выявление парапротеinemий (ПП): 01.02.15.341 Легкие цепи сыворотка (индекс κ/λ); 01.02.15.451 Легкие цепи моча; 01.02.15.421 Скрининг ПП в сыворотке; 01.02.15.640 Скрининг ПП в моче; 01.02.15.651 Скрининг ПП сыворотке и моче; 01.02.15.655 Иммунофаксация сыворотки; 01.02.15.645 Иммунофаксация мочи (Бенс-Джонс); 01.02.15.476 Бета2 микроглобулин; 01.02.15.1735 Определение VEGF; 01.02.15.1585 Комплекс парапротеинемий (скрин.ПП и IgG,IgA,IgM); 01.02.15.1575 Гумораль.иммунитет (IgG,IgA,IgM, СЛЦкаппа/лямбда, индекс СЛЦ); 01.02.15.540 Подкласс IgG4; 01.02.15.1570 Подклассы IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)		
Комплемент и биомаркеры: 01.02.15.700 Общий комплемент(СН-50); 01.02.15.715 Скрининг комплемента (СЗ,С4,СН-50); 01.02.15.730 Иммунные комплексы (СН-50 и C1q-IgG-ИК); 01.02.15.1700 С5а компонент; 01.02.15.1560 Количество C1INH; 01.02.15.705 Активность C1INH; 01.02.15.1705 Фактор Н комплемента; 01.02.15.1730 ADAMTS-13; 01.02.15.1535 Фактор Виллебранда (vWF:Ag); 01.02.15.1540 Активность (vWF:RCA и vWF:CBA); 01.02.15.1710 Кальпротектин S100 A8/A9; 01.02.15.1505 Интерлейкин-6; 01.02.15.1510 Интерлейкин -10; 01.02.15.1515 Интерлейкин -18; 01.02.15.1695 Прокальцитонин (ИФА); 01.02.15.470 Определение неоптерина;		
Местонахождение и часы работы: ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова Адрес: СПб, ул. Льва Толстого 6/8, 28 корпус, по правой лестнице, 3-й этаж, регистратура с 10 до 16 раб.дни.; Тел/факс 3387194, +7921-9945324, autoimmun@mail.ru, www.autoimmun.ru		