

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель
министра здравоохранения



В.В. Колбанов

31 декабря 2003 г.

Регистрационный № 99-0603

**АНТИНУКЛЕАРНЫЕ АНТИТЕЛА
В ДИАГНОСТИКЕ СИСТЕМНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ
ТКАНЕЙ**

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: Белорусский государственный медицинский университет

Авторы: д-р мед. наук, проф. Н.Ф. Сорока, канд. мед. наук
С.А. Дубень, д-р мед. наук Ю.М. Досин, канд. мед. наук
Е.С. Калия

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Подозрение на аутоиммунный процесс, дифференциальная диагностика системных заболеваний соединительной ткани при наличии следующих клинических признаков или изменений в общелабораторных исследованиях:

1. Длительный субфебрилитет, лихорадки неуточненной этиологии.
2. Беспричинное снижение массы тела более 5 кг в течение 3–6 мес.
3. Лимфаденопатия неуточненной этиологии.
4. Полиартрит, полиартралгии неуточненного генеза.
5. Миалгии и мышечная слабость.
6. Кожные проявления, протекающие по типу васкулита.
7. Системность поражения с вовлечением различных органов и систем организма.
8. Синдром повышенной СОЭ.
9. Изменения в общем анализе крови (анемия, тромбоцитопения, лейкопения, увеличение СОЭ).
10. Изменения в биохимическом анализе крови (гипергаммаглобулинемия).
11. Изменения в анализах мочи (протеинурия) при необходимости уточнения характера органного поражения.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Одним из основных методов диагностики аутоиммунной патологии и дифференциальной диагностики внутри группы системных заболеваний соединительной ткани (СЗСТ) является выявление аутоантител (Ат) к широкому спектру аутоантигенов (Аг). Определение аутоАт в сыворотке крови в высоких титрах часто предшествует развернутой клинике заболевания.

Для определения аутоАт в сыворотке крови больных методом непрямой иммунофлуоресценции необходимы:

1. Люминесцентный микроскоп типа «Люмам».
2. Коммерческие наборы для выявления аутоантител:
 - определение антинуклеарных Ат (ANA) в сыворотке крови больных с помощью наборов HEp2-cell ANA KITS/substrate slides;

– определение Ат к dsDNA с помощью Crithidia Luciliae dsDNA KITS.

ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Выявление ANA методом непрямой иммунофлуоресценции позволяет диагностировать аутоиммунную патологию и проводить дифференциальную диагностику на ранних этапах между системными заболеваниями соединительной ткани и не аутоиммунными заболеваниями при схожей клинической картине. Дифференциальную диагностику внутри группы СЗСТ можно проводить не только на основании общепринятых клинико-лабораторных данных, но и в зависимости от присутствия тех или иных аутоАт в сыворотке крови больных.

Антинуклеарные антитела (ANA) — гетерогенная группа аутоАт к различным компонентам ядра (ДНК, гистонам, РНК, центромерам и др.), встречающимся более чем у 90% больных СЗСТ. Выявление ANA играет важное значение для диагностики аутоиммунной патологии и дифференциальной диагностики внутри группы СЗСТ. В настоящее время известно большое количество типов Ат ко многим структурам клетки (клеточной и ядерной мембране, органеллам цитоплазмы, ядерному материалу). Для СЗСТ характерен огромный спектр аутоАт, однако при различных нозологиях выделяют определенные разновидности ANA, что играет значительную роль в проведении дифференциальной диагностики.

В настоящее время известно более 100 разновидностей ANA. Ат к цитоплазматическим Ag, выявляющиеся при полимиозите, дерматомиозите и других СЗСТ, также относятся к ANA, т.к. они направлены против рибопротеиновых структур и в их возникновении, вероятно, участвуют сходные патогенетические механизмы.

Антитела к ДНК — антитела, реагирующие с односпиральной (денатурированной) ДНК (ssDNA) и двуспиральной (нативной) ДНК (dsDNA). Ат к ssDNA распознают пуриновые и пиримидиновые основания ДНК, а Ат к dsDNA — углеводно-фосфатный остов ДНК. Для системной красной волчанки (СКВ) высокоспецифично наличие Ат к dsDNA (выявляются более чем у 70% больных с активной волчанкой), в то время как Ат к ssDNA могут встречаться

при различных ревматических заболеваниях. Титры Ат к dsDNA коррелируют с активностью СКВ. Это важно для диагностики заболевания и определения степени активности процесса. На фоне адекватного лечения титры Ат к dsDNA значительно уменьшаются. Ат к dsDNA включены в состав десятого критерия АРА, совместно с обнаружением Ат к Sm-Ag, LE-клеток и Ат к кардиолипину. Специфичность Ат к dsDNA для СКВ — 95% из-за доступности внеклеточной ДНК, приводящей к образованию иммунных комплексов и отложению их в капиллярной сети почек, где они образуют локальные воспалительные очаги с серьезными повреждениями органа. Считается, что Ат к dsDNA ответственны за развитие волчаночных васкулитов и люпус-нефрита. Титры данных Ат коррелируют с концентрацией IgG-содержащих циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови пациентов с СКВ. Выявление Ат к dsDNA и гипокомплементемии позволяет выявить группу больных СКВ с высоким риском развития волчаночного гломерулонефрита. Имеется прямая корреляция между нарастанием титров Ат к dsDNA, выраженностью гипокомплементемии и тяжестью волчаночного нефрита.

Гистоны — это компоненты ядра, состоящие из трех субъединиц: двух димеров H2A-H2B, которые ассоциированы с третьей субъединицей, состоящей из двух витков молекулы ДНК. Главная мишень гистоновых Ат — комплекс ДНК с гистоном H2A и H2B. Ат к гистонам H2B обнаруживаются у всех пациентов с лекарственной волчанкой и у 20% больных СКВ. При СКВ Ат реагируют с интактным гистоном, а при лекарственной волчанке — с трипсин-резистентными фрагментами.

АТ к Sm у больных СКВ были идентифицированы в 1966 г. Основными мишенями для данных Ат являются полипептиды В (28 кД), В prim (29 кД), D (16 кД), определяемые в иммуноблоттинге. Smith Ag (Sm-Ag) состоит из 5 малых ядерных РНК (U1, U2, U4, U5, U6), связанных с разнообразным числом полипептидов (11 и более). Ат к Sm обнаруживаются при СКВ и не выявляются при других ревматических заболеваниях. Они рассматриваются как Ат-маркеры СКВ. Специфичность для СКВ составляет 99%. Выявление Ат к Sm входит в число диагностических критериев этого заболевания.

U1-nRNP-Ag — полипептиды с молекулярным весом 70 кД, А (33 кД) и С (20 кД), определяемые в иммуноблоттинге. Ат, реагирующие с белковыми компонентами, богатыми остатками уридина, U1 малого ядерного рибонуклеопротеида (U1-nRNP) обнаруживаются у 30–40% больных СКВ. Клинически это коррелирует с меньшей частотой почечного поражения, наличием синдрома Рейно, неэрозивными артритам, нарушением моторики пищевода и склеродермоподобными изменениями кожи. Данный тип Ат — маркеры смешанного заболевания соединительной ткани (СмЗСТ).

SS-A/Ro (Robert) Ag — полипептиды массой 60 и 52 кД, образующие комплекс с Ro РНК (четыре малых RNAs — hY1, hY2, hY3, hY5). Данный тип Ат чаще встречается у пациентов с синдромом и болезнью Шегрена (80%), у 30–50% больных СКВ. Так некоторые авторы полагают, что при СКВ выявление данных Ат ассоциируется с определенными клиническими проявлениями и лабораторными нарушениями: подострым течением волчанки, фотосенсибилизацией, синдромом Шегрена, цитопенией, гиперпродукцией ревматоидного фактора, дефицитом C2 и C4 системы комплемента. Отмечается также, что присутствие Ат к SS-A/Ro в сыворотке крови беременных женщин увеличивает риск развития неонатального волчаночноподобного синдрома у новорожденных, который включает полную поперечную блокаду сердца, фотосенсибилизацию, цитопению и поражение печени. При этом у матери признаки аутоиммунного ревматического заболевания могут отсутствовать. По данным некоторых авторов, уровень Ат к SS-A/Ro Ат выше при болезни Шегрена, чем при синдроме Шегрена. При поражении ЦНС Ат выявляются в цереброспинальной жидкости.

SS-B/La (Lane) Ag — нуклеоцитоплазматический фосфопротеиновый комплекс с Ro малых ядерных РНК (hY1-hY5) массой 48 кД. Ат к SS-B/La Ат обнаруживаются при болезни и синдроме Шегрена, сочетающимся с ревматоидным артритом и СКВ, а также при первичном билиарном циррозе печени. При СКВ данные Ат чаще встречаются в начале болезни, развивающейся в пожилом возрасте, и ассоциируются с низкой частотой развития нефрита.

Ат к гетеронуклеарному рибонуклеопротеиду (*hnRNP*) белка А1 связаны с наличием синдрома Рейно и нарушением моторики

пищевода у больных СКВ. Пациенты, у которых выявляются Ат к hnRNP, обычно имеют более поздний возраст начала заболевания. Ат к hnRNP определяются у больных СКВ с признаками системной склеродермии (ССД), при СмЗСТ.

Anti-rRNP (рибосомальные) Ат встречаются в 10–20% случаев СКВ. Данные Ат вырабатываются к трем рибосомальным фосфопротеинам (rRNP) с молекулярным весом 15, 16 и 37 кД, выявляемым при иммуноблоттинге. В литературе имеются сообщения о связи рибосомальных Ат с развитием психозов при СКВ (развитие нейролюпуса). Уровни данных Ат увеличиваются во время и после периодов активного психоза независимо от титров Ат к dsDNA. С нейропсихическими расстройствами в основном связаны IgG и IgM Ат против rRNP.

Ламины А, В, С с молекулярным весом 70, 68 и 60 кД соответственно — основные компоненты внутриядерной мембраны, действующие как «сайты заякоривания» для хромосом в интерфазных клетках и обеспечивающие архитектурную сеть ядерной оболочки. Данные Ат могут выявляться у больных аутоиммунными гепатитами с кожными или мозговыми васкулитами, циркулирующим волчаночным антикоагулянтом и тромбоцитопенией либо гемолитической анемией. В то же время Ат к ламинам коррелируют с антифосфолипидными Ат и неэрозивными артритам при СКВ. Ат к гликопротеину 210 (GP210), основному гликопротеину ядерной поры, и различным ламинам могут выявляться при первичном билиарном циррозе печени и аутоиммунных гепатитах.

АТ Scl-70 реагируют с топоизомеразой-1 и встречаются при ССД. Чаще выявляются при диффузной (40%), чем при ограниченной (20%) форме ССД. По литературным данным, присутствие Ат Scl-70 в сочетании с носительством генов HLA-Dr3/DrW52 в 17 раз увеличивает риск развития легочного фиброза. Обнаружение данных Ат у больных с изолированным синдромом Рейно указывает на высокую вероятность развития ССД.

Антицентромерные Ат, реагирующие с кинетохором центромер, также обнаруживаются при ССД (при CREST-синдроме). Центромера — это специализированный домен хромосом эукариотических клеток. Кинетохор — та область центромеры, с которой

ассоциируются фибриллы веретена. Реже Ат к центромере обнаруживаются при первичном билиарном циррозе печени (часто у этих больных имеются признаки склеродермии). Имеются отдельные сообщения, что очень редко данные Ат могут встречаться при первичной легочной гипертензии. Некоторые авторы полагают, что при ССД с синдромом Рейно обнаружение Ат к центромере можно рассматривать как прогностически неблагоприятный признак.

Ат к аминоксилсинтетазе тРНК (антисинтетазные Ат) обнаруживаются при полимиозите (ПМ) и дерматомиозите (ДМ). К ним относятся Ат к гистидин- (Jo-1), треонин- (Pl-7), глицин- (EJ), лизин-, изолейцин- и аланин-тРНК-синтетазам. Ат к Jo-1 выявляются у 20–40% больных ПМ/ДМ, включая первичный идиопатический ПМ/ДМ и перекрестные синдромы. Особенно часто они обнаруживаются у пациентов с ПМ с интерстициальным поражением легких. Частота обнаружения других антисинтетазных Ат не превышает 5%. Ат к синтетазам выявляются у 40–50% больных в случае идиопатической формы этих заболеваний и только у 6% пациентов с ПМ, являющимся одним из проявлений других СЗСТ.

Антимитохондриальные Ат выявляются при первичном билиарном циррозе. По данным некоторых авторов, эти Ат могут обнаруживаться при аутоиммунном гепатите.

Метод непрямой иммунофлуоресценции для обнаружения антинуклеарных антител

Иммунофлуоресценция — чувствительный и достаточно простой тест. В качестве субстрата применяется монослой фиксированных и пермобилизованных клеток-мишеней, нанесенных на стеклянные пластинки. Слайды инкубируют с сывороткой больных. При наличии соответствующих Ат в тестируемой сыворотке происходит взаимодействие Аг-Ат. После первой инкубации клетки промываются, чтобы избавиться от несвязавшихся Ат, и вторично инкубируются с моноклональными Ат IgG человека, меченными FITC (флуоресцин изотиоцианат). Оценка результатов производится с помощью микроскопии в люминесцентном режиме при увеличении в 400 раз. Для определения типа свечения и спектра аутоАт используют соответствующие контрольные сыворотки и стандарты, содержащие определенные Ат.

Метод непрямой иммунофлуоресценции — качественный и полуколичественный. Оцениваются интенсивность свечения, тип флуоресценции и титры. Интенсивность свечения определяется 1+, 2+, 3+, 4+ по шкале интенсивности (4+ — положительный контроль набора). Полуколичественная оценка получается серией разведений тестируемой сыворотки до конечной точки, при которой флуоресценция не наблюдается.

Применение *Critidia lucilia* как субстрата для определения антител к dsDNA — чувствительный и высокоспецифический тест. *Critidia lucilia* имеет кинетопласт — гигантскую митохондрию, содержащую dsDNA. Образцы считают положительными, если имеется свечение кинетопласта. Отсутствие свечения оценивается как отрицательный результат, даже если имеется свечение ядра, базального тела или жгутика.

Диагностический титр — 1:20. Высокие титры (1:80 и более) встречаются только у больных СКВ. Титры Ат коррелируют с активностью болезни и снижаются на фоне адекватного базисного лечения. Пациенты, получавшие глюкокортикостероиды, могут давать отрицательные результаты.

Для ANA диагностический титр — 1:40, титр выше 1:80 считается предположительным для СЗСТ. Титры ANA, полученные при разведении тестируемой сыворотки, оцениваются следующим образом:

- 1:40–1:80 — низкие титры;
- 1:160–1:640 — средние титры;
- более 1:640 — высокие титры.

Для выявления ANA в качестве субстрата применяют культуру HEp-2 эпителиальных клеток карциномы гортани человека. И ядро, и нуклеоли в этих клетках большие, хорошо распознаются, в них хорошо различаются ядерные структуры. Также HEp-2-клетки быстро делятся, в препарате присутствуют многие митотические фигуры, что позволяет дополнить информацию об Ат к структурам делящихся клеток. HEp-2-клетки могут быть применены для определения как ядерных, так и цитоплазматических Ат. Чаще всего в сыворотке больного содержится более чем одно специфическое Ат, что проявляется смешанными типами флуоресценции. При труд-

ности описания типа свечения проводится дальнейшее разведение тестируемой сыворотки, что позволяет уточнить наличие тех или иных Ат. Определенные аутоАт, выявляемые в сыворотке крови больных, на Нер-2-клетках дают соответствующие типы свечения.

Различают шесть основных типов иммунофлуоресцентного свечения: 1) гомогенное ядерное свечение; 2) периферическое ядерное; 3) спектральное, или крапчатое ядерное; 4) нуклеолярное; 5) центромерное; 6) цитоплазматическое.

1. *Гомогенное свечение* наиболее часто наблюдается при СКВ, ревматоидном артрите, ювенильном ревматоидном артрите, лекарственной волчанке. Наблюдается однородное диффузное свечение внутри ядра с окрашиванием нуклеолей или без них. Данный тип свечения обусловлен наличием антител к ss- и dsDNA, гистонам.

2. *Периферическое ядерное* — равномерное гомогенное свечение с кольцевидным свечением по периферии ядра. Характерно при наличии Ат к dsDNA, белкам, составляющим интегральную часть ядерной мембраны (ламина А, В, С) или против интегральных белков ядерно-порового комплекса GP210.

3. *Спектральное (крапчатое ядерное) свечение*. Ат, дающие такое свечение, направлены против большого семейства негистоновых Ат. Характеризуется крапчатым или зернистым свечением всей нуклеоплазмы. Может быть от мелкоточечной (тонкой) зернистости до крупных гранул, одинаковой либо различной формы. Различают несколько подтипов данного свечения:

- большое крупнозернистое свечение. Разнообразная крупная зернистость похожа на губчатую сеть (губка, плетенка). Это свечение наблюдается при связывании Ат с компонентами ядерного матрикса, так называемого гетерогенного ядерного рибонуклеопротейда (hnRNP). Встречается при СмЗСТ;

- крупнозернистое свечение (крапчатое). Густо (плотно) распределенная крапчатость (зернистость) с большими вкраплениями. Это свечение типично для анти-U1-RNP/Sm;

- среднезернистое свечение. Наблюдается зернистость в виде четко различных зернышек одинаковых размеров. Характерно для наличия Ат к Sm-Ag;

- тонкозернистое свечение (гранулярный тип). Тонкогранулярное окрашивание равномерно распределенное, иногда очень плотное,

густое, вплоть до гомогенного состояния. Это свечение дают Ат к SS-A/Ro и SS-B/La. Встречается при синдроме Шегрена, подостром кожном люпусе и гипергамма-глобулинемической пурпуре.

4. *Нуклеолярное свечение.* Характерно для прогрессирующей ССД. Может наблюдаться различное нуклеолярное свечение:

- гомогенное нуклеолярное (гомогенное свечение 2 и более нуклеолей). Наблюдается при наличии Ат к нуклеолину или PM/Scl Ag;

- групповое свечение. Яркое гранулярное свечение нуклеолей группами (пучком), характерно для Ат к фибрилариону, одному из белков, связывающихся с U3 малым рибонуклеопропротеидом;

- пятнистое нуклеолярное. Небольшое дискретно-пятнистое свечение в центре нуклеолей. Характерно для Ат к RNA-полимеразе-1 и DNA-топоизомеразе-1 (Scl-70). Ат к Scl-70 также дают пылеобразное ядерное свечение вплоть до гомогенного.

5. *Центромерное (дискретное пятнистое).* Однородное дискретное свечение локализуется повсюду внутри ядра, обычно кратное число пятнышек приблизительно 46 (40–60 зернышек в ядре). Данный тип свечения связан с Ат к центромерам хромосом (кинетохоре). Встречается при ССД (при CREST-синдроме), первичном синдроме Рейно, при первичном билиарном циррозе.

6. *Цитоплазматическое свечение.* Наблюдается свечение цитоплазмы разнообразного характера:

- тонкое зернистое свечение. Тонкие гранулы располагаются вокруг ядра, уменьшающиеся по направлению к периферии цитоплазмы. Такое свечение обусловлено наличием Ат к аминоксил-тRNA-синтетазам, таким как Jo-1, PL7 или PL12. Характерно для ПМ;

- рибосомальное свечение. Очень тонкое плотное и густое гранулярное свечение цитоплазмы вплоть до гомогенного. Характерно для наличия Ат к рибосомальному RNP. Встречается при СКВ;

- лизосомальное свечение. Облачное гомогенное (нежное), наблюдаемое по всей цитоплазме. Обусловлено наличием Ат к лизосомам. Встречается при СКВ;

- митохондриальное свечение. Наблюдается жесткое гранулярное свечение цитоплазмы: большие неодинаковые гранулы по всей

цитоплазме. Выявляется при первичном билиарном циррозе, ауто-иммунном гепатите.

Спектр основных аутоАт и соответствующие им типы свечения представлены в табл. 1 (Humbel R.L., 1993; Calos A. Von Muhlen, Eng M. Tan, 1995; Bradwell A.R., Stokes R.P., Johnson G.D., 1995).

Таблица 1

Аутоантитела при системных заболеваниях соединительной ткани и соответствующие им типы свечения при обнаружении их методом непрямой иммунофлуоресценции

Антитела	Свечение на Нер-2-клетках при непрямой иммунофлуоресценции
ssDNA dsDNA Гистоны	Гомогенное ядерное свечение: однородное диффузное свечение внутри ядра с окрашиванием нуклеолей или без них
Sm	Жесткая гранулярная ядерная зернистость (среднезернистое ядерное)
U ₁ -nRNP	Грубая ядерная зернистость (крупнозернистое ядерное свечение): густо распределенная зернистость с большими вкраплениями
SS-A/Ro SS-B/La	Тонкая ядерная пятнистость (мелкозернистое ядерное свечение): тонкогранулярное равномерное окрашивание ядер, иногда плотное, вплоть до гомогенного состояния
Ламины	Периферический ядерный тип свечения: равномерное гомогенное свечение с кольцевидным свечением по периферии (ободок ядерной мембраны)
hnRNP	Крупнопятнистое (губчатое) свечение: разнообразная крупная ядерная зернистость, похожая на губчатую сеть
Anti-rRNP (рибосомаль- ные)	Рибосомальное свечение: очень тонкое плотное и густое гранулярное свечение вплоть до гомогенного, наблюдаемое по всей цитоплазме
Scl-70	Пятнистое нуклеолярное свечение и пылеобразное свечение ядер
Антитела	Свечение при ПФ на Нер-2-клетках
Антицентро- мерные Ат	Центромерное (дискретное пятнистое): однородное дискретное свечение локализуется повсюду внутри ядра, обычно кратное число пятнышек (40–60 зернышек в ядре)
Jo-1	Тонкое зернистое цитоплазматическое свечение: тонкие гранулы располагаются вокруг ядра, их плотность уменьшается по направлению к периферии цитоплазмы

Цитоплазматические Ат	От мелко- до крупнозернистого свечения цитоплазмы (зернистое свечение цитоплазмы)
Ат к фибрилларину	Нуклеолярное групповое свечение: яркое гранулярное свечение нуклеолей группами (пучком)
Антимитохондриальные Ат	Жесткое гранулярное свечение цитоплазмы (большие неодинаковые жесткие гранулы по всей цитоплазме)

Следует отметить, что у здоровых людей и больных ревматическими заболеваниями также могут обнаруживаться ANA (чаще гомогенный тип иммунофлуоресценции ядер). При этом титр обычно невысокий, не превышает 1:80 при выявлении их методом непрямой иммунофлуоресценции. Частота обнаружения ANA у здоровых людей зависит от пола и возраста. У лиц моложе 40 лет ANA выявляются в 1–5% случаев, старше 60 лет — в 10–16% случаев. У женщин ANA выявляются в среднем в 5 раз чаще, чем у мужчин.

Частота выявления ANA существенно повышена у родственников больных аутоиммунными заболеваниями:

- у родственников больных СКВ ANA могут обнаруживаться в 13–57% случаев;

- у родственников больных синдромом Шегрена — в 9% случаев;

- у родственников больных ССД — в 17–27% случаев;

- у родственников больных аутоиммунной тромбоцитопенией и гемолитической анемией — в 18% случаев.

Увеличение частоты ANA зарегистрировано на фоне приема некоторых лекарственных препаратов (особенно гидралазина и новокаинамида — до 50% случаев).

Нередко ANA выявляют у пациентов с хроническими заболеваниями печени, таких как хронический гепатит, первичный билиарный цирроз.

ANA могут выявляться при следующих заболеваниях легких:

- идиопатический легочной фиброз — до 35% случаев;

- первичная легочная гипертензия — до 40%.

При идиопатическом легочном фиброзе ANA чаще выявляют у женщин с длительным течением заболевания, экстрапульморальными проявлениями (синдром Рейно, артрит, дистальный васкулит, а также при наличии ревматического фактора).

Транзиторное обнаружение ANA может наблюдаться при многих инфекционных заболеваниях (паразитарные инвазии: малярия, трипаносомоз, шистосомоз, а также туберкулез и инфекции).

ANA могут также выявляться у пациентов со злокачественными новообразованиями (10–20%), особенно часто при лимфопролиферативных и миелопролиферативных опухолях (17–58%). Положительные результаты определения ANA выявляются у 20% больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой и аутоиммунной гемолитической анемией.

Очень редко ANA обнаруживаются при эндокринных (полиэндокринопатии, инсулинозависимый сахарный диабет, тиреоидит, тиреотоксикоз) и кожных заболеваниях (псориаз, пузырчатка), а также на фоне беременности, после трансплантации органов и тканей (что коррелирует с отторжением трансплантата), у больных, находящихся на программном гемодиализе.

Следует подчеркнуть, что во всех этих случаях титры Ат невысокие (1:40–1:80) с интенсивностью свечения 1+ – 2+, при СЗСТ титры средние и высокие с интенсивностью свечения 3+ – 4+.

Диагностическое значение антинуклеарных антител и их титров

Выявление ANA методом непрямой иммунофлуоресценции позволяет диагностировать аутоиммунную патологию и проводить дифференциальную диагностику на ранних этапах между системными заболеваниями соединительной ткани и неаутоиммунными заболеваниями при схожей клинической картине. Дифференциальную диагностику внутри группы СЗСТ можно проводить не только на основании общепринятых клинико-лабораторных данных, но и в зависимости от присутствия тех или иных аутоАт в сыворотке крови больных.

Частота выявления определенных аутоАт к различным ядерным Аг при различных нозологических формах СЗСТ представлена в табл. 2.

Так при СКВ наиболее часто встречаются Ат к dsDNA, Sm, U1-RNP, SS-A/Ro и SS-B/La, ламинам, антирибосомальные Ат. Цитоплазматические Ат (рибосомальные, лизосомальные, антимиохондриальные) определяются при высокой активности и подостром течении СКВ. Следует отметить, что при СКВ также могут выяв-

Таблица 2
Частота обнаружения аутоантител к различным ядерным антигенам при ревматических болезнях
 (по данным Tan E.M., 1983; Carlson A., Tan E.M., 1995)

Заболевания	Процент обнаружения Ат к следующим Аг									
	dsDNA	гистоны	Sm	SS-A/ Ro	SS-B/La	RNP	Scl-70	нуклеоли	центромеры	Jo-1
Системная красная волчанка	50–90	60	20–30	35–37	10–15	25–35	до 3	–	–	–
Ревматоидный артрит	до 3	20	–	1	1	5	–	–	–	–
Синдром и болезнь Шегрена	–	–	–	60–96	60	6	–	–	–	–
Системная склеродермия	–	–	–	редко	–	редко	20–40	40–50	20–40	–
Смешанное заболевание соединительной ткани	–	–	–	редко	редко	90–95	–	–	–	–
Полимиозит	–	–	–	–	–	–	–	–	–	50
Дерматомиозит	–	–	–	–	–	–	–	–	–	10

ляться другие Ат, наблюдаемые при других СЗСТ (GP-210, Scl-70, цитоплазматические Ат). Для СмЗСТ характерно обнаружение Ат к U1-RNP. При первичном синдроме Шегрена типичными являются Ат к SS-A/Ro и SS-B/La. При ССД диагностическими считаются Ат к Scl-70 и антицентромерные Ат.

Титры антинуклеарных антител

Собственный опыт показывает, что при сравнении титров ANA и интенсивности свечения их на HEp2-клетках в группах больных СЗСТ, ревматоидным артритом и у пациентов с неаутоиммунными заболеваниями получены достоверные различия в анализируемых группах ($p < 0,001$). У больных ревматоидным артритом в 90% случаев титры ANA были низкими, а интенсивность свечения $1+ - 2+$. В группе сравнения только у 4% были выявлены ANA, при этом у всех обследуемых титры были низкими с интенсивностью свечения $1+ - 2+$. У больных СЗСТ в основном встречались высокие и средние титры ANA, а интенсивность свечения была $3+ - 4+$.

При выявлении соответствия степени активности, характера течения и титров ANA обнаружены достоверные различия в титрах и интенсивности свечения у больных СКВ ($p < 0,01$).

Также обнаружены значительные различия в титрах у пациентов с СмЗСТ, болезнью Шегрена, ССД при разных степенях активности.

Уровень ANA отражает активность и характер течения СЗСТ. Имеется прямая корреляционная зависимость между титрами ANA и активностью ($r = 0,705$), характером течения СКВ ($r = 0,455$). Чем более агрессивно протекает аутоиммунный процесс, тем выше уровень аутоАт.

Динамика титров антинуклеарных антител

Титры ANA снижаются при уменьшении активности СКВ и увеличиваются при утяжелении течения болезни. Изменение титров ANA в динамике через 3, 6 и 12 мес. может служить одним из критериев оценки эффективности проводимой патогенетической терапии.

Даже при нормализации клинико-лабораторных показателей (уменьшение клинических проявлений болезни, уменьшение СОЭ и др.) титры ANA у части больных сохраняются высокими, что свидетельствует о наличии у пациента иммунологической активности патологического процесса, которая не всегда совпадает с клинической.

Связь клинических форм СКВ с определенным спектром ANA

При анализе частоты встречаемости клинических признаков в зависимости от типов свечения и соответствующих им отдельных компонентов спектра ANA для уточнения роли Ат в оценке характера и степени поражения отдельных органов при СКВ получены данные, подтверждающие, что выявление определенного спектра Ат клинически ассоциируется с определенными симптомокомплексами (табл. 3).

Таблица 3

Аутоантитела при СКВ и клинические синдромы

Свечение при ИФ на Нер-2-клетках	Антитела	Клинические данные и частота выявления аутоантител
Гомогенное ядерное свечение	dsDNA	90% при высокой активности заболевания, полисерозиты, люпус-нефрит, маркерные Ат, процент выявления и титры соответствуют активности волчанки
Жесткая гранулярная ядерная зернистость (среднезернистое ядерное)	Sm	25% всех случаев СКВ; люпус-нефрит и нефропатия, симптомы поражения ЦНС, геморрагический васкулит
Грубая ядерная зернистость (крупнозернистое свечение)	U ₁ -nRNP	30% всех случаев СКВ; более благоприятное течение волчанки, синдром Рейно, геморрагический васкулит; СмЗСТ
Тонкая ядерная пятнистость (мелкозернистое свечение)	SS-A/Ro SS-B/La	30% всех случаев; подострое течение волчанки: геморрагические высыпания (78%), лихорадка и субфебрилитет (42%), синдром Рейно (44%), лимфаденопатия (38%), сетчатое ливедо (62%), анемия, лейкопения и тромбоцитопения; вторичный синдром Шегрена (80%)
Гомогенное ядерное с ярким периферическим свечением ядра (ободок ядерной мембраны)	ламини	лихорадка и субфебрилитет (44%), алоpecia (50%), артрит (53%), поражение почек (52%), поражение нервной системы (44%), вторичный синдром Шегрена (60%), поражение печени (50%)

От мелко- до крупнозернистого свечения цитоплазмы (зернистое свечение цитоплазмы)	цитоплазматические Ат	с высокой активностью СКВ и при остром и подостром течении волчанки; панцитемия, васкулиты кожный и геморрагический, полисерозиты
Жесткое гранулярное свечение цитоплазмы (жесткие гранулы)	антимитохондриальные Ат	3% всех случаев СКВ; с высокой активностью волчанки с поражением печени

При обнаружении Ат к ламинам у пациентов наиболее часто встречались следующие клинические проявления заболевания: лихорадка, артрит — у 53%, поражение печени — у 50%. При выявлении у больных Ат к Sm-Аг наиболее частыми были поражение почек, ЦНС. При выявлении Ат к U1-RNP у обследованных наблюдалось хроническое течение волчанки. При обнаружении у пациентов Ат к SS-A/Ro, SS-B/La наиболее частыми проявлениями волчанки были вторичный синдром Шегрена, геморрагический васкулит, сетчатое ливедо и цитопении.

При максимальной активности волчанки, остром и подостром течении обнаруживали широкий спектр цитоплазматических Ат: рибосомальных, лизосомальных и др. Антимитохондриальные Ат были найдены у больных с высокой активностью волчанки с поражением печени.

Таким образом, существуют определенные связи между клиническими проявлениями СКВ и выявляемыми аутоАт, их спектром. Это дает возможность использовать данные показатели для выявления органной патологии.