

# **Клинические рекомендации по лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний**

*Москва, 2014*

# Клинические рекомендации по лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний

*Лапин С.В., Мазинг А.В., Булгакова Т.В., Суркова Е.А., Блинова Т.В., Холопова И.С., Напалкова О.С., Лернер М.Ю., Толоян А.А., Эмануэль В.Л.*

*ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации*

*Научно-методический Центр по молекулярной медицине МЗ РФ*

## Введение

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

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

Описано более 100 аутоиммунных заболеваний, кроме того множество состояний имеют аутоиммунный патогенез. Хотя традиционно АИЗ относят к редким нозологиями, однако, по разным оценкам, они составляют 15-20% общетерапевтической патологии. Эпидемиологические заболевания показывают, что до 8% 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 **химическую революцию** конца 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 ответов не существует. Выявление **аутоантител**, т.е. серологические методы, являются основными в диагностике АИЗ и входят в критерии многих

АИЗ. Аутоантитела 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.

Хотя аутоантитела в большинстве случаев являются надежными маркерами АИЗ, однако некоторые их разновидности сравнительно часто могут быть обнаружены у здоровых лиц. К аутоантителам, которые могут быть случайной находкой у клинически здоровых лиц относят антинуклеарный фактор (3%), 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. 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 / (100%-Специфичность)**. Фактор риска определяет кратность увеличение вероятности данного заболевания по отношению к претестовым уровнем.

### **Лабораторные методы диагностики аутоиммунных заболеваний**

Антитела в клинико-диагностических лабораториях следует определять несколькими методами, включая метод непрямой иммунофлюоресценцией (ИРИФ) и метод иммуноферментного анализа (ИФА). Для определения спектра аутоантител рекомендуется использовать метод мультиплексного анализа, одним из наиболее стандартных методов является дот-блот или лайн-блот (иммуноблоттингом). Метод **непрямой 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)**. Аутоантитела представлены белками-иммуноглобулинами, направленными против собственных антигенов организма. 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**.

Для мониторинга лечения АИЗ с системным воспалением обычно используется выявление показателей **острофазового ответа**, таких как СОЭ и СРБ. В связи с высокой скоростью полураспада (18 часов), при назначении эффективной терапии концентрация СРБ через

3 дня после ее назначения, в то время как снижение СОЭ может занимать больше недели, поэтому для мониторинга активности воспаления не подходит.

Разные аутоиммунные процессы имеют общую симптоматику, кроме того, могут быть обнаружены у одного пациента. При системных ревматических заболеваниях, аутоиммунных поражениях печени, аутоиммунных эндокринопатиях нередко отмечаются **перекрестные синдромы**. Комбинированное выявление аутоантител важно для диагностики таких состояний.

### **Международные рекомендации по клинико-лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний.**

#### Рекомендации по выявлению антинуклеарных 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.

#### Рекомендации антинейтрофильных антител

Savage J. et al. Addendum to the International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies // Am J Clin Pathol 2003;120:312-318

#### 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 антифосфолипидного синдрома

Miyakis S .,et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) //Journal of Thrombosis and Haemostasis, 4: 295–306

#### Рекомендации по диагностике целиакии

Husby S., Koletzko S., et. al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease //JPGN \_ Volume 54, Number 1, January 2012

#### Рекомендации по диагностике аутоиммунного гепатита

Hennes M., Zeniya M, et al. Simplified Criteria for the Diagnosis of Autoimmune Hepatitis// Hepatology, Vol. 48, No. 1, 2008

**Диагностика системных заболеваний соединительной ткани (СЗСТ), включая раннюю: системная красная волчанка (СКВ), диффузная и локализованная склеродермия, синдром Шегрена, дерматомиозит, смешанное заболевание соединительной ткани, перекрестные синдромы СЗСТ, 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 эпителиальная клеточная линия Нер-2. Международные рекомендации (Agmon-Levin N et al. 2014) признают это 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, основанные только на ИФА и иммунохимии, могут быть недостаточно чувствительны для диагностики СКВ и других заболеваний.

Аутоантитела не обладают прямым цитотоксическим действием на клетки человека, однако иммунные комплексы способны запускать иммунологическое воспаление особенно в местах, где сосуды особенно тонки, в том числе в почках, коже, ЦНС, синовии, плевре. Особое значение в диагностике поражения почек имеют антитела к двуспиральной ДНК, нуклеосомам и антитела к С1q. Отложения аутоантител в почках или коже могут быть выявлены с помощью прямого иммуофлюоресцентного исследования (см. биопсия кожи - волчаночная полоска), которое является одним из методов диагностики СЗСТ.

Необходимые лабораторные тесты для диагностики СЗСТ:

### **Антинуклеарный фактор (АНФ) на клеточной линии Нер2**

**Класс антител: IgG**

**Рекомендуемый метод выявления: нРИФ**

**Описание метода и клиническое значение:**

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, так как эти антитела часто встречаются при

многих АИЗ. Содержание антител оценивается в виде титра сыворотки, чем он выше – тем антител больше. АНФ в титре менее 1/160 может отмечаться у 1-2% здоровых лиц, в титрах 1/320 и более указывает на высокую вероятность СЗСТ, прежде всего СКВ. При СКВ титр коррелирует с тяжестью процесса и снижается при эффективной терапии. Кроме титра сыворотки, при положительном результате анализа описывается **тип свечения** ядра. Он обусловлен широким спектром антител, которые находят свои мишени внутри клетки.

Описано более 20 типов свечения, однако для клинической практики достаточно 7 из них:

<i>Тип свечения</i>	<i>Мишени антител</i>	<i>Заболевания</i>
Гомогенный/ Периферический	Хроматин (дсДНК, гистоны)	СКВ, склеродермия
Гранулярный	Нуклеопротеины(RNP, Sm, SS-A)	СКВ, ДКВ, РА, юРА, с-м Шегрена
Ядрышковый	Антигены ядрышка	Диффузная склеродермия
Центромерный	Центромера в хромосоме (CENP)	Локализованная склеродермия
Цитоплазматический	Антигены цитоплазмы	Аутоиммунные поражения печени
Точки в ядре	Нуклеопротеины	Аутоиммунные поражения печени
Митохондриальный	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 антинуклеарных антитела.

### **Скрининг антител к экстрагируемым ядерным антигенам (ЭНА)**

**Класс антител: IgG**

**Рекомендуемый метод выявления: ИФА или иммунохимические методы**

**Описание метода и клиническое значение:**

Экстрагируемый ядерный антиген (ЭНА) представляет легко растворимые компоненты ядра клетки, которые могут утрачиваться из эпителиальной клетки линии Нер-2 при ее фиксации. В настоящее время большинство антигенов в составе ЭНА получают методами молекулярной биологии, ряд антигенов очищается из клеточных и тканевых экстрактов.

В состав ЭНА обычно включают наиболее распространенные рибонуклеопротеиновые антигены антинуклеарных антител, включая SS-A (52 кДа и 60 кДа), SS-B, U1-RNP и отдельные белки RNP комплекса, антиген Sm, а также антиген Jo-1, Scl-70 и рибосомальный белок Р. В состав ЭНА не входят гистоновые белки и двуспиральная ДНК, что не позволяет использовать тесты для выявления антител к ЭНА для скрининга антинуклеарных антител. Тесты, основанные на ограниченном числе ядерных антигенов, значительно уступают по чувствительности выявлению АНФ, особенно у больных с артритами и аутоиммунными заболеваниями печени.

### **Антитела к двуспиральной ДНК (дсДНК)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА или иммунохимические методы, нРИФ для подтверждения**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к дсДНК являются одним из основных серологических показателей при СКВ, поскольку отмечаются в 40-60% случаев. Антитела к дсДНК участвуют в патогенезе поражения почек при СКВ с развитием волчаночного гломерулонефрита. Регулярные измерения антител к дсДНК используются для оценки активности СКВ. Традиционные тесты для выявления антител к дсДНК методом ИФА могут давать ложноположительные результаты, поэтому целесообразно выявлять антитела к дсДНК только совместно с антинуклеарным фактором, или подтверждать наличие антител к дсДНК с помощью специализированных нРИФ тестов.

### Определение специфичности антинуклеарных антител

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: лайн-блот, ИФА, иммунохимические методы, мультиплексные технологии**

**Описание метода и клиническое значение:**

Для определения специфичности антинуклеарных антител может использоваться один мультиплексный тест или группа тестов. В большей части случаев целесообразно определение специфичности антинуклеарных антител только при положительном результате выявления антинуклеарного фактора. Некоторые специфичности антинуклеарных антител могут встречаться изолированно, некоторые отмечаются преимущественно сочетано.

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

Специфичность антинуклеарных антител даже при высоких титрах АНФ удается установить далеко не всегда, поскольку остаются неохарактеризованными ряд антигенов антинуклеарных антител. Отрицательный результата определения специфичности антинуклеарных антител в этом случае не исключает диагноза СЗСТ.

**Диагностика антифосфолипидного синдрома (АФС), включая: повторные венозные и артериальные тромбозы у лиц моложе 55 лет (ТЭЛА, тромбоз вен почек, глаз, инфаркт, инсульт, тромбоз вен голени), тромбоцитопения, сетчатое ливедо, хр. невынашивание беременности и фето-плацентарная недостаточность)**

Антифосфолипидный синдром (АФС) представляет собой иммуноопосредованное нарушение коагуляции, в ходе которого аутоантитела нарушают свертывание крови *in vitro*, что в организме приводит к повторным тромбозам. Аутоантитела реагируют с фосфолипидами и их белковыми кофакторами, которые участвуют в прокоагулянтных и антикоагулянтных системах. Под

действием антител к фосфолипидам удлиняется активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), которое отражает присутствие волчаночного антикоагулянта.

Антифосфолипидные антитела (АФА) – это семейство антител против несколько разновидностей фосфолипидов, поэтому одного единого теста для выявления всех «антифосфолипидных антител» не существует. Среди всех АФА наиболее стандартизовано определение антител к кардиолипину, выявление которых используется для постановки диагноза АФС и входит в клинико-лабораторные критерии заболевания (Myakis et al. 2006). Основным антигеном в тестах по выявлению антифосфолипидных антител выступает липидно-белковый комплекс кардиолипина и белка бета-2-гликопротеина. Поэтому тест называют бета-2-гликопротеин-зависимые антикардиолипиновые антитела, чтобы их отличить от антифосфолипидных антител, встречающихся при сифилисе и других инфекциях. Антикардиолипиновые антитела перекрестно реагируют с мембранами тромбоцитов, и отмечаются при тромбоцитопении. Кроме того, редкие перекрестные реакции обнаруживаются с некоторыми вирусами, например парвовирусом В19 и гепатитом С. У 5-10% пациентов с первичным АФС выявляются только антитела к бета2 гликопротеину. Отдельно выделяют «некритериальные» антифосфолипидные антитела, в том числе антитела к аннексину V (Ann5) и антитела к протромбин-фосфатидилсеринному комплексу (PS-PT), которые могут играть важную роль в патогенезе АФС, однако их роль в диагностике АФС до сих пор не определена.

#### Антитела к кардиолипину

#### Классы антител: IgG и IgM

#### Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы, могут использоваться мультиплексные технологии

#### Описание метода и клиническое значение:

Необходимо выявлять 2 класса IgG и IgM антител к кардиолипину, что значительно увеличивает чувствительность и специфичность обследования. Увеличение содержания любого из классов иммуноглобулинов АКЛ свидетельствует о риске или наличии АФС. Риск тромбоза повышается с увеличением содержания антител. Для подтверждения диагноза АФС необходимо показать, что высокие титры антител сохраняются в течении 3х месяцев и не являются транзиторными после перенесенной инфекции.

#### Антитела к бета2 гликопротеину

#### Классы антител: IgG и IgM

#### Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы, могут использоваться мультиплексные технологии

#### Описание метода и клиническое значение:

Бета 2 гликопротеин представляет основной антиген антифосфолипидных антител при антифосфолипидном синдроме, поскольку антифосфолипидные антитела реагируют с измененной



структурой белка, которая формируется при его связывании с фосфолипидами, в том числе кардиолипином.

**Волчаночный антикоагулянт**

**Классы антител: не определен**

**Метод выявления: функциональный коагулологический тест, основанный на последовательном использовании метода скрининга, теста смешения и подтверждающего теста с избытком фосфолипидов.**

**Описание метода и клиническое значение:**

Волчаночный антикоагулянт представляет собой функционально активные антифосфолипидные антитела, которые могут вмешиваться в систему гемостаза и проявляются замедлением фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов.

**Диагностика ревматоидного артрита (РА) и других артропатий, включая ранний РА, серонегативные артропатии**

**Ревматоидный фактор (РФ)**

**Классы антител: IgM, IgA**

**Метод выявления: биохимический турбидиметрический (нефелометрический тест), ИФА.**

**Описание метода и клиническое значение:**

Ревматоидный фактор (РФ) представляет собой антитела к молекуле IgG и используется для диагностики РА с момента описания при этом заболевании. Однако он малоспецифичен (70%) и, встречается при других заболеваниях, которые протекают с поликлональной активацией В-лимфоцитов, например СКВ, с-ме Шегрена, криоглобулинемии, хронических инфекциях. Кроме того, РФ появляется в крови большинства больных только к концу 1 года от начала заболевания, и малоинформативен в диагностике дебюта РА. Сравнительно большей специфичностью для диагностики ревматоидного артрита обладает 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 старше 65 лет. Деструктивный РА обычно отмечается на фоне высоких концентраций РФ (> 40 IU/мл) или превышающих верхнюю границу нормы в 3 раза.

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

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

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. Антитела реагирующие с цитруллиновыми остатками в составе белков называют семейством антицитруллиновых антител. Основным тестом для определения антицитруллиновых антител 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 действующих критериях для постановки диагноза РА (Aletaha D. Et al., 2010). Наилучшими клинико-диагностическими параметрами, прежде всего непревзойденной специфичностью составляющей 97-98% является антиген второго поколения ССР2.

Определение АЦЦП обладает чувствительностью 65-70% и специфичностью 98% для диагностики раннего РА, т.е. фактор риска заболевания при положительном результате обследования составляет около 30-40. У бессимптомных доноров встречаемость АЦЦП составляет 0,2-2%, серонегативных артропатиях - 2-5%, при СКВ - 2%.

### **Антитела к модифицированному цитруллинному виментину (MCV)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антигеном данных аутоантител является генетически-модифицированный белок виментин, который содержит большее число цитруллиновых остатков, в отличие от пептидного антигена АЦЦП. Антитела встречается при РА несколько чаще, чем АЦЦП (75-80%), однако менее специфичны. Может быть рекомендован для скрининга РА совместно с РФ.

↓

**Выявление HLA B27 методом ПЦР**

**Метод выявления: ПЦР, проточная цитометрия, технологии HLA-типирования**

**Описание метода и клиническое значение:**

Система HLA представляет чужеродные антигены в иммунной системе. Ее гены отличаются разнообразием, поэтому спектр генов HLA играет большую роль в индукции иммунных ответов, в том числе аутоиммунных. 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 серонегативных артропатиях (в том числе псориатической) в 60-70%. Риск развития анкилозирующего спондилита у здоровых лиц, положительных по HLA-B27 равен около 2%.

**Диагностика васкулитов, включая аортоартериит Такаясу, височный артериит, с-м Кавасаки, узелковый полиартериит, с-м Вегенера, с-м Чарг-Штраусса, микроскопический полиангиит, быстропрогрессирующий гломерулонефрит, пурпура Шонлейн-Геноха, криоглобулинемия.**

Васкулиты представляют собой широкий спектр заболеваний имеющих разнообразную природу. Среди них первичные васкулиты имеют аутоиммунную этиологию, а другие процессы 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 и выбросом цитокинов, приводящих к выраженному острофазовому ответу, в том числе увеличению СОЭ и СРБ. По выраженности острофазовый ответ при системных васкулитах похож на сепсис.

Гранулематозные васкулиты, такие как с-м Вегенера, сопровождаются появлением **антител к цитоплазме нейтрофилов** (АНЦА), которые реагируют с белками азурофильных гранул цитоплазмы нейтрофилов. Некоторые бактериальные агенты (стафилококки), производящие суперантигены, могут играть роль в индукции аутоиммунных ответов. Воспаление приводит к экспрессии антигенов антинейтрофильных антител на поверхности лейкоцитов и эндотелия.

Взаимодействие АНЦА с мишенями приводит к преждевременной дегрануляции нейтрофилов при их трансэндотелиальной миграции и образованию воспалительной гранулемы.

Поражения мельчайших сосудов или капилляриты (с-м Шонлейн-Геноха, криоглобулинемия) возникают под воздействием **циркулирующих иммунных комплексов** (ЦИК), которые представлены полимерными иммуноглобулинами и недостаточно растворимы. Так, резкое снижение растворимости ЦИК при криоглобулинемии на фоне охлаждения является причиной кожной пурпуры, артралгий, полиневрита и гломерулонефрита. При капилляритах целесообразно исследовать **белки комплемента** и антитела к ним. **Биопсия кожи**, при капилляритах позволяет обнаружить специфические отложения иммуноглобулинов в стенках мелких сосудов.

### **Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: нРИФ**

**Описание метода и клиническое значение:**

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 с-ма Вегенера и перинуклеарный (пАНЦА) характерный для других васкулитов. Может выявляться нетипичный тип АНЦА (хАНЦА), который отмечается при воспалительных заболеваниях кишечника. Существующие рекомендации по тестированию АНЦА в клинике (Savigne J et al. 2003) рекомендуют совместное использование нРИФ и определения антител к протеиназе и миелопероксидазе.

Целесообразно выявлять АНЦА совместно с АНФ, так как антинуклеарные антитела могут маскировать АНЦА.

## Тесты для определения специфичности АНЦА

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

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.

<i>Антиген</i>	<i>Заболевание</i>	<i>Антиген</i>	<i>Заболевание</i>
<i>Протеиназа-3</i>	С-м Вегенера	<i>Эластаза</i>	СКВ, Васкулит, ВЗК (б.Крона, НЯК)
<i>Миелопероксидаза</i>	Полиангит, нефрит	<i>Белок ВР1</i>	Муковисцидоз
<i>Катепсин G</i>	СКВ, РА, ВЗК	<i>Лактоферрин</i>	Склерозирующий холангит, ВЗК

**Антитела к С1q фактору комплемента**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

Система комплемента представляет собой группу сывороточных белков, которые совместно с иммуноглобулинами разрушают клеточные стенки бактерий и мембраны клеток, пораженных вирусами. Антитела к С1q фактору комплемента способны стабилизировать С1-конвертазу и приводить к выраженной активации системы комплемента. В результате страдает стенка капилляров и развивается кожный **гипокомплементемический** васкулит. Антитела к С1q встречаются у 20-40% больных при системной красной волчанке и у 40% при иммунокомплексных васкулитах различной этиологии.

**Определение криоглобулинов с активностью ревматоидного фактора**

**Класс антител: IgM, IgG, IgA редко**

**Метод выявления: функциональный тест, турбидиметрия, иммунофиксация**

**Описание метода и клиническое значение:**

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. Исследуется наличие криоглобулинов, содержания белка в преципитате может быть измерено или оценен криокрит (% от объема сыворотки) и активность РФ в преципитате. Для корректного обследования необходимо соблюдать температурные условия забора крови и доставки биоматериала в лабораторию при температуре образца не ниже 35°C..

**Антитела к базальной мембране клубочка (БМК)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы**

**Описание метода и клиническое значение:**

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 с-ма Гудпасчера. Типичным его проявлением является быстро прогрессирующий гломерулонефрит и альвеолит.

**Диагностика аутоиммунных заболеваний печени и поджелудочной железы, включая аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит.,**

Аутоиммунный гепатит (АИГ) является частым аутоиммунным заболеванием печени. В зависимости от встречающихся аутоантител выделяют гепатиты 2-х типов, которые отличаются также эпидемиологическими параметрами и характером ответа на терапию. Аутоиммунный гепатит 1 типа отмечается у лиц возраста 15-40 лет, несколько чаще у женщин. Он характеризуется прогрессирующим течением и хорошим ответом на иммуносупрессивную терапию. Аутоиммунный гепатит 1 типа протекает с выраженной поликлональной активацией иммунной системы, которая ведет к гипергаммаглобулинемии и появлению антител к гладким мышцам и АНФ (**диагностическая триада**), другими маркерами являются антитела к растворимому печеночному антигену (SLA/LP) и асиалогликопротеиновому рецептору (ASPGR) (Hennes E.M. et al. 2008). Обнаружение АНФ роднит это заболевание с СКВ, не зря ранее АИГ 1 типа называли «люпоидным гепатитом». Аутоиммунный гепатит 2 типа встречается у детей с 1 года и наиболее характерным серологическим показателем является наличие антител к микросомам печени и почек (LKM-1).

Первичный билиарный цирроз (ПБЦ) сопровождается прогрессирующим течением с иммунным ответом на билиарные протоки. У всех пациентов с этим заболеванием появляются аутоантитела, которые реагируют с **антигенами митохондрий**. Основной мишенью аутоантител являются белки пируват-декарбоксилазного комплекса. Пируват-декарбоксилазный комплекс осуществляет расщепление липидов и подвержен действию многих гепатотоксичных веществ. Его антигенная модификация играет ведущую роль в развитии аутоиммунного ответа при ПБЦ. Антиядерный фактор встречается у 70- 90% пациентов с ПБЦ. Первичный склерозирующий холангит (ПСХ) также является аутоиммунным поражением иммунной системы. Это заболевание нередко сочетается с неспецифическим язвенным колитом. Перинуклеарный тип антинейтрофильных цитоплазматических антител (пАНЦА) и антиядерный фактор встречаются у 50% больных ПСХ.

Для выявления антител при аутоиммунных заболеваниях печени обычно используют метод ИРИФ на так называемом «тройном субстрате», включающем тканевой комплекс криосрезов печени-почки-желудка крысы. Данная комбинация тестов является **основной** при обследовании больных с аутоиммунными поражениями печени, так как объединяет все наиболее часто встречающиеся антитела.

### **Антитела к гладким мышцам (АГМА)**

**Класс антител: IgG, IgA, IgM**

**Метод выявления: нРИФ, реже ИФА, мультиплексные методы**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к гладким мышцам являются основным серологическим маркером аутоиммунного гепатита 1 типа, который преобладает во взрослой популяции. Антитела направлены к F-актину (фибрилярному), который сложно получить в нативной форме. Поэтому единственным надежным методом определения антител является РИФ. Выявление АГМА целесообразно дополнять определением антинуклеарного фактора и выявлением гипергаммаглобулинемии.

### **Антитела к митохондриям (АМА)**

**Класс антител: IgG, IgA, IgM**

**Метод выявления: нРИФ, ИФА, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Описано 9 видов аутоантител к антигенам митохондрий. При первичном билиарном циррозе чаще других (95%) случаев отмечаются антитела М2, направленные к пируват-декарбоксилазному комплексу. Значительно реже отмечаются АМА других видов. АМА М1 имеют перекрестную реакцию с антителами к кардиолипину, а АМА М7 отмечаются при миокардитах. АМА М2 в отличие от других видов антител обычно обнаруживается в высоких титрах.

### **Антитела к микросомам печени почек (LKM-1)**

**Класс антител: IgG, IgA, IgM**

**Метод выявления: нРИФ, ИФА, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к микросомам реагируют с микросомальной фракцией клеток печени и почек. Они отмечаются при аутоиммунном гепатите у детей и в единичных случаях отмечаются у взрослых при вирусном гепатите С.

**Диагностика аутоиммунных заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая аутоиммунный гастрит, целиакия, лактазная недостаточность, аутоиммунный панкреатит**

**Аутоиммунный гастрит** относится к частым аутоиммунным заболеваниям и наиболее частым аутоиммунным заболеванием ЖКТ и протекает субклинически. Это заболевание в 30% случаев сопутствует аутоиммунным процессам в щитовидной железе, алопеции и витилиго, хотя может встречаться самостоятельно. В его основе лежит аутоиммунная реакция, направленная против обкладочных (париетальных-англ.) клеток желудка. Обкладочных клеток больше в теле желудка, поэтому обычно аутоиммунный гастрит проявляется атрофией фундальных отделов, по сравнению с антральным гастритом при хеликобактерной инфекции. Обкладочные клетки желудка вырабатывают соляную кислоту и внутренний фактор Кастла, необходимый для

всасывания витамина В12 в кишечнике. Уничтожение обкладочных клеток ведет к гипоацидному гастриту, мальабсорбции, железодефицитной и пернициозной анемиям.

**Целиакия** представляет собой иммуно-опосредованную непереносимость альфа-глиадина - белка, который является основным белком клейковины злаковых культур. Альфа-глиадин на 60% состоит из аминокислоты глутамина, а пептиды глиадина подвергается дезаминированию под действием фермента тканевой трансглутаминазы. Тканевая трансглутаминаза дезаминирует также ряд белков соединительной ткани в составе эндомиозиальных и ретикулиновых волокон. Таким образом, иммунный ответ на экзогенный антиген ведет к появлению антител к **дезаминированным пептидам глиадина**, а также аутоантител, направленных как на аутоантигены эндомиозия, ретикулина и **человеческую тканевую трансглутаминазу 2 (Тg2)**. Лабораторный диагноз целиакии основан на европейских рекомендациях *ESPGHAN 2012* (Husby S et al. 2012) и подразумевает выявление сочетания серологических и генетических маркеров целиакии. Использование для клинической диагностики тестов *первого поколения*, включающих антитела к альфа глиадину и транглутаминазы лабораторных животных, в настоящее время не рекомендовано.

#### **Антитела к париетальным клеткам желудка (АПКЖ)**

**Класс антител: IgG, IgA, IgM**

**Метод выявления: нРИФ, ИФА, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела обнаруживаются с помощью непрямой иммунофлюоресценции. Они присутствуют у 90% больных с аутоиммунным гастритом, 60% больных с пернициозной анемией и 30% больных с тиреоидитом Хашимото

#### **Антитела к фактору Кастла - внутреннему фактору**

**Класс антител: IgG, IgA, IgM**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к внутреннему фактору участвуют в развитии витаминно-дефицита, поскольку обуславливают нарушение всасывания витамина В12 и как следствие развитие его дефицита. Отмечаются у 70% больных с пернициозной анемией.

#### **Антитела к эндомиозию IgA**

**Класс антител: IgA**

**Метод выявления: нРИФ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к эндомиозию класса IgA реагируют с волокнами соединительной ткани внутри мышечных пучков, которые богаты тканевой трансглутаминазой. Они отмечаются у 90-95%

больных целиакией, причем встречаемость выше до назначения безглютеновой диеты. Строгая диета приводит к снижению титров всех аутоантител, а персистенция высоких титров свидетельствует о несоблюдении диеты. Выявление антител к эндомицину используется для подтверждения серологических реакций, направленных против тканевой транглутаминазы.

### **Антитела к человеческой тканевой трансглутаминазе 2 типа**

**Класс антител: IgA и IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к человеческой рекомбинантной тканевой трансглутаминазе 2 класса IgA являются наиболее чувствительным серологическим маркером целиакии. Выявление антител к TG2 в титре, превышающем 200 RU/ml, позволяет заподозрить целиакию с фактором риска более 30. Выявлению антител совместно с антителами к эндомицину и генетическими маркерами позволяет поставить диагноз целиакии не прибегая к проведению эндоскопического обследования и биопсии тонкой кишки. Высокие титры антител следует подтверждать определением антител к эндомицину IgA.

### **Антитела к дезамидированным пептидам глиадина (ДПГ)**

**Класс антител: IgA и IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

В качестве единственного серологического маркера целиакии антитела иммунодоминантным дезаминированным пептидам глиадина (ДПГ) класса IgG могут встречаться у детей в возрасте менее 2 лет. В более взрослом возрасте обычно сопровождаются антителами к транглутаминазе. Целесообразность определения антител ДПГ класса IgG диктуется высокой частотой целиакии у лиц с селективным дефицитом продукции IgA. В этой группе (1/400-1/1000 популяции) снижена или отсутствует продукция IgA, поэтому необходимо определение антител других классов.

### **Антитела к ретикулину**

**Класс антител: IgA и реже IgG**

**Метод выявления: ИРИФ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к ретикулину встречаются у 30-40% больных. Они направлены к стромальным волокнам соединительной ткани, объединяющей клетки в паренхиматозных органах (почка, печень и т.д.), которые также богаты тканевой транглутаминазой.

### **Генотипирование HLA DQ2/DQ8 при целиакии**

**Метод выявления: ПЦР, технологии HLA-типирования**

**Описание метода и клиническое значение:**



Целиакия возникает исключительно у лиц, несущих аллели HLA DQ2/DQ8, что позволяет использовать генотипирование HLA для выявления лиц с высоким генетическим риском целиакии. Характерные для целиакии гены относят к распространенному европейскому генотипу A1-B8-DR3, который имеют 30% населения северной Европы, поэтому присутствие в геноме молекул DQ2/DQ8 обязательно, но недостаточно для развития целиакии у человека. Генотипирование предлагается для исключения диагноза целиакии в неясных случаях.

**Диагностика воспалительных заболеваний кишечника, включая язвенный колит, болезнь Крона.**

Эти состояния сопровождаются появлением целого ряда аутоантител, из которых наиболее информативными представляются 4 разновидности: антитела к бокаловидным (слизистым) клеткам кишечника, антитела к экзокринной части поджелудочной железы, АНЦА и антитела к пекарским дрожжам *Saccharomyces cerevisiae*. АНЦА классов IgG и IgA наиболее часто отмечаются при НЯК, кроме того нередко при НЯК отмечаются антитела к бокаловидным клеткам. При болезни Крона наблюдается гиперреактивность иммунной системы к компонентам естественной бактериальной флоры. Обнаруживаются антитела к пектину, агар-агару и другим полисахаридным антигенам, включая полисахариды клеточной стенки пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), кроме того появляются антитела к антигенам поджелудочной железы.

**Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)**

**Класс антител: IgA и IgG**

**Метод выявления: ИФА, нРИФ, иммунохимические методы, мультиплексный анализ**

**Описание метода и клиническое значение:**

При болезни Крона ASCA класса IgA встречаются у 60-65% больных и практически не отмечаются при НЯК, обладая специфичностью 98%, а также могут быть обнаружены у 1% здоровых доноров.

**Антинейтрофильные антитела (АНЦА) классов IgG и IgA**

**Класс антител: IgA и IgG**

**Метод выявления: нРИФ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антинейтрофильные антитела (АНЦА) являются маркером васкулитов, но при язвенном колите отмечаются у 70-75% пациентов. Точный аутоантиген АНЦА при этом заболевании не выявлен, так как это не миелопероксидаза и протеиназа 3, антитела к которым обнаруживаются при гранулематозных васкулитах.

**Кальпротектин фекальный**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические методы**

**Описание метода и клиническое значение:**

Кальпротектин является продуктом нейтрофильных гранулоцитов, обнаружение которых в кале указывает на воспаление в стенке кишки (*воспалительную диарею*). Это белок с молекулярным весом 36 kDa составляет 60% белка, содержащегося в цитоплазме нейтрофилов. Повышенная концентрация КПФ более чем у 95% больных с воспалительными заболеваниями кишечника. Концентрация фекального кальпротектина в стуле коррелирует с гистологической и эндоскопической активностью заболевания. Умеренно повышенные значения отмечаются при поражении слизистой (целиакии, лактазной недостаточности, аутоиммунного гастрита), значительно повышенные концентрации отмечаются при ВЗК, бактериальных инфекциях ЖКТ, дивертикулах и онкологических заболеваниях, постоянном приеме нестероидных противовоспалительных средств (НПВС).

**Серологическая диагностика аутоиммунных эндокринопатий, включая тиреоидит Хашимото, диффузный токсический зоб, микседема/офтальмопатия, сахарный диабет тип 1, болезнь Аддисона, первичная недостаточность яичников, синдромы полиэндокринопатии**

Аутоиммунные эндокринопатии (тиреоидит, сахарный диабет тип 1, диффузный токсический зоб) относятся к разряду наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний. Все они сопровождаются аутоантителами, которые могут быть использованы для их диагностики. Тиреоидит Хашимото сопровождается появлением антител к основным тканевым компонентам щитовидной железы – тиреопероксидазе и тиреоглобулину. Определение антител к **тиреопероксидазе** превосходит по чувствительности и специфичности антитела к тиреоглобулину. Следует отличать тесты, основанные на определении «микросомальной фракции» щитовидной железы. В них используется плохо очищенный антиген, содержащий значительную примесь антигенов антинуклеарных и митохондриальных антител, что снижает чувствительность и специфичность обследования. В патогенезе диффузного токсического зоба (ДТЗ) и болезни Грейвса ведущую роль играют антитела к **рецептору тиреотропного гормона**, стимулируя продукцию гормонов.

Хотя в развитии сахарного диабета (СД) 1 тип ведущую роль играют клеточные механизмы, это заболевание сопровождается выраженным гуморальным ответом с образованием антител к **островкам поджелудочной железы** Лангерганса (ICA). Так как антигены этих антител охарактеризованы плохо основным методом их выявления является нРИФ. Болезнь Аддисона связана с аутоиммунным ответом против **стероидпродуцирующих клеток** надпочечников. Антигеном антител являются ферменты стероидогенеза, прежде всего, фермент коры надпочечников 21-гидроксилаза. Метод непрямой иммунофлюоресценции позволяет выявлять как антитела к 21-гидроксилазе, так и антитела к другим ферментам надпочечников, в частности 17-гидроксилазе (маркер аутоиммунного гипогонадизма) и цитохрому P450cc, которые также экспрессируются в яичниках, яичке и плаценте.

**Полиэндокринопатии (ПЭП)** представляют собой сочетание одной аутоиммунной эндокринопатии с другой или с ассоциированным аутоиммунным заболеванием. Выделяют несколько типов ПЭП. В основе ПЭП 1 и 2 типов лежит редко встречающаяся недостаточность коры надпочечников, в то время как наиболее частый 3 тип ПЭП представляет собой спектр аутоиммунных заболеваний на фоне аутоиммунных поражений щитовидной железы. Наиболее часто с аутоиммунными тиреопатиями сочетаются аутоиммунный гастрит и пернициозная анемия, СД 1 тип, а также витилиго, аллопеция, целиакия. Характерно, что их реальная частота в десятки раз превосходит расчетную, основанную на случайном сочетании эндокринопатий. Так встречаемость антител к тиреопероксидазе у больных СД 1 типа составляет около 10%, и ежегодным риском развития тиреоидита 10-20%. Рекомендуется широкое серологическое обследование больных с тиреопатиями и СД 1 тип для обнаружения тиреоидных аутоантител, островковых антител, антител к обкладочным клеткам желудка, антиэндомизимальных антител и антител к стероидпродуцирующим клеткам.

#### **Антитела к тиреопероксидазе**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к тиреопероксидазе (анти-ТПО) встречаются как при аутоиммунном тиреоидите, так и при ДТЗ. Анализ результатов теста должен включать оценку гормонального статуса, так как антитела встречаются у 3-6% здоровых женщин без признаков тиреоидита. При выявлении антител к ТПО при нормальном уровне гормонов ежегодный риск развития тиреоидита составляет 2-4%. Являются одними из наиболее частых аутоантител у человека.

#### **Антитела к рецептору тиреотропного гормона**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к рецептору ТТГ (рТТГ) гетерогенная популяция, которую подразделяют на стимулирующие и блокирующие антитела. Рекомендуется использовать тесты, которые выявляют стимулирующие антитела за счет конкурентного взаимодействия с моноклональным антителом М22. Данные аутоантитела позволяют диагностировать болезнь Грейвса, включая ДТЗ и офтальмопатию, которая встречается у 2% женской популяции. Проходя через плаценту обуславливают врожденный тиреотоксикоз у новорожденного от матери больной ДТЗ.

#### **Антитела к инсулину (эндогенному)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

Аутоантитела, определяемые до назначения препаратов инсулина, т.е. антитела к эндогенному инсулину, присутствуют у 20-60% больных с клиническим дебютом СД1. В дальнейшем после начала инсулинотерапии антитела к инсулину теряют свое диагностическое значение. Выявляемость антител к инсулину максимальна при дебюте диабета в возрасте до 5-10 лет, после этого возраста аутоантитела встречаются значительно реже. Антитела к инсулину присутствуют у большинства детей до 5 лет, но только у 5% при позднем начале СД1 после 19-летнего возраста. Антитела к инсулину могут отмечаться при инсулин-аутоиммунном синдроме (болезнь Хирата) приводя к спонтанной гипогликемии.

### **Антитела к островкам Лангерганса (ICA)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИРИФ,**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к бета клеткам островков Лангерганса встречаются у 60-90% больных в дебюте диабета 1 типа, несколько чаще у детей. Встречаемость максимальна в дебюте заболевания, и титры антител значительно снижаются через 1 год после начала заболевания. Практическое использование этого маркера включает дифференциальную диагностику нарушений глюкозотолерантности у детей, диагностику LADA типа диабета, диагностику полиэндокринопатий. Встречаемость антител в популяции составляет 0,1-0,4%, чаще антитела отмечаются у родственников больных. Все разновидности антител к островковым антигенам могут использоваться для предсказания развития СД1 у родственников и высокого риска полиэндокринопатий (антитела к инсулину, ICA, анти-GAD, анти-IA2). Выявление трех и более разновидностей аутоантител свидетельствует о риске развития СД1 более 90%.

### **Антитела к глутамат декарбоксилазе (GAD/ГДК)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

Глутамат-декарбоксилаза представлена в 2 формами: GAD65 кДа (в островках Лангерганса) и GAD 67 кДа (в нервной ткани). Антитела к GAD 67 перекрестно реагируют с GAD 65, поэтому используемые тесты выявляют антитела к GAD 65. Антитела к GAD отмечаются у 70-90% больных с впервые выявленным СД1 типа, и, в отличие от других антител, вне зависимости от возраста. Совместно с антителами к инсулину отмечаются у детей с СД1 младше 10 лет. Антитела к GAD могут отмечаться у 2-10% родственников больных с СД1 и лиц с эндокринопатиями и их выявление совместно с другими антителами может использоваться для оценки риска развития СД. Детский возраст и высокий титр являются факторами риска развития заболевания. Антитела к GAD могут использоваться для диагностики скрытого диабета у взрослых (типа LADA). Также они отмечаются у 5-10% больных с диабетом беременных и высоким риском развития СД1. Их выявление исключает MODY тип диабета. Выявление антител к GAD также показано при ряде

неврологических заболеваний, в том числе синдроме ригидного человека, лимбическом энцефалите, церебеллярной атаксии и стойкой эпилепсии.

### **Антитела к тирозин-фосфатазе (IA2)**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИФА, иммунохимические тесты**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела направлены против тирозин-фосфатазы поджелудочной железы, которая участвует в секреции инсулина. Являются минорным маркером поскольку отмечаются у 30-50% пациентов со впервые выявленным СД1 и обычно появляются после антител к инсулину и GAD/ДГК. Таким образом, определение антител к инсулину и GAD/ДГК целесообразно у детей до 10 лет, у лиц старше 10 лет рекомендуется выявление GAD/ДГК совместно с IA2.

### **Антитела к стероид-продуцирующим клеткам**

**Класс антител: IgG**

**Метод выявления: ИРИФ**

**Описание метода и клиническое значение:**

Антитела к стероидпродуцирующим клеткам (АСПК) надпочечников отмечаются у 90% в дебюте болезни Аддисона, через некоторое время титры антител падают и частота обнаружения уменьшается до 70-80%. Антитела направлены против ключевого фермента стероидогенеза 21-гидроксилазы, поэтому отмечаются при полиэндокринопатиях, в том числе у больных с задержкой полового развития связанного с первичной яичниковой недостаточностью аутоиммунного генеза.

**Диагностика аутоиммунных заболеваний кожи, включая пузырьные дерматозы (пузырчатка, пемфигоид, герпетиформный дерматит Дюринга), кожные формы системных заболеваний**

Пузырные дерматозы представляют собой аутоиммунные заболевания, в основе которых лежит иммунный ответ против межклеточных контактов кожи. При вульгарной пузырьчатке появляются антитела десмосомам кожи (антиген - десмоглеин 3). Десмосомы представляют собой плотные межклеточные контакты, разрушение которых приводит к образованию интраэпителиальных полостей и отделению клеток друг от друга (акантолитические клетки). Особенность аутоантител при пузырьчатке является способность активировать систему комплемента, в результате чего антитела имеют прямое цитотоксическое действие. В отличие от пузырьчатки, при пемфигоиде появляются антитела к гемидесмосомам базального слоя. Эти структуры связывают между собой эпидермис и дерму. Как и при пузырьчатке антитела обладают способностью фиксировать комплемент. В результате при разрушении гемидесмосом полости образуются на границе эпидермиса и дермы. Так как структуры эпидермиса не нарушены, акантолитические клетки отсутствуют.

Серологическое обследование позволяет выявлять антитела у 70-80% больных с пузырьными дерматозами, в то время как у большинства больных с начальными формами и поражением

слизистых антитела в крови отсутствуют. В этом случае большой информативностью обладает прямое иммунофлюоресцентное обследование **биопсии непораженной кожи**. Исследуются уже существующие отложения иммуноглобулинов и комплемента в структурах кожи. Биопсия доставляется в лабораторию в специальной **транспортной среде Михаэлиса**. Биопсия непораженной кожи с иммунологическим исследованием имеет важное значение в диагностике пузырных дерматозов, системной и кожных форм красной волчанки, а также в диагностике герпетиформного дерматита Дюринга и кожных васкулитов. При красной волчанке на fotocувствительных областях обнаруживается положительный «тест волчаночной полоски», представляющий собой гранулярные отложения иммуноглобулинов (чаще IgM) под базальной мембраной кожи. При герпетиформном дерматите отмечаются округлые отложения IgA в сосочках дермы, а при пурпуре Шонлейн-Геноха в капиллярах выявляются отложения IgA. Для диагностики поражения кожи целесообразно использовать серологическое обследование, после чего должна выполняться биопсия непораженной кожи.

#### **Антитела к десмосомам и антигенам десмосом (десмоглеину-3 и десмоглеину-1)**

Антитела к десмосомам в крови отмечаются при вульгарной, листовидной, лекарственной и паранеопластической пузырчатке у 90% больных. В случае отсутствия антител при яркой клинике необходимо произвести биопсию кожи с иммунофлюоресцентным исследованием. Для определения динамики заболевания могут быть исследованы антитела к основным антигенам этих заболеваний. При вульгарной пузырчатке определяются антитела к десмоглеину 3, при листовидной пузырчатке - десмоглеину 1.

#### **Антитела к антигенам базальной мемbrane кожи (белкам BP180 и BP 230)**

Антитела к базальной мемbrane направлены к гемидесмосомам базального слоя эпителия и являются маркером буллезного пемфигоида и его разновидностей. Они могут быть выявлены в иммунофлюоресцентном тесте, а затем конкретная разновидность подтверждена методом ИФА. Встречаемость антител составляет 75% и обычно должна подтверждаться биопсией кожи.

#### **Иммунофлюоресцентное исследование биопсий кожи (IgG, IgA, IgM, C3, C1q)**

В диагностике пузырных дерматозов оно обладает почти 100% чувствительностью и является «золотым стандартом» обследования. Выявляются антитела к межклеточным контактам (пузырчатка), базальной мемbrane (пемфигоид, пемфигоид беременных, линейный IgA дерматоз, пемфигоид слизистых, буллезный эпидермолиз), IgA в сосочках при герпетиформном дерматите Дюринга. Может быть обнаружена «волчаночная полоска», представляющая отложения IgM/IgG по базальной мемbrane при СКВ, отложения IgA в сосудах дермы при пурпуре Шенлейн-Геноха.