

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616-002.77-074

Прокаева П.А., Токарева Е.В., Коньшина М.Н., Фурман О.Л., Фролова И.В.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СТАНДАРТОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко», 440026, г. Пенза, Российская Федерация

Проведен двухгодичный анализ опыта применения стандартов лабораторной диагностики ревматических заболеваний по данным клинико-диагностической лаборатории и ревматологического отделения Пензенской областной клинической больницы им. Н.Н.Бурденко. Обследовано 2363 больных. Выполнено 18 737 исследований, в среднем — 7,9 анализа на одного пациента. Из них тестов на определение аутоантител — 42% (7871), белков острой фазы — 13,2% (2480), интоксикационного синдрома — 11,2% (2098), других видов иммунодиагностики — 33,6% (6288). Выделены информативные маркеры диагностики, активности процесса, тяжести течения, прогноза и эффективности проводимой терапии. Сделаны выводы о назначении и оценке результатов лабораторных исследований.

Ключевые слова: ревматические заболевания; стандарты лабораторной диагностики; биомаркеры; применение в клинической практике.

Для цитирования: Прокаева П.А., Токарева Е.В., Коньшина М.Н., Фурман О.Л., Фролова И.В. Опыт применения стандартов лабораторной диагностики ревматических заболеваний в клинической практике. Клиническая лабораторная диагностика, 2016; 61 (11): 787-789

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-11-787-789

Prokaeva P.A., Tokareva E.V., Konshina M.N., Furman O.L., Frolova I.V.

THE EXPERIENCE OF APPLICATION OF STANDARDS OF LABORATORY DIAGNOSTIC OF RHEUMATIC DISEASES IN CLINICAL PRACTICE

The N.N. Burdenko Penzenskaia oblast clinical hospital, 440026 Penza, Russia

The article presents the results of two-year analysis of experience of application of standards of laboratory diagnostic of rheumatic diseases according data of clinical diagnostic laboratory and rheumatic department of the N.N. Burdenko Penzenskaia oblast clinical hospital. The sampling included 2363 examined patients. It was implemented 18 737 analyses i.e. in average 7.9 analyses per one patient. Out of them, tests of detection of auto antibodies consisted 42% (7871), proteins of acute phase - 13.2% (2480), intoxication syndrome - 11.2% (2098). other types of immune diagnostic - 33.6% (6288). The information markers of diagnostic, process activity, severity of course, prognosis and effectiveness of applied therapy are singled out. The conclusions about purpose and evaluation of results of laboratory studies are made.

Key words: rheumatic diseases; standards; laboratory diagnostic; bio-marker; application in clinical practice.

For citation: Prokaeva P.A., Tokareva E.V., Konshina M.N., Furman O.L., Frolova I.V. The experience of application of standards of laboratory diagnostic of rheumatic diseases in clinical practice. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (11): 787-789. (in Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-11-787-789

For correspondence: Tokareva E.V., head of clinical diagnostic department. e-mail: tokareva.elena@mail.ru

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

Financing. The study had no sponsor support.

Received 04.05.2016
Accepted 15.05.2016

Ревматические заболевания (РЗ) — это системные аутоиммунные болезни, в патогенезе которых ключевую роль играют нарушения клеточных и гуморальных иммунных реакций, направленных против собственных клеток и тканей организма [1—7]. РЗ включают системную красную волчанку (СКВ), системную склеродермию (ССД), ревматоидный артрит (РА), дермато/полимиозиты (ДМ/ПМ), синдром Шегрена (СП), системные васкулиты (СВ), антифосфолипидный синдром (АФС) и ряд других патологий. Дифференциальная диагностика РЗ довольно затруднительна из-за схожести клинических проявлений и иммуновоспалительного ответа организма, поэтому используемые лабораторные тесты однозначно должны давать объективную информацию

о характере иммунопатологических изменений, активности процесса, тяжести течения, прогноза болезни и об эффективности лечебных мероприятий [1—7].

В лабораторной диагностике РЗ центральное место занимают серологические тесты, связанные с обнаружением циркулирующих аутоантител (аутоАТ), определение которых особенно важно для ранней диагностики и характеристики вариантов течения заболевания [1—7]. Их появление — нормальный биологический феномен, поэтому они могут присутствовать как у здоровых людей, так и при ряде патологических состояний, но в низких титрах. Диагностические титры более высокие и составляют примерно 60—70% от нормальных величин. РЗ характеризуются одномоментным присутствием нескольких типов аутоАТ в одной сыворотке, так называемым профилем аутоАТ, оценка которого существенно увеличивает диагностическую ценность определения данных биомаркеров [1—7]. Важными маркерами РЗ являются острофазовые показатели — концентрация С-реактивного белка (СРБ) и СОЭ [1—7], а также интоксикационного син-

Для корреспонденции: Токарева Елена Владимировна, зав. КДЛ ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н.Н. Бурденко», глав.внештатный специалист по клинической лабораторной диагностике Минздрава Пензенской области, 440026, г. Пенза, e-mail: tokareva.elena@mail.ru

дрома — уровень среднемoleкулярных пептидов (СМП), позволяющие оценить воспалительную активность заболевания, характер его прогрессирования и эффективность применяемой терапии. Другие лабораторные исследования имеют меньшее клиническое значение для дифференциальной диагностики РЗ, но могут использоваться в качестве дополнительных тестов при мониторинге активности болезни и эффективности лечебных мероприятий [1—7].

Цель нашего исследования — изучить собственный опыт применения современных стандартов лабораторной диагностики РЗ за 2013—2014 гг. в условиях ревматологического отделения больницы и оценить их диагностическую и прогностическую значимость.

Материал и методы. Материалом для исследования служили сыворотка и плазма крови. Обследовано 2363 больных, находящихся на стационарном лечении. Больше всего было пациентов с РА — 854 (36,1%), остеоартрозом (ОА) — 470 (19,9%), анкилозирующим спондилитом (АС) — 253 (10,7%), артропатиями разного генеза — 146 (6,2%), СКВ — 91 (3,9%), подагра — 148 (6,3%), доля других нозологических форм РЗ колебалась в пределах 0,23—3,5%. Диапазон иммунологических видов исследования, используемых в нашей практике для лабораторной диагностики РЗ, включает выявление аутоАТ, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG), компонентов системы комплемента (С3, С4), криоглобулинов (КГ), маркеров активации клеточного иммунитета, СРБ, СМП и ряда других биомаркеров.

Результаты. Выполнено 18 737 исследований, в среднем — по 7,9 анализа на одного больного. Из них 42% (7871) — серологические тесты, связанные с выявлением аутоАТ. Для выявления интоксикационного синдрома проведено 2098 (11,2%) анализов, 2480 (13,2%) БОФ, другие виды биомаркеров — ЦИК, IgG, IgA, IgM; С3, С4, субпопуляции лимфоцитов, АСЛ-О — составили 33,6% (6288). Исследование профиля аутоАТ включало определение антинуклеарных антител (АНА), ревматоидного фактора (РФ), антифосфолипидных антител (АФЛ), антикардиолипидных антител (АКЛ), антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), антинейтрофильных цитоплазматических антител (АНЦА), антител к центромеру В (АЦВ), антитела к дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК), волчаночного антикоагулянта (ВА).

Анализ перечня и количества исследований аутоАТ за 2 года выявил преобладание РФ — 27,4% (2156) и КГ — 22,1% (1736); по-видимому, это произошло из-за преобладания в отделении пациентов с РА. Количество тестов на АНА составило 15,1% (1187), на АЦЦП — 12,4% (976), на ДНК — 10,2% (803), АНЦА — 2,4% (189), АЦВ — 2,2% (173), АКЛ — 5,3% (417), АФЛ — 1,9% (150), ВА — 1,1% (84). Для определения АНА мы использовали метод непрямой иммунофлюоресценции (НИФ), в качестве субстрата служили клетки линии HEp-2 (наборы фирмы IMMCO DIAGNOSTICS), ответ выдавали по типу свечения, традиционно обозначая его как антинуклеарный фактор (АНФ) [1—7]. Мы выделяем следующие типы свечения: гомогенный, периферический (краевой), крапчатый, нуклеолярный (ядрышковый) и цитоплазматический. Положительный результат отмечен у 447 человек (37,65%). У 16,7% больных выявлен гомогенный тип свечения, у 15% — крапчатый, у 2,4% — нуклеолярный, периферический тип свечения отмечен у 2,6% пациентов и цитоплазматический — у 0,95%. Характер свечения отражает присутствие различных видов АНА, специфических для РЗ. Гомогенный тип свечения наблюдается в основном при СКВ, но мы в своей практике отмечали его и при других аутоиммунных РЗ. Крапчатый тип выявлен при многих РЗ, он менее специфичен, чем другие типы свечения. Периферический тип свечения нами отмечен

только у больных с СКВ. Нуклеолярный тип свечения характерен для склеродермии и ее разновидностей. Реже всего в нашей практике встречался цитоплазматический тип свечения: у 3 больных полимиозитом и у одного пациента с РЗ, осложненным аутоиммунным гепатитом. В своей практике мы проводим лишь определение dsДНКIgG в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе STAT FAX-3200 наборами фирмы «ВЕКТОР БЕСТ», поскольку он является более специфическим тестом, чем ssДНК, которые не имеют существенного диагностического значения [1—7]. За 2 года выполнено 803 исследования, у 217 (27%) лиц обнаружены антитела к dsДНК. Положительные результаты чаще всего сопутствовали гомогенному типу свечения АНФ. Наличие антител к dsДНК является серологическим маркером СКВ, они выявлялись уже на ранних стадиях заболевания, до проявления развернутой картины. Мониторинг динамики концентрации этих антител важен для профилактики обострений и осложнений со стороны других органов. Уровень dsДНК тесно коррелирует с концентрацией ЦИК [2]. Выявление РФ является основным методом диагностики РА. Обычно они представляют собой IgM, но могут быть также IgG, IgA, IgE (1—7). Мы проводим определение Ig классов M, A, G РФ методом иммунотурбидиметрии в сыворотке крови на анализаторе Olympus AU-400 (Япония) с реагентами фирмы Beckman Coulter. Выполнено 2156 анализов, из них 712 (33%) положительных. Хотя РФ и служит диагностическим критерием РА, он является недостаточно специфическим маркером [1—7]. Более информативным серологическим биомаркером РА признаны АЦЦП, распознающие антигенные детерминанты белков, содержащих атипичную аминокислоту — цитруллин. Определение АЦЦП мы осуществляем хемилуминесцентным методом на анализаторе Atchitect j 2000sg с реагентами этой же фирмы. Они были выявлены у 525 человек (61,5%), в том числе у 106 больных с серонегативной формой РА по РФ и 419 пациентов с серопозитивной формой. Мы не заметили разницы во встречаемости АЦЦП у больных с ранним (давность заболевания — менее года) и длительно текущим РА, они определялись на разных стадиях заболевания, причем у многих пациентов — еще до начала клинических проявлений, и служат специфическим маркером диагностики раннего РА, что имеет решающее значение для исхода заболевания [1—7]. Прогностическая ценность метода возрастает, если его использовать в комбинации с РФ. Обнаружение аутоАТ класса IgG к АЦВ мы проводим методом непрямого твердофазного ИФА в сыворотке крови на анализаторе STAT FAX-3200 реагентами фирмы ORGENTEC (Германия). Выявлено 7 (12,1%) положительных результатов из 173 исследований. Уровень антител к АЦВ не отражал активности процесса и отмечен в основном у пациентов с синдромом Рейно. АНЦА представляют собой гетерогенную популяцию аутоАТ, реагирующих с ферментами цитоплазмы нейтрофилов [1—7]. Для тестирования антител к АНЦА мы применяем также метод ИФА, анализатор STAT FAX-3200 и наборы фирмы DRG (Германия), позволяющие выявить аутоантитела, направленных против протеиназы-3 (PR3), миелопероксидазы (МПО), бактерицидного протеина (BPI), эластазы (Эл), катепсина G (KG), лизоцима (LZ) и лактоферрина (LF). Роль данных аутоАТ при РЗ неоднозначна, в основном они ассоциируются с системными васкулитами. Положительный результат отмечен у 8 (4,2%) пациентов, у 6 из них выявлена протеаза-3, у 2 — лактоферрин. В нашем случае аутоАТ к PR3 обнаружены преимущественно у больных с гранулематозом Вегенера (у 4 из 6). Критериями диагностики АФС являются наличие АКЛ, АФЛ и ВА (1—7). В нашей практике более востребованы исследования АКЛ, чем другие маркеры АФС. АКЛ обнаружены у 26,6% больных, АФЛ — у 9,1%, ВА — у 4,7%. Определение АКЛ и АФЛ мы проводим методом ИФА реагентами фирмы Orgentec (Германия), ВА — с

помощью лопус-теста (Технология Стандарт).

Была обнаружена связь между уровнем АКЛ и наличием ВА. Мы считаем, что эти два теста являются основными серологическими маркерами АФС и могут относиться к лабораторным критериям данного заболевания. Исследований других биомаркеров РЗ выполнено: ЦИК — 2363 (12,6%), Ig A, M, G — 2943 (15,7%), С3-306 (1,6%), С4-306 (1,6%), АСЛ-О-213 (1,14%), субпопуляций лимфоцитов — 157 (0,84%). Они используются для оценки клинической активности РЗ и эффективности применяемой терапии. При РЗ, особенно СКВ и РА, дисиммуноглобулинемия, динамика содержания ЦИК, С3, С4 всегда коррелирует с активностью процесса, поэтому они могут применяться для мониторинга состояния пациента. СРБ рассматривается как наиболее чувствительный лабораторный маркер инфекции, воспаления и тканевого повреждения [1—7]. Его колебания позволяют оценить остроту и тяжесть воспалительного процесса. Определение СРБ мы проводим иммунотурбидиметрическим методом на анализаторе Olympus AU-400 реагентами фирмы Beckman Coulter. Повышенный уровень СРБ выявлен у 31,7% больных с РЗ, увеличение СОЭ — у 40,3%. Диагностическая значимость определения СОЭ очень мала, но оно может быть использовано для подтверждения клинически обоснованного диагноза и мониторинга эффективности терапии. По сравнению с СОЭ повышение уровня СРБ чаще всего свидетельствует об органической природе заболевания, поэтому данные исследований СОЭ и СРБ должны рассматриваться одновременно [1—7]. Фактически все нозологические формы РЗ сопровождалась увеличением уровня СМП в среднем от 0,335 до 0,695 усл.ед. при норме $0,24 \pm 0,02$ усл. ед. и их содержание достоверно свидетельствовало о наличии активности воспалительного процесса и эндотоксикоза. СМП выявляли методом спектрофотометрии по Н.И. Габриэлян и соавт. Исследование субпопуляций лимфоцитов (СД3, СД4, СД8, СД20) проводили иммунофлуоресцентным методом, в результате чего была выявлена активация Т-клеточного иммунитета на фоне выраженного гуморального ответа.

Выводы. Стандарты лабораторной диагностики РЗ, применяемые в нашей клинической практике, обеспечивают оптимальное использование лабораторных тестов для ранней диагностики, оценки активности, тяжести течения, прогноза болезни и эффективности проводимой терапии. Наибольшее клиническое значение среди биомаркеров РЗ имеют аутоантитела (АНА, РФ, АЦЦП, АНЦА, АЦВ и АКЛ), СРБ и СМП. Из-за недостаточной специфичности серологических тестов, используемых для диагностики РЗ, назначение и оценка результатов лабораторных исследований должны проводиться в строгом соответствии с предполагаемым диагнозом и данными клинического обследования больных.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Е.Н., Новиков А.А. Лабораторная диагностика ревматических заболеваний. В кн.: Насонов Е.Л., ред. Ревматология: Клинические рекомендации. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 19—76.
2. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика ревматических заболеваний. Пособие для врачей. СПб.: Издательство «Человек»; 2006.
3. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний. *Клинические рекомендации*. М.: 2006.
4. Александрова Е.Н., Вержникова Ж.Г., Новиков А.А. Новые подходы к определению антинуклеарных антител при системных аутоиммунных ревматических заболеваниях. *Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией*. 2014; (1): 44—52.
5. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Современные стандарты лабораторной диагностики ревматических заболеваний и их применение в реальной клинической практике. *Научно-практическая ревматология*. 2013; 51(4): 368—76.
6. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н. Современные технологии и перспективы лабораторной диагностики ревматических заболеваний. *Терапевтический архив*. 2010; 82(5): 5—9.
7. Насонов Е.Л., ред. Ревматология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.

REFERENCES

1. Aleksandrova E.N., Novikov A.A. Laboratory diagnosis of rheumatic diseases. In: Nasonov E.L., ed. Rheumatology: Clinical Guidelines [Revmatologiya: Klinicheskie rekomendatsii]. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 19—76. (in Russian)
2. Lapin S.V., Totolyan A.A. Immunological Laboratory Diagnosis of Rheumatic diseases. Manual for physicians [Immunologicheskaya laboratornaya diagnostika revmaticeskikh zabolevaniy. Posobie dlya vrachey]. St.Petersburg: Izdatel'stvo «Chelovek»; 2006. (in Russian)
3. Nasonov E.L., Aleksandrova E.N. Modern Standards of Laboratory Diagnosis of Rheumatic Diseases. Clinical Guidelines [Sovremennye standarty laboratornoy diagnostiki revmaticeskikh zabolevaniy. Klinicheskie rekomendatsii]. Moscow: 2006. (in Russian)
4. Aleksandrova E.N., Verzhnikova Zh.G., Novikov A.A. New approaches to the determination of antinuclear antibodies in systemic autoimmune rheumatic diseases. *Spravochnik zaveduyushchego kliniko-diagnosticheskoy laboratoriyey*. 2014; (1): 44—52. (in Russian)
5. Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Nasonov E.L. Modern standards of laboratory diagnosis of rheumatic diseases and their application in clinical practice. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2013; 51(4): 368—76. (in Russian)
6. Nasonov E.L., Aleksandrova E.N. Modern technologies and perspectives of the laboratory diagnosis of rheumatic diseases. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2010; 82(5): 5—9. (in Russian)
7. Nasonov E.L., ed. Rheumatology. National Leadership [Revmatologiya. Natsional'noe rukovodstvo]. Moscow: GEOTAR-Media; 2012. (in Russian)

Поступила 04.05.16

Принята к печати 15.05.16