



Диагностика системной красной волчанки

Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний

Научно-методический центр по молекулярной медицине МЗ РФ

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад. И.П.Павлова

197022 Санкт-Петербург, ул.Л.Толстого 6/8, корпус 28

тел. 8(812) 994-53-24, 338-71-94, autoimmun@mail.ru; www.autoimmun.ru

Определение и диагностические критерии: Системная красная волчанка (СКВ)- системное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся гиперпродукцией антинуклеарных аутоантител с развитием иммуновоспалительного повреждения тканей и внутренних органов (рекомендации Ассоциации ревматологов России 2013/2016). У большинства пациентов с СКВ отмечаются различные формы поражения кожи и слизистых (рис.1). Новые диагностические критерии СКВ (**SLICC 2012**) значительно расширяют роль иммунологических лабораторных тестов в постановке диагноза (табл 1).

Антинуклеарные антитела являются основными аутоантителами при СКВ. Иммунный ответ при СКВ направлен против нуклеопротеиновых антигенов, т.е. комплексов нуклеиновых кислот и белков. При апоптозе эпителиоцитов кожи основные антигены антител конденсируются в апоптотических тельцах, напоминающих вирусные частицы, 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 используют определение **Антинуклеарного фактора на эпителиальной клеточной линии Нер-2** (*meсm 01.02.15.005*). Метод нРИФ позволяет определить содержание и аффинность антинуклеарного фактора в виде титра (норма <1/160), кроме того, в зависимости от мишени антинуклеарных антител определяется т.н. «тип свечения» ядра клетки. Для пациентов с СКВ наиболее характерны титры АНФ более 1/640 с гомогенным типом свечения ядра, который определяет связывание антител с основными антигенами хроматина, в частности двуспиральной ДНК, нуклеосомами и гистонам (см.ниже). При кожных формах волчанки и других системных заболеваниях чаще отмечается гранулярный тип свечения ядра (рис.2). **Скрининг антител к экстрагируемым ядерным антигенам** (*meсm 01.02.15.160*) также позволяет выявлять антинуклеарные антитела, однако обладает меньшей чувствительностью, поэтому рекомендуется его сочетать с обнаружением АНФ. Отрицательный результат **Скрининга болезней соединительной ткани** (тест *01.02.15.245*) практически исключает диагноз СКВ. Основным методом обнаружения АНА в соответствии с международными рекомендациями (*Agmon-Levin N et al. 2014*) является непрямая РИФ, после проведения которой, используются другие методы выявления антител, прежде всего **иммуноблот антинуклеарных антител** (*meсm 01.02.15.165*). Иммуноблот является методом определения специфичности антинуклеарных антител. Этот тест позволяет определить 15 основных мишеней антител (рис.4), которые характерны для СКВ и основных системных ревматических заболеваний, в том числе антитела к Sm антигену. Более полный спектр антинуклеарных антител также выявляют **иммуноблот при склеродермии** (*meсm 01.02.15.535*) и **воспалительных миопатиях** (*meсm 01.02.15.320*).

Антитела к двуспиральной ДНК (дсДНК) и развитие иммунокомплексного васкулита характерны для классических форм СКВ с поражением внутренних органов, прежде всего почек. Антитела к антигенам хроматина (нуклеосомам и ДНК) запускают иммунологическое воспаление там, где сосуды особенно тонки, в том числе в почках, коже, ЦНС, синови, плевре (рис.3). Именно высокоаффинные **антитела к дсДНК** (*meсm 01.02.15.124*) принимают участие в патогенезе волчаночного нефрита, поскольку сорбируются на базальной мембране почек, а также реагируют с нуклеосомами с развитием характерного иммунокомплексного васкулита с активацией системы комплемента. Традиционные тесты по обнаружению антител к дсДНК, основанные на методе ИФА, часто неспецифичны за счет примеси односпиральной ДНК, поэтому рекомендуется дообследование всех положительных образцов с помощью теста **нРИФ на клетках C.lucilia**, который выявляет высокоаффинные антитела к дсДНК (рис.3). Развитие волчаночного васкулита сопровождается появлением **антител к циркулирующим нуклеосомам** (*meсm 01.02.15.425*), **антител к С1q компоненту комплемента** (*meсm 01.02.15.365*), и как результат, формированием **иммунных комплексов, связывающих С1q** (*meсm 01.02.15.725*). Результатом развития иммунокомплексного процесса является активация комплемента по классическому пути с одновременным потреблением С3 и С4 факторов комплемента. Значительная **гипокомплементемия С3, С4 и снижение общего гемолитического комплемента СН-50** (*meсm 01.02.15.715*) является важным иммунологическим проявлением. Все эти тесты важны для оценки прогрессии и развития волчаночного нефрита и органических повреждений при СКВ.

Антифосфолипидные антитела (АФЛА) представляют собой семейство аутоантител, которое отмечается у 50-60% пациентов с СКВ. Они обуславливают нарушение свертывания крови, участвуют в патогенезе тромбоцитопении и васкулопатии, а также акушерской патологии у пациентов с СКВ. В состав семейства АФЛА входят **антитела к кардиолипину (АКЛ) классов IgG и IgM** (*meсm 01.02.15.145*), **антитела к бета-2 гликопротеину** (*meсm 01.02.15.225*). Стойкая позитивность по антителам в высоких титрах (более 40 ед.) указывает на лабораторный диагноз АФС. Отдельно выделяют «некритериальные» АФА, в том числе **антитела к аннексину V** при акушерском АФС (*meсm 01.02.15.291*) и **антитела к протромбиновому комплексу** (*meсm 01.02.15.615*). Риск тромбоза в этом случае увеличивается при увеличении числа серопозитивных реакций, выявленных в одном образце (*meсm 01.02.15.875*). Новый метод **иммуноблотинга для выявления АФЛА классов IgG и IgA** (*meсm 01.02.15.875*) обладает высокой чувствительностью для выявления широкого спектра АФА, включая 10 антигенов АФЛА и их белковых кофакторов. Гемолитическая анемия, тромбоцитопения и лейкопения возникает у 10-30% пациентов с СКВ. Причиной этих нарушений являются как АФЛА, так и антиэритроцитарные антитела – **тест Кумбса** (*meсm 01.02.15.890*), антитела к тромбоцитам (*meсm 01.02.15.487*) и антитела к лимфоцитам.

Рис.1.Классический фенотип пациента с СКВ



Табл1. Диагностические критерии СКВ SLICC 2012

Критерии диагностики СКВ (SLICC 2012)	
≥4 включая 1 лабораторный и 1 клинический	
Клинические критерии	
Острая кожная волчанка	
Хроническая кожная волчанка	
Язвы в носу и рту	
Не-рубцовая алопеция	
Артрит ≥2 суставов	
Серозит (плеврит, перикардит)	
Протеинурия, эритро/цилиндрурия	
ЦНС: судороги, психоз	
Гемолитическая анемия	
Лейкопения	
Тромбоцитопения (<10 ⁹ кл/мкл)	
Лабораторные критерии	
Антинуклеарный фактор	
Антитела к дсДНК	
Антитела к Sm	
Антифосфолипидные антитела*	
Низкий комплемент (С3, С4, СН50)	
Кумбс тест	
* - Волчаночный антикоагулянт; Реакция Вассермана (RPR-тест); Антитела к кардиолипину (IgA, IgG, или IgM) в среднем и высоком титре; Антитела к бета2гликопротеину I (IgA, IgG, или IgM) в среднем и высоком титре.	

Рис.2. Антинуклеарный фактор на Нер2 клетках: гомогенный тип и гранулярный тип свечения

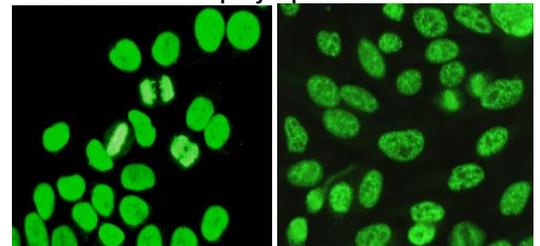


Рис. 3. Структуры хроматина и ат к дсДНК на C.lucilia

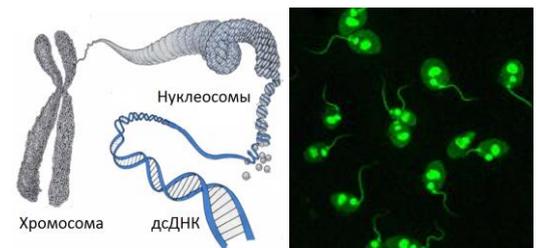
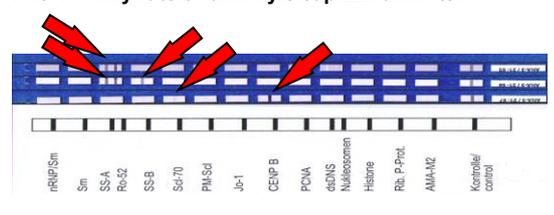


Рис.4. Иммуноблот антинуклеарных антител





Диагностика системной красной волчанки

Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний

Научно-методический центр по молекулярной медицине МЗ РФ

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад. И.П.Павлова

197022 Санкт-Петербург, ул.Л.Толстого 6/8, корпус 28

тел. 8(812) 994-53-24, 338-71-94, autoimmun@mail.ru; www.autoimmun.ru

Системные ревматические заболевания (ДБСТ) и Антифосфолипидный синдром (АФС)

<input type="checkbox"/> 01.02.15.005	890 руб	Антинуклеарный фактор на клетках HEp2 (АНФ)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.160	980 руб	Антитела к экстрагируемому нуклеарному АГ (ЭНА/ENA – скрин)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.124	920 руб	Антитела к дсДНК (NcX) IgG, тест 2 поколения	<input type="checkbox"/> 01.02.15.245	1650 руб	Скрининг болезней соединительной ткани (АНФ и ЭНА/ENA-скрин)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.905	850 руб	Антитела к дсДНК на Crithidia luciliae, подтверждение нРИФ	<input type="checkbox"/> 01.02.15.425	1250 руб	Антитела к нуклеосомам (IgG) тест 2 поколения (АНСА)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.487	1450 руб	Антитела к тромбоцитам класса IgG	<input type="checkbox"/> 01.02.15.925	1200 руб	Антитела к лимфоцитам класса IgG
<input type="checkbox"/> 01.02.15.1175	2650 руб	Диагностика семейной средиземноморской лихорадки (периодическая болезнь, ген MEFV) (пробирка ЭДТА!)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.225	980 руб	Диагностика первичного АФС (Ат к бета2-гликопротеину IgGAM (АБ2ГП))
<input type="checkbox"/> 01.02.15.145	1250 руб	Антитела к кардиолипину классов IgG и IgM (АКЛ)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.225	980 руб	Антитела к бета2-гликопротеину IgGAM (АБ2ГП)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.291	1500 руб	Антитела к аннексину V (Ann5) классов IgG и IgM	<input type="checkbox"/> 01.02.15.615	1250 руб	Антитела к протромбиновому комплексу (PS-PT) классов IgG/IgM
<input type="checkbox"/> 01.02.15.230	2850 руб	Обследование при СКВ (дсДНК и АНФ и АКЛ)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.130	1750 руб	Обследование при волчаночном нефрите (дсДНК и АНФ)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.240	2950 руб	Развернутая диагностика АФС (АКЛ, АБ2ГП, АНФ)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.670	3950 руб	Антифосфолипидные антитела (АКЛ, АБ2ГП, Ann5 IgG/M, PS/PT)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.235	1950 руб	Диагностика вторичного АФС (АКЛ и АНФ)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.875	3750 руб	Иммуноблот для определения спектра антифосфолипидных антител, раздельно IgG и IgM (раздельно 10 антигенов)
<input type="checkbox"/> 01.02.05.270	2500 руб	Генетика тромбофилий, с интерпретацией (плазменное звено FG, FII, FV (Leiden), FVII, FXIII) и сосуд.-тр.звено ITGA2, ITGB3, PAI-1)- пробирка ЭДТА			
<input type="checkbox"/> 01.02.15.165	3250 руб	Иммуноблот антинуклеарных антител (Sm, RNP/Sm, SS-A (60 кДа/52 кДа), SS-B, Scl-70, PM-Scl, PCNA, CENT-B, Jo-1, dsDNA/гистон/, нуклеосомы, Ribo P, AMA-M2)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.535	3600 руб	Иммуноблот антинуклеарных антител при склеродермии (Scl-70, CENP A, CENP B, RP 11, RP 155, фибрилларин, NOR 90, Th/To, PM-Scl100, PM-Scl 75, Ku, PDGFR, Ro-52) и определение антинуклеарного фактора (АНФ)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.320	3750 руб	Иммуноблот при полимиозите (Mi2b, Ku, Pm-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12 EJ, OJ, Ro-52)			
<input type="checkbox"/> 01.02.15.715	1500 руб	Скрининг системы комплемента (CH-50, C3, C4)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.730	1750 руб	Выявление аутоиммунной патологии (CH-50 и C1Q-IgG-ИК)
<input type="checkbox"/> 01.02.15.890	750 руб	Кумбс скрин (полиспецифические агглютинины) ЭДТА!	<input type="checkbox"/> 01.02.15.895	1200 руб	Кумбс профиль (моноспецифические агглютинины) – ЭДТА!
<input type="checkbox"/> 01.02.15.700	950 руб	Общий гемолитический комплемент (CH-50)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.900	1000 руб	Холодовые агглютинины – ЭДТА!+ Б/Х в термосе 40°C
<input type="checkbox"/> 01.02.15.015	460 руб	Ревматоидный фактор (РФ)	<input type="checkbox"/> 01.02.15.020	2650 руб	Скрининг ревматической патологии (АНФ и РФ и АНЦА)

Порядок проведения обследования детей и взрослых

Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова

Местонахождение: Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад.И.П.Павлова - ПСПбГМУ (бывший 1 ЛМИ): Адрес: СПб, ул. Льва Толстого 6/8, метро «Петроградская», 28 корпус Научно-методический центр по молекулярной медицине, Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний. Схема на www.autoimmun.ru

Как пройти: Вход на территорию Университета с перекрестка наб. реки Карповки и ул. Петропавловской через шлагбаум, пройти вперед по наб.реки Карповки, никуда не сворачивая, 200 метров до серого 3-х этажного здания (28 корпус), подняться на 3-й этаж по правой лестнице. **Часы работы и приема биоматериала:** по рабочим дням с понедельника по пятницу с 10 до 15 часов, дежурный врач с 10 до 16 часов. Сдать венозную кровь взрослым по рабочим дням с 8-30 до 13-00 в поликлинике ПСПбГМУ (см. схему), сдать кровь у детей возможно по записи по телефону 905-89-51.

Назначение обследования:

Консультации по объему обследования и диагностическому значению тестов можно получить по телефону лаборатории (812)-994-53-24, либо обратившись по e-mail: autoimmun@mail.ru. Для назначения адекватного обследования рекомендуется приложить к направлению краткий клинический эпикриз для дежурного врача лаборатории. Рекомендуем указать на направлении E-mail, в этом случае результаты исследований, после их выполнения, автоматически будут высланы на E-mail.

Получение результата и проведение дополнительного обследования:

О готовности анализов рекомендуется уточнять в течение 3-5 дней после доставки материала по телефонам лаборатории. Результаты лабораторных анализов могут быть получены в лаборатории, а также могут быть высланы врачу или пациенту по факсу или e-mail, которые должны быть предварительно указаны на лицевой стороне бланка. По e-mail ответы высылаются в виде прикрепленного файла в формате PDF. Данный формат можно открыть и распечатать с помощью программы Adobe Acrobat или Adobe Acrobat Reader, которую можно бесплатно найти по адресу: <http://www.adobe.com/support/downloads/main.html>

Материал больных, направленных на обследование, сохраняется в лаборатории. При необходимости дополнительного обследования в течение 1 месяца с момента первого обследования для выполнения лабораторных тестов может быть использован исходный биоматериал пациента. Необходимо предварительно уточнить наличие биоматериала пациента в криобанке лаборатории и согласовать перечень тестов для дополнительного обследования. После выполнения исследований результаты выдаются пациенту на руки в лаборатории по факту оплаты медицинской лабораторной услуги.

E-mail: autoimmun@mail.ru

Сайт в сети Интернет: www.autoimmun.ru