A close-up photograph of a person wearing a white lab coat and blue nitrile gloves. They are using a glass pipette to transfer a red liquid into a clear glass conical flask. The flask already contains some of the red liquid. The background is a blurred laboratory setting. The image is framed by a red and white border.

Петелицька Л.
Б.
Лабораторні
методи
діагностики в
ревматології



Основні лабораторні показники в ревматології

- ШОЕ
- АНФ
- СРБ
- dsDNA
- RNP
- Smith
- SS-A/SS-B
- Кардіоліпіни
- Jo-1
- p-ANCA/ c-ANCA
- РФ
- Анти-ЦЦП
- С3/С4
- Гістон
- Центромера
- Scl-70
- В-2 глікопротеїн-1
- КФК



Історія відкриття

- Anti-CCP - 1998
- ANCA - 1982
- CRP - 1970s
- anti-Smith - 1966
- ANA - 1958
- dsDNA - 1950s
- RF - 1948



Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ)

Підвищення ШОЕ

- Анемія
- Гіперхолестеринемія
- Вагітність
- Вік
- Інфекції
- Злоякісні новоутворення
- Ревматологічні захворювання
- Термінальні стадії ниркової недостатності

Зниження ШОЕ

- Серповидно-клітинна анемія
- Сфероцитоз
- Акантоцитоз
- Поліцетимія
- Мікроцитоз
- Гіпофібриногенемія
- Застійна серцева недостатність
- Кахексія
- Гіпербілірубінемія
- Виражений лейкоцитоз



ШОЕ

- Неспецифічний маркер запалення
- Використовується як діагностичний критерій для гігантклітинного артеріїту (ГКА) та ревматичної поліміалгії (РПМ) (підвищення ШОЕ > 50 мм/год)
- Корисний для моніторингу перебігу захворювання та відповіді на лікування (особливо ГКА, РПМ, РА)
- Нормальні значення: чол- $\text{вік}/2$; жінки- $(\text{вік}+10)/2$



СРБ

- Класичний гострофазовий білок плазми крові
- Синтезується в гепатоцитах під дією прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-1 та ФНП-альфа)
- Підвищення рівня СРБ відбувається через декілька годин після дії стимулу
- Пік протягом 2-3 днів
- Період напіврозпаду 8 годин
- При ефективному лікуванні основної причини, рівень СРБ може нормалізуватися протягом 24-48 годин



СРБ

- Значне підвищення СРБ виникає при бактеріальних інфекціях, важкому РА, системних васкулітах, РПМ.
- Незначне підвищення СРБ виявляють при СЧВ, ССД, хворобі Шегрена. Значне підвищення СРБ у даної категорії хворих вимагає виключення наявності вторинних інфекційних ускладнень.
- Визначення базального рівня високочутливого СРБ має важливе значення для стратифікації хворих на РЗ за ступенем кардіоваскулярного ризику.



Анемія

- **Анемія хронічного захворювання** – нормохромна нормоцитарна або гіпохромна нормоцитарна, для якої характерно незначне зниження гематокриту (найбільш виражена у хворих на РА і асоціюється зі ступенем важкості захворювання)
- **Залізодефіцитна анемія** – ШКК на фоні прийому НПЗП
- **Гемолітична анемія** – СЧВ, антифосфоліпідний синдром
- **Апластична анемія** – на фоні прийому цитостатиків



Лейкоцитоз

- ВП
- Синдром Стілла
- Хвороба Кавасакі
- Прийом ГК
- Бактеріальна інфекція

Лейкопенія

- СЧВ
- Хвороба Шегрена
- Синдром Фелті
- ЗЗСТ
- Прийом цитостатиків

Еозинофілія

- Дифузний еозинофільний фасциїт
- Еозинофільний гранулематоз з поліангіїтом



Тромбоцитоз

- РА (корелює з активністю захворювання)
- Хвороба Кавасакі

Тромбоцитопенія

- СЧВ
- Синдром Фелті
- Антифосфоліпідний синдром
- Дерматоміозит
- ССД
- Синдром Шегрена
- Прийом цитостатичних препаратів



Імунологічні дослідження

- Виявлення АТ до позаклітинних АГ і патологічних титрів субкласів імуноглобулінів (Ig). – РФ, анти-ЦЦП, IgG4.
- Визначення АТ до клітинних АГ - АНФ, АТ до гістону, до центромери, до двохспіральної ДНК, до рибонуклеопротеїду, АНЦА.
- Виявлення імуногенетичних маркерів – HLA B27, HLA DR4 чи HLA DR1.



Таблица 1. Локализация основных клеточных антигенов, определение АТ к которым используется в диагностике СБРЗ

Ядро клетки		Цитоплазма клетки	Мембрана клетки
Нуклеопротеин (DNP)	ds-RNA (синтетич.)	Jo-1	Кардиолипин, другие фосфолипиды
ds-DNA	ss-RNA (натур.)	Ro(SS-A)	
ss-DNA	nRNP (U1 RNP)	Сериновая протеиназа-3 (в нейтрофилах)	Фосфолипиды ПТАК
Гистоны	rRNP		
Центромера	Sm	Миелопероксидаза (эластаза, лактоферрин) (в нейтрофилах)	
Ядерный матрикс	Ro(SS-A)		
Ядрышка	La(SS-B)	Митохондрии	
Scl-70	RANA, Mi, MA, Su, PCNA, Ki, Ku, HMG-17		
PM-1			
АНА (АНФ)			

Примечание. Полужирным шрифтом выделены антигены, выявление АТ к которым имеет наибольшее диагностическое значение. ds-DNA – двухспиральная (нативная) ДНК, ss-DNA – односпиральная (денатурированная) ДНК, Scl-70 – склеродерма-70 (топоизомераза-1), RNP – рибонуклеопротеин, Sm – антиген Смита (Smith), Ro(SS-A) – антиген Рональда (Ronald), La(SS-B) – антиген Лейн (Lane), АНА – антинуклеарные антитела (антинуклеарный фактор – АНФ), Jo-1 – синтетаза тРНК, ПТАК – протромбинактивирующий комплекс.

Типи флуоресцентного свічення

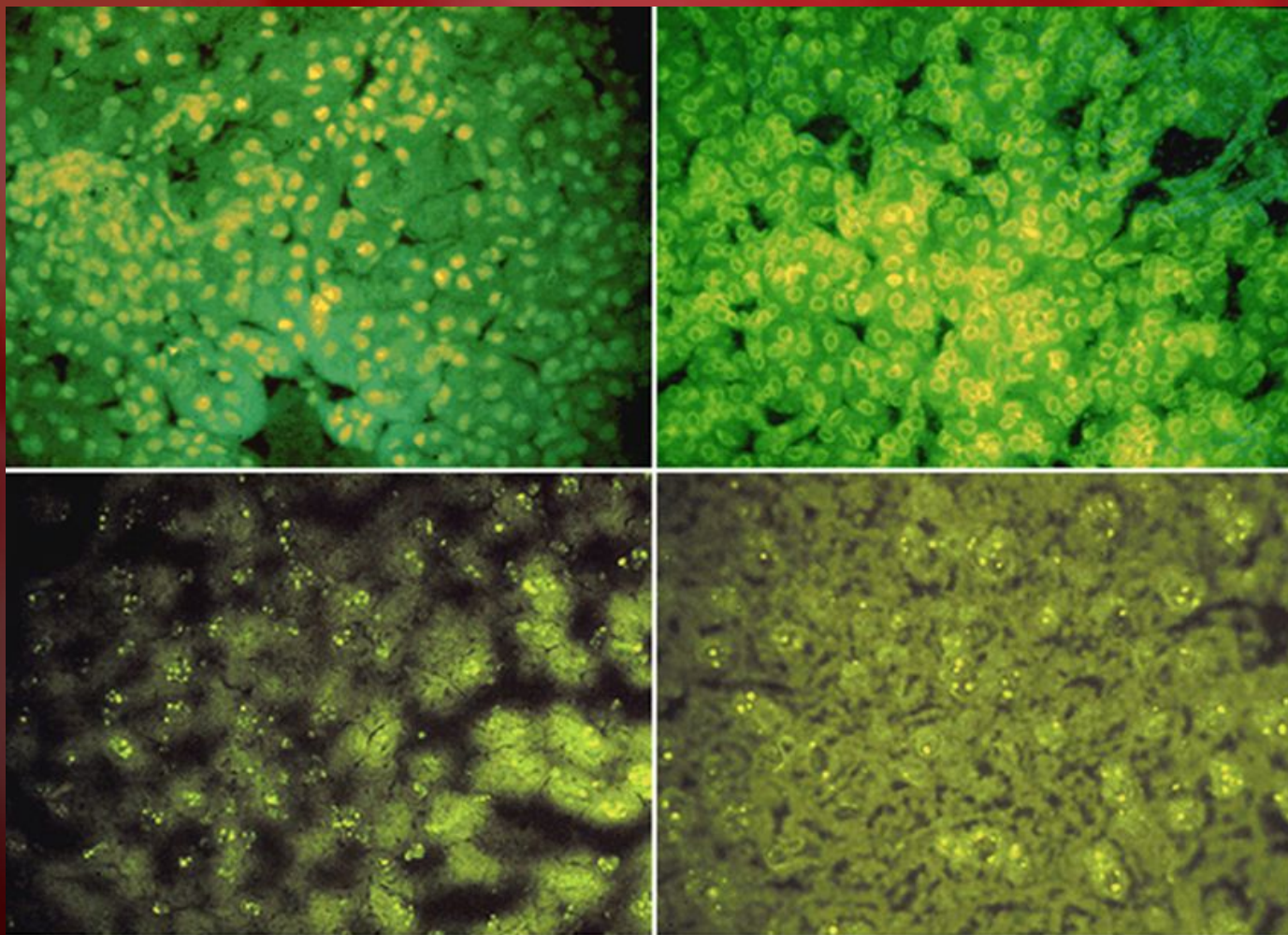




Таблица 2. Типы флюоресценции и их значение при определении АНФ иммунофлюоресцентным методом

Тип свечения	Антигены	Заболевание
Периферический (краевой)	dsDNA, ламинин	СКВ, ХАГ
Гомогенный (диффузный)	DNP, гистон	СКВ, лекарственная красная волчанка, дерматозы, опухоли
Крапчатый (пятнистый)	Sm, RNP, Scl-70, Ro(SS-A), La(SS-B)	СКВ, СЗСТ, ССД, синдром Шегрена
Нуклеолярный (ядрышковый)	7S-RNA	ССД
Центромерный	Центромера	CREST-синдром

Примечание. ХАГ – хронический активный гепатит.

Таблица 3. Частота обнаружения АНФ при ревматических, неревматических заболеваниях и у здоровых людей

Ревматические заболевания, %	
СКВ	95-99
СЗСТ	95-100
Болезнь Шегрена	75-90
ССД	50-90
Дермато/полимиозит	25-50
РА	30
Системные васкулиты (УП, МПА, ЭГПА, ГПА)	15
Неревматические заболевания, %	
Хронический аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз	25-60
Цирроз печени (непервичный билиарный)	15
Дискоидная красная волчанка	25
Опухоли	15-25
Лимфопролиферативные заболевания	15
Здоровые люди, %	
До 70 лет	3-5
Старше 70 лет	5-20
Родственники больных СКВ	15-25

Примечание. УП – узелковый полиартериит, МПА – микроскопический полиангиит, ЭГПА – эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (синдром Чарджа-Стросса), ГПА – гранулематоз с полиангиитом (гранулематоз Вегенера).



АНФ при СЧВ

- Скринінговий діагностичний тест
- Чутливість 93-99% при СЧВ
- Чутливість 95-100% - при медикаментозно індукованому СЧВ
- Специфічність низька
- Чим вище титр, тим вища специфічність

1: 40 – У 30% здорового населення

1:160 - у 5% здорового населення

1:320 – діагностичний титр при СЧВ

Негативний АНФ - робить діагноз СЧВ малоімовірним

Титри АНФ погано корелюють з активністю захворювання, тому визначення даного показника в динаміці не рекомендують



АНФ при ЮРА

- Визначення АНФ у хворих на ЮРА необхідно для оцінки ризику виникнення увеїту



АТ до dsDNA

- Специфічність для СЧВ - 97%
- Присутній у близько 70% хворих на СЧВ
- Титри корелює з активністю захворювання і вовчаковим нефритом



АТ до ssDNA

- Низька специфічність для СЧВ
- Присутні у близько 90% хворих на СЧВ
- Титри корелює з активністю захворювання і вовчаковим нефритом



АТ до Sm

- Дуже специфічні для СЧВ > 95%
- Виявляються тільки у 20-30% хворих
- Є предикторами важкого перебігу захворювання, уражень нирок і ЦНС
- Можуть бути позитивними у хворих з негативними АТ до ds DNA



АТ до RNP

- Діагностичний критерій для ЗЗСТ (хвороби Шарпа)
- Дуже чутливі до ЗЗСТ, але не специфічні
- Також виявляються у 30-40% хворих на СЧВ



АТ до гістонів

- Виявляються при медикаментозно індукованому вовчаку (95%), рідше при СЧВ (30-40%)
- Лікарські засоби, які викликають появу медикаментозно індукованого вовчака: гідралазин, прокаїнамід, хінідин пеніциламін.



АТ до SS-A/Ro

- У > 60% випадків виявляються при негативних АНА
- Асоціюється з підгострим шкірним вовчаком, дефіцитом С3 і С4, дебютом захворювання у віці > 60 років, фотосенсибілізацією, інтерстиційним ураженням легень, нефритом, гіперпродукцією РФ
- Вроджена АВБ, неонатальний вовчак
- Є критерієм активності
- Виявляються у 40-90% хворих на синдром Шегрена і 30-50% хворих на СЧВ



АТ до SS-B/La

- Виявляються у 40-50% хворих на хворобу Шегрена і 15-20% хворих на СЧВ
- У хворих на СЧВ наявність АТ до SS-B/La асоціюється з низькою частотою ураження нирок і сприятливим перебігом
- У хворих на хворобу Шегрена – виражена лімфоцитарна інфільтрація слюнных залоз і розвиток екстрагландулярних проявів (васкуліт).



АТ до SS-B/La

- Виявляються у 40-50% хворих на хворобу Шегрена і 15-20% хворих на СЧВ
- У хворих на СЧВ наявність АТ до SS-B/La асоціюється з низькою частотою ураження нирок і сприятливим перебігом
- У хворих на хворобу Шегрена – виражена лімфоцитарна інфільтрація слюнних залоз і розвиток екстрагландулярних проявів (васкуліт).



Таблица 5. Частота выявления аутоАТ к Ro(SS-A) и La(SS-B) при различных СРПЗ

Заболевание/синдром	АТ к Ro(SS-A), %	АТ к La(SS-B), %
Болезнь Шегрена	50-96	54-87
Синдром Шегрена	44	16
РА с синдромом Шегрена	38	6
СКВ с синдромом Шегрена	58	73-85
ССД с синдромом Шегрена	20	0,2
СКВ без синдрома Шегрена	24-38	3-8



Антицентромерні АТ

- Виявляються при склеродермії (ССД), зокрема, CREST синдромі
- Чутливість при ССД коливається від 30-60%
- Специфічність при ССД висока, більш ніж 95%
- Асоціюється з розвитком вогнищового ураження шкіри у хворих на ССД і низьким ризиком розвитку легеневого фіброзу
- Рідко виявляються при СЧВ



АТ до Scl-70 (anti-topoisomerase 1)

- Виявляються при склеродермії (ССД),
- Чутливість при ССД коливається від 20-40%
- Специфічність при ССД - 90-95%
- Асоціюється з розвитком дифузного ураження шкіри у хворих на ССД, титр корелює з активністю захворювання, високим ризиком розвитку легеневого фіброзу



АТ до Scl-70 (anti-topoisomerase 1)

- Виявляються при склеродермії (ССД),
- Чутливість при ССД коливається від 20-40%
- Специфічність при ССД - 90-95%
- Асоціюється з розвитком дифузного ураження шкіри у хворих на ССД, титр корелює з активністю захворювання, високим ризиком розвитку легеневого фіброзу



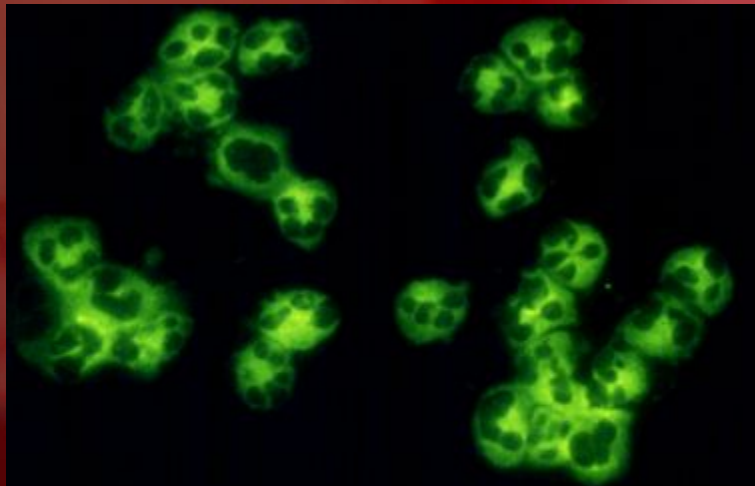
Міозит специфічні АТ (Jo-1, Mi-2, PM-Scl, KJ)

- Мають високу специфічність та низьку чутливість
- Виявлення АТ до Jo-1 свідчить про наявність антисинтеазного синдрому
- Виявлення АТ до Mi-2 асоціюється з сприятливим перебігом
- АТ до PM-Scl – СЗСТ з ознаками ССД, поліміозиту і ураженням нирок
- АТ до KJ – при міозиті, синдромі Рейно та інтерстиціальному ураженню легень

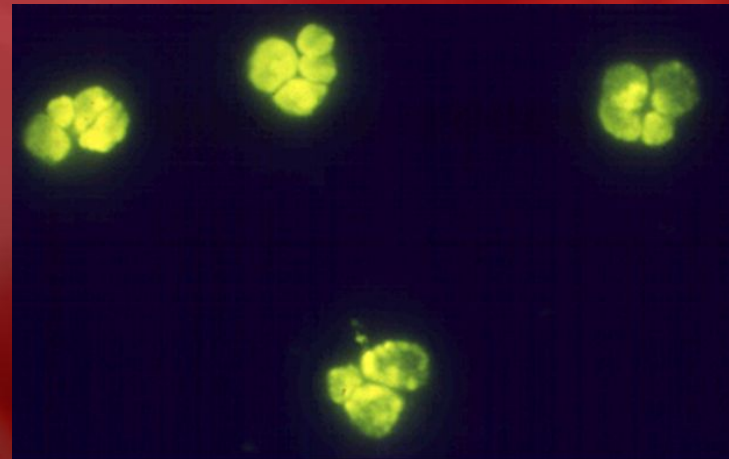


Таблица 6. Частота обнаружения ANCA при системных васкулитах

Заболевание	Тип АТ	
	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе), %	c-ANCA (АТ к протеиназе-3), %
Узелковый полиартериит	20	10
МПА	50-70	50
ЭГПА (синдром Чарджа-Стросса)	60	10
ГПА (гранулематоз Вегенера)	20	80
Другие васкулиты	<20	<10



C-ANCA pattern Demonstration of **cytoplasmic** antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) by indirect immunofluorescence with normal neutrophils. There is heavy staining in the cytoplasm while the multilobulated nuclei (clear zones) are nonreactive. These antibodies are usually directed against proteinase 3 and most patients have Wegener's granulomatosis. Courtesy of Helmut Rennke, MD.



P-ANCA pattern Demonstration of **perinuclear** antineutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA) by indirect immunofluorescence with normal neutrophils. Staining is limited to the perinuclear region and the cytoplasm is nonreactive. Among patients with vasculitis, the antibodies are usually directed against myeloperoxidase. However, a P-ANCA pattern can also be seen with autoantibodies against a number of other antigens including lactoferrin and elastase. Non-MPO P-ANCA can be seen in a variety of nonvasculitic disorders. Courtesy of Helmut Rennke, MD.



Таблица 7. Ассоциация ANCA с формой и активностью ГПА (гранулематоза Вегенера)

Категория заболевания	Частота обнаружения	
	c-ANCA, %	p-ANCA
Генерализованный, активный	76-100	0-25%
Генерализованный, ремиссия	26-50	Негативные
Ограниченный, активный	51-75	Негативные
Ограниченный, ремиссия	26-50	Негативные



Антифосфоліпідні АТ

- представляють собою гетерогенну групу АТ до негативно заряджених фосфоліпідів, включаючи кардіоліпін, фосфатидилсерин, фосфатидилхолін, фосфатидилінозитол,
- фосфатидилетаноламін, фосфатидилгліцерин, а також до $\beta 2$ глікопротеїну-1 - кофактору, що взаємодіє з фосфоліпідами і що є природнім плазмовим антикоагулянтом та інгібітором агрегації тромбоцитів.
- Серологічний маркер і фактор ризику розвитку тромботичних ускладнень у хворих з АФС.



Антифосфоліпідні АТ

- Обов'язкові методи лабораторної діагностики АФС включають:
 1. Визначення Ig M та G до кардіоліпіну (не менше ніж 2 рази з інтервалом 12 тиж.)
 2. Виявлення вовчакового антикоагулянта в фосфоліпідзалежних коагуляційних тестах (подовження АЧТЧ і при змішуванні з нативною плазмою в концентрації 1:1 подовження АЧТЧ залишається)
 3. Визначення Ig M та G до $\beta 2$ глікопротеїну-1 (не менше ніж 2 рази з інтервалом 12 тиж.).




Комплемент

1. Загальна гемолітична активність комплекменту класичного шляху (CH50) – зниження спостерігається при СЗСТ та імунокомплексних васкулітах.
2. Зниження С3, С4 - корелює з активністю СЧВ, особливо нефритом



Ревматоїдний фактор

- аутоантитіла IgG, IgM або IgA, що реагують з Fc-фрагментом IgG
- є діагностичним критерієм РА (чутливість – 50-90%, специфічність – 80-93%)
- виявляється також у хворих на СЧВ, синдром Шегрена, ССД, кріоглобулінемію, СЗСТ, хронічні інфекції, захворюваннями легень, первинний біліарний цироз, злоякісні
- позитивний РФ у 5% здорових людей у віці до 70 років, та у 25% - після 70 років.
- 40% хворих на ранній РА негативні за РФ



Анти-ЦЦП (антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду)

- Гетерогенна група АТ, які розпізнають антигенні детермінанти філагрину та інших білків, що містять атипову амінокислоту цитрулін.
- Цитруліновані білки утворюються в результаті посттрансляційної модифікації залишків аргініну під дією фермента пептидиларгінін деімінази.
- Використовується для діагностики раннього РА, особливо при негативному РФ та диференційному діагнозі з іншими ревматичними захворюваннями
- Специфічність для РА – 93-99%, чутливість – 41-80%
- Є також маркером прогнозування важкого ерозивного ураження суглобів

Таблица 9. Целесообразность определения аутоАТ к различным антигенам при клиническом подозрении на ревматическое заболевание и некоторые неревматические заболевания

РА	РФ (IgM-РФ), АТ к ЦЦП, МЦВ
Системное заболевание соединительной ткани	АНА (АНФ)
СКВ	1-й этап: АНА (АНФ), АТ к dsDNA, Ro(SS-A)
	2-й этап: АТ к Sm, La(SS-B), гистону, ssDNA
СЗСТ (болезнь Шарпа)	АНА (АНФ), АТ к RNP
ССД	АНА (АНФ), АТ к Scl-70
CREST-синдром	АНА (АНФ), АТ к центромере
Полимиозит/дерматомиозит	АТ к Jo-1
Болезнь Шегрена	АНА (АНФ), АТ к Ro(SS-A), La(SS-B), РФ
Синдром Фелти	АТ к ssDNA, РФ
IgG4-зависимое заболевание	IgG4
Системный васкулит	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе), c-ANCA (АТ к протеиназе-3)
МПА	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе), c-ANCA (АТ к протеиназе-3)
ЭГПА (синдром Чарджа-Стросса)	p-ANCA (АТ к миелопероксидазе)
ЭГПА (гранулематоз Вегенера)	c-ANCA (АТ к протеиназе-3)
Эссенциальный криоглобулинемический васкулит	Криоглобулины
Синдром Гудпасчера	АТ к базальным мембранам клубочковых капилляров почек
АФЛС	IgG- и IgM-АТ к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт (удлинение АЧТВ), RW