

## ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Александрова Е.Н., Дорофеев А.С., Новиков А.А., Сандлер Ю.Г.

### АУТОАНТИТЕЛА ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ГБУЗ "Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы", 111123, Москва, Россия

*В обзоре рассматриваются актуальные аспекты исследования аутоантител при аутоиммунных заболеваниях печени (АИЗП). Аутоиммунный гепатит (АИГ) характеризуется обнаружением в сыворотках пациентов антинуклеарных антител (ANA), антител к гладкой мускулатуре (ASMA), микросомам печени и почек (LKM-1), цитоплазматическому антигену печени (LC-1), растворимому антигену печени/печеночно-панкреатическому антигену (SLA/LP), атипичных перинуклеарных антинейтрофильных цитоплазматических антител (pANCA), антител к асиалогликопротеиновому рецептору (ASGPR). Маркерами первичного билиарного холангита (ПБХ) являются антимитохондриальные антитела (AMA-M2), антиген-специфические ANA к sp100, gp210 и центромерам, антитела к антигенам Kelh-like 12 и Hexokinase-1. При первичном склерозирующем холангите (ПСХ) среди множества циркулирующих аутоантител наиболее часто идентифицируют атипичные pANCA. Представлен современный алгоритм исследования аутоантител при АИЗП. Стандартными диагностическими маркерами АИЗП служат ANA, ASMA, антитела к LKM-1 и AMA-M2. Комплексный анализ профилей стандартных и дополнительных субтипов аутоантител позволяет повысить чувствительность диагностики АИЗП и уменьшить количество «серонегативных» вариантов данных патологических состояний. Наибольшее прогностическое значение при АИГ и ПБХ имеют антитела к F-актину, LC-1, SLA/LP, ASGPR, sp100, gp210, центромерам, Kelh-like 12 и Hexokinase-1, обнаружение которых ассоциируется с высокой воспалительной активностью, тяжелым рецидивирующим течением заболевания, прогрессированием гистологического повреждения печени, циррозом, печеночной недостаточностью и необходимостью трансплантации печени. У больных ПСХ наличие атипичных pANCA и IgA-антител к GP2 в сыворотке крови является фактором риска обширного поражения желчевыводящих путей и развития холангиокарциномы. Перспективы иммунодиагностики АИЗП связаны с необходимостью стандартизации методов исследования аутоантител, поиском и клинической валидацией новых разновидностей данных биомаркеров на основе современных лабораторных технологий.*

**Ключевые слова:** обзор; аутоиммунные заболевания печени; аутоиммунный гепатит; первичный билиарный холангит; первичный склерозирующий холангит; аутоантитела; методы иммунного анализа; клиническое значение.

**Для цитирования:** Александрова Е.Н., Дорофеев А.С., Новиков А.А., Сандлер Ю.Г. Аутоантитела при аутоиммунных заболеваниях печени (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (8): 464-474.  
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-8-464-474>.

**Для корреспонденции:** Александрова Елена Николаевна, д-р мед. наук, зав. лаб. клинической иммунологии; e-mail: [aleksandrovaen2015@yandex.ru](mailto:aleksandrovaen2015@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 10.05.2023

Принята к печати 15.05.2023

Опубликовано 01.08.2023

*Aleksandrova E.N., Dorofeev A.S., Novikov A.A., Sandler Yu.G.*

AUTOANTIBODIES IN AUTOIMMUNE LIVER DISEASES (REVIEW OF LITERATURE)

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

*The review discusses topical aspects of the study of autoantibodies in autoimmune liver diseases (AILD). Autoimmune hepatitis (AIH) is characterized by the detection in patient sera of antinuclear antibodies (ANA), antibodies to smooth muscle (ASMA), liver and kidney microsomes (LKM-1), liver cytoplasmic antigen (LC-1), soluble liver antigen/hepatopancreatic antigen (SLA/LP), atypical perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA), antibodies to asialoglycoprotein receptor (ASGPR). Primary biliary cholangitis (PBC) markers are antimitochondrial antibodies (AMA-M2), antigen-specific ANA to sp100, gp210 and centromeres, antibodies to Kelh-like 12 and Hexokinase-1 antigens. In primary sclerosing cholangitis (PSC), among the many circulating autoantibodies, atypical pANCA are most frequently identified. A modern algorithm for the study of antibodies in AILD is presented. The standard diagnostic markers of AILD are ANA, ASMA, antibodies to LKM-1 and AMA-M2. Complex analysis of the profiles of standard and additional subtypes of autoantibodies makes it possible to increase the sensitivity of the diagnosis of AILD and reduce the number of "seronegative" variants of these pathological conditions. Antibodies to F-actin, LC-1, SLA/LP, ASGPR, sp100, gp210, centromeres, Kelh-like 12 and Hexokinase-1 have the greatest prognostic value in AIH and PBC, the detection of which is associated with high inflammatory activity, severe relapsing course diseases, progression of*

*histological liver damage, cirrhosis, liver failure, the need for liver transplantation. In PSC patients, the presence of atypical pANCA and IgA antibodies to GP2 in the serum is a risk factor for extensive damage to the biliary tract and the development of cholangiocarcinoma. Prospects for the immunodiagnosis of ALLD are associated with the need to standardize the methods for studying autoantibodies, the search and clinical validation of new varieties of these biomarkers based on modern laboratory technologies.*

*Key words: review; autoimmune hepatitis; primary biliary cholangitis; primary sclerosing cholangitis; autoantibodies; immunoassays; clinical significance.*

**For citation:** Aleksandrova E.N., Dorofeev A.S., Novikov A.A., Sandler Yu.G. Autoantibodies in autoimmune liver diseases (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (8): 464-474 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-8-464-474>.

**For correspondence:** Aleksandrova Elena Nikolaevna; Dr. Sci. Med., head of the laboratory of clinical immunology; e-mail: [aleksandrovaen2015@yandex.ru](mailto:aleksandrovaen2015@yandex.ru)

#### Information about authors:

Aleksandrova E.N., <https://orcid.org/0000-0003-4074-5907>;

Dorofeev A.S., <https://orcid.org/0000-0002-8515-6658>;

Novikov A.A., <https://orcid.org/0000-0002-2738-2956>;

Sandler Yu.G., <https://orcid.org/0000-0003-4291-812X>.

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

**Financing.** *The study had no sponsor support.*

Received 10.05.2023

Accepted 15.05.2023

Published 01.08.2023

Аутоантитела, направленные против собственных неизменных антигенов гепатоцитов, холангиоцитов и нейтрофилов, являются основными иммунологическими маркерами аутоиммунных заболеваний печени (АИЗП), включая аутоиммунный гепатит (АИГ), первичный билиарный холангит (ПБХ), первичный склерозирующий холангит (ПСХ) и перекрестные синдромы [1-6]. Положительные результаты определения аутоантител в сыворотке крови входят в число диагностических критериев АИЗП [7-14]; применяются для оценки активности, тяжести течения и эффективности терапии данной группы заболеваний [2, 4, 5, 15, 16]; служат предикторами развития АИЗП на доклинической стадии [12, 17]. Спектр, антигенная специфичность и методы исследования аутоантител, ассоциированных с АИЗП, представлены в табл. 1 [1-6, 18-28].

Для АИГ характерно обнаружение в сыворотках пациентов антиядерных антител (ANA), антител к гладкой мускулатуре (ASMA), микросомам печени и почек (ЛКМ-1), цитоплазматическому антигену печени (LC-1), растворимому антигену печени/печечно-панкреатическому антигену (SLA/LP), атипичных перинуклеарных антинейтрофильных цитоплазматических антител (pANCA), антител к асиалогликопротеиновому рецептору (ASGPR) [2, 4, 5, 15, 16, 18, 21, 22]. Серологическими маркерами ПБХ являются антимитохондриальные антитела (AMA-M2), антиген-специфические ANA к sp100, gp210 и центромерам, антитела к антигенам Kelh-like 12 и Hexokinase-1 [2, 15, 23-26]. При ПСХ среди множества циркулирующих аутоантител наиболее часто идентифицируют атипичные pANCA [2, 13, 15, 27, 28].

Методы выявления аутоантител в сыворотках пациентов с АИЗП основаны на использовании непрямой реакции иммунофлюоресценции (НРИФ), иммуноферментного анализа (ИФА), иммуноблота (ИБ),

хемилюминесцентного и мультиплексного иммунного анализа (ХЛИА и МИА). Современный алгоритм исследования аутоантител при АИЗП состоит из двух этапов [1, 3, 4, 8-11, 20]. На первом этапе выполняются скрининговые иммунодиагностические тесты первой линии, включающие определение в сыворотке крови: 1) ANA, ASMA, AMA-M2, антител к ЛКМ-1 и LC-1 методом НРИФ с использованием «тройного субстрата» (тканевого комплекса криосрезов печени/почки/желудка крысы или мыши) (диагностические титры  $\geq 1:40$  у взрослых,  $\geq 1:20$  у детей); 2) ANA методом НРИФ с использованием в качестве субстрата HEp-2 клеток (эпителиальных клеток рака гортани человека) (диагностические титры  $\geq 1:160$ ); 3) антител к SLA/LP методами ИФА или ИБ. НРИФ на HEp-2 клетках считается эталонным скрининговым методом исследования ANA, который по сравнению с НРИФ на тканевых срезах, позволяет не только существенно повысить чувствительность метода, но и дифференцировать различные типы ядерного и цитоплазматического свечения (в том числе паттерны, характерные для антител к sp100, gp210, центромерам и AMA-M2). Скрининговое определение ANA с помощью твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, ИБ) не рекомендуется, так как данные технологии выявляют антитела к ограниченному количеству (8-10) очищенных/рекомбинантных антигенов или смеси антигенов (ядерному гомогенату) с измененными, либо утраченными эпитопами, что приводит к снижению диагностической чувствительности и увеличению числа ложноотрицательных результатов [19-21]. На втором этапе осуществляются подтверждающие и дополнительные иммунодиагностические тесты второй линии для выявления специфических печеночных аутоантител в сыворотке крови: 1) AMA-M2, антител к F-актину, ЛКМ-1, ЛКМ-3, LC-1, sp100, gp210, центромерам подтверждающими методами ИФА, ИБ,

Общая характеристика аутоантител при АИЗП [1-6,18-28]

Аутоантитела	Таргетные антигены	Методы определения		Заболевания
		Скрининговые	Подтверждающие	
Антинуклеарные антитела (ANA)	Хроматин, ДНК, гистоны, рибонуклеопротеиды, циклин А и другие компоненты ядра При АИГ специфический ядерный антиген отсутствует При ПБХ: центромеры, sp100, gp210, ламинин-В-рецептор	НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей) НРИФ на HEp-2 клетках	ИФА, ИБ для определения антител к sp100, gp210, центромерам	АИГ-1, ПБХ, ПСХ, перекрестные синдромы, лекарственный гепатит, вирусный гепатит В, вирусный гепатит С, болезнь Вильсона, НАЖБП
Антитела к гладкой мускулатуре (ASMA) Антитела к F-актину, альфа-актину, тропониону, тропомиозину	Микрофиламенты (F-актин), средние филаменты (виментин, десмин)	НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей)	ИБ, ИФА	АИГ-1, ПБХ, ПСХ, перекрестные синдромы, лекарственный гепатит, вирусный гепатит В, вирусный гепатит С, болезнь Вильсона, НАЖБП
Антитела к микросомам печени и почек (LKM1)	CYP 2D6	НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей)	ИФА, ИБ	АИГ-2, вирусный гепатит С
Антитела к цитоплазматическому антигену печени (LC1)	FTCD	НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей)	ИБ	АИГ-2, вирусный гепатит С
Антитела к растворимому антигену печени/поджелудочной железы (SLA/LP)	Синтаза (S), конвертирующая О-фосфосерил-тРНК (Sep) в селеноцистеин-тРНК (Sec) (SepSecS)	ИФА, ИБ	-	АИГ-1
Атипичные перинуклеарные антинейтрофильные антитела (pANCA)/перинуклеарные антинейтрофильные антитела (pANNA)	Неизвестный антиген (тубулин бета?), локализованный в ядерной мембране нейтрофилов Белки с локализацией в ядре (гистоновый белок H1, негистоновые белки хроматина HMG-1 и HMG-2), гранулах (катепсин G, эластаза, лизоцим, β-глюкуронидаза, лактоферрин, ВР1) и цитоплазме (α-энолаза, каталаза) нейтрофилов	НРИФ на нейтрофилах с фиксацией формалином	ИФА, ИБ	АИГ-1, ПСХ, ВЗК
Антитела к ASGPR	ASGPR	ИФА	-	АИГ-1, АИГ-2, ПБХ, вирусный гепатит В, вирусный гепатит С
Антитела к митохондриям (AMA-M2)	E2-ПДГ	НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей) НРИФ на HEp-2 клетках	ИФА, ИБ, ХЛИА, МИА	ПБХ, перекрестный синдром ПБХ/АИГ
Антитела к sp100	Ядерный белок sp100 (компонент ядрышек)	НРИФ на HEp-2 клетках	ИБ, ИФА	ПБХ
Антитела к gp210	Белок ядерных пор gp210	НРИФ на HEp-2 клетках	ИБ, ИФА	ПБХ
Антицентромерные антитела	Центромерные нуклеопротеины (CENP A, B, C)	НРИФ на HEp-2 клетках	ИФА, ИБ, ХЛИА, МИА для определения антител к CENP-B	ПБХ, синдром Шегрена, системная склеродермия
Антитела к Kelh-like 12	Нуклеопротеин Kelh-like 12	ИФА, ИБ, МИА	-	ПБХ
Антитела к Hexokinase-1	Митохондриальный фермент Hexokinase-1	ИФА, ИБ, МИА	-	ПБХ

Примечание. НРИФ – непрямая реакция иммунофлуоресценции, ИФА – иммуноферментный анализ, ИБ – иммуноблот, ХЛИА – хемилюминесцентный иммунный анализ, МИА – мультиплексный иммунный анализ, CYP 2D6 – цитохроммоноксигеназа P4502D6, FTCD - формиминотрансфераза циклодезаминаза, ВР1 – белок, увеличивающий проницаемость, ASGPR – асиалогликопротеиновый рецептор, E2-ПДГ – E2-субъединица пируватдегидрогеназного комплекса, НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени, ВЗК – воспалительные заболевания кишечника.

ХЛИА, МИА у пациентов с положительными результатами скринингового исследования ANA, ASMA, AMA-M2, антител к LKM-1, LC-1; 2) атипичных рANCA методом НРИФ на нейтрофилах человека, фиксированных формальдегидом (дополнительный тест); 3) антител к ASGPR методом ИФА (дополнительный тест); 4) антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 методами ИФА, ИБ и МИА (дополнительный тест). При АИГ специфический ядерный антиген не известен, поэтому подтверждающее определение отдельных антиген-специфических ANA (антител к ДНК, нуклеосомам, гистонам, Ro 52, рибонуклеопротеидам и др.) с помощью ИФА, ИБ и других методов твердофазного иммунного анализа не рекомендуется (за исключением AMA-M2, антител к sp100, gp210 и центромерам – маркеров ПБХ при его сочетании с АИГ).

#### **Аутоантитела при АИГ**

АИГ – хроническое иммуновоспалительное заболевание печени неизвестной этиологии, характеризующееся нарушением толерантности к нормальным печеночным антигенам, преимущественным поражением лиц женского пола, повышением активности сывороточных аминотрансфераз, гипергаммаглобулинемией, гиперпродукцией аутоантител, ассоциацией с генетическими маркерами HLA-DR3 и HLA-DR4, обнаружением признаков перипортального гепатита при гистологическом исследовании биоптатов печени [7-10, 22]. В зависимости от профиля выявляемых аутоантител различают два типа АИГ. АИГ 1-го типа (АИГ-1) встречается у 90% больных АИГ и характеризуется обнаружением ANA и/или ASMA в сыворотке крови. При отсутствии ANA и/или ASMA иммунологическими маркерами АИГ-1 служат антитела к SLA/LP и атипичные рANCA. Частота АИГ 2-го типа (АИГ-2) составляет 10%. Данный субтип АИГ отличается присутствием в сыворотках пациентов антител против LKM-1 и/или LC-1 и, как правило, наблюдается у детей.

ANA, к которым относится множество органо-неспецифических аутоантител, реагирующих с различными антигенами клеточного ядра и цитоплазмы, занимают центральное место в диагностике АИГ-1 и других АИЗП. Частота обнаружения ANA в сыворотках больных АИГ-1 (50-80%) значительно выше, чем у пациентов с ПСХ (39%), неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) (23-66%), гепатитом С (27%), гепатитом В (32%), здоровых лиц (0-7,4%), и сравнима с таковой при ПБХ (30-84%) [3, 5, 9, 15, 21, 29-31]. Положительные результаты скринингового определения ANA в сыворотке крови с помощью НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей) в титрах  $\geq 1:40$  служат традиционным диагностическим критерием АИГ [7-10, 22]. Вместе с тем, согласно современным рекомендациям, для диагностики АИГ-1 и других АИЗП предпочтительнее использовать скрининговое тестирование ANA методом НРИФ на HEp-2 клетках (НРИФ-HEp-2) в титрах  $\geq 1:160$  с указанием типов ядерного, цитоплазматического и митотического свечения HEp-2 клеток (антиклеточных “anti-cell” - “АС” - паттернов) в соответствии с новой номенклатурой, разработанной

Международным консенсусом по паттернам ANA (“International consensus on ANA patterns” - ICAP) [5-6, 19-21, 32]. При АИГ-1 наиболее часто идентифицируют ядерное гомогенное (АС-1), крапчатое (АС-4, АС-5) и нуклеолярное (АС-8, АС-9, АС-10) свечение, реже – цитоплазматические фибриллярные (АС-15, АС-16) и крапчатые (АС-19, АС-20) паттерны флюоресценции ANA [5-6, 19-21]. J. Galaski и соавт. [19], исследовавшие сыворотки 113 больных АИГ-1 и 202 лиц контрольной группы (82 пациентов с НАЖБП, 99 пациентов с ПСХ и 21 ЗД), показали возможность использования НРИФ-HEp-2 (диагностическая чувствительность – ДЧ – 75,4%; диагностическая специфичность – ДС – 73,6%) в качестве альтернативы скрининговому определению ANA с помощью рутинного метода НРИФ на криостатных срезах печени, почек и желудка примата/крысы (ДЧ – 83,6%; ДС – 69,4%). По данным тех же авторов, показатели диагностической ценности скринингового определения ANA методом ИФА варьировали в зависимости от спектра ядерных/цитоплазматических антигенов и уровней верхних пределов референсных интервалов (ВПРИ). В случае применения коммерческих наборов реагентов для ИФА с использованием 8 антигенов и ядерного экстракта HEp-2 клеток (ВПРИ  $\geq 1,0$  ЕД/мл), значения ДЧ ANA у больных АИГ (22,1%) были достоверно ниже, а ДС (95,0%) – выше, чем при обнаружении ANA методом НРИФ-HEp-2 (65,5% и 88,6%, соответственно,  $p < 0,05$ ). В другой работе скрининговое выявление ANA методом ИФА в сыворотках больных АИГ-1 ( $n=51$ ), НАЖБП ( $n=30$ ) и ЗД ( $n=30$ ) также отличались более низкой ДЧ и повышенной ДС по сравнению с НРИФ-HEp-2 (33,3% и 78,4%; 86,7% и 66,7%, соответственно,  $p < 0,05$ ) [21]. Результаты метаанализа 18 исследований, включавших 968 пациентов, свидетельствуют об умеренном диагностическом значении скринингового определения ANA методом НРИФ при АИГ-1: ДЧ – 65,0% (95% доверительный интервал – ДИ – от 61,9% до 68,0%); ДС – 75,1% (95% ДИ от 73,7% до 76,4%); отношение правдоподобия (ОП) положительных результатов теста (ОППР) – 3,030 (95% ДИ от 2,349 до 3,910); ОП отрицательных результатов теста (ОПОР) – 0,464 (95% ДИ от 0,356 до 0,604) [33]. У большинства пациентов с АИГ-1 титры ANA в сыворотке крови снижаются на фоне иммуносупрессивной терапии, однако не имеют прогностического значения для оценки характера течения и исходов заболевания [15]. Антигеноспецифические ANA не применяются для диагностики АИГ-1 и, в основном, рассматриваются в качестве прогностических маркеров данной патологии. Отмечено, что повышенные уровни антител к хроматину, выявляемые у 39% больных АИГ-1, ассоциируются с выраженной воспалительной активностью, рецидивами и тяжелым течением заболевания, а также положительно коррелируют с концентрацией гамма-глобулинов и IgG в сыворотке крови [2]. Антитела к двуспиральной (дс) ДНК встречаются у 23-34% ANA-позитивных больных АИГ-1, как правило, при неэффективной глюкокортикоидной терапии [2].

ASMA, основным таргетным антигеном которых

служит F-актин, наиболее часто выявляются у больных АИГ-1 (50-85%), значительно реже – при ПБХ (6%), ПСХ (16%), НАЖБП (0%), гепатите С (7%) и гепатите В (0%) [3, 5, 9, 15, 29]. Частота совместного обнаружения ASMA и ANA в сыворотках пациентов с АИГ-1 составляет 40-50% [3, 5, 29].

Выявление ASMA методом НРИФ на криостатных срезах печени/почек/желудка крыс (мышей) в титрах  $\geq 1:40$  служит одним из диагностических критериев АИГ [7-10, 22]. На срезах почки различают три типа свечения ASMA: васкулярный (V), гломерулярный (G) и тубулярный (T), причем сочетания паттернов VG (ДЧ – 72,1%; ДС – 70,8%) и VGT (ДЧ – 52,5%; ДС – 93,1%) более специфичны для АИГ-1 по сравнению с изолированным V-типом флюоресценции (ДЧ – 78,7%; ДС – 45,8%) [1, 3, 4-5, 19-20, 22]. Отмечено, что паттерн ASMA-VGT в 80% случаев ассоциируется с выявлением антител к F-актину [1, 3]. При использовании НРИФ-HEp-2 отдельные компоненты ASMA (антитела к F-актину, виментину, альфа-актину) визуализируются в виде цитоплазматических фибриллярных типов свечения (линейного – AC-15, филаментарного – AC-16 и сегментарного AC-17) [19, 20, 32]. У больных АИГ-1 ДЧ обнаружения антител к F-актину (паттерна AC-15) методом НРИФ-HEp-2 в титрах  $\geq 1:160$  составляет 54,1%, ДС – 98,6% [19]. По данным метаанализа 22 исследований у 1193 пациентов, определение ASMA с помощью НРИФ при АИГ-1 демонстрирует умеренную ДЧ (59,3%; 95% ДИ от 56,4% до 62,1%), высокую ДС (92,6%; 95% ДИ от 91,7% до 93,4%) и хорошую диагностическую эффективность (ОППР – 11,740; 95% ДИ от 7,379 до 18,678; ОПОР – 0,449; 95% ДИ от 0,367 до 0,549) [33]. Обнаружение антител к F-актину методом ИФА характеризуется большей диагностической эффективностью (площадь под характеристической ROC-кривой – ППК – 0,880) по сравнению с детекцией ASMA в НРИФ на тканевых срезах (ППК – 0,770) [19]. ASMA, определяемые методом НРИФ, не имеют существенного значения для оценки прогноза АИГ-1, хотя в ряде случаев отмечается снижение сывороточных уровней данных аутоантител у больных, получающих иммуносупрессивную терапию [15]. В то же время, сочетанное выявление антител к F-актину и альфа-актину на основе твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, ИБ) ассоциируется с более ранним началом АИГ-1, плохим ответом на лечение глюкокортикоидами, развитием печеночной недостаточности и необходимостью трансплантации печени [2].

Антитела к LKM-1, являющиеся основным иммунологическим маркером АИГ-2, реагируют с микросомальным антигеном печени и почек цитохромом P4502D6 (CYP2D6), который имеет сходную структуру с эпитопами вируса гепатита С, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1 [5]. При АИГ частота обнаружения антител к LKM-1 у взрослых пациентов составляет 3%, у детей – от 13 до 38%; при гепатите С – от 0 до 13% [5, 9, 29]. Среди больных АИГ-2 антитела к LKM-1 встречаются в 75% случаев [4, 5]. Положительные результаты определения антител к LKM-1 методом НРИФ на криостатных срезах

печени/почек/желудка крыс (мышей) в титрах  $\geq 1:40$  служат диагностическим критерием АИГ [7-10, 22]. При АИГ-2 выявление антител к LKM-1 в сыворотке крови отличается умеренной ДЧ (57%) и высокой ДС (100%) [20]. У взрослых пациентов с АИГ исследование антител к LKM-1 имеет очень низкую ДЧ (1%) и высокую ДС (99%) [29]. Титры антител к LKM-1 в сыворотках взрослых пациентов и детей отражают тяжесть заболевания и ответ на проводимое лечение [9]. Кроме того, у детей повышение уровня антител к LKM-1 в крови положительно коррелирует с активностью АИГ-2 и предшествует рецидиву заболевания после трансплантации печени [5]. Антитела к LKM-2, взаимодействующие с цитохромом P4502C9 (CYP2C9), были обнаружены в сыворотках больных лекарственным гепатитом, индуцированным урикозурическим и гипотензивным препаратом тикрипафен (тиелиновая кислота), снятого с производства в 1982 году [2, 3, 5, 22]. В настоящее время исследование антител к LKM-2 не имеет клинического значения, однако может быть полезным для изучения аутоиммунных механизмов поражения печени [2]. Антитела к LKM-3, для которых целевыми антигенами служат ферменты семейства уридин дифосфат глюкозилтрансфераз, выявляются в сыворотках 8-19% пациентов с АИГ-2, у 13% больных гепатитом D, значительно реже при гепатите С [2, 5, 9]. Полагают, что определение антител к LKM-3 можно использовать в качестве дополнительного маркера для диагностики АИГ-2, серонегативного по антителам к LKM-1 и LC-1 [2, 9]. Антитела к цитохромам P4502A6 (CYP2A6) и P4501A2 (CYP1A2) идентифицируются при АИГ-2, связанном с редким аутосомно-рецессивным заболеванием APCCED (синдромом аутоиммунной полиэндокринопатии-кандидоза-эктодермальной дистрофии) [5, 9, 22]. Антитела к P4501A2 (CYP1A2) могут также встречаться при гепатите, индуцированном ди-гидралазином [9, 22].

Следует подчеркнуть, что среди больных АИГ изолированные ANA, ASMA, антитела к LKM1 встречаются у 49% пациентов, а сочетания двух и более аутоантител – в 51% случаев, причем наиболее распространена комбинация ANA и ASMA, частота которой соответствует 43% [2, 9, 29].

Антитела к LC-1, направленные против цитозольного фермента гепатоцитов формиминотрансферазы циклодезаминазы (FTCD), служат дополнительным диагностическим маркером АИГ-2 [2, 3, 5, 9, 22]. Антитела к LC-1 выявляются у 24-32% больных АИГ-2, преимущественно среди детей и лиц молодого возраста (<20 лет); частота совместного обнаружения антител к LC-1 и LKM1 составляет 75% [2, 3, 5, 9]. Идентификация изолированных антител к LC-1 в сыворотках молодых пациентов, не инфицированных вирусом гепатита С, может оказаться полезной для подтверждения диагноза АИГ-2 в отсутствие ANA, ASMA и антител к LKM1 [2, 3]. Яркое окрашивание цитоплазмы гепатоцитов, индуцируемое антителами к LC-1 при их определении с помощью НРИФ на криостатных срезах печени мышей/крыс, нередко маскируется одновременным присутствием в сыворотках

пациентов антител к LKM1, в связи с чем, для выявления антител против LC-1 рекомендовано использовать подтверждающие методы твердофазного иммунного анализа (ИБ, иммунопреципитацию, двойную иммунодиффузию, контриммуноэлектрофорез) [2, 5]. Обнаружение антител к LC-1 имеет низкую чувствительность (35%) и высокую специфичность (98%) для диагностики АИГ-2 [20]. Высокие уровни антител к LC-1 положительно коррелируют с клинико-лабораторными показателями воспалительной активности АИГ-2 и прогнозируют тяжелое течение заболевания с развитием цирроза печени [2, 5].

Антитела к SLA/LP относятся к IgG1 субтипу иммуноглобулинов и распознают иммунодоминантный В-клеточный эпитоп С-концевого участка белка SerSecS – синтазы (S), конвертирующей О-фосфосерил-тРНК (Ser) в селеноцистеинил-тРНК (Sec) [2, 3, 5]. Антитела к SLA/LP служат наиболее высокоспецифичным диагностическим маркером АИГ-1. В отличие от ANA, ASMA и антител к LKM1, которые встречаются у 10-15% пациентов с вирусными гепатитами, антитела к SLA/LP не проявляют перекрестной реактивности с гомологичными пептидами вирусного происхождения и обнаруживаются исключительно при АИГ-1 [2]. При использовании методов ИФА и ИБ, частота выявления антител к SLA/LP в сыворотках больных АИГ-1 составляет 7-30% [2, 3, 5, 9]. Антитела к SLA/LP идентифицируют также у 14-20% больных АИГ, серонегативных по всем классическим аутоантителам, определяемым при данной патологии [9]. Согласно результатам метаанализа 16 исследований у 850 пациентов, обнаружение антител к SLA/LP при АИГ-1 характеризуется низкой ДЧ (19,4%; 95% ДИ от 16,8% до 22,2%), высокой ДС (98,9%; 95% ДИ от 98,5% до 99,3%) и хорошей диагностической эффективности (ОППР – 11,089; 95% ДИ от 7,601 до 16,177; ОПОР – 0,839; 95% ДИ от 0,777 до 0,905) [33]. Присутствие антител к SLA/LP в сыворотках больных АИГ-1 ассоциируется с тяжелым гистологическим поражением печени, длительным лечением, рецидивами заболевания после отмены терапии, необходимостью трансплантации печени и увеличением количества смертельных исходов вследствие печеночной недостаточности [2].

ANCA – гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с ферментами цитоплазмы нейтрофилов. В зависимости от типа свечения в НРИФ на фиксированных этанолом нейтрофилах человека различают две основных разновидности ANCA – цитоплазматические (c) ANCA и перинуклеарные (p) ANCA. Обнаружение cANCA и pANCA в сыворотках крови наиболее характерно для системных некротизирующих васкулитов сосудов среднего и мелкого калибра (ANCA-ассоциированных системных васкулитов) [34]. cANCA дают диффузный цитоплазматический гранулярный тип свечения с большей интенсивностью по направлению к ядру нейтрофилов, чем к периферии, взаимодействуют с протеиназой 3 (PR3) и являются высокоспецифичным диагностическим маркером гранулематоза с полиангиитом (ГПА). pANCA характеризуются гомогенным свечением

цитоплазмы по периферии ядра нейтрофилов, реагируют с миелопероксидазой и служат полезным диагностическим маркером микроскопического полиангиита, синдрома Черджа – Строс, быстро прогрессирующего гломерулонефрита и идиопатического альвеолярного геморрагического синдрома. При АИГ-1, ПСХ и воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) выявляют преимущественно атипичные pANCA, которые идентифицируются с помощью НРИФ на фиксированных этанолом нейтрофилах в виде ядерного свечения или диффузной неоднородной флюоресценции перинуклеарной цитоплазмы и, в отличие от классических pANCA, не меняют своего паттерна при фиксации клеток формалином [5, 22]. Таргетными антигенами для атипичных pANCA служат различные ядерные и цитоплазматические белки нейтрофилов (гистоновый белок H1, негистоновые белки хроматина HMG-1 и HMG-2, катепсин G, эластаза, лизоцим,  $\beta$ -глюкуронидаза, лактоферрин, BPI,  $\alpha$ -энолаза, каталаза). В качестве подтверждающих тестов для определения данных разновидностей атипичных pANCA используются методы ИФА и ИБ. Среди атипичных pANCA наиболее специфичным маркером АИГ-1, ПСХ и ВЗК являются атипичные периферические антиядерные нейтрофильные антитела (pANNA), реагирующие с белком-нуклеопорином  $\beta$ -тубулин 5, который локализуется в ядерной мембране нейтрофилов [5, 22]. pANNA могут быть обнаружены в сыворотках крови только с помощью НРИФ на нейтрофилах человека, фиксированных формальдегидом. Атипичные pANCA встречаются в сыворотках крови у 20-96% больных АИГ-1, 26-94% больных ПСХ, 33-83% больных язвенным колитом (ЯК), 0-27% пациентов с болезнью Крона (БК) [5, 9, 13, 27-28]. Атипичные pANCA служат дополнительным диагностическим маркером АИГ-1 при отсутствии других аутоантител (ANA, ASMA, антител к LKM-1, LC-1 и SLA/LP) [5, 9].

Антитела к ASGPR направлены против трансмембранного гликопротеина II типа, экспрессирующегося на поверхности гепатоцитов и известного как печеночный лектин. ASGPR – единственный идентифицированный специфический аутоантиген мембран гепатоцитов, который является основной мишенью в опосредованном Т- и В- клетками аутоиммунном повреждении печени [2, 15, 22, 35]. Антитела к ASGPR служат дополнительным диагностическим маркером АИГ обоих типов. Частота обнаружения антител к ASGPR в сыворотках больных АИГ-1 и АИГ-2 (67-88%) выше, чем у пациентов с ПБХ (14-22%), хроническим гепатитом В (7%), хроническим гепатитом С (14%), острым гепатитом В (35%) и алкогольным поражением печени (8%) [2]. При АИГ ДЧ выявления антител ASGPR с помощью коммерческих наборов реагентов для ИФА составляет 78%, ДС – 99% [2, 35]. Выявление антител к ASGPR ассоциируется с тяжелым течением АИГ, высокой лабораторной и гистологической активностью заболевания, развитием рецидивов после прекращения иммуносупрессивной терапии [2].

АИГ с отсутствием в сыворотке крови стандарт-

ных аутоантител (ANA, ASMA и антител к LKM-1), так называемый серонегативный вариант АИГ, встречается с частотой <7% при остром, тяжелом течении заболевания и 1-35% у пациентов с хроническими проявлениями АИГ [9, 36]. Получение серонегативных результатов лабораторного исследования обусловлено динамикой патологического процесса, в том числе, связыванием аутоантител с соответствующими антигенами и последующим их выведением из крови в составе иммунных комплексов, а также подавлением продукции аутоантител вследствие иммуносупрессивной терапии или генетической предрасположенности. Рекомендуется проведение повторных иммунодиагностических тестов с целью обнаружения не только стандартных, но и дополнительных (антител к LC-1, SLA/LP, атипичных рANCA, антител к ASGPR) аутоантител, характерных для АИГ [9, 36]. С другой стороны, серонегативный АИГ может ассоциироваться с наличием у больных до сих пор неизвестных, трудно идентифицируемых аутоантител [36].

#### **Аутоантитела при ПБХ**

ПБХ – хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание печени, характеризующееся иммуноопосредованным повреждением эпителия желчных протоков с развитием холестаза и билиарного цирроза [11-12, 23].

АМА – гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с различными белками, расположенными на внутренней и наружной мембранах митохондрий (M1-M9), однако для ПБХ характерны субтипы АМА, направленные против белков M2, M4, M8 и M9 [20]. При ПБХ АМА вырабатываются преимущественно к антигену внутренней мембраны митохондрий M2, представляющему собой E2-субъединицу пируватдегидрогеназного комплекса (PDH-E2/M2), входящего в состав дегидрогеназных комплексов 2-оксикислоты (2-OADC). Прочие разновидности ПБХ-ассоциированных АМА распознают другие компоненты 2-OADC, включая E2-субъединицу оксоглутаратдегидрогеназного комплекса (OGDC-E2), E2-субъединицу дегидрогеназного комплекса 2-оксикислоты с разветвленной цепью (BCOADC-E2), E1 $\alpha$ -субъединицу и E3 - связывающий белок PDH, но выявляются реже, чем АМА-M2 [15, 23-24]. АМА-M2 – патогномоничный, наиболее специфичный маркер ПБХ, встречающийся у 90-95% пациентов с данным заболеванием [12, 24]. Установлено, что АМА-M2 могут выявляться в сыворотках больных ПБХ за 5-10 лет до клинической манифестации заболевания [12, 24, 37]. Частота обнаружения АМА-M2 в общей популяции составляет 0,16 - 1%, при вирусном гепатите С - 8% [12, 24]. Скрининговое исследование АМА-M2 в сыворотке крови включают НРИФ на срезах печени/почек/желудка крыс (мышей) и НРИФ-HEp-2 (паттерн AC-21), подтверждающее тестирование – ИФА, ХЛИА, МИА и ИБ в составе профиля печеночных антител (“liver blot”) [2, 3, 11-12, 20, 32]. Определение других субтипов АМА, в том числе, антител к OGDC-E2, BCOADC-E2, E1 $\alpha$  и E3-связывающему белку PDH, осуществляется с помощью ИБ в рамках расширенного профиля печеночных антител [3, 15,

20, 23, 38]. Положительные результаты анализа АМА/АМА-M2 в сыворотке крови служит диагностическим критерием ПБХ [11, 12, 22]. По данным метаанализа 24-х исследований у 2992 больных ПБХ, 18 467 пациентов с другими заболеваниями печени и здоровых лиц, обнаружение АМА/АМА-M2 различными методами (НРИФ, ИФА, ИБ) при ПБХ суммарно характеризуется высокими показателями ДЧ (84,5%; 95% ДИ от 83,3% до 85,6%), ДС (97,8%; 95% ДИ от 97,6% до 98,0%) и диагностической эффективности (ОППР – 25,201; 95% ДИ от 17,583 до 36,118; ОПОР – 0,162; 95% ДИ от 0,131 до 0,199) [39]. В работе F. Gaiani и соавт. [38] показано, что среди больных ПБХ ( $n=164$ ) ДЧ выявления АМА/АМА-M2 путем НРИФ на тканевых срезах составляла 89,6%, НРИФ-HEp-2 – 14,6%, ИФА с использованием антигена MIT3 (содержащего иммунодоминантные участки PDH-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2) – 89,0%, ИБ с применением рекомбинантных и очищенных антигенов PDH-E2, OGDC-E2, BCOADC-E2 и E3-PDH – 94,5%. При этом, результаты определения АМА/АМА-M2 посредством НРИФ и твердофазных методов иммунного анализа (ИФА, ИБ) имели умеренную степень согласованности (коэффициент каппа Коэна 0,538 – 0,465). По мнению авторов, комбинированное тестирование АМА/АМА-M2 с помощью НРИФ на тканевых срезах в сочетании с технологиями ИФА и ИБ позволяет повысить чувствительность исследования для диагностики ПБХ с 89,6% до 98,2% и 98,8%, соответственно. Титры АМА-M2 в сыворотке крови не коррелируют с активностью и тяжестью течения ПБХ [2].

Антигеноспецифические ANA к sp100, gp210 и центромерам идентифицируют у 30-50% больных ПБХ, при этом частота обнаружения антител к sp100 составляет 27%, антител к gp210 – от 16% до 25%, антител к центромерам – 16% [2, 24]. Среди АМА-негативных больных ПБХ встречаемость ANA достигает 20-35% [40]. Наиболее специфичными для ПБХ являются антитела к sp100 и gp210. Антитела к sp100 реагируют с ядерным антигеном sp100 и при определении методом НРИФ-HEp-2 проявляются в виде паттерна AC-6 (множественные точки в ядре) [2, 20, 32]. Антитела к sp100 могут быть единственным иммунологическим маркером ПБХ у АМА-негативных пациентов [2]. Согласно результатам метаанализа 11 исследований, включавшем 400 АМА-негативных больных ПБХ и 6217 лиц контрольной группы, обнаружение антител к sp100 различными методами (НРИФ-HEp-2, ИФА, ИБ) отличается низкой ДЧ (25,0%; 95% ДИ от 13,0% до 43,0%), высокой ДС (97,0%; 95% ДИ от 93,0% до 98,0%) и хорошей диагностической эффективностью (ППК – 0,840; 95% ДИ от 0,800 до 0,870) [40]. Имеются данные, что выявление антител к sp100 в сыворотках больных ПБХ с помощью ИФА и ИБ обладает несколько большей ДЧ и ДС по сравнению с НРИФ-HEp-2 [20]. Повышение уровней антител к sp100 при ПБХ положительно коррелирует с возрастом пациентов и сывороточной концентрацией гамма-глобулинов, а также ассоциируется с быстрым гистологическим прогрессированием заболевания и развитием рецидивирующих

бактериальных инфекций мочевыводящих путей [2]. Антитела к gp210 распознают интегральный мембранный белок gp210 комплекса ядерных пор, включающего также нуклеопорин р62, рецептор ламинина В (LBR) и транслоцированную промоторную область (Trg) [2, 20, 32]. В НРИФ-Нер-2 антитела к gp210 идентифицируются в виде ядерного мембранного точечного свечения (паттерн АС-12); для определения данных аутоантител рекомендуется проведение подтверждающих антигеноспецифических тестов (ИБ, ИФА) [20, 32]. Обнаружение антител к gp210 в сыворотках АМА-негативных больных ПБХ с помощью различных методов иммунного анализа (НРИФ-Нер-2, ИФА, ИБ), как и выявление антител к sp100, характеризуется низкой ДЧ (23,0%; 95% ДИ от 13,0% до 37,0%), высокой ДС (99,0%; 95% ДИ от 97,0% до 100,0%) и хорошей диагностической эффективностью (ППК – 0,810; 95% ДИ от 0,770 до 0,840) [40]. Положительные результаты определения антител к gp210 более тесно связаны с тяжестью течения ПБХ, чем антитела к sp100. Увеличение сывороточной концентрации антител к gp210 прогнозирует развитие тяжелого интерфейсного гепатита и лобулярного воспаления, является важным фактором риска прогрессирования болезни по типу печеночной недостаточности (ОШ – 33,77; 95% ДИ от 5,93 до 636,74), ассоциируется с тяжелым холестазом [2]. Антитела к центромерам направлены против центромерных нуклеопротеинов (СЕНР) - А, В, С. В НРИФ-Нер-2 эти аутоантитела вызывают специфический ядерный центромерный тип свечения (паттерн АС-3). Среди подтверждающих тестов в настоящее время наиболее доступно выявление антител к СЕНР-В с помощью ИФА, ИБ, ХЛИА и МИА [32]. При ПБХ обнаружение антител к центромерам имеет ограниченную ДС, так как может сочетаться с наличием у пациентов сопутствующих аутоиммунных ревматических заболеваний, включая лимитированную форму системной склеродермии, синдром Рейно, болезнь/синдром Шегрена, для которых антицентромерные антитела также являются диагностическими маркерами [2, 32]. Повышение уровней антител к центромерам в сыворотках больных ПБХ сопровождается быстрым формированием печеночной недостаточности, увеличением сывороточной концентрации щелочной фосфатазы, тяжелым повреждением желчных протоков при гистологическом исследовании, возрастанием частоты развития портальной гипертензии [2].

Антитела к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 – новые дополнительные иммунологические маркеры АМА-негативного ПБХ, при котором частота их обнаружения составляет 10-35% [12, 25]. Антитела к Kelh-like 12 направлены против семейства нуклеопротеинов, участвующих в функционировании различных структур клетки, включая передачу внутриклеточных сигналов, регуляцию транскрипции, экспорт коллагена и убиквитирование белков через взаимодействие с Е3-лигазой куллина. Таргетным аутоантигеном для антител к Hexokinase-1 служит фермент внешней мембраны митохондрий, регулирующий фосфорилирование глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата

и чувствительность клеток к апоптозу [25-26, 41]. Для определения антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 в сыворотке крови используют методы ИФА, ИБ и МИА [25-26, 41-42, 43]. В когорте из 366 больных ПБХ ДЧ выявления антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 методом ИФА в общей группе составляла 40% и 45%, среди 277 АМА-позитивных пациентов – 42% и 53%, а у 89 АМА-негативных пациентов – 35% и 22%, соответственно. ДС определения антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 при ПБХ относительно 174 больных другими хроническими заболеваниями печени, ВЗК, СШ и 80 здоровых лиц достигала 96,1–96,9% [25]. Отмечено, что при использовании ИБ чувствительность исследования антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 как в общей группе больных ПБХ ( $n=100$ ) (16%), так и у АМА-позитивных ( $n=80$ ) (14% и 18%) и АМА-негативных ( $n=20$ ) (25% и 10%) пациентов была ниже по сравнению с ИФА. По данным тех же авторов, комбинированное определение антител к Kelh-like 12, Hexokinase-1, sp100 и gp210 при АМА-негативном ПБХ повышает ДЧ тестирования антигеноспецифических АНА с 48,3% до 68,5% методом ИФА и с 55% до 75% методом ИБ. Результаты многоцентрового исследования антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 с помощью ИФА в странах Европы и Северной Америки продемонстрировали, что при АМА-позитивном ПБХ ( $n=414$ ) показатели ДЧ, ДС, ОППР и ОПОР для антител к Kelh-like 12 составляют 24,9%, 95,3%, 4,60, 0,79, а для антител к Hexokinase-1 – 45,7%, 94,5%, 8,28, 0,58, соответственно. При АМА-негативном ПБХ ( $n=73$ ) антитела к Kelh-like 12 выявляются у 19,2%, антитела к Hexokinase-1 – у 24,7% больных, в то время как совместное обнаружение данных аутоантител наблюдается в 38,4% случаев [26]. Таким образом, несмотря на низкую ДЧ, определение антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 при ПБХ имеет высокую ДС и позволяет расширить возможности диагностики АМА-негативного ПБХ. Прогностическое значение антител к Kelh-like 12 и Hexokinase-1 при ПБХ нуждается в уточнении, однако рядом авторов отмечена ассоциация данных аутоантител с гипербилирубинемией, развитием фиброза печени, печеночной недостаточности и риском быстрого прогрессирования заболевания [41-42].

#### *Аутоантитела при ПСХ*

ПСХ – хроническое холестатическое заболевание печени, характеризующееся воспалением, облитерирующим фиброзом и сегментарным расширением внутри- и внепеченочных желчных протоков, развитием билиарного цирроза, портальной гипертензии и печеночной недостаточности [13]. У 75-80% больных ПСХ ассоциируется с ВЗК, особенно часто – с ЯК (в 80-90% случаев).

Развитие иммунопатологического процесса при ПСХ сопровождается образованием широкого спектра аутоантител, однако ни одно из них не обладает достаточной специфичностью для диагностики данного заболевания (табл. 2) [3, 13, 27].

Как следует из табл. 2, в сыворотках больных ПСХ особенно часто идентифицируют атипичные pANCA, ANA и ASMA, увеличение продукции которых



Таблица 2

Частота обнаружения аутоантител при ПСХ [3, 13, 27]

Аутоантитела	Частота обнаружения, %
Атипичные рANCA	26-94
Антитела к эпителиальным клеткам желчных протоков (ВЕС)	63
ANA	8-77
ASMA	0-83
Антитела к <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA)	44
IgA-антитела к гликопротеину 2 (GP2)	47-72
Антитела к кардиолипину	4-63
Ревматоидный фактор	15
Антитела к эндотелиальным клеткам	35
Антитела к тиреопероксидазе	7-16
Антитела к тиреоглобулину	4
Антитела к базальной мембране клубочков почки	17

также наблюдается при АИГ. Наиболее характерными для ПСХ являются атипичные рANCA – основные иммунологические маркеры ЯК, частота обнаружения которых при ПСХ достигает 95%. Встречаемость атипичных рANCA у больных ПСХ без ВЗК составляет 25-77%, в сочетании с ВЗК – 23-88%, в том числе, с ЯК – 50-80%, БК – 10-20% [13, 27]. По данным большинства исследователей, определение атипичных рANCA имеет ограниченное диагностическое и прогностическое значение при ПСХ, однако, существуют данные о связи положительных результатов выявления этих аутоантител с более ранним началом заболевания, обширным поражением желчевыводящих путей и риском развития холангиокарциномы [3, 13, 27]. Наряду с атипичными рANCA, у больных ПСХ отмечено повышение сывороточных уровней маркеров БК, в частности, антител к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) и IgA-антител к гликопротеину 2 (GP2) [3, 27]. Наличие IgA-антител к GP2 при ПСХ сопровождается вовлечением в патологический процесс крупных желчных протоков, развитием холангиокарциномы и увеличением смертности [3]. Антитела к эпителиальным клеткам желчных протоков (ВЕС) в сыворотках больных ПСХ встречаются чаще, чем при ПБХ и у здоровых лиц (63%, 37% и 8%) [27]. Установлено, что антитела к ВЕС совместно с бактериальным липополисахаридом играют важную роль в иммунопатогенезе ПСХ, стимулируя выработку интерлейкина-6 клетками эпителия желчных протоков [3, 27]. Повышение уровней IgA-антител к ВЕС ассоциируется с неэффективностью лечения ПСХ [3]. Обнаружение антител к кардиолипину служит фактором риска тромботических осложнений при ПСХ [27]. Идентификация в сыворотках крови пациентов антифосфолипидных и множества других разновидностей аутоантител, включая ревматоидный фактор, антитела к тиреопероксидазе, тиреоглобулину, тканевой трансглутаминазе, базальной мембране клубочков почки и

т.д., может свидетельствовать о сочетании ПСХ с несколькими аутоиммунными заболеваниями. У 10-12% пациентов с ПСХ регистрируется повышенный уровень сывороточного IgG4, который сопровождается тяжелым течением и исходом заболевания, при этом подчеркивается необходимость дифференциальной диагностики данного субтипа «классического» ПСХ с IgG4-связанным аутоиммунным холангитом [3, 13].

Таким образом, антитела к антигенам гепатоцитов, холангиоцитов и нейтрофилов являются основными иммунологическими маркерами АИЗП. Для обнаружения аутоантител в сыворотках крови больных АИЗП используют скрининговые иммунодиагностические тесты первой линии (определение ANA, ASMA, AMA-M2, антител к LKM-1 и LC-1 методом НРИФ на тканевом комплексе криосрезов печени/почки/желудка крысы или мыши; ANA методом НРИФ на HEp-2 клетках; антител к SLA/LP с помощью ИФА, ИБ) и подтверждающие/дополнительные иммунодиагностические тесты второй линии (исследование AMA-M2, антител к F-актину, LKM-1, LKM-3, LC-1, sp100, gp210, центромерам подтверждающими методами ИФА, ИБ, ХЛИА, МИА; атипичных рANCA методом НРИФ на нейтрофилах человека, фиксированных формальдегидом; антител к ASGPR, Kelh-like 12 и Hexokinase-1 с помощью ИФА, ИБ, МИА). Стандартными, «классическими» диагностическими маркерами АИЗП служат ANA, ASMA, антитела к LKM-1 и AMA-M2. Комплексный анализ профилей стандартных и дополнительных субтипов аутоантител позволяет существенно повысить чувствительность диагностики АИЗП и уменьшить количество «серонегативных» вариантов данных патологических состояний. Наибольшее прогностическое значение при АИГ и ПБХ имеют антитела к F-актину, LC-1, SLA/LP, ASGPR, sp100, gp210, центромерам, Kelh-like 12 и Hexokinase-1, обнаружение которых ассоциируется с высокой воспалительной активностью, тяжелым рецидивирующим течением заболевания, прогрессированием гистологического повреждения печени, циррозом, печеночной недостаточностью, необходимостью трансплантации печени. У больных ПСХ наличие атипичных рANCA и IgA-антител к GP2 в сыворотке крови является фактором риска обширного поражения желчевыводящих путей и развития холангиокарциномы. Перспективы иммунодиагностики АИЗП связаны с необходимостью стандартизации методов исследования аутоантител, поиском и клинической валидацией новых разновидностей данных биомаркеров на основе современных лабораторных технологий.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–20, 22–33, 35 см.  
REFERENCES)

21. Дорофеев А.С., Александрова Е.Н., Новиков А.А., Салиев К.Г., Сандлер Ю.Г., Винницкая Е.В. Диагностическое значение скрининговых методов определения антиядерных антител с помощью непрямой реакции иммунофлуоресценции на HEp-2 клетках и иммуноферментного анализа при аутоиммунных за-

блеваниях печени. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(11):652-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-652-657.

34. 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; 2019:302–20.

## REFERENCES

- Vergani D., Alvarez F., Bianchi F.B., Cancado E.L., Mackay I.R., Manns M.P. et al. International Autoimmune Hepatitis Group. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J. Hepatol.* 2004; 41(4):677–83. DOI: 10.1016/j.jhep.2004.08.002.
- Czaja A.J. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Dig Dis Sci.* 2010; 55 (8):2144–61. DOI: 10.1007/s10620-010-1268-4.
- Sebode M., Weiler-Normann C., Liwinski T., Schramm C. Autoantibodies in autoimmune liver disease—clinical and diagnostic relevance. *Front. Immunol.* 2018; 9:609. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00609.
- Terziroli Beretta-Piccoli B., Mieli-Vergani G., Vergani D. Serology in autoimmune hepatitis: A clinical-practice approach. *Eur J Intern Med.* 2018; 48:35–43. DOI: doi.org/10.1016/j.ejim.2017.10.006.
- Terziroli Beretta-Piccoli B., Mieli-Vergani G., Vergani D. Autoimmune hepatitis: serum autoantibodies in clinical practice. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2022; 63(2):124–37. DOI: 10.1007/s12016-021-08888-9.
- Van Beers J. J. B. C., Koek G. H., Damoiseaux J.G. M. C. The role of autoantibodies in the diagnosis of autoimmune liver disease: lessons learned from clinical practice. *J. Appl. Lab. Med.* 2022; 7(1):259–67. DOI: 10.1093/jalm/jfab099.
- Alvarez F., Berg P.A., Bianchi F.B., Bianchi L., Burroughs A.K., Cancado E.L. et al. International autoimmune hepatitis group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *Journal of Hepatology*. 1999; 31 (5):929–38. DOI: 10.1016/s0168-8278(99)80297-9.
- Hennes E.M., Zeniya M., Czaja A.J., Parés A., Dalekos G.N., Krawitt E.L. et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. American association for the diagnosis of liver diseases. *Hepatology*. 2008; 48(1):169–76. DOI: 10.1002/hep.22322.
- Mack C.L., Adams D., Assis D.N., Kerkar N., Manns M.P., Mayo M.J. et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis in adults and children: 2019 Practice guidance and guidelines from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2020; 72(2):671–722. DOI: 10.1002/hep.31065.
- European association for the study of the liver. EASL clinical practice guidelines: autoimmune hepatitis. *J. Hepatol.* 2015; 63: 971–1004. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.09.016.
- European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J. Hepatol.* 2017; 67:145–72. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.03.022.
- Lindor K.D., Bowlus C.L., Boyer J., Levy C., Mayo M. Primary biliary cholangitis: 2021 practice guidance update from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2022; 75(4):1012–3. DOI: 10.1002/hep.32117.
- Yimam K.K., Bowlus C.L. Diagnosis and classification of primary sclerosing cholangitis. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13(4-5):445–50. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.040.
- Zhang W., De D., Mohammed K.A., Munigala S., Chen G., Lai J.-P., Bacon B.R. New scoring classification for primary biliary cholangitis-autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Hepatol. Commun.* 2018; 2(3):245–53. DOI: 10.1002/hep4.1148.
- Bogdanos D.P., Invernizzi P., Mackay I.R., Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. *World J. Gastroenterol.* 2008; 14(21):3374–87. DOI: 10.3748/wjg.14.3374.
- Czaja A.J. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis: current status and future directions. *Gut Liver.* 2016; 10(2):177–203. DOI: 10.5009/gnl15352.
- Healey R., Corless L., Gordins P., Holding S. Do anti-smooth muscle antibodies predict development of autoimmune hepatitis in patients with normal liver function? - A retrospective cohort review. *Autoimmun. Rev.* 2016; 15(7):668–72. DOI: 10.1016/j.autrev.2016.03.001.
- Mieli-Vergani G., Vergani D., Czaja A.J., Manns M.P., Krawitt E.L., Vierling J.M. et al. Autoimmune hepatitis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2018; 4:18017. DOI: 10.1038/nrdp.2018.17.
- Galaski J., Weiler-Normann C., Schakat M., Zachou K., Muratori P., Lampalzer S. et al. Update of the simplified criteria for autoimmune hepatitis: evaluation of the methodology for immunoserological testing. *J. Hepatol.* 2021; 74(2):312–20. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.07.032.
- Muñoz-Sánchez G., Pérez-Isidro A., Ortiz de Landazuri I., López-Gómez A., Bravo-Gallego L. Y., Garcia-Ormaechea M. et al. Working algorithms and detection methods of autoantibodies in autoimmune liver disease: a nationwide study. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(3):697. DOI: 10.3390/diagnostics12030697.
- Dorofeev A.S., Aleksandrova E.N., Novikov A.A., Saliev K.G., Sandler Yu.G., Vinnitskaya E.V. Diagnostic value of screening methods for the determination of antinuclear antibodies using indirect immunofluorescence on HEP-2 cells and enzyme immunoassay in autoimmune liver diseases. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(11):652–7. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-652-657. (in Russian)
- Liberal R., Grant C.R., Longhi M.S., Mieli-Vergani G., Vergani D. Diagnostic criteria of autoimmune hepatitis. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13(4-5):435–40. DOI: 10.1016/j.autrev.2013.11.009.
- Bowlus C.L., Gershwin M.E. The diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13(4-5):441–4. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.041.
- Yamagiwa S., Kamimura H., Takamura M., Aoyagi Y. Autoantibodies in primary biliary cirrhosis: recent progress in research on the pathogenetic and clinical significance. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(10):2606–12. DOI: 10.3748/wjg.v20.i10.2606.
- Norman G.L., Yang C.Y., Ostendorff H.P., Shums Z., Lim M.J., Wang J. et al. Anti-kelch-like 12 and anti-hexokinase 1: novel autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Liver Int.* 2015; 35(2):642–51. DOI: 10.1111/liv.12690.
- Norman G.L., Reig A., Viñas O., Mahler M., Wunsch E., Milkiewicz P. et al. The prevalence of anti-hexokinase-1 and anti-kelch-like 12 peptide antibodies in patients with primary biliary cholangitis is similar in Europe and North America: a large international, multi-center study. *Front. Immunol.* 2019; 10:1–5. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00662
- Hov J.R., Boberg K.M., Karlsen T.H. Autoantibodies in primary sclerosing cholangitis. *World J. Gastroenterol.* 2008; 14(24):3781–91. DOI: 10.3748/wjg.14.3781.
- Tornai D., Ven P.L., Lakatos P.L., Papp M. Serological biomarkers for management of primary sclerosing cholangitis. *World J. Gastroenterol.* 2022; 28(21):2291–2301. DOI: 10.3748/wjg.v28.i21.2291.
- Czaja A.J. Performance parameters of the conventional serological markers for autoimmune hepatitis. *Dig. Dis. Sci.* 2011; 56(2):545–54. DOI: 10.1007/s10620-010-1501-1.
- Luo L., Ma Q., Lin L., Wang H., Ye J., Zhong B. Prevalence and significance of antinuclear antibodies in biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Dis. Markers*. 2022 Aug 12; 2022:8446170. DOI: 10.1155/2022/8446170.
- Ahmad A., Dahle C., Rönnelid J., Sjöwall C., Kechagias S. Autoantibodies associated with autoimmune liver diseases in a healthy population: evaluation of a commercial immunoblot test. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(7):1572. DOI: 10.3390/diagnostics12071572.
- Damoiseaux J., Andrade L.E.C., Carballo O.G., Conrad K., Franciscantonio P.L.C., Fritzl M.J. et al. Clinical relevance of HEP-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann. Rheum. Dis.* 2019; 78(7):879–89. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214436.
- Zhang W.C., Zhao F.R., Chen J., Chen W.X. Meta-analysis: diagnostic accuracy of antinuclear antibodies, smooth muscle antibodies and antibodies to a soluble liver antigen/liver pancreas in autoim-

- mune hepatitis. *PLoS One*. 2014; 9(3):e92267. DOI: 10.1371/journal.pone.0092267.
34. 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; 2019: 302-20. (in Russian)
  35. Rigopoulou E.I., Roggenbuck D., Smyk D.S., Liaskos C., Mytilinaiou M.G., Feist E. et al. Asialoglycoprotein receptor (ASGPR) as target autoantigen in liver autoimmunity: lost and found. *Autoimmun. Rev.* 2012; 12(2):260-9. DOI: 10.1016/j.autrev.2012.04.005.
  36. Czaja A.J. Autoantibody-negative autoimmune hepatitis. *Dig. Dis. Sci.* 2012; 57(3):610-24. DOI: 10.1007/s10620-011-2017-z.
  37. Metcalf J.V., Mitchison H.C., Palmer J.M., Jones D.E., Bassendine M.F., James O.F. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet*. 1996; 348:1399-1402. DOI: 10.1016/S0140-6736(96)04410-8.
  38. Gaiani F., Minerba R., Picanza A., Russo A., Melegari A., De Santis E. et al. Optimization of laboratory diagnostics of primary biliary cholangitis: when solid-phase assays and immunofluorescence combine. *J. Clin. Med.* 2022; 11(17):5238. DOI: 10.3390/jcm11175238.
  39. Hu S.; Zhao F.; Wang Q.; Chen W.X. The accuracy of the anti-mitochondrial antibody and the M2 subtype test for diagnosis of primary biliary cirrhosis: a meta-analysis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014; 52:1533-42. DOI: 10.1515/cclm-2013-0926.
  40. Zhang Q., Liu Z., Wu S., Duan W., Chen S., Ou X. et al. Meta-analysis of antinuclear antibodies in the diagnosis of antimitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2019; 2019:8959103. DOI: 10.1155/2019/8959103.
  41. Bauer A., Habior A., Gawel D. Diagnostic and clinical value of specific autoantibodies against Kelch-like 12 peptide and nuclear envelope proteins in patients with primary biliary cholangitis. *Biomedicines*. 2022; 10(4):801. DOI: 10.3390/biomedicines10040801.
  42. Reig A., Norman G.L., Garcia M., Shums Z., Ruiz-Gaspà S., Bentow C. et al. Novel anti-hexokinase I antibodies are associated with poor prognosis in patients with primary biliary cholangitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2020; 115:1634-41. DOI: 10.14309/ajg.0000000000000690.
  43. Villalta D., Seaman A., Tiongson M., Warren C., Bentow C., Bizzarro N. et al. Evaluation of a novel extended automated particle-based multi-analyte assay for the detection of autoantibodies in the diagnosis of primary biliary cholangitis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020; 58(9):1499-1507. DOI: 10.1515/cclm-2020-0122.