



**АО «Медицинский Университет Астана»
Кафедра Внутренних болезней**


**Современные лабораторные маркеры
аутоиммунных заболеваний (СКВ, РА,
склеродермия, дерматомиозит)**

Аширбаев Т.Е.

Группа: 777

Шарипханова Г.Х

Астана, 2017 год

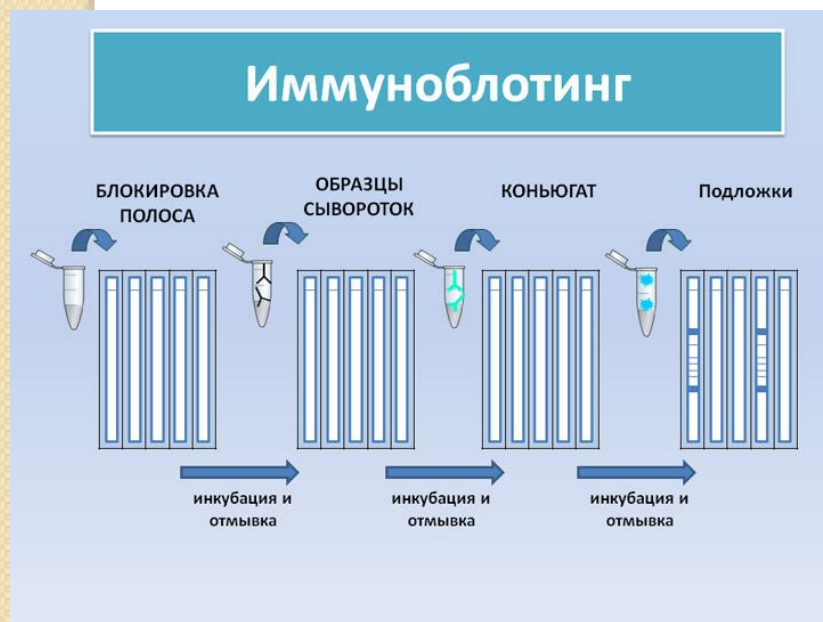


Аутоиммунные заболевания (АИЗ) развиваются в тех случаях, когда в организме появляются антитела (АТ) или клоны Т-клеток, направленные против собственных антигенов (АГ), которые способны разрушать клетки и ткани организма. Возникший АИ процесс – явление в значительной степени хроническое, приводящее к долговременному повреждению тканей. Связано это, в первую очередь, с тем, что АИ реакция постоянно поддерживается тканевыми АГ. В качестве аутоАГ могут выступать белки, нуклеиновые кислоты, фосфолипиды, полисахара, в том числе и сами иммуноглобулины (Ig).

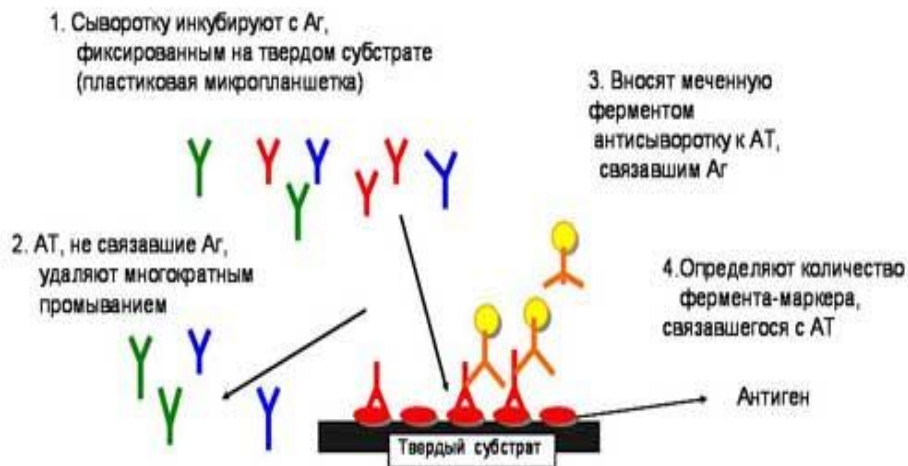
- Так, ревматоидный фактор, – это аутоАТ к IgG. АИЗ поражают 5-7% населения земного шара, чаще развиваются у женщин, чем у мужчин. Как правило, АИЗ начинаются в молодом возрасте, что связано с действием половых гормонов на тимус, Т- и В-клетки и систему макрофагов. АутоАТ к ревматоидному и нуклеарным факторам чаще выявляются у лиц пре- клонного возраста. У 70-летних лиц аутоАТ обнаруживаются примерно в 60% случаев без соответствующих клинических проявлений.


Методы лабораторной диагностики АИЗ

Основными методами лабораторной диагностики АИЗ являются: непрямая иммунофлуоресценция (НИФ), иммуноферментный анализ и иммуноблот. На практике для точного описания спектра аутоАТ, присутствующих в биологической жидкости, используется несколько методов, каждый из которых имеет свои достоинства и недостатки.



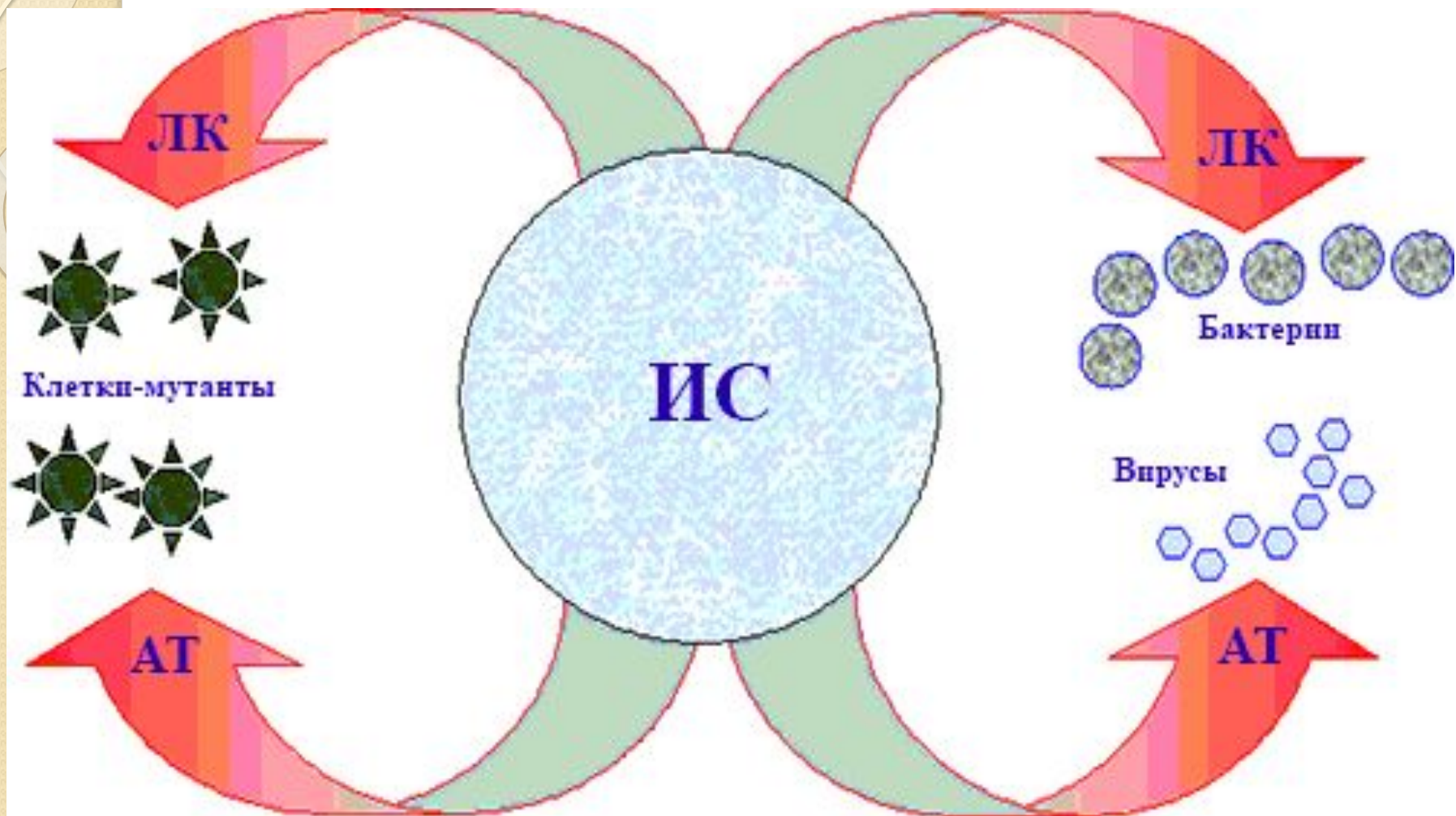
Прямой твердофазный ИФА (схема)





К АИЗ соединительной ткани (ревматические заболевания) относят более 120 нозологических форм, на- и более распространенными среди которых являются: миастения гравис полимиозит (ПМ) или дерматомиозит (ДМ) РА рассеянный склероз синдром Шегрена (СШ) СКВ системная склеродермия смешанные заболевания соединительной ткани (СЗСТ) иногда антифосфолипидный синдром (АФС) и узелковый периартериит, хотя в большинстве публикаций последнего времени эти заболевания «открывают» группу системных васкулитов.

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



Основная задача иммунной системы - поддержание генетической однородности организма. Иммунная система распознает носителей чужеродной генетической информации (бактерии, вирусы, клетки-мутанты) и с помощью лейкоцитов и антител уничтожает их. ИС - иммунная система, ЛК - лейкоциты, АТ - антитела.



Схема развития процесса аутоиммунного воспаления
 ИС – иммунная система; Эр, Лк – клетки крови (эритроциты, лейкоциты), ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы, аутоАТ - аутоагрессивные антитела.

СКВ

Системная красная волчанка (СКВ) — тяжелое заболевание, при котором иммунная система человека воспринимает собственные клетки как чужеродные и начинает с ними бороться. При этом в организме вырабатываются вещества, повреждающие многие органы и ткани: сосуды, кожу, суставы, внутренние органы (почки, легкие, сердце, печень, головной мозг и др.).

Системная красная волчанка



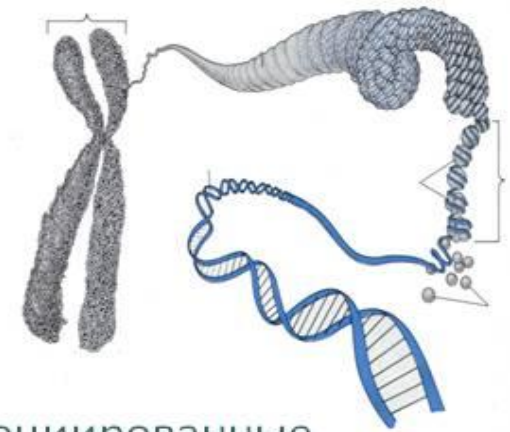
Таблица 2. Клиническая и лабораторная характеристика активности патологического процесса при СКВ

| Показатель | Степень активности | | |
|-----------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------|
| | III | II | I |
| Температура тела | 38 °С и выше | Менее 38 °С | Нормальная |
| Похудание | Выраженное | Умеренное | Незначительное |
| Нарушение трофики | Выраженное | Умеренное | Незначительное |
| Поражение кожи | «Бабочка», капилляриты | Неспецифическая эритема | Дискоидные очаги |
| Полларитрит | Острый, подострый | Подострый | Деформирующий |
| Перикардит | Выпотной | Сухой | Адгезивный |
| Миокардит | Выраженный | Умеренный | Кардиосклероз |
| Плеврит | Выпотной | Сухой | Адгезивный |
| Гломерулонефрит | Нефротический синдром | Смешанного типа | Мочевой синдром |
| Поражение нервной системы | Энцефалорадикулоневрит | Энцефалоневрит | Полиневрит |
| Гемоглобин, г/л | Менее 100 | 100–110 | 120 и более |
| СОЭ, мм/час | 45 и более | 30–40 | 16–20 |
| Фибриноген, г/л | 6 и более | 5 | 4 |
| γ-глобулины, % | 30–35 | 24–25 | 20–23 |
| LE-клетки на 100 лейкоцитов | 5 | 1–2 | Отсутствуют |
| АНФ, титры | 128 и выше | 64 | 32 |
| Антитела к нДНК, процент связывания ЦИК | Выраженный | Умеренный | Незначительный |

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

При системной красной волчанке (СКВ) и других системных ревматических заболеваниях иммунный ответ направлен против нуклеопротеиновых антигенов, т.е. комплексов нуклеиновых кислот и белков. Такие эндогенные нуклеопротеиновые аутоантигены могут образовываться в ходе процесса апоптоза эпителиальных клеток (каскад генетически запрограммированных реакций, приводящих к удалению поврежденной или дефектной клетки) и напоминают чужеродные вирусные частицы. Ускорение процессов апоптоза под действием ультрафиолетового облучения, вирусных инфекций или лекарственных препаратов, одновременно с нарушенным или замедленным удалением продуктов апоптоза, запускает аутоиммунные ответы при СКВ. Нуклеопротеиновые антигены конденсируются в апоптотических тельцах, которые становятся мишенью для аутоантител.

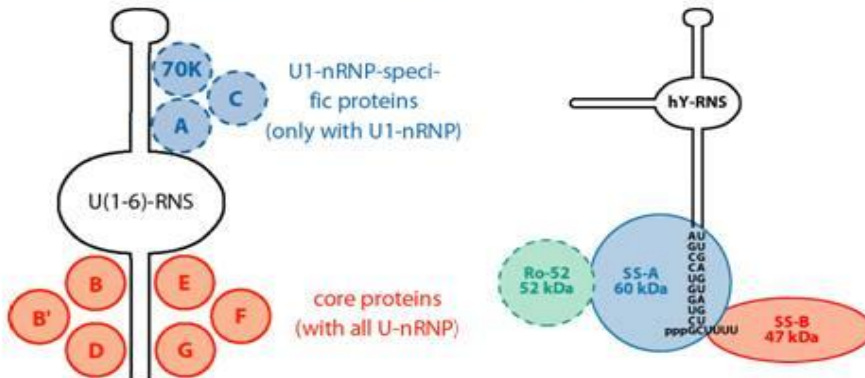
Основные антигены антинуклеарных антител



ДНК-ассоциированные



РНК-ассоциированные



Мембрано-ассоциированные



□ Специальная подготовка не требуется. Рекомендуется взятие крови не ранее чем через 4 часа после последнего приема пищи.

□ **Показания к назначению исследования:**

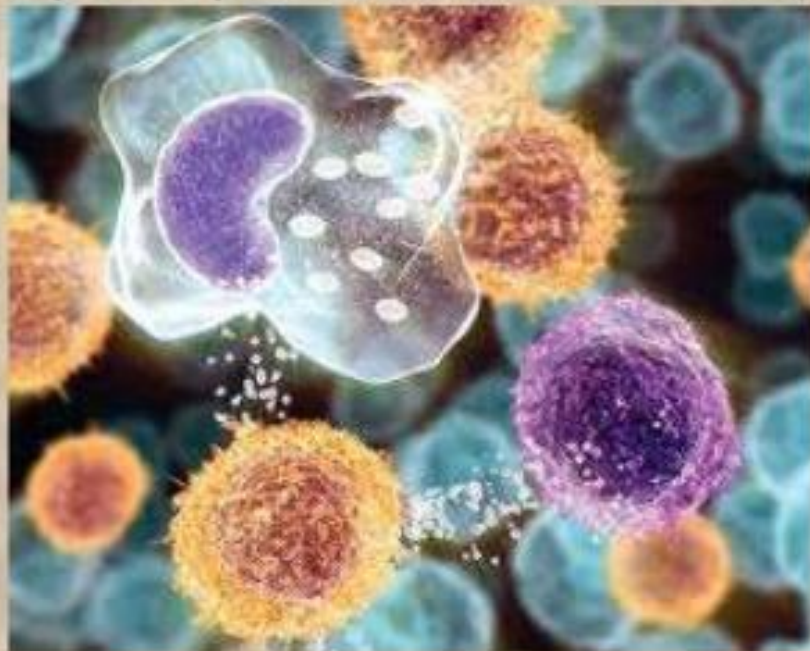
Тест показан для диагностики и дифференциальной диагностики следующих состояний:

-
- Системная красная волчанка;
 - Подострая кожная волчанка и другие разновидности кожной волчанки;
 - Смешанное заболевание соединительной ткани;
 - Синдром Шегрена и ассоциированные заболевания;
 - Диффузная и локализованная склеродермия, CREST синдром;
 - Воспалительные миопатии (полимиозит и дерматомиозит);
 - Ювенильный хронический артрит;
 - Аутоиммунный гепатит;
 - Первичный билиарный цирроз и склерозирующий холангит;
 - Полинейропатии и миелит.

Интерпретация результатов.

- ▣ *Референсные значения:* < 1:160
- ▣ Выявление высоких титров (1/640 и выше) указывает на высокую вероятность системного ревматического заболевания или аутоиммунного заболевания печени и требует внимательного клинического, лабораторного и инструментального обследования. Отсутствие повышенных титров антинуклеарного фактора значительно снижает вероятность системных аутоиммунных заболеваний.
- ▣ В низких титрах (до 1/160) антинуклеарный фактор может отмечаться у 1-2% здоровых лиц и родственников больных с системными заболеваниями. Частота положительных титров в популяции несколько увеличивается с возрастом. Низкие титры антинуклеарных антител могут встречаться при многих аутоиммунных, инфекционных и онкологических заболеваниях. Отсутствие высоких титров антинуклеарных антител значительно снижает вероятность системного ревматического процесса и

LE-клетки (Lupus Erythematosus cells - клетки красной волчанки) это нейтрофилы или моноциты с крупными гомогенными базофильными включениями, которыми являются фагоцитированные ядра разрушенных клеток, покрытые антинуклеарными антителами (АНА, АНФ).



❑ **Материал для исследования**

❑ Плазма крови — 10 мл

❑ Условия хранения крови для анализа — 1 день при температуре 2-8 °С.

❑ Забор крови для анализа проводят в пластиковую пробирку с цитратом. Пробирку необходимо наполнить кровью до метки, немедленно перемешать и поместить в рефрижераторную центрифугу и отделить плазму.

❑ **Подготовка пациента к анализу**

❑ Забор крови осуществляют в утренние часы натощак.

Методика проведения анализа

Кровь для анализа на LE-клетки берут из вены натошак в объеме 10 мл. Чтобы кровь дольше не сворачивалась и не изменяла своих свойств, добавляют антикоагулянт **этилендиаминуксусную кислоту (ЭДТА)**. Это позволяет продлить срок хранения крови и получить более точные данные.

ЭДТА добавляют непосредственно в пробирку перед забором анализа в концентрации на 1 мл крови 1,5 мг сухого вещества антикоагулянта. Есть специальные пробирки заводского производства, стенки которых уже обработаны ЭДТА в необходимом количестве, это облегчает работу лаборантам.

Пробирка с ЭДТА наполняется кровью на половину и покачивается для равномерного распределения антикоагулянта, после этого продолжают наполнение до необходимой отметки. Трясти пробирку нельзя, это вызывает пенообразование и повреждает клетки.

Анализ проводится по методу Цинкхома-Конли, модификацию в который внесла Е.Н. Новоселова.

Из крови выделяется лейкоцитарная масса, затем получившуюся суспензию подвергают фильтрации через мельчайшее сито либо встряхивают со стеклянными шариками. Это делается для повреждения оболочки лейкоцитов. После этих манипуляций пробирку с исследуемым материалом инкубируют в течение часа при температуре 37С.

Лабораторные данные при ревматоидном артрите

- Лабораторных признаков, однозначно подтверждающих или опровергающих диагноз ревматоидного артрита, к сожалению - не существует.
- Однако в лабораторной диагностике ревматоидного артрита достаточно широко используется определение таких показателей, как: ревматоидный фактор (РФ), клинический анализ крови, при оценке которого акцентируется внимание на таких параметрах, как - выраженность анемии, СОЭ. В последние годы перестает быть экзотикой и все чаще используется определение уровня антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП)

Ревматоидный фактор (РФ)

- Ревматоидный фактор, определяемый при ревматоидном артрите, представляет собой антитела к Fc-фрагменту IgG. С помощью существующих методов определяют в основном ревматоидный фактор класса IgM.
- Ревматоидный фактор появляется и при других заболеваниях и даже присутствует в сыворотке у 5% здоровых людей. С возрастом частота выявления ревматоидного фактора у здоровых повышается, после 65 лет его выявляют у 10—20% людей.
- Титр ревматоидного фактора повышается также при таких заболеваниях, как Системная красная волчанка, синдром Шегрена, хронические гепатиты и цирроз печени, саркоидоз, идиопатический фиброзирующий альвеолит, инфекционный мононуклеоз, туберкулез, проказа, сифилис, инфекционный эндокардит, висцеральный лейшманиоз, шистосомоз, малярия.

- Референсные значения: 0 - 14 МЕ/мл.
- **Метод исследования**
- Иммунотурбидиметрия.
- **Единицы измерения**
- МЕ/мл (международная единица на миллилитр).
- **Какой биоматериал можно использовать для исследования?**
- Венозную кровь.
- **Как правильно подготовиться к исследованию?**
- Не курить в течение 30 минут до сдачи крови.

Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду - АЦЦП

- Антитела к циклическому цитруллинсодержащему пептиду, IgG, – это гетерогенная группа IgG-аутоантител, которые распознают антигенные детерминанты филлагрина и других белков, содержащих атипичную аминокислоту цитруллин.
- Антитела к циклическому цитруллинсодержащему пептиду, IgG – в настоящее время один из

- ❑ Референсные значения: 0 - 17 Ед/мл.
- ❑ *Причины повышенного уровня АЦЦП*
- ❑ Ревматоидный артрит.
- ❑ Ювенильный идиопатический артрит.
- ❑ Некоторые заболевания соединительной ткани (системная красная волчанка, системная склеродермия, синдром Шегрена).
- ❑ Системные васкулиты (гранулематоз Вегенера).
- ❑ Аутоиммунный тиреоидит.
- ❑ У пациентов с гипергамма-глобулинемией результат теста может быть ложноотрицательным.

Клинический анализ крови при ревматоидном артрите

- При обострениях ревматоидного артрита часто наблюдается нормоцитарная нормохромная анемия. Причиной ее, по-видимому, служит угнетение эритропоэза; содержание железа в костном мозге повышено. Выраженность анемии и тромбоцитоза обычно соответствует тяжести заболевания.
- Содержание лейкоцитов при ревматоидном артрите обычно в пределах нормы, хотя иногда отмечается незначительный лейкоцитоз или лейкопения в отсутствие развернутой клинической картины синдрома Фелти. У некоторых больных с тяжелыми внесуставными проявлениями ревматоидного

Системная склеродермия

Системная склеродермия — тяжелое заболевание соединительной ткани, при котором эта ткань уплотняется и твердеет. Возникает, так называемый, склероз (от греческого sklerosis — затвердение). При системной склеродермии поражается кожа, мелкие сосуды и внутренние органы: желудочно-кишечный тракт, легкие, почки, сердце. Женщины болеют системной склеродермией в три раза чаще мужчин. Средний возраст пациенток — 30-40 лет.



Ограниченные симптомы склеродермии или синдром CREST

Кальциноз - отложения кальция в коже



Феномен Рейно - спазм кровеносных сосудов в реакции на холод или стресс



Дисфункция пищевода - кислотный рефлюкс и снижение моторики пищевода



Склеродактилия - утолщение и стягивание кожи на пальцах и кистях рук



Телеангиэктазия - расширение капилляров с появлением красных отметин на коже



Антинуклеарные антитела (анти-Sm, RNP, SS-A, SS-B, Scl-70, PM-Scl, PCNA, CENT-B, Jo-1, к гистонам, к нуклеосомам, Ribo P, AMA-M2), иммуноблот

- Антитела к Scl-70 (антисклеродермальные антитела с молекулярной массой 70 кДа, антитела к топоизомеразе I) чаще появляются при диффузной (40 %), реже при ограниченной (20 %) форме системной склеродермии, CREST-синдроме. Они высокоспецифичны для склеродермии и являются плохим прогностическим признаком относительно развития легочного фиброза.
- Антитела anti-PM/Scl – специфический серологический маркер для подгруппы больных склеродермией (Scl), полимиозитом (PM) и

- Референсные значения: отрицательно.
- Анти-Scl-70
- Склеродермия, диффузная форма (20-60 %) в сочетании с легочным фиброзом
- CREST-синдром
- Изолированный синдром Рейно с последующим развитием склеродермии

Антитела к центромерам

- Для CREST-синдрома чувствительность АЦА - 60-65%; специфичность - 83-99,9%.
- **Референтные значения, AI (Индекс антител)**
До 1,0 - отрицательный результат. Больше 1,0 - положительный результат
- **Повышение уровня**
 - CREST-синдром;
 - системная склеродермия;
 - билиарный цирроз печени

- Часто при системной склеродермии выявляют **повышение СОЭ**.
- Нередко при системной склеродермии развивается **анемия**, чаще – гипорегенераторная, обусловленная хроническим воспалением. **Желудочно-кишечные кровотечения** могут приводить к железодефицитной, а избыточный рост бактерий при атонии тонкой кишки – к фолиеводефицитной и В12-дефицитной анемиям. Возможна также микроангиопатическая гемолитическая анемия, которая обычно развивается при поражении почек и обусловлена отложением фибрина в почечных артериолах.
- Примерно у половины больных