

На правах рукописи

ЧЕРКАСОВА

Мария Владимировна

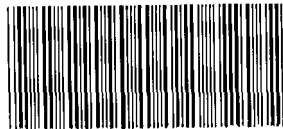
**АНТИТЕЛА К ЦИТРУЛЛИНИРОВАННЫМ БЕЛКАМ ПРИ
РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук



005569375

27 МАЙ 2015

Москва - 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РЕВМАТОЛОГИИ имени В.А. НАСОНОВОЙ

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Александрова Елса Николаевна

Официальные оппоненты:

Казakov Сергей Петрович - доктор медицинских наук, начальник центра клинической лабораторной диагностики – главный лаборант госпиталя, Федерального государственного казенного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации

Луговская Светлана Алексеевна - доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Институт повышения квалификации» Федерального медико-биологического агентства

Защита состоится «__»_____2015 года в 13.00 на заседании диссертационного совета Д 208.072.08 на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (117997, Москва, ул. Островитянова, дом 1)

С диссертацией можно ознакомиться в медицинской библиотеке ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» (117997, Москва, ул. Островитянова, дом 1)

Автореферат разослан «__»_____2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Рылова А.К.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы

Ревматоидный артрит (РА) – системное воспалительное аутоиммунное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением синовиальной оболочки суставов, а также прогрессирующей деструкцией хрящевой и костной тканей (Насонов Е.Л., 2008). Развитие РА сопровождается поликлональной активацией В-клеток и гиперпродукцией аутоантител, которые, активируя систему комплемента и лимфоциты (прямо или через образование иммунных комплексов), индуцируют воспаление и повреждение тканей организма (Vallerskog T. и соавт., 2007; Bizzaro N. и соавт., 2007). В сыворотке крови и синовиальной жидкости больных РА выявляется широкий спектр органоспецифических аутоантител: ревматоидные факторы (РФ), антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ), RA-33/hnRNP-A2, иммуноглобулин-связывающему белку Vip/p68, глюкозо-6-фосфат изомеразе, кальпаستатину, коллагену типа II, негистоновым хромосомальным белкам HMG1/2, карбамилированным белкам (Bang H. и соавт., 2007; Conrad K. и соавт., 2010; Kinloch A., 2005; Masson-Bessiere C. и соавт., 2001; Schellekens G. и соавт., 1998; Song J. и соавт., 2010; van Boeckel M. и соавт., 2002). Наибольшее значение в лабораторной диагностике РА имеют серологические тесты, связанные с определением РФ и АЦБ. Результаты исследования IgM РФ и антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) в сыворотке крови включены в новые классификационные критерии диагностики РА ACR/EULAR 2010 г. (Aletaha D. и соавт., 2010).

IgM РФ - чувствительный, но недостаточно специфичный биомаркер РА, обнаруживающийся в сыворотках и при других ревматических заболеваниях, хронических инфекциях, болезнях легких, злокачественных новообразованиях, первичном билиарном циррозе, а также в пожилом возрасте (Shmerling R. и соавт., 1991; Tigh H. и соавт., 1997; Waaler E., 1939). Выявление IgM РФ в высокой концентрации может являться предиктором быстропрогрессирующего деструктивного поражения суставов и развития системных проявлений при РА (Shmerling R. и соавт., 1992; van Boeckel M. и соавт., 2002; van Leeuwen M. И соавт., 1995). Положительные результаты определения IgA РФ также обладают определенной прогностической ценностью в отношении развития тяжелой эрозивной деструкции суставов у больных данным заболеванием (Houssen D. и соавт., 1997; Vencovsky J. и соавт., 2003).

АЦБ – гетерогенная группа аутоантител, распознающих антигенные детермиnants белков, содержащих цитруллин. К семейству АЦБ относятся АЦЦП, антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ), антикератиновые антитела (АКА) и др.

АЦЦП – высокоспецифичный диагностический маркер РА, особенно на ранней стадии заболевания (Block D. и соавт., 2012; Koivula M. и соавт., 2012; Kroot E. и соавт., 2000; van Venrooij W. и соавт., 2008; Vossenaar E. и

соавт., 2004). Определение АЦЦП имеет важное значение для диагностики серонегативного по РФ РА (частота обнаружения у IgM РФ-отрицательных больных составляет 20-40%), дифференциальной диагностики РА с другими ревматическими заболеваниями, прогнозирования тяжелого эрозивного поражения суставов. Обнаружение АЦЦП в сыворотке крови служит предиктором развития РА у здоровых лиц и у пациентов с ранним недифференцированным артритом (Aggarwal R. и соавт., 2009; Nell V. и соавт., 2005; Nishimura K. и соавт., 2007; Syversen S. и соавт., 2008; Taylor P. и соавт., 2011; van der Helm-van Mil A. и соавт., 2007). Широкое распространение в лабораторной диагностике РА получило определение АМЦВ (Bang H. и соавт., 2006; Dejaso C. и соавт., 2006; Ursum J. и соавт., 2007). По сравнению с АЦЦП, АМЦВ обладают большей или сходной диагностической чувствительностью (ДЧ), но меньшей диагностической специфичностью (ДС) (Aggarwal R. и соавт., 2009; Luime J. и соавт., 2010; Qin X. и соавт., 2011). Полагают, что повышение уровня АМЦВ лучше ассоциируется с клинико-лабораторными показателями воспалительной активности РА и развитием тяжелого деструктивного поражения суставов, чем АЦЦП (Bang H. и соавт., 2007; Matsson L. и соавт., 2008; Ursum J. и соавт., 2007; Zimmermann C. и соавт., 2008). Антикератиновые антитела (АКА), обладают высокой диагностической специфичностью (ДС) при РА (Young B.J. и соавт., 1979). Отмечена связь позитивности по АКА с тяжестью заболевания и выраженностью суставной деструкции (Genevay S. и соавт., 2002).

В настоящее время выделяют АЦБ-позитивный и АЦБ-негативный субтипы РА, различающиеся по молекулярным механизмам патогенеза, тяжести течения заболевания и подходам к проводимой терапии (Aggarwal R. и соавт., 2009; Klareskog L. и соавт., 2009; Meyer O. и соавт., 2003; Song Y. и соавт., 2010; Ursum J. и соавт., 2009; Valesini G. и соавт., 2009). АЦБ-позитивный РА характеризуется ускоренной рентгенологической прогрессией деструктивного поражения суставов, тяжелым течением болезни с повышением общей летальности и более частым развитием коморбидных состояний. Однако данные о взаимосвязи АЦБ с клинико-лабораторными показателями активности патологического процесса, наличием системных проявлений, тяжестью деструктивного поражения суставов при РА остаются противоречивыми и нуждаются в уточнении (Combe B. и соавт., 2007; Kastbom A. и соавт., 2004).

Важной проблемой иммунодиагностики РА является стандартизация методов определения АЦБ (Bizzaro N. и соавт., 2007; Hoet R. и соавт., 1991; Raptopoulou A. и соавт., 2007; Schellekens G. и соавт., 1998; Sebbag M. и соавт., 1995; Simon M. и соавт., 1993). Отмечается низкая сопоставимость результатов ИФА АЦЦП и АМЦВ при использовании коммерческих наборов различных фирм-производителей, что обусловлено варьированием ДЧ и ДС тест-систем в зависимости от особенностей антигенов, реagens и значений верхней границы нормы (ВГН). Недавно были разработаны новые тесты для выявления АЦБ – электрохемилюминесцентный (ЭХЛ) метод обнаружения

АЦЦП в сыворотке крови и полуколичественный иммунохроматографический анализ (ИХА) АЦЦП и АМЦВ в сыворотке и цельной крови с помощью тест-полосок (Blackburn G. и соавт., 1991; Wong C. и соавт., 2009). Данные методы определения АЦБ существенно расширяют возможности лабораторной диагностики РА, однако их клиническое значение недостаточно изучено. Отсюда, актуальной задачей стандартизации лабораторных исследований при РА на постаналитическом этапе является сравнительный анализ показателей клинической информативности различных методов определения АЦБ с вычисленным их ДЧ, ДС, отношения правдоподобия положительных и отрицательных результатов (ОППР и ОПОР), площади под ROC-кривой (ППК), что позволяет идентифицировать оптимальные тест-системы для диагностики РА (Bizzaro N. и соавт., 2002, 2007; Girelli F. и соавт., 2004; Taylor P. и соавт., 2011). Поскольку для РА характерно одновременное присутствие нескольких разновидностей аутоантител в одном образце сыворотки крови, несомненный интерес представляет изучение диагностической ценности многопараметрического исследования профиля АЦБ и РФ при данном заболевании. Полученные результаты могут иметь существенное значение для ранней диагностики РА и характеристики клинико-иммунологических субтипов данного гетерогенного заболевания.

Цель исследования

Изучить методические особенности определения АЦБ; оценить роль данных аутоантител в диагностике, оценке активности и тяжести деструктивных изменений суставов при раннем и развернутом РА.

Задачи исследования

1. Оценить клиническую информативность различных методов определения АЦБ (ИФА, ЭХЛ, ИХА, НРИФ) в сыворотке крови при РА путем расчета ДЧ, ДС, ОППР, ОПОР и площади под ROC-кривой.
2. Определить уровни и частоту обнаружения АЦБ (АЦЦП, АМЦВ, АКА) и IgM/IgA РФ в сыворотке крови при раннем и развернутом РА.
3. Сопоставить уровни АЦБ (АЦЦП, АМЦВ, АКА) и IgM/IgA РФ в сыворотке крови с клинико-лабораторными показателями активности заболевания (DAS28, СОЭ, СРБ) и наличием внесуставных проявлений при раннем и развернутом РА.
4. Изучить связь между уровнями АЦБ (АЦЦП, АМЦВ, АКА), IgM/IgA РФ в сыворотке крови и выраженностью деструктивного поражения суставов при раннем и развернутом РА.
5. Сравнить показатели диагностической ценности исследования АЦБ (АЦЦП, АМЦВ, АКА) и IgM/IgA РФ в сыворотках крови больных с ранним и развернутым РА.
6. Разработать многопараметрическую прогностическую модель диагностики РА на основе определения АЦБ (АЦЦП, АМЦВ, АКА) и IgM/IgA РФ в сыворотке крови.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное изучение диагностической ценности различных методов определения АЦБ при РА на основе ИФА, ЭХЛ, ИХА и НРИФ. Показано, что данные методы, за исключением исследования АКА с помощью НРИФ, соответствуют категории “полезных” тестов для диагностики РА. Оптимальными показателями клипической информативности (ДС, ОППР и ППК) при РА обладают тест-системы для измерения АЦЦП в сыворотке крови с помощью ИФА (DIASSTAT) и ЭХЛ (А-ССР).

Доказано, что наиболее специфичным и информативным маркером для ранней диагностики РА является АЦЦП. Исследование АМЦВ, обладающих более высокой ДЧ, но меньшей ДС по сравнению с АЦЦП, может служить важным дополнительным тестом для диагностики РА у пациентов, негативных по IgM РФ и АЦЦП.

Показана взаимосвязь уровней АЦБ (АМЦВ, АЦЦП) с клинико-лабораторными показателями активности РА и рентгенологическими признаками суставной деструкции.

Многопараметрическая прогностическая модель на основе одновременного определения профиля аутоантител (IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ) обладает лучшей ДЧ и диагностической эффективностью при РА, по сравнению с исследованием отдельных показателей.

Практическая значимость

На основе полученных данных определен комплекс наиболее клинически информативных методов определения АЦБ в сыворотке крови для диагностики РА.

ИХА целесообразно применять только в качестве скринингового экспресс-метода определения АЦБ у больных РА с обязательным последующим использованием стандартного ИФА для подтверждения результатов теста.

Обнаружение в сыворотках больных IgM РФ и АЦЦП рекомендуется использовать в качестве лабораторных критериев диагностики РА. Положительные результаты определения АМЦВ и IgA РФ могут служить дополнительными серологическими маркерами для диагностики РА у IgM РФ/АЦЦП-негативных пациентов.

Выявление высокопозитивных сывороточных уровней IgM РФ, АЦЦП и АМЦВ тесно связано с быстро прогрессирующим деструктивным поражением суставов при РА.

Многопараметрический анализ IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ повышает эффективность лабораторной диагностики РА на ранней стадии заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Методы определения АЦБ в сыворотке крови с использованием ИФА, ЭХЛ и ИХА являются «полезными» лабораторными тестами для диагностики

РА. Наилучшими характеристиками диагностической ценности при РА обладают тест-системы для ИФА АЦЦП ("DIASTAT") и ЭХЛ АЦЦП ("А-ССР").

2. Наиболее специфичным и клинически информативным маркером для диагностики РА на ранней и развернутой стадии заболевания являются АЦЦП. АМЦВ отличаются большей ДЧ, но меньшей ДС и ОППР по сравнению с АЦЦП.

3. При РА увеличение концентрации IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ в сыворотке крови ассоциируется с активностью патологического процесса, повышение уровней АМЦВ и IgM РФ - с развитием внесуставных проявлений.

4. Высокопозитивные уровни АЦЦП, АМЦВ и IgM РФ отражают тяжесть деструктивного поражения суставов при РА.

5. Многопараметрический анализ профиля аутоантител (IgM/IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ) увеличивает их диагностическую ценность при РА.

Конкретное участие автора в получении научных результатов

На основе анализа имеющихся литературных данных автором совместно с научным руководителем определены цель и задачи исследования, выбраны оптимальные методы для проведения научной работы, разработаны протоколы исследований, сформированы специальные электронные базы для хранения, накопления и использования данных на 993 больном РА и 616 лиц контрольной группы; выполнена статистическая обработка материала. На клинической базе ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» автором лично проведены лабораторные исследования и проанализированы их результаты, которые были обобщены, обсуждены и сопоставлены с литературными данными.

Внедрение в практику

Основные результаты данной работы, проведенные в рамках НИОКР ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» «Значение мультиплексных молекулярно-клеточных технологий в лабораторной диагностике ревматических заболеваний» (Государственный регистрационный номер 01201180902, УДК 616.72-02.77-074) внедрены и используются в практике ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой». Материалы диссертации используются при чтении лекций, при проведении круглых столов и практических занятий для врачей и ординаторов.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ: 15 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертации на соискание степени кандидата биологических наук, 1 статья и 11 тезисов опубликованы в международных рецензируемых журналах.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на «Национальных днях лабораторной медицины России» (Москва, 2010 - 2013), Межрегиональном форуме «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» (Казань, 2012), Всероссийской научной конференции молодых ученых-медиков «Инновационные технологии в медицине XXI века» (Москва, 2012), I Евразийском конгрессе ревматологов (Алматы, 2012), VI Съезде ревматологов России (Москва, 2013). Первичная экспертиза диссертации проведена на межлабораторной конференции ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» 19 июня 2014 года.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, 2 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 15 отечественных и 242 зарубежных источника. Диссертация проиллюстрирована 43 таблицами и 16 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Общая клиническая характеристика больных

Обследовано 993 пациента с достоверным диагнозом РА, в том числе 102 – с ранней стадией РА (длительность заболевания < 6 месяцев) и 891- с развернутой стадией РА (длительность заболевания > 6 месяцев), наблюдавшихся в ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» в период с 2010 по 2012 год. Диагноз РА основывался на классификационных критериях ACR 1987 г. и ACR/EULAR 2010 г. (Aletaha D. и соавт., 2010; Arnett F. и соавт., 1988). Среди пациентов с ранним РА преобладали IgM РФ- (66,7%, $p=0,0001$), АЦЦП- (57%, $p=0,047$) и АКА- (62,5, $p=0,02$) позитивные больные с II рентгенологической стадией (72%, $p=0,0001$), I функциональным классом (73,5%, $p=0,0001$), низкой активностью заболевания по DAS28 (75,5%, $p=0,0001$). Основную часть пациентов с РА составляли лица женского пола, среднего возраста, серопозитивные по IgM РФ (67%, $p=0,0001$), АЦЦП (73%, $p=0,0001$), АМЦВ (85%, $p=0,0001$), с II функциональным классом заболевания (65%, $p=0,0001$). Группу сравнения ($n=616$) составили: 27 пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), 15 - с синдромом Шегрена (СШ), 25 - с анкилозирующим спондилоартритом (АС), 33 - с остеоартритом (ОА), 20 - с OVERLAP синдромом, 9 - с подагрическим артритом (ПА), 22 - с псориатическим артритом (ПСА), 168 - с недифференцированным артритом (НА) и 297 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными (табл. 1).

Таблица 1.

Клинико-лабораторная характеристика больных РА

п	102	891	319	297
Пол (ж/м)	79/23	733/158	240/79	222/75
Средний возраст (годы)	51(41-62)	51(43-56)	44(31-53)	42(32-49)
Длительность РА (мес.)	4(2,5-6)	96(36-192)	-	-
Функциональный класс п (%)				
I	75(73,5)	232(26)	-	-
II	27(26,5)	578(65)	-	-
III	0	75(8,4)	-	-
IV	0	6(0,6)	-	-
Рентг. стадия РА (Стейнброкер, модиф.)п(%)				
I	29(28)	19(2,1)	-	-
II	73(72)	306(34,3)	-	-
III	0	289(32,4)	-	-
IV	0	277(31)	-	-
Системные проявления	0	146(16)	-	-
DAS 28, баллы	5,1(4,1-5,9)	5,2(3,8-6)	-	-
ЧБС ¹	15(10-28,5)	14(7-23)	-	-
ЧПС ²	10(8-18)	7,5(3-14)	-	-
АЦП (Ед/мл), Ме (ИР)	36(0,5-100)	100(4-100)	0,8(0,4-1,5)	0,1(0,1-0,6)
СРБ, (мг/л), Ме (ИР)	9,5(3,4-32,9)	10(3,1-28,7)	2,8(0,8-10,3)	0,6(0,2-1,9)
IgM РФ (МЕ/мл), Ме (ИР)	39 (5-137)	49 (9,5-200)	0,0(0,0-14,3)	0,1(0,0-0,6)
СОЭ, (мм/ч), Ме (ИР)	31(22-41)	30(16-45)	-	-

¹-число болезненных суставов, ²-число припухших суставов

Методы исследования

Всем больным проводилось полное клиническое, лабораторное и инструментальное обследование с использованием стандартных методов, применяемых в ФГБУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН.

Клиническое исследование суставов включало стандартные методы подсчета числа болезненных и припухших суставов (Насонов Е.Л. и соавт., 2001). Для количественной оценки активности РА использовался модифицированный индекс DAS28 (Disease Activity Score 28) (Prevoo M. и соавт., 1995). Активность болезни классифицировалась следующим образом: ремиссия ($DAS28 \leq 2,6$), низкая ($2,6 < DAS28 \leq 3,2$), средняя ($3,2 < DAS28 \leq 5,1$), высокая ($> 5,1$).

Рентгенография суставов проводилась в рентгенологическом отделении ФГБУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН (руководитель д.м.н. Смирнов А.В.). Рентгенологическую стадию РА устанавливали по классификации Стейнброккера (Steinbrocker O. и соавт., 1949). Для подсчета эрозий и оценки сужения суставных щелей в суставах кистей и дистальных отделов стоп использовали метод Шарпа в модификации van der Heijde (van der Heijde D.M. и соавт., 1999).

Иммунологические исследования проводились в лаборатории клинической иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» (руководитель – д.м.н. Александрова Е.Н.).

Определение уровня IgM РФ проводилось иммунофелометрическим методом с латексным усилением на анализаторе “BN ProSpec”, Siemens, ФРГ; IgA РФ методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора реагентов “Rheumatoid Factor IgA”, ORGENTEC Diagnostika”, ФРГ; АЦЦП определяли методом ИФА (“Anti-CCP”, Axis-Shield, Великобритания; Anti-CCP, Euroimmun, Швеция; Bindazyme Anti-CCP, Binding Site, Великобритания и электрохемилюминесцентным (ЭХЛ) методом на автоматическом анализаторе “Cobas 411” (“Roche” Швейцария), АМЦВ (ИФА, “Anti-MCV”, ORGENTEC Diagnostika, ФРГ), определение АКА проводилось методом непрямой иммунофлюоресценции (“Anti-Keratin Antibody IFA”, IMMCO Diagnostics, США), СРБ высокочувствительным иммунофелометрическим методом с латексным усилением на анализаторе “BN ProSpec”, “Siemens”, ФРГ. Качественное определение АЦЦП методом сухой иммунохроматографии (ИХА) на основе коллоидного золота проводили с использованием сухих тест-полосок “CCPoint” фирмы “Euro-Diagnostica” (Швеция); качественное определение АМЦВ проводили с использованием сухих тест-полосок “Rheumachek” фирмы “Orgentec” (ФРГ) согласно инструкции фирмы-изготовителя. Исследования АЦЦП и АМЦВ с помощью метода ИХА использовались для сравнения диагностической ценности различных методов определения АЦБ.

Методы оценки клинической информативности определения биомаркеров при РА

Оценка клинической информативности определения биомаркеров РА осуществлялась путем расчета операционных характеристик теста: диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС), отношения правдоподобия положительного и отрицательного результатов (ОППР и ОПОР) (Реброва О.Ю., 2003). Согласно рекомендациям ACR наиболее полезными для диагностики РА считались лабораторные тесты с ОППР > 5 и ОПОР < 0,2; полезными – с ОППР > 2 и ≤ 5, ОПОР > 0,2 и ≤ 0,5; не имеющими пользы - с ОППР ≤ 2 и ОПОР > 0,5. Для анализа диагностической эффективности (ДЭ) лабораторных тестов использовалась также характеристическая кривая (ROC-кривая), отражающая зависимость частоты истинно положительных результатов (чувствительность) от частоты ложноположительных результатов (1-специфичность). Диагностическая ценность лабораторного теста определялась тем, насколько высоко лежит его ROC-кривая. Для оценки ROC-кривых вычислялась площадь под кривой (AUC), варьирующая от 0,5 (отсутствие диагностической эффективности теста) до 1,0 (максимальная эффективность теста) (Zweig M., 1993).

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы «Statistica 8.0» («StatSoft», США), включая методы параметрического и непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна-Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскелла-Уоллеса, результаты представлены в виде медианы [Me] с интерквартильным интервалом [ИИ] 25-75 процентиль. Корреляционный анализ проводился с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая информативность различных методов определения антител к циркулирующим белкам при ревматоидном артрите

При определении методами ИФА и ЭХЛ уровни АЦБ у больных РА достоверно превышали таковые у пациентов с СКВ, ОА, OVERLAP-синдромом, ПСА, АС и здоровых доноров ($p < 0,05$) (табл.2).

При сравнении клинической информативности различных методов определения АЦБ при РА, наилучшей ДЧ (83%-85%) обладал метод ИХА (табл.2). Крайне низкую ДЧ (22%) показало исследование АКА с помощью НРИФ. Наибольшую ДС (94%) при определении АЦБ продемонстрировал метод ЭХЛ, для ИФА данный показатель колебался в рамках 67%-94%. Все тесты, исключая НРИФ показали возможность достижения высоких (ИФА «DIASTAT» - 12,1, ЭХЛ – 12,0) и умеренных (ИХА «Anti-CCP»-8,5) рангов ОППР. Ранги ОПОР для ИФА и ЭХЛ методов определения АЦБ соответствовали “низкому, но в ряде случаев полезному” диагностическому значению (0,3), а для ИХА – “умеренному” (0,2). Согласно рекомендациям АCR все представленные методы соответствуют категории “полезных” для диагностики РА. При оценке ППК большинство методов/тест-систем, использовавшихся для измерения АЦБ за исключением НРИФ (0,47) и ИХА “Rheumachek” (0,57), показали достаточно высокую диагностическую эффективность при РА (0,71-0,97); максимальное значение данного параметра продемонстрировал метод ЭХЛ (0,97). Методы выявления АЦБ с использованием ИФА, ЭХЛ и ИХА относятся к категории «полезных» тестов для диагностики РА. Среди тест-систем для определения АЦБ наилучшей клинической информативностью при РА обладают “DIASTAT Anti-CCP” (ИФА) и “А-CCP” (ЭХЛ), имеющие самые высокие показатели ДС (94%), ОППР (12,1-12,0) и ППК (0,93-0,97). Определение АКА с помощью НРИФ является неэффективным тестом для диагностики РА. Полуколичественный ИХА АМЦВ (Rheumachek) несмотря на высокую ДЧ (83%) и удовлетворительные показатели ОППР (2,7) и ОПОР (0,2), обладает низкой

Таблица 2.
Уровни/частота выявления АЦБ у пациентов с РА, другими РЗ и
здоровых доноров

Наименование	DIASTAT	Anti-CCP	Bindazyme anti-CCP	Anti-MCV	A-CCP	CCPoint	Rheumachek	Anti-Keratin Antibody IFA
РА (n=144)	100 (15,2-200)	33,75 (1,2-200,0)	37,4 (7,9-1334,1)	164,8 (29,7-722,8)	16,5 (7-445,3)	97(85)	95(83)	32(22)
СКВ (n=14)	0,7 (0,5-1,0)	1,8 (1,2-2,2)	2,3 (0,8-18,9)	0,5 (0,1-27,1)	7,0 (7,0-7,0)	2(14)	11(80)	2(11)
ОА (n=11)	0,8 (0,6-1,1)	1,7 (1,4-1,8)	4,5 (1,8-12,7)	9,0 (0,7-22,6)	7,0 (7,0-7,0)	0(0)	9(80)	4(36)
ПСА (n=8)	0,9 (0,8-1,0)	1,4 (1,1-1,5)	0,5 (0,4-0,7)	0,3 (0,2-0,5)	7,0 (7,0-7,0)	0(0)	2(20)	0(0)
OVERLAP (n=11)	1,4 (1,2-51,0)	2,6 (2,2-3,6)	17,3 (6,5-28,5)	17,2 (6,7-38,0)	7,0 (7,0-18,0)	4(40)	4(40)	4(40)
АС (n=10)	0,8 (0,6-0,9)	1,6 (1,3-1,9)	2,3 (0,7-8,9)	18,2 (2,3-44,0)	7,0 (7,0-7,0)	0(0)	5(50)	3 (30)
Здоровые доноры (n=19)	0,6 (0,3-0,8)	2,9 (1,3-5,6)	12,3 (0,9-17,8)	3,5 (0,9-7,9)	7,0 (7,0-8,2)	2(9)	5(26)	4(21)
Группа сравнения в целом (n=73)	0,8 (0,6-1,2)	1,7 (1,3-2,2)	3,5 (0,7-15,5)	4,3 (0,4-25,3)	7,0 (7,0-7,0)	8(11)	36 (49)	17(23)

ДС (51%) и ППК (0,57), вследствие чего может использоваться преимущественно в качестве скринингового экспресс-теста с обязательным подтверждением результатов методами ИФА и ЭХЛ (табл.3).

Таблица 3.
Показатели клинической информативности методов/тест-систем,
использующихся для определения АЦБ

Наименование	DIASTAT	Anti-CCP	Bindazyme anti-CCP	Anti-MCV	A-CCP	CCPoint	Rheumachek	Anti-Keratin Antibody IFA
ДЧ %	73	71	78	79	72	85	83	22
ДС %	94	87	81	67	94	89	51	77
ОППР	12,1	5,3	4,1	2,4	12	8,5	2,7	0,95
ОПОР	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	1,0
ППК	0,93	0,71	0,9	0,86	0,97	0,87	0,57	0,47

При определении АЦБ согласованность результатов (\bar{x}), полученных методами ИФА и ЭХЛ, была “хорошей” либо “высокой”, согласованность ИХА с ИФА и ЭХЛ колебалась от “слабой” до “высокой”. НРИФ показал “слабую” согласованность с другим методами определения АЦБ. (табл. 4).

Таблица 4.

Степень согласованности (α), методов определения АЦБ (n=217)

метод	Наименование	ИФА				ЭХЛ	ИХА	
		Anti-CCP	DIASTAT	Bindazyne anti-CCP	Anti-MCV	Anti-CCP	CCPoint	Rheumachek
ИФА	DIASTAT	0,8						
	Bindazyne anti-CCP	0,7	0,8					
	Anti-MCV	0,5	0,5	0,6				
ЭХЛ	A-CCP	0,85	1	0,8	0,5			
ИХА	CCPoint	1	0,8	0,5	0,3	0,8		
	Rheumachek	0,1	0,8	0,1	0,4	0,1	0,1	
ИРИФ	Anti-Keratin Antibody IFA	0,03	0,01	0,1	0,4	0,15	0,03	0,2

По данным R. Aggarwal и соавт., 2009, обобщившего многочисленные исследования ДЧ определения АЦБ методом ИФА, она составляет от 66% до 77,5%, что согласуется с полученными нами результатами (71-79%).

Полученные нами значения ДЧ (72%) и ДС (94%) определения АЦЦП₂ методом ЭХЛ согласуются с результатами Chenevier-Gobeaux С. и соавт., 2009, (75% и 96% соответственно). Все характеристики диагностической ценности исследования АЦЦП с помощью ЭХЛ сопоставимы с соответствующими результатами для ИФА и ИХА, при этом ЭХЛ обладала высоким рангом ОППР (12,0), но проявил более низкую ДЧ по сравнению с ИХА. ЭХЛ показала хорошую и высокую степень согласованности со всеми методами определения АЦЦП₂, (в частности с ИФА, $\alpha = 1$), что подтверждает данные Cai В. и соавт., 2011. В литературе (Bas S.и соавт.,2003; Fathi N.А.и соавт.,2008; Nogueira L.и соавт.,2001; Pramod К.и соавт., 2012; Youinou Р. и соавт.,1985; Young В.Ј.и соавт.1979) приводятся различные данные относительно ДЧ АКА при РА (27,6-58%), но при этом, как и в нашем исследовании, отмечается, что по этому параметру АКА существенно уступают АЦЦП и АМЦВ.

Клиническое значение аутоантител при ревматоидном артрите

Результаты определения концентрации аутоантител в сыворотках больных РА и группы сравнения представлены в табл. 5.

IgM ревматоидный фактор

Концентрация IgM РФ при раннем и развернутом РА превышала таковую в группе сравнения ($p=0,0001$ в обоих случаях). Статистически значимых различий по уровню IgM РФ между группами больных ранним РА и развернутым РА не обнаружено (табл. 5). Среди пациентов с ранним РА, серопозитивных по IgM РФ ($>15,0$ МЕ/мл) в отличие от серонегативных ($<15,0$ МЕ/мл), преобладают больные (52% vs 32%; $p=0,04$) с высокой

активностью по DAS28 (>5,1), II-ым функциональным классом заболевания (24,5% vs 0,0, p=0,0001), II рентгенологической стадией по Стейнброчеру (79% vs 60%, p=0,02), более высокой концентрацией IgA РФ [54,5(23,0-200,1) vs 19,3(18,6-19,4) Ед/мл, p=0,01], АЦЦП [100,0(9,1-100,0) vs 0,9(0,3-7,6) Ед/мл, p=0,0001] и АМЦВ [133,6(26,5-823,0) vs 4,3(0,3-30,5) Ед/мл, p=0,0001.

Таблица 5.

Концентрации аутоантител при РА и в группе сравнения

Ранний РА (<6 мес.)	39,0 (5,0-137,0) *† n=102	27,0 (19,0-80,0) *†‡ n=21	36,0 (0,5-100,0) *†‡ n=102	68,5 (1,0-692,0) *†‡ n=62	12 (37,5) *† n=32
Развернутый РА (>6 мес.)	49,0 (9,5-200,0) *† n=891	142,0 (25,0-388,0) *† n=105	100,0 (4,0-100,0) *† n=891	273 (40,7-973,0) *† n=349	13 (28) n=46
Другие РЗ	0,0 (0,0-14,3) n=319	0,1 (0,1-21,0) n=50	0,8 (0,4-1,5) n=319	1,2 (0,3-19,0) n=319	21 (26) n=52
СКВ	0,0 (0,0-0,0) n=27	21,0 (2,0-61,0) n=7	1,0 (0,2-27,0) n=27	1,0 (0,2-27,0) n=27	1 (10) n=10
НА	0,0 (0,0-19,0) n=168	-	1,0 (0,2-24,0) n=168	1,0 (0,2-24,0) n=168	-
СШ	0,0 (0,0-0,0) n=15	-	2,0 (2,0-2,0) n=15	2,0 (2,0-2,0) n=15	-
ПА	0,0 (0,0-0,0) n=9	-	0,3 (0,1-0,4) n=9	0,3 (0,1-0,4) n=9	-
ОА	0,0 (0,0-0,0) n=33	0,1 (0,1-0,1) n=12	1,0 (0,3-3,0) n=33	1 (0,3-3,0) n=33	4 (33) n=12
OVERLAP	36,0 (5,2-262,0) n=20	181,5 (6-500) n=10	15,0 (0,4-26,0) n=20	15 (0,4-26,0) n=20	3 (33) n=9
АС	0,0 (0,0-0,0) n=25	0,1 (0,1-0,2) n=11	8,0 (2,0-41,0) n=25	8,0 (2,0-41,0) n=25	3 (27) n=11
ПСА	0,0 (0,0-0,0) n=22	0,15 (0,1-0,2) n=10	0,3 (0,1-1,0) n=22	0,3 (0,1-1,2) n=22	3 (30) n=10
Здоровые доноры	0,0 (0,0-0,0) n=297	0,1 (0,1-0,1) n=35	0,4 (0,2-11,0) n=297	0,4 (0,2-11,0) n=297	7 (25) n=28
Группа сравнения	0,1 (0,0-17,0) n=616	0,1 (0,1-0,1) n=85	1,0 (0,3-1,4) n=616	1 (0,2-14,0) n=616	22 (27,5) n=80

* - p<0,05 относительно здоровых доноров, †-относительно других РЗ, ‡- p<0,05 относительно группы сравнения в целом, †‡-p<0,05 между ранней и развернутой стадиями РА. Данные представлены в виде Ме (25-75 %).

В группе пациентов с развернутым РА серопозитивных по IgM РФ, в отличие от серонегативных, преобладают больные с высокой активностью по DAS28 (45% vs 39%, $p=0,04$), III рентгенологической стадией (32% vs 25%, $p=0,015$), II функциональным классом заболевания (56% vs 50%, $p=0,04$), высокопозитивные по IgA РФ ($>60,0$ Ед/мл; 86%, $p=0,0001$), АЦЦП ($>15,0$ Ед/мл; 91%, $p=0,0001$) и АМЦВ ($>60,0$ Ед/мл; 91%, $p=0,0001$). На ранней стадии РА уровень IgM РФ коррелирует с числом припухших суставов (ЧПС) ($r=0,6$; $p=0,03$), а у лиц с ранним и развернутым РА возрастает в зависимости от прогрессирования суставной деструкции (табл.6).

Таблица 6.

Уровни IgM РФ (МЕ/мл) в зависимости от рентгенологической стадии РА (n=53)

	5 (5-18) ^{2,3,4}	48 (9,5-243) ¹	80 (39-199,5) ¹	74 (21-237) ¹
IgM РФ, Mc (25-75%)				

^{1,2,3,4}- $p<0,01$ по сравнению с соответствующей рентгенологической стадией

IgA ревматоидный фактор

Концентрация IgA РФ при раннем и развернутом РА превышала таковую в группе сравнения ($p=0,0001$ в обоих случаях). Уровень IgA РФ при развернутом РА в 2,5 раза превышал таковой при раннем РА ($p=0,02$) (табл. 3). В группе позитивных по IgA РФ пациентов с развернутым РА, по сравнению с пациентами негативными по данному показателю, выявлено: повышение СОЭ [50,0(32,0-72,0) vs 33,0(22,0-49,5) мм/ч, $p=0,01$], повышение концентраций IgM РФ [213,4(46,1-528,1) vs 9,5(0,1-52,3), $p=0,0001$], АЦЦП [100,0(50,5-323,5) vs 3,9(0,2-7,0), Ед/мл., $p=0,0001$], АМЦВ [470,2(97,6-1000,0) vs 7,3(2,6-54,6) Ед/мл., $p=0,0001$], а также большее количество больных с высокой ($>5,1$) активностью по DAS28 (62% vs 0%, $p=0,0001$). При развернутом РА уровень IgA РФ коррелирует с таким показателем активности воспаления при РА как СОЭ ($r=0,3$, $p<0,05$). IgA РФ проявил одинаково удовлетворительные значения диагностической значимости и эффективности теста независимо от клинической стадии РА.

Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду

Концентрация АЦЦП при раннем и развернутом РА превышала таковую в группе сравнения ($p=0,0001$ в обоих случаях). При развернутом РА сывороточный уровень АЦЦП достоверно превышал таковой при раннем РА в 2,8 раза ($p=0,001$) (табл. 3). Независимо от клинической стадии заболевания серопозитивность по АЦЦП ($>5,0$ Ед/мл), ассоциировалась с высоким уровнем СРБ: при раннем РА - 15,5(5,8-36,5) vs 6,6(1,4-17) мг/л, $p=0,004$, при развернутом РА - 13,4(4,2-33,6) vs 6,4(1,6-20,9) мг/л, $p=0,0001$. Концентрация АЦЦП при раннем и развернутом РА коррелировала с ЧБС ($r=0,6$, $p=0,02$ и

$r=0,3$; $p=0,0003$, соответственно), также ее повышение ассоциировалась с выраженностью суставной деструкции (табл. 7).

Таблица 7.

Связь уровня АЦЦП с рентгенологическими показателями суставной деструкции при РА (n=53)

	Уровни позитивности			Все позитивные
	0-12	13-24	25-105	
Кол-во эрозий	3(0-12)	25(0-105)	13(5-33)	14(5-33)
Кол-во сужений	34(24-58)	102(20-137)	76(58-105)*	76(58-105)*
Общий счет	43	127	95,5	98
Sharp-van der Heijde	(30-34)	(20-242)	(65-18)*	(68-122)*

*- $p<0,01$ по сравнению с группой негативных значений АЦЦП

Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину

Концентрация АМЦВ при раннем и развернутом РА превышала таковую в группе сравнения ($p=0,0001$ в обоих случаях). При развернутом РА сывороточный уровень АМЦВ превышал таковой при раннем РА в 4 раза ($p=0,002$) (табл. 3). При раннем РА обнаружена взаимосвязь уровня АМЦВ с концентрацией СРБ ($r=0,3$, $p<0,05$); при развернутой стадии заболевания с СРБ ($r=0,2$, $p<0,05$), DAS28 ($r=0,2$, $p<0,05$) и выраженностью рентгенологических признаков суставной деструкции (табл. 8). При развернутом РА позитивность по АМЦВ ($>20,0$ Ед/мл) ассоциировалась с высокой активностью заболевания по DAS28 [$5,3(4,3-6,2)$ $p=0,002$].

Таблица 8.

Связь уровня АМЦВ с рентгенологическими показателями суставной деструкции (n=50)

	Уровни позитивности			Все позитивные
	0-18	19-20	21-107	
Кол-во эрозий	6(0-18)	5(0-20)	14,5(5-40)	13(3-33)
Кол-во сужений	28(20-76)	44(21-53)	80(61,5-107)*	76(53-105)
Общий счет	46	48	100,5	96,5
Sharp-van der Heijde	(20-82)	(23-73)	(67-122,5)*	(61-122)

*- $p<0,01$ по сравнению с группой низкопозитивных значений АМЦВ

Антитела к кератину

Больные РА серопозитивные по АКА, отличалась на ранней стадии заболевания от серонегативных больных более высоким уровнем АЦЦП [$100,0(22,8-100,0$ vs $8,3(0,4-100,0)$, $p=0,04$], а при развернутом РА более высокой концентрацией АМЦВ в сыворотке крови [$1000,0(356,6-1000,0)$ vs $236,7(48,6-658,3)$, $p=0,003$] и низкой частотой выявления пациентов с высокой активностью заболевания (24% vs 68% , $p=0,005$), II рентгенологической стадией (9% vs 37% , $p=0,001$) и II функциональным классом РА (9% vs 35% , $p=0,001$).

Таким образом, нами получены данные о взаимосвязи уровней аутоантител (IgM РФ, АЦЦП, АМЦВ) с показателями активности РА (СРБ,

ЧПС, ЧБС), что подтверждает результаты, ранее описанные зарубежными авторами (Amgri M. И соавт., 2011). Однако, как в данном, так и в других исследованиях, не удалось найти взаимосвязи концентраций аутоантител со значениями индекса активности РА - DAS28 (Greiner A. и соавт., 2005). В настоящей работе показано, что выявление IgM РФ и АЦБ являются признаком развития быстропрогрессирующего деструктивного поражения суставов. Выявлено более высокое количество суставных эрозий в группе пациентов с серопозитивных по IgM РФ и АЦЦП по сравнению с негативными, повышение уровня IgM РФ в зависимости от рентгенологической стадии РА, а также ассоциация уровней АЦЦП и АМЦВ с рентгенологическими изменениями по Sharp-van der Heijde, что согласуется с данными других исследователей (Ronnelid J. и соавт., 2005; Mathsson L. и соавт., 2008).

Диагностическое значение аутоантител при ревматоидном артрите

Результаты оценки диагностического значения аутоантител при ревматоидном артрите представлены в табл. 9.

Согласно полученным данным, определение IgM РФ, IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ относится к категории “полезных” тестов, обладающих “очень хорошей” эффективностью для диагностики РА, независимой от стадии заболевания и проявляет одинаково удовлетворительные значения диагностической точности и эффективности теста независимо от клинической стадии заболевания. Определение АКА попадает в категорию тестов “не имеющих пользы”, обладающих “неудовлетворительной” эффективностью для диагностики РА независимо от его клинической стадии (табл.9).

Прогностические модели для диагностики ревматоидного артрита

С целью выбора оптимальной панели аутоантител для диагностики раннего РА и развернутого РА был проведен пошаговый линейный регрессионный анализ. В качестве возможных предикторов тестировали: IgM РФ, IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ, АКА. На основании полученных данных вероятность наличия раннего РА рассчитывается по формуле: $2,209 - 0,001 \times [\text{IgM РФ}] - 0,002 \times [\text{IgA РФ}] - 0,001 \times [\text{АМЦВ}] + 0,001 \times [\text{АЦЦП}]$; развернутого РА: $2,093 - 0,001 \times [\text{IgM РФ}] - 0,002 \times [\text{IgA РФ}] + 0,001 \times [\text{АМЦВ}] + 0,001 \times [\text{АЦЦП}]$. В качестве верхних границ норм, для раннего РА выбрано значение прогноза 1,698, для РА 1,436 при которых данные модели обладают наилучшей диагностической точностью: ДЧ 90%, ДС 80%, ОПНР 4,5, ОПОР 0,1, ППК 0,91 и ДЧ 92%, ДС -78%, ОПНР 4,1, ОПОР 0,1, ППК 0,95 соответственно.

Таблица 9.

Диагностическое значение аутоантител при ревматоидном артрите

Аутоантитело	Концентрация	Специфичность	Чувствительность	Специфичность
IgA РФ	15,0 МЕ/мл	n	21	105
		ДЧ %	71	82
		ДС %	83,5	83,5
		ОПР	4,3	4,9
		ОПОР	0,3	0,2
		ППК	0,9	0,9
IgM РФ	20,0 ЕД/мл	n	102	891
		ДЧ %	67	67
		ДС %	79	79
		ОПР	3,2	3,2
		ОПОР	0,4	0,4
		ППК	0,8	0,8
АМЦВ	20,0 ЕД/мл	n	69	85
		ДЧ %	69	85
		ДС %	81	81
		ОПР	3,6	4,5
		ОПОР	0,4	0,2
		ППК	0,8	0,8
АЦЦП	5,0 ЕД/мл	n	102	891
		ДЧ %	59	75
		ДС %	87	87
		ОПР	4,5	5,8
		ОПОР	0,4	0,3
		ППК	0,7	0,8
АКА	1:10	n	36	46
		ДЧ %	37,5	28
		ДС %	72,5	72,5
		ОПР	1,4	1
		ОПОР	0,8	0,04
		ППК	0,5	0,5

Таким образом, диагностическими маркерами РА служат IgM/IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ. АМЦВ обладает наилучшей ДЧ, а АЦЦП – ДС и ОПР. При раннем РА IgA РФ, АЦЦП и АМЦВ демонстрируют меньшую ДЧ по сравнению с более поздними стадиями заболевания. Однако существует мнение что, несмотря на включение результатов определения IgM РФ в диагностические критерии РА, данный тест следует использовать в большей степени, для прогноза течения РА (Combe В. и соавт., 2007). Результаты данного исследования подтверждают высокую диагностическую точность определения РФ и АЦБ, выделяя АЦЦП как наиболее диагностически значимый маркер РА и подтверждают данные о диагностической

значимости определения АМЦВ в сыворотках крови больных РА (Aggarwal R. и соавт., 2009; Dejaco C. И соавт. 2008). Полученные в данном исследовании, данные о крайне невысокой ДЧ АКА, совпали с результатами зарубежных исследователей и подтвердили нецелесообразность использования данных антител для диагностики РА (Vasiliauskienė L. и соавт., 2001).

При применении метода линейного регрессионного анализа в нашей работе показано, что оценка диагностических характеристик для панели аутоантител, состоящей из IgM и IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ, позволяет повысить ДЧ до 90% при раннем и до 92% при развернутом РА, подтверждая ранее полученные результаты (Dubucquoi S. и соавт., 2004; Girelli F. И соавт., 2004; Quinn A. и соавт., 2006).

ВЫВОДЫ

1. Методы определения антител к цитруллинированным белкам в сыворотке крови с использованием методов иммуноферментного анализа, иммунохроматографического анализа, электрохемиллюминесценции относятся к категории «полезных» лабораторных тестов для диагностики ревматоидного артрита. Оптимальными показателями клинической информативности при данном заболевании обладают тест-системы для определения антител к циклическому цитруллинированному пептиду методом иммуноферментного анализа и электрохемиллюминесценции. Иммунохроматографический метод выявления антител к циклическому цитруллинированному пептиду и антител к модифицированному цитруллинированному виментину характеризуется высокой диагностической чувствительностью, но низкими значениями диагностической специфичности и эффективности. Определение антител к кератину методом непрямой реакции иммунофлюоресценции является неэффективным тестом для диагностики ревматоидного артрита.
2. На ранней и развернутой стадиях ревматоидного артрита высокопозитивные уровни IgM ревматоидного фактора выявляются у 54% и 52% больных, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду у 52% и 67% и антитела к модифицированному цитруллинированному виментину у 50% и 70% больных соответственно. У пациентов с ранней стадией заболевания чаще встречаются низкопозитивные результаты измерения IgA ревматоидного фактора.
3. Повышение уровня аутоантител в сыворотках больных ревматоидным артритом ассоциируется с клинико-лабораторными показателями активности заболевания. При раннем ревматоидном артрите регистрируется положительная корреляционная взаимосвязь уровня IgM ревматоидного фактора с числом припухших суставов ($r=0,6$, $p=0,03$); уровня антител к циклическому цитруллинированному пептиду – с числом болезненных суставов ($r=0,6$, $p=0,02$); уровня антител к модифицированному цитруллинированному виментину - с концентрацией С-реактивного белка

($r=0,3$, $p=0,001$). При развернутом ревматоидном артрите выявляется положительная корреляция уровня IgM ревматоидного фактора с содержанием С-реактивного белка ($r=0,3$, $p=0,0001$); уровня IgA ревматоидного фактора - с СОЭ ($r=0,3$, $p=0,005$); уровня антител к циклическому цитруллинированному пептиду - с числом болезненных суставов ($r=0,3$, $p=0,003$).

4. При развернутом ревматоидном артрите увеличение концентрации антител к модифицированному цитруллинированному виментину и IgM ревматоидного фактора в крови достоверно коррелирует с развитием внесуставных проявлений заболевания.

5. Высокопозитивные уровни IgM ревматоидного фактора, антител к циклическому цитруллинированному пептиду и антител к модифицированному цитруллинированному виментину ассоциируются с развитием эрозивного поражения суставов (по Sharp-van der Heijde) при ревматоидном артрите.

6. Диагностическими маркерами ревматоидного артрита служат IgM/IgA ревматоидные факторы, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду и модифицированному цитруллинированному виментину. На ранней и развернутой стадиях заболевания антитела к модифицированному цитруллинированному виментину обладают наиболее высокими показателями диагностической чувствительности (69% и 85%), а антитела к циклическому цитруллинированному пептиду – диагностической специфичностью (87%) и отношением правдоподобия положительного результата (4,5 и 5,8). При раннем ревматоидном артрите IgA ревматоидный фактор, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду и модифицированному цитруллинированному виментину демонстрируют меньшую диагностическую чувствительность (71%, 59% и 69%) по сравнению с развернутым ревматоидным артритом (82%, 75% и 85%).

7. Прогностические модели для диагностики раннего и развернутого ревматоидного артрита, основанные на одновременном определении профиля аутоантител (IgM/IgA ревматоидные факторы, антитела к циклическому цитруллинированному пептиду и антитела к модифицированному цитруллинированному виментину), значительно превосходят по своей клинической информативности диагностическую ценность раздельного исследования данных антител.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При определении АЦБ следует применять наиболее клинически информативные методы количественного иммунного анализа: ИФА - с целью обнаружения АЦЦП и АМЦВ, ЭХЛ - для выявления АЦЦП. Полуколичественный экспресс-метод ИХА рекомендуется только для скринингового определения АЦБ в крови с обязательным подтверждением результатов тестов с помощью ИФА и ЭХЛ.

2. Положительные результаты определения IgM РФ и/или АЦЦП в сыворотке крови следует использовать в качестве лабораторных критериев диагностики РА.
3. Определение АМЦВ и IgA РФ рекомендуется использовать в качестве дополнительных лабораторных маркеров для диагностики РА у серонегативных по IgM РФ и/или АЦЦП пациентов.
4. Для повышения эффективности диагностики РА рекомендуется применение многопараметрического анализа профиля аутоантител (IgM/IgA РФ, АЦЦП, АМЦВ).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину и циклическому цитруллинированному пептиду при раннем ревматоидном артрите/ А. А. Новиков, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев, Н. В. Демидова, **М. В. Черкасова**, Л. Н. Денисов, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2007. - № 9. - С. 50.
2. Diagnostic value of antibodies against a modified citrullinated vimentin, cyclic citrullinated peptide and IgM rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis/ А. А. Novikov, E. N. Alexandrova, D. E. Karateev, N. V. Demidova, **M. V. Cherkasova**, L.N. Denisov, E. L. Nasonov//Ann. Rheum. Dis. -2007. -Vol. 66 (Suppl 2). - P. 175.
3. Диагностическое значение антител к модифицированному цитруллинированному виментину при раннем ревматоидном артрите/ А. А. Новиков, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев, Е. Л. Лучихина, Н. В. Демидова, **М. В. Черкасова**, Л. Н. Денисов, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2008. - № 8. - С.27 - 28.
4. Частота определения и диагностическое значение антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антител к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) у детей с ранним ювенильным артритом/ С. О. Салугина, Е. С. Федоров, Е. Н. Александрова, А. А. Новиков, А. А. Баранов, Ю. А. Валогина, **М. В. Черкасова**, Т. Н. Николаева, Н. А. Зубова// Научно-практическая ревматология. - 2008. - № 9. - С.74 - 81.
5. Современные методы лабораторной диагностики ревматоидного артрита/ А. А. Новиков, Е. Н. Александрова, **М. В. Черкасова**, Е. Л. Насонов// Научно-практическая ревматология. - 2010. - № 1. - С.31 - 45.
6. Влияние терапии генно-инженерными биологическими препаратами на уровень маркеров воспаления и аутоантител в сыворотках больных ревматоидным артритом/ Е. Н. Александрова, А. А. Новиков, **М. В. Черкасова**, Г. В. Лукина, Я. А. Сигидин, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2010. - № 10. - С. 13 - 13.
7. Диагностическая информативность лабораторных маркеров ревматоидного артрита/ А. А. Новиков, **М. В. Черкасова**, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев, Е. Л. Лучихина, Т. В. Попкова, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2011.- №10. - С. 24 - 25.

8. Роль ревматоидного фактора и антител к цитруллинированным белкам в прогнозировании эффективности терапии генно-инженерными биологическими препаратами при ревматоидном артрите/ Е. Н. Александрова, А. А. Новиков, А. С. Авдеева, **М. В. Черкасова**, Г. В. Лукина, Е. Ю. Панасюк, А. В. Смирнов, Е. Л. Насонов// Российский аллергологический журнал. - 2012. - № 5. - вып. 1. - С. 8-9.
9. Аутоантитела к цитруллинированным белкам при ревматоидном артрите: диагностическое значение/ А. А. Новиков, **М. В. Черкасова**, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев, Т. В. Попкова, Е. Л. Лучихина, Г. В. Лукина, Е. Л. Насонов// Российский аллергологический журнал. - 2012. - № 5. - вып. 1. - С. 197 - 198.
10. Сравнительная оценка диагностической ценности методов определения антител к цитруллинированным белкам при ревматоидном артрите/ А. А. Новиков, **М. В. Черкасова**, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев., Т. В. Попкова, Е. Л. Лучихина, Н. С. Рытикова, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2012. - № 10. - С.50 - 54.
11. Диагностическое значение определения аутоантител к цитруллинированным белкам при ревматоидном артрите: новые данные/ А. А. Новиков, **М. В. Черкасова**, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев, Т. В. Попкова, Е. Л. Лучихина, Г. В. Лукина, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2012. - № 9. - С. 38 - 39.
12. Определение антител к цитруллинированным белкам (АЦБ) методом непрямой иммунофлуоресценции (НРИФ) при ревматоидном артрите (РА)/ **М. В. Черкасова**, А. А. Новиков, Е. Н. Александрова, Д. Е. Каратеев, Т. В. Попкова, Е. Л. Лучихина, Г. В. Лукина, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2012. - № 9. - С. 39.
13. Relationship between the level of antibodies to modified citrullinated vimentin (anti-MCV) and bone destruction in patients with rheumatoid arthritis (RA)/ A. S. Avdeeva, E. N. Alexandrova, A. V. Smirnov, A. A. Novikov, **M. V. Cherkasova**, E. L. Nasonov //Ann. Rheum. Dis. - 2013. – 72 (Suppl.3). - P. 204.
14. Деструкция костной ткани при ревматоидном артрите: роль аутоантител/ А. С. Авдеева, Е. Н. Александрова, А. А. Новиков, А. В. Смирнов, **М. В. Черкасова**, Е. Л. Насонов// Научно-практич. ревматология. - 2013. - № 3 .- С. 267 - 271.
15. Многопараметрический анализ биомаркеров в лабораторной диагностике раннего ревматоидного артрита/ А. А. Новиков, Е. Н. Александрова, А. Н. Герасимов, **М. В. Черкасова**, Д. Е. Каратеев, Е. Л. Лучихина, Е. Л. Насонов// Научно-практич. ревматология. - 2013. - № 2. - С. 111 - 116.
16. Взаимосвязь уровня антител к цитруллинированным белкам, активности заболевания и маркеров деструкции костной и хрящевой ткани при ревматоидном артрите/ А. С. Авдеева, Е. Н. Александрова, А. А. Новиков, **М. В. Черкасова**, Е. Л. Насонов// Клиническая лабораторная диагностика. - 2013. - № 9. - С. 15.

17. Клиническое значение антител к цитруллинированным белкам при ревматоидном артрите/ А. С. Авдеева, Е. Н. Александрова, **М. В. Черкасова**, А. А. Новиков // Справочник заведующего КДЛ. - 2014. - № 2. - С.45 - 55.
18. The Relationship of Antibodies to Modified Citrullinated Vimentin and Markers of Bone and Cartilage Destruction in Rheumatoid Arthritis [Электронный ресурс] / А. S. Avdeeva, E. N. Aleksandrova, A. A. Novikov, A. V. Smirnov, **M. V. Cherkasova**, E. L. Nasonov. // Hindawi Publishing Corporation International Journal of Rheumatology. - Volume 2014. - Article ID 464585. - Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/464585>.

Подписано в печать: 10.04.2015

Заказ № 10761 Тираж - 100 экз.

Печать трафаретная.

Типография «11-й ФОРМАТ»

ИНН 7726330900

115230, Москва, Варшавское ш., 36

(499) 788-78-56

www.autoreferat.ru