

ANTI-MCV АНТИТЕЛА К МОДИФИЦИРОВАННОМУ ЦИТРУЛЛИНИРОВАННОМУ ВИМЕНТИНУ

М.А. Смирнова, научный консультант ЗАО «БиоХимМак»

ВНИМАНИЕ!

НОВЫЙ ЭКСПРЕСС-ТЕСТ RHEUMACHEC®: АНТИ-MCV + РФ Ревматоидный артрит (РА) — одно из самых распространенных аутоиммунных заболеваний человека. Основным характерным признаком РА является воспаление сустава, которое приводит к разрушению сустава и нарушению его функции. Ранняя диагностика РА и незамедлительно начатое соответствующее лечение принципиальны для профилактики разрушения сустава и качества жизни пациентов. Диагностика осложняется тем, что на ранних стадиях клинические признаки неспецифичны: слабость, усталость, апатия, депрессия, ночное потоотделение, повышенная чувствительность к изменениям погоды, утренняя скованность и боль в суставах, напряженность в мышцах.

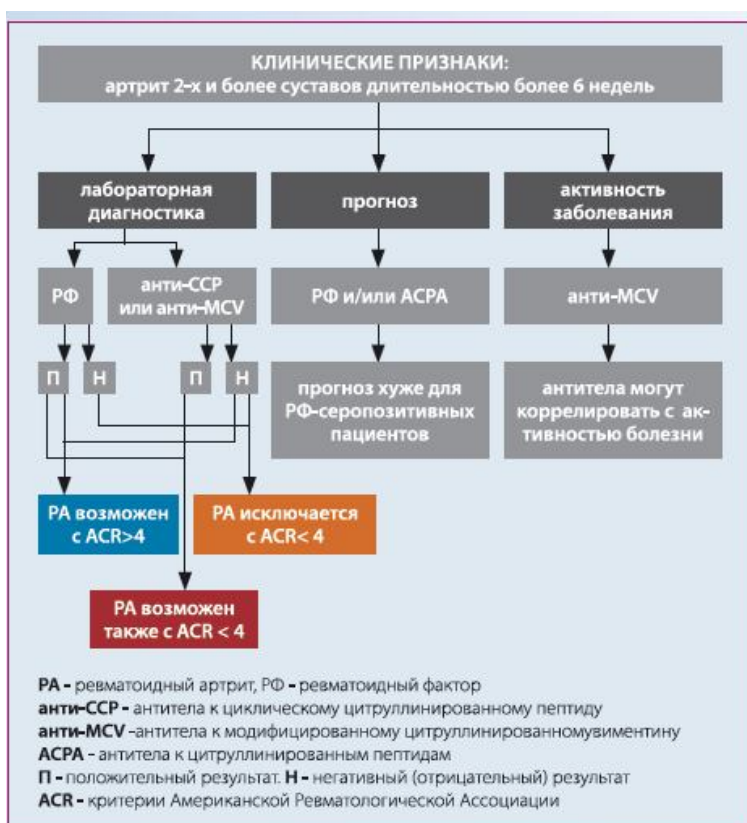


Рисунок 1. Роль антител к цитруллинированным пептидам в лабораторной диагностике ревматоидного артрита с включением критериев АCR.

создала набор для определения антител к модифицированному цитруллинированному виментину (*Mutated Citrullinated Vimentin* — MCV) с высокими чувствительностью и специфичностью для РА.

Виментин

Виментин является белком цитоскелета различных типов клеток, таких как клетки мезенхимы и эндотелия, фибробласты, хондроциты и остециты. Он используется в качестве маркера опухолей мягких тканей. С 1994 виментин (ранее известный как Sa-

РА диагностируется по клинической манифестации заболевания и серологическому исследованию. До сих пор лабораторная диагностика РА ограничивается в основном определением ревматоидного фактора (РФ). РФ — чувствительный серологический маркер РА с умеренной специфичностью — около 70%.

Показано, что антитела против цитруллиновых остатков в белках филаментов определяются у РФ-негативных пациентов. Из-за высокой специфичности компания ORGENTEC (Германия) сосредоточила свои усилия на белке виментине как ключевом маркере диагностики РА и

антиген) упоминается в контексте РА. Виментин — широко распространенный в организме цитруллинированный белок, который синтезируется и модифицируется макрофагами под регуляцией провоспалительных и воспалительных цитокинов. Его высвобождение в процессе апоптоза и некроза не влияет сильно на внеклеточную концентрацию. Виментин синтезируется эндоплазматическим ретикулумом и комплексом Гольджи и встречается в синовиальной ткани пациентов с РА. Положительно заряженная аминокислотная последовательность позволяет виментину прямо связываться с фосфолипидами мембраны ЭПР. Структура С-концевой последовательности позволяет осуществлять транспорт из ЭПР в комплекс Гольджи.

Цитруллинирование

Цитруллин — это повсеместно встречающаяся, не входящая в состав белков, аминокислота, которая является промежуточным продуктом обмена мочевины. Во многих белках синовиальной жидкости обнаруживаются аргининовые остатки. Фермент пептидил-аргинин дезиминаза (PAD), который находят в большом количестве в синовиальной жидкости при воспалении (в виде изоформ PAD2 и PAD4), катализирует процесс превращения аргинина в цитруллин. Изоферменты PAD2 и PAD4 цитруллинируют многие синовиальные белки, включая виментин. Цитруллинированные циклические пептиды активируют Т-лимфоциты и связываются с HLA-DR4 на поверхности антиген-представляющих клеток.

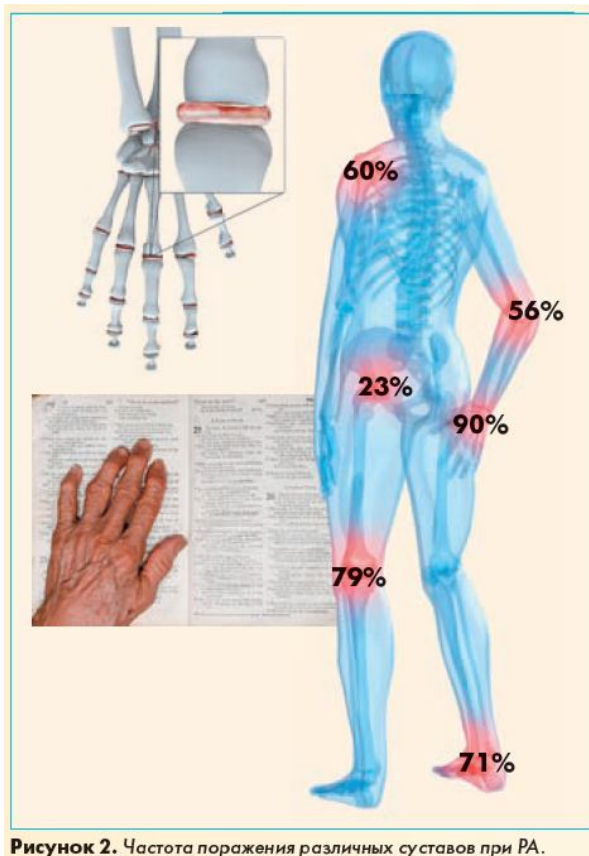


Рисунок 2. Частота поражения различных суставов при РА.

Модифицированные формы виментина

С помощью современного протеомного анализа и определения параметров эпитопов исследователи компании ORGENTEC смогли показать, что виментин обладает многими свойствами, необходимыми для цитруллинирования. Цитруллинирование виментина ферментом PAD приводит к изменению структуры белка и росту возможных эпитопов-мишеней аутоантител, связанных с РА. Дополнительно были идентифицированы различные изоформы, образованные превращением аргининовых остатков в цитруллин. ORGENTEC выбрал из многих модифицированных цитруллинированных изоформ виментина те, на которые пациенты с РА дают максимальный антительный ответ. Для одной из этих модифицированных цитруллинированных изоформ было доказано, что она специфична только для пациентов с РА. Эта форма была получена, и ее специфичность в качестве мишени для аутоантител была охарактеризована. Выбор антигена естественного происхождения сделан на основе его наилучших характеристик чувствительности и специфичности. Новый маркер ORGENTEC Анти-MCV — это качественный скачок в

диагностике РА, с которым связаны широкие возможности. Антитела против цитруллинированного виментина высоко специфичны для диагностики РА: специфичность составила 98%.

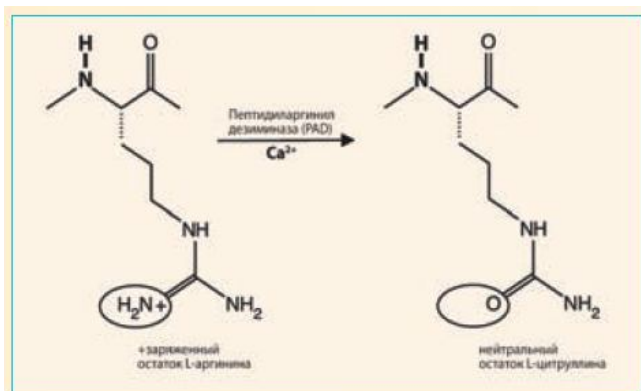


Рисунок 3.

- **Естественный белок с большим числом эпитопов**

ССР является синтетическим белком на основе филагрина, другого структурного белка, близкого виментину (содержится в кератогиалиновых гранулах эпителия слизистых оболочек). Молекула филагрина меньше виментина в 20 раз и, следовательно, обладает

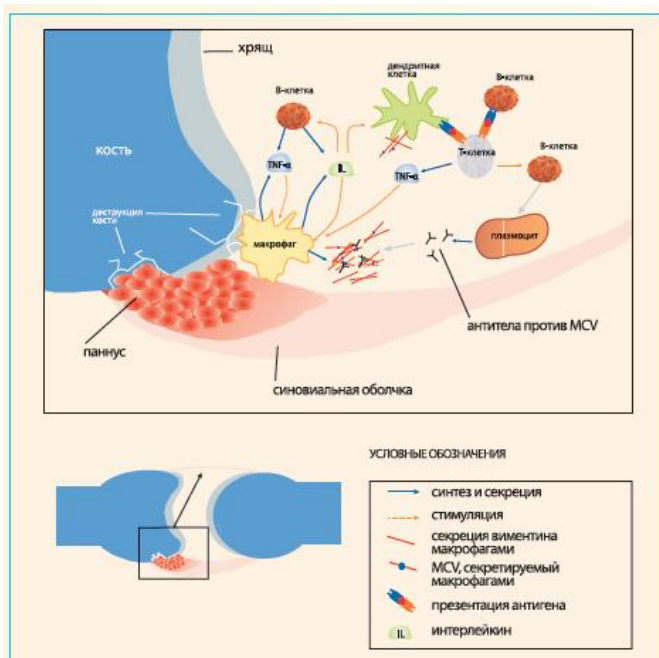


Рисунок 4. Схема патогенеза РА.

меньшим количеством эпитопов. В отличие от синтетического белка ССР виментин является естественным человеческим белком с известной структурой, обнаруженным в синовиальной ткани при РА. В то время как ССР имеет только 1 или 2 возможных для детекции эпитопов, виментин имеет до 45 возможных доменов, которые могут цитруллинироваться.

Сравнение антител к МСV и ССР/циклический цитруллиновый пептид

Вплоть до настоящего момента комбинация анти-ССР + РФ была лучшим выбором в диагностике РА. С появлением антиМСV ситуация кардинально изменилась:

Характеристика анти-МСV

- **Более высокая чувствительность**

Очень часто анти-МСV выявляются за несколько лет до появления первых клинических признаков РА. Это

принципиально для сохранения суставов и замедления активности болезни при ранней диагностике и своевременной активной терапии. Пациент попадает к ревматологу в среднем на 21-м месяце болезни, до этого он обращается к врачам других специальностей. К этому моменту у 60% пациентов развиваются необратимые повреждения суставов, т.е. лучшее время для терапии упущено. При ранней диагностике с помощью антиМСV «окно возможностей» не упускается, при этом терапевтическое вмешательство на ранних стадиях будет менее агрессивным и более щадящим (меньше побочных эффектов).

картиной. Около половины РФ-негативных пациентов выявляются с помощью анти-MCV. Комбинация анти-MCV с РФ увеличивает чувствительность почти до 100%.

- **Исключительная корреляция с активностью заболевания**

Длительное наблюдение больных с РА привело к следующим выводам: повышенная концентрация анти-MCV антител специфична для пациентов с РА и значительно коррелирует с активностью болезни. Определение только анти-MCV оказалось для прогноза РА лучшим показателем (оценка проводилась по индексу DAS28, коэффициент корреляции Пирсона 0,404, $P < 0,0001$). Его уровень значительно снижался после

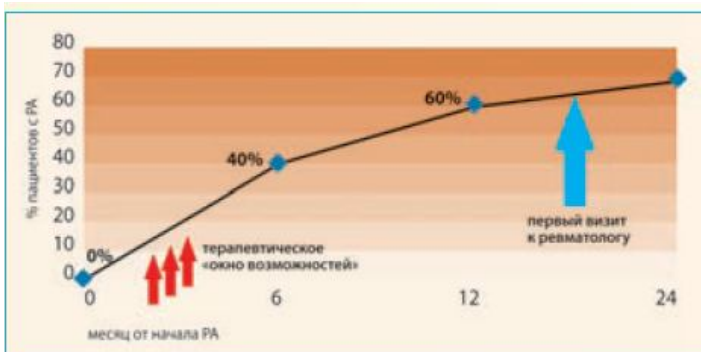


Рисунок 5.

успешной терапии инфлюксимабом, коррелируя с DAS28, (для анти-CCP такой корреляции не найдено). Использование анти-MCV вместе с РФ и анти-CCP расширяет диагностический спектр: у пациентов, имеющих анти-MCV+, анти-CCP-, РА протекает более агрессивно по сравнению с пациентами анти-MCV-, анти-CCP-. Анти-MCV — прекрасный прогностический маркер для раннего РА с клиническими проявлениями, приводящими к деструкции хряща.

успешной терапии инфлюксимабом, коррелируя с DAS28, (для анти-CCP такой корреляции не найдено). Использование анти-MCV вместе с РФ и анти-CCP расширяет диагностический спектр: у пациентов, имеющих анти-MCV+, анти-CCP-, РА протекает более агрессивно по сравнению с пациентами анти-MCV-, анти-CCP-. Анти-MCV — прекрасный прогностический маркер для раннего РА с клиническими проявлениями, приводящими к деструкции хряща.

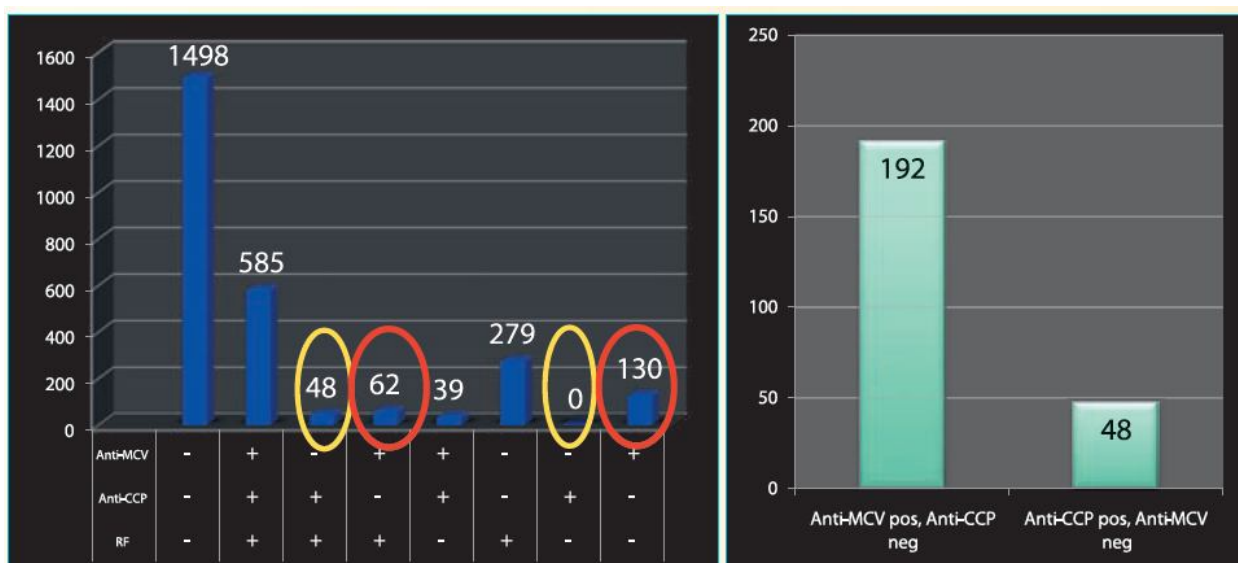


Рисунок 6. Частота встречаемости различных аутоантител у лиц при подозревшем диагнозе РА.

Rheumachec®. Экспресс-диагностика ревматоидного артрита

Компания Orgentec предлагает комбинированный экспрестест для диагностики РА Rheumachec®

- одновременное определение РФ и анти-MCV на одной тесткассете
- время анализа — 15 минут
- для анализа необходима только капля капиллярной цельной крови (10 мкл)

- тест имеет хорошую согласованность с результатами иммуноферментного анализа (93 и 98% для положительного и отрицательного результатов соответственно).

Тест Анти-МСУ доступен в различных форматах: иммуноферментный набор, набор для автоматического анализатора Alegria и экспресс-тест Rheumachec.

Кат.№	Название
416-5480	Анти-МСУ для ИФА, 96 тестов
416-2480/12	Анти-МСУ для анализатора Alegria, 12 тестов
416-2480/24	Анти-МСУ для анализатора Alegria, 24 теста
ORG-170	Экспресс-тест Rheumachec®, 10 тестов

Таблица 1. Сравнение тестов для диагностики РА.

	РФ IgM	РФ IgA	Анти-ССР2	Анти-МСУ
Чувствительность для РА	60-80%	44%	39-94%	69,5-82%
Специфичность для РА	80-95%	84%	81-100%	90,3-98%
Чувствительность для раннего РА	15-30%	29-39%	25-58%	57-71%
Корреляция с активностью	сомнительна	да	нет	да
Корреляция с исходом болезни	да	да	да	да
Ассоциация с внесуставными проявлениями	да	да	да	неизвестна