

# **Национальные рекомендации диагностики ревматоидного артрита**

**Рытикова Н.С.**

**ЗАО «БиоХимМак»**

# Ревматоидный артрит

- Системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся воспалением синовиальной сумки и поражением соединительной ткани.

Как правило повреждаются мелкие суставы.

- Распространенность в мире: от 0,5% до 1% населения,
- *по другим данным - 3% - 5% популяции (США)*
- Почти у 5% у пожилых людей развивается РА
- У женщин встречается в 3 раза чаще, чем у мужчин

# Этиология ревматоидного артрита

- **1. Наследственная склонность к аутоиммунным реакциям.**  
*Повышенный риск ассоциирован HLA DR4 геном (6 пара хромосом, участок MHC II)*
- **2. Инфекционный фактор -**  
**Вирусы - гипотетические триггеры ревматических заболеваний**
  - парамиксовирусы – вирусы паротита, кори, респираторно-синцитиальной инфекции
  - гепатовирусы – вирус гепатита В
  - герпесвирусы – вирусы простого герпеса, опоясывающего лишая, ЦМВ, вирус Эпштейна-Барр (значительно выше в синовиальной жидкости \* больных РА)
  - ретровирусы – Т-лимфотропный вирус
- **3. Пусковой фактор (переохлаждение, интоксикации, мутагенные медикаменты, эндокринопатии, стрессы, **курение** и т.д.).**  
Курение увеличивает риск развития РА в 4 раза (работы 2010).

- **Возбудители**
- Borrelia
- Yersinia
- Chlamydia
- Campylobacter jejuni (1-2%)
- Salmonella
- Streptococcus
- Parvovirus B19
- и т.д.

## **Среди пациентов с впервые возникшим воспалительным заболеванием суставов выделяют:**

- Очень ранний РА - состояние с длительностью симптоматики 3-6 месяцев (потенциально обратимое состояние)
- Ранний РА, или «ранний установившийся РА» – первые 1-2 года болезни (когда можно определить первые признаки прогрессирования болезни, такие как наличие или отсутствие типичного эрозивного процесса в суставах)

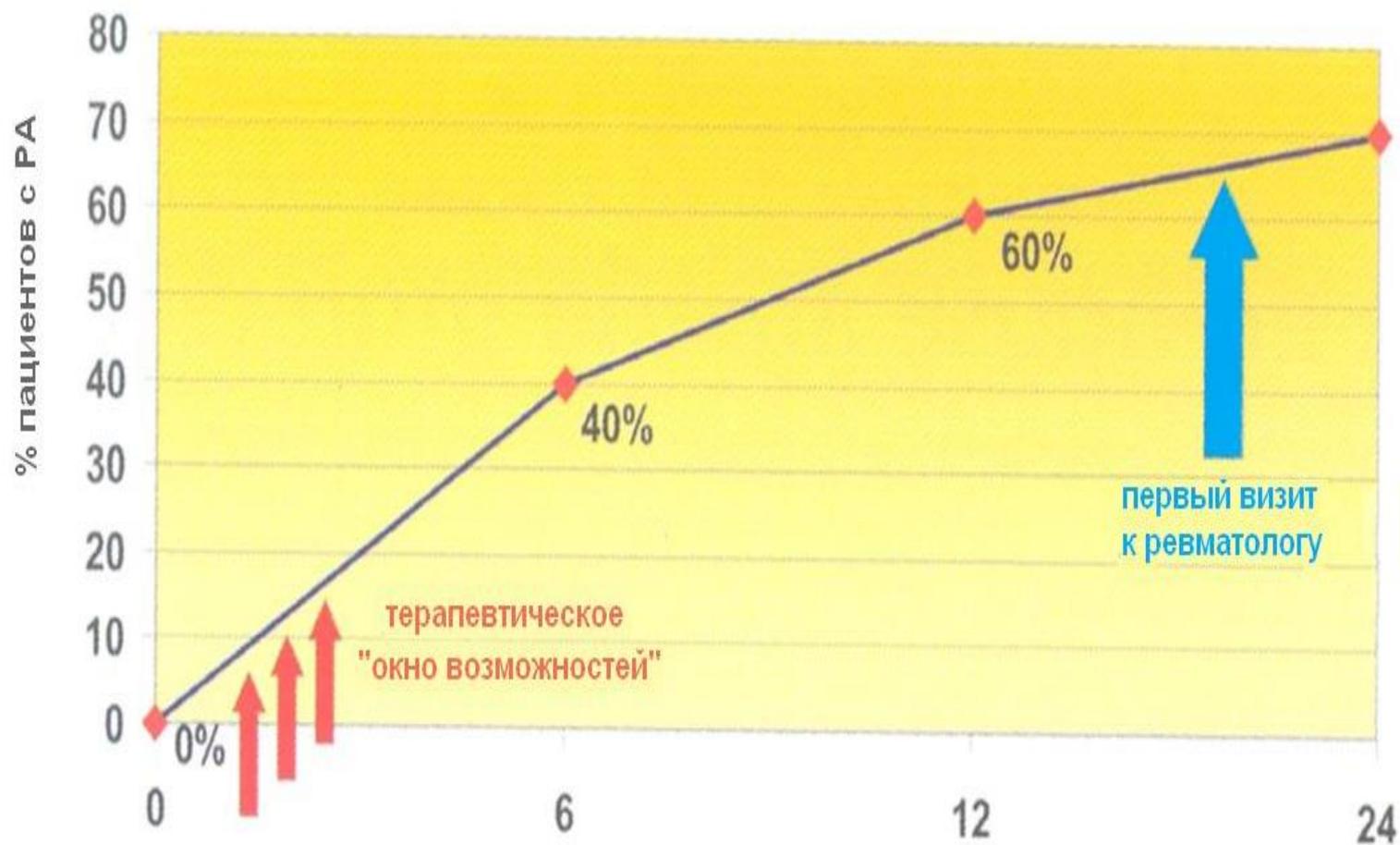
***Ранняя стадия: длительность болезни 6 мес. - 1 год***

***Развернутая стадия: длительность болезни > 1 года при наличии типичной симптоматики РА***

***Поздняя стадия: длительность болезни 2 года и более + выраженная деструкции мелких (III-IV рентгенологическая стадия) и крупных суставов, наличие осложнений***

- Недифференцированный артрит (в настоящее время применяется термин недифференцированный периферический артрит»

# Ревматоидный артрит



## Критерии клинического подозрения на РА EULAR с целью отбора пациентов на консультацию ревматолога (в модификации):

- достоверно определяемая при осмотре припухлость хотя бы одного периферического сустава
- положительный симптом «сжатия» кистей и/или стоп
- утренняя скованность длительностью 30 минут и более.

# Поколения маркеров ревматоидного артрита

- 1. Ревматоидный фактор (IgM)
- 2. Антикератиновые антитела (АКА), антифилаггриновые АТ, анти-перинуклеарный фактор
- 3. Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (АЦЦП).
- 4. Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ)

# Ревматоидный фактор (IgM)

- Высокая чувствительность при развитии РА, свыше 90%
- Низкая специфичность, порядка 60%  
(в первые 6 месяцев лишь у 15-43% больных РА)
- Недостаточная чувствительность на доклинической или ранней стадии РА (первый год РА)

## Частота встречаемости РФ при различных заболеваниях и у здоровых

Ревматоидный артрит	80%
Синдром Шегрена	70%
СКВ	30%
Полимиозит	20%
Цирроз печени	25%
Туберкулез	15%
Подострый септический эндокардит	40%
Инфекционный гепатит (Гепатит С)	25%
Здоровые	< 5 - 10%
Пожилые (>70 лет)	15%

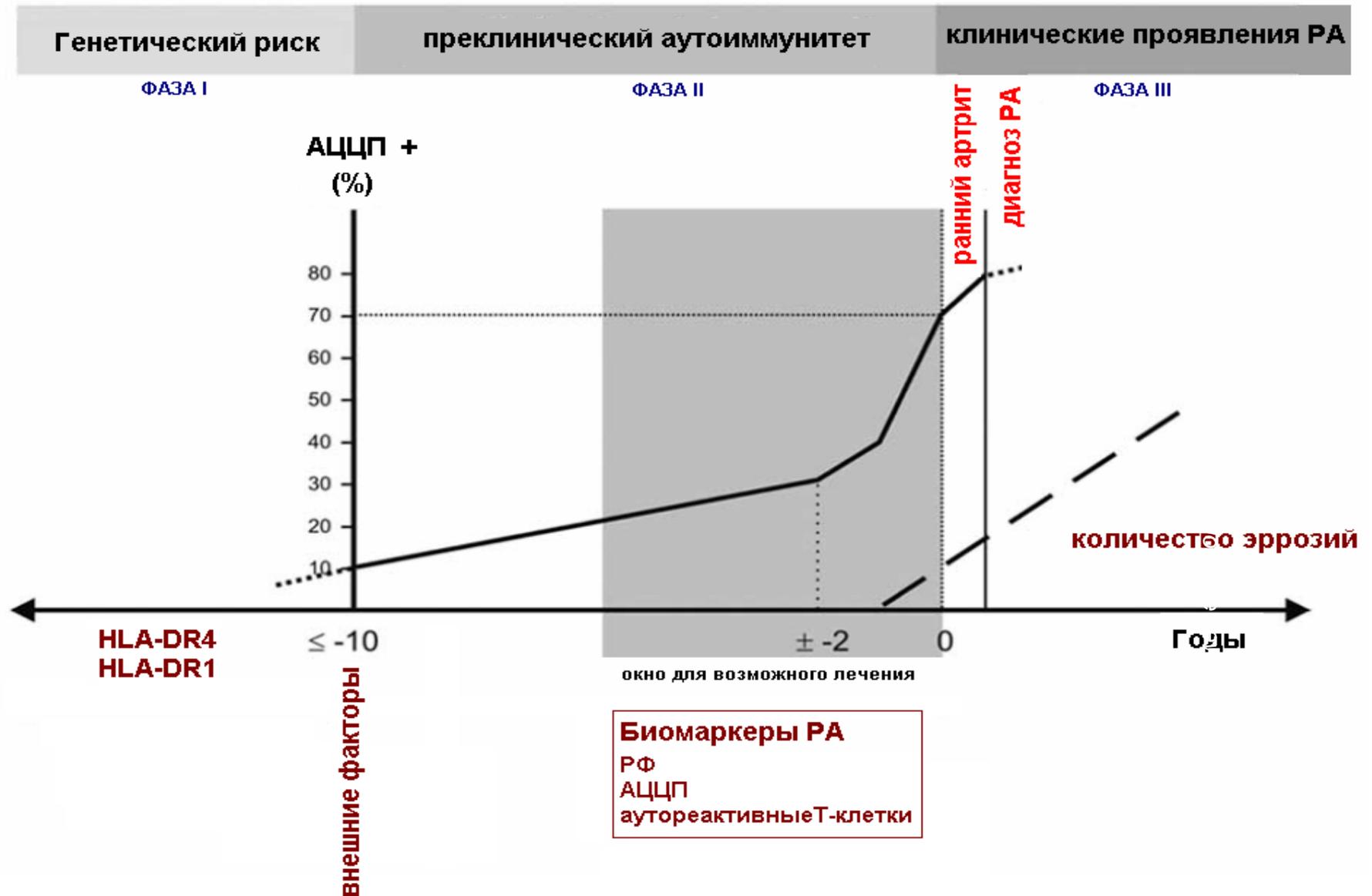
# Ревматоидный фактор (IgM)

- IgM РФ в высокой концентрации является полезным маркером для прогнозирования быстро прогрессирующего деструктивного поражения суставов
- IgM РФ в высокой концентрации является полезным маркером для прогнозирования эффективности терапии ГИБП у больных РА.
- Поддержано рекомендациями Международного консенсуса по применению РТМ у больных РА

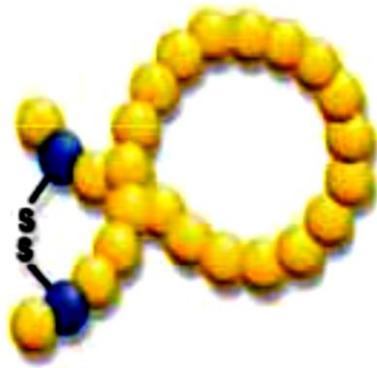
# Оценка кратности определения IgM РФ

- У серонегативных по IgM РФ пациентов на ранней стадии РА рекомендуемая кратность определения данного показателя составляет 1 раз в 3 - 6 месяцев, на развернутой стадии – 1 раз в год
- У низко/высоко позитивных больных по IgM РФ кратность его определения должна составлять на ранней стадии 1 раз в 3 месяца, на развернутой стадии – 1 раз в 3-6 месяцев, на поздней стадии – 1 раз в год
- Поддержано заключением экспертного совета МЗ РФ по ревматологии (сент. 2012)

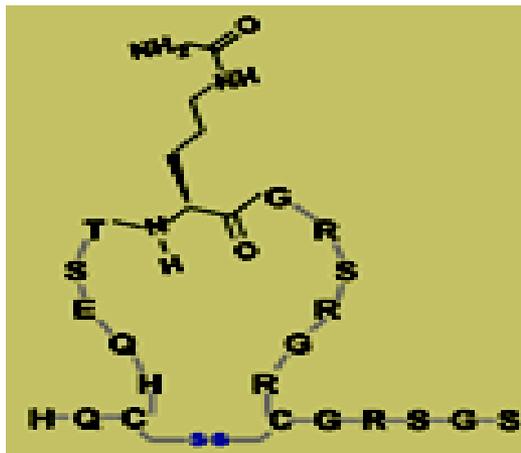
# СТАДИИ РАЗВИТИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА



# Процесс цитруллинирования – признак воспаления соединительной ткани



Фермент пептидил-аргинин дезими́наза (PAD) в синовиальной жидкости при воспалении катализирует превращение аргинина в цитруллин.

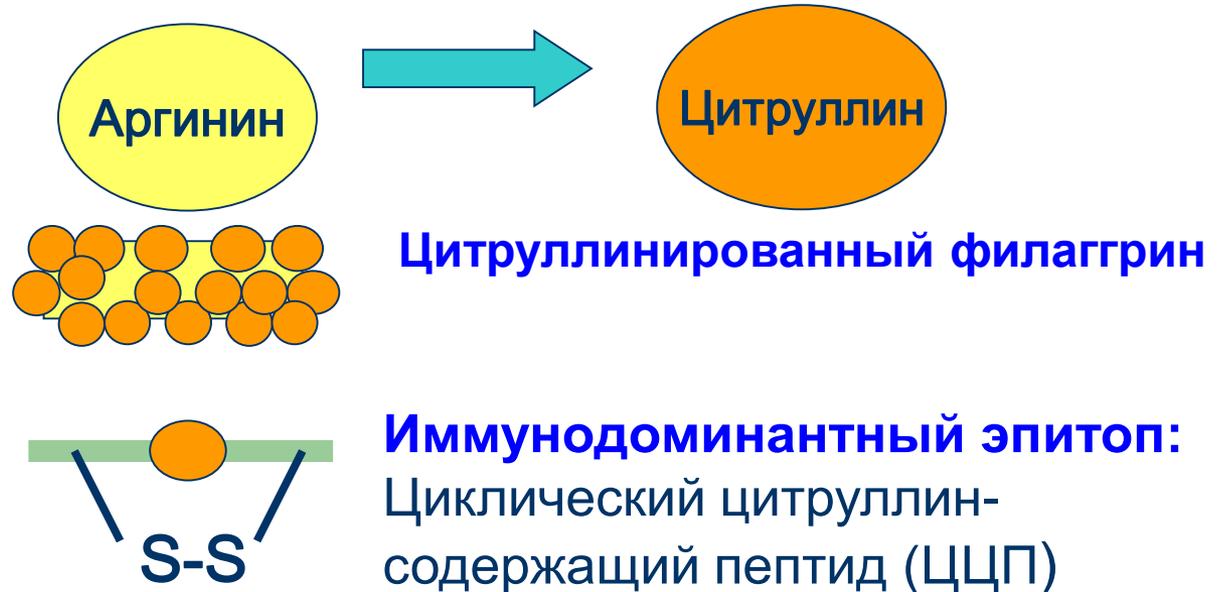


**Профилаггрин:** кислый фосфопротеин, состоит из 10-12 повторов филлагрина разделенных линкерами



 **Филаггрин:** белок, участвующий в организации цитокератиновых филаментов, является антигеном, индуцирующим выработку аутоантител к перинуклеарному фактору и кератину.

**Цитруллинирование PAD ферментом**



Создание синтетического антигена – подобного цитруллинированному филлаггину

## Преимущества АЦЦП

- Появление антител до клинических проявлений заболевания.
- Были исследованы 83 сыворотки человек, здоровых на момент взятия крови, у которых впоследствии развился РА.
- **В 34% случаев были обнаружены АЦЦП**
- **В 19% случаев был обнаружен РФ IgM**
- Частота обнаружения антител значительно нарастала к моменту, соответствующему **1.5 годам до постановки диагноза**
- Частота обнаружения АЦЦП и РФ IgM к моменту постановки диагноза **раннего РА** сравнялась и **достигла 70%**

# РФ и АЦЦП как предикторы развития эрозивного поражения суставов при РА

Базальный уровень

		РФ/ АЦЦП			Кол/во эрозий
СРБ (мг/л)	-/-	+/- или -/+	+/+		
		47	69	78	≥4
≥35		24	44	56	1-4
		19	37	49	0
		22	42	54	≥4
10-35		9	20	29	1-4
		7	16	23	0
		16	32	43	≥4
<10		6	14	21	1-4
		6	11	17	0

Базальный уровень

Риск развития эрозивного поражения суставов (%)



# АЦЦП

- Положительные результаты обнаружения АЦЦП в сыворотке крови служат диагностическим критерием РА
- 
- Серопозитивность по АЦЦП является прогностическим маркером тяжелого эрозивного поражения суставов при РА
  - Обнаружение АЦЦП в сыворотке крови служит предиктором развития РА у здоровых лиц и у пациентов с ранним недифференцированным артритом
  - Тестирование АЦЦП позволяет прогнозировать эффективность терапии ГИБП у больных РА.
  - *Данные систематического обзора, метаанализа, классификационных критериев РА ACR 1987 г. и ACR/EULAR 2010*
  - *Поддержано заключением экспертного совета МЗ РФ по ревматологии (сент. 2012)*

# Оценка кратности определения АЦЦП

- На поздней стадии РА исследование АЦЦП нецелесообразно. У серонегативных по АЦЦП пациентов рекомендуемая кратность определения АЦЦП на ранней стадии РА составляет 1 раз в 6 месяцев, на развернутой стадии – однократно.
- У АЦЦП - низко позитивных больных исследование АЦЦП на ранней стадии РА следует проводить 1 раз в 3-6 месяцев, на развернутой стадии – 1 раз в год. При высокой позитивности по АЦЦП на ранней и развернутой стадиях РА рекомендуется однократное исследование АЦЦП.
- **Поддержано заключением экспертного совета МЗ РФ по ревматологии (сент. 2012)**

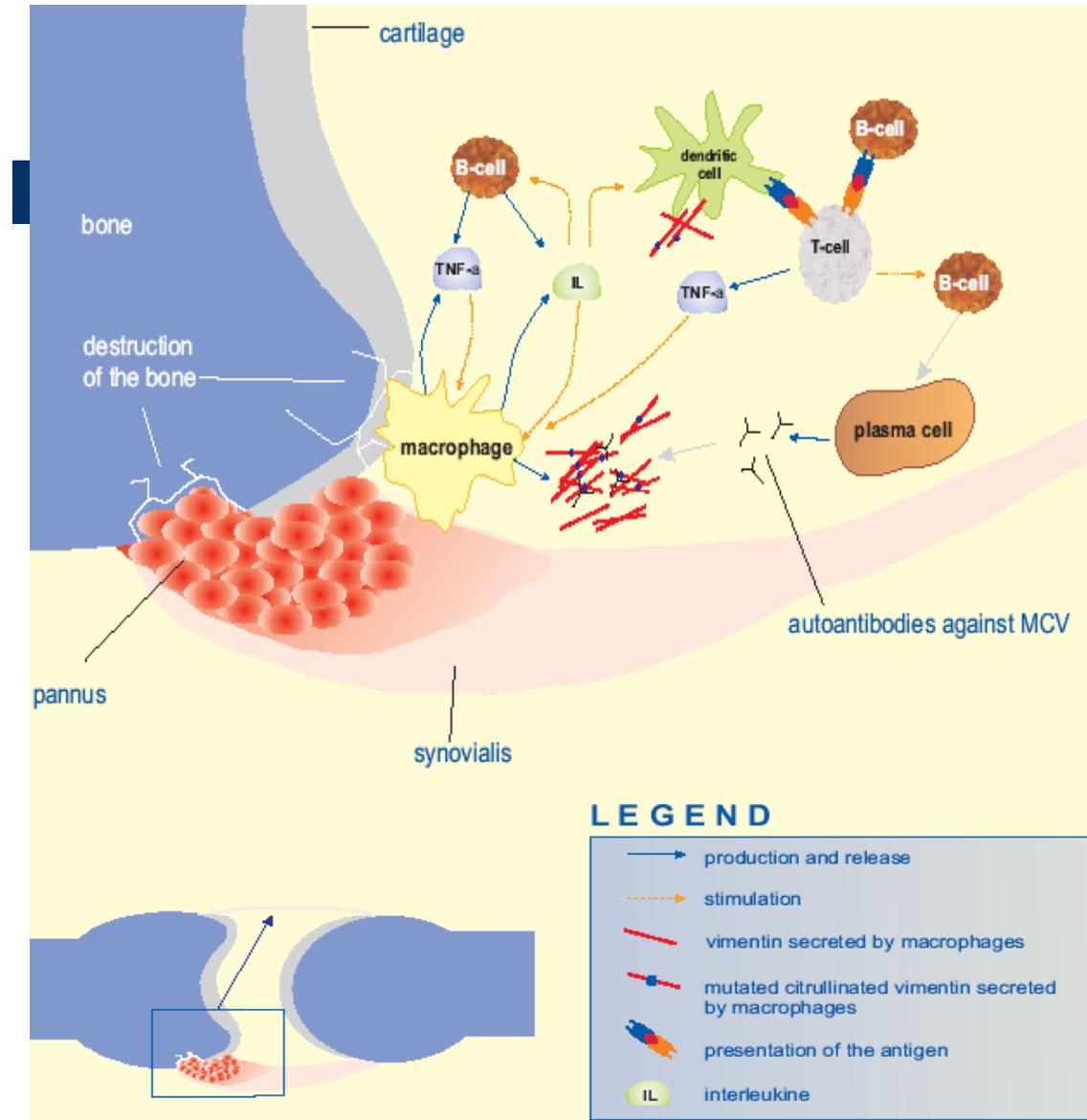
# АТ к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ)

Виментин – белок цитоскелета различных типов клеток, таких как клетки мезенхимы и эндотелия, фибробласты, остеоциты. Присутствует в синовиальной жидкости

При воспалении виментин цитруллинируется

Высокие конц. МЦВ находят в моноцитах и активированных макрофагах, однако его внеклеточная концентрация невысока

- Виментин - естественный белок с большим числом эпитопов:
- В то время как ССР имеет только 1 или 2 возможных для детекции эпитопов, виментин имеет до 45 возможных доменов, которые могут цитруллинироваться



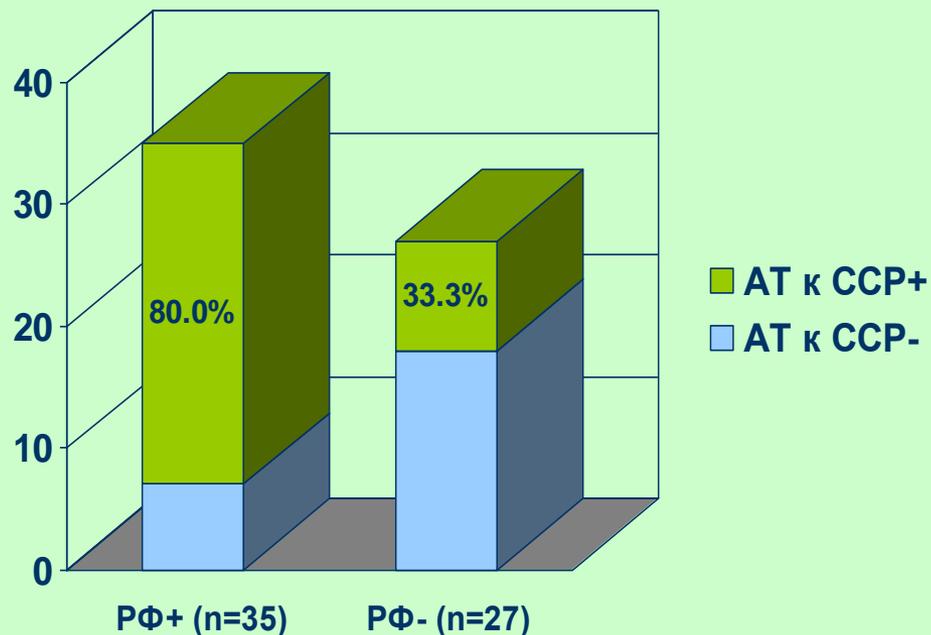
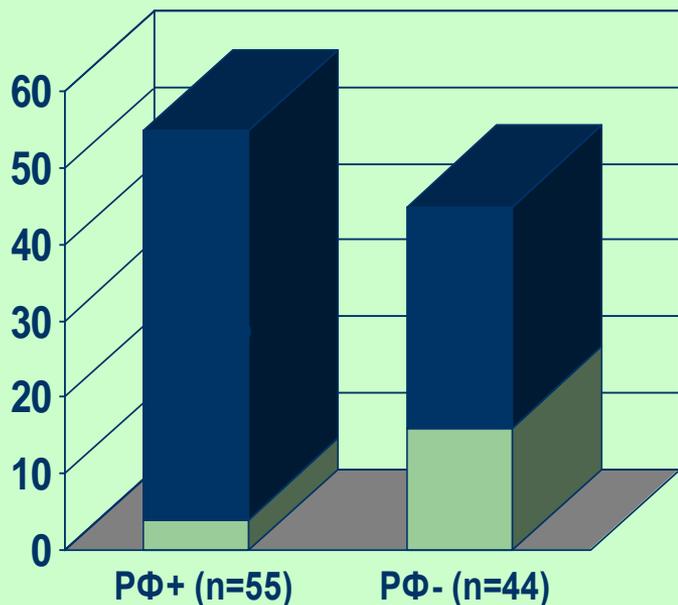
	<b>АМЦВ</b>	<b>АЦЦП</b>	<b>IgM РФ</b>
<b>Чувствительность</b>	<b>83%</b>	<b>70%</b>	<b>67%</b>
<b>Специфичность</b>	<b>78%</b>	<b>85%</b>	<b>78%</b>

- **Обследовано 993 Больных РА, против контрольной группы условно здоровых и пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями**
- **Институт Ревматологии 2012 г.**

### Серопозитивный и серонегативный РА\*

■ AT к MCV+

■ AT к MCV-



\* - Ревматоидный артрит

# Преимущества АМЦВ

- По титру АМЦВ антител можно судить о стадии развития РА (АЦЦП не позволяет должной мере стратифицировать степень заболевания):
- **АМЦВ:  $327,7 \pm 572,9$  (неострая форма РА),  
 $1184,0 \pm 1177,0$  (острая форма РА),**
- **АЦЦП:  $330,7 \pm 571,0$  (неострая форма РА)  
 $507,2 \pm 650,4$  (острая форма)**

# АМЦВ

- Положительные результаты определения АМЦВ в сыворотке крови служат дополнительным диагностическим маркером РА при отрицательных результатах определения IgM РФ и АЦЦП в сыворотке
- АМЦВ являются полезным маркером для прогнозирования тяжелого эрозивного поражения суставов у больных РА
- Повышение уровня АМЦВ в большей степени ассоциируется с клинико-лабораторными показателями воспалительной активности РА, чем АЦЦП
- *Поддержано заключением экспертного совета МЗ РФ по ревматологии (сент. 2012)*

# Оценка кратности определения АМЦВ

- На поздней стадии РА исследование АМЦВ нецелесообразно. У серонегативных по АЦЦП пациентов рекомендуемая кратность определения АМЦВ на ранней стадии РА составляет 1 раз в 6 месяцев, на развернутой стадии – однократно.
- У низко/высоко позитивных больных по АМЦВ исследование АМЦВ на ранней стадии РА следует проводить 1 раз в 3-6 месяцев, на развернутой стадии – 1 раз в 6 месяцев – 1 год
- Поддержано заключением экспертного совета МЗ РФ по ревматологии (сент. 2012)

# Антитела к цитрулинированным белкам/пептидам и ревматоидные факторы – две различные системы аутоантител

Результаты определения уровней АЦЦП и IgM РФ в 22427 образцах сывороток 18658 пациентов сети ревматологических клиник Института Jan Van Breemen (г.Амстердам, Нидерланды).

## АЦЦП

Показатель	АЦЦП	IgM РФ
Сероконверсия	-	+
Увеличение частоты серопозитивных результатов с ВОЗРАСТОМ		
РА	-	-
Здоровые лица	-	+
Связь с маркерами воспаления (СОЭ, СРБ)	-	+

Ursun J., Bos W.H., van de Stadt R.J. et al. Different properties of and IgM-RF derived from a large dataset: further evidence of two distinct autoantibody systems. *Arthritis Res. Ther.*, 2009, 11, R75

Valesini G., Alessandri C. Anticitrullinated protein/peptide antibodies and rheumatoid factors: two distinct autoantibody systems. *Arthritis Research & Therapy*, 2009, 11, 125

# РА с наличием антител к цитруллинированным протеинам (АЦП) и РА с отсутствием (АЦП) - два различных класса заболевания с различным молекулярным патогенезом и различными подходами к терапии

признак	РА АЦП +	РА АЦП -
Появление АЦП задолго до первых симптомов РА	+++	+
		+
Развитие тяжелого эрозивного поражения суставов	+++	+
Увеличение общей летальности	++	+
Развитие сердечно-сосудистых осложнений	+++	+
Образование инфильтратов в синовиальной ткани (эктопический лимфонеогенез с образованием зародышевых центров)	+++	+
Ассоциация с генетическими факторами риска (HLA-DRB1, RTPN22, PAD14, TRAF1-C5, STAT4, OLIG3-AIP3)	+++	-
Ассоциация с наличием внешних факторов риска (курение в комбинации с носительством HLADRB1)	++	-
Ответ на инфликсимабом	+	++
Ответ на терапию ритуксимабом	++	+
Ответ на терапию метотрексатом	++	+

## Критерии классификации РА, установленные в 2010 Американской коллегией Ревматизма ACR/EULAR 2010 г.

Для того чтобы поставить диагноз РА по новым критериям, врач должен выполнить три условия.

- определить наличие у больного хотя бы одного припухшего сустава по данным осмотра.
- исключить другие заболевания, которые могут сопровождаться воспалительными изменениями суставов.
- набрать **как минимум 6 баллов** из 10 возможных по 4 позициям, описывающим особенности картины болезни у данного пациента

# Классификационные критерии ревматоидного артрита ACR/EULAR 2010 г.

Критерий	Баллы
<b>Поражения суставов</b>	
1 большой	0
2-10 больших суставов	1
1-3 малых суставов (вне зависимости от состояния больших суставов)	2
4-10 малых суставов (вне зависимости от состояния больших суставов)	3
≥10, включая как минимум 1 малый	5
<b>Серологические тесты (для классификации требуется выполнение хотя бы 1 исследования)</b>	
Негативные результаты тестов: РФ и АЦЦП	0
Слабоположительный результат тестов: РФ или АЦЦП	2
Высокоположительный результат тестов: РФ или АЦЦП	3
<b>Острофазовая реакция (для классификации требуется выполнение хотя бы 1 исследования)</b>	
СРБ и СОЭ (норма)	0
Повышение СОЭ или СРБ	1
<b>Длительность синовита</b>	
< 6 недель	0
≥6 недель	1

## Слабо- и высокоположительные по лабораторным критериям группы

<b>Слабоположительный результат тестов: РФ или АЦП</b>	<b>Превосходят по значению контрольную (отрицательную по РА) группу, но <math>\leq 3</math></b>
<b>Высокоположительный результат тестов: РФ или АЦП</b>	<b>Превосходят по значению контрольную группу (отрицательную по РА) <math>&gt; 3</math></b>
<b>Слабоположительный результат РФ</b>	<b>Положительный результат при качественном определении РФ</b>

## Больные, которые не соответствуют критериям на момент осмотра

- 1. Больные, у которых имеются типичные для РА эрозии на рентгенограммах
- 2. Больные со значительной давностью РА, которые ранее соответствовали диагностическим критериям этого заболевания.
- 3. Больные с ранней стадией РА, которые не соответствуют критериям на момент исходного осмотра, но начинают соответствовать им по мере развития заболевания в ходе последующего наблюдения.

## Примеры формулировки клинических диагнозов:

- Ревматоидный артрит серопозитивный (M05.8), развернутая стадия, активность II, эрозивный (рентгенологическая стадия II), с системными проявлениями (ревматоидные узелки), АЦЦП (-), ФК II.
- Ревматоидный артрит серонегативный (M06.0), ранняя стадия, активность III, неэрозивный (рентгенологическая стадия I), АЦЦП (+), ФК I.
- Вероятный ревматоидный артрит (M06.9), серонегативный, ранняя стадия, активность II, неэрозивный (рентгенологическая стадия I), АЦЦП (+), ФК I.

# Предпосылки для применения многопараметрического анализа биомаркеров для иммунодиагностики аутоиммунных заболеваний

Биомаркеры, которые выявляются только при одном заболевании (disease-specific), встречаются крайне редко

Для аутоиммунных заболеваний характерно одновременное присутствие нескольких типов биомаркеров в одной сыворотке

Оценка профиля биомаркеров существенно увеличивает диагностическую ценность их определения

# Связь исследуемых биомаркеров с клинико-лабораторными проявлениями ревматоидного артрита



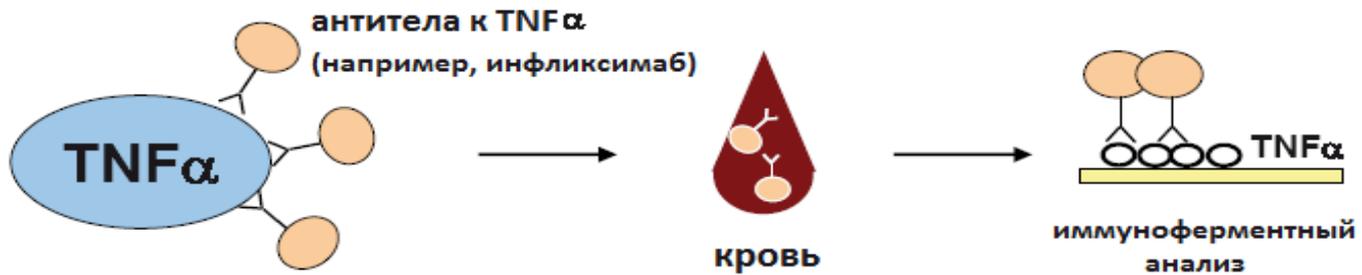


**двойной контроль терапии блокаторами  $TNF\alpha$   
с использованием двух иммуноферментных наборов**



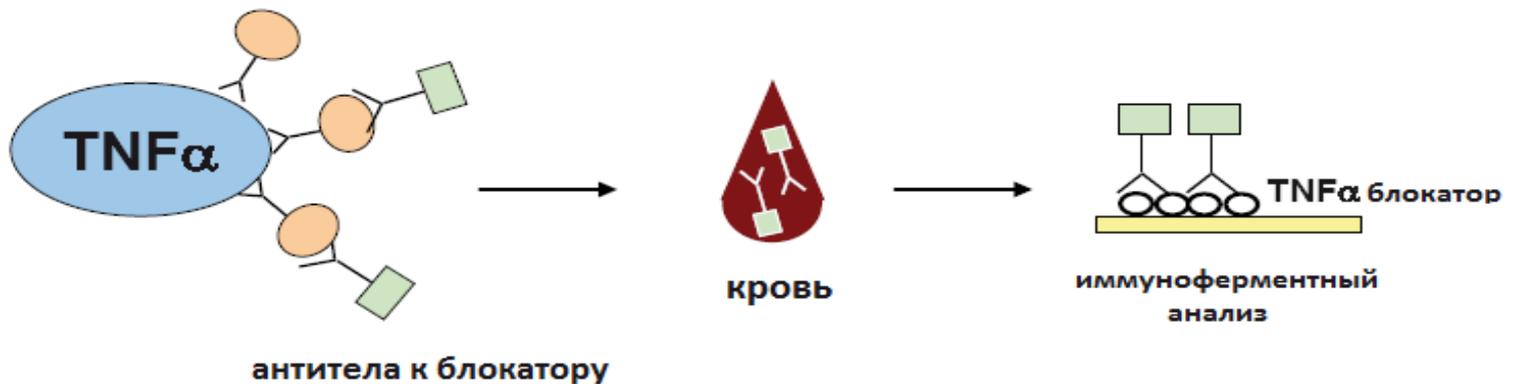
**A**

**определение уровня лекарства**



**B**

**определение антител к блокаторам**

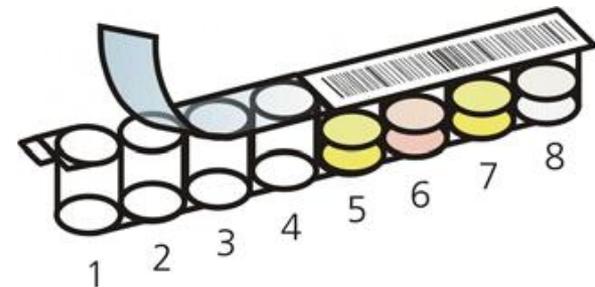


- Для подбора оптимальной эффективной лечебной дозы блокатора очень важно определение концентрации блокатора в крови.

- Эффективность лечения также зависит от иммуногенности препарата, которая приводит к развитию гиперчувствительности и побочным эффектам.
- *При неэффективности лечения (30% пациентов) и наличии антител предлагается сопутствующая терапия иммуносупрессорами, которая может снизить образование антител (но это не всегда показано).*

# Автоматический иммуноферментный анализатор Alegria (Orgentec)

- Принцип работы – 1 стрип на 1 показатель 1 сыворотки
- Полный набор реагентов в каждом
- Результат каждого теста оценивается по своему собственному контролю.
- Сканер штрих-кодов позволяют избежать технических ошибок регистрации образцов
- Возможность одновременного анализа от 1 до 30 стрипов
- Время анализа - 90 минут
- 120 тест-систем для диагностики аутоиммунных заболеваний и инфекций, определение кальпротектина.



# ALEGRIA

## Теперь и для диагностики инфекций!

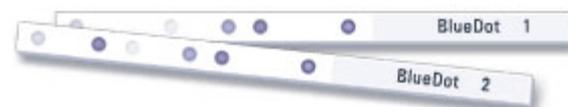
- Антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр
- Антитела к ядерному антигену 1 вируса Эпштейна-Барр
- Антитела к Zebra-антигену вируса Эпштейна-Барр
- Антитела к вирусу паротита
- Антитела к вирусу кори
- Антитела к вирусу простого герпеса I типа
- Антитела к вирусу простого герпеса II типа
- Антитела к вирусу простого герпеса I и II типа

# Полуавтоматический анализатор BlueDiver для диагностики аутоиммунных заболеваний методом иммунодота (D-tek s.a.)

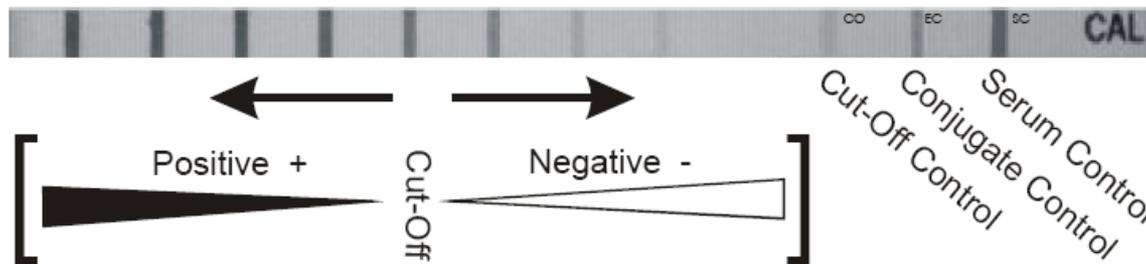
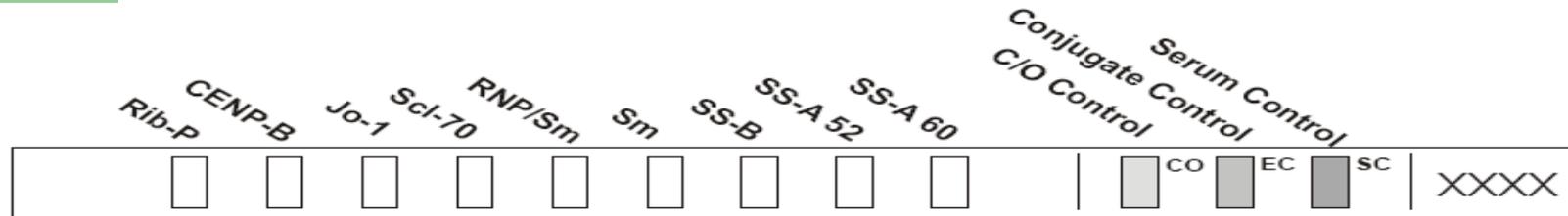
- Простая система сканирования тест-стрипов и автоматического расчета результатов
- Работает с картриджами с готовыми для использования реагентами, никаких шлангов, насосов, приготовления реагентов, разведения образцов и пр.
- Возможность одновременного анализа от 1 до 24 тест-стрипов, один протокол для всех анализов (доступно до 50 различных биомаркеров)
- Время анализа – 90 минут
- Сканер штрих кодов проверяет правильность загрузки и сроки годности тест-стрипов и картриджей, что полностью исключает возможность ошибки



BlueDiver  
Instrument



# Определение антинуклеарных антител методом иммуноблота на нитроцеллюлозной мембране



**ВОЗМОЖЕН КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ТЕСТ!**

# Спасибо за внимание!

