

4. Oliveira G.H. Novel serologic markers of cardiovascular risk. *Current Atherosclerosis Reports* 2005; 7: 148-54.
5. Voloshina I.N. The dynamics of cytokine's serum profile in hypertensive patients treated with carvedilol. *Tavrisheskiy mediko-biologicheskii vestnik*. 2011; 14 (1): 31-5. (in Russian)
6. Bychkov O.A., Bychkova N.G. Features of immune and cytokine status during the treatment of patients with arterial hypertension and concomitant osteoarthritis. *Sovremennaya meditsina: aktual'nye voprosy*. 2015; 44-45: 11-7. (in Russian)
7. Okin P.M., Oikarinen L., Viitasalo M., Toivonen L., Kjeldsen S.E., Nieminen M.S., et al. Serial assessment of the electrocardiographic strain pattern for prediction of new-onset heart failure during antihypertensive treatment: the LIFE study. *Eur. J. Heart Fail* 2011; 13:384-91.
8. Schmieder R.E., Mann J.F., Schumacher H., Gao P., Mancia G., Weber M.A., et al. Changes in albuminuria predict mortality and morbidity in patients with vascular disease. *J. Am. Soc. Nephrol* 2011; 22:1353-64.
9. Goldberger Z.D., Valle J.A., Dandekar V.K., Chan P.S., Ko D.T., Nallamothu B.K. Are changes in carotid intima-media thickness related to risk of nonfatal myocardial infarction? A critical review and meta-regression analysis. *Am. Heart J.* 2010; 160:701-14.
10. Krieglstein C.F., Granger D.N. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am. J. Hypertens.* 2001; 14(6 Pt 2):44S-54S.
11. Uiterwijk R., Huijts M., Staals J., Rouhl R.P., De Leeuw P.W., Kroon A.A. et al. Endothelial activation is associated with cognitive performance in patients with hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2016; 29(4):464-9.

Поступила 06.02.18

Принята к печати 15.02.18

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.5-002.525.2-031.81-092:612.017.1

Александрова Е.Н.¹, Новиков А.А.¹, Верижникова Ж.Г.², Лукина Г.В.^{1,2}

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИНУКЛЕАРНЫХ АНТИТЕЛ ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», 111123, Москва;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», 115522, Москва, Российская Федерация

В обзоре рассматриваются актуальные аспекты исследования антинуклеарных антител (АНА) при системной красной волчанке (СКВ). АНА – основной серологический маркер СКВ. В пробах сыворотки больных СКВ обнаруживаются антитела к ДНК, гистонам, нуклеосомам, экстрагируемым ядерным антигенам (Sm, U1 рибонуклеопротеину, Ro/SSA, La/SSB, рибосомальному белку Р), ядрышковым антигенам и другим клеточным структурам. Исследование АНА с помощью непрямой реакции иммунофлюоресценции на HEp-2 клетках (НРИФ-HEp-2) рекомендуется в качестве стандартного скринингового теста для диагностики СКВ. Применение автоматизированных систем интерпретации клеточных флюоресцентных тестов способствует стандартизации и улучшению воспроизводимости НРИФ. Разработана новая международная номенклатура типов ядерного, ядрышкового (нуклеолярного), цитоплазматического и митотического свечения АНА в НРИФ-HEp-2, включающая 28 вариантов анти-клеточных ("Anti-cell" – AC) паттернов. В практике клинико-диагностических лабораторий широкое распространение получили высокопроизводительные автоматизированные методы определения АНА на основе иммуноферментного анализа, иммуноблота, флюоресцентного, хемилюминесцентного и мультиплексного иммунного анализа. Новые моно- и мультиплексные методы твердофазного анализа целесообразно использовать как подтверждающие рефлекс-тесты для обнаружения разновидностей антиген-специфических АНА у больных СКВ с положительными результатами НРИФ-HEp-2. Идентификация профилей АНА с помощью мультиплексных технологий – важный инструмент для реализации персонализированного подхода к диагностике, оценке активности, прогноза, клинико-иммунологических субтипов и эффективности терапии СКВ. Обсуждается необходимость исследования АНА не только с целью подтверждения диагноза СКВ, но и для выявления заболевания на ранней и доклинической стадиях с намерением предотвратить развитие патологического процесса. Обнаружение моноспецифических антител к DFS70 позволяет исключить диагноз СКВ у лиц с положительными результатами определения АНА в НРИФ-HEp-2. Представлен современный алгоритм тестирования АНА при СКВ.

Ключевые слова: системная красная волчанка; антинуклеарные антитела; клиническое значение; моно- и мультиплексные методы иммунного анализа; скрининговые и подтверждающие тесты; антитела к DFS70; алгоритм тестирования антинуклеарных антител при СКВ.

Для цитирования: Александрова Е.Н., Новиков А.А., Верижникова Ж.Г., Лукина Г.В. Современный взгляд на проблемы исследования антинуклеарных антител при системной красной волчанке (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(6): 340-348. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-340-348>

Aleksandrova E.N.¹, Verizhnikova Zh.G.¹, Novikov A.A.¹, Lukina G.V.^{1,2}

MODERN LOOK AT THE PROBLEMS OF INVESTIGATION OF ANTI-NUCLEAR ANTIBODIES IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS (LITERATURE REVIEW)

¹A.S. Loginov Moscow Clinical Research and Practical Center, Moscow Healthcare Department, 111123, Moscow, Russia;

²V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, 115522, Moscow, Russia

In the review, topical aspects of the study of antinuclear antibodies (ANA) in systemic lupus erythematosus (SLE) are considered. ANA is the main serological marker of SLE. In the sera of patients with SLE, antibodies to DNA, histones, nucleosomes, extractable nuclear antigens (Sm, U1 ribonucleoprotein, Ro / SSA, La / SSB, ribosomal protein P), nucleolar antigens and other cellular structures are detected. The ANA study using indirect immunofluorescence on HEp-2 cells (IIF-HEp-2) is recommended as a standard screening test for the diagnosis of SLE. The use of automated systems for the interpretation of cellular fluorescent tests contributes to the standardization and improvement of the reproducibility of the IIF. A new international nomenclature of types of nuclear, nucleolar (nucleolar), cytoplasmic and mitotic luminescence of ANA in IIF-HEp-2, including 28 variants of anti-cell ("Anti-cell" - AC) patterns was developed. In the practice of clinical diagnostic laboratories, high-performance automated methods for the determination of ANA based on ELISA, immunoblot, fluorescent, chemiluminescent and multiplex immunoassay are widely used. New mono- and multiplex methods of solid-phase analysis are expediently used as confirmatory reflex tests for the detection of varieties of antigen-specific ANA in patients with SLE with positive results of IIF-HEp-2. Identification of ANA profiles using multiplex technologies is a useful tool for implementing a personalized approach to diagnosis, evaluation of activity, prognosis, clinical and immunological subtypes, and the effectiveness of SLE therapy. The need for an ANA study not only to confirm the diagnosis of SLE, but also to identify the disease in the early and preclinical stages with the intention to prevent the development of the pathological process is discussed. Detection of monospecific anti-DFS70 antibodies allows to exclude the diagnosis of SLE in ANA IIF-HEp-2 positive subjects. Presented is a modern algorithm for testing ANA with SLE.

Key words: systemic lupus erythematosus; antinuclear antibodies; clinical significance; mono- and multiplex immunoassays; screening and confirmatory tests; anti-DFS70 antibodies; algorithm for testing antinuclear antibodies in SLE.

For citation: Aleksandrova E.N., Verizhnikova Zh.G., Novikov A.A., Lukina G.V. Modern look at the problems of investigation of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus (literature review). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63(6): 340-348 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-340-348>

For correspondence: Aleksandrova E.N., Dr. Sci. Med., lead researcher of the laboratory for the diagnosis of autoimmune diseases of the; e-mail: aleksandrovaen2015@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 05.02.2018
Accepted 13.02.2018

Системная красная волчанка (СКВ) – системное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся поликлональной активацией В-клеток и гиперпродукцией широкого спектра органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы, вызывающих иммуновоспалительное повреждение тканей и внутренних органов [1]. Антиядерные антитела (АНА) являются основным серологическим маркером СКВ. В пробах сыворотки больных СКВ обнаруживаются антитела к ДНК, гистонам, нуклеосомам, экстрагируемым ядерным антигенам (ЭЯА) (Sm, U1 рибонуклеопротеину – РНП, Ro/SSA, La/SSB, рибосомальному белку Р - RibP), ядрышковым антигенам и другим клеточным структурам [2-6]. Положительные результаты определения АНА входят в число диагностических критериев СКВ [7]; применяются для оценки активности, прогноза и характеристики клинико-лабораторных субтипов заболевания [2, 4-6, 8-12]; служат предикторами развития СКВ на доклинической стадии (табл. 1) [13].

Для выявления АНА используют как моноплексные технологии (непрямая реакция иммунофлюоресценции – НРИФ, двойная иммунодиффузия – ДИД, контриммуноэлектрофорез – КИЭФ, радиоиммуноанализ – РИА, иммуноферментный анализ – ИФА, иммуноблот - ИБ, флюоресцентный иммунный анализ – ФИА, хемилуминесцентный иммунный анализ – ХЛИА), так и мультиплексные диагностические платформы [3, 14]. В последние годы при исследовании АНА широко применяются высокопроизводительные автоматизированные системы на основе ИФА, ФИА, ХЛИА, ИБ и мультиплексного иммунного анализа (МИА) (табл. 2) [3, 9, 14]. Сравнительная характеристика различных методов определения АНА, их преимущества и ограничения представлены в табл. 3. Актуальными проблемами диагностики СКВ являются стандартизация и гармонизация новых методов выявления АНА, включая оценку их диагности-

ческой значимости, разработку алгоритмов тестирования аутоантител, создание международных референтных материалов для калибровки и внешней оценки качества иммунологических тестов [9, 14].

Согласно рекомендациям ACR и EULAR, стандартным скрининговым методом определения АНА в сыворотке крови служит НРИФ с использованием в качестве субстрата клеток HEp-2 (эпителиальные клетки рака гортани человека – НРИФ-HEp-2) [3]. Применение стандартизованных клеток HEp-2 или варианта этой клеточной линии HEp-2000, имеющего большее количество митозов, позволяет существенно повысить чувствительность метода и достоверно описать различные типы свечения ядра. При тестировании АНА методом НРИФ их традиционно обозначают как антиядерный фактор (АНФ). Оценка результатов НРИФ проводится с указанием максимального конечного титра обнаружения АНФ в исследуемых сыворотках, а также интенсивности и типа флюоресценции. Нормальные титры АНФ в сыворотке крови при использовании НРИФ-HEp-2 составляют менее 1:160 [3, 4, 10]. Данные значения отражают оптимальное соотношение диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) определения АНА с помощью НРИФ-HEp-2, позволяя идентифицировать 95% больных СКВ и 95% здоровых. Характер ядерного/цитоплазматического свечения при тестировании АНФ методом НРИФ-HEp-2 отражает присутствие разновидностей антигенспецифических АНА, ассоциирующихся с СКВ [3, 15]. Для стандартизации НРИФ-HEp-2 Международный консенсус по паттернам АНА (International consensus on ANA patterns – ICAP) разработал новую номенклатуру типов ядерного, ядрышкового (нуклеолярного), цитоплазматического и митотического свечения, включающую 28 вариантов антиклеточных (Anti-cell – AC) паттернов [15]. Типы свечения клеточных структур, регистрируемые в НРИФ-

Клиническое значение антинуклеарных антител при СКВ [2, 4–6, 8–12]

Антитела	Метод определения	Диагностическое и прогностическое значение*	Ассоциация с субтипами СКВ (частота обнаружения)	Ассоциация с другими заболеваниями
Антинуклеарные антитела (АНА)	НРИФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 93–98%, ДС 49–78% Диагностический критерий СКВ	Волчаночный нефрит (100%) Лекарственная волчанка (50–100%) Дискоидная волчанка (35%)	ССД, СШ, ПМ/ДМ, СЗСТ, аутоиммунный гепатит, ЮХА, синдром Рейно, РА, заболевания щитовидной железы, злокачественные новообразования, хронические инфекции, фибромиалгия и др.
Антитела к двуспиральной ДНК (дсДНК)	ИФА НРИФ РИА (тест Farr) ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 57%, ДС 97% Диагностический критерий СКВ Связь с активностью заболевания	Волчаночный нефрит (65–70%) Нейропсихические проявления (4–81%)	Вирусные инфекции (ВИЧ, парвовирус В19), миелома, аутоиммунный гепатит, РА
Антитела к гистонам	ИФА ИБ МИА	ДЧ 50–80%, ДС 86%	Лекарственная волчанка (50–100%) Волчаночный нефрит (37%)	РА, ССД, ПБЦ, болезнь Альцгеймера, деменция, инфекции
Антитела к нуклеосомам	LE-клеточный тест ИФА ИБ МИА	ДЧ 46–81%, ДС 95–100% Связь с активностью заболевания	Волчаночный нефрит (60–90%) Лекарственная волчанка (77%)	РА, ССД, СШ, СЗСТ, аутоиммунный гепатит
Антитела к Sm	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 10–30%, ДС 90–99% Диагностический критерий СКВ	–	СЗСТ Вирусная инфекция Эпштейна–Барр
Антитела к U1RNP	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 20–30% ДС низкая Предиктор неблагоприятного течения СКВ с развитием синдрома Рейно и тяжёлого поражения внутренних органов	СЗСТ/перекрестный синдром (100%)	ССД, СШ, ПМ, РА
Антитела к SSA/Ro (60/52 kDa)	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 22–50% ДС 99% Предиктор развития неонатальной волчанки и врождённой полной поперечной блокады сердца	Фотосенсибилизация, подострая кожная красная волчанка (70–80%) Неонатальная волчанка и полная поперечная блокада сердца (90%) Гематологические нарушения Волчаночный нефрит (31%)	СШ, ССД, ДМ, ПМ, РА, ПБЦ
Антитела к SSB/La	ДИД КИЭФ ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 10–20% ДС 99% Предиктор развития неонатальной волчанки новорождённых и врождённой полной поперечной блокады сердца	Низкая частота развития волчаночного нефрита (14%) Неонатальная волчанка, полная поперечная блокада сердца (90%) Подострая кожная красная волчанка (30%)	СШ, ССД, ДМ, ПМ, РА, ПБЦ, аутоиммунный гепатит
Антитела к RibP	ИФА ИБ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 13–40% ДС высокая	Нейропсихические проявления (психозы, депрессия) (21%)	РА, злокачественные новообразования, заболевания печени
Антитела к PCNA	НРИФ ФИА ХЛИА МИА	ДЧ 5–10% ДС 95%	Артрит, гипокомплементемия	Хронический гепатит В и С
Антитела к Ku	ИБ ХЛИА МИА	ДЧ 5–20%	СКВ/ ПМ/ССД Перекрёстный синдром Миозит, артрит	ССД, ПМ, ДМ

Примечание. В табл. 1 оценка клинического значения аутоантител проводилась с учётом различных методов определения АНА. ССД – системная склеродермия, СШ – синдром Шегрена, ПМ/ДМ – полимиозит/дерматомиозит, СЗСТ – смешанное заболевание соединительной ткани, ЮХА – ювенильный хронический артрит, РА – ревматоидный артрит, ПБЦ – первичный билиарный цирроз.

Высокопроизводительные технологии определения АНА в сыворотке крови

Антиген	ФИА	ХЛИА	ИФА	Линейный иммуноблот/дот-блот						МИА (суспензионные микро-чипы, технология xMAP)		
	EliA CTD Screen (Thermo Fisher, Германия)	QUANTA Flash CTD Screen Plus (INOVA Diagnostics, США)	Alegria ANA Detect (Orgentec, Германия)	ANA Profile (Euroimmun, Германия)	ImmcoStripe ANA Advanced (IMMCO Diagnostics, США)	ANA-12 Pro (BLOT) (AESKU Diagnostics, Германия)	ANA Lia MAX (HUMAN Diagnostics, Германия)	Blue Diver Quantrix ANA (D-Tec, Бельгия)	recomLine ANA/ENA IgG (MIK-ROGEN, Германия)	FIDIS Connective 10 (The-radiag, Франция)	AtheNA Multi-Lyte Anti-Nuclear Antibodies (ANA) (ZEUS, США)	BioPlex 2200 ANA ALBIA (BIORAD, США)
U1PHП	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+
U1PHП/Sm	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-
SS-A/Ro60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ro52/ TRIM21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
SS-B/La	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Центромеры	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Scl-70/topo I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Jo-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rib P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
PM/Scl	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
PCNA	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Sm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
дсДНК	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Нуклеосомы	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
Гистоны	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
РНК-полимераза III	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ku	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
Mi-2	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-

Примечание. + данная разновидность антител определяется указанным методом; - данная разновидность антител не может быть определена указанным методом.

HEp-2 при СКВ, представлены в табл. 4 [3, 15]. Появление автоматизированных систем интерпретации клеточных флюоресцентных тестов создаёт предпосылки для стандартизации и улучшения воспроизводимости НРИФ при определении АНА и других аутоантител у больных с системными аутоиммунными ревматическими заболеваниями (САРЗ) [16]. Среди коммерческих технологических платформ, осуществляющих анализ АНА путём автоматической визуализации и объективного распознавания образцов флюоресценции, одни аналитические системы дают возможность проводить только скрининг положительных и отрицательных результатов НРИФ-HEp-2 (Helios, Aesku Diagnostics, Германия; Image Navigator, Immuno Concept, США; Cytospot, Autoimmun Diagnostika, Германия), в то время как другие позволяют классифицировать основные типы свечения клеточных структур (AKLIDES, Medipan, Германия; NovaView, Inova, США; Zenit G-Sight, A. Menarini Diagnostics, Италия; Europattern, Euroimmun, Германия).

Скрининговое определение АНА методом НРИФ-HEp-2 обладает высокой чувствительностью (93%), но низкой специфичностью (57%) и предсказательной ценностью положительных результатов теста (3%) для диагностики СКВ [4, 10, 17]. Снижение пре- и посттестовой вероятности наличия СКВ у АНФ-положительных лиц связано с обнаружением АНА при многих патологических состояниях (САРЗ, ювенильный артрит, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, воспалительные заболевания кишечника, васкулиты, фибромиалгия, рассеянный склероз, заболевания щитовидной железы, хронические инфекции, злокачественные новообразования) на фоне увеличения количества исследований АНФ, назначаемых не ревматологами, а врачами других специальностей – терапевтами, дерматологами, нефрологами, онкологами, кардиологами, неврологами, гастро-

энтерологами, отоларингологами, офтальмологами, гематологами, гинекологами [17-19]. Согласно данным литературы, до 20% здоровых людей могут быть серопозитивными по АНА в НРИФ-HEp-2, что наиболее часто обусловлено наличием антител, индуцирующих плотное мелкокрапчатое свечение при взаимодействии с ядерным антигеном DFS70 (dense fine speckled), имеющим мол. массу 70 кДа [20, 21]. Анализ белковых последовательностей показал идентичность антигена DFS70 и транскрипционного коактиватора p75, называемого также фактором роста эпителия хрусталика (lensepithelium derived growth factor - LEDGF) [22]. DFS70 - уникальный паттерн (AC-2), который характеризуется гетерогенным мелкокрапчатым свечением нуклеоплазмы интерфазного ядра клетки и хроматина в зоне митоза. Использование субстрата (HEp-2 ELITE/DFS70-KO, Immco Diagnostic-Trinity Biotech, США), состоящего из смеси стандартных клеток HEp-2 и генно-инженерных клеток DFS70-KOHEp-2, не экспрессирующих антиген DFS70/LEDGF/p75, что препятствует связыванию антител к DFS с целевым антигеном, позволяет чётко дифференцировать DFS от классических типов ядерного свечения [23]. Для подтверждения наличия антител к DFS70 в АНФ-положительных сыворотках применяются также методы ИФА, ХЛИА, ИБ и НРИФ-HEp-2 с селективной адсорбцией антител [20, 21, 23]. Среди здоровых людей частота обнаружения моноспецифических антител к DFS70 составляет в целом 2–22%, а у АНФ-положительных доноров варьирует от 24 до 54% [20, 21]. Отмечена негативная ассоциация моноспецифических антител к DFS70 с СКВ и другими САРЗ, при которых данные аутоантитела встречаются менее чем у 1% больных [21]. В рамках четырёхлетнего наблюдательного исследования не зарегистрировано ни одного случая САРЗ среди 40 здоровых лиц с перманентно высоким уровнем моноспецифических

Сравнительная характеристика методов определения АНА в сыворотке крови при СКВ

Метод	Преимущества	Недостатки
НРИФ-НЕР-2	Стандартный первичный скрининговый метод определения АНА. Наиболее высокая ДЧ при СКВ и др. САРЗ (выявление антител к 100–150 аутоантигенам клеточного ядра и цитоплазмы). Некоторые типы АНА (PCNA и др.) хорошо обнаруживаются методом НРИФ на клетках НЕР-2, что исключает необходимость их дальнейшего исследования с помощью подтверждающих тестов. Наличие автоматизированных систем визуализации и интерпретации результатов НРИФ - НЕР-2	Рутинная техника флюоресцентной микроскопии Субъективная оценка результатов теста. Необходимость интенсивного обучения для дифференцировки типов свечения. Отсутствие квалифицированной экспертной оценки. Полуколичественная оценка результатов свечения в титрах. Отсутствие стандартизации субстратов, реагентов, микроскопа. Фотообесцвечивание препаратов. Низкая чувствительность при определении антител к SS-A/Ro и RibP в сыворотке крови. Низкая специфичность для диагностики СКВ и др. САРЗ. Автоматизированные системы визуализации и распознавания клеточных флюоресцентных тестов Возможны различия в идентификации типов ядерного свечения
ИФА	Подтверждающий метод определения антигенспецифических АНА в сыворотке крови. Более высокая ДС для диагностики СКВ и др. САЗ по сравнению с НРИФ-НЕР-2. Относительно высокий уровень аналитической чувствительности в сочетании со скоростью получения результатов. Количественная оценка результатов. Минимальное количество образца (5–10 мкл). Возможность тестировать одновременно большое количество образцов. Удобство в работе, простота проведения реакции. Возможность автоматизации всех этапов исследования. Объективность за счёт автоматизации учёта результатов. Относительно низкая стоимость диагностических наборов	В качестве первичного скринингового теста не может полностью заменить исследование АНА с помощью НРИФ-НЕР-2 из-за более низкой ДЧ, связанной с выявлением ограниченного спектра АНА (к смеси из 8–10 антигенов) по сравнению с НРИФ - НЕР-2. Изменение структуры и биохимических свойств ядерных антигенов при их синтезе и очистке. Блокировка одних антигенов, присутствующих в смеси, другими; перекрестное связывание АНА с различными мишенями. Выявление низкоаффинных аутоантител. Отсутствие стандартизации антигенных субстратов. Отсутствие наборов реагентов для определения редких АНА. Больше ложноотрицательных результатов выявления АНА по сравнению с НРИФ
ХЛИА, ФИА	Подтверждающие методы определения антиген-специфических АНА в сыворотке крови. Более высокая ДС для диагностики СКВ и др. САЗ по сравнению с НРИФ-НЕР-2. Высокая аналитическая чувствительность. Высокая скорость получения результатов. Более точное количественное определение уровня антител в сыворотке крови по сравнению с ИФА за счёт расширения диапазона измеряемых концентраций аналитов. Стабильная калибровочная кривая. Минимальное количество образца (5–10 мкл). Возможность тестировать одновременно большое количество образцов. Удобство в работе, простота проведения реакции. Возможность автоматизации всех этапов исследования. Объективность за счёт автоматизации учёта результатов	В качестве первичных скрининговых тестов не могут полностью заменить исследование АНА с помощью НРИФ-НЕР-2 из-за более низкой ДЧ, связанной с выявлением ограниченного спектра АНА по сравнению с НРИФ - НЕР-2. Отсутствие стандартизации антигенных субстратов. Выявление низкоаффинных аутоантител. Отсутствие наборов реагентов для определения редких АНА. Больше ложноотрицательных результатов выявления АНА по сравнению с НРИФ
ИБ	Подтверждающий метод определения антигенспецифических АНА в сыворотке крови. Одновременное тестирование антигенспецифических АНА в сыворотке крови. Удобство в работе, простота проведения реакции. Возможность автоматизации отдельных этапов исследования	В качестве первичного скринингового теста не может полностью заменить исследование АНА с помощью НРИФ-НЕР-2 из-за более низкой ДЧ, связанной с выявлением ограниченного спектра АНА по сравнению с НРИФ - НЕР-2. Отсутствие наборов реагентов для определения редких АНА. Полуколичественная оценка результатов исследования. Низкая чувствительность и специфичность при определении антител к нелинейным эпитопам.
МИА	Подтверждающий метод определения антигенспецифических АНА в сыворотке крови. Одновременное тестирование множества антигенспецифических АНА в сыворотке крови. Максимум информации за минимум времени в минимальном количестве образца (50–100мкл). Более высокая аналитическая чувствительность по сравнению с рутинными методами иммунного анализа. Количественная оценка результатов. Выявление индивидуальных профилей АНА, ассоциирующихся с особенностями заболевания или органного поражения. Повышение производительности исследования. Увеличение экономической эффективности (снижение стоимости анализа за счёт уменьшения трудовых затрат и затрат на реагенты). Улучшение внутри- и межлабораторной сопоставимости результатов	При использовании в качестве первичного скринингового теста не может полностью заменить исследование АНА с помощью НРИФ-НЕР-2 из-за более низкой ДЧ, связанной с выявлением ограниченного спектра АНА по сравнению с НРИФ - НЕР-2. Отсутствие наборов реагентов для определения редких АНА. Больше ложноотрицательных результатов выявления АНА по сравнению с НРИФ. Клиническая информативность недостаточно изучена

Типы свечения внутриклеточных структур при определении АНА в сыворотках больных СКВ методом НРИФ-Нер-2 и рекомендуемые рефлекс тесты [3, 15, 26]

Тип свечения	Аутоантигены	Рефлекс тесты
<i>Частые типы свечения</i>		
<i>Ядерное свечение</i>		
Гомогенное (АС-1)	Двуспиральная (дс) ДНК, гистоны, хроматин/ нуклеосомы, HMG (high mobility group)	Исследование антител к дсДНК, экстрагируемым ядерным антигенам (ЭЯА) (Sm, U1РНП, Ro/SSA, La/SSB), гистонам, нуклеосомам
Крупное крапчатое (АС-5)	Sm, U1 – рибонуклеопротеин (РНП), ядерный матрикс	Исследование антител к ЭЯА, дсДНК
Мелкое крапчатое (АС-4)	SS-A/Ro, SS-B/La, многие ядерные антигены	Исследование антител к ЭЯА, дсДНК
<i>Цитоплазматическое свечение</i>		
Плотное мелко-крапчатое свечение (АС-19)	Рибосомальный белок Р (RibP)	Исследование антител к ЭЯА, включая RibP
<i>Редкие типы свечения</i>		
<i>Ядерное свечение</i>		
Точечное (1–6 точек) (АС-7)	p80-colin, SMN	Отсутствуют
Периферическое/краевое или оболочки ядра (АС-11)	Ламинины (А, В, С), комплексные антигены ядерной оболочки	Отсутствуют
Плейоморфное крапчатое клеточного цикла (PCNA) (АС-13)	Вспомогательный белок ядерного антигена клеточной пролиферации: фактор элонгации ДНК-полимеразы дельта	Исследование антител к PCNA
<i>Цитоплазматическое свечение</i>		
Дискретное крапчатое (АС-18)	Эндосома (ранний эндосомальный антиген -1), глицин-триптофан (GW)/процессирующие тельца, мультивезикулярные тельца/лизосомы	Отсутствуют
Комплекс Гольджи (АС-22)	Белки Гольджи/гольджины: гиантин, гольджин 245, гольджин 110, гольджин 97, гольджин 95 и др.	Отсутствуют

антител к DFS70 и отсутствием других аутоантител в сыворотке крови [24]. Выявление моноспецифических антител к DFS70 может рассматриваться в качестве потенциального лабораторного критерия для исключения диагноза СКВ и других САР3 у АНФ-позитивных лиц [20-22].

По мнению большинства экспертов, полуколичественное измерение АНФ в титрах, рекомендованное в качестве скринингового теста для диагностики СКВ, не позволяет осуществлять мониторинг активности и прогнозирование обострений заболевания (за исключением гомогенного типа свечения, интенсивность которого четко ассоциируется с уровнем антител к двуспиральной (дс) ДНК в крови) [3, 4, 10]. В то же время высокие титры АНФ наряду с увеличением концентрации антител к дсДНК и снижением уровня С3, С4 в крови служат предикторами эффективного ответа на терапию белимумабом (моноклональными антителами, ингибирующими В-лимфоцитарный стимулятор ВLyS) [25].

При двухэтапной стратегии иммунодиагностики СКВ пациентам с положительными результатами скринингового обнаружения АНА методом НРИФ-Нер-2 рекомендуется проведение каскада подтверждающих («рефлекс») тестов для выявления специфических антител к отдельным ядерным антигенам (дсДНК, нуклеосомам, гистонам, ЭЯА – Sm, U1РНП, Ro/SSA, La/SSB, RibP) с помощью ИФА, ИБ, ХЛИА, МИА и других технологий (см. табл. 4) [3, 9, 14, 26]. Выбор спектра подтверждающих исследований АНА зависит от типа и титров ядерного/цитоплазматического свечения в НРИФ-Нер-2, совокупности клинических факторов [3, 26]. Имеются данные о недостаточной чувствительности метода НРИФ-Нер-2 при тестировании антител к SS-A/Ro60, Ro52/TRIM21, Rib P и Jo-1 [10]. В случае отрицательных результатов определения антител к SS-A/Ro и RibP в НРИФ-Нер-2, но высокой вероятности наличия у больного СКВ следует использовать альтернативные методы идентификации антител к данным ЭЯА (ИФА, ИБ,

ХЛИА и др.) [3]. Современный алгоритм тестирования АНА для диагностики СКВ представлен на рисунке.

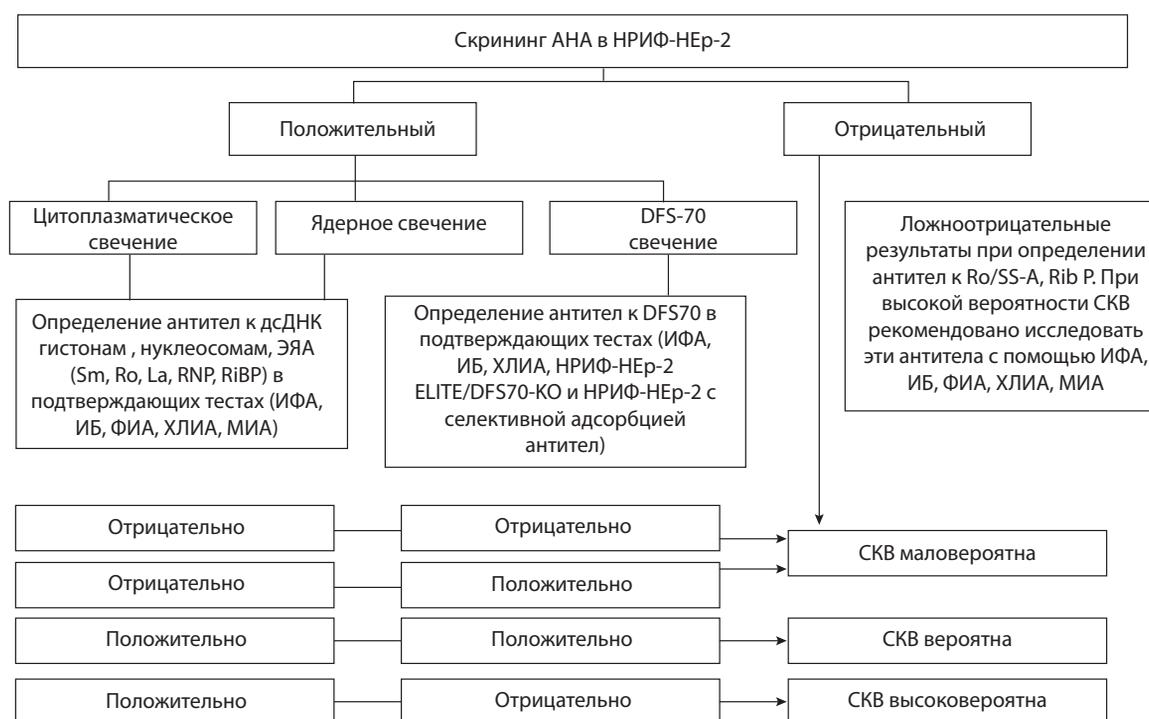
В практике клинико-диагностических лабораторий широкое распространение получили скрининговые методы определения АНА на основе ИФА, ХЛИА, ФИА, ИБ и мультиплексных биоаналитических технологий [3, 9, 14]. По мнению экспертов EULAR и ACR, новые методы твёрдофазного анализа не могут полностью заменить первичный скрининг АНА с помощью НРИФ-Нер-2, так как идентифицируют антитела к ограниченному количеству антигенов с изменёнными либо утраченными эпитопами, что приводит к увеличению числа ложноотрицательных результатов до 35% (см. табл. 3) [10, 27]. Данные литературы, касающиеся сравнительного изучения клинической информативности различных скрининговых методов выявления АНА при СКВ, немногочисленны и весьма противоречивы, что обусловлено различиями в тест-системах, значениях «cutoff» и подборе групп больных (табл. 5) [14, 28–37]. Как следует из табл. 5, ДЧ ИФА(75,2%) [28–30, 35], ФИА (74,0%) [36], ХЛИА (80,6%) [37] и суспензионных мультиплексных технологий (74%) [14, 28–33, 35] при скрининговом выявлении АНА ниже, чем у НРИФ-Нер-2 (90,7%) [14, 31–33, 35–37]. Высокая ДЧ новой мультиплексной системы CytoBeadANA на платформе AKLIDES объясняется размещением микросфер, кодированных флюорофорами и покрытых различными ядерными антигенами, в одной пробе с клетками Нер-2, что позволяет совместить скрининг и дифференцировку АНА в сыворотках больных СКВ [34]. Общая ДС различных скрининговых методов определения АНА при СКВ имеет невысокие значения (64,5%) [14, 28, 31, 32, 34–37]. Показано, что исследование АНА с помощью НРИФ-Нер-2 обладает наибольшей информативностью для исключения диагноза СКВ по уровню отношения правдоподобия отрицательных результатов (ОПОР) теста (< 0,2). Результаты, касающиеся сравнительной оценки рангов отношения правдо-

Диагностическое значение скрининговых методов определения АНА в сыворотках больных СКВ

Автор, год	n	Метод	ДЧ, %	ДС, %				ОП	
				САРЗ	РЗ	ЗД	Общая	ПР	ОР
Shovman O. и соавт., 2005 [28]	113	ИФА	93,0	18,3	71,0	93,0	60,8	2,37	0,12
		МИА (AthenaMultiLyte)	91,0	17,0	73,0	94,0	61,3	2,35	0,15
Moder K. и соавт., 2007 [29]	332	ИФА	81,4	20,6	-	-	-	1,03	0,89
		МИА (BioPlex 2200)	66,3	37,1	-	-	-	1,05	0,91
Hanly J. и соавт., 2010 [30]	192	НРИФ-HEp-2 (>1:160)	81,3	-	-	-	-	-	-
		ИФА	46,6	-	-	-	-	-	-
Bonilla E., 2007 [31]	35	МИА (BioPlex 2200)	75,5	-	-	-	-	-	-
		НРИФ-HEp-2 (>1:50)	90,6	-	-	-	76,0	3,78	0,12
Op de Beeck K. и соавт., 2012 [32]	80	МИА (AthenaMultiLyte)	49,1	-	-	-	87,0	3,78	0,59
		НРИФ-HEp-2000 (>1:80)	90,0	28,8	-	94,0	61,4	2,33	0,16
Bruner V. и соавт., 2012 [33]	1540	МИА (BioPlex 2200)	79,0	25,7	-	94,6	60,2	1,98	0,35
		НРИФ-HEp-2 (>1:120)	85,6	-	-	81,7	-	4,67	0,18
Tozzoli R. и соавт., 2013 [14]	95	МИА (BioPlex 2200)	67,4	-	-	90,5	-	7,10	0,36
		НРИФ-HEp-2 (>1:80)	89,5	38,4	-	95,0	66,7	2,69	0,16
Scholz J. и соавт., 2015 [34]	174	МИА BioPlex 2200	81,1	29,5	-	94,2	61,9	2,13	0,31
		НРИФ-HEp-2 AKLIDES (>1:80)	98,9	8,4	-	83,2	45,8	1,82	0,02
Верижникова Ж.Г. и соавт., 2017 [35]	94	МИА (CytoBeadANA)	100	2,5	-	80,2	41,4	1,71	∞
		НРИФ-HEp-2 (>1:160)	96,8	10,0	35,0	93,3	40,0	1,61	0,08
Bossuyt X., Fieuw S., 2013 [36]	80	ИФА (Alegria)	79,8	42,0	100,0	96,7	70,0	2,66	0,29
		МИА (BioPlex 2200)	82,9	34,0	80,0	80,0	57,0	1,93	0,30
		НРИФ-HEp-2 (>1:160)	90,0	-	89,0	94,0	90,7	9,9	0,11
Bentow C. и соавт., 2015 [37]	98	ФИА (EliA CTD Screen)	74,0	-	96,5	97,0	96,7	23,9	0,27
		НРИФ-HEp-2 (>1:80)	93,9	34,6	-	67,1	50,9	1,91	0,12
		ХЛИА (QUANTA Flash CTD Screen Plus)	80,6	40,3	-	95,9	68,1	2,53	0,28

подобия положительных результатов (ОППР) скринингового исследования АНА на основе ИФА, ФИА, ХЛИА и МИА, не позволяют сделать однозначные выводы о диагностическом значении этих тестов при СКВ. Преимущества и ограничения ИФА, ФИА, ХЛИА и МИА по сравнению с «классическим»

скрининговым методом определения АНА при СКВ на основе НРИФ-HEp-2 нуждаются в дальнейшем изучении. В рекомендациях EULAR и ACR подчеркивается, что лаборатории, проводящие скрининговое определение АНА с использованием альтернативных методов твердофазного анализа (ИФА, ИБ,



Новый алгоритм тестирования антинуклеарных антител при СКВ [21 в модификации].

ФИА, ХЛИА, МИА) должны предоставить данные о такой же или более высокой чувствительности и специфичности этих техник по сравнению с НРИФ-Нер-2. Международными рекомендациями 2013 г. допускается применение новых иммунологических методов для скрининга АНА при условии обязательного проведения их повторного исследования с помощью НРИФ-Нер-2 в случае расхождении результатов измерения АНА с клиническими данными [3]. В работе X. Bossuyt и S. Fieuws [36] отмечено, что наиболее эффективной стратегией скринингового определения АНА в сыворотках больных СКВ является комбинация двух тестов: НРИФ-Нер-2 и ФИА (EliACTDScreen, ThermoFisher, Германия) (AUC – площадь под ROC-кривой - 0,957 vs 0,894 и 0,853 при использовании только НРИФ или ФИА, $p < 0,0001$).

Перспективным направлением в диагностике СКВ и других САРЗ служит МИА аутоантител [10, 14, 27, 38]. В отличие от моноплексных методов иммунодиагностики, мультиплексные технологии позволяют одновременно определять до 100 различных биомаркеров и более в небольшом объёме биологической жидкости (50 мкл), что наряду с резким увеличением производительности и экономической эффективности исследования значительно улучшает внутри- и межлабораторную сопоставимость полученных результатов (см. табл. 3). Для выявления профилей АНА в сыворотках больных разработаны коммерческие тест-системы на основе планарных и суспензионных микрочипов [10, 27, 38]. Планарные микрочипы характеризуются упорядоченным расположением ядерных аутоантигенов (захватывающих лигандов) на двухмерной твердой подложке (поверхности стекла, лунок полистироловых микроплат, нитроцеллюлозной мембраны) в виде микропятен или линейного блята и детекцией связавшихся антител методами флюоресценции, люминесценции, масс-спектрометрии, колориметрии. В клинико-диагностических лабораториях для идентификации профилей АНА чаще применяется суспензионная микрочиповая технология xMAP (Luminex, Austin, США) с использованием в качестве твёрдой фазы набора полистироловых микросфер, содержащих внутри разные сочетания красных и инфракрасных флюорофоров и покрытых снаружи различными ядерными антигенами. После захвата соответствующих антиген-специфических АНА из образцов сывороток интенсивность флюоресценции измеряют с помощью проточного цитофлюориметра (Luminex или Bio-Plex 2200): одним лазером (630 нм) идентифицируют тип микросферы с адсорбированным на её поверхности антигеном, а другим (532 нм) – количество связавшихся аутоантител, соединённых с флюоресцентными репортерами (вторичными антителами). В системе Ultraplex используются микросферы с нанобаркодами [10, 38]. Профилирование АНА посредством мультиплексных технологий обладает высокой аналитической чувствительностью и возможностью определения широкого спектра аутоантител к новым ядерным/цитоплазматическим антигенам, что создаёт предпосылки для обнаружения АНА у ранее «серонегативных» больных СКВ [10, 14, 27, 38]. Мультиплексные диагностические системы позволяют уточнить кластеры АНА, ассоциированные с клинико-лабораторными субтипами СКВ, активностью заболевания, особенностями органного поражения, эффективностью терапии, а также способствуют расширению представлений о патогенетическом и предиктивном значении АНА при СКВ [39, 40]. С помощью МИА установлено, что совокупность АНА у больных неполным волчаночным синдромом отличается от таковой при достоверной СКВ преобладанием аутоантител класса IgM [41]. В группах больных активной формой СКВ и неполным волчаночным синдромом с риском прогрессирования заболевания регистрировался высокий уровень экспрессии генов, индуцируемых интерфероном I типа (type I IFN gen signature), который коррелировал с увеличением концентрации антител

IgG к дсДНК, нуклеосомам, U1 РНП, Ro/SSA, La/SSB, Scl-70, в то время как низкий уровень экспрессии данных генов сопровождался продукцией менее патогенных АНА класса IgM [42]. Недавно были разработаны биочипы, содержащие около 200 аутоантигенов и олигонуклеотидов, предназначенные для идентификации специфического профиля антител, исключающего диагноз СКВ (чувствительность 94%, специфичность 75%, предсказательная ценность отрицательных результатов 93%) [43]. Однако в целом клиническая информативность МИА АНА в сыворотках больных СКВ менее изучена по сравнению со стандартными методами исследования данных антител.

Как известно, АНА прямо или через формирование иммунных комплексов с ядерными антигенами, образующимися в процессе некроза, апоптоза и некроза клеток, индуцируют персистирующую стимуляцию мембранных рецепторов (Toll-подобных рецепторов - TLR, FcγRIIa) плазматоцитидных дендритных клеток, моноцитов/макрофагов, нейтрофилов, T- и B-лимфоцитов, усиливают продукцию интерферона альфа, факторов активации В-клеток BAFF/BLyS и других цитокинов, активируют систему комплемента, а также механизмы комплементзависимой и антителозависимой клеточной цитотоксичности, что приводит к воспалению и деструкции тканей организма [44, 45]. Учитывая важную роль АНА в патогенезе СКВ, большинство исследователей ставят под сомнение существование серонегативной по антиядерным антителам формы данного заболевания. Отрицательные результаты определения АНА, регистрирующиеся у 5-20% больных СКВ, связывают с недостаточной чувствительностью лабораторных тестов [46]. В таких случаях рекомендуется повторное тестирование АНА с применением нескольких методов иммунного анализа (НРИФ-Нер-2, ИФА, ИБ, ФИА, ХЛИА и МИА).

Диагностическая значимость тестирования АНА входит в число наиболее обсуждаемых ревматологами и терапевтами вопросов. В настоящее время активно обсуждается необходимость исследования АНА в скрининговых и «каскадных» тестах не только с целью подтверждения диагноза СКВ («намерение лечить»), но и для выявления случаев заболевания на ранней (возможно, доклинической) стадии («намерение предотвратить» развитие патологического процесса) [19, 38]. Исследование АНА на доклинической и ранней стадии СКВ, характеризующейся нечётко выраженными клиническими признаками и «обратимыми» нарушениями аутоиммунитета, способствует предупреждению заболевания за счёт модификации факторов риска (защита от УФ-облучения, приём витамина D и др.) и позволяет своевременно начать адекватную противовоспалительную и иммуносупрессивную терапию в дебюте болезни, что увеличивает вероятность достижения ремиссии и снижает риск прогрессирующего деструктивного поражения органов и тканей.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (pp. 3–11, 13–34, 36–46 см. REFERENCES)

1. Соловьев С.К., Клюквина Н.Г. Системная красная волчанка. В кн.: Насонов Е.Л., ред. *Ревматология: Клинические рекомендации*. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 429–81.
2. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Лабораторная диагностика ревматических заболеваний. В кн.: Насонов Е.Л., ред. *Российские клинические рекомендации. Ревматология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017: 300–18.
12. Клюквина Н.Г. Клиническое значение лабораторных нарушений при системной красной волчанке. *Современная ревматология*. 2014;8(2):41–7.
35. Верижникова Ж.Г., Александрова Е.Н., Новиков А.А., Панафидина Т.А., Середавкина Н.В., Попкова Т.В., Айзина Н.Л., Насонов Е.Л.

Клиническая информативность о методах скринингового определения антинуклеарных антител с использованием не прямой реакции иммунофлюоресценции, иммуноферментного анализа и мультитехнологии ХМАР при системной красной волчанке. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(3):173-7.

REFERENCES

- Solov'ev S.K., Klyukvina N.G. Systemic lupus erythematosus. In: Nasonov E.L., ed. *Rheumatology: Clinical Guidelines [Revmatologiya: Klinicheskie Rekomendatsii]*. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 429-81. (in Russian)
- Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Nasonov E.L. Laboratory diagnosis of rheumatic diseases. In: Nasonov E.L., ed. *Russian Clinical Guidelines. Rheumatology. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii. Revmatologiya.]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2017: 300-18. (in Russian)
- Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., Herold M. et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73 (1): 17-23.
- Solomon D.H., Kavanaugh A.J., Schur P.H. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum.* 2002; 47 (4): 434-44.
- Kavanaugh A.F., Solomon D.H. American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. *Arthritis Rheum.* 2002; 47: 546-55.
- Kavanaugh A., Tomar R., Reveille J., Solomon D.H., Homburger H.A. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000; 124 (1): 71-81.
- Petri M., Orbai A.M., Alarcón G.S., Gordon C., Merrill J.T., Fortin P.R. et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (8): 2677-86.
- Tozzoli R., Bizzaro N., Tonutti E., Villalta D., Bassetti D., Manoni F. et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002; 117: 316-24.
- Meroni P.L., Biggoggero M., Pierangeli S.S., Sheldon J., Zegers I., Borghi M.O. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014; 10(1): 35-43.
- Mahler M., Meroni P.L., Bossuyt X., Fritzler M.J. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014: 315179.
- Cozzani E., Drosera M., Gasparini G., Parodi A. Serology of lupus erythematosus: correlation between immunopathological features and clinical aspects. *Autoimmune Dis.* 2014; 2014: 321359.
- Klyukvina N.G. Clinical significance of laboratory errors in patients with systemic lupus erythematosus. *Sovremennaya revmatologiya*. 2014; 8(2): 41-7. (in Russian)
- Bizzaro N., Tozzoli R., Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthr. Rheum.* 2007; 56:1736-44.
- Tozzoli R., Bonaguri C., Melegari A., Antico A., Bassetti D., Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51:129-38.
- Chan E.K., Damoiseaux J., Carballo O.G., Conrad K., de Melo Cruvinel W., Francescantonio P.L. et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol.* 2015; 6: 412.
- Willitzki A., Hiemann R., Peters V., Sack U., Schierack P., Rödiger S. et al. New platform technology for comprehensive serological diagnostics of autoimmune diseases. *Clin. Dev. Immunol.* 2012; 2012: 284740.
- Abeles A.M., Abeles M. The clinical utility of a positive antinuclear antibody test result. *Am. J. Med.* 2013; 126(4): 342-8.
- Fitch-Rogalsky C., Steber W., Mahler M., Lupton T., Martin L., Barr S.G. et al. Clinical and serological features of patients referred through a rheumatology triage system because of positive antinuclear antibodies. *PLoS One.* 2014; 9(4): e93812.
- Fritzler M.J. Choosing wisely: Review and commentary on anti-nuclear antibody (ANA) testing. *Autoimmun. Rev.* 2016; 15 (3): 272-80.
- Mahler M., Fritzler M.J. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Clin. Dev. Immunol.* 2012; 2012: 494356.
- Conrad K., Röber N., Andrade L.E., Mahler M. The clinical relevance of anti-DFS70 autoantibodies. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2017; 52(2): 202-16.
- Ochs R.L., Mahler M., Basu A., Rios-Colon L., Sanchez T.W., Andrade L.E. et al. The significance of autoantibodies to DFS70/LEDGFp75 in health and disease: integrating basic science with clinical understanding. *Clin. Exp. Med.* 2016; 16(3): 273-93.
- Malyavantham K., Suresh L. Analysis of DFS70 pattern and impact on ANA screening using a novel HEp-2 ELITE/DFS70 knockout substrate. *Auto Immun. Highlights.* 2017 Dec; 8(1):3.
- Mariz H.A., Sato E.I., Barbosa S.H., Rodrigues S.H., Dellavance A., Andrade L.E. et al. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2011; 63(1):191-200.
- van Vollenhoven R.F., Petri M.A., Cervera R., Roth D.A., Ji B.N., Kleoudis C.S. et al. Belimumab in the treatment of systemic lupus erythematosus: high disease activity predictors of response. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71:1343-9.
- Tonutti E., Bizzaro N., Morozzi G., Radice A., Cinquanta L., Villalta D. et al. Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine. The ANA-reflex test as a model for improving clinical appropriateness in autoimmune diagnostics. *Auto Immun. Highlights.* 2016 D; 7(1): 9.
- Satoh M., Tanaka S., Chan E.K.L. The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmune rheumatic diseases. *Front. Immunol.* 2015; 6:181.
- Shovman O., Gilburd B., Zandman-Goddard G., Yehiely A., Langevitz P., Shoenfeld Y. Multiplexed AtENA multi-lyte immunoassay for ANA screening in autoimmune diseases. *Autoimmunity.* 2005; 38 (1): 105-9.
- Moder K.G., Wener M.H., Weisman M.H., Ishimori M.L., Wallace D.J., Buckeridge D.L. et al. Measurement of antinuclear antibodies by multiplex immunoassay: a prospective, multicenter clinical evaluation. *J. Rheumatol.* 2007; 34 (5): 978-86.
- Hanly J.G., Thompson K., McCurdy G., Fougere L., Theriault C., Wilton K. Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol. Methods.* 2010; 352 (1-2): 147-52.
- Bonilla E., Francis L., Allam F., Ogrinc M., Neupane H., Phillips P.E. et al. Immunofluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients. *Clin. Immunol.* 2007; 124 (1): 18-21.
- Op De Beeck K., Vermeersch P., Verschuerec P., Westhoven R., Marien G., Blockmans D. et al. Antinuclear antibody detection by automated multiplex immunoassay in untreated patients at the time of diagnosis. *Autoimmun. Rev.* 2012; 12 (2): 137-43.
- Bruner B.F., Guthridge J.M., Lu R., Vidal G., Kelly J.A., Robertson J.M. et al. Comparison of autoantibody specificities between traditional and bead-based assays in a large, diverse collection of patients with systemic lupus erythematosus and family members. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (11): 3677-86.
- Scholz J., Grossmann K., Knütter I., Hiemann R., Sowa M., Röber N. et al. Second generation analysis of antinuclear antibody (ANA) by combination of screening and confirmatory testing. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53 (12): 1991-2002.
- Verizhnikova Zh.G., Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Panafidina T.A., Seredavkina N.V., Popkova T.V. et al. Comparison of indirect immunofluorescence on HEp-2 cells, enzyme-linked immunosorbent assay and multiplex bead-based immunoassay for detection of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62(3):173-7. (in Russian)
- Bossuyt X., Fieus S. detection of antinuclear antibodies: added value of solid phase assay? *Ann. Rheum. Dis.* 2013; 73: e10.
- Bentow C., Lakos G., Rosenblum R., Bryant C., Seaman A., Mahler M. Clinical performance evaluation of a novel, automated chemiluminescent immunoassay, QUANTA Flash CTD Screen Plus. *Immunol. Res.* 2015; 61(1-2):110-6.
- Olsen N.J., Choi M.Y., Fritzler M.J. Emerging technologies in autoantibody testing for rheumatic diseases. *Arthritis Res. Ther.* 2017; 19(1):172.
- Zhu H., Luo H., Yan M., Zuo X., Li Q.Z. Autoantigen microarray for high-throughput autoantibody profiling in Systemic Lupus Erythematosus. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2015; 13(4):210-8.
- Wang L., Mohan C., Li Q.Z. Arraying autoantibodies in SLE - Lessons Learned. *Curr. Mol. Med.* 2015; 15(5):456-61.
- Li Q.Z., Zhou J., Wandstrat A.E., Carr-Johnson F., Branch V., Karp D.R. et al. Protein array autoantibody profiles for insights into systemic lupus erythematosus and incomplete lupus syndromes. *Clin. Exp. Immunol.* 2007; 147(1): 60-70.
- Li Q.Z., Zhou J., Lian Y., Zhang B., Branch V.K., Carr-Johnson F. et al. Interferon signature gene expression is correlated with autoantibody profiles in patients with incomplete lupus syndromes. *Clin. Exp. Immunol.* 2010; 159(3): 281-91.
- Putterman C., Wu A., Reiner-Benaim A., Batty D.S. Jr., Sanz I., Oates J. et al. SLE-key[®] rule-out serologic test for excluding the diagnosis of systemic lupus erythematosus: Developing the ImmunArray[®]CHIP[®]. *J. Immunol. Methods.* 2016; 429:1-6.
- Derner T. Deciphering the role of NETs and networks in SLE. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2012; 8: 68-70.
- Liu C.C., Kao A.H., Manzi S., Ahearn J.M. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future. *Ther. Adv. Musculoskeletal Dis.* 2013; 5: 210-33.
- Pisetsky D.S. Antinuclear antibody testing - misunderstood or misbegotten? *Nat. Rev. Rheumatol.* 2017; 13(8): 495-502.

Поступила 05.02.18

Принята к печати 13.02.18